UNIVERSITÉ DE LORRAINE | BIBLIOTHÈQUES UNIVERSITAIRES

# AVERTISSEMENT
# DROIT D'AUTEUR

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document. Toute contrefaçon, plagiat ou reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact bibliothèque : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr
(Cette adresse ne permet pas de contacter les auteurs)

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
34 COURS LÉOPOLD — CS 25233
54052 NANCY CEDEX
TÉL : 03 54 50 54 00
CONTACT@UNIV-LORRAINE.FR
WWW.UNIV-LORRAINE.FR

# Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

## DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

### Mention : Mécanique des matériaux

par **Emilie Wiedemann-Fodé**

# Conditionnement de cellules en environnement mécanique contrôlé : développements expérimentaux et modélisation *in silico*

Date : **15 avril 2026**

**Membres du jury**

sous la présidence de Cécile LEGALLAIS

| | | |
|---|---|---|
| **Rapporteure :** | Cécile LEGALLAIS | Directrice de recherche BMBI CNRS, Université de Compiègne |
| **Rapporteur :** | Christophe NOËL | Docteur-Ingénieur (HDR), INRS |
| **Examinateur :** | Dominique VAUTIER | Ingénieur de recherche, CRBS, Université de Strabourg |
| **Membre invité :** | Rachid RAHOUADJ | Professeur émerite, LEM3 CNRS, Université de Lorraine |
| **Membre invité :** | Ophélie CABALLINA | Maître de conférence, LEMTA CNRS, Université de Lorraine |
| **Directeur de thèse :** | Cédric LAURENT | Professeur des Universités, LEM3 CNRS, Université de Lorraine<br>Professeur des Universités-Praticien hospitalier |
| **Co-directrice de thèse :** | Halima KERDJOUDJ | Professeur, BIOS, Université de Reims |
| **Co-encadrante de thèse :** | Jessica SCHIAVI-TRITZ | Chargée de recherche, LRGP CNRS, Université de Lorraine |

# Résumé

Les bioprocédés de culture cellulaire constituent un élément clef de la médecine régénératrice, notamment dans la production de sécrétomes fonctionnels qui peuvent être incorporés dans un hydrogel ou être injectés. Le contrôle du microenvironnement autour des cellules permet de les stimuler mécaniquement. Cette thèse se concentre sur l'étude de la lévitation acoustique comme méthode de stimulation mécanique sans contact de cellules ensemencées dans des gouttes de solutions de polymère. Un banc expérimental a été développé, intégrant une modulation contrôlée du champ acoustique, afin d'induire des compressions cycliques des gouttes en lévitation, à différentes fréquences et amplitudes. Les solutions utilisées, d'origine naturelle issus de la gelée de Wharton du cordon ombilical ou de collagène de tendon de queue de rat, ont été caractérisés mécaniquement afin de mieux comprendre le comportement et la dynamique de réponse des gouttes lévitation. L'influence de ces propriétés mécaniques, ainsi que la tension de surface, sur la forme, la stabilité des gouttes et le phénomène d'évaporation ont également été étudiés afin d'améliorer la maîtrise du banc expérimental. Par ailleurs, l'élaboration d'un premier modèle *in silico*, fondé sur les observations expérimentales et les propriétés mécaniques mesurées, permet d'établir des cartographies de contraintes et déformations au sein des gouttes, d'interpréter les résultats obtenus et de fournir des résultats prédictifs pour d'autres configurations expérimentales. Enfin, des tests préliminaires sur des cellules ont été réalisés afin d'évaluer la faisabilité et le potentiel de cette approche. L'ensemble de ces travaux ouvrent la voie à l'utilisation d'un bioprocédé innovant sans contact et à de potentielles perspectives d'applications en médecine régénérative.

Mots-clés : Mécanobiologie ; Lévitation acoustique ; Cellules ; Biologie cellulaire ; Médecine régénérative ; Analyse par éléments finis

# Abstract

Bioprocesses represents a major challenge is regenerative medicine, such as the production of functional secretomes that can be incorporated in a hydrogel or injected. Controlling the microenvironment therefore enables the mechanical stimulation of cells. This work focuses on the study of the acoustic levitation as a method to mechanically stimulate cells embedded in polymer solution droplets. An experimental bench was developed, incorporating a controlled modulation of the levitator acoustic field, in order to induce cyclic compressions of the levitating droplets at different frequencies and amplitudes. The hydrogels, derived from materials or natural origins such as Wharton's jelly from the umbilical cord or collagen from rat tail tendon, were mechanically characterized to better understand the behavior and dynamic response of the levitating droplets. The impact of theses mechanical properties, along with surface tension, on the shape and stability of the droplets and the evaporation process were also studied in order to better control the experimental setup parameters. In addition, the development of an initial *in silico* model, based on experimental observations and the measure mechanical properties, provides map stresses and strains within the droplets, thus enabling a better interpretation of the obtained results and even predictive outcomes for other experimental configurations. Finally, preliminary tests on cells were performed to assess the feasibility and potential of this new approach. Together, these studies are paving the way for the use of an innovative contactless bioprocess and potential applications in regenerative medicine.



Mots-clés : Mecanobiology ; Acoustic levitation ; Cells ; Cellular biology ; Regenerative medicine ; Finite element analysis

# Remerciements

Résumer 3 ans et demi de thèse, ce n'est pas une mince affaire. Cela a été des années remplies de rencontres, d'émotions et de souvenirs tous aussi marquants les uns que les autres. Et cette thèse je la dois tout particulièrement à différentes personnes qui m'ont aidées et soutenues, grâce à qui j'ai pu apprendre et découvrir le monde de la recherche.

Tout d'abord, je remercie chacun de mes encadrants :
A **Cédric Laurent** je me souviens quand je suis passée te voir avec le souhait de faire une thèse et que tu m'as proposé de travailler sur ce projet : merci beaucoup de m'avoir donnée cette magnifique chance et d'avoir cru en moi. Tes conseils et ta patience à mes 36 mille questions (et doutes) m'ont été d'un grand soutien !
A **Halima Kerdjoudj** merci pour ton aide, tes conseils, de m'avoir donné l'opportunité de travailler avec ton équipe et de découvrir une autre facette de la biologie.
A **Jessica Schiavi**, merci pour tous ces moments d'écoute bienveillante, pour ta patience, ta douceur et tes conseils. De m'avoir accompagnée et fait découvrir l'Irlande et pour ton indéfectible soutien, tu as été pour moi un ange gardien : merci pour tout !

Je remercie **Cécile Legallais** et **Christophe Noël** d'avoir accepté d'évaluer ce manuscrit ainsi que **Dominique Vautier** pour sa disponibilité et sa participation au jury.
A **Rachid Rahouadj** tout particulièrement, grâce à qui j'ai découvert le monde de la biomécanique ! Depuis notre petit projet sur les cellules, tu m'as toujours accompagnée et partagé tes connaissances ainsi que ta sagesse. Merci d'avoir cru en moi et pour tes messages de soutien qui m'ont beaucoup aidés.
A **Ophélie Caballina** et **Guillaume Castanet**, pour cette collaboration enrichissante ! J'ai beaucoup aimé travailler sur ce dispositif original qu'est la lévitation acoustique et sur ses différents aspects.

Aux membres du CSI, **Jean-Louis Milan** et **Maxime Vassaux**, pour votre écoute et vos conseils.

A tous les membres de mon équipe LEM3 : **Emilie De Brosses**, **Anne-Sophie Bonnet**, **Cynthia Dreistadt**, **Jean-François Ganghoffer** et **Jean-François Schmidt**. Et je remercie tout particulièrement **Adrien Baldit** pour ton calme et soutien pendant ces années avec le club de biomécanique. J'ai adoré y participer et partager le monde de la recherche avec

d'autres étudiants/doctorants. Aux doctorants, **Emilien, Caio, Alexis, Marine, Diego et Jeanne**, malgré la distance Nancy-Metz, pour les moments conviviaux dans la bonne humeur et les congrès qu'on a pu vivre ensemble.
A **Yves** qui m'a aidé à mettre en place la salle de manips, et pour tes bons conseils.
A **Nagham** et **Abdallah**, pour nos discussions anglais-français et nos pauses café.

A BIOS Reims : à **Anaïs** pour ton aide, ta disponibilité et temps partagé lors de mes séjours à Reims.

Au LRGP : aux différents doctorants et ingénieurs qui m'ont intégrés dans l'équipe notamment **Léa**, **Kevin** et **Baptiste**. Merci pour ces bons moments, pour votre joie de vivre et pour vos conseils à mes questions en manips.

A IMoPa : en particulier **Hervé Kempf** et **Romain** pour cette aventure avec ORION, pour les moments de rire (à refaire la session lancer de haches !).

To Kevin Moerman, for your advice and time ! Maybe we will be able to work together again sometime in the future.
To Genna and Heidi, for welcoming me into your home and showing me the beauty of Ireland. And to all the others I met during my stay, I hope to see you again some day !

A mon labo adoptif le LEMTA : merci à chacun et chacune d'entre vous de m'avoir intégré à la vie du labo et aux différents évènements ! A **Kaoutar**, du banc de l'ENSEM à notre doctorat ensemble, merci pour tous ces moments à rire, à discuter de tout et de rien. Ta gentillesse, ton calme et ta présence m'ont toujours apporté beaucoup de réconfort.
A **Thomas**, pour ta bonne humeur et ta joie de vivre, qui m'ont rappelé l'importance de toujours voir les choses de manière positive. Je remercie tout particulièrement ceux avec qui j'ai pu travailler sur les différents aspects de la thèse, notamment **Nicolas Louvet**, **Hadrien Chaynes**, **Stéphane André**, **Pascal**, **Simon**, **Franck** et toutes les autres personnes (promis je ne vous oublie pas) qui m'ont aidé, guidé et répondu à toutes mes questions.
Au groupe CNRS du midi : **Guillaume E.**, **Giuseppe**, **Emeric**, **Valentin**, **Hatim** merci de m'avoir intégré, pour vos blagues douteuses qui m'ont toujours fait rire, pour les discussions et conseils.

A mes amis :
Mon Preux Pierrot **Victorin** : tel un chevalier, je sais que je peux toujours compter sur toi. Merci pour ta bonne humeur, ton honnêté rafraîchissante, de me montrer la beauté du monde à travers tes yeux et pour nos moments passés (et à venir) : you are the best !
A mes amis d'écoles d'ingénieurs : **Corentin**, pour nos dicussions à toute heure de la journée et de la nuit, pour ton soutien et ta patience à mes mille reels par jour. **Arnaud M.** pour ta

gentillesse et pour tes bons repas (surtout les sushis) qui me manquent.
A la bande du lycée : **Mathieu**, **Thibault**, **Clément** et **Alice**, sacré bout de chemin depuis ! Pourtant quand on se voit j'ai toujours l'impression que c'était hier. Merci d'avoir toujours gardé votre âme d'enfant et joie de vivre !

Aux belles rencontres lors des évènements et congrès, en particulier **Sarah-Maud**, pour ta joie et bonne humeur contagieuse, et nos aventures dans les différentes villes de France.
A toutes les personnes de l'ENSEM, les membres de la direction, les enseignants-chercheurs et personnels techniques ou administratifs, qui ont toujours été accueillants et prêts à répondre à mes questions et besoins.
Aux membres du CNRS, pour leur disponibilité notamment **Sabine Bourson** qui a été soucieuse de m'aider et de m'accompagner dans mes besoins liés à mon handicap.
A **Marie-Anne Combeau**, de l'URAPEDA, qui a oeuvré à la mise en place des aides techniques en lien avec la surdité, pour son soutien et son accompagnement dans les formations de sensibilisation au handicap.

A ma famille : vous avez été mon soutien et ma force pendant ces années !
A mes cousins, **Christophe** et **Julie** pour les bons moments en famille. **Angela** and **Dan** for the good moments we shared in the US. And to **Anthony**, for your support messages, our scientific conversations and the best memories from our trip to Paris, please come back soon to France ! A mon oncle **Wayne** et ma marraine **Eliane**, toujours très attentionnée, et qui, malgré les 9000 km de distance, m'ont toujours encouragés et envoyés des messages de soutien. J'espère vous revoir bientôt !
A ma belle-soeur **Mathilde** pour ces moments de patage dans la joie et dans la bonne humeur, pour ton soutien et tes petits messages encourageants.
A **Vincent** pour ton soutien et tes délires qui m'ont aidé à décompresser ces derniers mois.
Merci à mon grand frère **Arnaud**, pour ta présence, tes conseils et ta sagesse, qui m'ont toujours apporté de la sérénité. De pouvoir partager avec toi la science est un bonheur. Tu es un exemple pour moi.
Merci à ma grande soeur **Elé** (alias Bibi), pour ton humour, ta joie, pour nos soirées films et discussions en tout genre et pour les mini "rappels" à la vie. Ta présence est toujours un réconfort pour moi, tu sais toujours trouver les mots qui me rassurent et me réconfortent.
A ma petite nièce **Anna**, pour ta douceur et ton amour, de toujours te soucier si je vais "bien", tu es mon petit rayon de soleil ! A mon neveu **Bastien**, pour ton incroyable énergie et joie de vivre, garde les toujours ! Et à la dernière née pendant la thèse, ma petite nièce **Claire**, qui nous illumine déjà par son sourire.
A mes grands-parents, à qui je pense si souvent, vous me manquez, en particulier ma chère **Mamy**, d'avoir été ma coloc et pour ton soutien sans faille. Merci de veiller sur moi depuis là-haut !
Enfin à mes parents : aucune dédicace ne sera suffisante pour vous dire à quel point je vous

suis reconnaissante pour tout ce que vous avez fait, d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir donné les moyens de réaliser mes rêves malgré mon handicap. **Papa**, pour ta présence rassurante et ton écoute, de m'avoir fait découvrir la technique et d'être toujours là quoi qu'il arrive. **Maman**, tu as été et est ma force chaque jour, avec une patience infinie à mes milliards de questions sur la vie et l'avenir. Merci pour toutes ces années à travailler ensemble, de m'avoir donné une voix, la chance de m'exprimer et d'apprendre : cette thèse c'est grâce à vous.

Et bien sûr je n'oublie pas mon chien d'assistance **Pippa** (alias Pépette) pour sa patience et douceur, pour sa présence sans faille (et ses ronflements) réconfortants au labo et à la maison pendant les longues heures de rédaction. Tu es une boule d'amour !

*A toi ma chère Mamy, qui nous a quittée pendant la thèse, à qui j'aurais tant voulu montrer cette version finale. Liebste Oma auf der Welt.*

*Dans la vie, rien n'est à craindre, tout est à comprendre. - Marie Curie*

# Valorisation des travaux

## Publications

La chapitre 1 de l'état de l'art, concernant la mécanobiologie de l'os ainsi que les différentes méthodes expérimentales et de simulation sur l'impact de stimulations mécaniques à différentes fréquences ont fait l'objet d'un article de revue dans le journal *Medical Engineering and Physics* : E. Wiedemann-Fodé et al 2025 Med. Eng. Phys. 10.1016/j.medengphy.2025.104369 "*Effects of mechanical stimuli on bone cells for regenerative medicine : A review of recent experimental and computational methods*".

Les travaux concernant les résultats de l'effet de la tension d'entrée et de sa modulation sur la dynamique des gouttes ainsi que du processus d'évaporation sont prêts à être soumis dans le journal *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* : E. Wiedemann-Fodé et al "*Controlled cyclic compression of biomaterial droplets via voltage-modulated acoustic levitation*". Ces travaux sont exposés dans les Chapitres 3 et 4.

## Présentations

Les travaux préliminaires sur la mise en place du banc expérimental destiné à l'étude de l'effet de la tension d'entrée et de sa modulation ont été présentés sous forme de poster lors du congrès international Process Development Symposium Europe 2024 : E. Wiedemann-Fodé et al *Development of a bioprocess to mechanically stimulate cells by acoustic levitation.*

Le dispositif expérimental ainsi que les mesures de tension d'entrée, d'évaporation et d'écoulement ont été présentés oralement lors de trois congrès distints :

- 10th International Symposium on Stem Cells and Regenerative Medicine, du 9 et 10 octobre 2024 à Nancy.
- 49$^{\text{ème}}$ congrès de la Société de Biomécanique, du 29 au 31 octobre 2024 à Compiègne, avec notamment un acte de congrès publié dans le journal Multidisciplinary Biomechanics Journal : E. Wiedemann-Fodé et al *Acoustic levitation : a new process to stimulate stem cells for regenerative medicine*
- GDR Mécabio Santé, du 3 au 5 décembre 2024 à Metz.

Les travaux de caractérisation des matériaux et la mise en place du modèle *in silico* ont fait l'objet d'une présentation orale lors du 50ème congrès de la Société de Biomécanique, du 27 au 29 octobre 2025 à Marseille, avec notamment un acte de congrès publié dans le journal Multidisciplinary Biomechanics Journal : E. Wiedemann-Fodé et al *Mechanical characterization and computational modelling of a levitating hydrogel droplet to stimulate cells.*

# Regroupement

### Articles scientifiques

1. Effects of mechanical stimuli on bone cells for regenerative medicine : a review of recent experimental and computational methods. E. Wiedemann-Fodé, J. Schiavi-Tritz, H. Kerdjoudj, C. Laurent. Medical Engineering and Physics, 2025.
   doi : 10.1016/j.medengphy.2025.104369
2. Controlled cyclic compression of biomaterial droplets via voltage-modulated acoustic levitation. E. Wiedemann-Fodé, G. Castanet, O. Caballina, N. Louvet, A. Lavrand, J. Schiavi-Tritz, H. Kerdjoudj, C. Laurent. En cours de soumission.

### Actes de congrès nationaux

1. Acoustic levitation : a new process to stimulate stem cells for regenerative medicine. E. Wiedemann-Fodé, C. Laurent, H. Kerdjoudj, J. Schiavi-Tritz. 49ème congrès de la Société de Biomécanique. 2024
2. Mechanical characterization and computational modelling of a levitating hydrogel droplet to stimulate cells E. Wiedemann-Fodé, A. Lavrand, N. Louvet, C. Po, S. Chatelin, O. Caballina, J. Schiavi-Tritz, K. Moerman, H. Kerdjoudj, C. Laurent. 50ème congrès de la Société de Biomécanique. 2025

# Table des matières

**1 État de l'art** **1**

1.1 Introduction à l'os et à la mécanobiologie : fondements et enjeux . . . . . 3

1.1.1 L'os, un tissu dynamique et composite . . . . . 3

1.1.2 Mécanobiologie : concepts, avancées et perspectives . . . . . 5

1.2 Stratégies expérimentales pour l'ingénierie de l'os via la stimulation des cellules souches . . . . . 11

1.2.1 Reproduction du microenvironnement cellulaire . . . . . 11

1.2.2 Dispositifs expérimentaux permettant la stimulation mécanique de cultures cellulaires . . . . . 15

1.3 Modélisation *in silico* en mécanobiologie osseuse : état de l'art et perspectives . 26

1.3.1 Méthodes des éléments finis FEM et CFD . . . . . 27

1.3.2 Interactions fluide-structure : couplage CFD/FEM . . . . . 27

1.3.3 Simulation de la pression acoustique et de la propagation d'ondes . . . . 29

1.3.4 Comparaison approches continues et basés sur agent . . . . . 30

**2 Stimulation par lévitation acoustique : développements expérimentaux et numériques** **33**

2.1 Introduction à la lévitation acoustique . . . . . 36

2.1.1 Principes physiques fondamentaux . . . . . 36

2.1.2 Force de radiation acoustique . . . . . 40

2.1.3 Relation entre SPL, amplitude acoustique $A0_e$ et pression de radiation acoustique . . . . . 42

2.1.4 Paramètres influents du procédé de lévitation acoustique . . . . . 43

2.2 Mise en place du banc expérimental . . . . . 52

2.2.1 Description du dispositif . . . . . 52

2.2.2 Contrôle et étude de la tension d'entrée . . . . . 55

2.2.3 Etude de l'évaporation . . . . . 57

2.2.4 Modulation contrôlée et automatique : vers des compressions cycliques . 59

2.2.5 Vélocimétrie par Image de Particles (PIV) . . . . . 61

2.2.6 Post-traitement des données acquises pendant la lévitation . . . . . 61

2.2.7 Incertitudes et limites . . . . . 65

2.3 Modélisation numérique de la goutte en lévitation acoustique . . . . . 66

2.3.1 Reconstruction géométrique de la goutte . . . . . 67

2.3.2 Maillage . . . . . 67

2.3.3 Conditions aux limites . . . 68
2.3.4 Stratégies de stabilisation du modèle . . . 69
2.3.5 Chargement . . . 70
2.3.6 Post-traitement . . . 75

**3 Caractérisation physico-chimique et préparation des matériaux 78**
3.1 Description des matériaux . . . 81
3.1.1 Propriétés de l'alginate et intérêt en ingénierie tissulaire . . . 81
3.1.2 Biomatériaux dérivés de tissus d'origine naturelle . . . 81
3.2 Sélection des matériaux . . . 82
3.2.1 Essais préliminaire avec des billes d'alginate . . . 83
3.2.2 Essais préliminaires sur la lévitation de solutions de forme cylindrique . . . 84
3.3 Préparation des solutions de polymère . . . 86
3.3.1 Protocole des solutions d'alginate . . . 87
3.3.2 Protocole des solutions d'origine naturelle . . . 88
3.4 Caractérisation mécanique et physico-chimique des solutions de polymère . . . 90
3.4.1 Rhéologie . . . 91
3.4.2 Propriétés interfaciales . . . 101
3.4.3 Essais mécaniques complémentaires . . . 106
3.5 Modélisation du comportement des solutions pour leur implémentation dans les simulations numériques . . . 115
3.5.1 Modèles rhéologiques usuels . . . 115
3.5.2 Détermination des paramètres viscoélastiques . . . 116
3.5.3 Implémentation dans les simulations numériques . . . 119

**4 Analyse du comportement de solutions de polymère lors de la lévitation acoustique 121**
4.1 Effet de la tension d'entrée sur la goutte . . . 124
4.1.1 Paramètres géométriques en fonction de la tension d'entrée . . . 124
4.1.2 Influence des caractéristiques des solutions de polymère . . . 129
4.1.3 Oscillations et instabilité des gouttes en lévitation acoustique . . . 130
4.2 Modulation de la tension d'entrée et réponse dynamique des gouttes . . . 134
4.2.1 Résultats expérimentaux . . . 134
4.2.2 Analyse numérique préliminaire des modes de résonance des gouttes de solutions . . . 144
4.2.3 Comportement en résonance . . . 146
4.3 Evaporation . . . 147
4.3.1 Evaporation sans enceinte . . . 147
4.3.2 Evaporation avec enceinte . . . 149
4.4 Analyse des écoulements internes par PIV . . . 152

4.5 Simulation du profil déformé des gouttes en lévitation sur la base d'un modèle analytique . . . 155
4.5.1 Description du modèle analytique . . . 155
4.5.2 Paramètres physiques utilisés . . . 156
4.5.3 Evaluation numérique des gouttes . . . 157
4.6 Simulation numérique du microenvironnement méca-nique au sein des gouttes par la méthode des éléments finis . . . 171
4.6.1 Convergence de maillage . . . 172
4.6.2 Tests de simulation . . . 172

**5 Applications biologiques et perspectives 176**
5.1 Applications biologiques : études de faisabilité . . . 179
5.1.1 Tests préliminaires : lévitation sous PSM et évaporation . . . 179
5.1.2 Effets de la lévitation sur la composition et la structure des solutions . . . 181
5.1.3 Caractérisation de la viabilité cellulaire . . . 184
5.1.4 Analyse de l'adhérence cellulaire post-lévitation . . . 187
5.1.5 Conclusions . . . 188
5.2 Perspectives en mécanobiologie et en ingénierie des procédés . . . 190
5.2.1 Amélioration du contrôle de l'environnement : température et humidité . . . 190
5.2.2 Automatisation du passage des gouttes . . . 191
5.2.3 Extension de la DMA aux fluides non newtoniens . . . 193
5.2.4 Modélisation numérique de la goutte et méthode inverses . . . 193
5.1 Annexe du chapitre 3 . . . 196
5.2 Annexe du chapitre 4 . . . 196
5.2.1 Effet de la tension sur la forme des gouttes . . . 196
5.2.2 Ratios des gouttes . . . 201
5.2.3 Volume des gouttes selon les deux méthodes . . . 202
5.2.4 Spectres FFT . . . 203
5.2.5 Amplitudes des fréquences imposées . . . 206
5.2.6 Amplitudes des fréquences imposées . . . 208
5.2.7 Valeurs d'évaporation des gouttes . . . 211
5.2.8 Valeurs de SPL et tension d'entrée . . . 211

# Liste des tableaux


1.1 **Résumé des conditions de culture et des réponses cellulaires selon différents stimuli mécaniques (même code couleur que Figure 1.5).** . . 23

3.1 **Comparaison des propriétés de la gelée de Wharton et du collagène de tendon de rat.** . . . . . 82
3.2 **Mesures des angles de contact (AC) moyen, gauche et droite pour les six échantillons.** . . . . . 102
3.3 **Valeurs mesurées de tension de surface (en mN/m) pour chaque solution.** 106
3.4 **Fréquences des essais d'élastographie pour chacun des échantillons.** *Les cases cochées (✓) indique une fréquence adaptée pour une acquisition fiable, les triangles (⚠) signalent une utilisation limitée (atténuation ou faible rapport signal/bruit) et les croix (×) indiquent une fréquence non exploitable. Ces limites dépendent de la composition des solutions et de la concentration d'alginate.* . . . 111
3.5 **Modules de cisallement $G$ obtenus par ERM à différentes fréquences d'excitation** *Valeurs correspondant au module complexe $|G^*|$ pour les solutions : alginate 2 %, alginate 4 %, WJ et RT.* . . . . . 114
3.6 **Modules de cisaillement $G_i$ et temps de relaxation $\tau_i$ des différentes solutions.** . . . . . 118
3.7 **Paramètres viscoélastiques obtenues pour les différentes solutions.** . . 120

4.1 **Paramètres physiques utilisés dans les simulations.** . . . . . 156

5.1 **Résumé des ratios minimum et maximum pour toutes les solutions et volumes.** . . . . . 202
5.2 **Comparaison des volumes mesurés par les méthodes sphéroïdale et par intégration verticale pour chaque solution et volume.** . . . . . 203
5.3 **Amplitude des gouttes mesurées en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 1 %, Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.** . . . . . 207
5.4 **Amplitude des gouttes mesurées en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 2 %. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.** . . . . . 207
5.5 **Amplitude des gouttes mesurées en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 3 %. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.** . . . . . 207

5.6 **Amplitude des gouttes mesurées en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 4 %. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.** . . . . . 208
5.7 **Amplitude des gouttes mesurées en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour la solution WJ. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.** . . . . . 208
5.8 **Amplitude des gouttes mesurées en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour la solution de RT. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.** . . . . . 208
5.9 **Amplitude des gouttes mesurées à 100 Hz en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 1 %. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.** . . . . . 209
5.10 **Amplitude des gouttes mesurées à 100 Hz en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 2 %. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.** . . . . . 209
5.11 **Amplitude des gouttes mesurées à 100 Hz en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 3 %. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.** . . . . . 209
5.12 **Amplitude des gouttes mesurées à 100 Hz en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 4 %. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.** . . . . . 210
5.13 **Amplitude des gouttes mesurées à 100 Hz en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour la solution de WJ. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.** . . . . . 210
5.14 **Amplitude des gouttes mesurées à 100 Hz en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour la solution de RT. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.** . . . . . 210
5.15 **Pourcentage d'évaporation des gouttes avec enceinte à deux temps caractéristiques, calculé à partir des volumes obtenus par les méthodes sphéroïde et verticale. Les valeurs sont exprimées sous forme moyenne ± écart-type.** . . . . . 211
5.16 **Résumé des volumes et SPL pour les différentes concentrations d'alginate.** . . . . . 211
5.17 **Résumé des volumes et SPL pour les solutions d'origine naturelle.** . . 212
5.18 **Ratio expérimental et SPL équivalente pour les gouttes de volume 5 µL,** . . . . . 212
5.19 **Ratio expérimental et SPL équivalente pour les gouttes de volume 5 µL - suite -** . . . . . 213
5.20 **Ratio expérimental et SPL équivalente pour les gouttes de volume 9 µL** 213

5.21 **Ratio expérimental et SPL équivalente pour les gouttes de volume 9 µL - suite -** . . . . . 214
5.22 **SPL moyen tout échantillon confondu.** . . . . . 214

# Table des figures


1.1 **Squelette d'un adulte humain** . . . . . 3

1.2 **Organisation du tissus osseux.** *(a) Coupe transversale de l'os cortical mettant en évidence son organisation hiérarchique. On y distingue les ostéons (systèmes de Havers), les canaux de Havers et de Volkmann, ainsi que les lacunes contenant les ostéocytes* [1]. *(b) Coupe histologique de l'os cortical, montrant des ostéons alignés le long de l'axe de l'os dont chaque ostéon comprend un canal central vascularié et entouré de lamelles concentriques. (c) Coupe histologique de l'os trabéculaire : les intervalles étant remplis de moelle osseuse rouge composée de cellules souches hématopoiétique, d'adipocytes et de vaisseux sanguins.* [2] . . . . 4

1.3 **Méchanotransduction et homéostasie osseuse**. *L'homéostasie osseuse résulte de l'équilibre entre la formation osseuse assurée par les ostéoblastes et la résorption effectuée par les ostéoclastes. Les ostéocytes, principaux mécanosenseurs du tissu osseux, détectent divers stimuli mécaniques - tels que la contrainte de cisaillement ($\tau$), la déformation ($\epsilon$) et pression hydrostatique - puis convertissent ces sollicitations en signaux biochimiques modulant l'activité des cellules effectives.* . 7

1.4 **Comparaison des environnements de culture cellulaire et des dispositifs expérimentaux.** *Schéma illustrant les principaux types d'environnements de culture : (a) cultures 2D sur surfaces planes, (b) cultures 3D reproduisant un microenvironnement plus proche du tissu natif, et (c) dispositifs expérimentaux permettant d'appliquer des stimuli mécaniques, incluants les bioréacteurs.* . . . . 12

1.5 **Frise fréquentielle des différentes stimulations mécaniques appliquées aux cellules.** *Plage de fréquences associées aux quatre types de stimulation : (vert) lévitation acoustique, (bleu) compression de structures de culture/matrices poreuses, (violet) bioréacteurs à écoulement fluide, et (orange) ultrasons, avec exemples d'application.* . . . . . 16

1.6 **Organisation spatiale des cellules de l'épithélium par lévitation.** *(a) Image de l'agrégat cellulaire (barre d'échelle : 15 µm), (b) répartition des forces acoustiques axiale $F_A$ et latérale $F_L$, (c) modélisation du champ acoustique montrant les densités d'énergie normalisées, et (d-e) schéma et photographie du dispositif.* . . . . . 20

1.7 **Structuration et maturation neuronale en lévitation acoustique.** *(Gauche et centre) Assemblage et maintien en suspension de structures tissulaires multicouches en 3D issues de hESCs par lévitation acoustique dans une matrice de fibrine ; (droite) différenciation en tissu neuronal 3D présentant des prolongements neuritiques.* . . . . . 20

1.8 **Formation de sphéroïdes et différenciation ostéoblastique en lévitation.** *(a) Dispositif expérimental de lévitation acoustique permettant le maintien et l'observation des cellules. (b) Séquence temporelle de l'auto-organisation des monocouches cellulaires en sphéroïdes stables. (c) Evolution des dimensions des agrégats au cours du temps. (d-f) Analyses de viabilité et histologiques des sphéroïdes après 24h de lévitation : Live/Dead, H&E (structure générale) et Ki67 (prolifération).* . . . . . 21

1.9 **Agrégation et activité paracrine des sphéroïdes hMSCs.** *(Gauche) Schéma du dispositif de lévitation acoustique montrant l'agrégation des hMSCs en sphéroïdes. (Droite) Mise en oeuvre des sphéroïdes chez la souris pour tester l'effet sur la régénération après l'induction d'une ischémie des membres postérieurs, avec augmentation de l'angiogenèse et prolifération cellulaire.* . . . . . 22

1.10 **Représentation schématique des interactions entre simulations et échelles biologiques.** *Chaque case correspond à un couple FEM/CFD et macro/micro, avec les entrées appliquées et les sorties obtenues.* . . . . . 28

1.11 **Comparaison des modèles continus et des modèles basés sur agents (ABM).** *Avantages et inconvénients entre les deux approches mécanobiologiques.* 31

2.1 **Lévitateur acoustique.** *Dispositif composé d'un transducteur placé au-dessous et d'un réflecteur réglable par micromètre au-dessus, permettant de créer un champ acoustique stationnaire grâce à la superposition des ondes incidentes et réfléchies* [**?** ]. . . . . 37

2.2 **Profils acoustiques dans un lévitateur.** *Profils de pression, de vitesse et de force acoustique exercée sur les gouttes ou objets, illustrant les différences entre ces grandeurs dans le champ stationnaire du lévitateur. L'axe représenté ici correspond à la direction $z$, bien que les expressions analytiques du manuscrit soient formulées selon $x$, le principe physique restant identique.* . . . . . 39

2.3 **Représentations du champ acoustique dans le lévitateur.** *(a) Approche simplifée dans Matlab, représentant les ondes incidente (rouge), réfléchie (vert) et stationnaire résultant leur superposition. (b) Simulation du champ et distribution de pression réalisée dans Comsol pour un lévitateur de 28 kHz : l'axe vertical (H/S) représente la position normalisée entre le transducteur et le réflecteur, l'axe horizontal (D/m) la position latérale en mètres, et l'échelle de couleurs indique l'amplitude de la pression acoustique* [3]. . . . . 40

2.4 **Compression d'une goutte en lévitation acoustique**. *Le champ scalaire représente la pression acoustique appliquée par le lévitateur. Cette pression est positive aux pôles, et l'incompressibilité du fluide entraîne une redistribution interne qui rend la pression relative négative à l'équateur. Néanmoins, il ne s'agit pas d'une pression acoustique réelle négative ni d'une force de succion* [4]. . . . . 44
2.5 **Mouvement de translation en mm des gouttes (eau-éthanol-glycérol-acétate) selon l'axe transversal x (a) et vertical y (b)** . . . . . 45
2.6 **Transformée de Fourier Rapide (FFT) du mouvement de translation des gouttes selon l'axe transversal x (a) et selon l'axe vertical y (b)** . . 45
2.7 **Vue de dessous de gouttes d'eau en lévitation acoustique, ayant un motif en étoile de deux (a) à sept (f)** [5]. . . . . 46
2.8 **Représentation des différents modes de résonance pour une goutte de glycérol, obtenue via modélisation par éléments finis : mode 1 (seesaw) à gauche, mode 2 (saddleback) au milieu et mode 3 (monkey saddle) à droite** [6]. . . . . 47
2.9 **Champ acoustique externe et interne.** *Représentation schématique du champ acoustique autour de la goutte (en rouge), dont les traits illustrent le courant acoustique interne à la limite de la couche limite acoustique et le courant acoustique externe. (extrait de* [7]) . . . . . 48
2.10 **Ecoulements internes dans une goutte soumise à des oscillations sectorielles.** *Visualisation des écoulements internes par vélocimétrie par images de particules (PIV) à partir d'une vue du dessous de la goutte. Les oscillations sectorielles correspondent à des modes de déformation non asymétriques, caractérisés par l'apparition de plusieurs lobes répartis angulairement autour de la goutte* [5]. 49
2.11 **Représentation du banc expérimental avec l'utilisation des différentes méthodes de mesure** (obtenue par Autodesk et Blender). . . . . 53
2.12 **Tests préliminaires de différents matériaux**. . . . . 55
2.13 **Eléments pour la configuration d'étude de l'évaporation avec enceinte.** 59
2.14 **Schéma du protocole expérimental de modulation de la tension d'entrée.** *Les compressions cycliques sont appliquées en modulant la tension d'entrée (4,5 V ou 5,5 V) du transducteur à une fréquence comprise entre 10 Hz et 2 kHz.* . . 60
2.15 **Comparaison entre sphéroïde et ellipsoïde**. *(Gauche) Sphéroïde oblate obtenu par aplatissement d'une sphère selon un axe, présentant une symétrie de résolution. (Droite) Ellipsoïde dont les trois axes sont de longueur différentes.* . 63
2.16 **Etapes du traitement d'images et de vidéos.** *(Bleu) Opérations communes aux images et vidéos. (Orange) Etapes supplémentaires propres au traitement des vidéos.* . . . . . 65
2.17 **Applications de la boîte à outils *open source* GIBBON en pré- et post-traitement, issu de la plateforme** (https ://www.gibboncode.org/) . . 66

2.18 **Reconstruction géométrique de la goutte en lévitation à partir de ses axes maximale et minimale expérimentaux.** . . . . . 67
2.19 Maillage de deux sphères (interne et externe) relié par *tie constrait.* . . . . . 70
2.20 **Modélisation simplifiée de la distribution du champ de pression acoustique.** *(a) Coordonnées sphériques où l'angle zénithal* $\Theta$ *est mesuré par rapport à l'axe vertical de la goutte. (b) Sphéroide oblate avec distribution des valeurs de pression appliquées sur sa surface, définie en fonction de cet angle* $\Theta$*.* . . . . . 73
2.21 **Distribution des valeurs de pression acoustique sur la surface d'une goutte 2D.** . . . . . 74

3.1 **Essais préliminaires de lévitation de billes d'alginate : de la fabrication à la lévitation.** *(a) Fabrication des billes par gélification ionique à partir de gouttes d'alginate déposées dans une solution de* $CaCl_2$*. (b) Mesure de la taille des billes. (c) Lévitation d'un fragment de bille d'alginate réticulée, montrant qu'une réduction de taille permet la lévitation acoustique.* . . . . . 83
3.2 **Etapes de préparation des différentes variantes de solutions.** *Schéma représentant les différentes étapes, depuis le dépôt du prégel (1) jusqu'à la génération des différents dérivés d'hydrogels : (3) HN, (4-5) HAT et (6-7) HATP.* . . . . . 85
3.3 **Lévitation de différents échantillons d'hydrogels obtenus par poinçonnement.** 86
3.4 **Préparation des solutions d'alginate.** Les principales étapes constituent (a) la distribution de la poudre dans des flacons stériles, (b) la protection et autoclavage pour stérilisation, (c) l'ajout d'eau ultrapure stérile et l'agitation magnétique pour dissolution, et (d) l'état final des flacons de 50 mL montrant les différences de concentration par la coloration des solutions d'alginate (d). . . 88
3.5 **Illustration du processus d'élaboration des solutions d'origine naturelle.** *Schéma représentant les étapes principales pour obtenir les prégels à partir de la gelée de Wharton et du tendon de queue de rat. Les prégels obtenus peuvent ensuite être réhydratés pour former des solutions* . . . . . 89
3.6 **Processus d'élaboration des solutions dérivées de tissus biologiques à partir du prégel**. *Récupération du collagène de queue de rat (haut) et de la gelée de Wharton (bas) (1), prégels déshydratés obtenus après décellularisation, digestion enzymatique et lyophilisation pour les deux tissus (2), puis solutions obtenues après réhydratation des prégels, avec un aspect laiteux pour le collagène de queue de rat (gauche) et plus transparent pour la gelée de Wharton (droite) (3)* 90
3.7 **Résumé des essais de caractérisation mécanique et physico-chimique des matériaux.** *Schéma récapitulatif des différents essais réalisés en collaboration avec plusieurs laboratoires, dans le but de constituer une base de données complète pour l'analyse expérimentale et la modélisation numérique des solutions en lévitation acoustique.* . . . . . 91

3.8 **Rhéomètre et géométrie de mesure utilisés pour la caractérisation rhéologique**. *Le rhéomètre Anton Paar MCR 702e, associé à une géométrie plate-plate, a été utilisé pour réaliser l'ensemble des essais d'amplitude (amplitude sweep), de viscosité en régime stationnaire (flow curve) et de balayage fréquentiel (frequency sweep) effectués sur les différentes solutions.* . . . . . 93
3.9 **Détermination de la région viscoélastique linéaire (LVR) des solutions étudiées par balayage en amplitude.** *Balayages en amplitude réalisé en régime oscillatoire pour les six solutions : alginate 1 % (jaune), alginate 2 % (vert), alginate 3 % (bleu foncé), alginate 4 % (bleu clair), WJ (rouge) et RT (violet).* . . . . . 95
3.10 **Réponse viscoélastique dynamique des solutions étudiées en balayage de fréquence.** *Balayages en fréquence réalisés en régime oscillatoire, à amplitude de déformation fixe, pour les six solutions : alginate 1 % (jaune), alginate 2 % (vert), alginate 3 % (bleu foncé), alginate 4 % (bleu clair), WJ (rouge) et RT (violet).* . . . . . 98
3.11 **Courbes d'écoulement en régime stationnaire des solutions étudiées.** *Mesures de viscosité apparente en régime stationnaire pour les six solutions : alginate 1 % (jaune), alginate 2 % (vert), alginate 3 % (bleu foncé), alginate 4 % (bleu clair), WJ (rouge) et RT (violet).* . . . . . 100
3.12 **Mouillabilité des différentes solutions évaluées par mesure des angles de contact.** *Gauche : boxplots des angles de contact moyens pour chaque solution, calculés comme la moyenne des angles gauche et droit. Droite : Boxplots séparés des angles mesurés à gauche (hachurés) et à droite (pleins) pour chaque solution.* . . . . . 102
3.13 **Profils des gouttes et angles de contact moyens gauche/droit des différentes solutions.** *Profils de gouttes déposées sur les différentes solutions : (a) alginate 1 %, (b) alginate 2 %, (c) alginate 3 %, (d) alginate 4 %, (e) WJ et (f) RT. Les valeurs indiquées correspondent aux angles de contact moyen à gauche ($\theta_L$) et à droite ($\theta_R$), permettant de visualiser la mouillabilité relative de chaque solution.* 103
3.14 **Utilisation de la méthode de l'anneau Du Noüy pour la mesure de tension de surface des solution.** . . . . . 105
3.15 **Boxplot des valeurs de tension sur surface des différentes solutions.** *Comparaison des valeurs de tension surface entre les solutions d'origine naturelle (WJ et RT) et les solutions synthétiques à base d'alginate à différentes concentrations (1 % à 4 %).* . . . . . 105
3.16 **Système d'Analyse Mécanique Dynamique (DMA) utilisé pour la caractérisation des solutions.** *(a) Vue générale du système DMA combinant (b) une cuve oscillante contenant la solution et un piston et (c) fermeture par une enceinte permettant de réguler la température de l'échantillon selon les besoins expérimentaux (chauffage et refroidissement).* . . . . . 107

3.17 **Raideur dynamique des solutions de polymère d'origine naturelle en fonction de la fréquence.** *Evolution des modules de raideur dynamique K' et K" en fonction de la fréquence pour les solutions WJ (K' en rouge clair, K" en rouge foncé) et RT (K' en violet clair, K" en violet foncé).* . . . . . 109
3.18 **Cartographies des modules de cisaillement obtenues par élastographie IRM pour différents matériaux et fréquences.** *(Images en gris : images de magnitude IRM (dessus) ; élastogrammes : cartographies des modules viscoélastiques, rigidité codée du bleu (faible) au rouge (fort) pour les solutions : (a) alginate 2 %, (b) RT, (c) alginate 4 % et (d) WJ.* . . . . . 113
3.19 **Comparaison expérimentale et modélisée des modules viscoélastiques des solutions.** *Modules de stockage $G'$ et de perte $G''$ obtenus expérimentalement (points) et simulés via la série de Prony (lignes) pour chacune des six solutions : (a) Alginate 1 % (jaune), (b) Alginate 2 % (vert), (c) Alginate 3 % (bleu foncé), (d) Alginate 4 % (bleu clair), (e) WJ (rouge) et (f) RT (violet).* . . . . . 119

4.1 **Forme des gouttes à tension minimale et maximale pour toutes les solutions à 13 µL**. *(a-c) Alginate 1 % ; (d-f) Alginate 2 % ; (g-i) Alginate 3 % ; (j-l) Alginate 4 % ; (m-o) WJ ; (p-r) RT. Pour chaque sous-figure : l'image de gauche montre la forme de la goutte à tension minimale et celle du milieu à tension maximale. L'image de droite illustre l'évolution de la forme de la goutte par la superposition des contours extraits entre les tensions minimale et maximale centrés à (0,0).* . . . . . 126
4.2 **Forme de la goutte de WJ en fonction de la tension appliquée à différents volumes**. *(a-c) Volume de 5 µL ; (d-f) Volume de 9 µL. Forme de la goutte de WJ aux tensions minimales et maximales, ainsi que superposition des contours extraits intermédiaires.* . . . . . 127
4.3 **Ratio axes majeur/mineur en fonction de la tension d'entrée sur les six solutions.** *Alginate 1 %, 2 % et 3 % respectivement en jaune, vert et bleu foncé (haut) et alginate 4 %, WJ et RT en bleu clair, rouge et violet (bas). Les trois volumes (5 µL, 9 µL et 13 µL) sont distingués par des marqueurs de type cercle, étoile et carré. La figure montre l'évolution du ratio de la goutte - indicateur de sa compression - en fonction de la tension d'entrée.* . . . . . 127
4.4 **Comparaison des volumes mesurés selon deux méthodes de calcul pour les six solutions.** *Alginate 1 %, 2 % et 3 % respectivement en jaune, vert et bleu foncé (haut) et alginate 4 %, WJ et RT en bleu clair, rouge et violet (bas). Les trois volumes (5 µL, 9 µL et 13 µL) sont distingués par nuances clair → foncé, et chaque volume est représenté par deux boxplots côte à côte, correspondant aux deux méthodes de calcul : la méthode sphéroïdale (boîte pleine) et la méthode par intégration verticale (boîte hachurée) .* . . . . . 128

4.5 **Position réelle de la goutte pour différents volumes pour les six solutions de polymère.** *Permettent d'illustrer l'instablité des gouttes en fonction du volume (5, 9 et 13 μL) à différentes valeurs de tension d'entrée pour les solutions : (a-c) Alginate 1 %, (d-f) Alginate 2 %, (g-i) Alginate 3 %, (j-l) Alginate 4 %, (m-o) WJ et (p-r) RT. L'augmentation du volume et/ou de la tension modifie la position réelle voir favoriser l'apparition d'instabilités.* . . . . . 131

4.6 **Vitesse de surface mesurée par vibrométrie laser pour deux viscosités d'alginate.** *Signal temporel de la vitesse de surface mesurée par vibrométrie laser sur des gouttes d'alginate en lévitation acoustique, à faible viscosité (0,5 %, rouge) et à forte viscosité (4 %, bleu). Un zoom est présenté sur le signal correspond à l'alginate 4 % afin de mieux visualiser ses valeurs minimales et maximales.* 132

4.7 **Spectres FFT des gouttes d'alginate 1 %.** *Les figures (a) à (e) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 0-10-100-200-500 Hz. Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (jaune clair) et à 5,5 V (jaune foncé). Les spectres des autres fréquences imposées sont présentés en annexes.* . . . . . 135

4.8 **Spectres FFT des gouttes d'alginate 2 %.** *Les figures (a) à (e) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 0-10-100-200-500 Hz. Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (vert clair) et à 5,5 V (vert foncé). Les spectres des autres fréquences imposées sont présentés en annexes.* . . . . . 136

4.9 **Spectres FFT des gouttes d'alginate 3 %.** *Les figures (a) à (e) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 0-10-100-200-500 Hz. Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (bleu clair) et à 5,5 V (bleu foncé). Les spectres des autres fréquences imposées sont présentés en annexes.* . . . . . 137

4.10 **Spectres FFT des gouttes d'alginate 4 %.** *Les figures (a) à (e) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 0-10-100-200-500 Hz. Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (cyan clair) et à 5,5 V (cyan foncé). Les spectres des autres fréquences imposées sont présentés en annexes.* . . . . . 138

4.11 **Spectres FFT des gouttes de WJ.** *Les figures (a) à (e) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 0-10-100-200-500 Hz. Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (rouge clair) et à 5,5 V (rouge foncé). Les spectres des autres fréquences imposées sont présentés en annexes.* . . . . . 139

4.12 **Spectres FFT des gouttes de RT.** *Les figures (a) à (e) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 0-10-100-200-500 Hz. Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (violet clair) et à 5,5 V (violet foncé). Les spectres des autres fréquences imposées sont présentés en annexes.* . . . . . 140
4.13 **Amplitude de déformation en fonction de la fréquence imposée.** *Amplitude mesurée pour les six solutions sous (a) 4,5 V et (b) 5,5 V. Les matériaux sont : alginate 1 % (jaune), alginate 2 % (vert), alginate 3 % (bleu foncé), alginate 4 % (cyan), WJ (rouge) et RT (violet). Les valeurs correspondent à la fréquence dominante extraite par FFT, avec barres d'erreur calculées sur trois gouttes par condition.* . . . . . 141
4.14 **Profil des gouttes de solution à 100 Hz pour deux tensions d'entrée.** *Les sous-figures présentent les séquences d'images des gouttes à deux tensions : (a) 4,5 V et (b) 5,5 V. Chaque couleur correspond à une solution spécifique : algiante 1 % (orange), alginate 2 % (vert foncé), alginate 3 % (bleu foncé), alginate 4 % (bleu clair), WJ (rouge) et RT (violet).* . . . . . 142
4.15 **Amplitude de la composante à 100 Hz en fonction de la fréquence de modulation imposée.** *Amplitude du pic fréquentiel autour de 100 Hz pour les six solutions sous (a) 4,5 V T1 et (b) 5,5 V. Les matériaux sont : alginate 1 (jaune), alginate 2 (vert), alginate 3 (bleu foncé), alginate 4 (cyan), WJ (rouge) et RT (violet). Les valeurs proviennent de la FFT moyenne sur trois gouttes par condition, avec barres d'erreur associées.* . . . . . 143
4.16 **Modèle numérique d'une goutte de 13 µL.** *(a) Forme initial de la goutte avant simulation et (b) maillage associé.* . . . . . 144
4.17 **Déformations modales de la goutte.** *Déformations de la goutte obtenues par analyse modale pour différentes fréquences : (a) 46,64 Hz, (b) 69,95 Hz, (c) 90,16 Hz et (d) 109,81 Hz, illustrant les quatres premiers modes.* . . . . . 145
4.18 **Formes étoilées observés sur les gouttes en résonance.** *Images montrant des gouttes en lévitation acoustique ayant une forme étoile en résonance : (a) Etoile à 4 lobes et (b) étoile à 2 lobes.* . . . . . 146
4.19 **Évolution de la forme des gouttes au cours de l'évaporation.** *Images des gouttes à t = 0 min (début de l'expérience) et t = 30 min (fin de l'expérience), illustrant la variation de volume et de forme au cours du temps pour différents solutions* . . . . . 148
4.20 **Evaporation des gouttes sans enceinte : volume normalisé et loi de $D^2$.** *Evolution du volume normalisé des gouttes pour les six échantillons : alginate 1 % (jaune), 2 % (vert), 3 % (bleu foncé), 4 % (bleu clair), WJ (rouge) et RT (violet),* . . . . . 148

4.21 **Evolution de la températion et de l'humidité dans l'enceinte sur deux journées.** *La température et l'humidité relative ont été enregistées dans l'enceinte sur deux journées à l'aide d'un capteur contrôlé par une carte Raspeberry Pi, permettant de suivre les variations au cours du temps.* . . . . . 149
4.22 **Evaporation des gouttes avec enceinte : volume normalisé et loi de $D^2$.** *Evolution du volume normalisé des gouttes pour les six échantillons : alginate 1 % (jaune), 2 % (vert), 3 % (bleu foncé), 4 % (bleu clair), WJ (rouge) et RT (violet),* . . . . . 150
4.23 **Images de goutte sous laser ou lumière LED avec différentes particules.** *(a) Billes de verre et (b) Particules de polyamide PSP 20 nm sous source LED, (c) particules de Ti02 et (d) PSP 50 nm sous laser.* . . . . . 153
4.24 **Configuration expérimentale de PIV en lévitation acoustique.** *(a) Mise en place d'un laser pulsé permettant l'excitation des particules fluorecentes à base de rhodamine B, associé à un filtre optique bloquant la lumière laser diffusée tout en transmettant l'émission fluorescente. (b) Zoom sur une goutte d'alginate 1 % contenant des particules fluorecentes à base de rhodamine B visibles sur l'image.* 154
4.25 **Formes des gouttes à 5 µL et 9 µL pour les différents solutions.** *Contours des gouttes pour les volumes de 5 µL et 9 µL, selon deux représentation : "ellipse" (forme sphéroïdale théorique en traits pointillés) et "shape" (forme numérique issue du même modèle avec gravité appliquée, en traits continues, représentant une goutte plus réaliste). Les sous-figures (a-b) correspondent à l'alginate 1 %, (c-d) à l'alginate 2 %, (e-f) à l'alginate 3 %, (g-h) à l'alginate 4 %, (i) à WJ et (j-k) à RT. Les contours clairs représentent les formes à* $\mathbf{SPL_{min}}$ *et les contours foncés à* $\mathbf{SPL_{max}}$ . . . . . 160
4.26 **Paramètres géométriques des gouttes simulées en fonction du volume.** *Évolution des axes majeur (foncé) et mineur (clair) ainsi que du ratio majeur/mineur (couleur associée à la solution) pour tous les échantillons simulés, à* $\mathbf{SPL_{min}}$ *à gauche et* $\mathbf{SPL_{max}}$ *à droite.* . . . . . 162
4.27 **Pression acoustique en fonction du volume.** *Amplitude de l'onde acoustique à* $\mathbf{SPL_{min}}$ *(marqueur cercle) et* $\mathbf{SPL_{max}}$ *(marqueur carré), à la couleur associée à la solution de polymère, pour tous les échantillons simulés.* . . . . . 163
4.28 **Nombres sans dimension.** *Évolution de Bond (marqueur cercle) à droite et Weber (marqueur carré) à gauche, de couleur associée à la solution, pour tous les échantillons simulés.* . . . . . 164
4.29 **Formes des gouttes issues du modèle analytique pour les différentes solutions de polymères à 5 µL et 9 µL.** *Le modèle prend en compte l'effet de la gravité, conduisant à un effet légèrement bombée du bas de la goutte : (a-b) alginate 1 %, (c-d) alginate 2 %, (e-f) alginate 3 %, (g-h) alginate 4 %, (i) WJ et (j-k) RT.* . . . . . 166

4.30 **Comparaison des déformations expérimentales et simulation, et calibration tension-SPL pour les gouttes de 5 µL**. *Les deux subfigures présentent les résultats pour des gouttes de volume 5 µL et de forme sphérique. Chaque couleur correspond à un matériau spécifique : alginate 1 % (orange), alginate 2 % (vert foncé), alginate 3 % (bleu), alginate 4 % (bleu clair), WJ (rouge), RT (violet).* 168

4.31 **Comparaison des déformations expérimentales et simulation, et calibration tension-SPL pour les gouttes de 9 µL**. *Les deux subfigures présentent les résultats pour des gouttes de volume 9 µL et de forme sphérique. Chaque couleur correspond à un matériau spécifique : alginate 1 % (orange), alginate 2 % (vert foncé), alginate 3 % (bleu), alginate 4 % (bleu clair), WJ (rouge), RT (violet).* 169

4.32 **SPL équivalente moyenne en fonction de la tension d'entrée à différents volumes**. *SPL équivalente moyenne pour tous les échantillons confondus, avec les barres d'erreur représentant l'écart-type, au volume de 5 µL à gauche (a) et de 9 µL à droite (b).* . . . . . 170

4.33 **Etude de convergence de la SED.** *Evolution de la SED moyenne en fonction du nombre d'éléments, dont chaque point est illustré par l'image correspondante au maillage testé.* . . . . . 172

4.34 **Simulation de compression d'une goutte en lévitation acoustique.** *Champs mécaniques obtenus lors de la simulation numérique de la compression d'une goutte à une amplitude de 5 Pa : (a) champ de déplacement, (b) champ de contrainte octaédrique, (c) champ de la contrainte principale minimale $\sigma_3$ et (d) évolution des valeurs minimales, maximales et moyenne de $\sigma_3$ au cours de la compression.* . . . . . 173

4.35 **Cartographie des distances simulation/expérimental.** *Ecart local entre la surface simulée et la géométrie expérimental, avec amplitude des distances.* . . . 174

5.1 **Banc expérimental avec lévitateur acoustique sous PSM.** *Installation sous hotte à flux laminaire du lévitateur acoustique, avec la caméra rapide Dantex équipée de l'objectif microscopique Sigma et la source LED pour l'éclairage des gouttes.* . . . . . 180

5.2 **Images SHG sous différentes conditions expérimentales.** *(Haut) Solution WJ. (Bas) Solution RT. Chaque colonne représente une condition spécifique : témoin, lévitation 2 min sans compression cyclique et lévitation 2 min avec compression à 10 Hz, 100 Hz ou 1 kHz.* . . . . . 183

5.3 **Acquisition et traitement des images résultant des essais de viabilité cellulaire.** *Microscope utilisé pour capturer les images de cellules marquées pour le test Live/Dead (gauche) et images traitées montrant les cellules vivantes (vert) et les cellules mortes (rouge).* . . . . . 185

5.4 **Images Live/Dead après 7 jours de culture pour la solution de WJ.** *Acquisition des images après 7 jours de culture pour les sept conditions, avec cellules vivantes en vert et cellules mortes en rouge.* . . . . . 185

5.6 **Images Live/Dead après 7 jours de culture pour la solution de RT.** *Acquisition des images après 7 jours de culture pour les sept conditions, avec cellules vivantes en vert et cellules mortes en rouge. 0 Hz correspond au cas de lévitation sans modulation imposée.* . . . . . 186
5.8 **Images Live/Dead après 7 jours de culture pour le milieu de culture.** *Acquisition des images après 7 jours de culture pour les sept conditions, avec cellules vivantes en vert et cellules mortes en rouge. 0 Hz correspond au cas de lévitation sans modulation imposée.* . . . . . 186
5.9 **Système CEM pour le contrôle de la température et de l'humidité dans l'enceinte du lévitateur acoustique.** *(a) Vue d'ensemble du CEM, intégrant régulateurs et chambre de mélange. (b) Boîtier de contrôle associé, permettant de réguler les débits et la température via l'interface utilisateur.* . . . . . 191
5.10 **Prototypes pour l'automatisation des gouttes dans le lévitateur acoustique.** *(a) Structures imprimées en 3D de type tronc/arbre avec branches pour le dépôt et la récupération des gouttes par rotation motorisée. (b) Pousse-seringue à faible coût avec pièces imprimées en 3D et piloté par carte Arduino.* . . . . . 192
5.11 **Modules de raideur dynamique $K'$ et $K''$ en fonction de la fréquence pour différents déplacements du piston.** *(a) Solution WJ, (b) Solution RT, dont certaines valeurs à des déplacements élevés n'ont pu être enregistrées au-délà de 61 Hz.* . . . . . 196
5.12 **Gouttes de solution d'alginate 1% à tension min et max, pour les volumes 5 µL, 9 µL et 13 µL.** . . . . . 197
5.13 **Gouttes de solution d'alginate 2% à tension min et max, pour les volumes 5 µL, 9 µL et 13 µL.** . . . . . 198
5.14 **Gouttes de solution d'alginate 3% à tension min et max, pour les volumes 5 µL, 9 µL et 13 µL.** . . . . . 199
5.15 **Gouttes de solution d'alginate 4% à tension min et max, pour les volumes 5 µL, 9 µL et 13 µL.** . . . . . 199
5.16 **Gouttes de solution GW à tension min et max, pour les volumes 5 µL, 9 µL et 13 µL.** . . . . . 200
5.17 **Gouttes de solution RT à tension min et max, pour les volumes 5 µL, 9 µL et 13 µL.** . . . . . 201
5.18 **Spectres FFT des gouttes d'alginate 1 %.** *Les figures (a) à (d) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 20-50-1000-2000 Hz, Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (jaune clair) et à 5,5 V (jaune foncé).* 204
5.19 **Spectres FFT des gouttes d'alginate 2 %.** *Les figures (a) à (d) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 20-50-1000-2000 Hz, Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (vert clair) et à 5,5 V (vert foncé).* . . 204

5.20 **Spectres FFT des gouttes d'alginate 3 %.** *Les figures (a) à (d) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 20-50-1000-2000 Hz, Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (bleu clair) et à 5,5 V (bleu foncé).* . . 205
5.21 **Spectres FFT des gouttes d'alginate 4 %.** *Les figures (a) à (d) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 20-50-1000-2000 Hz, Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (cyan clair) et à 5,5 V (cyan foncé).* . 205
5.22 **Spectres FFT des gouttes de GW.** *Les figures (a) à (d) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 20-50-1000-2000 Hz, Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (rouge clair) et à 5,5 V (rouge foncé).* 206
5.23 **Spectres FFT des gouttes de RT.** *Les figures (a) à (d) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 20-50-1000-2000 Hz. Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (violet clair) et à 5,5 V (violet foncé).* . . . . . 206

# Liste des abréviations

**Acronymes**

| | |
|---|---|
| CSM ou MSC | Cellules Stromales Mésenchymateuses |
| SED | Densité d'Energie de Déformation |
| EMR | Elastographie par Résonance Magnétique |
| FLIPUS | Ultrasons Pulsés Focalisés de Faible Intensité |
| GAG | Glycosaminoglycanes |
| hMBSC | Cellules Stromales Mésenchymateuses Humaines |
| LIPUS | Ultrasons Pulsé de Faible Intensité |
| LVR | Région Viscoélastique Linéaire |
| MEC | Matrice Extracellulaire |
| PSM | Poste de Sécurité Microbiologique |
| rBMSC | Cellules Stromales Mésenchymateuses de la Moelle Osseuse de Rat |
| ROUT | Régression robuste et détection/suppression des valeurs aberrantes (en anglais : *Robust Regression and Outlier Removal*) |
| RT | Tendon queue de rat |
| WJ | Gelée de Wharton |
| WSS | Contrainte de Cisaillement sur la Paroi |

**Variables**

| | |
|---|---|
| $\phi$ | Angle azimuthal |
| $\Omega$ | Angle polaire |
| $\nu$ | Coefficient de Poisson |
| $\sigma$ | Contrainte |
| $\epsilon$ | Déformation |
| $\delta$ | Déphasage |
| $\omega$ | Fréquence angulaire |
| $\lambda$ | Longueur d'onde |
| $\rho$ | Masse volumique |
| $\tau$ | Temps de relaxation |
| $\beta$-caténine | protéine, agit comme comme coactivateur transcriptionnel dans la voie Wnt |

| | |
|---|---|
| BMP2 | Protéine Morphogénétique Osseuse 2 |
| CFD | Mécanique des Fluides Numériques (en anglais : *Computational Fluid Dynamics*) |
| E | Module d'Young |
| FEM | Méthode des Eléments Finis (en anglais : *Finite Element Method*) |
| $G'$ | Module de stockage (cisaillement) |
| $G''$ | Module de perte (cisaillement) |
| $K'$ | Module de stockage (raideur) |
| $K''$ | Module de perte (raideur) |
| Kif3a | Protéine de type kinésine |
| PCC | Phantom Camera Control |
| RANKL | Ligand de RANK, protéine transmembranaire homotrimétrique |
| Wnt | Voie de signalisation biologique |

# Chapitre 1

# État de l'art

## Fondements, stratégies expérimentales et modèles *in silico*

Ce premier chapitre présente un état de l'art portant sur la mécanobiologie du tissu osseux. Dans un premier temps, il s'agira de définir et de décrire les notions de biologie et de mécanique en lien avec le sujet de cette thèse. Dans un deuxième temps, l'accent sera mis sur les aspects techniques relatifs à la mise en culture cellulaire et aux méthodes de sollicitation mécanique utilisées pour améliorer la viabilité cellulaire ou à modifier leur phénotype, tout en analysant leur réponse biologique. Enfin, le développement de modèles *in silico* sera abordé, permettant de mieux comprendre les phénomènes mis en oeuvre par le biais de la simulation numérique, dans la perspective d'applications en médecine régénérative.

Le chapitre a été partiellement publié dans l'article suivant : "Effects of mechanical stimuli on bone cells for regenerative medicine : A review of recent experimental and computational methods" [8]

## Sommaire Chapitre 1


1.1 Introduction à l'os et à la mécanobiologie : fondements et enjeux . . . . . 3
1.1.1 L'os, un tissu dynamique et composite . . . . . 3
1.1.2 Mécanobiologie : concepts, avancées et perspectives . . . . . 5
1.2 Stratégies expérimentales pour l'ingénierie de l'os via la stimulation des cellules souches . . . . . 11
1.2.1 Reproduction du microenvironnement cellulaire . . . . . 11
1.2.2 Dispositifs expérimentaux permettant la stimulation mécanique de cultures cellulaires . . . . . 15
1.3 Modélisation *in silico* en mécanobiologie osseuse : état de l'art et perspectives 26
1.3.1 Méthodes des éléments finis FEM et CFD . . . . . 27
1.3.2 Interactions fluide-structure : couplage CFD/FEM . . . . . 27
1.3.3 Simulation de la pression acoustique et de la propagation d'ondes 29
1.3.4 Comparaison approches continues et basés sur agent . . . . . 30

## 1.1 Introduction à l'os et à la mécanobiologie : fondements et enjeux

Pour comprendre les interactions entre la biologie et la mécanique,il est essentiel de considérer les mécanismes à différentes échelle, du macroscopique au nanoscopique. La mécanobiologie se définit comme "un domaine à la croisé de la biologie, de la physique et de la bioingénierie, centré sur l'influence de la mécanique et des forces physiques sur le comportement cellulaire, la morphogenèse cellulaire et tissulaire, ainsi que sur les maladies liées à ces processus" [9]. La mécanobiologie étudie le comportement des cellules en réponse à des stimuli mécaniques. Elle permet ainsi de mieux comprendre l'impact de ces contraintes sur les tissus sains, tels que l'os, ainsi que leur rôle dans l'initiation et la progression des maladies, contribuant à l'identification de potentiels stratégies thérapeutiques.

### 1.1.1 L'os, un tissu dynamique et composite

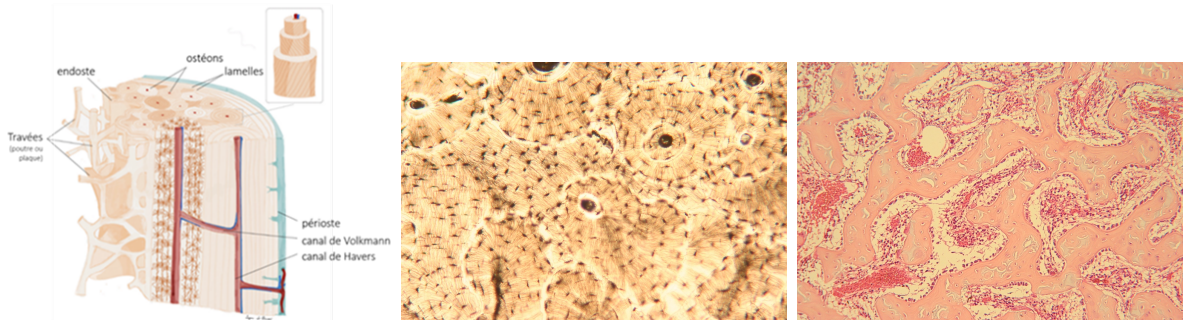
Représentant environ 14 % du poids corporel, le squelette humain adulte (**Figure 1.1**) comprend 206 os, qui sont longs ou courts, avec ou sans moelle osseuse. Il assure la structure de l'organisme et la protection des organes internes, maintenu ensemble par le support des muscles. L'os est également le site de production des cellules sanguines, issues des cellules souches hématopoïétiques. Il contient également des cellules stromales mésenchymateuses qui sont les précurseurs des cellules osseuses et qui peuvent être utilisées pour la médecine régénérative [10].
Sur le plan constituf, le tissu osseux est un matériau composite naturel, dont la matrice organique est principalement composée de collagène de type I. La phase minérale est formée de cristaux d'hydroxyapatite $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, avec de faibles de carbonates, phosphates de magnésium et autres ions [11]. Ces cristaux s'organisent entre ou dans les fibrilles de collagène, conférant à l'os sa rigidité et sa résistance mécanique caractéristiques [12, 13].



FIGURE 1.1 – **Squelette d'un adulte humain**

Le tissu présente une organisation hiérarchique, du macroscopique au nanoscopique. A l'échelle macroscopique, les os peuvent être longs (fémur, tibia), courts (vertèbres, tarses) ou plats (crâne, scapula). Les os longs se composent de la diaphyse, ou corps de l'os, et des épiphsyes, ses extrémités. Sa surface externe est recouverte par le périoste, une membrane riche en cellules souches mésenchymateuses, assurant également l'ancrage des tendons et ligaments. Le centre de la diaphyse contiennent la moelle osseuse, tandis que les

épiphyses sont constituées d'os trabéculaire. L'endoste, membrane fine, tapisse les surfaces internes de l'os cortical et des travées de l'os trabéculaire, séparant ainsi le tissu osseux de la moelle osseuse et permettant le remodelage. Le **tissu trabéculaire**, présent dans les os plats et courts ainsi qu'aux extrémités des os long, est très poreux (50-90 %), est formé d'un réseau tridimensionnel de travées séparées par des espaces contenant la moelle osseuse et du tissu adipeux (**Figure 1.2c**). L'orientation des travées suit les directions principales des contraintes mécaniques [14]. L'**os cortical**, couche dense et périphérique des os (**Figure 1.2a-1.2b**), présente une porosité faible (5-10 %). Il est organisé en unité cylindriques appelées ostéons, formées de lamelles concentriques autour d'un canal central (canal de Havers) relié par les canaux de Volkmann. Ce système assure la vascularisation, l'innervation et la communcation entre ostéocytes via le réseau lacuno-canaliculaire, qui confère au tissu sa mécanosensibilité [15].




(a) (b) (c)

FIGURE 1.2 – **Organisation du tissus osseux.** *(a) Coupe transversale de l'os cortical mettant en évidence son organisation hiérarchique. On y distingue les ostéons (systèmes de Havers), les canaux de Havers et de Volkmann, ainsi que les lacunes contenant les ostéocytes* [1]. *(b) Coupe histologique de l'os cortical, montrant des ostéons alignés le long de l'axe de l'os dont chaque ostéon comprend un canal central vascularié et entouré de lamelles concentriques. (c) Coupe histologique de l'os trabéculaire : les intervalles étant remplis de moelle osseuse rouge composée de cellules souches hématopoiétique, d'adipocytes et de vaisseux sanguins.* [2]

L'os est un tissu dynamique, en remodelage constant, ce qui permet le maintien de ses propriétés mécaniques et de son intégrité. L'homéostasie de ce tissu est assurée par trois types cellulaires aux rôles complémentaires : **ostéoblastes**, **ostéoclates** et **ostéocytes**.
Les ostéoblastes, dérivés des cellules stromales mésenchymateuses, représentent 4-6 % des cellules osseuses et synthétisent la matrice tout en assurant sa minéralisation. Une fois leur activité terminée, ils peuvent devenir des cellules bordantes à la surface osseuse, entrer en apoptose ou se différencier en ostéocytes en restant emprisonnés dans la matrice. Loin d'être un phénomène aléatoire [16], ces derniers, reliés entre eux par le réseau lacuno-canaliculaire et au nombre de 90 % [17, 18], coordonnent le remodelage osseux [19, 20].
Quant aux ostéoclastes, dérivés de la lignée hématopoïétique, ils représentent 1-2 %. Leur rôle est d'assurer la résorption de l'os ancien ou endommagé par sécrétion d'acide et d'enzymes protéolytiques, permettant ainsi le renouvellement de la matrice par les ostéoblastes [21].

### 1.1.2 Mécanobiologie : concepts, avancées et perspectives

*Tout changement dans la fonction d'un os s'accompagne de modifications marquées de son architecture interne et d'altérations secondaires de sa forme externe. Julius Wolff - 1892*

Par son manuel de 1884, intitulé "Das Gesetz der Transformation der inneren Architektur der Knochen bei pathologischen Veränderungen der äusseren Knochenform" [22], Julius Wolff est le premier à formuler l'idée que le tissu osseux pouvait résulter d'un processus de remodelage dynamique guidé par l'action des déformations et des contraintes [23]. Plus exactement, les changements qui s'opèrent au sein de l'os peuvent être divisés en deux groupes. D'une part, le remodelage externe ou de surface correspond au changement de forme de l'os en réponse à ces stimuli mécaniques. D'autre part, le remodelage interne concerne l'évolution des propriétés matérielles du tissu à géométrie constante, notamment la porosité, la minéralisation ou encore la masse osseuse [24]. D'autres se sont intéressés par la suite au lien entre l'environnement mécanique et le remodelage osseux tels que Glücksmann [25] et Frost [26].

#### 1.1.2.1 Le remodelage osseux : un équilibre dynamique

La collaboration et la régulation entre les ostéoclastes et les ostéoblastes sont primordiales au maintien de l'homéostasie du tissu osseux, garantissant à la fois son intégrité structurale et sa résistance mécanique. La communication (ou *"cross-talk"*) entre ces deux types cellulaires s'effectue via plusieurs mécanismes, incluant le contact cellule-cellule, les facteurs sécrétés (BMP2, RANKL) ou des stimulations mécaniques [27].

La mécanotransduction (**Figure 1.3**) est le processus par lequel les cellules détectent les stimuli mécaniques et les convertissent en réponses biochimiques, qui régulent ensuite leur réponse biologique et sont perçus grâce à des mécanorécepteurs (ou mécanosensors). Ce processus complexe comprends plusieurs étapes, depuis la perception du signal mécanique jusqu'à la réponse cellulaire, en passant par le couplage biochimique et la transmission. La description proposée ci-dessous reprend ces différents éléments, en s'appuyant sur le cadre conceptuel développé par Duncan et Turner (1995) [28].

**Couplage mécanique**

Les stimulations mécaniques appliquées au tissu osseux peuvent inclure la compression, la traction [29] ou le cisaillement [30], ainsi que la rigidité du substrat de culture. Ces termes décrivent de manière générale l'application d'une charge mécanique en fonction des conditions de sollicitation. Classiquement, ces charges sont exprimées en terme de contraintes mécaniques, correspondant à la force appliquée par unité de surface. Elles peuvent également être décrites en termes de déformations, correspondant aux variations relatives de forme ou de taille du substrats, résultant de l'application de contraintes pour des propriétés matérielles données.
D'un point de vue mécanique, les contraintes représentent les forces internes agissant dans

un matériau déformé, tandis qur les déformations sont directement observables et se traduisent par des modifications géométriques susceptibles d'affecter la morphologie des cellules adhérentes. Lorsque ces stimulations sont appliquées de manière cyclique, elles sont qualifiées de charges dynamiques ou de vibrations, selon les fréquences de sollicitation. Dans les matériaux viscoélastiques, tels que les tissus biologiques, la vitesse de chargement influence la distribution locale des contraintes, en lien avec des constantes de temps intrinsèques au matériau, contrairement aux matériaux purement élastiques pour lesquels la réponse est instantanée.

A l'échelle microscopique, les ostéocytes sont immergés dans le liquide interstitiel (en anglais "*interstitial fluid*" ou ISF) du réseau lacuno-canaliculaire. Dans ce contexte, plusieurs facteurs ont été identifiés comme des signaux biomécaniques pertinents, notamment les gradients de pression interstitielle [31] et la contrainte de cisaillement du fluide ("*Fluid Shear Stress*" ou FSS) [32].
Une clarification terminologique s'impose toutefois concernant la notion de contrainte de cisaillement. En effet, deux termes sont fréquemment employés dans la littérature : la contrainte de cisaillement pariétale (en anglais "*Wall Shear Stress*" ou WSS) et la contrainte de cisaillement du fluide (FSS). Ces deux expressions, bien que souvent confondues dans la littérature, ne désignent pas rigoureusement la même chose. La WSS correspond à la force tangentielle par unité de surface qu'un fluide en écoulement exerce sur une surface solide, définie à partir de la viscosité du fluide et du gradient de vitesse au niveau de la paroi. La FSS, bien qu'elle décrive la même contrainte physique, est généralement formulée du point du vue du fluide ou de la cellule immergée dans celui-ci. C'est dans cette perspective que ce terme est couramment employé pour désigner l'écoulement de l'ISF sur les ostéocytes. Néanmoins, les dendrites des ostéocytes, qui constituent l'un des principaux mécanismes par lesquels ces cellules perçoivent les stimuli mécaniques et décrits ci-dessous, sont ancrés dans les parois du réseau lacuno-canaliculaire. Par conséquent, la contrainte de cisaillement effectivement transmise à ces structures correspond à la WSS exercée sur les parois solides. Ainsi, même lorsque la FSS est mentionnée dans certains travaux, la grandeur mécaniquement pertinente qui stimule la signalisation et le remodelage osseux demeure la contrainte de cisaillement pariétale soit la WSS, terme qui sera privilégié dans la suite du chapitre.

En raison de la géométrie complexe de l'os trabéculaire et des variations de pression hydrostatique dans l'ISF, certaines régions osseuses sont soumises à des déformations allant de la compression à la traction. De plus, les dimensions réduites des canaux entraînent des niveaux élevés de WSS au niveau des parois, estimés entre 0,8 à 3 Pa [33].
Néanmoins, la complexité de la structure osseuse à l'échelle microscopique, combinée à la distribution hétérogène des chargements à l'échelle macroscopique du squelette, rendent difficile la caractérisation précise de l'amplitude, de la fréquence et de la nature de flux (pulsatoire ou oscillatoire) auxquels les ostéocytes sont soumis au cours d'activités physiques quotidiennes. Dans les modèles classiques de mécanorégulation, les cellules sont ainsi considérées comme sen-

sibles à un stimulus mécanique global intégrant à la fois la déformation de la phase solide et la WSS induite par la circulation de la phase fluide [34, 35].

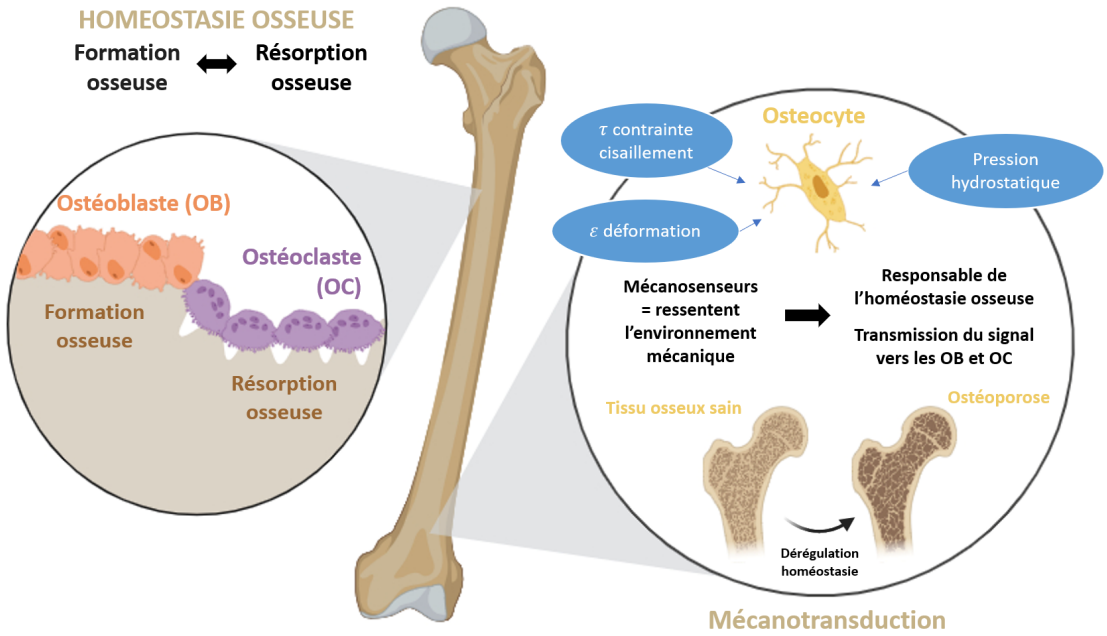



FIGURE 1.3 – **Méchanotransduction et homéostasie osseuse**. *L'homéostasie osseuse résulte de l'équilibre entre la formation osseuse assurée par les ostéoblastes et la résorption effectuée par les ostéoclastes. Les ostéocytes, principaux mécanosenseurs du tissu osseux, détectent divers stimuli mécaniques - tels que la contrainte de cisaillement ($\tau$), la déformation ($\epsilon$) et pression hydrostatique - puis convertissent ces sollicitations en signaux biochimiques modulant l'activité des cellules effectives.*

### Les ostéocytes comme capteurs mécaniques

Longtemps considérée comme un processus passif, la formation des ostéocytes joue en réalité un rôle central dans le remodelage osseux et la mécanotransduction. Initialement interprétée comme un emprisonnement accidentel des ostéoblastes dans la matrice osseuse, cette différentiation correspond en fait à un processus hautement régulé [16]. De nombreuses études ont établi que les ostéocytes constituent les principaux mécanosenseurs du tissu osseux [36, 37, 38]. Grâce à leur abondance, représentant la majorité des cellules osseuses, et à leur réseau dendritique étendu, ils jouent un rôle clé dans la coordination des processus de formation et de résorption osseuses, ainsi que dans la régulation de la minéralisation locale et systémique [39]. Chaque ostéocyte peut ainsi communiquer avec plusieurs dizaines de cellules voisines, offrant une surface d'échange largement supérieure à celle des ostéoblastes et des ostéoclates réunis [17].

Une autre caractéristique notable des ostéocytes est la présence du cil primaire (ou *cilium primiare* à leur surface, décrit comme une extension solitaire et immobile composée de microtubules [40]. Ce cil primaire participe à la mécanoperception, et plusieurs études ont mis en évidence que des altérations de cette structure sont associées à diverses patho-

logies.L'inactivation conditionnelle de protéines essentielles au transport intraciliaire, telles que Kif3a, conduit d'ailleurs à une diminution de la sensibilité osseuse aux stimulations mécaniques, soutenant l'hypothèse d'un rôle sensoriel du cil [41].

Toutefois, les mécanismes précis de la détection des changements mécaniques restent soumis à controverse. Plusieurs hypothèses coexistent quant au rôle respectif du corps cellulaire, des dentrites ou du cil primaire. Des études montrent notamment que des stimulations mécaniques appliquées aux dendrites peuvent induire l'ouverture d'hémicanaux au niveau du corps cellulaire [42]. Indépendamment des mécanismes exacts, il est généralement admis que le réseau dense et interconnecté d'ostéocytes détecte les variations mécaniques locales et transmet ces informations via différentes voies biochimiques.

**Couplage biochimique, transmission du signal et réponse cellulaire**

Une fois les stimulations mécaniques détectées par les ostéocytes, celles-ci sont traduites en signaux biochimiques capables de moduler la physiologie cellulaire et d'induire une réponse adaptative au microenvironnement mécanique. Ce processus implique à la fois des structures intracellulaires et un ensemble complexe de protéines et de molécules constituant l'environnement extracellulaire et les interfaces cellule-matrice.

La mécanotransduction fait intervenir des structures transmembranaires telles que les canaux ioniques, les complexes de caténines, les intégrines, ainsi que plusieurs voies de signalisation, dont la voie Wnt/$\beta$-caténine [43, 44, 45, 46]. Cette dernière joue un rôle majeur dans la régulation du remodelage osseux, son activation augmentant notamment la sensibilité des ostéocytes aux charges mécaniques [47, 48].

Parmi les médiateurs clés, la sclérostine, une protéine codée par le gène *Sost* et exprimée par les ostéocytes matures, occupe une place centrale dans l'homéostasie osseuse. Son absence est associée à une augmentation de la densité osseuse [49, 50]. La sclérostine inhibe la formation osseuse et favorise les marqueurs de résorption, ce qui explique l'intérêt thérapeutique des anticorps anti-sclérostine [49].

Sous l'effet de chargements mécaniques, les ostéocytes produisent également des molécules de signalisation, telles que l'oxyde nitrique (NO). En effet, des études suggèrent que le NO joue un rôle dans la coordination de l'activité des ostéobalstes et des ostéoclastes [51]. Il est notamment impliqué dans la localisation cellulaire et des lésions cellulaires [52], l'activation des ostéoclastes en contexte inflammatoire [53], ainsi que dans la guérison des fractures et la récupération de la densité osseuse [54]. Cependant, en raison de sa forte diffusivité et réactivité, car réagit avec d'autres molécules le rendant instable, le NO est difficile à mesurer directement, ce qui complique l'analyse précise de ses effets biologiques [55].

Les éléments présentés dans cette section ne constituent qu'un aperçu des mécanismes impliqués dans la mécanotransduction, un processus particulièrement complexe faisant intervenir de multiples acteurs, et différentes échelles spatiales et temporelles fortement couplées. La sensibilité remarquable des cellules aux stimulations mécaniques, largement discutée et démontrée dans plusieurs revues exhaustives [56, 57, 58, 59].

#### 1.1.2.2 Facteurs influençant le remodelage osseux

Le processus continu du remodelage osseux, caractéristique de tous les tissus de l'organisme, est particulièrement mis en évidence par la vascularisation étendue dans l'os. La circulation sanguine assure le transport des nutriments et l'éliminiation des déchets, nécessaire au bon fonctionnement du tissu [60].

Sous l'effet des sollicitations physiologiques, les contraintes au sein du tissu osseux évoluent et orientent l'équilibre entre formation et résorption osseuse. A l'inverse, une réduction drastique des charges mécaniques, comme en microgravité, entraîne par exemple une perte significative de densité minérale osseuse. Chez les astronautes, notamment pour les de missions dépassant 30 jours, cette diminution touche principalement les membres inférieurs, avec un taux estimé à environ $-0,8$ % par mois. A l'inverse, une augmentation des contraintes mécaniques est associée à un accroissement de la densité osseuse. Ainsi, les lutteurs et judokas présentent des densités respectives de $1,366 \pm 0,060\,\mathrm{g/cm^3}$ et $1,282 \pm 0,066\,\mathrm{g/cm^3}$, supérieures à celles d'athlètes d'endurance ou de sujets non sportifs ($1,175 \pm 0,081\,\mathrm{g/cm^3}$ et $1,161 \pm 0,092\,\mathrm{g/cm^3}$) [61].

#### 1.1.2.3 Pathologies et médecine régénérative

Dans plusieurs conditions pathologiques, une dérégulation de l'homéostasie osseuse peut survenir et aboutir à une altération des propriétés biomécaniques.

L'ostéoporose est une des pathologies osseuses les plus répandues, caractérisée par une fragilité accrue et une diminution progressive de la masse osseuse, ainsi que par des modifications de la microarchitecture et des proprités mécaniques de l'os. Cela entraîne l'apparition de microfissures, susceptibles d'évoluer vers des fractures, même en l'absence de traumatismes importants. Ces altérations peuvent ainsi avoir un impact majeur sur la vie quotidienne des patients, en réduisant leur mobilité et leur autonomie. Il s'agit d'une pathologie qui est étroitement liée au vieillissement, et touche particulièrement 1 femme sur 2. En effet, les modifications hormonales survenant après la ménopause, caractérisées par une baisse des oestrogènes, perturbent cette homéostasie. Sa prévalence mondiale est estimée à environ 19,7%, causant plus de 8,9 millions de fractures par an [62].

A l'inverse de l'ostéoporose, le diabète de type 2 (DT2) augmente le risque de fractures

malgré une densité minérale osseuse souvent normale, voir parfois plus élevée. Ce paradoxe s'explique par le fait que la fragilité osseuse dans le DT2 résulte davantage d'une altération de la qualité de la matrice extracellulaire. Parmi les facteurs impliqués, l'hyperglycémie chronique et l'accumulation de produits de glycation modifient la matrice osseuse, réduisent sa capacité à réparer les micro-fissures et perturbent son organisation interne [63, 64].

D'autres pathologies affectent également le tissu osseux et ses propriétés mécaniques, telles que l'arthrose, l'ostéopénie ou encore l'ostéogenèse imparfaite. Des fractures peuvent également survenir à la suite d'accidents ou de traumatismes, situations dans lesquelles les méthodes de traitement classiques, telles que le plâtre ou l'immobilisation, ne suffisent parfois pas à restauter complètement les propriétés et la fonction de l'os. Ces limites mettent en évidence la nécessité de la médecine régénérative, qui vise à réparer ou régénérer les tissus endommagés. Parmi les approches les plus prometteuses [65], l'utilisation de cellules souches prélevées dans la moelle osseuse permet, après culture et stimulations mécaniques adaptées, d'améliorer leur viabilité, leur prolifération et de les différencier vers des phénotypes spécifiques [66, 67, 68].

## 1.2 Stratégies expérimentales pour l'ingénierie de l'os via la stimulation des cellules souches

Dans la section précédente, nous avons souligné le rôle central des cellules osseuses dans la régulation de l'homéostasie tissulaire, ainsi que l'importance de la mécanobiologie et de la mécanotransduction pour maintenir cet équilibre. Nous avons également montré que diverses pathologies, telles que l'ostéoporose ou le diabète de type 2, peuvent perturber cet équilibre, justifiant le recours à la médecine régénérative. Cette section actuelle se concentre donc sur les diverses stratégies expérimentales associées à l'utilisation des cellules souches, en particulier sur le choix du milieu de culture et la mise en oeuvre des stimulations mécaniques, dans le but d'optimiser leur potentiel ostéorégénératif.

### 1.2.1 Reproduction du microenvironnement cellulaire

A partir des connaissances acquises en mécanobiologie osseuse, plusieurs décénnies de recherches collaboratives entre biologistes et ingénieurs ont été consacrées à la reproduction *in vitro* des conditions biologiques et mécaniques caractérisant l'environnement des cellules osseuses [69]. Dans un premier temps, ces travaux visaient à mieux comprendre le comportement des cellules dans des conditions normales ou pathologiques, puis ont été progressivement étendus à des applications en ingénierie tissulaire. Ce microenvironnement, communément appelé sous le terme de **niche cellulaire**, correspond à l'ensemble des éléments chimiques, physiques et cellulaires qui entourent une cellule et modulent son comportement. La niche joue ainsi un rôle central dans la régulation de la survie, de l'auto-renouvellement et notamment de la différenciation des cellules souches.

Pour étudier et reproduire cette niche *in vitro*, deux grandes catégories de paramètres peuvent être distinguées : (i) les **signaux biochimiques**, tels que facteurs de croissance, nutriments, pH, oxygène et osmolarité, essentiels à la survie et à la différenciation cellulaire ; et (ii) les **propriétés physiques et mécaniques**, qui incluent la rigidité et l'organisation structurelle du substrat de culture, ainsi que les stimulations mécaniques locales auxquelles les cellules sont soumises.

Deux approches principales sont généralement utilisées pour reproduire le milieu de culture ou le substrat cellulaire : les cultures dimensionnelles (2D) et les cultures tridimensionnelles (3D). Ces dernières permettent une reproduction plus fidèle du microenvironnement naturel des cellules osseuses.

Cette compréhension du microenvironnement et de la niche cellulaire constitue ainsi la base sur laquelle reposent les approches de stimulation mécanique. Celles-ci peuvent viser soit à reproduire les conditions mécaniques rencontrées *in vivo*, soit à appliquer des stimulations

contrôlées, à différentes amplitudes et fréquences, afin d'explorer la réponse cellulaire ou de précondtionner les cellules avant leur implantation. Les sous-sections suivantes aborderont donc ces différents dispositifs expérimentaux et méthodes de stimulation mécanique rapportés dans la littérature (**Figure 1.4**), avec un intérêt particulier pour la lévitation acoustique en tant que bioprocédé émergent.

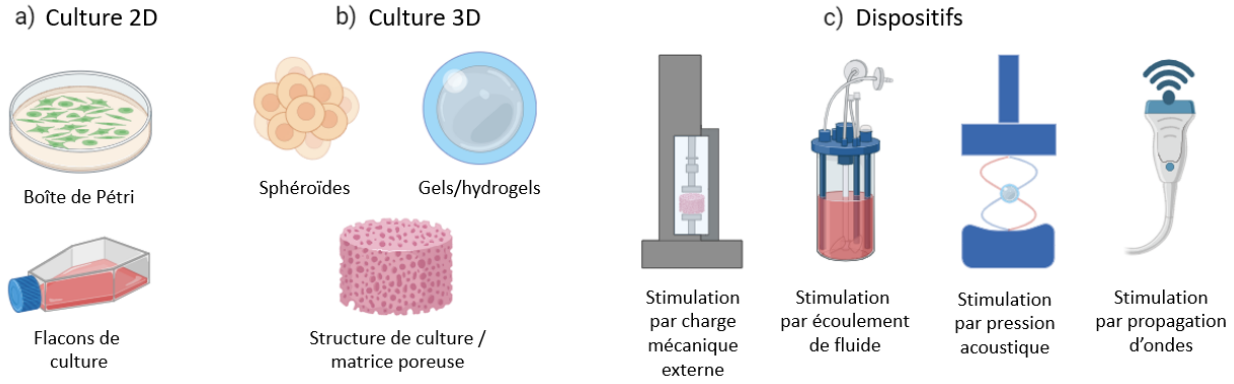



FIGURE 1.4 – **Comparaison des environnements de culture cellulaire et des dispositifs expérimentaux.** *Schéma illustrant les principaux types d'environnements de culture : (a) cultures 2D sur surfaces planes, (b) cultures 3D reproduisant un microenvironnement plus proche du tissu natif, et (c) dispositifs expérimentaux permettant d'appliquer des stimuli mécaniques, incluants les bioréacteurs.*

### Culture cellulaire bidimensionnelle (2D)

Traditionnellement, les cellules sont cultivées *in vitro* dans un environnement statique bidimensionnel (2D) [70], sur des surfaces planes telles que flasques, boîtes de Pétri, plaques de polystyrène ou supports en verre [71, 72]. Ce type de culture présente plusieurs avantages : il offre un environnement cellulaire homogène et facilement contrôlable, permet des observations microscopiques aisées et facilite les changements de milieu.

Différents modèles de culture 2D ont été développés pour étudier plus finement le comportement cellulaire. Le modèle "sandwich", parfois considéré comme une approche 3D, consiste à ensemencer les cellules entre deux couches de matrice extracellulaire (MEC) ou de collagène [73, 74]. La MEC favorise l'adhérence cellulaire et la communication intercellulaire, jouant un rôle crucial dans la croissance, la motilité, la différenciation des cellules et réparation [75]. Le collagène, et plus particulièrement le collagène de type I, assure l'assemblage des fibres formant le support de culture (communément appelé "*scaffold*" en anglais) structurel et mécanique des os ainsi que d'autres tissus conjonctifs [76].

La microtexturation consitue un autre modèle de culture 2D. Cette technique consiste à générer des surfaces présentant des motifs et textures spécifiques, généralement par lithographie [77]. Celle-ci permet de recouvrir un substrat solide d'un matériau qui peut ensuite être retiré par des procédés chimiques ou physiques afin de créer la forme désirée. Le choix de la

géométrie dépend des objectifs expérimentaux, tels que le confinement spatial des cellules, la migration, la division, la polarité ou encore la différenciation.

Lorsque la culture 2D est combinée à des dispositifs de stimulation mécanique - comme le cisaillement fluide [30] - elle permet un contrôle précis des forces appliquées et contribue ainsi à une meilleure compréhension des ostéocytes et de la mécanobiologie osseuse [78]. Cependant, l'extraction des cellules de leur niche tridimensionnelle (3D) native impacte leur développement, entraînant notamment des altérations de la cinétique de croissance et du potentiel de différenciation [79, 80]. Ces limitations ont conduit à l'émergence progressive des cultures 3D, visant à reproduire l'architecture spatiale complexe et fonctionnelle de l'os [81, 82, 83, 84].

**Microporteurs : cultures intermédiaires entre 2D et 3D**

A la frontière entre les cultures 2D et 3D, les microporteurs gagnent en popularité comme support pour la production de cellules stromales mésenchymateuses humaines (hMSCs), en offfrant aux cellules adhérentes une surface étendue pour proliférer [85]. Ce type de culture permet de générer des quantités nécessaires pour des doses thérapeutiques. En effet, le nombre de cellules requis dépend de plusieurs paramètres tels que la pathologie ciblée, le volume de tissu à regénérer ou la voie d'administration ainsi que du taux de survie et d'intégration des cellules après implantation. Par exemple, des estimations issues de données cliniques indiquent que, pour certains troubles squelettiques, environ 140 à $700 \times 10^6$ cellules seraient nécessaires, tandis que le traitement de maladie comme l'ostéogenèse imparfaite requiert des quantités plus élevées, de l'ordre 3000 à $6000 \times 10^6$ cellules [86, 87].

Les microporteurs, généralement sphériques et de 100 à 250 µm de diamètre, peuvent être fabriqués avec différentes propriétés physicochimiques, taille, forme, matériau, rigidité et porosité, afin de s'adapter à la production de divers phénotypes cellulaires et à certains types de bioréacteurs [88]. L'augmentation de la surface spécifique d'adhésion disponible favorise l'adhérence cellulaire et permet un rapport surface/volume supérieur aux cultures classiques sans microporteurs [85]. De plus, cette technique favorise une distribution plus homogène des cellules, rendant les mesures globales de pH et de nutriments plus représentatives de l'ensemble de la culture [89].

Malgré ces avantages, certaines limites persistent et nécessitent une attention particulière. Le rendement des cellules est très sensibles aux paramètres du système, qui doivent être soigneusement modulés pour obtenir des résultats reproductibles et spécifiques. En pratique, une variabilité des résultats expérimentaux est observée, même lorsque des protocoles et techniques de culture similaires sont utilisés, en particulier avec des cellules primaires [90, 91].

Ainsi les microporteurs constituent un modèle intermédiaire entre 2D et 3D, combinant les avantages de la culture 2D tout en permettant d'augmenter le volume de culture, le rendement cellulaire (*scale-up*) et un contrôle plus fin de l'environnement mécano-chimiques. Ils

représentent un outil prometteur pour l'expansion et la différenciation des hMSCs. L'amélioration de l'homogénéité et de la reproductilibté des cultures repose principalement sur la maîtrise des conditions dans les bioréacteurs, incluant la régulation des gaz, de la température, du pH et de l'agitation des microporteurs, ce qui nécessite encore des recherches approfondies.

**Cultures 3D**

Dans cette section, nous présenterons des modèles de culture tridimensionnelle qui permettent aux cellules d'avoir une forme similaire à leur environnement physiologique. Pour imiter ces conditions de culture 3D, différents modèles ont été développés tels que les sphéroïdes, les feuillets cellulaires, les supports de culture (*scaffolds*), les hydrogels, ainsi que les milieux de culture conventionnels utilisés dans les bioréacteurs ou dans des dispositifs microfluidiques [92]. Ces modèles permettent de transmettre les stimulations mécaniques dans un environnement 3D plus proche du tissu natif, contrairement aux cultures 2D où les cellules sont limitées à des couches confluentes et à un transfert de sollicitations mécaniques à leur substrat 2D.

Les sphéroïdes sont des agrégats de cellules (non adhérentes au substrat), mais mutuellement adhérentes et adoptant une forme sphérique [93, 94, 95]. Ils constituent un outil qui permet d'étudier les cellules dans une configuration proche de l'*in vivo* et de de produire des microtissus pour la regénération tissulaire. Cependant, leur manipulation reste délicate, notamment pour contrôler la taille des sphéroïdes et assurer un apport suffisant en nutriments au centre [96].

Des hydrogels peuvent servir de support de culture pour des cellules et offrir une grande similitude avec la MEC grâce à leur capacité d'absorption d'eau et leur structure réticulée [97]. Ils peuvent être fabriqués à partir de polymères naturels tels que le collagène [98], la gélatine, l'alginate [99, 100, 101, 102] ou le chitosane [103]. Les hydrogels présentent de nombreux avantages : faible coût, pH neutre après gonflement, stabilité pendant le stockage, biodégradabilité et faible toxicité, ainsi que des propriétés mécaniques modulables selon la composition et le degré de réticulation [104]. Toutefois, malgré leur grande ressemblance avec la MEC, ils ne reproduisent pas entièrement la structure physique et les propriétés mécaniques de l'os.

Pour pallier ces limites, les supports de culture 3D (*scaffolds*) ont été développés afin de mieux imiter le microenvironnement osseux. Un support de culture idéal présente une porosité et une taille des pores ajustables, éventuellement avec des gradients de taille pour améliorer le transport des nutriments [105], ainsi que des propriétés mécaniques et élastiques modulables, y compris l'anisotropie [106]. Il doit également permettre l'incorporation et la distribution contrôlée des facteurs bioactifs (tels que les facteurs de croissance) de la MEC, afin de maintenir les caractéristiques des cellules stromales. Les matériaux utilisés vont des substances naturelles (alginate, chitosane, collagène) aux polymères synthétiques et aux métaux. Les matériaux naturels sont priviligés pour leur bioactivité et biocompatibilité, tandis que les

matériaux synthétiques offrent un contrôle précis des propriétés physico-chimiques, souvent optimisés à l'aide de calculs et de méthodes issues de la recherche sur les métamatériaux [107].

En résumé, les cultures 3D offrent un environnement plus proche de l'environnement natif pour les cellules osseuses, permettant de mieux étudier la croissance, la différenciation et la réponse aux stimuli mécaniques. Chacun des modèles - sphéroïdes, hydrogels ou supports de culture - présente des avantages et limites, dont le choix dépend des objectifs expérimentaux et des contraintes techniques. Ce domaine étant particulièrement vaste, seules les notions générales ont été abordées [108, 109, 110, 111].

### 1.2.2 Dispositifs expérimentaux permettant la stimulation mécanique de cultures cellulaires

Pour étudier *in vitro* comment ces cellules perçoivent et répondent aux contraintes mécaniques - par exemple en termes de prolifération ou différenciation - il est nécessaire de compléter ces modèles par des dispositifs capables d'appliquer une **stimulation mécanique contrôlée**. Les expériences menées sur différents substrats ont montré en effet que des chargements dynamiques favorisaient l'ostéogénése. [112, 113, 114]. Les paramètres de stimulation mécanique, notamment l'amplitude, la fréquence ou la durée sont déterminantes, mais leurs effets précis restent encore partiellement compris. Cette incertitude est particulièrement importante pour les stimulations à haute fréquence, telles que les ultrasons, qui peuvent générer des harmoniques ou provoquer une élévation locale de la température.

Une représentation des stimuli mécaniques sur une échelle de fréquence est proposée ci-dessous (**Figure 1.5**) et illustre les différentes gammes utilisées, depuis les oscillations à basse fréquence jusqu'aux vibrations à haute fréquence, mettant en évidence les divers environnements mécaniques auxquels les cellules peuvent être exposées.

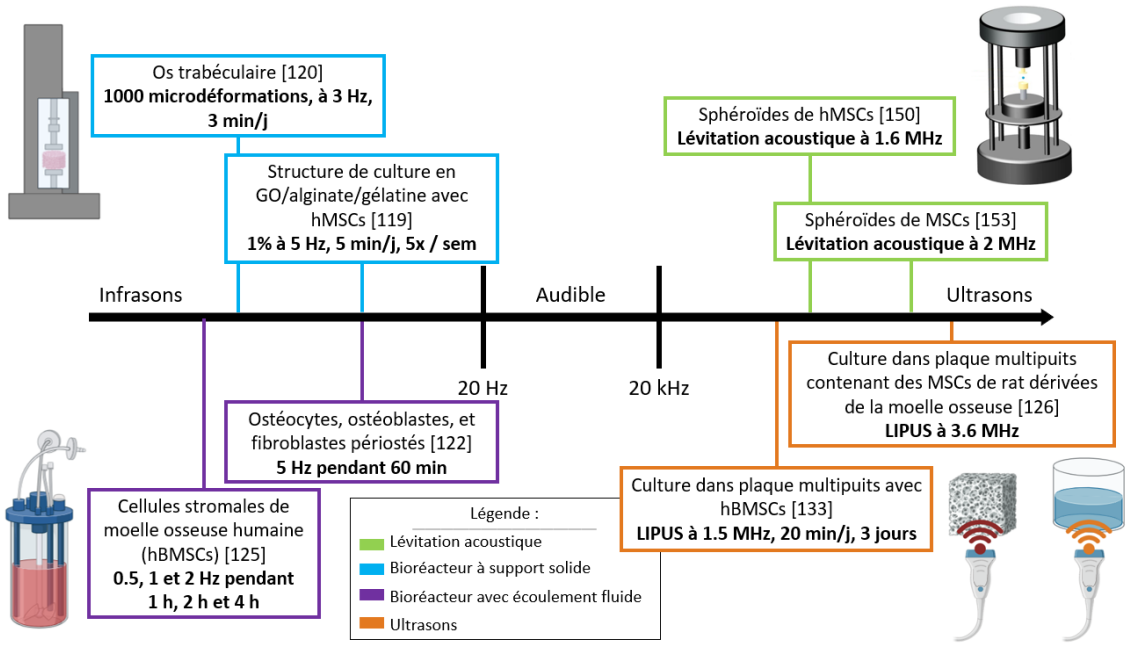



FIGURE 1.5 – **Frise fréquentielle des différentes stimulations mécaniques appliquées aux cellules.** *Plage de fréquences associées aux quatre types de stimulation : (vert) lévitation acoustique, (bleu) compression de structures de culture/matrices poreuses, (violet) bioréacteurs à écoulement fluide, et (orange) ultrasons, avec exemples d'application.*

### Fonctions et objectifs des bioréacteurs

Afin d'imposer différents environnements en cours de culture cellulaire, différents systèmes ont été développés et sont généralement regroupés sous le terme générique de bioréacteurs. Ces dispositifs permettent non seulement de contrôler et de surveiller l'environnement physico-chimique des cellules, mais certains sont également conçus pour appliquer des stimulations mécaniques.

Parmi ces dispositifs, les bioréacteurs cycliques permettent d'appliquer des chargements répétés sur le substrat, tels que la compression, la tension ou la flexion. Dans le cas du tissu osseux, la compression est fréquemment utilisée comme stimulation mécanique, car elle constitue une sollicitation majeure à l'échelle du squelette et permet, de manière indirecte, de générer des stimuli mécaniques au niveau cellulaire, notamment via les déplacements du fluide interstitiel. Bien que ce flux et les contraintes de cisaillement (WSS) soient aujourd'hui considérés comme des acteurs clés dans la mécanotransduction osseuse, l'application de chargements compressifs contrôlés a néanmoins démontré une amélioration de la réponse cellulaire.

Il a en effet été démontré que, en fournissant les signaux biochimiques et physiques adéquats, ces bioréacteurs favorisent la différenciation des cellules souches et la production de MEC [115, 116].

De nombreux modèles ont été développés sur mesure, selon le type de substrat et les objectifs expérimentaux [116, 117, 118, 119, 120]. Par exemple, un bioréacteur automatisé a été

récemment conçu pour appliquer une compression à 5 Hz sur des cultures 3D, avec contrôle en temps réel de la force et de la température [121]. Les résultats ont montré une augmentation de la prolifération cellulaire et de l'activité de phosphatase alcaline (ALP), suggérant une induction ostéogénique plus forte. Une autre étude appliquant une compression dynamique à 3 Hz a également amélioré la production de MEC et la distribution cellulaire [122].
Certains bioréacteurs ont également été conçus pour appliquer des chargements mécaniques combinés. Au sein de notre équipe, un bioréacteur multi-chambres a été développé afin de soumettre simultanément plusieurs échantillons à des cycles de tension, de torsion ou de tension-torsion, tout en assurant un environnement thermorégulé, stérile et perfusé [123]. Dans cette étude, une structure tissée ensemencée avec des cellules stromales mésenchymateuses de la moelle osseuse a été mis en culture pendant 24 h afin de permettre l'adhésion cellulaire. Une stimulation mécanique cyclique à 1 Hz, combinant une déformation de 2,5 % et une rotation de 10° a ensuite été appliquée pendant 2 min toutes les 30 minutes sur une période de 10 h. Les résultats ont montré que les cellules ont adhéré au support sous l'application de ces stimulations mécaniques.

Au-delà de la compression directe, le flux de fluide dans le système lacuno-canaliculaire constitue une source majeure de stimulation mécanique physiologique, induisant des contraintes de cisaillement sur les cellules (WSS). Des bioréacteurs à écoulement de fluide - basés sur des parois rotatives ou des systèmes de perfusion - permettent de reproduire ces contraintes et d'améliorer l'efficacité de la culture [124, 125]. Certains dispositifs génèrent également une pression hydrostatique cyclique (CHP) [126]. Il a été montré que même une faible pression de 10 kPa à une fréquence de 2 Hz pouvait induire un engagement ostéogénique, soulignant l'importance des contraintes hydrodynamiques dans la régulation des cellules osseuses [127].

**Méthodes de stimulation par ultrasons**

Une autre approche consiste à appliquer des ondes ultrasonores au milieu de culture à l'aide d'un transducteur piézoélectrique. Cette stimulation génère également des WSS et permet d'étudier des effets à **haute fréquence**, jusqu'à plusieurs MHz [128, 129]. Selon l'intensité, les ultrasons peuvent être utilisés à des fins diagnostiques ou thérapeutiques. A faible intensité (0,5-50 $mW/cm^2$), ils sont principalement employés en imagerie médical pour visualiser des structures internes de l'organisme. A plus haute intensité (0,2-100 $W/cm^2$), ils induisent des effets thermiques, exploités en thérapie [130, 131].

Parmi ces techniques, les ultrasons pulsés de faible intensité (LIPUS) constituent une méthode non invasive et non thermique avec des résultats encourageants, mais encore controversés, pour la réparation des fractures. Ils induisent des contraintes mécaniques au niveau du site de fracture, favorisant la formation osseuse par ossification intramembraneuse et endochondrale [132].

Des études récentes ont d'ailleurs montré que le LIPUS améliore la prolifération, la migration et la différenciation ostéogénique des cellules stromales mésenchymateuses et des ostéoblastes [133, 134, 135, 136]. Par exemple, des hBMSCs ont été stimulées à des intensités de 30 à 70 mW/cm$^2$ pendant 4 jours, à 1,5 MHz avec un cycle de 20 % et une fréquence d'impulsion de 1 kHz. Les intensités optimales (50-60 mW/cm$^2$, 5-10 min/jour) ont entraîné une augmentation de la charge ultime et de la rigidité, confirmée par cytométrie en flux et par le dépôt de calcium en milieu ostéogénique.

Cependant, malgré ces résultats prometteurs, la stimulation par ultrasons présente des limites :

- variabilité des résultats selon l'intensité, la fréquence et la durée d'exposition [137],
- forte sensibilité au type cellulaire [138],
- environnement mécanique local mal caractérisé,
- manque de standardisation des protocoles et validation clinique partielle [139, 140].

Ces limites illustrent l'importance de développer des méthodes permettant de contrôler plus précisément les stimuli mécaniques appliqués aux cellules.

#### 1.2.2.1 Vers une manipulation sans contact : applications de la lévitation acoustique

Dans les dispositifs précédemment mentionnés, les stimulations mécaniques sont transmises aux cellules par l'intermédiaire des interfaces du milieu ou du substrat, ce qui conduit à des champs de contraintes potentiellement hétérogènes à l'échelle microscopique, difficiles à contrôler et à prédire. Même si des approches numériques peuvent être utilisées pour cartographier ces champs de contraintes à partir de la géométrie du substrat et des conditions de chargement (comme cela sera décrit ultérieurement), la définition d'un lien direct entre un environnement mécanique donné et les réponses cellulaires demeure un véritable défi.

Afin de s'affranchir de ces limitations, les techniques de lévitation constituent une approche sans contact qui suscite un intérêt croissant, notamment en raison de leur capacité à permettre la manipulation de particules/cellules dans un environnement contrôlé [141, 142]. Différents phénomènes physiques peuvent être exploités pour générer une lévitation, notamment la lévitation magnétique [143], optique [144, 145], électrostatique [146], aérodynamique [147] et acoustique.

Plus particulièrement, la lévitation acoustique représente une technique simple et peu coûteuse permettant de maintenir des objets en suspension dans un fluide. Même en l'absence de contact avec un substrat solide, les cellules sont soumises aux forces du champ acoustique, aux vibrations locales du fluide, ainsi qu'aux micro-courants et cisaillements induits par l'onde acoustique. Ces effets génèrent des contraintes mécaniques distribuées sur la membrane des cellules,

susceptibles d'influencer leur réponse tout en conservant l'avantage de l'absence de contact direct. En effet, l'utilisation de la pression de radiation acoustique générée par des ondes acoustiques permet de suspendre des objets ou particules en contrecarrant la gravité, au moyen d'un transducteur piézoélectrique et d'un réflecteur. Le tranducteur génère une onde ultrasonore qui se propage dans le milieu et est réfléchie par le réflecteur. Ce phénomène conduit ainsi à la formation d'ondes stationnaires, dont les noeuds de pression résultent de l'interférence des ondes incidentes et réfléchies. Ces noeuds sont des positions stables dans le champ acoustique, vers lesquelles les particules et cellules tendent à se localiser en raison de l'équilibre des forces exercées [148]. En pratique, les lévitateurs acoustiques utilisent généralement des ultrasons (¿ 20 kHz) pour maintenir en suspension des particules de l'ordre du millimètre. Pour des objets plus petits, tels que les cellules qui sont de l'ordre du micron, des fréquences plus élevées, de l'ordre du MHz, sont nécessaires. Cette relation inverse entre la taille de l'objet et la fréquence s'explique par le fait que la dimension de l'échantillon doit rester inférieure à la longueur d'onde de l'onde acoustique [149] afin d'assurer le maintien stable de l'objet dans le noeud de pression. Cette approche permet ainsi une manipulation des particules sans contact et de manière non invasive. De plus, d'autres paramètres environnementaux, tels que la température, l'humidité ou la composition chimique du milieu environnant peuvent être contrôlés aisément [150, 151], afin de reproduire des conditions adaptées à la culture cellulaire. Les principes fondamentaux de la lévitation acoustique ainsi que l'influence de différents paramètres sur le comportement des objets lévités sont présentés plus en détail dans le chapitre 2, le lévitateur acoustique constituant le système central de cette thèse.

Dans le domaine de la biologie, différentes applications de la lévitation acoustique ont été récemment décrites, notamment pour la séparation, le confinement [152] et le tri cellulaire [153], ainsi que pour l'étude de la différenciation [154] et de la prolifération cellulaires [155].

Ces approches ont notamment été explorées pour étudier l'organisation spatiale de cellules dans des architectures biologiques complexes, afin de reproduire des tissus multicouches à la surface externe des organes [153]. Des cellules épithéliales ont été exposées à un champ acoustique dans une gamme de fréquences de 1,95 à 2,12 MHz (**Figure 1.6**). Elles ont ensuite été maintenues en lévitation pendant deux heures, favorisant leur auto-organisation en feuillets, puis ont été déposés sur une couche de fibroblastes. Cette approche a permis le développement d'un épithélium multicouche fonctionnel, avec expression de protéines impliquées dans la communication intercellulaire.

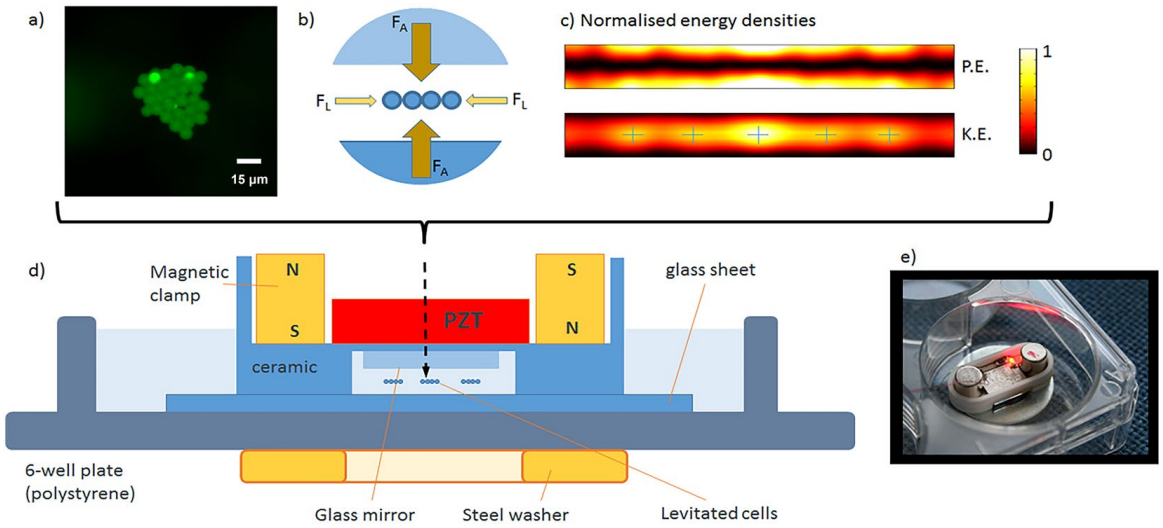



FIGURE 1.6 – **Organisation spatiale des cellules de l'épithélium par lévitation.** *(a) Image de l'agrégat cellulaire (barre d'échelle : 15 µm), (b) répartition des forces acoustiques axiale $F_A$ et latérale $F_L$, (c) modélisation du champ acoustique montrant les densités d'énergie normalisées, et (d-e) schéma et photographie du dispositif.*

Au-delà de l'organisation spatiale des cellules, l'influence de la lévitation acoustique sur la différenciation cellulaire a également été explorée [154]. Des cellules souches embryonnaires humaines (hESCs) ont été maintenues en lévitation acoustique à 340 kHz et 680 kHz (**Figure 1.7**), afin d'étudier l'organisation tridimensionnelle et les distances inter-couches dans le tissu cérébral modélisé. Après sept jours d'exposition, la viabilité cellulaire était globalement préservée et des signes de différenciation neuronale partielle ont été observés, suggérant l'initiation de la maturation neuronale sans acquisition complète des caractéristiques d'un neurone mature.

La poursuite de la culture a conduit au développement d'une population neuronale immature, montrant que la lévitation acoustique peut guider l'organisation 3D tout en maintenant le potentiel de différenciation.

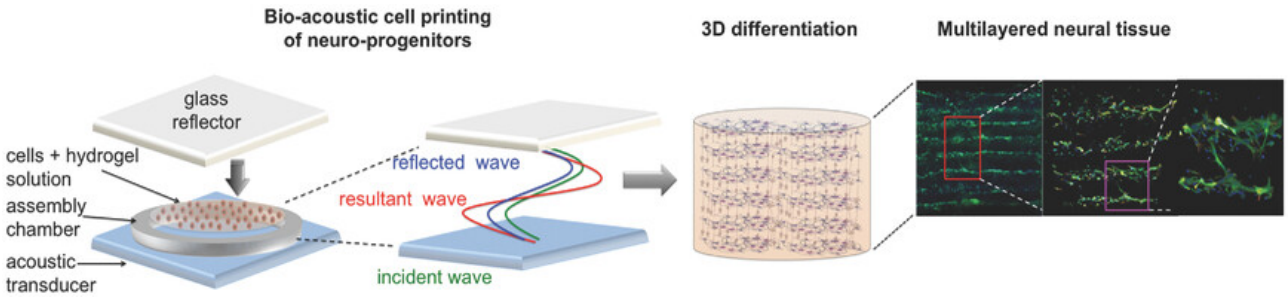



FIGURE 1.7 – **Structuration et maturation neuronale en lévitation acoustique.** *(Gauche et centre) Assemblage et maintien en suspension de structures tissulaires multicouches en 3D issues de hESCs par lévitation acoustique dans une matrice de fibrine ; (droite) différenciation en tissu neuronal 3D présentant des prolongements neuritiques.*

Dans une autre étude [155], des cellules stromales mésenchymateuses (MSCs) ont été maintenues en lévitation acoustique à 2 MHz pendant 24 h dans du milieu de culture (**Figure 1.8**). Cette exposition a favorisé la formation de sphéroïdes tout en préservant les marqueurs de

multipotence des MSCs. Lorsqu'elles ont été placées dans un milieu ostéogénique, ces structures se sont différenciées plus efficacement que les contrôles, suggérant un effet favorable de la lévitation acoustique sur le potentiel de différenciation ostéoblastique.

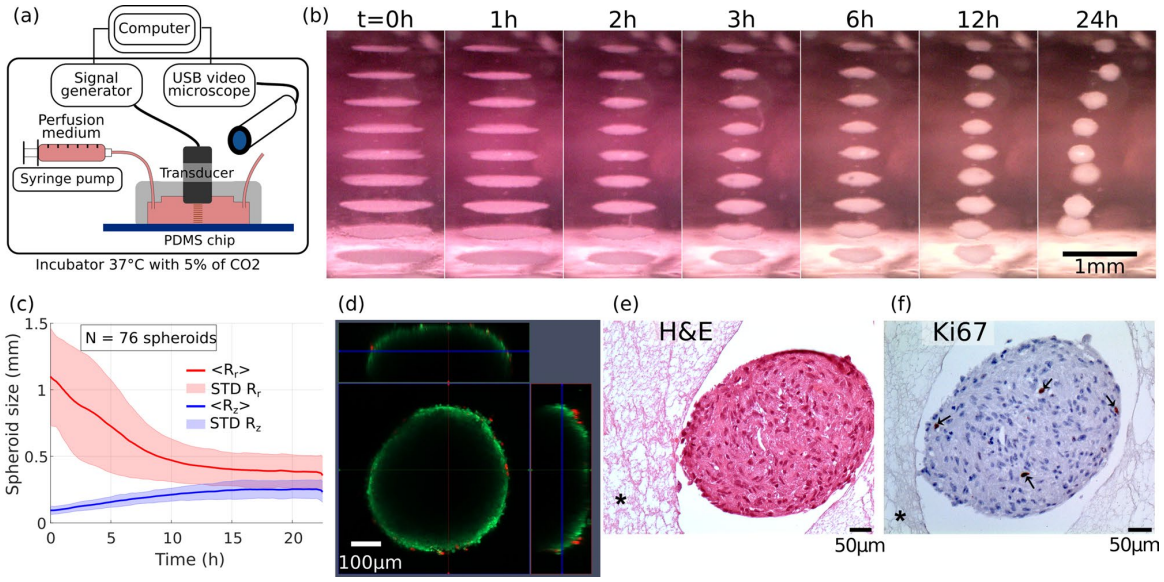



FIGURE 1.8 – **Formation de sphéroïdes et différenciation ostéoblastique en lévitation.** *(a) Dispositif expérimental de lévitation acoustique permettant le maintien et l'observation des cellules. (b) Séquence temporelle de l'auto-organisation des monocouches cellulaires en sphéroïdes stables. (c) Evolution des dimensions des agrégats au cours du temps. (d-f) Analyses de viabilité et histologiques des sphéroïdes après 24h de lévitation : Live/Dead, H&E (structure générale) et Ki67 (prolifération).*

Dans une approche comparable [152], des sphéroïdes de hMCSs ont été agrégés à l'aide d'ondes stationnaires générées par un lévitateur acoustique à 1,6 MHz dans du milieu de culture (**Figure 1.9**). Après 12 à 24 heures, les sphéroïdes se sont formés rapidement et présentaient une viabilité élevée, sans signe de cytotoxicité (absence de marqueurs de l'apoptose). L'analyse génique a montré une augmentation de l'expression de facteurs paracrines angiogéniques, impliquées dans la survie, la prolifération cellulaire et l'angiogenèse, essentielle au développement des tissus vascularisés. Ces sphéroïdes ont ensuite été appliqués pour leurs effets thérapeutiques, notamment contre l'inflammation et la fibrose, chez la souris.

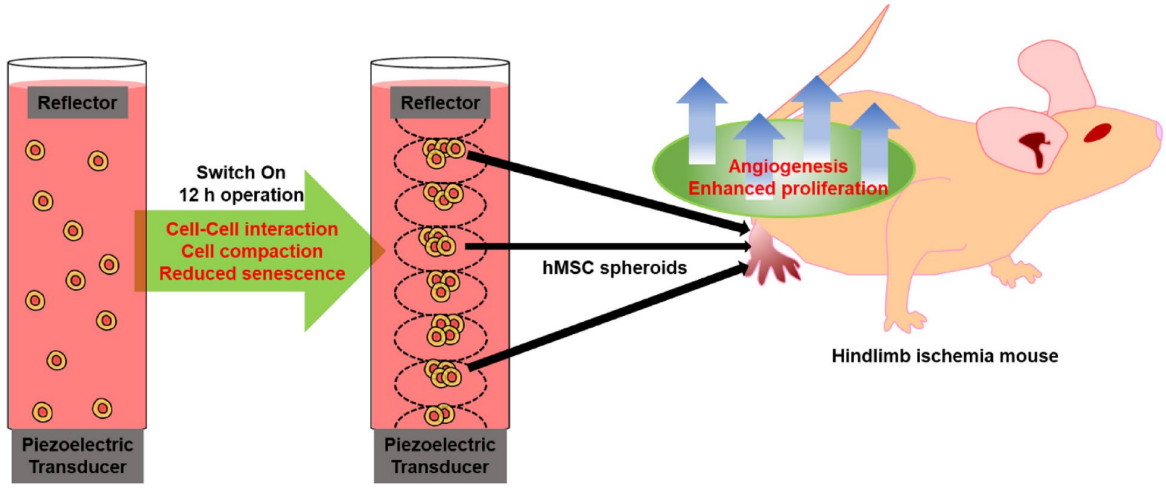



FIGURE 1.9 – **Agrégation et activité paracrine des sphéroïdes hMSCs.** *(Gauche) Schéma du dispositif de lévitation acoustique montrant l'agrégation des hMSCs en sphéroïdes. (Droite) Mise en oeuvre des sphéroïdes chez la souris pour tester l'effet sur la régénération après l'induction d'une ischémie des membres postérieurs, avec augmentation de l'angiogenèse et prolifération cellulaire.*

Par ailleurs, d'autres publications [156, 157], en collaboration avec [155], ont exploré l'utilisation de la lévitation acoustique pour la formation et la culture des sphéroïdes humains, notamment pour évaluer l'organisation cellulaire en 3D et la fonctionnalité de sphéroïdes hépatiques comparée à des modèles 2D et 3D classiques, illustrant l'intérêt croissant de ce bioprocédé.

Malgré ces avancées récentes et prometteuses dans l'utilisation de la lévitation acoustique pour la culture cellulaire tridimensionnelle, les études menées à ce jour restent relativement limitées. Elles concernent plusieurs types cellulaires (épithéliales, fibroblastiques, MCSs, hépatocytes), ce qui illustre la large panoplie d'applications de ce bioprocédé. Cependant, des investigations supplémentaires sont nécessaires pour caractériser plus précisément comment le champ acoustique influence la morphologie, la prolifération et la différenciation des différents types cellulaires. De plus, la plupart des expériences ont été réalisées avec un champ acoustique appliqué directement dans le milieu de culture, où les cellules sont en suspension et se positionnent au noeuds de pression du champ, tout en assurant leur viabilité grâce au renouvellement du milieu. Dans cette configuration, l'exposition au champ acoustique est continue et statique, maintenant ainsi les cellules en lévitation sans introduire de modulation mécanique notable.

Pour aller plus loin, il est nécessaire d'explorer des statégies basées sur la lévitation acoustique de gouttes d'hydrogels contenant des cellules, où la modulation du champ acoustique pourrait être appliquée. Cette approche permettrait d'exposer les cellules à des stimulations mécaniques cycliques, non invasives et contrôlables, à des fréquences plus basses (de l'ordre de dizaines à centaines de hertz), tout en conservant la possibilité de les remettre en culture dans des conditions standards. Elle offrirait également la possibilité d'étudier un spectre plus large de paramètres mécaniques. Ces conditions ouvrent de nouvelles perspectives pour la compréhension des effets du bioprocédé sur la réponse cellulaire. A notre connaissance, ces approches n'ont

pas encore été appliquées dans le contexte biologique. Cette question constitue le coeur de la thèse, et les méthodes expérimentales et de simulations, ainsi que les résultats associés, seront présentés dans les chapitres qui suivent.

TABLE 1.1 – **Résumé des conditions de culture et des réponses cellulaires selon différents stimuli mécaniques (même code couleur que Figure 1.5).**

| **Milieu / substrat** | **Stimu. méca.** | **Observations** | **Réf.** |
|---|---|---|---|
| Échafaudage composite en oxyde de graphène (GO) chargé de cellules hBMSC bio-imprimées en 3D avec milieu ostéogénique | Fréquence de chargement 5 Hz, déformation sinusoïdale de 1 %, pendant 5 min/j et 5j | Augmentation densité minérale er rigidité des organoïdes, différenciation ostéoblastes et ostéocytes, maturation collagène I, formation du réseau lacuno-canaliculaire et de l'expression protéine associée à Yes pour ML01 | [121] |
| Matrice poreuse d'os trabéculaire à base biologique | Compressions cycliques 1000 microdéformations, 3 Hz pendant 3 min/j, 2 j | Augmentation nombre d'ostéoblastes (+36 %) (24j) et dépôt de MEC | [122] |
| Sphéroïdes de hBMSC cultivés dans un milieu de croissant standard ou un milieu chondrogénique pendant 21j, puis dans un milieu ostéogénique pendant 21j | Pression hydrostatique (HP) à 10 MPa, 1 Hz pendant 1h/j, 3 semaines | Milieu de croissant + HP : formation osseuse précose avec activité ALP (21j)<br>Milieu chondrogénique + HP : minéralisation tardive (calcium) (42j)<br>Milieu chondrogénique + HP : collagène/protéines matrice osseuse (21j) | [126] |
| Ostéocytes, ostéoblastes et fibroblastes périostés isolés à partir de poulets foetaux, puis ensemencées sur lames de verre recouvertes de polylysine avec milieu de culture | Ecoulement pulsatile 5 Hz, cisaillement moyen de 0,7 Pa pendant 1h | Inhibition différenciation ostéoclastes et réduction résorption osseuse via des facteurs solubles produits par ostéocytes | [124] |
| hBMSCs cultivées sur lames de verre recouvertes de fibronectine | Pression hydrostatique cyclique (CHP) de 10 kPa, 100 kPa et 300 kPa à 0,5 Hz, 1 Hz et 2 Hz pendant 1 h, 2 h et 4 h | Différenciation ostéogénique à basse pression<br>Synthèse de collagène et minéralisation à toutes les amplitudes<br>Meilleure réponse à 2 Hz | [127] |

| Milieu / substrat | Stimu. méca. | Observations | Réf. |
|---|---|---|---|
| rBMSCs dans des plaques à 24 puits, cultivées avec milieu ostéogénique | Ultrasons 3,6 MHz, 30 mW/cm², 20 min/jour avec cycle de service de 27,8 % pendant 7 jours | Augmentation marqueurs ostéogéniques (OPN, collagène-1, Runx2, E11) et absence apoptose | [128] |
| rBMSC provenant d'animaux de 3 mois et 12 mois, ensemencées dans plaques à 24 puits avec milieu adipogénique ou ostéogénique | FLIPUS de 3,6 MHz à 11,7 ou 44,5 mW/cm² pendant 20 min/jour sur 14 jours | 11,7 mW/cm² : rBMSC 3 mois, augmentation OCN et minéralisation ; rMBSC 12 mois, diminution Runx2 (7 j)<br>44,5 mW/cm² : rBMSC 12 mois, augmentation Runx2 (14j) | [129] |
| hBMSCs dans des plaques à 6 ou 96 puits avec milieu contenant inhibiteur de croissance cellulaire | LIPUS 1,5 MHz, avec un cycle de service de 20 %, 30-40-50-60-80 mW/cm² pendant 5, 10 et 20 min/j pendant 4 jours | Pas de différenciation mais expression élevée des marqueurs des cellules stromales<br>prolifération favorisée à 50-60 mW/cm² pendant 5-10 min/jour<br>inhibition croissance 50 mW/cm² pendant 20 min/j | [135] |
| rBMSCs dans une plaque à 6 puits, puis dans milieu ostéogénique ou adipogénique | LIPUS 1,5 MHz, 30 mW/cm² pendant 20 min/j et 3 jours, puis répartis dans des puits avec inhibiteur de cicatrisation osseuse (UAG) ou sans (UG) | UG améliore migration des CSM et guérison fractures ultrasons, avec ou sans inhibiteur, améliore cicatrisation comparée au témoin | [133] |
| Suspension de rBMSC ensemencées sur deux échantillons de titane (poli et sablé, gros grain, décapé à l'acide) | LIPUS 1 MHz, 100 mW/cm² pendant 10 minutes | Augmentation prolifération cellulaire, activité ALP, minéralisation MEC, expression gènes et protéines (OPN, BMP-2, Runx2) | [134] |
| hBMSCs pour culture 2D et dans bioréacteur anti-gravité | Bioréacteur anti-gravité, 1,6 MHz pendant 12 heures | Agrégation sphéroïdes, augmentation des facteurs angiogéniques, et réduction fibrose et inflammation | [152] |

| Milieu / substrat | Stimu. méca. | Observations | Réf. |
|---|---|---|---|
| Cellules épithéliales et cellules fibroblastiques | Bioréacteur acoustofluidique, 1,95 à 2,12 MHz pendant 24h | Lévitation optimale de 2 h pour formation feuille cellulaire stable avec Ca2+ Barrière épithéliale fonctionnelle sans couches mixtes | [153] |
| Cellules stromales embryonnaires dérivées de neuroprogeniteurs dans un hydrogel de fibrine, puis placées dans milieu de différenciation neuronale | Lévitation bioacoustique, 340 kHz et 680 kHz pendant 10 minutes jusqu'à la polymérisation du gel | Expression précoce marqueurs neuroprogeniteurs Différenciation neuronale en cours dans milieu après 1 semaine | [154] |
| hMSCs provenant de tissu adipeux placées dans milieu adipocytaire ou ostéoblastique après lévitation | Lévitation acoustique, 2 MHz pendant 24h | Formation et agrégation sphéroïdes avec potentiel différenciation ostéoblastique | [155] |

## 1.3 Modélisation *in silico* en mécanobiologie osseuse : état de l'art et perspectives

Dans l'étude de la mécanobiologie et pour caractériser les propriétés biomécaniques des os, les simulations numériques jouent un rôle central. Elles permettent notamment l'accès à la répartition locale des contraintes et des déformations, et ainsi de relier les chargements mécaniques externes à des stimuli à l'échelle locale, et donc d'intepréter les réponses biologiques. Ces modèles constituent ainsi un outil essentiel pour développer et évaluer des modèles mécanobiologiques, tout en fournissant des informations sur les pathologies osseuses et leurs mécanismes sous-jacents, tels que la croissance osseuse, l'ossification ou la dégradation tissulaire, avec un appui sur des résultats expérimentaux [158].

Les modèles numériques peuvent également prédire l'évolution clinique de certaines pathologies ou la croissance des tissus, en se basant sur des données telles que la géométrie osseuse ou l'historique des charges appliquées [159]. Dans le contexte chirurgical, la simulation numérique permet de personnaliser les protocoles opératoires, en adaptant les interventions à la pathologie spécifique du patient, ce qui contribue à réduire la durée et les risques liés aux procédures [160].

Les avancées récentes en calcul numérique ont permis de créer des modèles de l'os plus complexes et multi-échelles, intégrant la microstructure osseuse, les propriétés des matériaux, ainsi que des phénomènes non mécaniques comme les effets piézoélectriques, magnétiques ou chimiques, sans oublier les interactions fluide-structure dans le réseau lacuno-canaliculaire. De nombreuses revues de littérature détaillent aujourd'hui ces approches de modélisation numérique des os [160, 161, 162, 163].

Les sections suivantes se concentrent sur les méthodes numériques permettant d'explorer les relations entre chargements mécaniques externes, environnement mécanique des cellules et réponses cellulaires.

Différents types d'expériences peuvent être reproduits *in silico*, qu'il s'agisse de contraintes de cisaillement fluidique (FSS) [164] ou de contraintes sur substrat solide. Certains modèles simulent les stimuli mécaniques exercés par le fluide entourant les ostéocytes [165], tandis que d'autres prédisent les réponses liées à la déformation osseuse sous chargement mécanique [166].

Pour modéliser les stimulations induites par ces chargements mécaniques, la méthode des éléments finis (FEM) [167] est largement utilisée pour résoudre les équations d'élasticité, tandis que la mécanique des fluides numérique (MFN), généralement désigné sous le terme anglais "*Computational Fluid Dynamics*" (CFD) [168], traite des écoulements et des contraintes hydrodynamiques.

### 1.3.1 Méthodes des éléments finis FEM et CFD

La méthode des éléments finis (FEM) s'est imposée comme un outil de référence en mécanique pour la résolution des équations de la mécanique des milieux continus appliqués aux solides. Son principe repose sur la décomposition de systèmes complexes en un ensemble d'éléments discrets interconnectés par des noeuds, permettant la discrétisation des équations continues et l'application de conditions aux limites telles que les pressions, forces, températures ou déplacements. A partir de cette discrétisation, les champs mécaniques, notamment les contraintes et les déformations, sont calculés au niveau de chaque élément en fonction de la loi de comportement du matériau considéré. Ces grandeurs mécaniques constituent des entrées essentielles pour les modèles mécanobiologiques, en particulier pour l'analyse des stimuli mécaniques auxquels les cellules osseuses sont exposées [169].

Depuis plus de deux décennies, la FEM est largement utilisée pour établir un lien entre les chargements mécaniques à l'échelle macroscopique et le microenvironnement cellulaire. Elle permet ainsi d'estimer les stimuli locaux susceptibles d'être détectés par les ostéocytes et de faciliter l'interprétation des observations biologiques expérimentales. De nombreuses revues ont synthétisé ces travaux et leurs applications en mécanobiologie osseuse [170, 171, 172, 173].

Les capacités de calcul actuelles permettent de réaliser des simulations impliquant des millions d'éléments, intégrant des lois de comportement de plus en plus sophistiquées, et offrant une reproduction fidèle des résultats expérimentaux. Néanmoins, la FEM demeure principalement orientée vers la description de la mécanique des solides. A l'inverse, la dynamique des fluides numériques (CFD) est plus adaptée à la modélisation des écoulements et à la description spatiale des champs de fluide.

De manière générale, les cellules sont soumises à des stimuli résultant à la fois des déformations du substrat et des contraintes de cisaillement induites par l'écoulement du fluide interstitiel [174]. La modélisation couplée FEM-CFD permettrait d'obtenir une description plus complète des chargements mécaniques perçus par les cellules, offrant ainsi une approche potentiellement enrichissante pour certaines applications.

### 1.3.2 Interactions fluide-structure : couplage CFD/FEM

L'interaction fluide-structure a été largement utilisée pour simuler le comportement des ostéocytes soumis à l'écoulement du fluide interstitiel au sein du système lacuno-canaliculaire (LCS) [31, 175, 32, 30]. Les modèles FSI permettent de prédire les champs de vitesse, de pression et la distribution des contraintes de cisaillement exercées sur les cellules. Ils ont également mis en évidence l'influence majeure de la géométrie ostéocytaire sur les écoulements locaux, les études reposant sur des géométries simplifiées conduisant souvent à des estimations de contraintes et de déformations sensiblement différentes de celles obtenues à partir de géométries reconstruites

par imagerie [176].

Les modèles FSI intégrant des géométries variables ou patient-spécifiques prédisent que la vitesse d'écoulement et la contrainte de cisaillement pariétale (WSS) dépendent des caractéristiques structurelles du système lacuno-canaliculaire (LCS), telles que l'espacement canaliculaire et la rugosité de surface. Ces paramètres modulent directement l'environnement mécanique auquel sont exposés les ostéocytes et jouent un rôle clé dans les mécanismes de mécanotransduction [177].

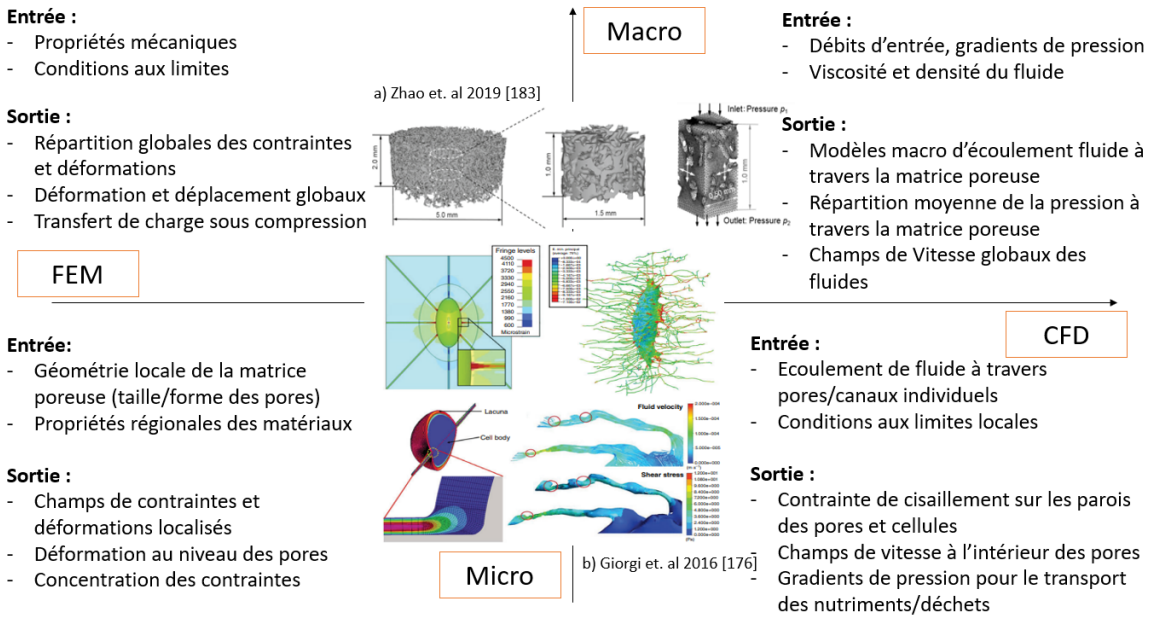



FIGURE 1.10 – **Représentation schématique des interactions entre simulations et échelles biologiques.** *Chaque case correspond à un couple FEM/CFD et macro/micro, avec les entrées appliquées et les sorties obtenues.*

À l'échelle cellulaire, les simulations des forces induites par les écoulements ont été utilisées pour prédire les réponses ostéogéniques sous charge mécanique [178]. Par exemple, Verbruggen et al. [179] ont réalisé des reconstructions tridimensionnelles d'ostéocytes à partir d'images de microscopie confocale afin de simuler l'écoulement du fluide lors d'activités physiques intenses. En attribuant des propriétés mécaniques, telles que le module de Young et le coefficient de Poisson, à la fois à la matrice extracellulaire (MEC) et au corps cellulaire, leur modèle a montré que les vitesses et contraintes de cisaillement les plus élevées se développent au sein des canalicules ostéocytaires. Ces résultats, fortement influencés par la rugosité de surface, soulignent le rôle déterminant de la structure canaliculaire dans la mécanotransduction ostéocytaire et la régulation de la croissance osseuse. Ce type de modèle numérique a par la suite été appliqué expérimentalement par Haugh et al [180], qui ont appliqué des contraintes mécaniques contrôlées à 1 Pa sur des ostéoblastes.

À l'échelle tissulaire, le couplage de la FEM et de la CFD dans des cadres FSI a également été

employé pour étudier des supports de culture soumis à des stimulations mécaniques en ingénierie tissulaire osseuse [181, 182, 183, 184, 185]. Ces modèles mettent en évidence l'hétérogénéité des microenvironnements mécaniques, en identifiant des régions soumises à de fortes hétérogénités des contraintes et à un équilibre dynamique entre tension et compression. De telles analyses offrent des outils précieux pour l'optimisation de la conception des supports de culture et des conditions de culture dynamique, notamment en permettant le contrôle de paramètres tels que la vitesse d'écoulement et les taux de déformation.

Les modèles de mécanorégulation, tels que le cadre pionnier proposé par Prendergast [35], établissent un lien direct entre les stimuli mécaniques et la différenciation tissulaire, montrant comment les forces mécaniques influencent l'évolution des tissus. Dans des systèmes de culture dynamique, des modèles FSI ont été appliqués à des explants osseux soumis à des stimuli ostéogéniques hétérogènes. Cette variabilité locale des contraintes induites par les chargements mécaniques influencent directement l'adaptation osseuse [186]. Dans la conception de systèmes expérimentaux, il est donc préférable de tenir compte de cette hétérogénité et de contrôler les stimuli mécaniques de manière ciblée.

### 1.3.3 Simulation de la pression acoustique et de la propagation d'ondes

Au cours des deux dernières décennies, les études expérimentales fondées sur la propagation d'ondes acoustiques, induisant des vibrations mécaniques ou des phénomènes de lévitation, se sont considérablement développées. En parallèle, des approches numériques ont émergé afin de prédire l'environnement mécanique généré par ces stimulations et analyser les effets potentiels sur les cellules et les tissus.

Les dispositifs LIPUS ont été modélisés pour explorer, par modélisation numérique, les mécanismes de mécanotransduction associés à des stimulations à hautes fréquences, comparés aux stimuli mécaniques physiologiques classiques, généralement caractérisés par de basses fréquences (0–20 Hz) [187]. Des modèles numériques, comme par exemple des représentations 2D de l'os cortical intégrant un signal ultrasonore de l'ordre de 1 MHz ont permis de quantifier la contrainte de cisaillement pariétale (WSS) et d'évaluer l'écoulement au sein du réseau lacunaire-canaliculaire. Ce qui a permis de montrer que ces fréquences peuvent induire des réponses des ostéocytes.

La propagation des ultrasons dans des milieux fluides 3D a également été modélisée afin de quantifier les champs acoustiques générés sous différentes hauteurs de fluide et en présence de dispositifs absorbants conçus pour limiter la réflexion des ondes. Des études similaires ont notamment exploré l'utilisation de couches absorbantes pour moduler le champ acoustique et mieux contrôler la distribution des pressions et des forces induites [188]. Ces travaux soulignent l'importance de la configuration expérimentale et des conditions aux limites dans la génération de stimuli mécaniques acoustiques contrôlés.

Ces deux types d'approches mettent en évidence le rôle des modèles *in silico* dans l'étude des réponses cellulaires et tissulaires aux stimuli mécaniques. En particulier, les études portant sur l'os cortical et présentant différents niveaux de porosité montrent comment les ondes ultrasonores interagissent avec des structures tissulaires complexes et comment les forces mécaniques induites peuvent varier en fonction de l'architecture du tissu.

Dans leur ensemble, ces travaux démontrent la polyvalence des ultrasons en tant qu'outil de stimulation mécanique dans les modèles numériques. Leur caractère adaptable et sans contact en fait un moyen de sollicitation adapté pour stimuler et étudier les réponses biologiques dans divers contextes d'ingénierie tissulaire.

### 1.3.4 Comparaison approches continues et basés sur agent

En complément des approches numériques, des modèles mécanobiologiques peuvent être utilisés pour interpréter les observations biologiques. Deux grands cadres de modélisation numérique sont globalement adoptées : les approches continues [189, 190, 191] et les modèles basés sur des agents (*Agent-Based Models* ou ABM) [192, 193, 194, 195].

Les **modèles continus** décrivent la dynamique cellulaire et tissulaire à l'aide d'équations aux dérivées partielles (EDP) pour décrire l'évolution des champs continus, tels que la densité cellulaire, les concentrations de nutriments ou les grandeurs mécaniques, à l'échelle cellulaire. Ils sont particulièrement adaptés aux simulations à grande échelle et permettent d'intégrer les propriétés mécaniques et biochimiques des tissus, ainsi que l'influence de la géométrie du support et des gradients de nutriments sur la croissance cellulaire [196, 195].

En parallèle, les **modèles basés sur agents (ABM)** représentent explicitement les cellules individuelles et leurs interactions selon des règles comportementales []. Ils permettent de capturer l'hétérogénéité et la nature intrinsèquement stochastique des comportements cellulaires, comme la prolifération, la migration, l'apoptose ou la différenciation cellulaire. Parmi les modèles ABM, on peut citer PhysiCell [197], CompuCell [198] ou Morpheus [199].

Les approches continues reposent sur une représentation moyenne du tissu, ce qui limite leur capacité à décrire finement les réponses individuelles des cellules et leurs intéractions locales. A l'inverse, les modèles ABM offrent un haut niveau de détail à l'échelle cellulaire mais au prix d'un coût de calcul élevé, ce qui complique leur application à des systèmes de grande taille. La **Figure 1.11** synthétise les principaux avantages et inconvénients de ces deux approches.

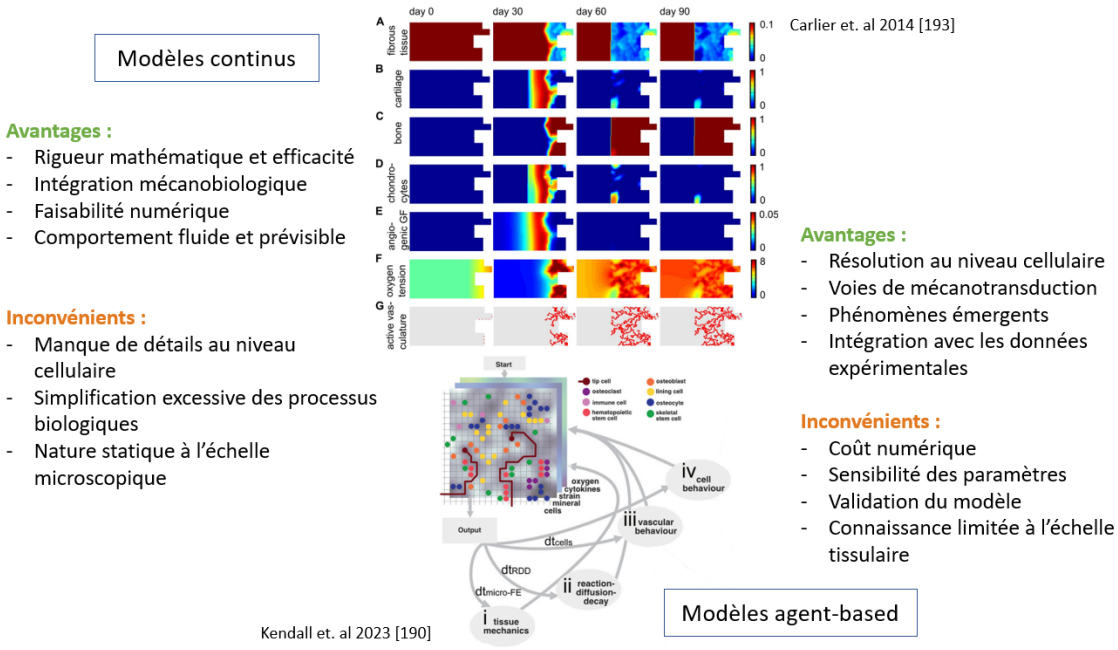



FIGURE 1.11 – **Comparaison des modèles continus et des modèles basés sur agents (ABM).** *Avantages et inconvénients entre les deux approches mécanobiologiques.*

## Conclusion du chapitre

L'objectif de cette thèse est d'étudier et de caractériser la lévitation acoustique de gouttes de solutions de polymère, afin de comprendre comment le champ acoustique et ses paramètres influencent leur forme, leur stabilité et leur dynamique. Elle vise plus particulièrement à appliquer des stimulations mécaniques aux cellules encapsulées dans les gouttes, au moyen de compressions cycliques générées par la modulation du champ acoustique. Cette approche présente l'intérêt d'être sans contact, de permettre un contrôle précis des conditions aux limites, et d'appliquer des sollicitations mécaniques sur une large gamme de fréquence.

Pour atteindre cet objectif, différents axes de travail ont été développés :

- la caractérisation de solutions de polymère d'origine naturelle, issus de gelée de Wharton du cordon ombilical ou de collagène de tendon de queue de rat, afin d'en évaluer les propriétés mécaniques ;
- la mise en place d'un banc expérimental de lévitation acoustique, permettant d'analyser l'influence de la tension d'entrée du lévitateur et le phénomène d'évaporation sur la forme, la stabilité et l'évolution temporelle du volume des gouttes ;
- la mise en place des bases d'un modèle *in silico* afin d'obtenir des cartographies de contraintes et de déformations au sein des gouttes, et d'établir par la suite un lien entre les sollications mécaniques à l'échelle macroscopiqe et celles perçues par les cellules à l'échelle microscopique ;
- la réalisation d'essais biologiques préliminaires afin d'évaluer l'impact des compressions cyliques sur la viabilité et l'adhérence cellulaire.

L'ensemble de ces travaux vise à mieux comprendre le fonctionnement du lévitateur acoustique, à hiérarchiser l'effet de différents paramètres de la lévitation, de définir les limites de ce procédé, ainsi que d'étudier la dynamique des gouttes de solution de polymère sous compressions cycliques. Cela permettra de mieux caractériser les conditions expérimentales et les sollicitations mécaniques pour de futures applications biologiques, et de pouvoir les intéresser sur la base d'un modèle *in silico* associé au procédé.

# Chapitre 2

# Stimulation par lévitation acoustique : développements expérimentaux et numériques

# Vers un banc expérimental opérationnel

Ce chapitre est consacré à la mise en place d'un banc expérimental ainsi qu'au développement d'un modèle numérique nécessaire à l'étude de la lévitation acoustique. Dans un premier temps, une brève présentation des principes physiques de la lévitation est proposée. La conception et la calibration du banc expérimental sont ensuite détaillées. Ce dernier a été décliné en trois configurations distinctes, chacune adaptée aux trois objectifs principaux de l'étude : (i) caractériser l'influence de la tension d'entrée sur la forme et la stabilité des gouttes, ainsi que le phénomène d'évaporation, (ii) analyser les effets d'une modulation contrôlée de la tension d'entrée sur l'application de compressions cycliques, et (iii) étudier les écoulements internes au sein des gouttes. La première configuration est dédiée à l'étude de l'influence de la tension d'entrée sur la forme de la goutte, ainsi qu'au suivi de son phénomène d'évaporation. La seconde intègre un générateur de basse fréquence (GBF) permettant de moduler cette tension d'entrée, afin d'appliquer des compressions cycliques à la goutte en lévitation, avec une fréquence et une amplitude contrôlées. Enfin, la troisième configuration vise à analyser les éventuels écoulements internes des gouttes d'hydrogel, en raison de leur fluidité, à l'aide de la méthode *Particle Image Velocimetry* (PIV).

En complément, une modélisation numérique de la goutte en lévitation a été développée, dans le but d'obtenir, par la simulation, la distribution des stimuli mécaniques au sein de la goutte en complément des observations expérimentales. Les résultats des simulations numériques sont mis à contribution notamment pour réaliser deux approches inverses permettant d'estimer simultanément la répartition spatiale des pressions acoustiques sur la surface de la goutte et les propriétés mécaniques des hydrogels. Ces informations constituent ainsi un cadre prédictif essentiel pour l'interprétation future des phénomènes mécanobiologiques, en particulier pour relier les conditions mécaniques locales aux réponses cellulaires.

**Dispostifs et équipements**

Le matériel expérimental présenté dans ce chapitre, incluant le dispositif de lévitation acoustique, les caméras et les équipements associés, a été gracieusement prêté par le laboratoire LEMTA, permettant la réalisation des mesures présentés dans le chapitre 4.

## Sommaire Chapitre 2


2.1 Introduction à la lévitation acoustique . . . . . 36
2.1.1 Principes physiques fondamentaux . . . . . 36
2.1.2 Force de radiation acoustique . . . . . 40
2.1.3 Relation entre SPL, amplitude acoustique $A0_e$ et pression de radiation acoustique . . . . . 42
2.1.4 Paramètres influents du procédé de lévitation acoustique . . . . . 43
2.1.4.1 Modulation de la tension d'entrée . . . . . 43
2.1.4.2 Oscillations naturelles et forcées de la goutte . . . . . 44
2.1.4.3 Dynamique au sein des gouttes . . . . . 47
2.1.4.4 Nombres sans dimensions caractéristiques de la goutte en lévitation acoustique . . . . . 50
2.2 Mise en place du banc expérimental . . . . . 52
2.2.1 Description du dispositif . . . . . 52
2.2.1.1 Caractéristiques techniques du lévitateur . . . . . 53
2.2.1.2 Essais préliminaires et choix des matériaux . . . . . 54
2.2.2 Contrôle et étude de la tension d'entrée . . . . . 55
2.2.2.1 Réglage de la tension d'entrée . . . . . 56
2.2.2.2 Métrologie . . . . . 57
2.2.3 Etude de l'évaporation . . . . . 57
2.2.3.1 Etude sans enceinte . . . . . 58
2.2.3.2 Etude avec enceinte . . . . . 58
2.2.3.3 Etude sous hotte à flux laminaire . . . . . 59
2.2.4 Modulation contrôlée et automatique : vers des compressions cycliques . . . . . 59
2.2.5 Vélocimétrie par Image de Particles (PIV) . . . . . 61
2.2.6 Post-traitement des données acquises pendant la lévitation . . . . 61
2.2.7 Incertitudes et limites . . . . . 65
2.3 Modélisation numérique de la goutte en lévitation acoustique . . . . . 66
2.3.1 Reconstruction géométrique de la goutte . . . . . 67
2.3.2 Maillage . . . . . 67
2.3.3 Conditions aux limites . . . . . 68
2.3.4 Stratégies de stabilisation du modèle . . . . . 69
2.3.5 Chargement . . . . . 70
2.3.5.1 Détermination des valeurs de pression acoustique à partir de matériaux connus . . . . . 71
2.3.5.2 Détermination des paramètres matériaux . . . . . 73
2.3.6 Post-traitement . . . . . 75

## 2.1 Introduction à la lévitation acoustique

La première section de ce chapitre vise à présenter le fonctionnement de la lévitation acoustique. Elle introduit les lois physiques qui permettent de maintenir en lévitation des gouttes ou des objets à l'aide d'ondes ultrasonores. L'objectif n'est pas de fournir une description exhaustive de l'acoustique théorique, mais de détailler les différents concepts directement impliqués.

Nous présentons d'abord les bases nécessaires à l'interprétation des expériences. Cela inclut la formation des ondes stationnaires, l'origine et l'expression de la force de radiation acoustique, ainsi que le potentiel de Gor'kov.

Dans un second temps, nous décrirons l'influence des paramètres d'excitation du transducteur, c'est-à-dire la modulation du signal d'entrée. Enfin, nous abordons les phénomènes dynamiques propres aux gouttes en lévitation, tels que leurs oscillations, leur évaporation et les écoulements internes qui peuvent être induits par le champ acoustique.

### 2.1.1 Principes physiques fondamentaux

La lévitation acoustique repose sur un principe simple : utiliser des ondes acoustiques pour générer des forces capables de compenser la gravité. Pour ce faire, on utilise un transducteur piézoélectrique, qui se déforme mécaniquement lorsqu'il est soumis à une tension alternative. Cette déformation est périodique et produit des vibrations dans l'air, c'est-à-dire une onde ultrasonore [200], dont l'amplitude est réglable directement en modifiant la tension d'entrée appliquée au dispositif. Cette onde est ensuite réfléchie par un réflecteur situé en face du transducteur. **La superposition de l'onde incidente et de l'onde réfléchie conduit alors à la formation d'une onde stationnaire.**
Dans cette configuration classique, le transducteur et le réflecteur jouent tous les deux le rôle de frontières rigides, ce qui définit un lévitateur dit **résonant** fonctionnant sur un seul axe. A l'inverse, certains systèmes utilisent deux transducteurs se faisant face : ils constituent alors des lévitateurs **non résonants** [142], mais le principe de superposition reste identique.

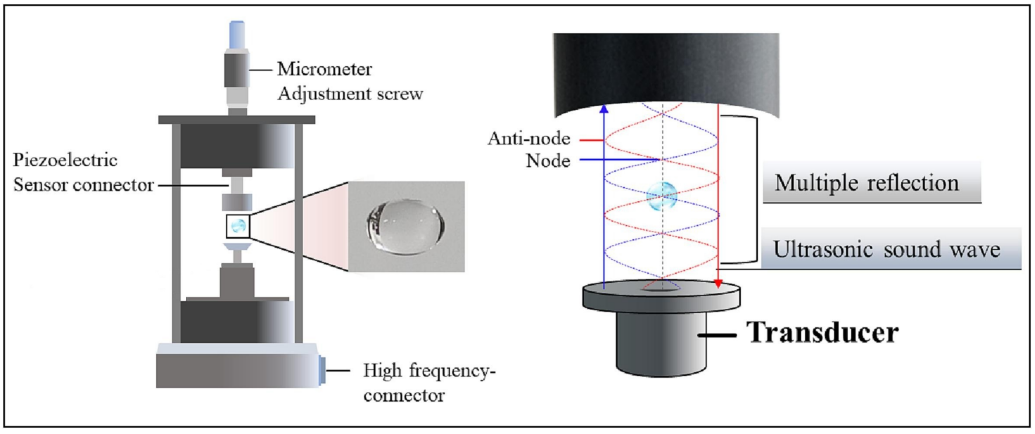



FIGURE 2.1 – **Lévitateur acoustique.** *Dispositif composé d'un transducteur placé au-dessous et d'un réflecteur réglable par micromètre au-dessus, permettant de créer un champ acoustique stationnaire grâce à la superposition des ondes incidentes et réfléchies* [**?** ].

L'onde générée par le transducteur se propage vers la droite, c'est-à-dire dans le sens de x croissant. L'onde réfléchie, quant à elle, se propage vers la gauche, dans le sens de x décroissant. En notant $y_R(x,t)$ et $y_L(x,t)$ les deux contributions [201] s'écrivent :

$$y_R(x,t) = A\sin\left(\frac{2\pi}{T}t - \frac{2\pi}{\lambda}x + \phi_1\right) = A\sin\left(\omega t - kx + \phi_1\right) \tag{2.1}$$

$$y_L(x,t) = A\sin\left(\frac{2\pi}{T}t + \frac{2\pi}{\lambda}x + \phi_2\right) = A\sin\left(\omega t + kx + \phi_2\right) \tag{2.2}$$

$$y_{total}(x,t) = y_R(x,t) + y_L(x,t) \tag{2.3}$$

$$\text{avec } \omega = \frac{2\pi}{T} = 2\pi f \text{ et } k = \frac{2\pi}{\lambda}$$

Les grandeurs $\omega$, $k$, $x$, $t$ et $\lambda$ désignent respectivement la fréquence angulaire, le nombre d'onde, la position spatiale, le temps qui indique l'instant considéré dans l'évolution de l'onde ainsi que la longueur d'onde. La période $T = \frac{2\pi}{\omega}$ correspond au temps nécessaire pour qu'une oscillation complète se produise.

Pour simplifier l'expression de l'onde stationnaire, l'identité trigonométrique suivante est utilisée :

$$\sin\alpha + \sin\beta = 2\sin\frac{\alpha+\beta}{2}\cos\frac{\alpha-\beta}{2} \tag{2.4}$$

En utilisant (2.4) dans la formule (2.3), l'onde totale devient :

$$\begin{aligned} y_{total}(x,t) &= A\sin(\omega t + kx) - A\sin(\omega t - kx) \\ &= 2A\cos\left(\frac{\omega t + kx + \omega t - kx}{2}\right)\sin\left(\frac{\omega t + kx - \omega t + kx}{2}\right) \\ &= 2A\cos\left(\frac{2\omega t}{2}\right)\sin\left(\frac{2kx}{2}\right) \\ &= 2A\cos\omega t\sin kx \\ y_{total}(x,t) &= 2A \underbrace{\cos\left(\frac{2\pi}{T}t\right)}_{\text{Oscillation temporelle}} \underbrace{\sin\left(\frac{2\pi}{\lambda}x\right)}_{\text{Variation spatiale}} \end{aligned} \tag{2.5}$$

Cette expression montre que l'onde stationnaire présente une structure spatiale fixe dans le temps, décrite par le terme $sin(kx)$, qui détermine la position des noeuds (points de déplacement nul) et antinoeuds (points de déplacement maximale). L'oscillation temporelle uniforme, décrite par $\cos\omega t$, module l'amplitude globale de la fréquence $\omega$ via $\cos\omega t$. Les ondes incidentes et réfléchies possèdent la même amplitude et la même fréquence puisqu'elles proviennent du même transducteur et se propagent dans le même milieu. Contrairement à une onde progressive, une onde stationnaire ne transporte pas d'énergie nette dans une direction donnée, mais se caractérise par des oscillations locales du milieu.

A partir du déplacement $y_{total}(x,t)$, deux grandeurs acoustiques principales sont définies. D'une part la pression acoustique $p(x,t)$ qui est liée au gradient spatial de déplacement et qui renseigne sur la compression ou l'extension locale du milieu. D'autre part, la vélocité particulaire $v(x,t)$ qui correspond à la variation temporelle du déplacement et qui mesure le mouvement réel des particules.

$$p(x,t) = -\rho c^2\frac{\partial y_{total}}{\partial x} = -\frac{4\pi\rho c^2 A}{\lambda}\cos\frac{2\pi}{T}t\cos\frac{2\pi}{\lambda}x \tag{2.6}$$

$$v(x,t) = \frac{\partial y_{total}}{\partial t} = -\frac{4\pi A}{T}\sin\frac{2\pi}{T}t\sin\frac{2\pi}{\lambda}x \tag{2.7}$$

La comparaison entre les expressions de $p(x,t)$ et de $v(x,t)$ montre que la pression est maximale là où $\cos(kx) = \pm 1$ soit aux antinoeuds de pression, tandis que la vélocité est nulle car $\sin(kx) = 0$. Inversement, aux noeuds de pression, lorsque la pression est minimale, la vélocité est maximale. Autrement dit, la pression et la vélocité sont déphasés de 90° dans l'espace, ce qui découle directement des relations entre déplacement, gradient spatial et dérivée temporelle. Il est important de préciser que le déplacement des particules du fluide n'est pas le même que le déplacement des gouttes "piégées", car la lévitation d'une goutte s'effectue au niveau des noeuds de pression, là où la force de radiation acoustique équilibre la gravité et les autres forces, conformément du potentiel de Gor'kov, détaillé dans la section suivante. Ainsi, les extrémités du lévitateur acoustique - transducteur et réflecteur - sont considérées comme des parois rigides, car la vélocité particulaire y est nulle à ces points.

Ce sont ces régions de pression acoustique élevée et stable qui permettent de maintenir un objet ou une goutte en lévitation (**Figure 2.1** [202]). Entre deux noeuds ou deux antinoeuds, il y a une distance de $\lambda/2$. La distance entre le transducteur et le réflecteur peut donc être écrite :

$$L = \frac{N \times \lambda}{2} \tag{2.8}$$

où N correspond au nombre de noeuds internes.

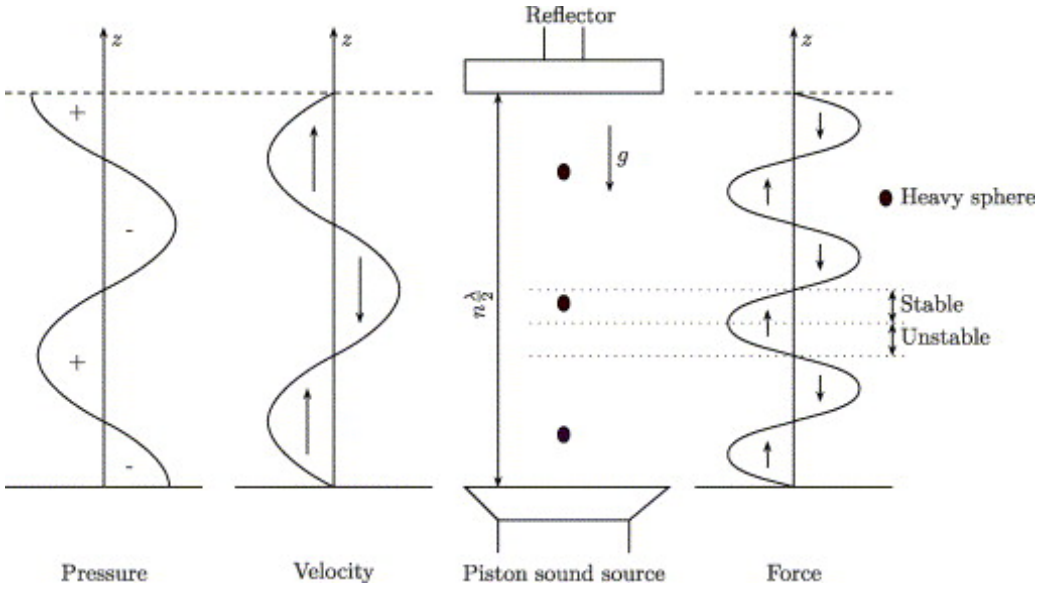


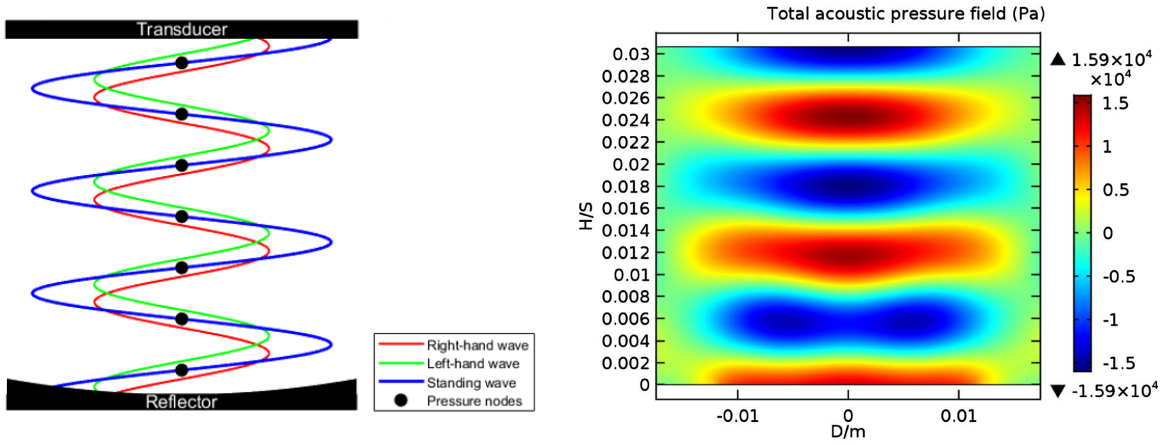

FIGURE 2.2 – **Profils acoustiques dans un lévitateur.** *Profils de pression, de vitesse et de force acoustique exercée sur les gouttes ou objets, illustrant les différences entre ces grandeurs dans le champ stationnaire du lévitateur. L'axe représenté ici correspond à la direction z, bien que les expressions analytiques du manuscrit soient formulées selon x, le principe physique restant identique.*

Les équations de l'onde incidente et de l'onde réfléchie (équations 2.1 et 2.2) peuvent être directement implémentées pour obtenir une visualisation de la distribution spatiale de l'onde stationnaire en fonction de la position $x$. Pour illustration, j'ai réalisé une animation unidimensionnelle dans Matlab, en indiquant la fréquence du lévitateur, le nombre de noeuds ainsi que d'autres paramètres expérimentaux. Cette simulation permet ainsi de montrer la répartition des noeuds des noeuds et ventres du déplacement.

Des modèles mathématiques plus complexes, résolus numériquement par des outils tels que *COMSOL Multiphysics* [203], *k-Wave* sous Matlab [204] ou encore la boîte à outils Python *Levitate* [205], permettent de représenter le champ acoustique en 2D ou 3D, notamment la pression et la vélocité particulaire. Ces modèles sont plus complexes que l'approche analytique 1D car ils prennent en compte la géométrie réelle du lévitateur, les conditions aux limites et les effets 2D/3D, ce qui demande une résolution numérique.

L'utilisation de ce type de simulations permet ainsi de quantifier des grandeurs physiques

difficiles à mesurer expérimentalement, comme la distribution spatiale des pressions ou les gradients de pression locaux responsables de la force de radiation acoustique. Un exemple d'illustration du champ acoustique via la logiciel COMSOL par Zhang et al [3] est donné ci-dessous :




(a) Onde stationnaire 1D (b) Champ acoustique 2D

FIGURE 2.3 – **Représentations du champ acoustique dans le lévitateur.** *(a) Approche simplifée dans Matlab, représentant les ondes incidente (rouge), réfléchie (vert) et stationnaire résultant leur superposition. (b) Simulation du champ et distribution de pression réalisée dans Comsol pour un lévitateur de 28 kHz : l'axe vertical (H/S) représente la position normalisée entre le transducteur et le réflecteur, l'axe horizontal (D/m) la position latérale en mètres, et l'échelle de couleurs indique l'amplitude de la pression acoustique* [3].

Plus particulièrement, la lévitation d'une goutte ou d'un objet résulte d'une force qui contrecarre la gravité : la force de radiation acoustique.

### 2.1.2 Force de radiation acoustique

Lorsque des particules ou des gouttes sont placées dans un champ acoustique, elles sont soumises aux forces hydrodynamiques générées par les oscillations du fluide environnant. Dans le régime linéaire, ces forces sont proportionnelles à la vitesse particulaire acoustique et, en moyenne temporelle, ne conduisent à aucun déplacement net : la particule oscille simplement autour de sa position d'équilibre. Les oscillations naturelles de la goutte seront d'ailleurs détaillées dans une section ultérieure.

Cependant, dès que la non-linéarité du champ acoustique est prise en compte, des effets du second ordre apparaissent. Ceux-ci donnent naissance à une force moyenne dans le temps, appelée **force de radiation acoustique**, qui résulte de l'interaction entre l'onde incidente et l'onde réemise par la particule. Contrairement aux oscillations linéaires, cette force induit ainsi une poussée dirigée vers sa position d'équilibre.

La dérivation complète de la force de radiation acoustique repose sur une analyse des équations de Navier-Stokes et de l'équation d'onde, dans laquelle les grandeurs du fluide (pres-

sion, vitesse, densité) sont développées en ordres successifs. Les termes du premier ordre décrivent le champ acoustique linéaire, tandis que les termes du second ordre, après moyenne temporelle, donnent naissance à des contributions stationnaires : la force de radiation et l'écoulement acoustique ("*acoustic streaming*").
La démonstration complète, présentée de manière détaillée dans des travaux théoriques de référence [206, 207, 208, 209], ainsi que dans les revues modernes d'acoustofluidique [210, 211], est longue et paraît sortir du cadre de cette introduction. Nous en rappelons donc uniquement les points essentiels nécessaires à la compréhension du fonctionnement physique du lévitateur acoustique.

Une première description théorique a été proposée par King (1934) [206], qui a calculé la pression de radiation sur une sphère rigide et incompressible dans un fluide parfait. Ce cadre a ensuite été élargi par Yosioka et Kawasima (1955) [207], qui ont étendu le modèle aux particules compressibles, permettant ainsi de traiter le cas des gouttes et microbulles.

Plus récemment, Gor'kov en a proposé une reformulation et a montré que, pour des particules de taille beaucoup plus petite que la longueur d'onde, la force de radiation peut être dérivée d'un potentiel scalaire. Ce potentiel est aujourd'hui connu sous le nom de **potentiel de Gor'kov**. Cette approche unifie les résultats précédents et fournit ainsi l'expression de la force de radiation acoustique sous la forme [208, 211, 212] :

$$F_{rad} = -\nabla U \tag{2.9}$$

$$U = \frac{4\pi}{3} a^2 [f_1 \frac{1}{2} k_0 \langle p_{in}^2 \rangle - f_2 \frac{3}{4} \rho_0 \langle v_{in}^2 \rangle] \tag{2.10}$$

$$f_1 = 1 - \frac{k_p}{k_0} = 1 - \frac{\rho_0 c_0^2}{\rho_p c_p^2} (\text{constraste de compressibilité}) \tag{2.11}$$

$$f_2 = 2 \left( \frac{\rho_p - \rho_0}{2\rho_p + \rho_0} \right) (\text{contraste de densité}) \tag{2.12}$$

avec

- $p_{in}$ et $v_{in}$ : pression acoustic et vélocité incidente de premier ordre ;
- $\rho_0$ et $c_0$ : densité et vitesse du son dans le fluide (ici air) ;
- $\rho_p$ et $c_p$ : densité et vitesse du son dans la goutte ;
- $k = \frac{1}{\rho c^2}$ : compressibilité.

Dans le cas d'une goutte dans l'air, la densité dans l'air est considérée comme très faible devant celle de la goutte, et l'on a donc $f_1 = f_2 = 1$

Cette approche analytique est valable lorsque le rayon de la goutte est très inférieur à la longueur d'onde ($R \ll \lambda$), ce qui permet de considérer la particule comme un point, sans perturber le champ acoustique environnant. La longueur d'onde $\lambda$ est déterminée par la fréquence du lévitateur, typiquement entre 20 et 100 kHz, via : $\frac{\lambda}{2} = \frac{c}{2f}$ avec $c = 343$ m/s dans l'air. Ainsi,

plus la fréquence est élevée, plus la longeur d'onde est courte, et plus la taille maximale des objets qui peuvent être mis en lévitation diminue. Les lévitations stables nécessitent en pratique des particules dont la taille reste inférieure à environ un quart de la longueur d'onde. Ainsi, un lévitateur en MHz peut piéger des particules de taille micrométrique (taille d'une cellule humaine), tandis qu'un lévitateur en kHz permet de maintenir des gouttes millimétriques.

### 2.1.3 Relation entre SPL, amplitude acoustique $A0_e$ et pression de radiation acoustique

Dans un dispositif de lévitation acoustique, la quantitée manipulée expérimentalement est généralement le **SPL** (*Sound Pressure Level*), exprimée en décibels. Le SPL ne correspond pas directement à la pression qui s'exerce sur la goutte, mais constitue une mesure logarithmique de l'amplitude acoustique du champ sonore. La conversion entre SPL et amplitude acoustique $A0_e$ repose sur la définition normalisée :

$$SPL = 20log_{10}\frac{A0_e}{p_0}$$

où $p_0 = 20$ µPa est la pression acoustique de référence dans l'air.

L'amplitude acoustique peut donc s'exprimer comme :

$$A0_e = p_0 10^{SPL/20}$$

Cette grandeur représente l'amplitude de l'onde sonore incidente dans l'air, et non la pression appliquée directement à la surface de la goutte. La dynamique de la lévitation est gouvernée par la pression de radiation acoustique, qui résulte de l'interaction non linéaire entre l'onde acoustique et la surface de la goutte.

Cette pression moyenne, notée $P_{rad}$, s'exprime dans le modèle de Yarin [7] par :

$$P_{rad} = A0_e(\rho_0 c_0)$$

où $\rho_0$ et $c_0$ sont respectivement la densité et la vitesse du son dans l'air.
Ce modèle analytique, également rendu disponible à travers un code Matlab accessible, a été utilisé dans ce travail de thèse et sera décrit ultérieurement dans la section consacrée à la simulation numérique de la goutte en lévitation.

Cette relation montre que la pression de radiation croît linéairement avec l'amplitude acoustique, et donc, de manière exponentielle avec la SPL. Cela explique pourquoi une augmentation modérée de la tension appliquée au transducteur (et donc de la SPL mesurée) peut produire une variation importante du niveau de compression de la goutte.

En pratique, la SPL caractérise essentiellement l'énergie acoustique injectée dans la cavité,

tandis que la pression de radiation $P_{rad}$ est la grandeur pertinente pour la modélisation de la goutte et l'analyse de sa déformation. Il sera donc indispensable de distinguer ces quantités lors de la comparaison entre les observations expérimentales et les résultats de simulation.

### 2.1.4 Paramètres influents du procédé de lévitation acoustique

#### 2.1.4.1 Modulation de la tension d'entrée

En agissant sur la modulation de la tension d'entrée du transducteur, il est possible d'induire des compressions cycliques de gouttes liquides en lévitation [213, 214]. La modulation de la force acoustique peut-être obtenue à l'aide d'un générateur de basse fréquence (GBF). La haute fréquence $f_c$ (*"carrier frequency"*) est multipliée par un signal sinusoïdal généré par le GBF, à une fréquence plus basse $f_m$ (*"modulated frequency"*) [215]. Ainsi la tension d'entrée est représentée de la manière suivante :

$$v(t) = A \sin(2\pi f_c t) \cos(2\pi f_m t) \tag{2.13}$$

avec A l'amplitude du transducteur (écart crête-à-crête $V_pp$ automatisé).

Ces compressions sont un paramètre clé du travail de thèse décrit ci-après, puisqu'elles permetteront d'appliquer des stimulations mécaniques contrôlées aux cellules qui seront encapsulées dans les gouttes. Ainsi la haute fréquence permet de générer l'onde stationnaire et la force de radiation acoustique, tandis que la modulation basse fréquence permet de contrôler l'amplitude et la vitesse de ces compressions, offrant ainsi un moyen précis de réguler les contraintes mécaniques exercées sur les cellules.

En utilisant l'identité trigonométrique $\sin\alpha \cos\beta = \frac{1}{2}[\sin(\alpha+\beta) + \sin(\alpha-\beta)]$, la tension modulée peut également être exprimée comme la somme de deux composantes :

$$v(t) = \frac{A}{2}[\sin(2\pi(f_c + f_m)t) + \sin(2\pi(f_c - f_m)t)] \tag{2.14}$$

Cette formule montre ainsi qu'il existe deux composantes proches de la fréquence du lévitateur $f_c$. Comme $f_m \ll f_c$, l'effet perceptible est une modulation de l'amplitude du signal ultrasonore à la fréquence $f_m$, qui provoque ainsi les compressions cycliques de la goutte.

Bien que l'application d'une modulation de la tension d'entrée permette d'imposer des compressions cycliques aux gouttes en lévitation, celles-ci ne sont jamais parfaitement statiques, même en l'absence de modulation. En effet, les gouttes possèdent des **oscillations naturelles**. De plus, l'introduction d'une modulation peut exciter ces oscillations et favoriser l'apparition de **modes de résonance**, se traduisant par des déformations spatiales caractéristiques.

### 2.1.4.2 Oscillations naturelles et forcées de la goutte

Lorsqu'une goutte liquide est placée en situation de lévitation acoustique dans un noeud de pression, la force de radiation acoustique compense la gravité et impose un léger applatissement vertical de la goutte conduisant à une géométrie sphéroidale oblate (ou aussi aplatie) (**Figure 2.4**) [4]. Toutefois, même en l'absence de modulation externe, la goutte n'est jamais complètement immobile : elle présente des oscillations naturelles affectant sa forme, sa position et sa dynamique interne. Ces oscillations sont dues au fait que le champ acoustique n'est ni parfaitement uniforme ni totalement stable [216].

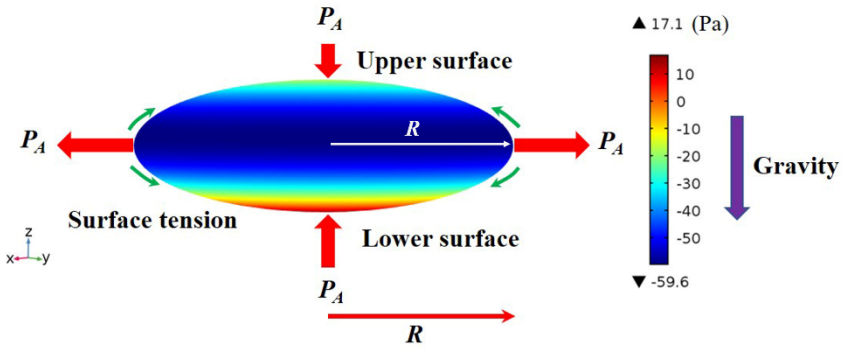



FIGURE 2.4 – **Compression d'une goutte en lévitation acoustique**. *Le champ scalaire représente la pression acoustique appliquée par le lévitateur. Cette pression est positive aux pôles, et l'incompressibilité du fluide entraîne une redistribution interne qui rend la pression relative négative à l'équateur. Néanmoins, il ne s'agit pas d'une pression acoustique réelle négative ni d'une force de succion* [4].

Plusieurs mécanismes peuvent contribuer à ces oscillations résiduelles. La position du noeud de pression peut dériver lentement, en raison de variations du transducteur (liée à l'échauffement), de fluctuations de phase dans le champ acoustique ou encore de modifications microscopiques de la cavité transducteur-réflecteur. S'y ajoutent des instabilités de cavité, des turbulences locales de l'air ou encore des perturbations liées à l'injection de la goutte [214, 217, 218, 219, 220, 221]. Ainsi, même dans un régime supposé stationnaire, une goutte lévitée se comporte comme un oscillateur faiblement amorti. Ce comportement dynamique a été largement documenté [214, 222], notamment par Hasewaga et al. [218], qui ont mesuré les mouvements en translation (**Figure 2.5**) et leurs spectres de Fourier (**Figure 2.6**) pour différents fluides.

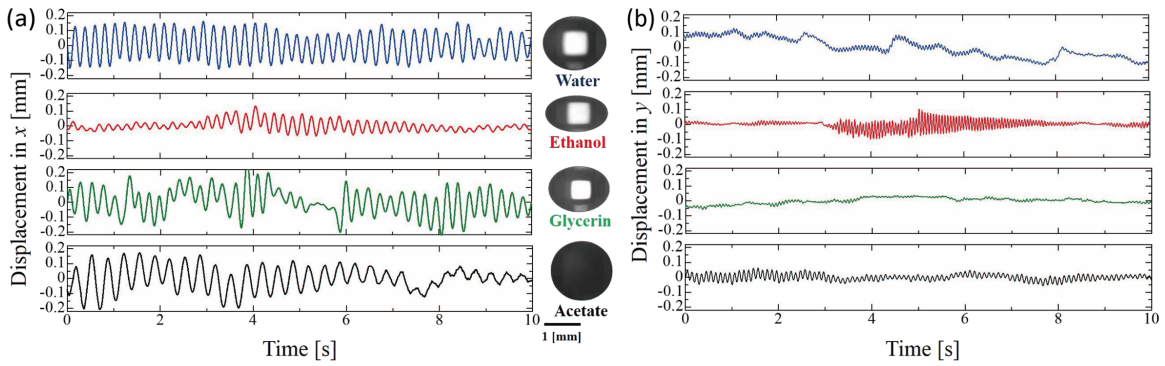



FIGURE 2.5 – **Mouvement de translation en mm des gouttes (eau-éthanol-glycérol-acétate) selon l'axe transversal x (a) et vertical y (b)**

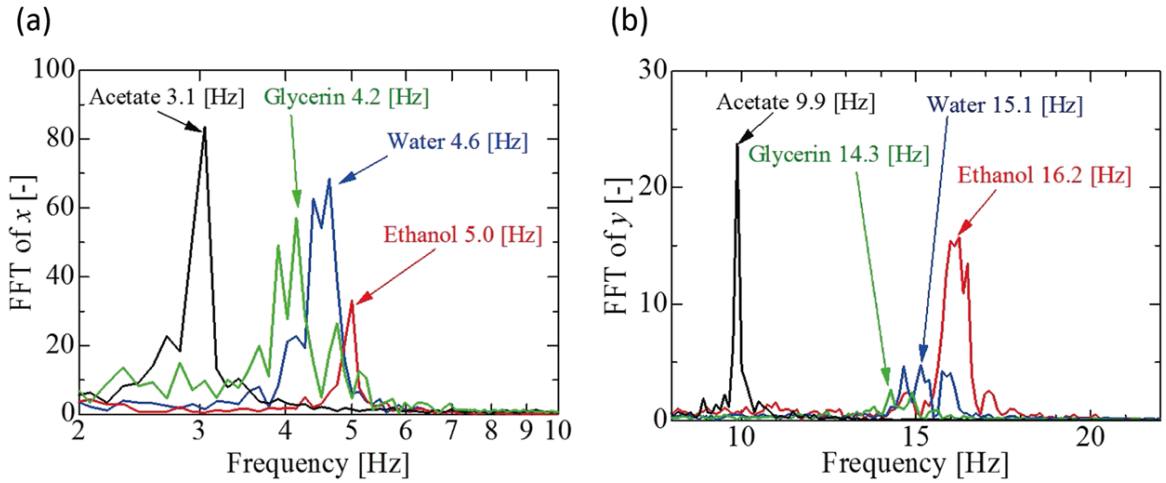



FIGURE 2.6 – **Transformée de Fourier Rapide (FFT) du mouvement de translation des gouttes selon l'axe transversal x (a) et selon l'axe vertical y (b)**

Une première modélisation du mouvement de la goutte peut être obtenue par un oscillateur harmonique amorti. L'amortissement est supposé dominé par la traînée visqueuse de l'air, modélisée par un terme de type Stokes. Quant à la gravité, elle n'intervient pas dans l'équation puisqu'elle est compensée par la force de radiation acoustique au point d'équilibre, de telle sorte que seules les petites oscillations autour de cette position sont considérées. L'équation peut ainsi s'écrire de la manière suivante [223, 224] :

$$m\frac{d^2z}{dt^2} + R\frac{dz}{dt} + kt = 0 \tag{2.15}$$

où $m$ est la masse de la goutte, $R$ le coefficient d'amortissement et $k$ la raideur.

Au-delà de ces oscillations globales, la goutte peut également présenter des oscillations de forme, particulièrement marquées lorsqu'un mode entre en résonance notamment via une modulation forcée. En 1879, Lord Rayleigh a montré qu'une goutte sphérique peut présenter des déformations oscillantes correspondant à des fonctions de forme décrites par les polynômes

de Legendre [225, 6]. Le rayon de la goutte s'écrit :

$$R(\phi, t) = R_0(t) + \sum a_n \cos \omega t P_n(\cos \theta) \tag{2.16}$$

avec $R_0$ le rayon, $a_n$ l'amplitude de la déformation du mode $n$, $P_n$ le polynôme de Legendre d'ordre $n$ et $\omega_n$ la fréquence propre du mode.

La fréquence de résonance pour un mode d'ordre $n$ est donnée par la relation classique de Rayleigh [226] :

$$\omega_n = \sqrt{\frac{n(n-1)(n+2)\sigma}{\rho R_d^3}} \tag{2.17}$$

avec $n$ le nombre d'onde spatial, $\sigma$ la tension de surface, $\rho$ la densité et $R_d$ le rayon de la goutte.

La goutte peut présenter différents types de comportements en résonance lorsque la fréquence d'excitation acoustique, ou l'une de ses harmoniques, se rapproche d'une de ses fréquences propres $\omega_n$, Dans certains cas, elle adopte des formes "étoile", caractérisées par plusieurs lobes oscillants en opposition de phase (**Figure 2.7**) [220, 226, 227, 228, 229]. D'autres types de géométries résultantes d'une résonnance ont également été observés, ne correspondant pas au motif étoilé classique. Parmi celles-ci, des configurations telles que "seesaw" ou "saddleback" ont été identifiées (**Figure 2.8**), illustrant des modes de résonances plus complexes [6, 230].

Ces différentes configurations montrent que même pour des liquides simples, la dynamique des oscillations de surface peut varier considérablement selon la fréquence d'excitation et les conditions expérimentales.

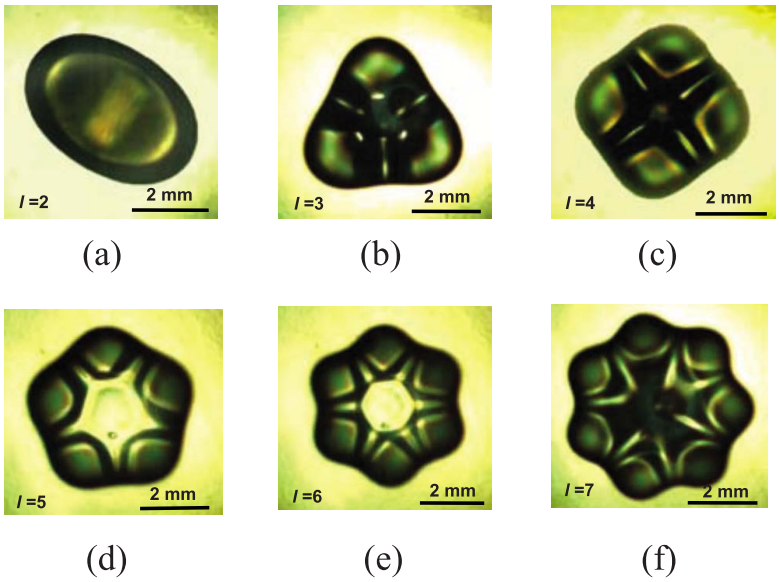



FIGURE 2.7 – **Vue de dessous de gouttes d'eau en lévitation acoustique, ayant un motif en étoile de deux (a) à sept (f)** [5].

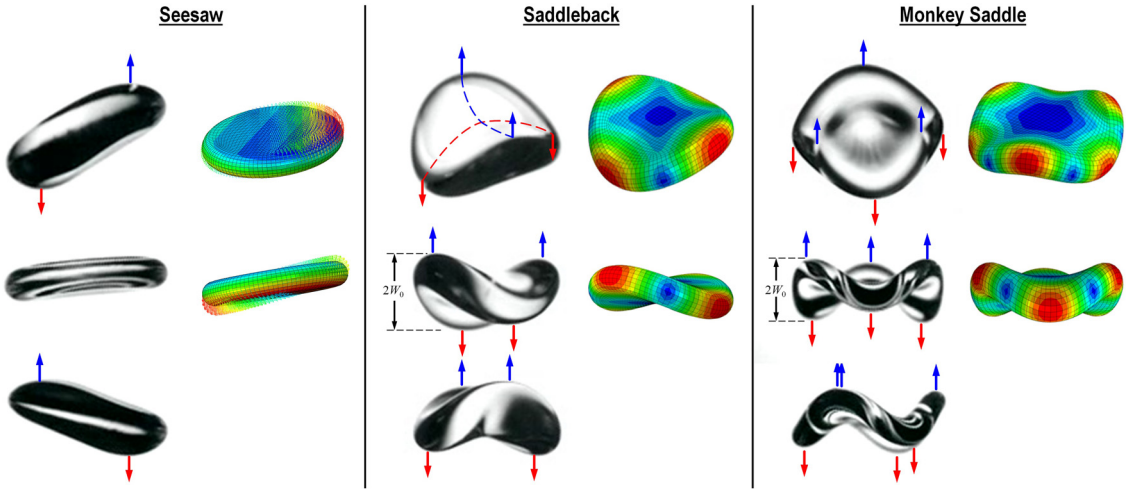



FIGURE 2.8 – **Représentation des différents modes de résonance pour une goutte de glycérol, obtenue via modélisation par éléments finis : mode 1 (seesaw) à gauche, mode 2 (saddleback) au milieu et mode 3 (monkey saddle) à droite** [6].

Lorsque le fluide possède une composante élastique non nulle, comme dans le cas de gels ou d'hydrogels à base biologiques, la dynamique des oscillations devient plus complexe. En effet, le module élastique interne modifie les fréquences des modes de résonances et peut générer des modes supplémentaires, tels que des modes torsionnels ou radiaux. Pour ces matériaux viscoélastiques, la description des phénomènes de résonance requiert une approche plus fine, car le spectre de résonance devient plus riche et s'écarte du comportement prédictible d'une goutte liquide simple [231, 232].

D'après ce qui précède, il est possible de conclure que l'analyse des oscillations libres ou forcées d'une goutte en lévitation constituant une technique entièrement sans contact qui peut être adaptée à la mesure de certaines propriétés du fluides, comme leur tension de surface ou plus généralement leurs propriétés rhéologiques. Cette approche a notamment été utilisée pour des matériaux complexes tels que des gels [233, 234, 235, 236] ou des fluides biologiques comme le sang [237].

La distribution spatiale non uniforme de la pression acoustique à la surface de la goutte, combinée aux effets non linéaires du champ acoustique, genère des écoulements internes et peut également influencer les phénomènes d'évaporation.

#### 2.1.4.3 Dynamique au sein des gouttes

Comme évoqué précédemment dans la définition la force de radiation acoustique, les effets non linéaires du champ acoustique donnent naissance à des flux stationnaires dans le fluide, appelés acoustic streaming. Ces flux sont responsables, en partie, des mouvements internes observés dans les gouttes en lévitation et contribuent également au transport de matière vers la surface, influençant le phénomène d'évaporation.

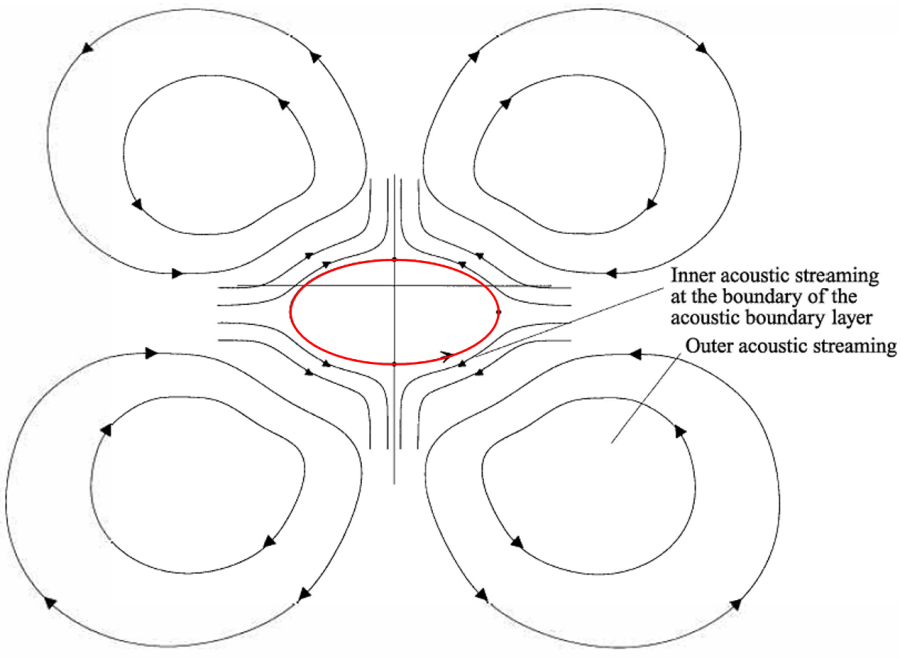



FIGURE 2.9 – **Champ acoustique externe et interne.** *Représentation schématique du champ acoustique autour de la goutte (en rouge), dont les traits illustrent le courant acoustique interne à la limite de la couche limite acoustique et le courant acoustique externe. (extrait de* [7])

**Ecoulement interne**

Les gouttes présentent des écoulements internes induits par le courant acoustique (acoustic streaming), un phénomène de second ordre résultant de la non-linéarité du champ acoustique. D'autres facteurs contribuent également à ces mouvements tels que la convection autour de la goutte ou encore un léger désalignement des éléments du lévitateur.

Les écoulements internes dans les gouttes en lévitation acoustique décrits dans la littérature peuvent être regroupés en deux grands groupes. Certaines études décrivent des **recirculations internes bien définies**, présentes en régime "stationnaires" ou modulées par les oscillations de la goutte [215, 220, 7, 5, 238]. D'autres études décrivent plutôt un **mouvement global** de la goutte, correspondant à une rotation de l'ensemble de la goutte. Ces différences résultent de paramètres expérimentaux variés, tels que l'amplitude et la symétrie du champ acoustique, la taille de la goutte, la nature viscoélastique du matériau ou encore les conditions d'évaporation. L'observation de ces écoulements nécessite donc des techniques expérimentales dédiées, telles que la traçabilité par particules (en anglais : *Particle Image Velocimetry* ou PIV) et reste souvent délicat à mettre en oeuvre. Les études expérimentales montrent ainsi que la dynamique interne des gouttes lévitées est fortement dépendante des conditions expérimentales et que le comportement observé peut varier entre recirculations locales bien définies ou mouvement globaux de la goutte [142, 239, 240, 241].

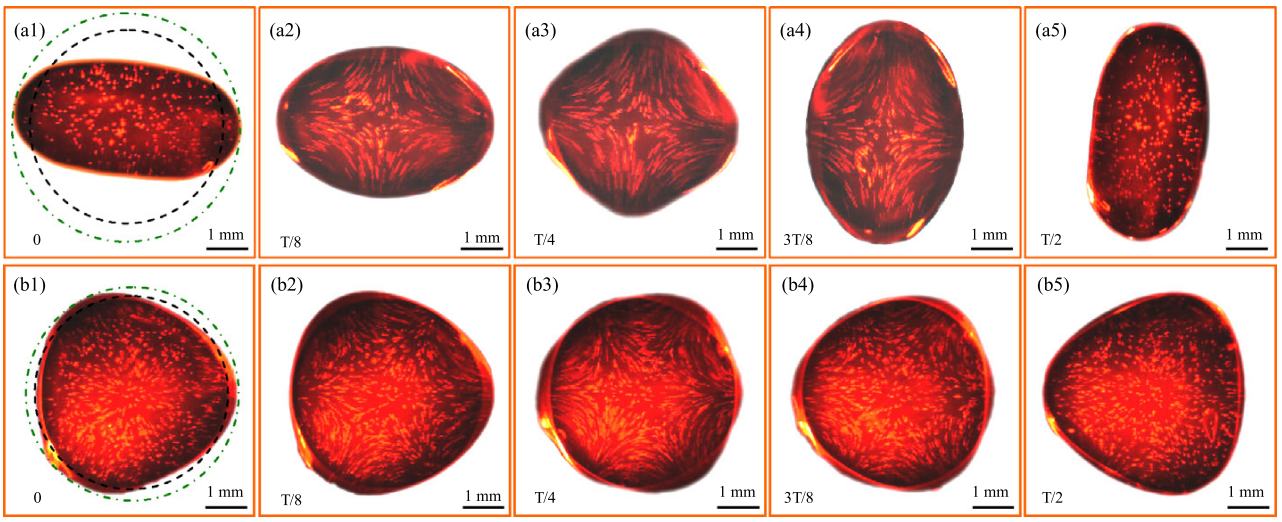



FIGURE 2.10 – **Ecoulements internes dans une goutte soumise à des oscillations sectorielles.** *Visualisation des écoulements internes par vélocimétrie par images de particules (PIV) à partir d'une vue du dessous de la goutte. Les oscillations sectorielles correspondent à des modes de déformation non asymétriques, caractérisés par l'apparition de plusieurs lobes répartis angulairement autour de la goutte* [5].

**Phénomène d'évaporation**

La dynamique interne des gouttes en lévitation acoustique est étroitement liée aux phénomènes d'évaporation, qui ont été largement étudiés pour des liquides simples comme pour des mélanges multi-composants. De nombreux travaux montrent en effet que l'évaporation résulte d'une combinaison de mécanismes couplés impliquant la convection, les gradients thermiques et la structure du champ acoustique.

Certaines études ont mis en évidence l'influence de la convection induite par le champ acoustique qui peut accélérer l'évaporation et modifier la distribution locale des flux de masse à la surface de la goutte [7, 242]. D'autres travaux ont comparé différents types de supports et de conditions expérimentales, et ont étudié la répartition des flux thermiques et massiques lors de la lévitation [243, 244]. L'influence de la structure du champ acoustique et des écoulements internes, ainsi que celle des conditions environnementales locales telles que la température et l'humidité, a été soulignée, car ces facteurs déterminent à la fois la vitesse d'évaporation et la dynamique globale de la goutte [245, 246].

La déformation de la goutte constitue également un facteur clé : bien qu'elle soit déjà de forme oblate, son niveau de compression varie avec l'amplitude du champ acoustique, étalant la goutte à l'équateur. Pour un volume constant, cette compression augmente la surface d'échange, c'est-à-dire la surface disponible, ce qui favorise l'évaporation. Ainsi l'efficacité des transferts de masse dépend fortement de la morphologie et de l'intensité du champ acoustique [247].

Pour les gouttes multi-composants, les phénomènes d'évaporation sont encore plus complexes. Chaque composant possède sa propre volatilité, ce qui se traduit par des paliers suc-

cessifs dans la courbe d'évaporation [248, 249]. Cette différenciation entraîne des gradients de concentration et des variations locales de concentration, ce qui peut conduire à des phénomènes supplémentaires tels que la séparation de phase ou la précipitation de composants solides [250]. Ces observations illustrent ainsi la complexité additionnelle introduite par les mélanges par rapport aux fluides simples.

Dans l'ensemble, ces travaux montrent que l'évaporation des gouttes en lévitation acoustique résulte d'un couplage complexe entre convection interne et externe, gradients thermiques, structure du champ acoustique, déformation de la goutte et composition du fluide, ce qui distingue nettement ces phénomènes de l'évaporation sur support solide et rend leur compréhension indispensable pour l'étude des fluides simples comme des mélanges.

#### 2.1.4.4 Nombres sans dimensions caractéristiques de la goutte en lévitation acoustique

Dans le cadre de la lévitation acoustique, plusieurs nombres sans dimension ont été introduits dans la littérature et permettent de caractériser les mécanismes physiques qui gourvernent la forme, la déformation et l'évaporation des gouttes. Bien qu'ils ne soient pas tous directement uilisés dans les analyses présentées dans ce manuscrit, ils fournissent des repères utiles pour interpréter l'importance relative des différentes forces en jeu.

**Nombre de Bond ($Bo$)**

Le nombre de Bond compare l'effet de gravité à celui de la tension de surface :

$$B0 = \frac{\rho g L^2}{\gamma} \tag{2.18}$$

où $\rho$ est la densité de la goutte, $g$ l'accélération gravitationnelle, $L$ une longueur caractéristique (ici le diamètre équivalent de la goutte) et $\gamma$ la tension de surface.

Un nombre de Bond faible ($Bo \ll 1$) indique que la forme de la goutte est principalement contrôlée par la tension de surface : la goutte reste quasi-sphérique. A l'inverse, un nombre de Bond plus élevé signifie que la gravité contribue davantage à l'aplatissement, ce qui influence la stabilité de la lévitation et la position d'équilibre dans le champ acoustique.

**Nombre de Weber ($We$)**

Le nombre de Weber compare les forces inertielles générées par le champ acoustique à la tension de surface :

$$We = \frac{\rho V^2 L}{\gamma} \tag{2.19}$$

où $V$ est la vitesse caractéristique de l'écoulement du fluide.

Un nombre de Weber élevé indique que les forces acoustiques sont capables de déformer significativement la goutte, ce qui correspond aux régimes observés en lévitation où les vibra-

tions induites peuvent comprimer ou étirer la goutte.

**Nombres de Sherwood ($Sh$) et de Nusselt ($Nu$)**

Les nombres de Sherwood et de Nusselt caractérisent respectivement le transport convectif de masse et de chaleur par rapport au transport diffusif :

$$Sh = \frac{h_m L}{D}, \quad Nu = \frac{hL}{k} \tag{2.20}$$

où $h_m$ est le coefficient de transfert de masse, $h$ le coefficient de transfert thermique, $D$ le coefficient de diffusion moléculaire et $k$ la diffusivité thermique.

En lévitation acoustique, le champ acoustique et les écoulements induits (acoustic streaming) peuvent accroître ces transferts en renforçant la convection autour des gouttes. Les nombres de Sherwood et de Nusselt donnent ainsi une indication du rôle de ces effets sur :

— l'évaporation (à traver la valeur de $Sh$)

— le refroidissement ou l'échauffement de la goutte (à travers la valeur de $Nu$)

## 2.2 Mise en place du banc expérimental

Cette section présente les objectifs expérimentaux ainsi que la mise en place des différents dispositifs développés autour du système principal de lévitation acoustique durant ce travail de thèse. Ces éléments ont pour but de permettre des conditions expérimentales contrôlées ainsi que l'acquisition de données fiables sur le comportement mécanique des gouttes. L'objectif est également d'être capable à terme de transférer ce dispositif au sein d'un environnement permettant la culture cellulaire.

Quatre axes expérimentaux ont guidé la conception du banc :

- **Axe 1 - Influence de la tension d'entrée** : étudier la déformation et la stabilité des gouttes soumises à différentes valeurs de tension d'entrée.
- **Axe 2 - Etude du phénomène d'évaporation** : comparer les cinétiques d'évaporation dans différentes conditions environnementales afin d'étudier l'effet des conditions ambiantes sur le comportement de la goutte.
- **Axe 3 - Modulation cyclique de la tension d'entrée** : étudier la capacité des gouttes à suivre une modulation imposée permettant des compressions cycliques à fréquence et amplitude contrôlées, et analyser leur réponse mécanique.
- **Axe 4 - Analyse de l'écoulement interne** : étudier les mouvements du fluide à l'intérieur des gouttes d'hydrogel à l'aide de la méthode PIV, afin d'évaluer qualitativement la dynamique interne.

Ces différents axes permettent ainsi d'explorer la stabilité, la dynamique et la réponse mécanique des gouttes soumise à un champ acoustique contrôlé. Ils ont directement orienté la conception et la mise en place des dispositifs constituant le banc expérimental.

### 2.2.1 Description du dispositif

La figure suivante présente une vue d'ensemble du banc expérimental, incluant les différents dispositifs utilisés pour les mesures. Dans les conditions expérimentales, les données sont obtenues dans l'obscurité pour permettre l'acquisition du profil des gouttes par ombroscopie.

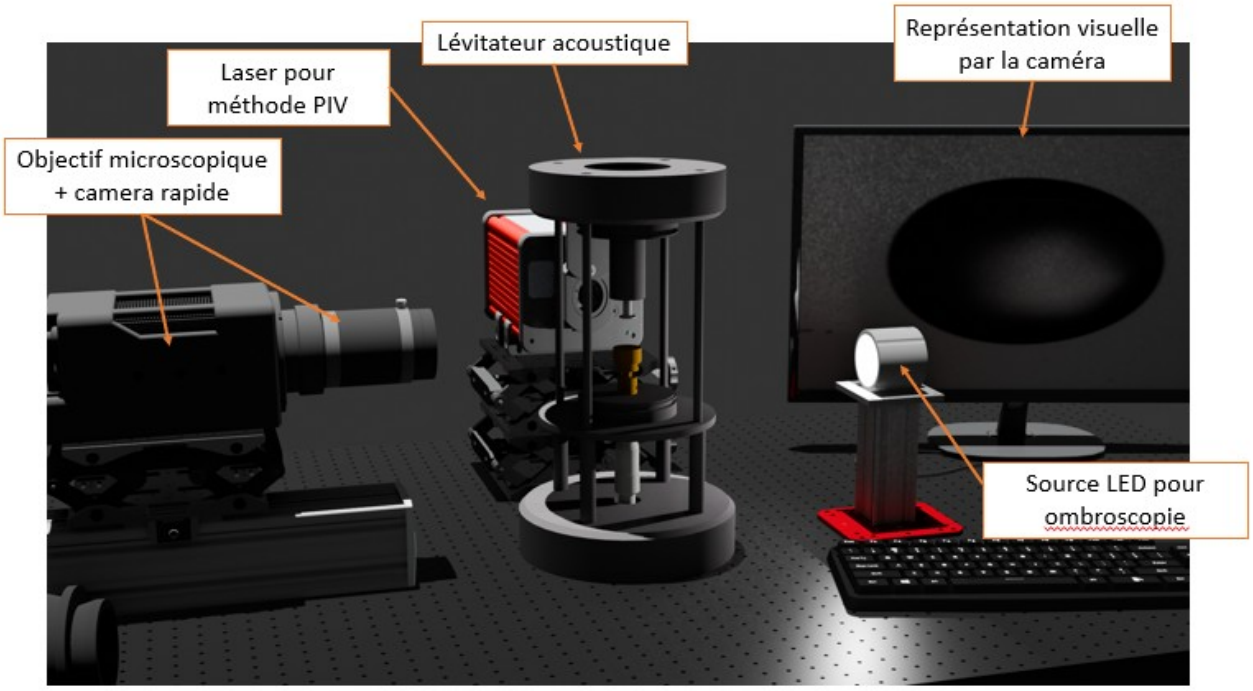



FIGURE 2.11 – **Représentation du banc expérimental avec l'utilisation des différentes méthodes de mesure** (obtenue par Autodesk et Blender).

#### 2.2.1.1 Caractéristiques techniques du lévitateur

L'élément central est le lévitateur acoustique Tec5, mis à disposition par le laboratoire LEMTA (Laboratoire Energies  Mécanique Théorique et Appliquée UMR CNRS 7563 - https ://lemta.univ-lorraine.fr/), dont le transducteur est un cristal piézoélectrique. Ses principaux paramètres techniques sont les suivants :

- Fréquence de fonctionnement : 58 kHz
- Plage de diamètres des particules : environ $\sim 15$ $\mu$m à 2,5 mm
- Longueur d'onde de l'onde acoustique stationnaire : 7,51 mm
- Fréquence de modulation : 10 Hz – 2 kHz
- Amplitude de modulation : 0–2 $V_{pp}$ (tension pic à pic)

Ce lévitateur permet de générer un champ acoustique comportant entre quatre et six noeuds de pression interne, en plus des extrémités correspondant aux parois fixes (transducteur et le réflecteur). Ces noeuds ont été mis en avant par l'équipe *Transfert dans les fluides* du LEMTA [251].

La fréquence de fonctionnement fixe la longueur d'onde de l'onde stationnaire, et donc la taille maximale des particules pouvant être lévitées, qui est de l'ordre du millimètre. Pour un fonctionnement de 58 kHz, la longueur d'onde théorique dans l'air à 20°C avec la vitesse du son dans l'air $c = 344$ m/s, est donnée par :

$$\lambda_{\text{théorique}} = \frac{344}{58000} \approx 5,93 \text{ mm}$$

Cette valeur est légèrement inférieure à celle fournie par le constructeur (7,51 mm), différence qui s'explique par la géométrie réelle du transducteur et par les conditions expérimentales réelles qui peuvent influencer la propagation des ondes acoustiques. La valeur du constructeur est donc utilisée pour le réglage précis de la distance entre transducteur et réflecteur, garantissant ainsi une lévitation stable.

Pour obtenir cinq noeuds de pression, la distance d'entrefer théorique, c'est-à-dire entre le transducteur et le réflecteur, est donc calculée comme :

$$L_{th} = \frac{N \times \lambda}{2} \approx 20,7mm$$

avec $N_{\text{int}} = 7$. Les noeuds de pression sont donc espacés d'environ $\frac{\lambda}{2} \approx 3,76$ mm. L'écart a ensuite été ajusté avec précision à l'aide d'un micromètre à $L_{exp} \approx 23,3$ mm, valeur offrant la meilleur stabilité, et utilisée pour l'ensemble des expériences.
Parmi les sept noeuds, le troisième a été retenu pour toutes les mesures, car il présente la stabilité la plus élevée, conformément aux observations de Hasegawa et al. [219].

Le choix du réflecteur joue également un rôle essentiel. Plutôt qu'une géométrie plane, une géométrie concave a été retenue. En effet, cette configuration présente deux avantages majeurs : d'une part, une meilleure stabilité de la goutte en lévitation et d'autre part une force de radiation acoustique plus élevée. Ces observations sont confirmées par plusieurs études expérimentales et numériques dans la littérature [252, 253, 254, 255].

#### 2.2.1.2 Essais préliminaires et choix des matériaux

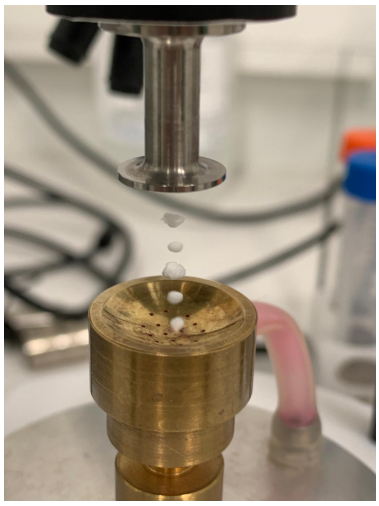
Des essais préliminaires ont été réalisés afin d'évaluer les paramètres de fonctionnement du lévitateur, ses limites de fonctionnement, ainsi que les matériaux qui allaient être utilisés dans la suite du travail. Divers matériaux solides et liquides ont été testés - notamment du polystyrène et de l'eau - afin de visualiser la position et la stabilité des noeuds de pression. Des billes d'alginate réticulé, formées par immersion dans une solution de calcium pendant une dizaine de minutes, ont également été expérimentées. Toutefois, leur densité élevée et leur taille importante (malgré l'utilisation d'aiguilles hypodermiques à gauge élevée) ne permettaient pas leur lévitation. Pour tenter de les faire léviter, il a été nécessaire de découper de petits fragments, ce qui rompait leur géométrie sphérique initiale et entraînait une perte de symétrie.
Les matériaux solides, de leur côté, ne présentaient pas non plus de symétrie parfaite, ce qui induisait des rotations importantes des corps lévitants sous l'effet du champ acoustique. Concernant les cristaux de sel, leur porosité interne - c'est-à-dire la présence des cavités et de zones creuses - limitait probablement la prise de la force de radiation acoustique sur leur surface effective. De plus, leur densité relativement élevée accentuait la contrainte gravitationnelle, qui ne pouvait être contrecarrée même à la tension maximale permise par le lévitateur.

Ces observations ont mis en évidence que la capacité d'un matériau à être lévité dépend de plusieurs facteurs physiques concomitants : la taille, la densité, la masse, la géométrie et la symétrie du corps. Ces essais initiaux ont été notamment réalisés car l'une des questions initiales était d'investiguer la capacité du dispositif à faire léviter des objets issus de l'impression 3D pour la culture cellulaire : cette idée a été progressivement écartée.

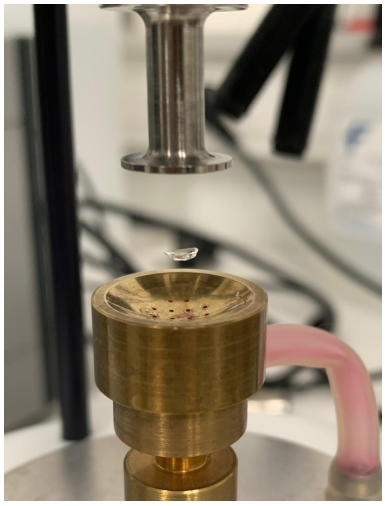
En effet, ces études préliminaires ont orienté le choix final vers d'autres matériaux compatible avec la culture cellulaire, à savoir des solutions de polymère à base d'alginate non réticulé ou issus de tissus biologiques (**sections 3.2.1 et 3.2.2**).

Des tests de vibrométrie laser ont également été réalisés avec un Plytec PDV 100 (Polytec, Waldbronn, Germany) pour mesurer la vitesse de surface des gouttes. Les résultats de ces mesures sont présentés au chapitre 4 (**section 4.1.3**) et permettent de comparer la dynamique des gouttes avec les oscillations observées lors des mesures expérimentales principales.

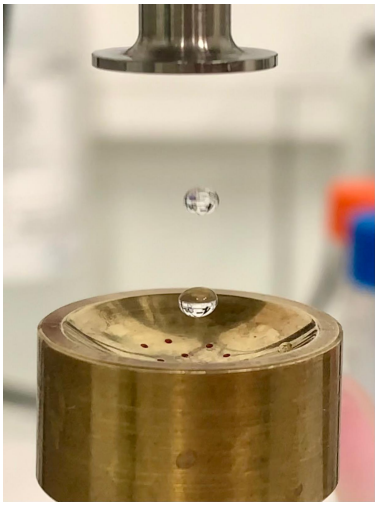
Déposés par micropipette sur le noeud de pression sélectionné, ces matériaux offrent un contrôle précis du volume et conservent une forme sphéroïdale stable. Ils assurent en outre une meilleure reproductibilité expérimentale et une géométrie aisément transposable dans le modèle numérique qui sera décrit ensuite, afin de caractériser précisément l'environnement mécanique qui résultera de la lévitation avec modulation de tension.



(a) Billes de polystyrène sur les cinq noeuds



(b) Bille d'alginate réticulée découpée au 4ème noeud



(c) Gouttes d'eau sur les 3ème et 5ème noeuds

FIGURE 2.12 – **Tests préliminaires de différents matériaux**.

### 2.2.2 Contrôle et étude de la tension d'entrée

Cette section a pour objectif d'établir des liens entre la tension d'entrée appliquée au transducteur et l'environnement micromécanique des cellules qui seront encapsulées dans les gouttes d'hydrogel.

#### 2.2.2.1 Réglage de la tension d'entrée

Dans le dispositif expérimental, le paramètre contrôlé n'est pas directement la pression acoustique, ni même le SPL, mais la tension électrique appliquée au transducteur piézoélectrique. Une augmentation de la tension d'entrée entraîne une vibration plus importante du piézoélectrique, ce qui accroît l'amplitude de l'onde acoustique générée et donc la compression de la goutte. Cette onde possède une pression acoustique plus élevée, mesurable en termes de SPL. Ainsi, les grandeurs sont reliées séquentiellement :

$$\text{Tension d'entrée} \rightarrow \text{Vibration du piézo} \rightarrow \text{Champ acoustique} \rightarrow F_{rad}$$

La force de radiation acoustique dépend du carré de la pression acoustique, ce qui rend le système particulièrement sensible aux variations de la tension appliquée. En pratique, la relation "tension → SPL" n'est pas strictement linéaire : elle peut être limitée par la saturation du transducteur, l'atténuation du champ acoustique ou la géométrie du lévitateur.
Ce point est essentiel pour interpréter les expériences dont le protocole est décrit ci-dessous. Ne contrôlant par directement le SPL, certains éléments de modélisation numérique (décrits dans la section suivante) permettent d'estimer la pression acoustique réellement appliquée à la goutte et ainsi de relier la déformation observée aux paramètres du champ acoustique.

Ainsi, les premiers essais expérimentaux de lévitation acoustique ont porté sur l'influence de la tension d'entrée appliquée sur les gouttes. Il a été observé que lorsqu'elle est maintenue à sa valeur maximale pendant une durée prolongée, la tension a tendance à décroitre légèrement avant de se stabiliser, généralement autour de 5,2 à 5,4 V. Cette dérive, probablement liée à l'échauffement du système ou à des mécanismes de protection de l'électronique d'alimentation (tels qu'une limitation de courant ou un déclassement thermique pour protéger le dispositif), réduit la tension effectivement disponible pour les essais. Afin de conserver une plage de tensions exploitables la plus large possible, la tension d'entrée est donc maintenue à une valeur faible en dehors des phases de mesure, permettant ainsi d'éviter une baisse prématurée de cette tension maximale.

La tension d'entrée dépend également de paramètres externes, tels que le volume de la goutte lévitée et les conditions environnementales (température et humidité ambiantes). L'objectif de cette série d'expériences est ainsi de déterminer les limites de tension permettant la lévitation stable des gouttes, ainsi que d'analyser l'évolution de leur forme et de leurs dimensions en fonction de la tension, du volume et du type de matériau.

Il s'agit notamment de comprendre si, pour une même tension appliquée, la géométrie finale obtenue (décrite par exemple à travers le rapport entre les axes vertical et horizontal) diffèrent selon les propriétés physiques des gels et hydrogels étudiés. Pour chaque type d'échantillon, trois volumes de goutte ont été étudiés : **5 µL**, **9 µL** et **13 µL**.

#### 2.2.2.2 Métrologie

Les enregistrements d'images ont été réalisés par ombroscopie, c'est-à-dire en éclairage par rétro-diffusion. La source lumineuse utilisée est une lampe LED RS PRO (réf. 7778028, RS Components, France), combinée à une plaque de verre poli jouant le rôle de diffuseur, afin d'homogénéiser l'éclairage et d'éviter la formation d'artefacts lumineux (anneaux de la lampe visible dans la goutte).
Les images sont acquises à l'aide d'une caméra Allied Vision (modèle 1800U-052M-CH-C, Stemmer Imaging, France), couplée à un objectif microscopique Infinity K2 DistaMax (Photo-Optical Company, Colarado, Etats-Unis). L'acquisition est pilotée sous Matlab, via la fonction `videoinput`, permettant le contrôle direct de la caméra.

Afin d'assurer la synchronisation entre les captures d'images et les valeurs de tension appliquées, un script Matlab dédié a été développé. Ce programme ne pilote pas directement le lévitateur acoustique, mais permet une gestion automatisée des acquisitions et de la sauvegarde des données. Au lancement, l'utilisateur renseigne la valeur de tension maximale pouvant être atteinte ainsi que le pas de décrémentation (généralement 0,1 ou 0,2 V). Cette stratégie consiste à commencer à la tension maximale, où la goutte est stable en lévitation, puis à diminuer progressivement la tension jusqu'à ce que la goutte tombe, la tension minimale dépendant du poids de la goutte. A chaque pression d'une touche, le code déclenche automatiquement la capture d'une image via la caméra puis enregistre le fichier sous un nom incluant la valeur de tension correspondante et le type d'échantillon étudié. Entre deux acquisitions, la tension est ajustée manuellement sur le lévitateur selon la séquence définie. Le code met simplement à jour la valeur de tension "courante" afin que l'image suivante soit correctement identifiée. Ce fonctionnement semi-automatisé garantit une acquisition rapide et reproductible tout en conservant un contrôle manuel précis des conditions expérimentales.

L'étude de la tension d'entrée a ainsi permis de définir les conditions de fonctionnement optimales du lévitateur et d'établir un protocole d'acquisition. L'ensemble des résultats est donné en chapitre 4 (**section 4.1**), le présent chapitre étant dédié uniquement à décrire les développements effectués. Sur cette base, une seconde série d'expériences a été conçue pour examiner l'évolution temporelle des gouttes lévitées pour une tension d'entrée donnée, et plus particulièrement leur processus d'évaporation.

### 2.2.3 Etude de l'évaporation

Comme mentionné précédement, l'évaporation d'une goutte en lévitation acoustique constitue un phénomène complexe, pouvant être influencé par les propriétés physico-chimiques du matériau et surtout par les conditions ambiantes (température, humidité, circulation d'air, etc.). Dans le cadre de ce travail, l'objectif était d'établir une méthode expérimentale permettant de suivre la variation du volume et de la forme des gouttes au cours du temps, afin de

mieux déterminer les durées pendant lesquelles les cellules peuvent être maintenues dans la goutte sans que l'évaporation n'altère les conditions du milieu.

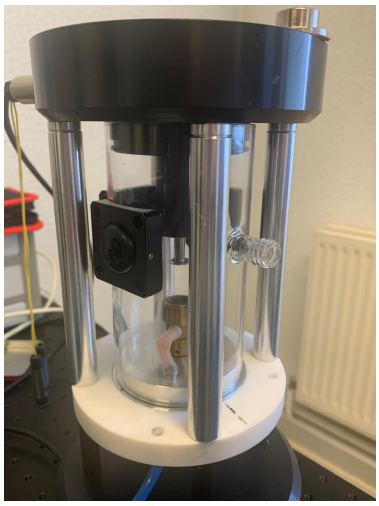
Les expériences d'évaporation ont été réalisées en utilisant la même configuration optique et le même système de capture que pour les essais de tension d'entrée décrits précédemment. La différence réside dans la temporalité de l'acquisition : au lieu d'une capture manuelle à chaque tension, les images sont automatiquement enregistrées à intervalles de temps réguliers, avec un pas temporel fixe entre les prises de vue. Trois configurations expérimentales ont été explorées afin d'évaluer l'effet des conditions environnementales sur le processus d'évaporation. Pour toutes les expériences d'évaporation, un volume de 13 µL a été choisi correspondant aux futures applications biologiques (afin de maximiser le volume de milieu, et la quantité de cellules qui allaient pouvoir être cultivées). La durée d'acquisition a été limitée à 30 minutes, suffisante pour suivre l'évolution du volume et de la forme des gouttes. Pour les essais biologiques qui suivront, les stimulations mécaniques seront appliquées en effet sur des périodes plus courtes, afin de préserver les cellules tout en minimisant les modifications de leur environnement, notamment dûes à l'évaporation.

#### 2.2.3.1 Etude sans enceinte

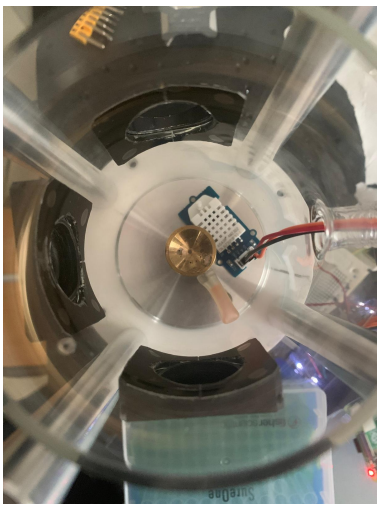
Dans un premier cas, les mesures ont été effectuées à l'air libre, sans enceinte, directement au niveau du lévitateur. Cette configuration correspond à des conditions ambiantes standard, sans confinement de l'air autour de la goutte. La température et l'humidité relative de la pièce ont été relevées à l'aide d'un thermohydomètre (réf. 93679-62, Fisher Scientific, France), sans contrôle actif de ces paramètres.

#### 2.2.3.2 Etude avec enceinte

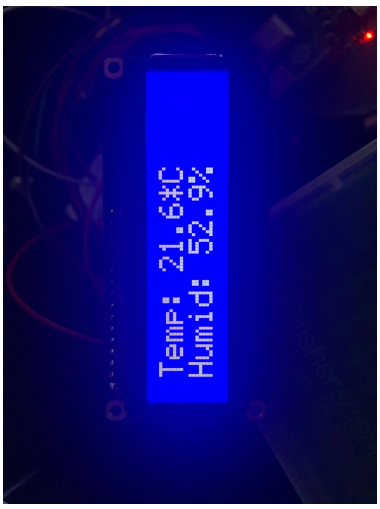
Dans un second cas, une enceinte transparente en verre borosilicaté (Duran-glass) a été ajoutée autour du lévitateur (**Figure 2.13**). L'enceinte présente un diamètre intérieur de 75 mm $\pm$ 1 mm et une longueur de 140 mm, et permet de limiter les échanges d'air avec l'environnement extérieur, réduisant ainsi les effets de convection naturelle. Afin d'éviter les réverbations acoustiques parasites sur les parois, perturbant fortement la stabilité de la goutte, une couche de mousse absorbante a été disposée à l'intérieur de l'enceinte. Pour documenter les conditions internes, un capteur de température et d'humidité AM2302 (Kubii, France) a été intégré et connecté à une carte Raspberry Pi 4 (modèle B-4GB, Kubii, France), sans contrôle de ces paramètres. Les valeurs mesurées sont affichées en temps réel sur un écran LCD Grive 16x2 (Kubii, France), facilitant ainsi le suivi expérimental des paramètres ambiants au sein de l'enceinte.



(a) Enceinte en verre (ici sans la mousse)



(b) Capteur à l'intérieur de l'enceinte




(c) Visualisation température et humidité

FIGURE 2.13 – **Eléments pour la configuration d'étude de l'évaporation avec enceinte.**

#### 2.2.3.3 Etude sous hotte à flux laminaire

Enfin, un troisième cas consiste à réaliser les expériences d'évaporation sous poste de sécurité microbiologique (PSM), nécessaire pour les applications biologiques lors desquelles la stérilité des échantillons doit être maintenue. Les essaies ont été réalisés dans le laboratoire BIOS à Reims (Université de Champagne Ardennes), où le lévitateur acoustique, la caméra rapide et l'éclairage ont été transportés et installés sur place. Le montage a été développé sous PSM, afin d'étudier l'influence d'un flux d'air contrôlé sur l'évaporation des gouttes. Les différents instruments et surfaces placés sous PSM ont été traités et stérilisés selon les protocoles du laboratoire, en veillant à préserver l'intégrité des composants sensibles. Le flux d'air laminaire imposé (d'environ $0,38$ m/s$^{-1}$) crée un environnement dynamique contrastant avec les deux cas précédents, réalisés en air statique. Ces essais ont été réalisés pour obtenir de premières estimations de l'effet d'un flux d'air contrôlé sur l'effet de l'évaporation sur des gouttes lévitées, qui seront présentées plus amplement en perspective dans le chapitre 5 (**section 5.2.1**).

L'ensemble de ces configurations a permis de mettre en place un protocole pour suivre la diminution de volume et l'évolution de la forme des gouttes en lévitation, tout en prenant en compte l'influence des variations environnementales.

### 2.2.4 Modulation contrôlée et automatique : vers des compressions cycliques

L'objectif principal de ces acquisitions expérimentales est d'imposer des stimulations mécaniques cycliques aux gouttes, et par extension aux cellules qui seront encapsulées lors des applications biologiques, en modulant la tension d'entrée du lévitateur acoustique. Avant de pouvoir appliquer ces stimulations à des gouttes contenant des cellules, il est nécessaire de caractériser la

dynamique des gouttes c'est-à-dire de déterminer jusqu'à quelle fréquence la goutte peut suivre les compressions cycliques imposées, en fonction de sa composition. Cette étape permet ainsi de définir les limites mécaniques et de stabilité avant les essais biologiques.

Pour imposer des compressions cycliques, la tension d'entrée du lévitateur est modulée à l'aide d'un générateur de basse fréquence (GBF). Les plages de modulation sont définies par les caractéristiques du lévitateur : fréquence de 10 Hz à 2 kHz et amplitude de 0–2 $V_{\mathrm{pp}}$. Afin de capturer ces variations rapides de géométries, une caméra haute vitesse Dantec SpeedSense M (Dantec Dynamics A/S, DK-2740 Skovlunde, Danemark) a été utilisée, offrant une fréquence d'acquisition maximale de 10 000 images par seconde (FPS). Elle est couplée à un objectif microscopique Sigma 150 mm et un téléconvertisseur (2x ou 2.2x) pour augmenter la résolution optique. L'éclairage repose sur la lampe LED avec diffuseur, utilisée précédemment pour les mesures de tension et d'évaporation. Les réglages de la caméra, notamment la fréquence d'acquisition et le temps d'exposition, sont ajustés à 10 000 FPS et 99,54 µm via le logiciel PCC (*Phantom Camera Control*) afin de garantir une capture optimale des compressions de la goutte.

Comme précédemment, pour chaque expérience, une goutte de 13 µL est déposée sur le troisième noeud de pression, volume choisi pour garantir la compatibilité avec les tests cellulaires ultérieurs. Deux tensions d'entrée sont appliquées ($V_{\mathrm{in}} \approx 4,5\,\mathrm{V}$ et $5,5\,\mathrm{V}$), modulées à huit fréquences différentes selon un signal sinusoïdal : 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 et 2000 Hz. L'amplitude a été limitée à 0–1 $\mathrm{V_{pp}}$ pour prévenir toute déformation excessive pouvant éjecter la goutte et éviter la surchauffe du transducteur piézoélectrique.

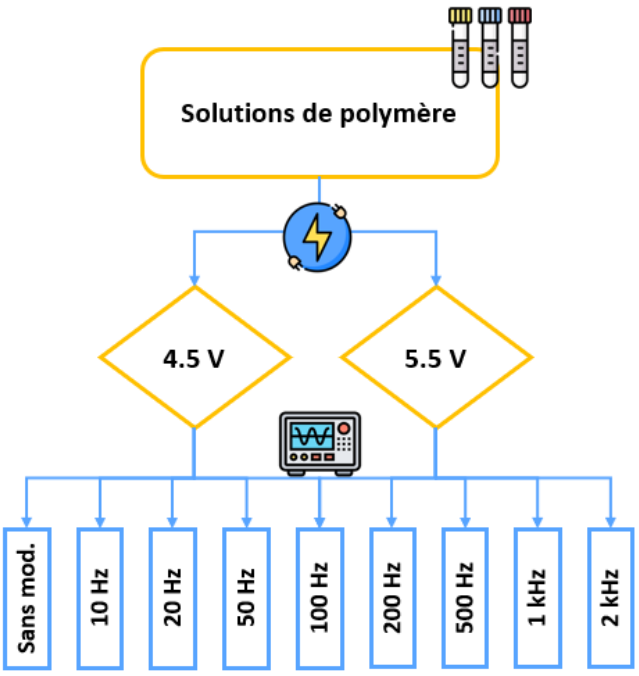



FIGURE 2.14 – **Schéma du protocole expérimental de modulation de la tension d'entrée.** *Les compressions cycliques sont appliquées en modulant la tension d'entrée (4,5 V ou 5,5 V) du transducteur à une fréquence comprise entre 10 Hz et 2 kHz.*

### 2.2.5 Vélocimétrie par Image de Particles (PIV)

L'étude de l'écoulement interne au sein des gouttes repose sur la technique de Vélocimétrie par Images de Particules (PIV, Particle Image Velocimetry), une méthode non intrusive permettant de mesurer le champ de vecteurs vitesses dans un fluide en mouvement. Cette technique consiste à ensemencer le fluide de particules traceuses de l'ordre du micromètre, dont le déplacement est induit par le mouvement du fluide, et dont l'effet sur le fluide est supposé négligeable. Les déplacements des particules sont capturés via des images successives prises à deux instants différents. Le calcul des vitesses s'effectue par un post-traitement basé sur la corrélation croisée, en découpant chaque image en régions d'intérêt. Pour chaque région d'intérêt, le déplacement moyen des particules est déterminé par la localisation du pic de corrélation, permettant ainsi de reconstruire le champ de vitesse local du fluide.

Pour réaliser de la PIV au sein des gouttes en lévitation, la caméra rapide Dantec SpeedSenseM couplée au même objectif microscopique et téléconvertisseur utilisés précédemment, est employée pour l'acquisition des images. Les particules traceuses intégrées dans les gels et hydrogels sont éclairées par un laser Laser Quantum Ventus de longueur d'onde 532 nm (Laser Quantum Ltd., Stockport, Cheshire SK43GL, Royaume-Uni). Le protocole et le choix des particules ont été adaptés aux contraintes spécifiques des gouttes de petite taille. Plusieurs types de particules ont été testés : billes de calibration, billes en polyamide (PSP) de 5, 20 et 50 µm, ainsi que des billes de verre de 15 µm et des traceurs à base de rhodamine B.

L'objectif principal de cette approche est d'analyser le comportement du fluide au sein des gouttes en lévitation et d'évaluer le comportement global de la goutte. Cela permet de quantifier les éventuelles recirculations internes afin de déterminer si elles peuvent être négligées, et d'émettre l'hypothèse que la goutte se comporte globalement comme un solide soumis à une pression externe. Ces observations seront ensuite comparées aux phénomènes décrits dans la littérature notamment en termes de flux interne induit par le champ acoustique (acoustic streaming), et serviront à orienter le développement du modèle *in silico*, en validant que la dynamique interne est cohérente avec les hypothèses utilisées dans la modélisation.

### 2.2.6 Post-traitement des données acquises pendant la lévitation

L'objectif de cette étape est d'extraire, à partir des images acquises, les informations géométriques et temporelles pertinentes pour l'analyse des phénomènes observés. Le traitement repose sur une base commune développée sous Matlab, adaptée ensuite aux spécificités de chaque type d'expérience (tension, évaporation ou modulation).

Le traitement des images issues des expériences de tension et d'évaporation a été automatisé à l'aide d'une interface graphique développée sous Matlab. L'utilisateur y renseigne le nombre de dossiers, le nombre d'images par dossier ainsi que le facteur d'échelle calibré (pixel/mm).

Le script automatique d'analyse des images exécute et entregistre les résultats des étapes suivantes (détaillées dans les sections suivantes) :

- binarisation des images
- superposition de l'ensemble des contours détectés
- extraction des paramètres :
    - tension appliquée ou temps d'évaporation
    - dimensions maximales (selon l'axe horizontal) et minimales (selon l'axe vertical)
    - rapport des axes ($a/c$) caractérisant la déformation
    - coordonnées du centroïde (X,Y)
    - volume estimé de la goutte
    - écart entre le volume mesuré et le volume théorique (déduit automatiquement du nom du dossier dans le cas de la tension), ce dernier correspondant au volume nominal réglé sur la micropipette et utilisé pour évaluer les petites pertes éventuelles lors du dépôt de la goutte.

**Prétraitement des images**

Chaque image est d'abord convertie en niveaux de gris, puis binarisée par seuillage à l'aide de la fonction `imbinarize`. Le seuil peut être estimé automatiquement via la fonction `graytresh`, mais un ajustement manuel reste souvent préférable pour tenir compte des variations de luminosité, de transparence ou d'opacité selon le matériau étudié.
Les images binarisées sont ensuite traitées pour combler les zones internes (`imfill`) et supprimer les objets parasites de petite taille (`bwareaopen`, seuil fixé entre 200 et 500 pixels).
Ces étapes garantissent ainsi une détection robuste du contour externe de la goutte, indépendante des petites particules ou irrégularités optiques.

**Extraction des paramètres géométriques**

Les propriétés géométriques sont ensuite extraites par la fonction `regionprops`, qui permet de déterminer pour chaque image la centroïde de la goutte, ainsi que ses axes majeur et mineur, en supposant que la goutte présente une forme approximativement ellipsoïdale. Ces valeurs sont ensuite converties en milimètres à l'aide d'un facteur d'échelle obtenu par calibration optique préalable, réalisée à partir d'une image de référence contenant un objet de dimension connue, la configuration expérimentale étant ensuite inchangée.

**Calcul du volume de la goutte**

Le volume de la goutte est déterminé à partir des dimensions extraites lors du traitement des images binarisées. Afin d'évaluer l'influence des hypothèses géométriques sur l'estimation du volume, deux approches complémentaires ont été mises en oeuvre et appliquées systématiquement à l'ensemble des données.

**(i) Approche sphéroïde oblate**

La première approche consiste à assimiler la goutte à un **sphéroïde oblate**. Cette hypothèse repose sur la forme généralement quasi sphérique d'une goutte en lévitation acoustique, légèrement aplatie sur les pôles sous l'effet du champ acoustique. Les dimensions latérales (selon le plan XY) étant équivalentes ($a = b$) (**Figure 2.15**), le volume peut être calculé à partir de la relation :

$$V = \frac{\pi}{2} a^2 c$$

où $a$ et $c$ correspondent respectivement aux demi-axes équatoriaux et polaires. Cette méthode, simple et rapide à mettre en oeuvre, fournit une bonne estimation du volume.

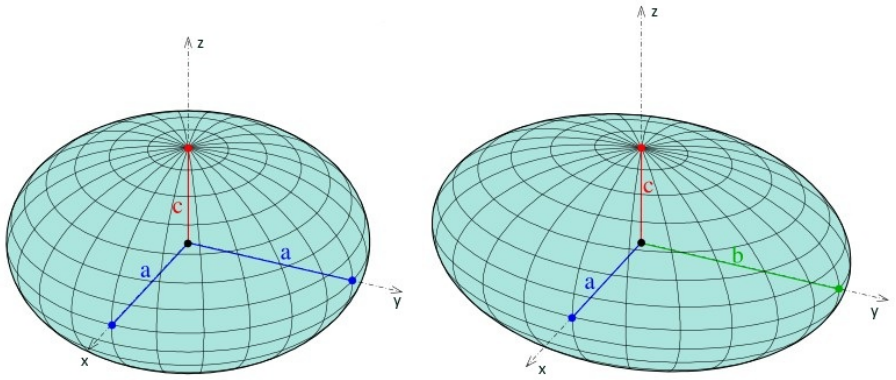



FIGURE 2.15 – **Comparaison entre sphéroïde et ellipsoïde**. *(Gauche) Sphéroïde oblate obtenu par aplatissement d'une sphère selon un axe, présentant une symétrie de résolution. (Droite) Ellipsoïde dont les trois axes sont de longueur différentes.*

**(ii) Approche numérique par intégration du contour**

La seconde approche repose sur l'exploitation du contour réel de la goutte, extrait après binarisation des images. Elle permet d'estimer le volume sans hypothèse a priori sur la symétrie de la goutte, et s'avère particulièrement pertinente lorsque des déformations marquées ou des formes aplaties sont observées. Le profil latéral est reconstuit à partir de l'axe vertical passant par le centroïde, et le volume est calculé par intégration discrète de la surface de résolution selon :

$$V = \pi \sum_i r_i^2 \Delta y$$

où $r_i$ représente le rayon local mesuré à chaque position verticale et $\Delta y$ la résolution spatiale associée au facteur d'échelle. Cette approche permet ainsi d'obtenir une estimation robuste et précise du volume, indépendamment de la symétrie de la goutte.

En pratique, il s'avère délicat de définir un critère objectif permettant d'identifier précisément la transition entre une forme sphéroïdale valide et une géométrie significativement déformée ou aplatie. L'utilisation de ces deux approches permet ainsi d'évaluer la pertinence de l'hypothèse sphéroïdale en comparant les volumes mesurés selon une géométrie idéalisée et selon la forme réelle de la goutte. L'analyse comparative de ces deux méthodes est présentée dans le chapitre

4 (**section 4.1.1**). Le volume mesuré est ensuite comparé au volume théorique, correspondant au volume nominal injecté à l'aide de la micropipette. D'une part, cela permet de vérifier que le volume initial de la goutte, déposé via micropipette, est correctement retrouvé et de détecter d'éventuelles pertes de matière. D'autre part, pour les expériences d'évaporation, ces mesures permettent de quantifier l'évolution du volume au cours du temps.

**Traitement des vidéos rapides et analyse fréquentielle**

Pour les expériences de modulation, la dynamique des gouttes est enregistrée via des vidéos à haute vitesse (10 000 FPS). L'objectif est d'extraire l'évolution temporelle des dimensions de la goutte et d'analyser leur réponse aux compressions cycliques imposées. Le traitement des vidéos repose sur les mêmes principes que pour les images statiques (binarisation, remplissage, suppression des objets parasites, extraction des axes majeur et mineur), mais appliqués à chaque image de la vidéo, permettant ainsi de suivre l'évolution des paramètres au cours du temps.
Le programme Matlab automatise le traitement des vidéos en fonction des paramètres fournis (hydrogels, tensions, gouttes, fréquences), extrayant les axes de la goutte, les amplitudes d'oscillation et générant les spectres de Fourier, comme décrit ci-après.

À partir de ces signaux temporels, une transformée de Fourier rapide (FFT) permet d'identifier la ou les fréquences dominantes des oscillations ainsi que leurs amplitudes via la formule :

$$X[k] = \sum_{n=0}^{N-1} x[n] \times e^{\frac{-j2\pi kn}{N}}$$

avec $X[k]$ le k-ième élément de la représentation dans le domaine fréquentiel ; $x[n]$ le n-ième élément du signal dans le domaine temporel et $j$ l'unité imaginaire.
Cette approche compare la fréquence imposée à celle réellement observée et détecte d'éventuelles autres fréquences importantes, révélant des motifs dynamiques spécifiques de la goutte. Les résultats sont sauvegardés dans une structure Matlab pour chaque vidéo, incluant les fréquences et amplitudes détectées, les pics secondaires et un score d'adéquation à la modulation imposée. Le score d'adéquation quantifie à quel point la réponse de la goutte correspond à la fréquence de modulation imposée. Il est calculé en comparant le spectre de Fourier de l'oscillation réelle de la goutte à la fréquence ciblée : un score élevé indique que l'amplitude de la réponse est majoritairement concentrée sur la fréquence imposée, tandis qu'un score faible signale la présence de composantes secondaires significatives ou de déviations par rapport à la modulation prévue. Ce score fournit donc une mesure de la fidélité de la réponse dynamique de la goutte à l'excitation appliquée.

Ce protocole permet ainsi de caractériser la réponse dynamique des gouttes aux compressions cycliques, en déterminant jusqu'à quelle fréquence elles peuvent suivre la modulation imposée.

La figure suivante (**Figure 2.16**) permet d'illustrer et de résumer les différentes étapes dans le traitement des images jusqu'à la sauvegarde des données.

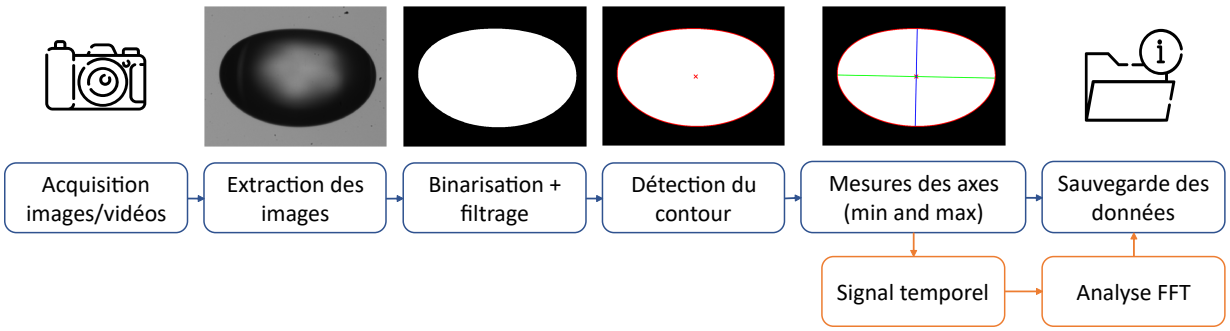



FIGURE 2.16 – **Etapes du traitement d'images et de vidéos.** *(Bleu) Opérations communes aux images et vidéos. (Orange) Etapes supplémentaires propres au traitement des vidéos.*

### 2.2.7 Incertitudes et limites

Certaines limitations techniques ont été identifiées lors de la mise en place du banc expérimental. Tout d'abord, la mesure directe du niveau de pression acoustique (SPL) n'a pu être réalisée, car le matériel nécessaire est spécifique et coûteux. Un simple microphone n'aurait pas permis de couvrir les plages de fréquences et d'intensité impliquées. En effet, le lévitateur acoustique a une fréquence de fonctionnement de 58 kHz, alors qu'une carte son proposée par l'INRS (Institut National de Recherche et de Sécurité) ne permettait qu'une fréquence d'échantillonage maximale de 102 kHz, limitant l'analyse à environ 51 kHz. Par ailleurs, le niveau sonore généré par le lévitateur, autour de 160 dB, dépassant la capacité du dispositif proposé pour mesurer directement le niveau de pression acoustique (SPL). Le contrôle de la tension d'entrée du lévitateur a donc été utilisé comme un indicateur indirect de la pression dans le champ acoustique, et il sera envisagé d'extraire des tendances à partir de la déformation expérimentale des gouttes, par régression linéaire ou méthodes similaires. Par ailleurs, l'humidité et la température ambiantes n'ont pu être strictement contrôlées. Des mesures répétées ont été réalisées d'afin d'identifier des conditions expérimentales stables, et certaines variations ont été volontairement enregsitrées pour évaluer leur influence sur le comportement des gouttes. Ces limitations ont été prises en compte lors de l'analyse des résultats présentée dans le chapitre 4.

## 2.3 Modélisation numérique de la goutte en lévitation acoustique

La simulation numérique constitue un outil essentiel pour étudier le comportement mécanique des matériaux à base biologiques et biomimétiques et donner des informations sur les répartitions des différents champs mécaniques (déformations et contraintes) lorsqu'ils sont soumis à des sollicitations. Ils permettent d'optimiser le comportement mécanique de ces matériaux sans avoir recours à des essais expérimentaux parfois difficile à mener, et sans même nécessiter leur élaboration. Parmi les outils de simulation existants et couramment utilisés, des logiciels comme Abaqus ou FEBio permettent de développer des modèles utilisant la méthode des éléments finis. Dans le domaine de l'ingénierie tissulaire, le recours à la simulation numérique pour constituer des modèles dits *in silico* offrent un complément précieux aux approches expérimentales. Comme présenté dans l'état de l'art, ces modèles jouent ainsi un rôle clé dans la compréhension des interactions mécanobiologiques.

Dans ce travail de thèse, l'environnement Matlab a été utilisé en combinaison avec la boîte à outils GIBBON [256] ("Geometry and Image-Based Bioengineering Add-On") et le solveur FEBio [257], reconnu dans le domaine de la biomécanique numérique. L'utilisation de GIBBON permet d'assurer à la fois le pré- et post-traitement des simulations : génération de géométries, création de maillages, organisation et écriture automatisée des fichiers d'entrée pour FEBio, lancement des calculs et extraction des champs de résultats. Couplé à FEBio, cet outil permet d'ajuster facilement les différents paramètres aux besoins spécifiques de l'étude.

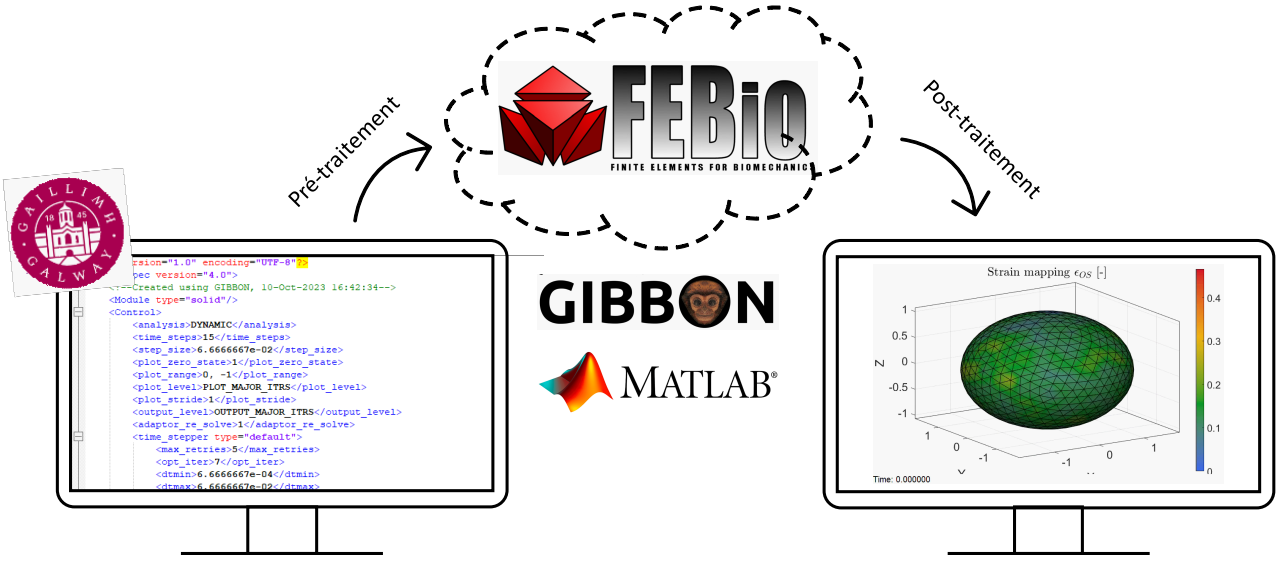



FIGURE 2.17 – **Applications de la boîte à outils *open source* GIBBON en pré- et post-traitement, issu de la plateforme** (https ://www.gibboncode.org/)

Dans ce travail de thèse, l'objectif principal est de développer un modèle *in silico* d'une goutte sphéroïdale en lévitation acoustique. Ces simulations permettent ainsi d'obtenir les cartographies des contraintes et déformations au sein de la goutte pour des paramètres de lévitation

donnés, afin de décrire avec précision l'environnement mécanique auquel les cellules sont exposées. Pour atteindre cet objectif, il convient maintenant de décrire la mise en place du jeu de données, en commençant par la géométrie, les conditions aux limites et les paramètres de simulation.

### 2.3.1 Reconstruction géométrique de la goutte

La géométrie initiale de la goutte pour les simulations a été reconstruite à partir des données expérimentales. Parmi les essais réalisés avec le lévitateur acoustique, l'un d'eux consistait à étudier l'influence de la tension d'entrée sur la forme de la goutte en lévitation, et en particulier sur sa compression.

Le traitement des images acquises, décrit précédemment, a donc permis d'extraire pour différentes valeurs de tension, les dimensions maximale et minimale de la goutte.
Pour les simulations, la configuration présentant la plus faible déformation a été retenue comme état de référence avant la compression cyclique, à tension d'entrée minimale. Ce choix permet d'obtenir une géométrie quasi sphérique, afin de réduire les effets du champ acoustique lors de l'initialisation du modèle. Cette forme sert de base pour générer le maillage et donc construire le modèle numérique.

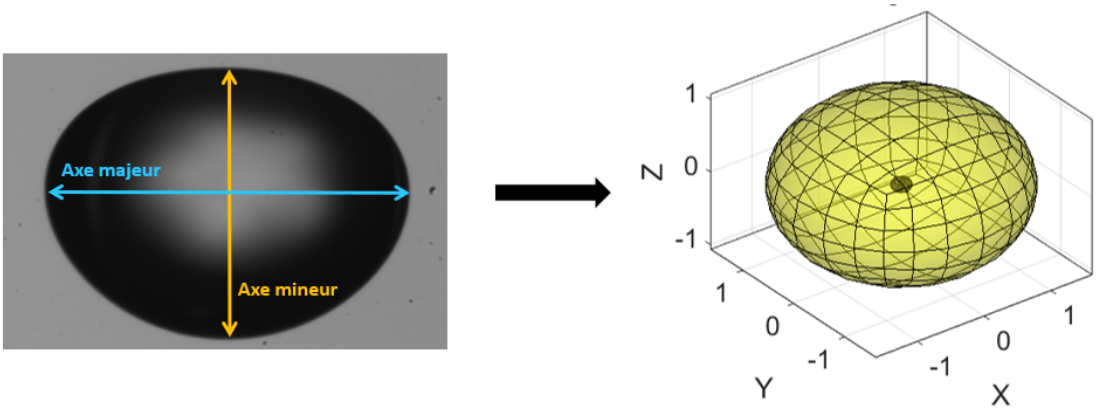



FIGURE 2.18 – **Reconstruction géométrique de la goutte en lévitation à partir de ses axes maximale et minimale expérimentaux.**

### 2.3.2 Maillage

La géométrie sphéroïdale reconstruite est discrétisée à l'aide d'éléments héxaédriques (hex8), générés via les outils de maillage de GIBBON. Le choix d'éléments hexahédriques se justifie par le fait qu'ils offrent une meilleure régularité géométrique que les éléments tétrahédriques, qui peuvent entraîner des distorsions du maillage. L'utilisation d'hexaédriques permet donc de maintenir une approximation plus fidèle des gradients et des déformations en conservant la symétrie radiale.

La taille élémentaire cible a été définie de manière à assurer un compromis entre précision

géométrique et coût numérique. Pour cela, une étude de convergence du maillage a été réalisée en utilisant comme critère la densité d'énergie de déformation (en anglais *strain energy density* ou SED), qui correspond à l'énergie stockée par unité de volume dans le matériau.
Cette étude a été effectuée pour un cas de charge, correspondant à une répartition de pression acoustique similaire à celle apliquée dans les simulations finales. La densité d'éléments du maillage a été progressivement augmentée, et pour chaque configuration, la SED moyenne dans la goutte a été calculée.
L'évolution de la SED en fonction de la densité d'éléments permet d'observer une convergence vers une asymptote, considérée comme la valeur "vraie" de l'énergie stockée pour un maillage infinitésimalement fin. La taille élémentaire cible a été choisie de manière à atteindre 99% (ou 95%) de cette valeur finale, assurant ainsi un bon compromis entre précision de la simulation et coût de calcul.

La valeur de la densité d'énergie de déformation (SED) dépendra des propriétés du matériau, qui sont décrites dans le chapitre 3 (**section 3.5.2**). Les résultats des différentes configurations du maillage et leur analyse de convergence seront présentés dans le chapitre 4 (**section 4.6.1**).

### 2.3.3 Conditions aux limites

La modélisation numérique d'une goutte en lévitation acoustique repose sur la prise en compte de différentes forces qui gouvernent son équilibre. Deux phénomènes principaux interviennent : (i) la gravité, qui tend à entraîner et étirer la goutte vers le bas, et (ii) le champ de pression acoustique généré par le lévitateur, responsable à la fois de sa lévitation (force de radiation acoustique qui compense la gravité) et de sa compression (car le champ de pression acoustique n'est pas uniforme). Ces aspects théoriques ont été détaillés en début de chapitre.

Dans la simulation, ces phénomènes sont représentés sous une forme simplifée afin de permettre une première implémentation robuste tout en conservant leur rôle physique. Le champ acoustique, difficile à modéliser directement, est décomposé en trois contributions distinctes :

- **Gravité** : elle est appliquée comme une forme volumique uniforme (`body load`) agissant sur l'ensemble des éléments de la goutte et représente la charge physique naturelle agissant sur la goutte.
- **Contre-gravité** : il s'agit de la force de radiation acoustique qui contrecarre la gravité. Numériquement, cet effet est représenté par une forme surfacique répartie, appliquée dans la direction opposée à la gravité. Sa mise en oeuvre étant délicate et susceptible de provoquer des instabilités, elle n'est pas appliquée dans un premier temps. Une stabilisation temporaire (présentée dans la section suivante) est d'abord utilisée afin d'empêcher la chute de la goutte.
- **Compression de la goutte** : la déformation axiale caractéristique des gouttes en lévitation est reproduite à l'aide d'un chargement surfacique non uniforme représentant la composante compressive du champ acoustique. Cette distribution des valeurs de pression acoustique présente une variation angulaire et peut être décrite soit à l'aide d'une

loi mathématique simplifiée introduite soit à partir d'un modèle analytique décrite par Yarin et al. [258]. Dans le premier cas, la distribution de pression constitue l'inconnue à identifier, tandis que dans le second, elle est imposée directement afin d'estimer les paramètres mécaniques des hydrogels. Ce chargement appliqué sur la surface externe de la goutte est responsable de sa compression axiale et joue un rôle central dans la reproduction de la géométrie observée. Ces deux approches sont considérées comme des cadres méthodologiques complémentaires et feront l'objet de développements futurs, comme discuté en perspective.

### 2.3.4 Stratégies de stabilisation du modèle

Avant d'appliquer la contre-gravité qui est complexe, la goutte doit être maintenue en position de manière artificielle afin d'éviter toute translation de corps rigide due à la gravité qui impliquerait une instabilité numérique. Plusieurs techniques de stabilisation ont dont été testées et comparées. Parmi elles, la rigidification d'une petite zone interne de la goutte a été essayée, mais elle induisait principalement une torsion locale plutôt que la compression de la goutte.

**Tie constraint**

Dans cette dernière stratégie de stabilisation, une petite cavité interne a été définie au centre de la goutte et liée à la surface interne de la goutte par une contrainte de type `tied-elastic`. Dans la mise en oeuvre, la géométrie de la goutte et celle de la sphère interne ont été discrétisées séparément en éléments hexaédriques (hex8). Contrairement à la méthode précédente, la goutte et la sphère interne constituent deux domaines distincts. La sphère interne, correspondant à environ 5+% du rayon maximal de la goutte, a été positionnée au centre de la cavité interne. Les faces de la sphère interne et les faces de la cavité interne correspondantes sur la goutte ont été identifiées pour définir la zone de *tie*. Une tolérance angulaire et spatiale a été appliquée afin d'assurer un couplage stable et précis entre les deux surfaces. Les conditions aux limites sont ensuite pilotées par l'intermédiaire d'un contact `contact tied-elastic` entre la cavité interne et la surface de la goutte. La sphère interne a été fixée spatialement comme précédemment par des conditions aux limites imposées sur ses trois degrées de liberté de translation, garantissant ainsi que la zone interne ne se déplace pas. Cette méthode permet de stabiliser la goutte tout en conservant une déformation plus naturelle autour de la zone centrale, réduisant ainsi l'effet localement artificiel observé avec le corps rigide.

Cette approche permet de maintenir une zone interne fixe tout en laissant le reste du volume libre de se déformer, mais avec une transition plus progressive qu'avec un corps rigide. Néanmoins il s'agit d'une méthode légèrement plus complexe à mettre en œuvre que le corps rigide, car elle nécessite de définir précisément les surfaces à lier et de gérer correctement la correspondance entre les nœuds et les faces.

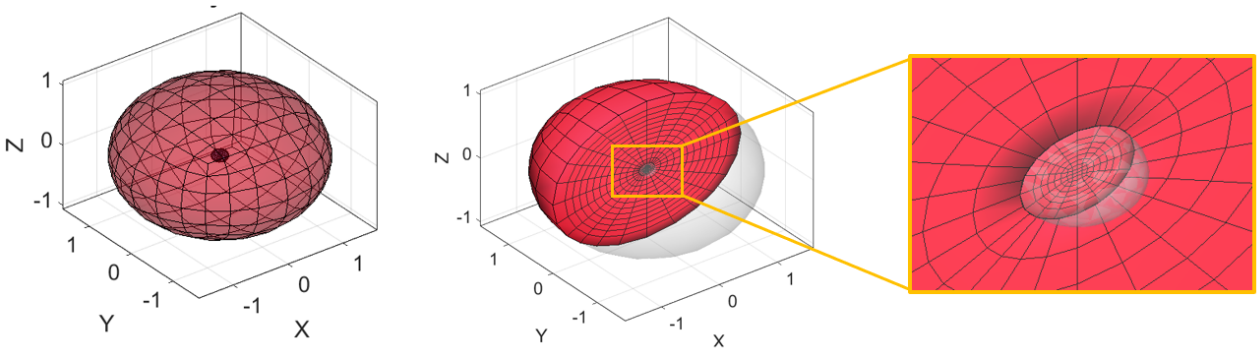



FIGURE 2.19 – Maillage de deux sphères (interne et externe) relié par *tie constrait*.

### 2.3.5 Chargement

Pour les deux méthodologies présentées ci-après, la procédure d'analyse des résultats numériques et expérimentaux repose sur une démarche d'optimisation commune. A l'issue de chaque simulation, les positions des noeuds de surface déformés sont extraites afin de reconstruire la géométrie déformée obtenue numérique, notée $X^{sim}$.
La géométrie expérimentale est reconstruire indépendamment à partir des dimensions mesurées sur les images, comme décrit précédemment, en ajustant une surface paramétrique sphéroïdale dont les demi-axes correspondent au grand et petit axe mesurés. Le nuage de points associé constitue la surface de référénce $X^{exp}$.

Avant de quantifier les écarts, les deux géométries sont recalées en translation et rotation afin d'éviter que la mesure d'erreur ne soit biaisée par des décalages qui ne relèvent pas du modèle mécanique lui-même. Ce recalage repose sur l'alignement des centroïdes de la goutte (translation) et des axes principaux d'inertie (rotation).

Comme les surfaces simulée et expérimentale reposent sur des discrétisations différentes, une interpolation est nécessaire afin de permettre une comparaison indépendante du maillage. A partir de la surface simulée $X^{sim}$, un calcul de distance point-à-point est réalisé via une interpolation de type `scatteredInterpolant` pour chacune des coordonnées ($x$, $y$, $z$). Celui-ci permet d'évaluer les positions simulées aux coordonnées exactes des points expérimentaux :

$$X^{simu}_{interp} = f(X^{exp})$$

assurant ainsi une comparaison point-à-point entre les deux géométries.

L'écart géométrie entre la goutte expérimentale et la goutte simulée est quantifié à l'aide d'une fonction de coût de type moindres carrés :

$$\epsilon = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N} ||X_i^{exp} - X^{sim}_{interp,i}||^2 \tag{2.21}$$

où $N$ est le nombre de points sur la surface expérimentale.
En complément, un *Root Mean Square Error* (RMSE) global ainsi que directionnel suivant les axes $x$, $y$ et z est calculé afin d'identifier les écarts dominants.

Enfin, une carte tridimensionnelle de distance nodale est générée, illustrant spatialement les zones où la simulation surestime ou sous-estime la déformation observée. Ces cartes constituent un outil d'analyse visuel qualitatif permettant également d'identifier les régions sensibles à la variation des paramètres du modèle.

Les paramètres pourraient ensuite être mis à jour de manière itérative afin de minimiser cette fonction de coût, la procédure étant répétée jusqu'à convergence vers une géométrie simulée reproduisant au mieux la géométrie expérimentale. Dans ce travail, l'exploration de l'espace de paramètres se limite à un balayage discret des valeurs, les paramètres fournissant le meilleur accord avec les données expérimentales étant retenue. Une mise à jour itérative, fondée sur une méthode d'optimisation (de type approche à gradient ou plan d'expériences suivie d'une interpolation par surface de réponse), constitue une perspective à développer ultérieurement pour identifier de manière plus rigoureuse le minimum de la fonction de coût.
Quant à la différence entre les deux approches méthodologiques, elle réside dans la manière d'imposer la distribution des valeurs de pression acoustique responsables de la compression de la goutte : celle-ci est soit décrite par une loi paramétrique simplifiée, soit issue d'un modèle analytique inspiré des travaux de Yarin et al. [258].

#### 2.3.5.1 Détermination des valeurs de pression acoustique à partir de matériaux connus

Cette première approche repose sur une procédure d'identification inverse visant à estimer la **distribution des valeurs de pression acoustique** appliquée sur la surface de la goutte en minimisant l'écart entre les géométries de gouttes obtenues expérimentalement et les résultats de simulation. Dans ce cadre, les propriétés mécaniques des matériaux sont supposées parfaitement connues : elles ont dans ce cas été préalablement caractérisées et validées expérimentalement comme détaillé en chapitre 3. La déformation finale de la goutte correspond alors à un état d'équilibre résultant de l'action conjointe de la gravité, des pressions acoustiques appliquées en surface et de la réponse viscoélastique du matériau. L'objectif de la méthode inverse est donc d'ajuster les paramètres gouvernant cette pression acoustique de manière à reproduire au mieux la géométrie mesurée.

La loi de comportement utilisée dans les simulations est un modèle viscoélastique défini à l'aide d'une **série de Prony**. La formulation complète, la procédure de calibration et les paramètres finaux sont détaillés dans le chapitre 3 ; ceux-ci sont directement intégrés dans le modèle numérique pour décrire le comportement mécanique de la goutte.

**Modélisation de la pression acoustique**

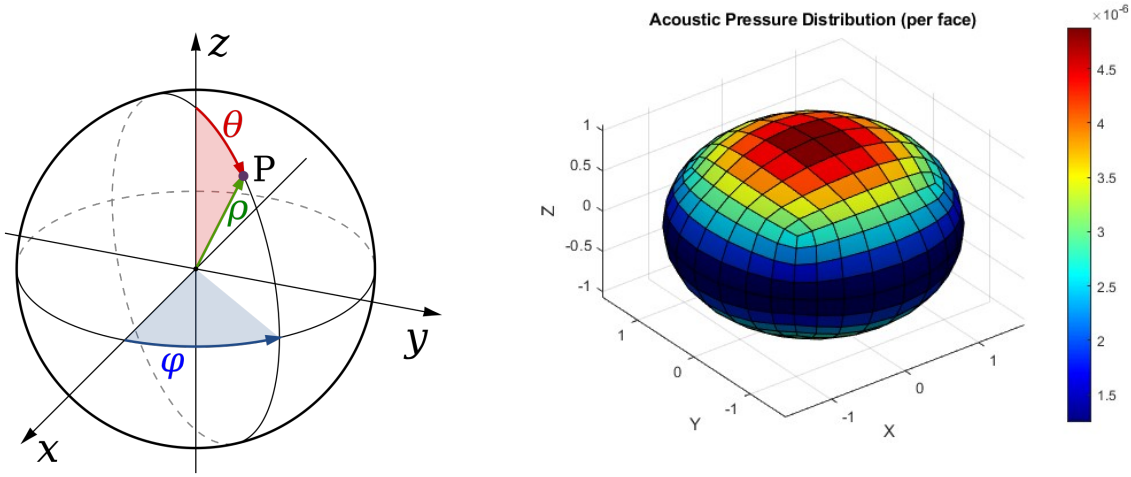
La pression acoustique appliquée en surface est représentée par une loi angulaire simplifiée, permettant de capturer la compression axiale typiquement observée dans le cas d'une lévitation acoustique. Elle est définie comme :

$$P(\theta) = Asin(\theta)$$

où $A$ correspond à l'amplitude de la modulation angulaire et $\theta$ l'angle zénithal mesuré par rapport à l'axe vertical de la goutte. Ce choix fournit un représentation compacte mais physiquement cohérente du champ de pression, tout en limitant le problème inverse à un paramètre scalaire à identifier, $A$. Ce choix s'inspire des travaux de [259], qui calculent la force de radiation acoustique à partir de la théorie de King et déterminent l'intégrale de $P_a$ sur la surface de la goutte. La version simplifiée proposée ici se concentre sur un premier profil axial de compression, en cohérence avec le comportement observé expérimentalement.

Deux autres façons d'imposer une distribution de valeurs de pression peuvent être envisagées en perspective :

- Distribution gaussienne de la pression : plutôt que la loi sinus, la compression peut être décrite comme une distribution de type gaussien, permettant un contrôle plus précis du profil de déformation. Cette approche offrirait un champ de pression non linéaire plus réaliste tout en restant relativement simple à paramétrer.
- Application de la force de radiation acoustique : la force de radiation acoustique peut être appliquée directement via l'intégrale de $P_a$ sur la surface de la goutte. Cette méthode reproduirait la compression tout en équilibrant la gravité, éliminant ainsi le besoin de fixer articifiellement le centre de la goutte avec un rigid body ou un tie constrait.




(a) Coordonnées sphériques avec $\theta$ l'angle zénithal

(b) Distribution des valeurs de pression pour une amplitude $A$ donnée

FIGURE 2.20 – **Modélisation simplifiée de la distribution du champ de pression acoustique.** *(a) Coordonnées sphériques où l'angle zénithal* $\Theta$ *est mesuré par rapport à l'axe vertical de la goutte. (b) Sphéroide oblate avec distribution des valeurs de pression appliquées sur sa surface, définie en fonction de cet angle* $\Theta$*.*

Une simulation dynamique est réalisée par FEBio, en considérant une amplitude de la pression acoustique donnée $A$.

**Optimisation des paramètres de pression**

Plusieurs valeurs de $(A)$, peuvent être testés selon une stratégie de type **exploration paramétrique**. Pour chacun :

1. une simulation est réalisée ;
2. la géométrie déformée est extraite et interpolée sur la grille expérimentale ;
3. la métrique d'erreur $\epsilon$ est évaluée.

Le couple minimisant la fonction de coût est retenu comme la meilleure estimation du champ de pression acoustique responsable de la déformation observée.

Cette identification permet non seulement de reconstruire la pression acoustique effectivement appliquée en lévitation, mais également d'évaluer la sensibilité de la géométrie aux variations de l'amplitude $A$, analyse qui sera détaillée dans le chapitre 4.

#### 2.3.5.2 Détermination des paramètres matériaux

La seconde approche inverse suit une démarche conceptuellement symétrique à la première. Ici, la distribution de pression acoustique appliquée sur la surface de la goutte n'est plus un paramètre à identifier, mais une donnée d'entrée imposée, calculée à partir du modèle analytique développée par Yarin et al. pour la lévitation acoustique de gouttes milimétriques.

**Modèle analytique de Yarin : données d'entrée et principe de calcul**

Le modèle analytique utilisé pour déterminer la répartition des valeurs de pression acoustique

sur la goutte est inspiré des travaux de Yarin et al. [258] et est basé sur la résolution des équations d'onde de Helmholtz sous l'hypothèse d'une goutte imperméable au son. Le champ acoustique est obtenu par superposition des ondes incidente et réfléchie, en approximation d'onde plane. L'équilibre mécanique à la surface de la goutte est ensuite établi en considérant la pression de radiation acoustique, la pression capillaire et la pression statique, tandis que la force acoustique résultante, intégrée sur l'ensemble de la surface, doit compenser le poids de la goutte. Le code d'origine a été développé en Fortran 77, puis interfacé aec Matlas et mis à disposition par Guillaume Castanet du laboratoire LEMTA (Laboratoire Energies  Mécanique Théorique et Appliquée - https ://lemta.univ-lorraine.fr/). Ce modèle analytique est appliqué sous la forme d'une fonction "boîte noire", dans laquelle les paramètres expérimentaux suivants sont fournis en entrée afin de calculer la distribution des valeurs de pression sur la surface d'une goutte bidimensionnelle :

- diamètre initial de la goutte,
- fréquence du lévitateur,
- densité, tension superficielle et propriétés thermiques du fluide,
- température et densité du gaz porteur,
- niveau de pression acoustique imposée (SPL)
- vitesse du son et coefficient de diffusion dans l'air,
- nombre d'éléments de discrétisation du contour (en 2D : typiquement 51 éléments),

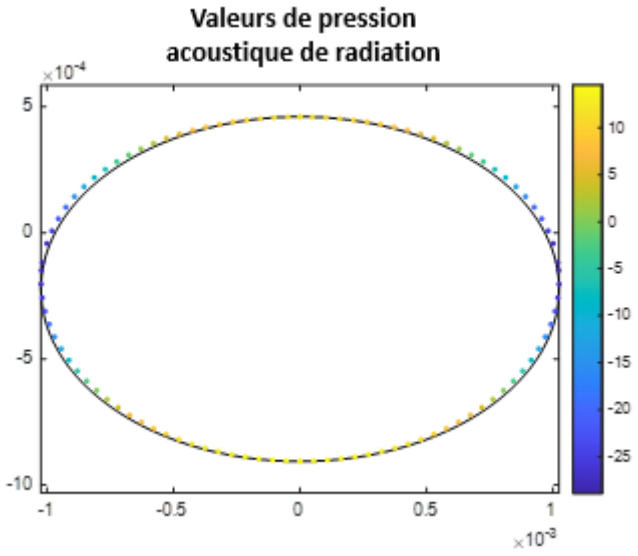



FIGURE 2.21 – **Distribution des valeurs de pression acoustique sur la surface d'une goutte 2D.**

Le modèle analytique permet de calculer la **distribution angulaire de la pression acoustique normale appliquée à la surface de la goutte**, en génèrant un champ de pression discrétisé sur $\tilde{5}2$ éléments. Ce champ est ensuite importé dans le modèle numérique de la goutte, où il est appliqué comme pression surfacique sur la goutte tridimensionnelle.

**Identification des paramètres**

Avec le champ de pression fixé, la variable ajustable serait la loi de comportement du matériau. L'objectif de cette seconde méthode inverse serait donc de retrouver les paramètres viscoélastiques ($G_i$ et $tau_i$) permettant de reproduire au mieux la géométrie observée expérimentalement, en supposant $E = 2(1+\nu)G_0$ avec $G_0 = \sum_i G_i$ ou $G_0 = G_i$ pour l'alginate.

Cette stratégie présenterait un double intérêt. D'une part, elle permet de confirmer (ou d'infirmer) la cohérence du modèle acoustique analytique de Yarin lorsqu'il est couplé à une simulation mécanique. D'autre part, elle fournirait une estimation indépendante des propriétés mécaniques, venant compléter la caractérisation expérimentale décrite en chapitre suivant.

La procédure d'identification suit un shéma analogue à celui de la première méthode inverse, comme décrit au début de la section correspondante. Il viserait à ajuster les paramètres viscoélastiques afin que la goutte simulée se rapproche de la géométrie expérimentale, permettant ainsi d'encadrer la rigidité du matériau et de mettre en évidence les éventuelles incohérences entre la pression prédite par Yarin et la déformation réellement mesurée.

### 2.3.6 Post-traitement

A l'issue de chaque simulation FEBio, plusieurs grandeurs sont post-traitées afin de caractériser la solution mécanique globale de la goutte sous le chargement imposé (et donc la qualité de la solution), ainsi que la distribution des champs mécaniques locaux pertinents pour la mécanobiologie.

Les déplacement nodaux $(u_x, u_y, u_z)$ sont d'abord extraits pour l'ensemble des noeuds du maillage et pour tous les pas de temps. A partir de ces déplacements, la configuration déformée est reconstruite selon :

$$V_{DEF} = U_{DEF} + \text{repmat}(V, [1, 1, N_t])$$

où $U_DEF$ correspond aux déplacements nodaux $(u_x, u_y, u_z)$, V aux coordonnées initiales des noeuds et $N_t$ au pas de temps.

La norme du déplacement nodal est également calculée pour obtenir une carte scalaire de l'amplitude de déplacement à chaque noeud via :

$$||u|| = \sqrt{u_x^2 + u_y^2 + u_z^2}$$

Les composantes du tenseur de Cauchy $\underline{\underline{\sigma}}$ sont extraites pour caractérisier les contraintes au sein de la goutte. Le tenseur de Cauchy peut être diagonalisé selon ses directions principales $e_I, e_{II}, e_{III}$ :

$$\underline{\underline{\sigma}} = \sigma_I e_I \otimes e_I + \sigma_{II} e_{II} \otimes e_{II} + \sigma_{III} e_{III} \otimes e_{III}$$

où par convention $\sigma_I \geq \sigma_{II} \geq \sigma_{III}$. Les contraintes principales $\sigma_I, \sigma_{II}, \sigma_{III}$ correspondent aux contraintes maximales agissant dans chacune des directions principales de l'élément considéré.

Pour le post-traitement, la contrainte octaédrique $\sigma_{oct}$ est extraite pour tous les éléments et visualisée en coordonnées déformées :

$$\sigma_{oct} = \frac{1}{3}\sqrt{(\sigma_I - \sigma_{II})^2 + (\sigma_{II} - \sigma_{III})^2 + (\sigma_{III} - \sigma_I)^2} \tag{2.22}$$

Cette opération permet à la fois de générer des cartes de distribution des contraintes et de suivre leurs évolution au cours du temps. Les valeurs extrêmes $\sigma_{III,min}, \sigma_{III,max}$) et la valeur moyenne sont également calculées afin de quantifier l'intensité des sollicitations et leur distribution dans la goutte.

Les composantes principales de la déformation $(\epsilon_I, \epsilon_{II}, \epsilon_{III})$ sont également extraites pour tous les éléments du maillage. Ces valeurs correspondent aux déformations principales selon les directions principales de chaque élément.

Pour obtenir une mesure scalaire représentative de l'intensité des déformations, la déformation octaédrique $\epsilon_{OS}$ est calculée selon

$$\epsilon_{OS} = \frac{1}{3}\sqrt{(\epsilon_I - \epsilon_{II})^2 + (\epsilon_{II} - \epsilon_{III})^2 + (\epsilon_{III} - \epsilon_I)^2}$$

Cette grandeur est ensuite projetée sur les noeuds via une interpolation élément-vers-nœud. Des sections transverses de la goutte peuvent être générées pour visualiser la répartition de ces valeurs au sein du volume de la goutte. La projection est utilisée pour générer des cartes scalaires de déformation et pour animer la cinématique de la goutte au cours du temps. Les statistiques temporelles (minimum, maximum, moyenne) peuvent également être calculées pour quantifier l'intensité et la répartition des déformations.

## Conclusion du chapitre

Au terme de ce chapitre, nous avons établi un cadre complet pour l'étude des gouttes en lévitation acoustique. Les principes fondamentaux de la lévitation ont été présentés et ont permis de comprendre les forces en jeu et de définir les paramètres clés influençant la forme et la stabilité des gouttes. Sur le plan expérimental, nous avons mis en place des protocoles pour mesurer la forme de goutte en fonction de la tension d'entrée. Nous avons également suivi l'évolution de l'évaporation et contrôlé la modulation de la tension d'entrée afin de générer des compressions cycliques. Enfin, l'écoulement interne des gouttes a été observé pour compléter la caractérisation expérimentale.
Parallèlement, Un environnement numérique a été développé pour simuler la déformation des gouttes, en intégrant un modèle analytique issu de la littérature. Ce *pipeline* permet de reproduire la géométrie et la cinématique des gouttes, d'extraire les déplacements nodaux, les champs de déformation et de contraintes, et de tester deux méthodes inverses pour relier la pression acoustique aux propriétés mécaniques du matériau.

Le chapitre suivant est consacré à l'étude des matériaux utilisés dans le cadre de cette thèse. Il présente le choix des matériaux, les essais expérimentaux menés pour déterminer leurs propriétés mécaniques, et détaille la manière dont ces données sont intégrées dans le cadre des simulations numériques qui viennent d'être décrites.

# Chapitre 3

# Caractérisation physico-chimique et élaboration des matériaux

Après avoir établi, dans le chapitre précédent, le fonctionnement du lévitateur acoustique ainsi que les différentes méthodes de mesure et de simulation permettant d'analyser la déformation des gouttes, il est désormais nécessaire de s'intéresser aux matériaux eux-mêmes : leur composition, leurs propriétés mécaniques et leur aptitude à être utilisés comme support potentiel pour des cellules. L'objectif de ce chapitre est de justifier le choix des matériaux utilisés dans ce travail de thèse, leur élaboration, ainsi que les différentes caractérisations physico-chimiques qui ont été réalisées.

Afin de caractériser ces matériaux et de comprendre leur comportement mécanique, un ensemble de moyens expérimentaux a été mobilisé, en collaboration avec différents laboratoires. Ces analyses incluent la mesure de la viscosité, de la tension de surface et de la mouillabilité, ainsi que des essais de rhéologie oscillatoire, de l'analyse mécanique dynamique (DMA) et de l'élastographie. L'ensemble des résultats de ces essais constitue une base de données riche qui permet d'alimenter les propriétés mécaniques dans les simulations numériques de la lévitation acoustique présentées au chapitre précédent.

**Communication et publication**

Une partie des résultats des essais mécaniques dans cette partie ont fait l'objet d'une présentation lors du 50ème congrès de la Société de Biomécanique.

**Essais mécaniques**

Les essais mécaniques présentés dans ce chapitre ont été réalisés en collaboration avec différentes équipes et plateformes. Les essais de rhéologie ont été effectués sur la plateforme Métro'NRJ du LEMTA. L'essai de mouillabilité a été réalisé par Anaïs Lavrand de BIOS Reims, l'essai de tension de surface par Maud Lebrun du LRGP, l'essai de DMA par Stéphane André du LEMTA et l'essai d'élastographie par Simon Chatelin de iCube.

## Sommaire Chapitre 3


3.1 Description des matériaux . . . . . 81
3.1.1 Propriétés de l'alginate et intérêt en ingénierie tissulaire . . . . . 81
3.1.2 Biomatériaux dérivés de tissus d'origine naturelle . . . . . 81
3.2 Sélection des matériaux . . . . . 82
3.2.1 Essais préliminaire avec des billes d'alginate . . . . . 83
3.2.2 Essais préliminaires sur la lévitation de solutions de forme cylindrique 84
3.3 Préparation des solutions de polymère . . . . . 86
3.3.1 Protocole des solutions d'alginate . . . . . 87
3.3.2 Protocole des solutions d'origine naturelle . . . . . 88
3.4 Caractérisation mécanique et physico-chimique des solutions de polymère 90
3.4.1 Rhéologie . . . . . 91
3.4.2 Propriétés interfaciales . . . . . 101
3.4.3 Essais mécaniques complémentaires . . . . . 106
3.5 Modélisation du comportement des solutions pour leur implémentation dans les simulations numériques . . . . . 115
3.5.1 Modèles rhéologiques usuels . . . . . 115
3.5.2 Détermination des paramètres viscoélastiques . . . . . 116
3.5.3 Implémentation dans les simulations numériques . . . . . 119

## 3.1 Description des matériaux

Dans le cadre de cette thèse, deux grandes familles de matériaux ont été utilisées : (i) des polymères polysacharridiques à base d'alginate de sodium et (ii) des polymères collagéniques, issus de la gelée de Wharton ou de collagène de queue de rat. Le terme **matériau** est utilisé ici conformément à la terminologie de la mécanique des matériaux, pour désigner les différentes solutions de polymère.

### 3.1.1 Propriétés de l'alginate et intérêt en ingénierie tissulaire

L'alginate de sodium utilisé dans cette étude est une poudre polysaccharidique (de formule brute $C_6H_7NaO_6$), commercialisé sous l'appellation *Satialgine S1100* (Cargill, Minnesota, Etats-Unis). Il s'agit d'un polymère anionique linéaire constitué de résidus d'acide $\beta$-D-mannuronique (M) et d'acide $\alpha$-L-guluronique (G), organisés en blocs homogènes (MM ou GG) ou mixtes (MG/GM). Cette organisation lui confère des architectures moléculaires variées et une grande diversité de comportements physicochimiques. Sa composition varie selon la source naturelle, la saison de récolte et les conditions d'extraction, l'alginate étant le plus souvent issu d'algues brunes [260]. L'alginate est largement utilisé en ingénierie tissulaire pour ses propriétés de biocompatibilité, sa capacité à encapsuler des cellules et sa mise en forme aisé en hydrogels [261, 260, 262, 263, 264].

Les solutions à base d'alginate peuvent être réticulés et repose sur l'interaction entre les groupes carboxylates ($C00^-$) des résidus G et des cations divalents, principalement ($Ca^{2+}$). Ce mécanisme, souvent décrit comme une organisation en "boîte à oeufs", conduit à la formation d'une réseau tridimensionnel stable, insoluble et mécaniquement rigide [265, 266].

Dans cette thèse, il est utilisé comme matériau de référence afin d'évaluer et de comparer le comportement et la dynamique des gouttes avec celui des solutions de polymère d'origine naturelle en lévitation acoustique. En faisant varier la viscosité, ce matériau permet notamment d'analyser son influence sur la stabilité et la réponse dynamique des gouttes en lévitation acoustique, en particulier sous compressions cycliques.

### 3.1.2 Biomatériaux dérivés de tissus d'origine naturelle

La **gelée de Wharton** est un tissu conjonctif provenant du cordon ombilical, reconnu pour sa richesse en cellules souches mésenchymateuses et sa matrice extracellulaire (MEC) principalement composé de collagène et de glycosaminoglycanes. Ses propriétés biologiques en font un matériau de choix pour des applications en ingénierie tissulaire et médecine régénérative [267]. Le **collagène de tendon de queue de rat** est une source naturelle de collagène fibrillaire, utilisé pour ses propriétés mécaniques et sa capacité à soutenir la prolifération cellulaire dans des modèles tissulaires [267].

La tableau suivant résume et compare les principales propriétés de ces deux biomatériaux :

| | **Gelée de Wharton** | **Collagène de tendon de rat** |
|---|---|---|
| **Type de collagène** | Type I | Types I, II et III |
| **Composition MEC** | Principalement collagène | Collagène, GAGs et autres molécules |
| **Structure MEC** | Réseau simple et fibrillaire | Réseau complexe offrant un soutien structural et biochimique |
| **Applications cellulaires** | Favorise l'adhésion cellulaire | Source naturelle de MSCs, stimule la prolifération |
| **Immunogénicité** | Faible, dépend du protocole | Très faible, potentiel anti-inflammatoire |
| **Applications cliniques** | Culture cellulaire, ingénierie tissulaire | Ingénierie tissulaire avancée, cicatrisation, régénération |

TABLE 3.1 – **Comparaison des propriétés de la gelée de Wharton et du collagène de tendon de rat.**

## 3.2 Sélection des matériaux

Avant d'arrêter un choix définitif de matériaux pour les expériences de lévitation acoustique, une phase exploratoire a été menée afin d'évaluer la faisabilité de la manipulation d'objets déformables présentant des propriétés mécaniques intermédiaires entre un liquide et un solide mou. Cette étape a été essentielle pour deux raisons : d'une part, elle a permis de tester les limites du lévitateur en termes de stabilité en lévitation acoustique, de déformation des échantillons et de maintien d'objets présentant différentes géométries ; d'autre part, elle a ouvert la voie à de futures applications concernant l'encapsulation cellulaire, pour lesquelles des matrices hydrogels constituent des supports privilégiés.

Dans cette optique, plusieurs types d'échantillons ont été testés : des billes d'alginate, facilement obtenues par gélification ionique, et des cylindres d'hydrogels fabriqués par poinçonnage, dont la symétrie radiale limite la rotation lors de la lévitation. Ces matériaux présentaient l'avantage de combiner une mise en forme aisée, une géométrie contrôlée permettant une analyse facilitée de la réponse mécanique lors de la lévitation, ainsi que des propriétés mécaniques ajustables.

Cette première exploration a mis en évidence les contraintes pratiques associées à la manipulation de solides mous dans un champ acoustique, et a permis de clarifier les besoins en termes de rigidité, de viscosité et de géométrie. Elle a naturellement conduit à l'adoption de solutions de polymère d'origine naturelle — notamment la gelée de Wharton et le tendon de queue de rat — utilisés par la suite en raison de leur compatibilité cellulaire, de leur pertinence biomécanique et de leur large utilisation en ingénierie tissulaire [268, 269, 98, 270]. Dans la

suite de la thèse, ces deux dernières solutions seront respectivement désignés par les acronymes WJ et RT.

### 3.2.1 Essais préliminaire avec des billes d'alginate

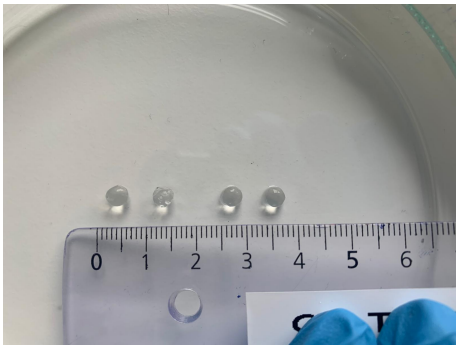
Dans un premier temps, des billes d'alginate ont été fabriqués en déposant des gouttes à l'aide d'aiguilles de petit calibre au-dessus d'une solution de chlorure de calcium ($CaCl_2$), La gélification ionique a été réalisée soit à température ambiante, soit à 4°C, afin d'évaluer qualiquativement si la température de réticulation pouvait influencer la cohésion ou la rigidité des billes (**Figure 3.1a**). Dans les deux cas, un temps d'immersion d'environ 10 minutes a été retenu : des durées plus courtes conduisaient à des billes insuffisamment cohésives. A l'inverse, un temps plus long entraînait un durcissement [271], rendant les billes moins déformables et plus difficiles à stabiliser en lévitation pour un même volume donné.

A l'issue de cette étape de fabrication, la manipulation des billes n'a pas révélé de différence notable entre les deux conditions de température. Toutefois, seule une analyse mécanique plus approfondie aurait permis de conclure quant à l'impact réel de ce paramètre. Dans le cadre de ce travail exploratoire, l'objectif se limitait à tester la faisabilité de leur manipulation et de leur lévitation, plutôt qu'à caractériser finement leur propriétés.

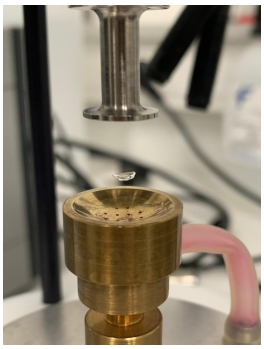
Avec cette méthode, des billes d'environ 3 mm de diamètre ont pu être obtenues (**Figure 3.1b**). Cependant, leur masse et/ou densité s'est révélée trop importante pour permettre une lévitation stable : elles dépassaient la capacité de lévitation du dispositif acoustique. Une réduction manuelle de leur volume a alors été tentée, mais la découpe rompait leur symétrie sphérique (**Figure 3.1c**). Bien que cela permettait alors leur lévitation, cette asymétrie entraînait une rotation systématique des objets.



(a) Billes d'alginate dans une solution de calcium à 20°C et 4°C




(b) Mesures de la taille des billes après immersion



(c) Découpe d'une bille en lévitation

FIGURE 3.1 – **Essais préliminaires de lévitation de billes d'alginate : de la fabrication à la lévitation.** *(a) Fabrication des billes par gélification ionique à partir de gouttes d'alginate déposées dans une solution de $CaCl_2$. (b) Mesure de la taille des billes. (c) Lévitation d'un fragment de bille d'alginate réticulée, montrant qu'une réduction de taille permet la lévitation acoustique.*

### 3.2.2 Essais préliminaires sur la lévitation de solutions de forme cylindrique

Différentes solutions ont été testées afin d'évaluer leur stabilité et leur comportement en lévitation acoustique. Les formulations ont été préparées dans des puits de plaque de type *western blot plate* par le laboratoire BIOS Reims, puis découpées par poinçonnage afin d'obtenir des échantillons de forme approximativement cylindrique, de diamètres 2 mm, 2,5 mm et 3,2 mm. Certains hydrogels, notamment les formulations de type cordon HN (Hydrogel Naturel, sans réticulation) et tendon HN, n'étaient pas suffisamment cohésifs pour être poinçonnés : ils ont donc été manipulés sous forme de gouttes à l'aide d'une seringue.

Trois solutions principales ont été explorées : la gelée de Wharton, le tendon de queue de rat, ainsi qu'une solution à base d'amidon. Les solutions utilisées pour ces tests préliminaires sont désignées par les acronymes HN, HAT (hydrogel avec réticulation par acide tannique) et HATP (hydrogel avec réticulation par acide tannique et périodate). Pour une meilleure manipulation des solutions, une réticulation chimique des solutions natives avait été mise en place avec ces deux derniers [272]. La caractérisation complète de ces tissus est décrite plus en détails à la suite du chapitre.

Les compositions suivantes ont été testées :

- Cordon HN
- Cordon HAT
- Cordon HATP
- Tendon HN
- Amidon
- Amidon + acide citrique

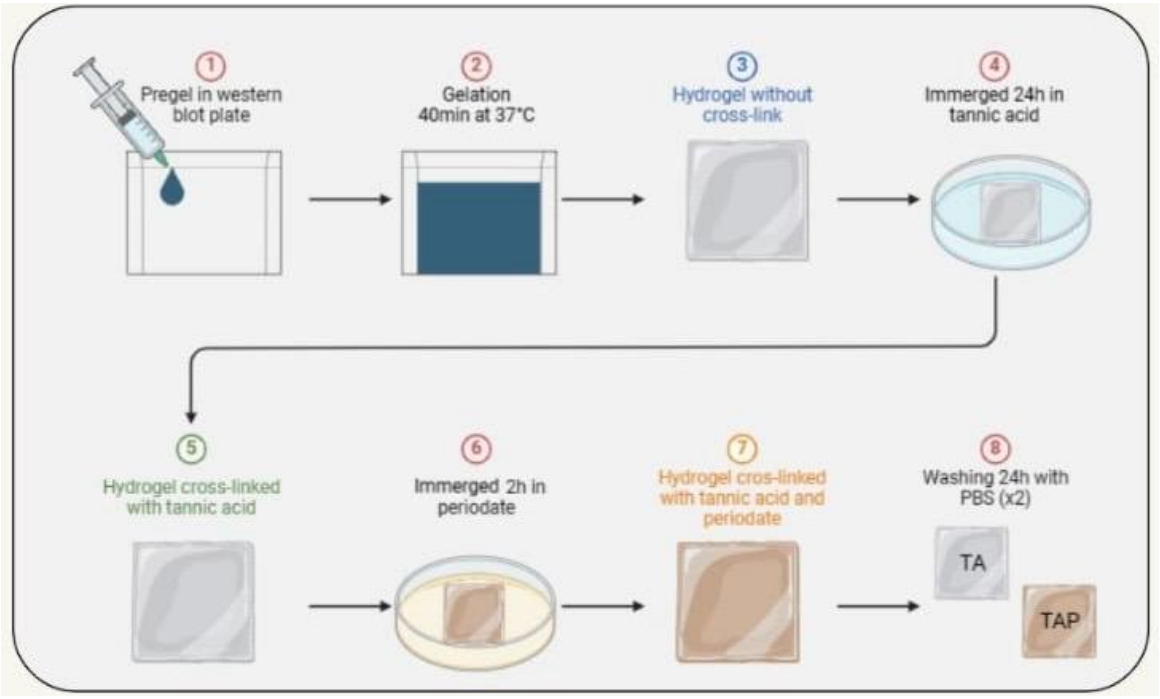



FIGURE 3.2 – **Etapes de préparation des différentes variantes de solutions.** *Schéma représentant les différentes étapes, depuis le dépôt du prégel (1) jusqu'à la génération des différents dérivés d'hydrogels : (3) HN, (4-5) HAT et (6-7) HATP.*

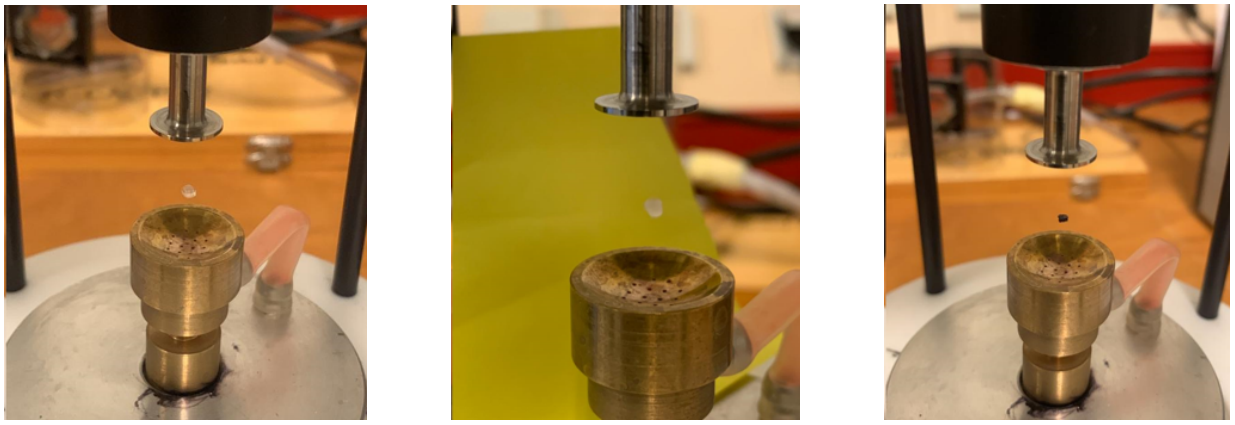
Le terme ***HN*** désigne des hydrogels **non réticulés**, constitués de fibrilles protéiques - principalement du collagène - dispersées dans l'eau mais dépourvues de liaisons covalentes entre elles. Leur réseau non réticulé, très lâche, rend ces hydrogels extrêmement souples mais faiblement cohésifs : ils se déforment facilement et peuvent même se désagréger ou se dissoudre lorsqu'ils sont manipulés ou soumis à une contrainte mécanique.

Les hydrogels ***HAT*** sont obtenus à partir de la version *HN* ensuite **immergés pendant 24h dans une solution d'acide tannique**. Ce polyphénol naturel établit des liaisons hydrogène et peut coordonner certains ions, renforçant ainsi la cohésion du réseau par des interactions non covalentes. L'hydrogel devient alors plus stable et plus aisément manipulable. Un lavage dans du PBS (×2, 24 h) permet ensuite d'éliminer l'excès d'acide tannique.

Les hydrogels ***HATP*** comportent une étape supplémentaire : après immersion dans l'acide tannique, ils sont plongés **2 h dans une solution de périodate**, un oxydant capable de modifier certaines fonctions hydroxyles et de favoriser la formation de liaisons covalentes entre les chaînes polymériques. Ce processus aboutit à un réseau réticulé plus dense, améliorant significativement la cohésion du gel. Comme précédemment, un lavage de 24 h dans du PBS (×2) est réalisé en fin de protocole.

En parallèle, des hydrogels à base d'amidon ont été préparés. Leur réticulation par l'acide citrique a permis de comparer une matrice polysaccharidique souple (amidon seul) à une version renforcée par la formation de liaisons covalentes entre chaînes.

Parmi l'ensemble des échantillons poinçonnés, il a été possible de faire léviter acoustiquement des cylindres de 2 mm de diamètre pour l'amidon et l'amidon réticulé, ainsi que des cylindres de 2 mm et 2,5 mm pour les hydrogels de cordon *HAT*. En revanche, les échantillons issus du cordon *HATP* étaient difficiles à manipuler et présentaient une géométrie irrégulière. De manière générale, l'absence de symétrie parfaite et les irrégularités du poinçonnage induisaient un mouvement de rotation important des objets au cours de la lévitation. Ces essais exploratoires ont toutefois montré que différents hydrogels peuvent être lévités. Ils ont également mis en évidence que le poinçonnage n'était pas adapté lorsqu'une géométrie régulière était requise. En effet, pour les expériences futures, une géométrie contrôlée est néccessaire pour assurer la stabilité des objets et permettre l'application de compressions cycliques de manière reproductible. De plus, pour la mise en place du modèle numérique, elle permet de définir une géométrie maîtrisée, et donc de garantir que l'environnement mécanique des cellules est répétable.



(a) Tendon HN (b) Amidon (c) Cordon HAT

FIGURE 3.3 – **Lévitation de différents échantillons d'hydrogels obtenus par poinçonnement.**

Cela a motivé dans la suite l'utilisation de solutions de polymères, facilement manipulables à l'aide d'une micropipette et présentant une bien meilleure reproductiblité. Cette approche présente en effet plusieurs avantages : elle permet de contrôler finement les volumes des solutions, facilite la future encapsulation cellulaire (**chapitre 5, section 5.1**) et offre des géométries prévisibles et reproductibles plus compatibles avec leur modélisation numérique dans le cadre des simulations présentées ci-après.

## 3.3 Préparation des solutions de polymère

Les procédures expérimentales d'élaboration de deux classes de matériaux (à base d'alginate et d'origine naturelle) sont détaillées ci-dessous, tandis que leurs propriétés mécaniques sont décrites plus spécifiquement dans la partie 3 consacrée aux essais rhéologiques qui ont été réalisés.

### 3.3.1 Protocole des solutions d'alginate

Les solutions ont été préparées dans de l'eau plutôt que dans du PBS afin d'éviter la formation de précipités. De plus, dans un souci de cohérence avec les applications biologiques prévues - et afin d'éviter tout risque de contamination ou de dégradation biologique - l'ensemble des préparations finales a été réalisé systématiquement en conditions stériles.

Les concentrations retenues (1 %, 2 %, 3 %, 4 %) couvrent une gamme couramment utilisée en ingénierie tissulaire et en caractérisation mécanique des solutions [264, 273, 274, 275]. Elles permettent d'obtenir une variation progressive des propriétés mécaniques et rhéologiques, en particulier de la viscosité, tout en restant compatibles avec la manipulation en gouttes.

Le protocole décrit ci-dessous est celui utilisé pour l'ensemble des expériences présentées dans cette thèse. Toutes les étapes ont été réalisées en conditions stériles.

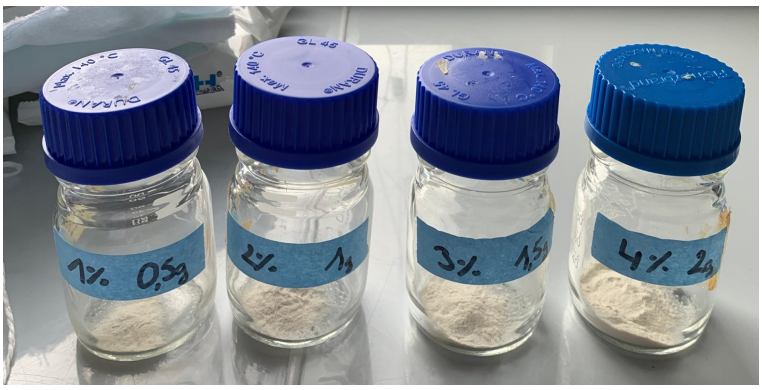
Initialement, la quantité de poudre d'alginate a été ajustée pour obtenir 50 mL de solution aux concentrations souhaitées. La pesée a été effectuée à l'aide d'une balance analytique (Mettler Toledo) afin d'assurer une précision optimale :

- 1 % soit 500 mg (0,5 g) pour 50 mL
- 2 % soit 1000 mg (1 g) pour 50 mL
- 3 % soit 1500 mg (1,5 g) pour 50 mL
- 4 % soit 2000 mg (2 g) pour 50 mL

La poudre a ensuite été placée dans des flacons stériles de 100 mL contenant chacun un barreau aimanté pour permettre une agitation magnétique ultérieure. Les flacons ont été enveloppés dans du papier aluminium et immergés dans un bécher, dans le but de limiter les risques de carbonisation de la poudre pendant la stérilisation, puis autoclavés.

Une fois stérilisés et refroidis, 50 mL d'eau ultrapure (résistivité 18,2 MΩ.cm), préalablement filtrée sur membrane de 0,2 µm, ont été ajoutés sous Poste de Sécurité Microbiologique (PSM) dans chaque flacon. La dissolution complète de l'alginate a été obtenue grâce à une agitation magnétique pendant la nuit, garantissant l'homogénéité de la solution.

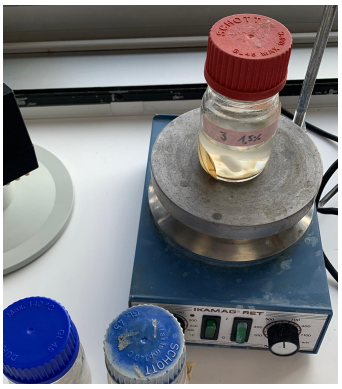
Les solutions préparées ont été conservées au réfrigérateur afin de préserver l'intégrité des solutions. Pour les essais expérimentaux, des aliquots stériles de 1 à 1,5 mL ont été prélevés dans des tubes Eppendorf, qui n'étaient ouverts que le jour même des expériences, garantissant ainsi le maintien de la stérilité jusqu'à leur utilisation.



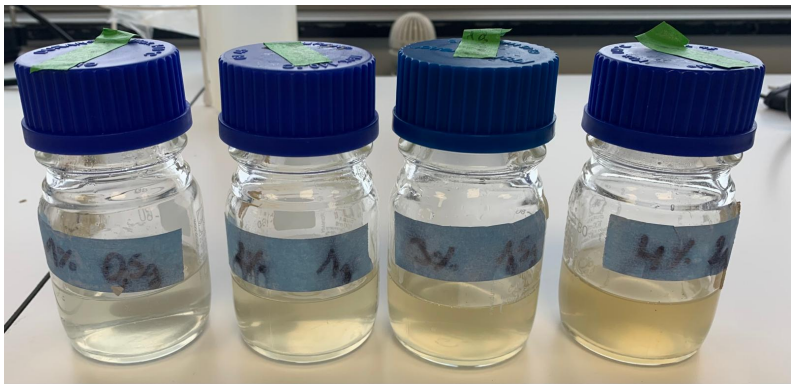

(a) Flacons de 50 mL remplis de poudre d'alginate



(b) Flacons protégés prêts pour l'autoclavage



(c) Ajout d'eau stérile et agitation magnétique



(d) Echantillons prêts montrant les différences de concentration

FIGURE 3.4 – **Préparation des solutions d'alginate.** Les principales étapes constituent (a) la distribution de la poudre dans des flacons stériles, (b) la protection et autoclavage pour stérilisation, (c) l'ajout d'eau ultrapure stérile et l'agitation magnétique pour dissolution, et (d) l'état final des flacons de 50 mL montrant les différences de concentration par la coloration des solutions d'alginate (d).

### 3.3.2 Protocole des solutions d'origine naturelle

La préparation de ces solutions de polymère d'origine naturelle a été réalisée par le laboratoire BIOS à Reims, avec qui l'ensemble de ce travail de thèse a été mené en étroite collaboration.

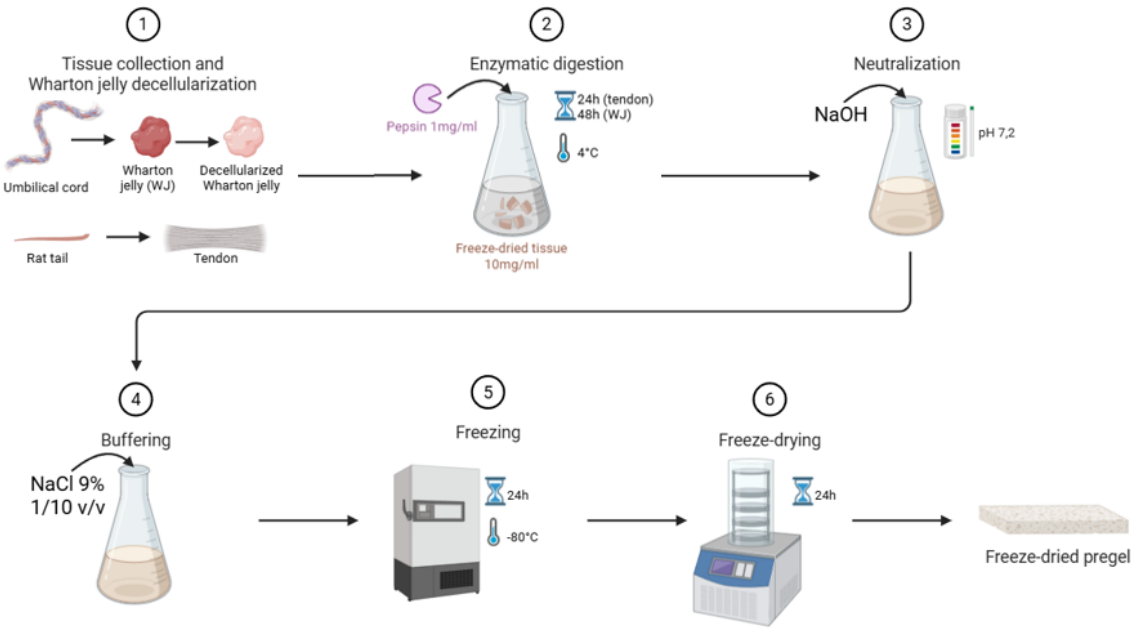



FIGURE 3.5 – **Illustration du processus d'élaboration des solutions d'origine naturelle.** *Schéma représentant les étapes principales pour obtenir les prégels à partir de la gelée de Wharton et du tendon de queue de rat. Les prégels obtenus peuvent ensuite être réhydratés pour former des solutions .*

Le processus d'élaboration des solutions se déroule en six étapes principales (Figure 3.5) :

1. **Récupération et décellularisation des tissus biologiques** : le gelée de Wharton et le collagène de queue de rat sont prélevés, puis décellularisés. Ce processus permet d'éliminer les cellules et le matériel génétique, tout en préservant la matrice extracellulaire (MEC), notamment le collagène et les glycosaminoglycanes (GAG).

2. **Digestion enzymatique** : Les tissus décellularisés et lyophilisés sont resuspendus à une concentration de 10 mg/mL et digérés avec de la pepsine (1 mg/mL) à 4°C. La pepsine est une enzyme digestive présente dans l'estomac, qui permet de dégrader le collagène en petits fragements et donc de solubiliser la matrice extracellulaire. La durée de digestion varie selon le tissu : 48 h pour le cordon, 24 h pour le tendon. Ce procédé permet d'obtenir un prégel homogène et facilement manipulable.

3. **Neutralisation du pH** : La digestion à la pepsine s'effectue dans un milieu acide. Pour obtenir un pH physiologique de 7,2, compatible avec la culture cellulaire, celui-ci est ajusté par addition d'hydroxyde de sodium (NaOH), une solution basique forte. Il s'agit d'une étape cruciale pour la biocompatibilité des solutions, qui ne dénature pas les composants de la matrice extracellulaire.

4. **Mise en tampon** : Pour stabiliser le pH, une solution tampon ionique de NaCl 9 % (chlorure de sodium) est ajoutée à raison de 1/10 v/v (c'est-à-dire 1 volume de NaCl pour 10 volumes de solution). Cela permet de stabiliser les propriétés physico-chimiques de la solution avant la gélification.

5. **Congélation** : Les échantillons sont congelés à -80°C pendant 24h, afin de préserver les constituants et préparer la lyophilisation.

6. **Lyophilisation** : Les échantillons sont soumis à une lyophilisation (procédé permettant de retirer l'eau par sublimation) pendant 24 h, pour obtenir un prégel déshydraté, stable à température ambiante.

Les échantillons utilisés dans le travail qui suit ont ainsi été reçus sous forme de **prégel déshydraté**, facilitant le transport tout en préservant leurs propriétés structurales et biochimiques. Pour la réhydratation, les prégels ont été placés dans des flacons de 10 mL et dissous dans l'eau ultrapure stérile filtrée (0,2 µm) sous PSM, par l'intermédiaire d'une agitation magnétique à l'aide d'un barreau aimanté préalablement désinfecté. Les solutions ont été stérilisées par exposition à la lumière UV pendant 30 minutes, puis conservés au réfrigérateur. Pour les essais expérimentaux décrits ensuite, des aliquots de 1 à 1,5 mL ont été prélevés dans des tubes Eppendorf stériles afin de maintenir la stérilité jusqu'au moment de l'utilisation.

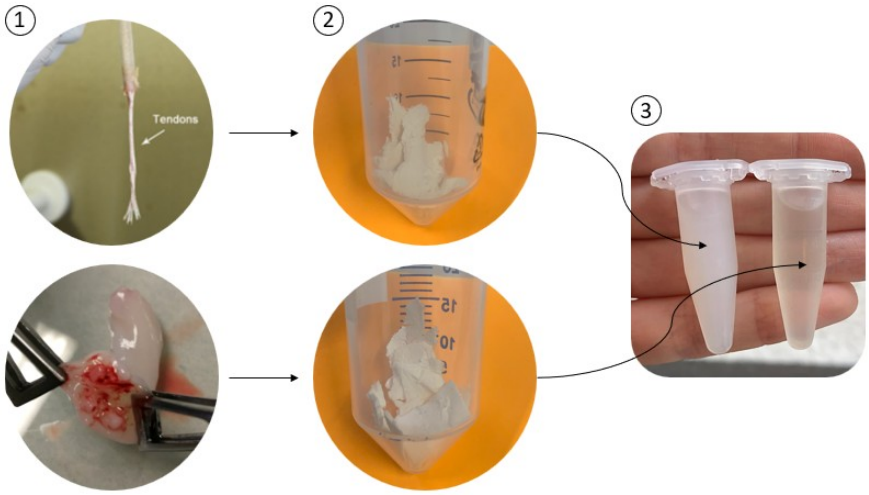



FIGURE 3.6 – **Processus d'élaboration des solutions dérivées de tissus biologiques à partir du prégel**. *Récupération du collagène de queue de rat (haut) et de la gelée de Wharton (bas) (1), prégels déshydratés obtenus après décellularisation, digestion enzymatique et lyophilisation pour les deux tissus (2), puis solutions obtenues après réhydratation des prégels, avec un aspect laiteux pour le collagène de queue de rat (gauche) et plus transparent pour la gelée de Wharton (droite) (3)*

## 3.4 Caractérisation mécanique et physico-chimique des solutions de polymère

Pour comprendre le comportement des solutions en lévitation acoustique, il est essentiel de caractériser leurs propriétés mécaniques et physico-chimiques, ce qui passe par la détermination de leur loi de comportement. Ainsi, différents essais mécaniques ont été réalisés, en ayant recours à l'expertise de plusieurs laboratoires avec qui de nouvelles collaborations ont été réalisées

dans le cadre de cette thèse.

Les propriétés viscoélastiques des solutions ont été évaluées à l'aide d'essais de **rhéologie**, d'**analyse mécanique dynamique (DMA)** et d'**élastographie par résonance magnétique**, couvrant une large gamme de fréquences et de niveaux de sollicitation. En complément, des mesures de **mouillabilité** et de **tension de surface** ont été réalisées afin de caractériser les interactions interfaciales et la stabilité des gouttes.

L'ensemble de ces essais fournit ainsi un panorama complet des propriétés mécaniques et physico-chimiques des solutions. Ces données expérimentales ont également pour objectif d'être implémentées dans les modèles numériques afin de représenter le comportement des gouttes de solutions dans les simulations numériques.

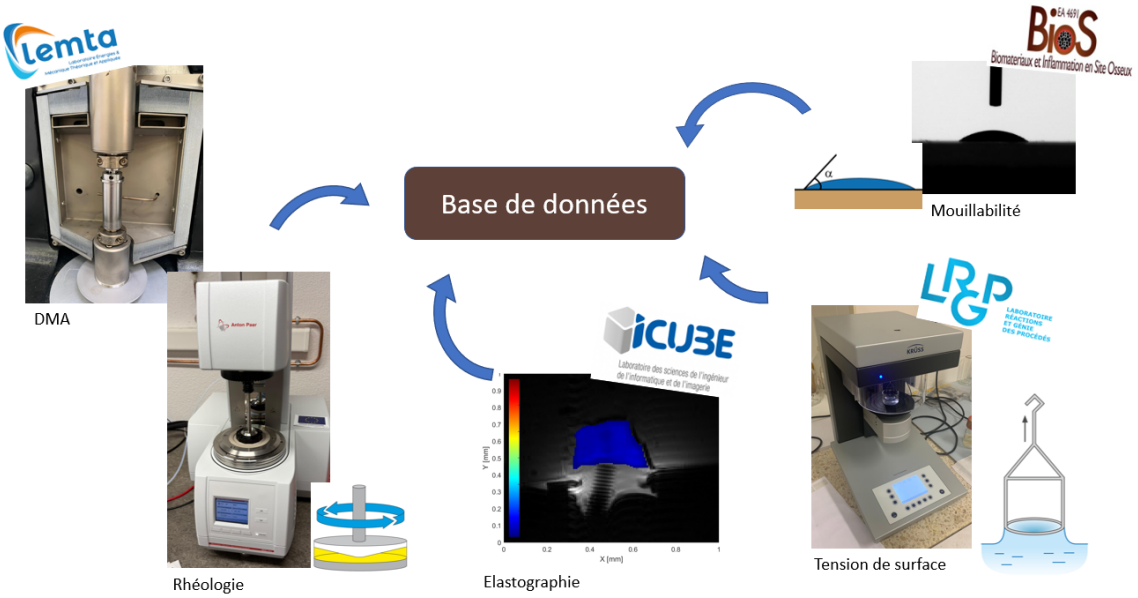
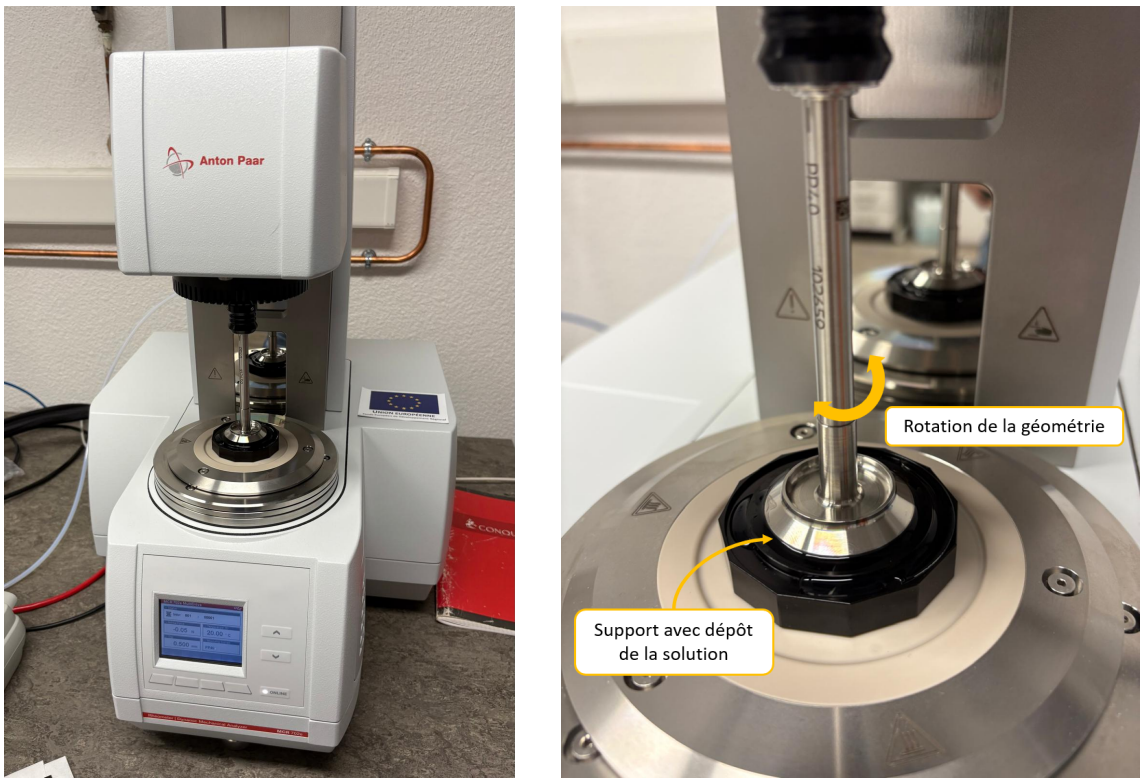



FIGURE 3.7 – **Résumé des essais de caractérisation mécanique et physico-chimique des matériaux.** *Schéma récapitulatif des différents essais réalisés en collaboration avec plusieurs laboratoires, dans le but de constituer une base de données complète pour l'analyse expérimentale et la modélisation numérique des solutions en lévitation acoustique.*

### 3.4.1 Rhéologie

En collaboration avec la plateforme Métro'NRJ du laboratoire LEMTA, une caractérisation rhéologique complète des différents solutions étudiées a été menée afin d'évaluer leurs propriétés mécaniques à l'échelle mésoscopique. La rhéologie constitue en effet un outil essentiel pour décrire le comportement viscoélastique des biomatériaux mous, permettant de quantifier à la fois leur rigidité, leur réponse dissipative et leur sensibilité au cisaillement. Ces propriétés sont particulièrement déterminantes pour des matériaux destinés à être manipulés par lévitation acoustique ou utilisés en contexte biomédical, où la stabilité mécanique et la reproductibilité des propriétés matérielles sont essentielles.

L'ensemble des mesures rhéologiques a été réalisé à l'aide d'un rhéomètre Anton Paar MCR 702e (Anton Paar, Graz, Autriche), équipé d'une géométrie plate-plate, permettant d'imposer un cisaillement homogène sur l'échantillon 3.8. La température a été strictement contrôlée et maintenue à 20°C durant l'ensemble des essais afin d'assurer la reproductibilité des mesures. Trois types de mesures ont été réalisés. Un **balayage d'amplitude** ("*amplitude sweep*") en régime oscillatoire a d'abord été réalisé afin d'identifier la région linéaire viscoélastique (LVR), dans laquelle les modules de stockage $G'$ et de perte $G''$ sont indépendants de la déformation imposée. L'identification de cette région est une condition nécessaire pour garantir la validité des mesures oscillatoires ultérieures, c'est-à-dire le balayage en fréquence, pour lequel l'hypothèse de linéarité du matériau est requise. Un balayage en fréquence ("*frequency sweep*") en régime oscillatoire a ensuite été effectué, à amplitude de déformation fixée dans la région LVR, afin de déterminer les modules de stockage $G'$ et de perte $G''$, utilisés pour caractériser la loi de comportement et identifier les paramètres des séries de Prony employés pour le modéliser. Enfin, des **courbes d'écoulement** ("*flow curves*") ont été enregistrées pour caractériser la dépendance de la viscosité au taux de cisaillement et identifier d'éventuels comportements rhéo-fluidifiants. Ensemble, ces essais fournissent une description complète du comportement mécanique des solutions de polymère, indispensable pour comprendre et modéliser la réponse des gouttes en lévitation.




(a) Rhéomètre Anton Paar MCR 702e utilisé pour la caractérisation mécanique des solutions.

(b) Géométrie plate-plate employée pour les essais de cisaillement.

FIGURE 3.8 – **Rhéomètre et géométrie de mesure utilisés pour la caractérisation rhéologique**. *Le rhéomètre Anton Paar MCR 702e, associé à une géométrie plate-plate, a été utilisé pour réaliser l'ensemble des essais d'amplitude (amplitude sweep), de viscosité en régime stationnaire (flow curve) et de balayage fréquentiel (frequency sweep) effectués sur les différentes solutions.*

#### 3.4.1.1 Amplitude sweep : détermination de la LVR

Les essais de type *amplitude sweep* ont pour objectif d'identifier la **limite viscoélastique linéaire** (LVR) des matériaux. Cette région correspond à l'intervalle de déformation au sein duquel la structure interne de la solution n'est pas altérée, et où les modules viscoélastiques - le module de stockage $G'$ et le module de perte $G''$ - restent indépendants de l'amplitude de déformation.
La LVR constitue ainsi la zone dans laquelle les propriétés mesurées reflètent le comportement intrinsèque du matériau, sans déstructuration, ce qui garantit la validité des essais oscillatoires ultérieurs.

Sur le plan physique, les modules sont obtenus à partir de l'amplitude de la contrainte de cisaillement $\tau_0$, de l'amplitude de déformation $\gamma_0$ (*shear strain*) et du déphasage $\delta$ entre la contrainte et la déformation :

$$G' = \frac{\tau_0}{\gamma_0}\cos\delta, \quad G'' = \frac{\tau_0}{\gamma_0}\sin\delta$$

La comparaison entre $G'$ et $G''$ permet également de qualifier la nature du comportement viscoélastique :

- lorsque $G' > G''$, le matériau présente une réponse majoritaiement élastique, de structure semblable à un gel ou un solide et peut donc être qualifié de matériau solide viscoélastique
- lorsque $G'' > G'$, la dissipation domine, traduisant un comportement de fluide viscoélastique.

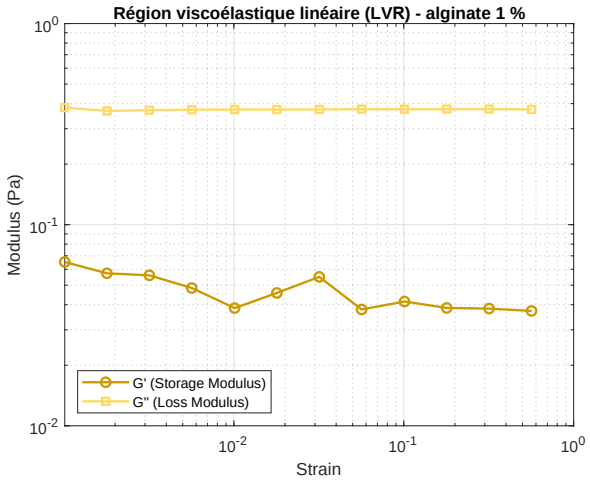
Cette analyse permet donc à la fois de déterminer la plage de déformation admissible et de qualifier la nature du comportement viscoélastique des échantillons étudiés.

### Mise en oeuvre expérimentale

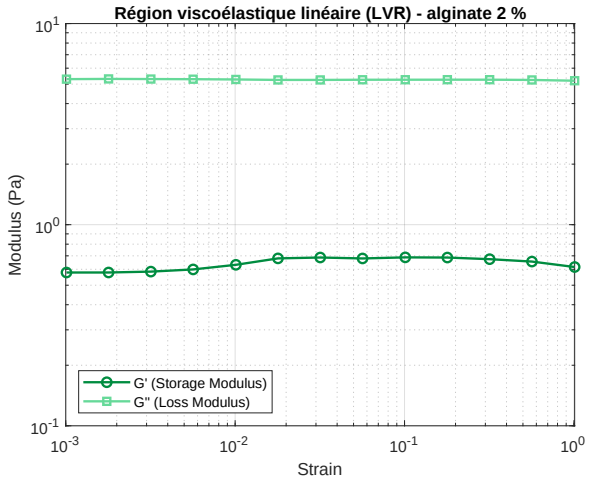
Dans cette étude, les essais d'amplitude sweep ont été réalisés sur l'ensemble des solutions (alginate, gelée de Wharton et tendon de queue de rat). Chaque essai a inclus entre 12 et 16 points de mesure à la fréquence fixe de 1 Hz, pour une déformation de cisaillement $\gamma$ variant de $\gamma =$ 0,001 à 1 [sans dimension].

### Résultats

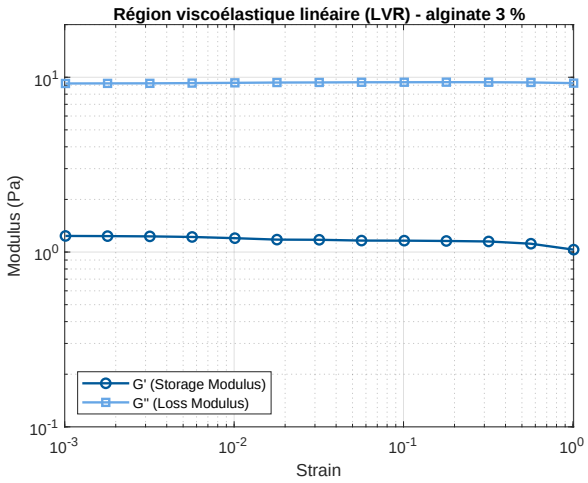
Les différentes figures ci-dessous montrent l'évolution des modules de stockage $G'$ et de perte $G''$ en fonction de la contrainte de déformation :



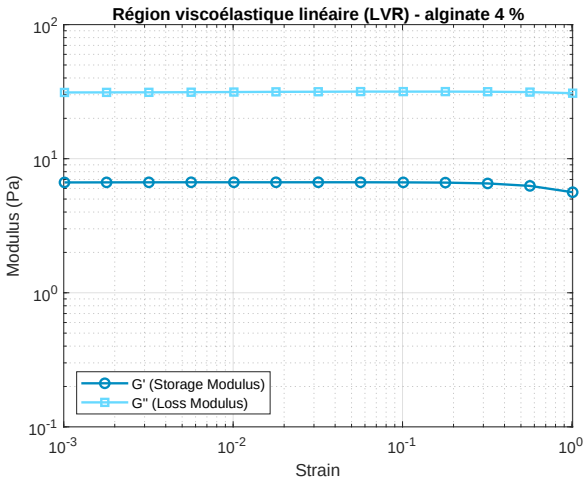

(a) Alginate 1 %



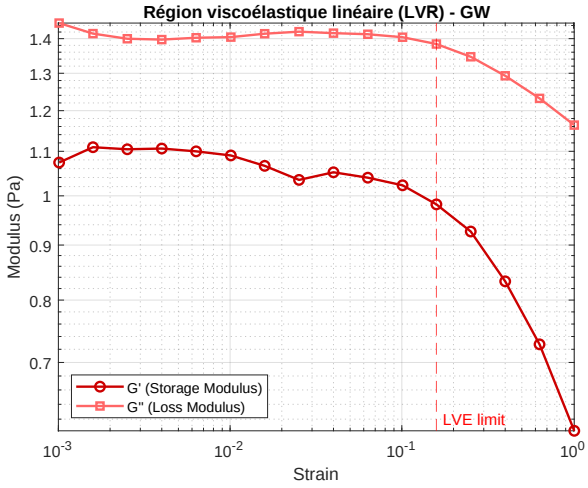

(b) Alginate 2 %



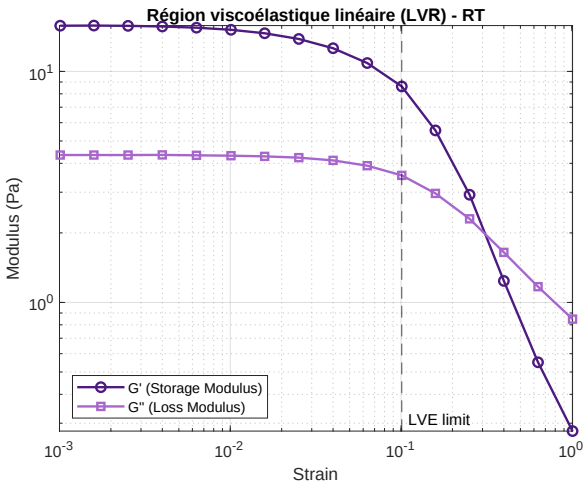

(c) Alginate 3 %




(d) Alginate 4 %




(e) Gelée de Wharton




(f) Tendon queue de rat

FIGURE 3.9 – **Détermination de la région viscoélastique linéaire (LVR) des solutions étudiées par balayage en amplitude.** *Balayages en amplitude réalisé en régime oscillatoire pour les six solutions : alginate 1 % (jaune), alginate 2 % (vert), alginate 3 % (bleu foncé), alginate 4 % (bleu clair), WJ (rouge) et RT (violet).*

Pour les échantillons à base d'alginate, l'ensemble des courbes d'amplitude montre que $G'$ et $G''$ demeurent strictement constants sur toute la plage de déformation explorée. Aucune transition hors du régime linéaire n'est observé jusqu'à une déformation de cisaillement de $\gamma = 1$.

Ce comportement traduit donc bien une réponse rhéologique quasi-newtonien, cohérente avec l'absence de réseau polymérique réticulé marqué.
Ces solutionss se comportent ainsi comme un fluide viscoélastique, dominé par la viscosité ($G'' > G'$) sur toute la gamme de déformation explorée.

Les valeurs moyennes obtenues dans la zone linéaire sont :

- Alginate 1 % : $G' = 0,047 \pm 0,009$ Pa ; $G'' = 0,374 \pm 0,003$ Pa
- Alginate 2 % : $G' = 0,641 \pm 0,045$ Pa ; $G'' = 5,26 \pm 0,029$ Pa

- Alginate 3 % : $G' = 1,17 \pm 0,056$ Pa ; $G'' = 9,30 \pm 0,060$ Pa
- Alginate 4 % : $G' = 6,54 \pm 0,298$ Pa ; $G'' = 31,4 \pm 0,247$ Pa

Contrairement à l'alginate, la solution de WJ présente une rupture du régime linéaire aux alentours de $\gamma \approx 10^{-1}$ où les modules $G'$ et $G''$ commencent à décroître. Cela signale une dégradation progressive du réseau de la solution lors de fortes amplitudes de déformations. Comme attendu pour une tissu riche en phase aqueuse, l'échantillon présente un comportement **fluide viscoélastique**, avec $G'' > G'$ sur toute la plage linéaire.

La solution RT montre une réponse nettement différente. Dans la zone linéaire : $G' > G''$ ce qui traduit un **comportement élastique dominant**, caractéristique d'une matériau plus fibreux. Un point de croisement ($G'' = G'$) apparaît ensuite lorsque l'amplitude de la déformation augmente, indiquant une transition vers un comportement plus visqueux lorsque le réseau se déstructure. La sortie du régime linéaire survient également autour de $\gamma \approx 10^{-1}$.
Cette signature rhéologique est cohérente avec notamment la présence de fibres de collagène plus épaisses dans la solution de RT que dans celle de WJ, ce qui confère à la solution une élasticité intrinsèque plus marquée.

A température donnée, les valeurs de modules viscoélastiques obtenus sont cohérentes avec celles rapportées dans l'article [272].

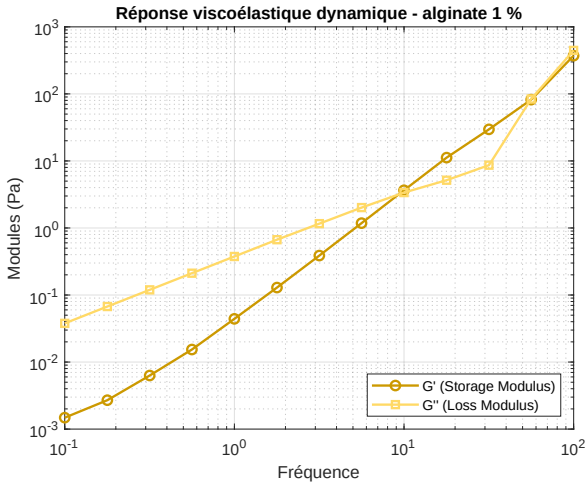
#### 3.4.1.2 Frequency sweep : moduli G', G" et ajustement Prony

Les essais de *frequency sweep* ont été réalisés afin de caractériser la réponse viscoélastique dynamique des différents solutions. Contrairement aux essais d'amplitude (*amplitude sweep*), qui ont pour objectif d'identifier la LVR en faisant varier l'amplitude de déformation, le *frequency sweep* est effectué en régime strictement linéaire, à déformation imposée constante et préalablement choisie dans la LVR. Cet essai permet d'explorer la réponse du matériau sur différentes échelles de temps, en mettant en évidence ses temps de relaxation. Par ailleurs, les données obtenues constituent la base nécessaire pour l'identification des paramètres viscoélastiques dans les lois de comportement utilisées ensuite dans les simulations numériques.

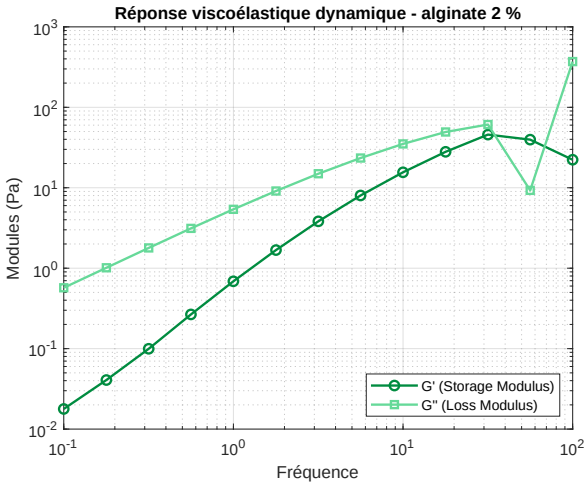
**Mise en oeuvre expérimentale**
Les mesures ont été effectuées sur une plage comprise entre 13 et 16 points, selon les échantillons. Pour les solutions d'alginate, la fréquence angulaire $\omega$ a été balayée sur une plage allant de 0,628 à 628 rad/s, correspondant à 0,1-1 Hz. Ces mesures ont été réalisées en régime oscillatoire, c'est-à-dire en imposant une rotation sinusoïdale du plateau supérieur autour de l'axe vertical. Le taux de déformation a été fixé à 5 % pour l'alginate 1 %, puis ajusté à 2 % pour les solutions à 2 %, 3 % et 4 %, plus visqueuses et donc plus sensibles à l'amplitude imposée.
Les solutions d'origine naturelle, soit WJ et RT, ont été testés avec une déformation imposée de 0,1 % afin de se placer au sein de leur plage linéaire plus restreinte. Pour ces deux échantillons,

la plage explorée était également de 0,1 à 100 Hz.

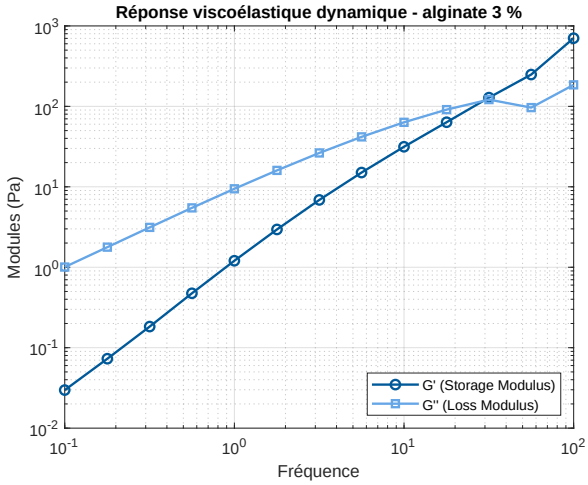
## Résultats



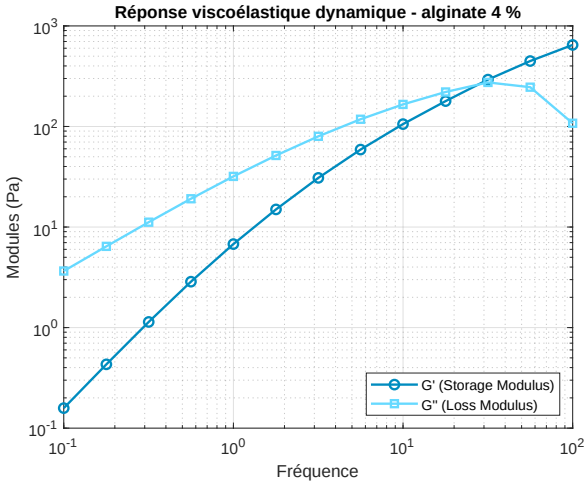

(a) Alginate 1 %



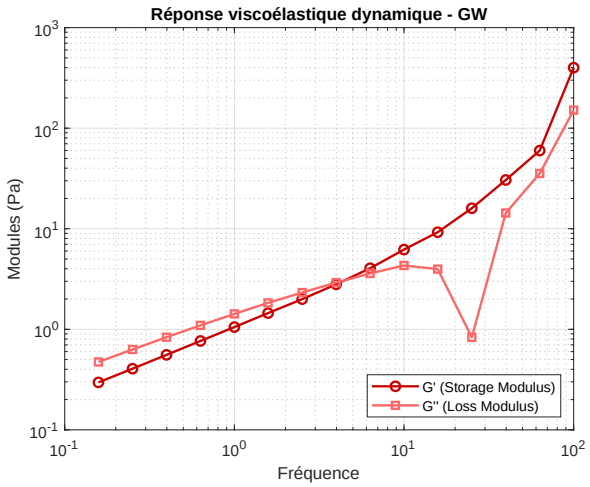

(b) Alginate 2 %



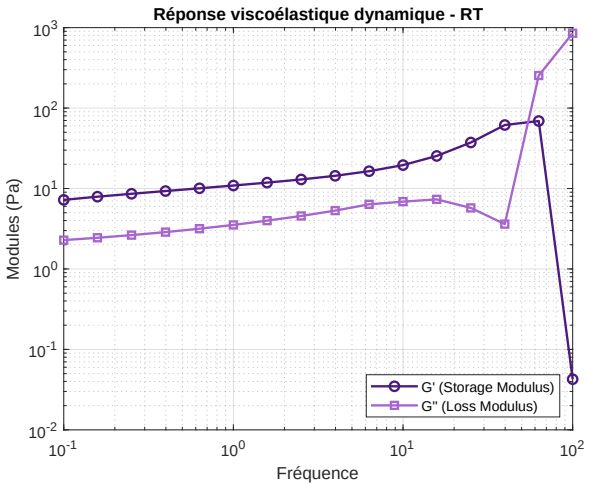

(c) Alginate 3 %




(d) Alginate 4 %




(e) Gelée de Wharton




(f) Tendon queue de rat

FIGURE 3.10 – **Réponse viscoélastique dynamique des solutions étudiées en balayage de fréquence.** *Balayages en fréquence réalisés en régime oscillatoire, à amplitude de déformation fixe, pour les six solutions : alginate 1 % (jaune), alginate 2 % (vert), alginate 3 % (bleu foncé), alginate 4 % (bleu clair), WJ (rouge) et RT (violet).*

Pour les solutions à base d'alginate, les modules de stockage $G'$ et de perte $G''$ augmentent avec la fréquence, passant de l'ordre de $10^0 - 10^1$ à $10^3$, ce qui reflète une dépendance notable à la fréquence. Sur l'ensemble de la plage testée, $G''$ reste généralement supérieur à $G'$, confirmant que ces échantillons se comportent comme des fluides viscoélastiques.

Pour les solutions d'origine naturelle, les comportements diffèrent. La gelée de Wharton (WJ) présente initialement $G'' > G'$, indiquant un comportement fluide-dominant aux basses fréquences. Un croisement se produit vers 5 Hz, au-délà duquel $G'$ devient supérieur à $G''$, traduisant l'émergence d'un comportement plus élastique lorsque la sollicitaion devient rapide.

Le tendon de queue de rat (RT) montre un module de stockage $G'$ dominant sur la quasi-totalité de la plage fréquentielle, traduisant un matériau initialement solide viscoélastique. A hautes fréquences, $G''$ augmente légèrement mais le comportement reste globalement élastique, probablement en raison de la présence de fibres de collagène plus épaisses que dans la gelée de Wharton.

#### 3.4.1.3 Flow curve : comportement en cisaillement et viscosité

Les propriétés d'écoulement des différents solutions ont été caractérisées à l'aide d'essais en cisaillement stationnaire permettant de déterminer la viscosité apparente en fonction du gradient de cisaillement $\dot{\gamma}$. Contrairement aux essais oscillatoires précédents (*amplitude sweep* et *frequency sweep*), qui imposent une déformation de cisaillement $\gamma$ et analysent la réponse élastique et visqueuse du matériau, la courbe d'écoulement repose sur l'imposition d'une vitesse de cisaillement (exprimée en $s^{-1}$), correspondant au taux auquel les couches de fluide se

déplacent les unes par rapport aux autres en régime continu.

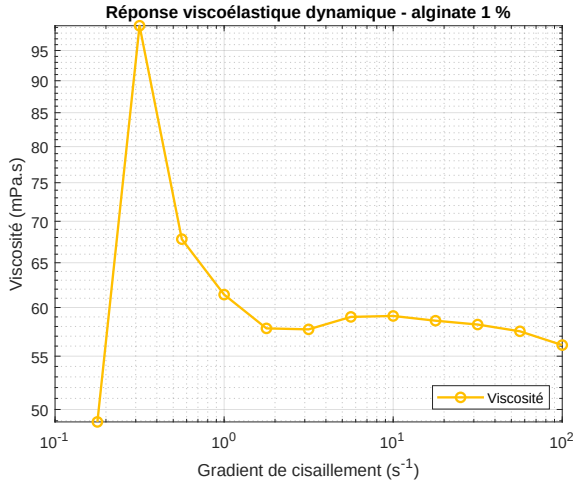
### Mise en oeuvre expérimentale

La courbe d'écoulement a été obtenue en imposant une rampe descendante de gradient de cisaillement allant de 100 à 0,1 $s^{-1}$. Selon les échantillons, entre 13 et 16 points de mesure ont été enregistrés. Pour chaque point, la contrainte de cisaillement a été mesurée, puis la viscosité apparente a été calculée selon :

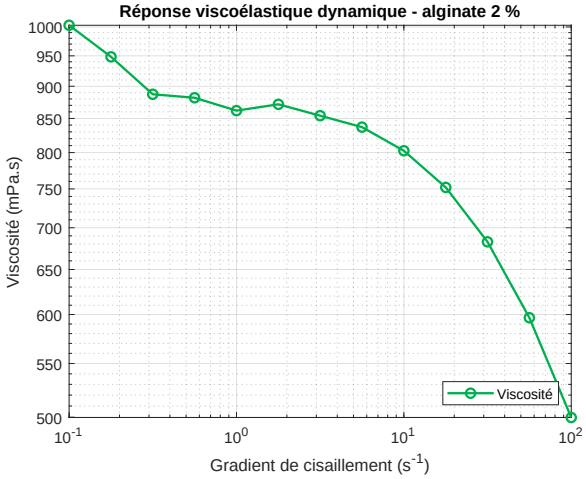
$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

Ces essais permettent ainsi de caractériser le comportement en écoulement des solutions et complètent les informations obtenues en régime oscillatoire.

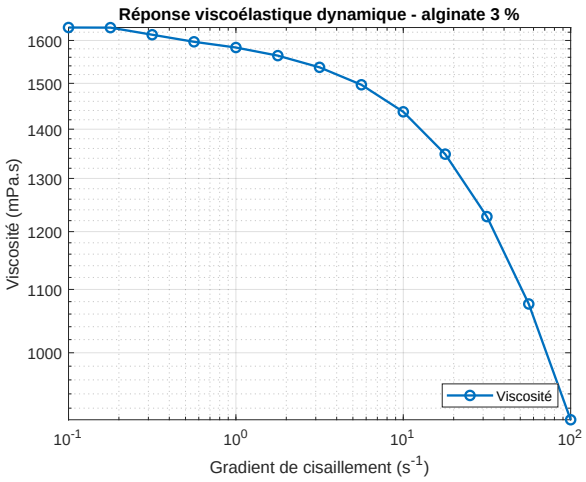
### Résultats



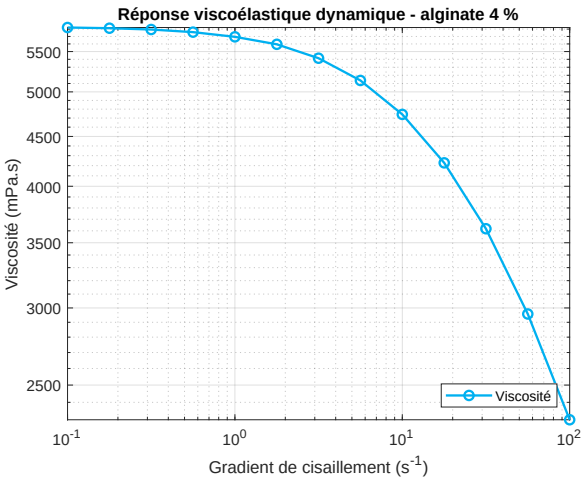

(a) Alginate 1 %



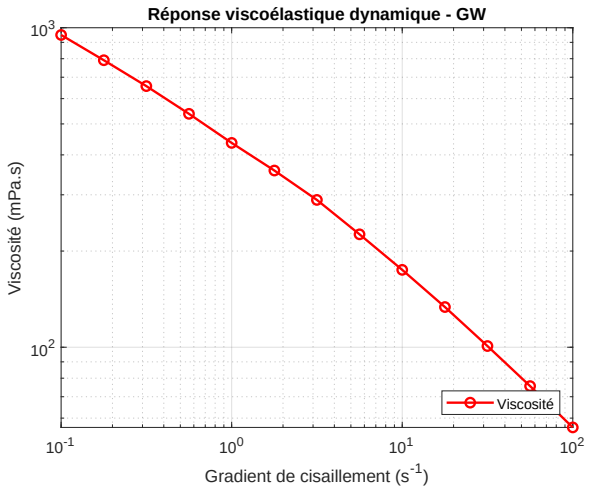

(b) Alginate 2 %



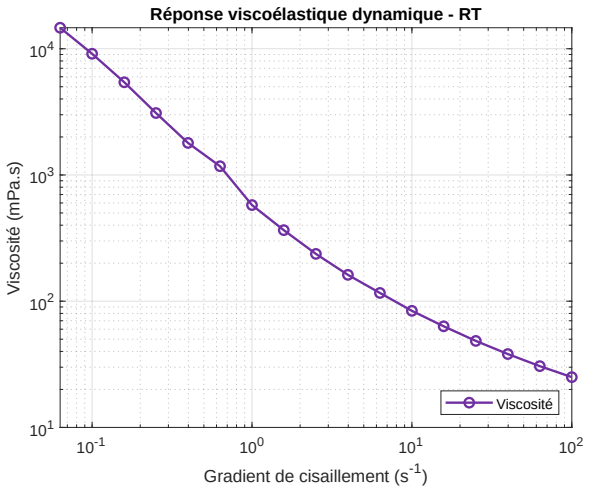

(c) Alginate 3 %




(d) Alginate 4 %




(e) Gelée de Wharton




(f) Tendon queue de rat

FIGURE 3.11 – **Courbes d'écoulement en régime stationnaire des solutions étudiées.** *Mesures de viscosité apparente en régime stationnaire pour les six solutions : alginate 1 % (jaune), alginate 2 % (vert), alginate 3 % (bleu foncé), alginate 4 % (bleu clair), WJ (rouge) et RT (violet).*

Les courbes d'écoulement obtenues pour les solutions d'alginate montrent une évolution typique de matériau rhéo-fluidifiant (en anglais "*shear-thinning*"), c'est-à-dire une dimunition progressive de la viscosité lorsque le taux de cisaillement aumente. Cette observation n'est pas contradictoire avec les mesures oscillatoires en LVR. A faible déformation de cisaillement, les solutions se comportent de manière quasi-newtonienne, la viscosité apparente restant pratiquement constante. La diminution de viscosité n'apparaît que lorsqu'on explore des taux de cisaillement plus élevés dans les essais d'écoulement en régime stationnaire. De plus, la viscosité apparente augmente nettement avec la concentration en alginate (1-4 %), qui est un comportement attendu. Il convient de rappeler que la viscosité apparente est différente de la viscosité "intrinsèque" du matériau à l'état non perturbé : elle dépend du régime de cisaillement appliqué et traduit la réponse du matériau en écoulement stationnaire.
Pour toutes les concentrations, on retrouve un même schéma : à faible gradient de cisaillement, les échantillons présentent une viscosité apprente plus élevée, correspondant à un réseau encore largement structuré. Lorsqu'on augmente $\dot{\gamma}$, on observe un palier plus ou moins marqué ; puis une diminution progressive de la viscosité, caractéristique également d'un rhéo-fluidifiant. Ce palier semble d'autant plus marqué que la concentration aumgente, suggérant une résistance plus forte du réseau avant sa déstructuration sous cisaillement.

Pour les solutions d'origine naturelle, on observe des profils différents. La WJ présente une viscosité de l'ordre de $10^2$ mPa.s à faible $\dot{\gamma}$, proche de l'alginate 2 %, décroissant jusqu'à quelques dizaines de mPa.s à un gradient plus élevé. La pente de rhéofluidification est plus raide que pour l'alginate, ce qui suggère une structure interne plus sensible à la réorganisation sous cisaillement.
Enfin, le RT présente la viscosité la plus élevée des hdyrogels avec $1,5 \times 10^4$ à faible $\dot{\gamma}$, puis chutant à quelques dizaines de mPa.s au gradient plus élevé. Cette décroissance marquée est

cohérente avec la nature fibreuse du matériau : l'application d'un cisaillement important peut entraîner un étirement des fibres de collagène, ce qui réduit la résistance interne à l'écoulement.

### 3.4.2 Propriétés interfaciales

La tension de surface et la mouillabilité constituent deux paramètres essentiels pour caractériser les propriétés interfaciales des solutions. Ensemble, ils déterminent la cohésion du matériau et son interaction avec le milieu environnant, ce qui influence directement la forme, la stabilité et la dynamique des gouttes en lévitation acoustique.

La tension de surface, qui traduit la cohésion moléculaire à l'interface liquide-air, intervient directement dans la formule de Rayleigh reliant géométrie et fréquence de résonance des gouttes. Une tension élevée favorise une géométrie sphérique stable, tandis qu'une tension plus faible peut conduire à un étalement accru ou à une sensibilité plus grande aux perturbations acoustiques.

La mouillabilité, quant à elle, décrit l'affinité d'un liquide pour une surface solide, mais dans notre contexte elle réflète plus largement la capacité du matériau à former une interface stable avec l'air. Un matériau plus hydrophile, caractérisé par un angle de contact faible, tend à s'étaler pour réduire l'énergie interfaciale globale, ce qui se traduit par une plus grande déformabilité des gouttes en lévitation. Au-délà des considérations mécaniques, la mouillabilité constitue également un paramètre déterminant dans un contexte biologique : elle influence l'adhésion cellulaire, la colonisation tissulaire et certaines réponses inflammatoires [276, 277, 278].

Ainsi la compréhension de la tension de surface et de la mouillabilité apportent une lecture complémentaire des propriétés physico-chimiques des solutions étudiées, en lien à la fois avec leur comportement dynamique en lévitation acoustique et avec leurs applications biologiques présentées aux chapitres 4 et 5.

#### 3.4.2.1 Essai de mouillabilité par mesure de l'angle de contact

Les essais de mouillabilité ont été effectués au sein du laboratoire BIOS de l'Université Reims Champagne-Ardennes. Un volume de 50 µL de solution a été déposé sur des plaques de verre, puis placé dans une armoire de séchage afin d'obtenir des films secs. Sur ces films, des gouttelettes d'eau de 2 µL ont été déposées à l'aide d'un goniomètre Krüss (DSA25S, Krüss, Allemagne). Le dépôt de chaque goutte a été filmé, et les angles de contact gauche et droit ont été mesurés à l'aide du logiciel Krüss ADVANCE. Pour chaque échantillon, dix mesures ont été réalisées afin d'assurer la reproductibilité des résultats.
Pour l'alginate 2 %, deux valeurs aberrantes ont été identifiées à l'aide du test ROUT (*Robust Regression and Outlier Removal* = méthode permettant d'identifier les valeurs aberrantes à partir d'une régression non linéaire avec Q=1 %) et exclues de l'analyse statistique. L'analyse

a ensuite été réalisée sur les données restantes.

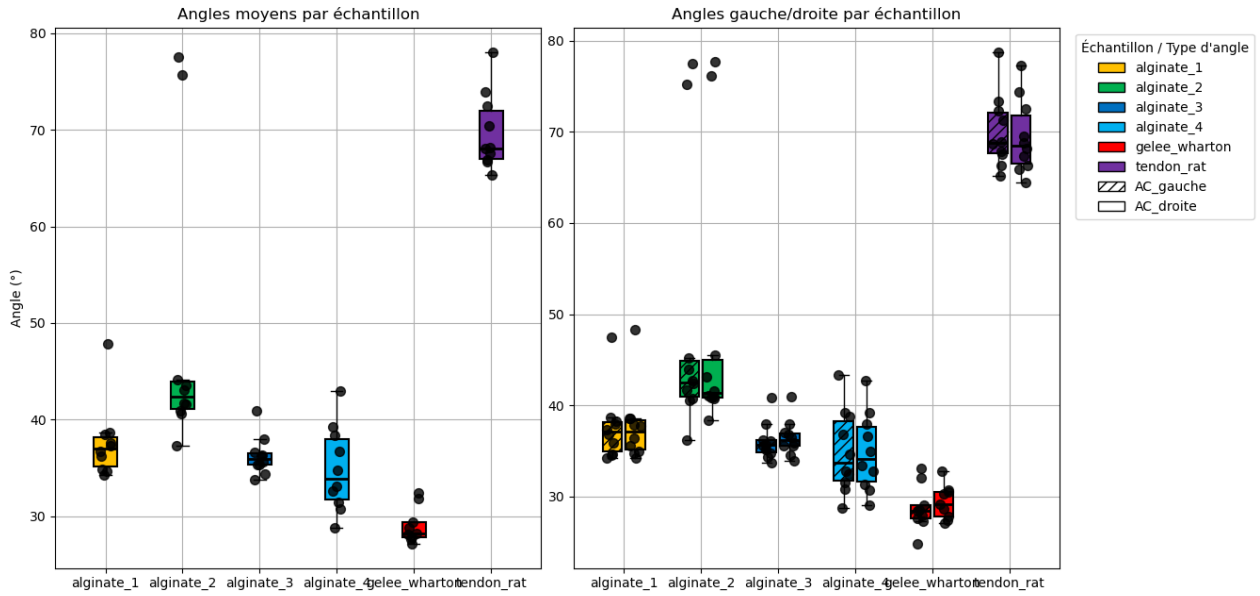
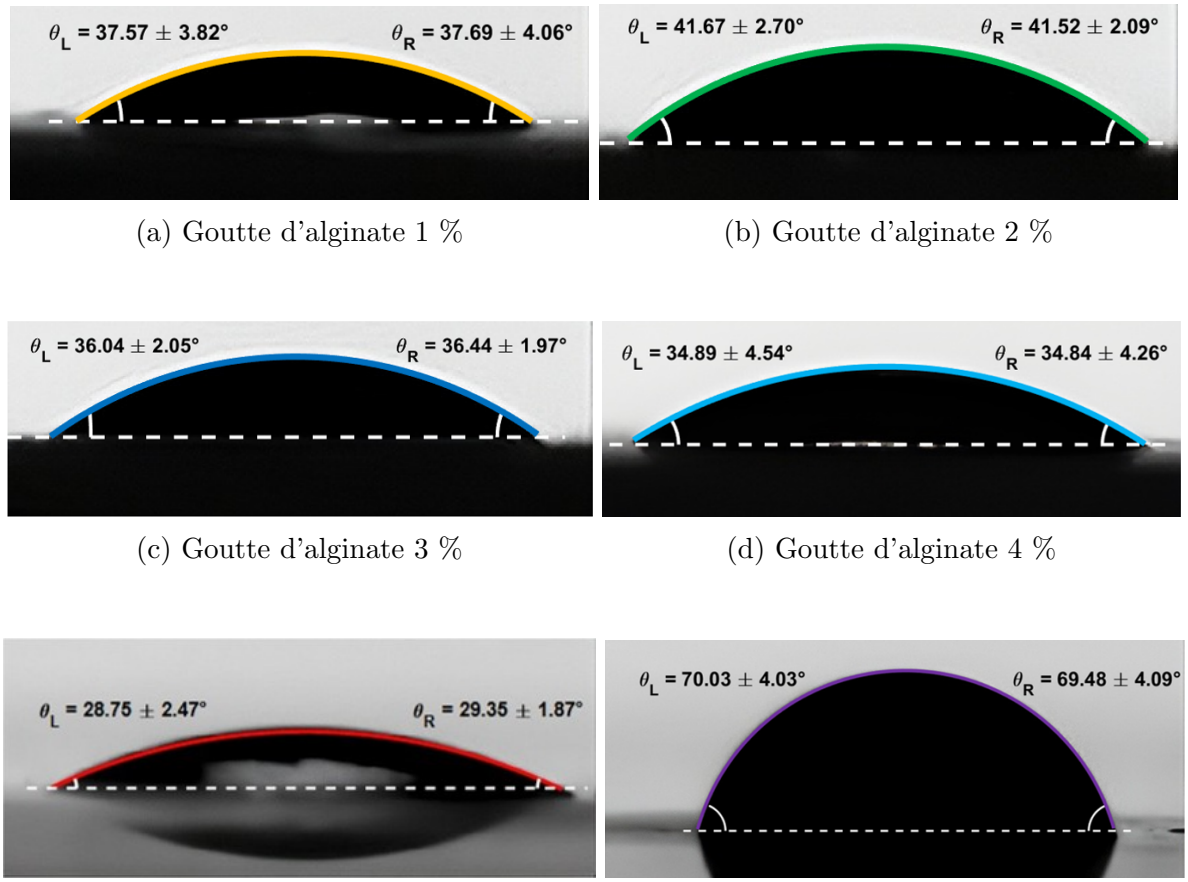



FIGURE 3.12 – **Mouillabilité des différentes solutions évaluées par mesure des angles de contact.** *Gauche : boxplots des angles de contact moyens pour chaque solution, calculés comme la moyenne des angles gauche et droit. Droite : Boxplots séparés des angles mesurés à gauche (hachurés) et à droite (pleins) pour chaque solution.*

Les comparaisons statistiques ont été réalisées à l'aide d'une analyse de variance à un facteur (one-way ANOVA), suivie d'un test post-hoc de comparaisons multiples de Tukey. Les résultats sont exprimées en moyenne ± écart-type et reportés dans le **Tableau 3.2**, avec un seuil de significativité fixé à $p < 0,05$.
Le test post-hoc de Tukey ne met pas en évidence de différence significative de mouillabilité entre la solution de référence alginate 1 % et les solutions d'alginate 2 %, 3 % et 4 % ($p > 0,05$). En revanche, des différences significatives sont observées entre la solution d'alginate  % et les solutions WJ et RT ($p < 0,0001$).

| **Échantillon** | **AC moyenne (°)** | **AC gauche (°)** | **AC droite (°)** |
|---|---|---|---|
| Alginate 1% | $37,63 \pm 3,92$ | $37,57 \pm 3,82$ | $37,69 \pm 4,06$ |
| Alginate 2% | $41,60 \pm 2,14$ | $41,67 \pm 2,7$ | $41,52 \pm 2,09$ |
| Alginate 3% | $36,24 \pm 2,00$ | $36,04 \pm 2,05$ | $36,44 \pm 1,97$ |
| Alginate 4% | $34,86 \pm 4,40$ | $34,89 \pm 4,54$ | $34,84 \pm 4,26$ |
| Cordon | $29,05 \pm 1,87$ | $28,75 \pm 2,47$ | $29,35 \pm 1,87$ |
| Tendon | $69,75 \pm 3,96$ | $70,03 \pm 4,03$ | $69,48 \pm 4,09$ |

TABLE 3.2 – **Mesures des angles de contact (AC) moyen, gauche et droite pour les six échantillons.**




(a) Goutte d'alginate 1 %

(b) Goutte d'alginate 2 %

(c) Goutte d'alginate 3 %

(d) Goutte d'alginate 4 %

(e) Goutte de WJ

(f) Goutte de RT

FIGURE 3.13 – **Profils des gouttes et angles de contact moyens gauche/droit des différentes solutions.** *Profils de gouttes déposées sur les différentes solutions : (a) alginate 1 %, (b) alginate 2 %, (c) alginate 3 %, (d) alginate 4 %, (e) WJ et (f) RT. Les valeurs indiquées correspondent aux angles de contact moyen à gauche ($\theta_L$) et à droite ($\theta_R$), permettant de visualiser la mouillabilité relative de chaque solution.*

Ainsi, la concentration en alginate impacte modérement la mouillabilité des solutions. Les angles de contact sont globalement compris entre 35° et 50° sans variation linéaire en fonction de la concentration. Par contre, la composition d'origine naturelle des solutions influence nettement leur hydrophilie.

La solution de WJ présente des angles de contact légèrement plus faibles, traduisant une plus grande hydrophilie. Cette propriété peut être attribuée à la présence de glycosaminoglycanes (GAG) dans la matrice. Les GAG sont des chaînes polysaccharidiques longues et non ramifiées qui ne peuvent pas se replier en structures compactes. Leur conformation largement étendue permet d'augmenter l'interaction avec l'eau, renforçant ainsi l'hydrophilie du matériau. La concentration de GAG dans WJ est de $17,57 \pm 5,50$ µg/mL, et la matrice contient également des fibres de collagène de types I et III, d'épaisseur moyenne de $0,054 \pm 0,012$ µm.

Pour la solution de RT, la présence de GAG est également constatée mais à concentration plus faible $6,29 \pm 0,58$ µg/mL. Les fibres de collagène, de type I uniquement, sont plus épaisses ($0,165 \pm 0,0027$ µm) que pour la solution de WJ. Les angles de contact plus élevés

(70°) reflètent un caractère globalement plus hydrophobe, ce qui pourrait s'expliquer non seulement par la moindre concentration de GAG, mais également par des interactions hydrophobes potentielles au sein des fibres de collagène.

Ainsi, la mouillabilité des solutions d'origine naturelle semble principalement déterminée par la composition de la matrice et la structure des fibres et GAG, qui influencent directement la forme des gouttes. En revanche, pour les matériaux synthétiques à base d'alginate, la concentration a peu d'effet sur la tension de surface et n'altère donc que faiblement la forme des gouttes. Ces observations fournissent une première indication sur la cohésion des matériaux, liée à la tension de surface, qui contrôle directement la forme des gouttes en lévitation acoustique.

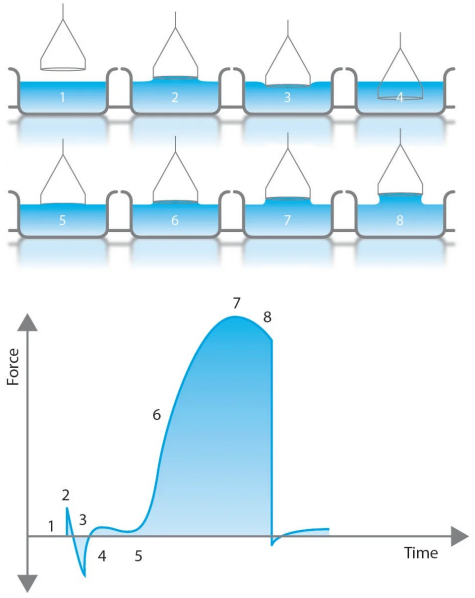
#### 3.4.2.2 Tension de surface

Les essais de tension de surface ont été effectués au laboratoire LRGP, à l'aide d'un tensiomètre à force Krüss (modèle K20, Krüss, Allemagne). La méthode utilisée est celle de l'anneau du Du Noüy [279, 280], qui consiste à immerger un anneau de platine juste au-dessous de l'interface liquide-air, puis à le relever progressivement. L'anneau entraîne alors le ménisque du liquide jusqu'à rupture de l'interface. Juste avant cette rupture, la force mesurée atteint un maximum, correspondant à la valeur utilisée pour déterminer la tension de surface. Pour chacun des six échantillons, cinq répétitions ont été effectuées afin d'assurer la reproductibilité des mesures.

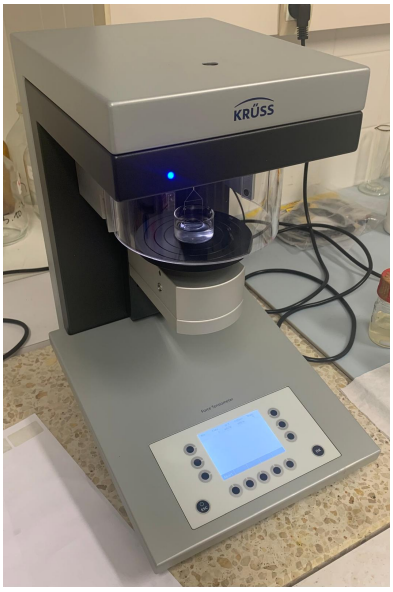
La force $F$ nécessaire pour décoller l'anneau de l'interface eau-liquide de la solution est donnée par [280] :

$$F = F_{\text{ring}} + 2 \cdot (2\pi R)\gamma \tag{3.1}$$

où $F_{\text{ring}}$ correspond au poids de l'anneau, $R$ à son rayon intérieur et $\gamma$ à la tension de surface du liquide. L'épaisseur de l'anneau est supposée négligeable devant son rayon. Le facteur 2 traduit la contribution des deux surfaces de l'anneau (interne et externe) lors de la rupture de l'interface.




(a) Différentes étapes lors de la mesure de la tension de surface via la méthode de l'anneau Du Noüy




(b) Mesure expérimentale de la tension de surface via le tensiomètre à force

FIGURE 3.14 – **Utilisation de la méthode de l'anneau Du Noüy pour la mesure de tension de surface des solution.**

Comme pour les tests de mouillabilité, les comparaisons statistiques de la tension de surface entre les solutions ont été réalisées à l'aide d'une analyse de variance à un facteur (one-way ANOVA), suivie d'un test post-hoc de comparaisons multiples de Tukey, au même seuil de significativité fixé à $p < 0,05$.

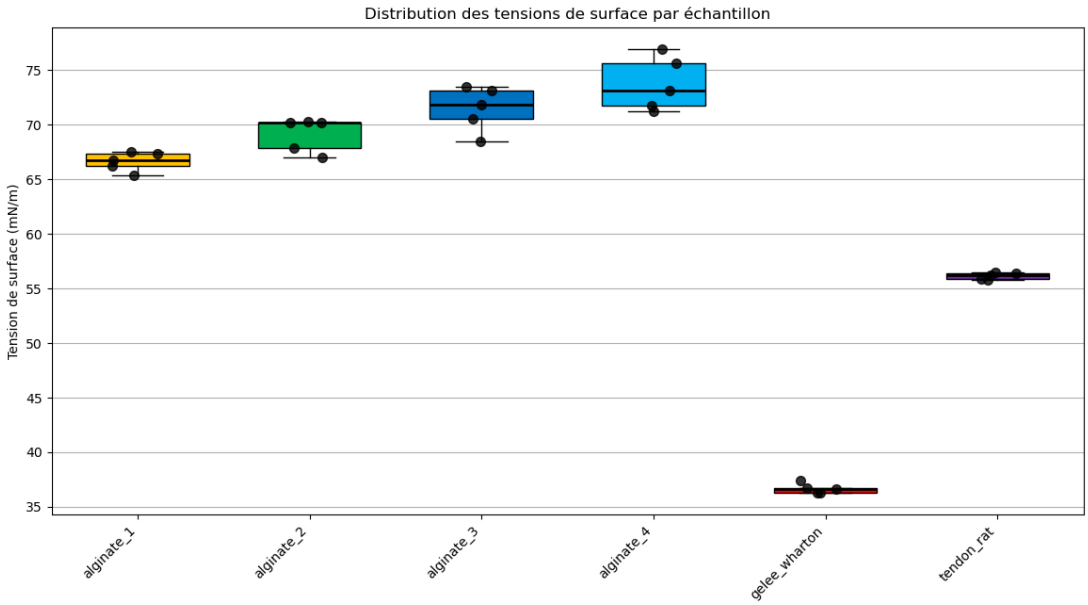



FIGURE 3.15 – **Boxplot des valeurs de tension sur surface des différentes solutions.** *Comparaison des valeurs de tension surface entre les solutions d'origine naturelle (WJ et RT) et les solutions synthétiques à base d'alginate à différentes concentrations (1 % à 4 %).*

Les résultats des mesures de tension de surface sont indiqués dans le tableau ci-dessous. A

titre de comparaison, l'eau a une tension de surface de 72.8 mN/m à 20°C et de 71.97 mN/m à 25°C.

| **Echantillon** | **Alginate 1 %** | **Alginate 2 %** | **Alginate 3 %** | **Alginate 4 %** | **WJ** | **RT** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Mesure 1 | 66,7 | 67,0 | 70,5 | 71,2 | 36,7 | 56,5 |
| Mesure 2 | 65,4 | 70,3 | 73,5 | 76,9 | 37,4 | 56,2 |
| Mesure 3 | 66,2 | 67,9 | 68,5 | 71,7 | 36,3 | 55,8 |
| Mesure 4 | 67,3 | 70,2 | 71,8 | 73,1 | 36,3 | 56,4 |
| Mesure 5 | 67,5 | 70,2 | 73,1 | 75,6 | 36,6 | 55,9 |
| **Moyenne** | $\mathbf{66,62}$ $\mathbf{\pm 0,853}$ | $\mathbf{69,12}$ $\mathbf{\pm 1,558}$ | $\mathbf{71,48}$ $\mathbf{\pm 2,040}$ | $\mathbf{73,7}$ $\mathbf{\pm 2,473}$ | $\mathbf{36,7}$ $\mathbf{\pm 0,451}$ | $\mathbf{56,2}$ $\mathbf{\pm 0,305}$ |

TABLE 3.3 – **Valeurs mesurées de tension de surface (en mN/m) pour chaque solution.**

L'analyse post-hoc montre qu'il n'y a pas de différence significative entre la solution de référence alginate 1 % et l'alginate 2 %, tandis que tous les autres solutions (alginate 3 %, alginate 4 %, WJ et RT) présentent une tension de surface significativement différente de l'alginate 1 % ($p < 0,001$).
Pour les solutions d'alginate, la tension de surface est légèrement inférieure à celle de l'eau pure à 20-25°C et tend à augmenter avec la concentration.

La solution de WJ présente des valeurs de tension de surface particulièrements faibles, de l'ordre de 30-35 mN/m, comparables à celles des huiles. Cette faible tension de surface peut ainsi contribuer à une plus grande déformabilité lors de la lévitation acoustique, et donc à une sensibilité accrue de la goutte aux contraintes imposées par le champ acoustique.

Quant à la solution de RT, les valeurs atteignent 50-55 mN/m, indiquant une cohésion plus importante que la WJ mais moins forte que l'eau pure.

Ainsi, la tension de surface des solutions reflète leur composition et structure interne, et pourrait influencer leur réponse mécanique dans le contexte de la lévitation acoustique, notamment en termes de déformabilité et de stabilité. Ces valeurs de tension de surface seront utilisées pour déterminer les fréquences de résonance des gouttes de solution en lévitation acoustique, selon le modèle de Rayleigh. Les résultats correspondants, calculés en tenant compte des dimensions mesurées des gouttes, seront présentés au chapitre 4.

### 3.4.3 Essais mécaniques complémentaires

#### 3.4.3.1 Analyse DMA

Une autre méthode permettant de caractériser la viscoélasticité des matériaux est l'Analyse Mécanique Dynamique (en anglais : *Dynamic Mechanical Analysis* ou DMA). Cette technique est initialement utilisée pour la détermination des propriétés mécaniques de matériaux solides viscoélastiques, comme par exemple les polymères, en leur appliquant une contrainte ou une

déformation oscillatoire. Selon la configuration expérimentale, différentes sollicitations peuvent être imposées telles que la traction-compression, le cisaillement ou la flexion [281, 282].

En collaboration avec le LEMTA, le système disponible a été modifié afin de permettre la mesure de propriétés mécaniques intrinsèques de matériaux présentant un comportement fluide. Cette adaptation, décrite ci-après, nous a permis d'effectuer des essais sur nos solutions à base de WJ et de RT.




(a) Vue générale du dispositif DMA

(b) Cuve oscillante et piston fixe ("tulipe")

(c) Fermeture pour contrôle de la température

FIGURE 3.16 – **Système d'Analyse Mécanique Dynamique (DMA) utilisé pour la caractérisation des solutions.** *(a) Vue générale du système DMA combinant (b) une cuve oscillante contenant la solution et un piston et (c) fermeture par une enceinte permettant de réguler la température de l'échantillon selon les besoins expérimentaux (chauffage et refroidissement).*

Le dispositif modifié permet d'estimer les grandeurs suivantes :

- la raideur dynamique complexe $K^* = K' + iK''$, liée à la réponse élastique ($K'$) et dissipative ($K''$) du matériau ;
- la viscosité complexe $\eta^*$, dérivée de la composante visqueuse de la réponse (proportionnelle à $K''$ selon la fréquence imposée) ;
- le facteur d'amortissement ou *tangente delta*, défini par $\tan\delta = K''/K'$, décrivant le rapport entre les pertes visqueuses et le stockage élastique.

Les deux éléments principaux du système de mesure sont :

- la partie inférieure, correspondant à une cuve oscillante contenant l'échantillon ;
- la partie supérieure, constituée d'un piston fixe ("tulipe") dans lequel est intégré un capteur de force

Lors des mesures, la cuve est soumise à un déplacement harmonique vertical relatif au piston, ce qui permet de mesurer la force nécessaire à imposer cette sollicitation et, par conséquent,

d'accéder aux propriétés dynamiques du matériau.

Il est important de noter qu'un changement de capteur intervient autour de 0,7 Hz, ce qui apparaît sur les graphes expérimentaux. En effet :

- A basses fréquences, un capteur de force basé sur un transducteur piézoélectrique est utilisé : il est plus précis pour des amplitudes et des vitesses de déformation faibles
- A hautes fréquences, l'inertie de la cuve oscillante devient non négligeable et peut induire des déphasages ou des phénomènes de résonance. Pour contourner ces limitations, un accéléromètre a été utilisé et permet de corriger l'effet de la masse en mesurant directement l'accélération de la cuve.

Le logiciel associé prend en compte la masse de la cuve afin de corriger l'inertie et d'obtenir des valeurs fiables de raideur et d'amortissement. Le déplacement imposé est noté comme une « compression », bien qu'il s'agisse d'un mouvement oscillatoire harmonique appliqué au fluide. L'amplitude maximale disponible est de ±6 mm. Toutes les mesures ont été effectuées à 20°C par régulation cryogénique.

Deux types de protocoles ont été réalisés :

- un balayage en fréquence à amplitude fixe (500 µm), permettant d'obtenir la réponse dynamique du matériau ;
- un balayage en amplitude sur une plage de fréquences donnée, afin d'étudier les effets non linéaires potentiels (en annexe).

Ces mesures en DMA ont été réalisées pour compléter des essais de rhéologie oscillatoire préliminaires, dont la géométrie cône-plan s'est révélée inadaptée aux solutions WJ et RT. En effet, la présence de fibres de collagène et la formation d'agrégats ont perturbé le contact avec le cône, entraînant des valeurs instables et peu fiables. L'utilisation d'une géométrie plane-plane sur le rhéomètre plus performant, dont les résultats ont été décrits précédemment, a permis de surmonter ces limitations.

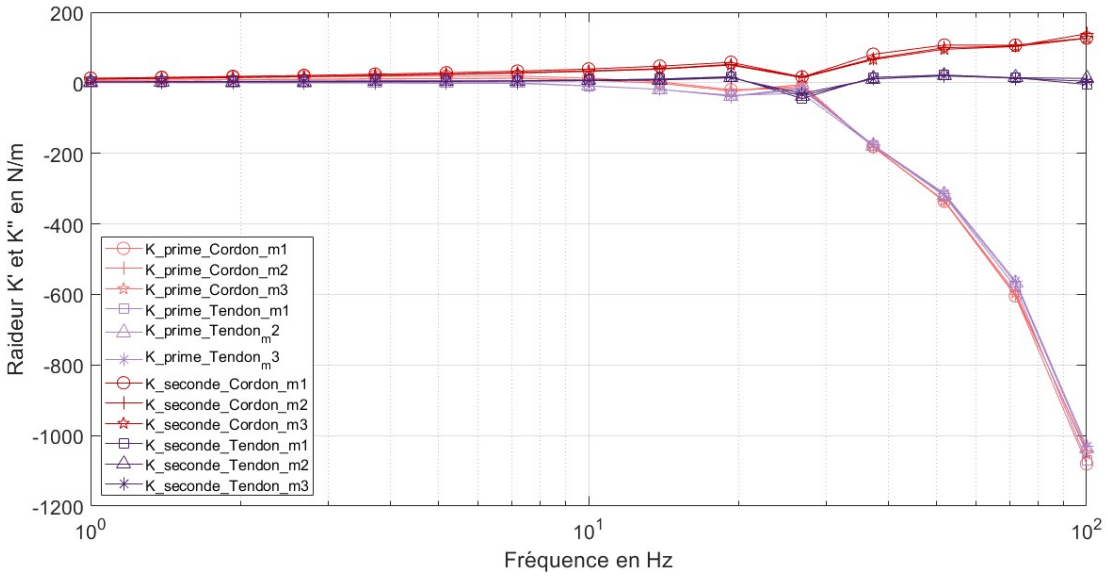



FIGURE 3.17 – **Raideur dynamique des solutions de polymère d'origine naturelle en fonction de la fréquence.** *Evolution des modules de raideur dynamique K' et K" en fonction de la fréquence pour les solutions WJ (K' en rouge clair, K" en rouge foncé) et RT (K' en violet clair, K" en violet foncé).*

Les résultats expérimentaux de DMA ont été analysés dans la plage de fréquence de 1 à 10 Hz. Pour la solution de WJ, le déphasage $\delta$ varie entre 52,7 et 75,3 degrés, tandis que pour la solution de RT, le déphasage se situe entre 72,5 et 102,9 degrés. Ces valeurs confirment bien le caractère viscoélastique des solutions. Dans le cadre des matériaux viscoélastiques, le déphasage $\delta$ est compris entre 0° et 90°, correspondant respectivement à un comportement élastique pur et un comportement visqueux pur. Néanmoins, au-délà de 10 Hz, le déphasage $\delta$ dépasse cette plage de valeurs, ce qui n'a pas vraiment de signification physique mais résulte probablement de limitations expérimentales. Pour cette raison, l'analyse des propriétés viscoélastiques a été limitée aux basses fréquences, inférieures à 10 Hz.

Concernant la raideur dynamique, les solutions WJ et RT présentent des valeurs de $K'$ et $K''$ de l'ordre de la dizaine de N/m aux basses fréquences, ce qui est cohérent avec le comportement de fluides viscoélastiques faiblement structurés.
Au-délà de 10 Hz, les valeurs de $K''$ augmentent pour la solution WJ, ce qui est très peu marqué pour l'solution RT. Toutefois, cette plage fréquentielle correspond également à une augmentation du déphasage $\delta$ supérieure à 90°, suggérant une perte de fiabilité des mesures. L'interprétation physique de ces valeurs à haute fréquence doit donc être considérée avec prudence. Des essais en rhéologie oscillatoire, décrits précédemment, les modules de stockage $G'$ et de perte $G''$ mesurés lors du balayage en fréquence ont montré que la solution RT présente des valeurs supérieurs à la solution WJ (respectivement de l'ordre de $10^{-1}$ à $10^2$ Pa pour WJ et de l'ordre $10^0$ à $10^2$ Pa pour RT). Cette différence est dû à la composition des solutions, la solution RT contenant des fibres de collagène plus épaisses et donc une rigidité intrinsèque plus élevée que la solution WJ. Cette contradiction observée pour la solution WJ s'explique par la différence

entre les grandeurs mesurées. En rhéologie oscillatoire, à des temps de sollicitation courts, le matériau ne dispose pas du temps nécessaire pour relaxer, ce qui se traduit par une augmentation relative de la composante élastique et donc un comportement plus élastique. En revanche, en DMA, la composante visqueuse de la force est proportionnelle à la vitesse de déformation, donc à la force, ce qui peut entraîner une augmentation de $K''$. Ces deux mécanismes montrent ainsi des aspects différents mais complémentaires de la réponse viscoélastique : l'un lié aux propriétés intrinsèques du matériau et l'autre à l'amplitude des forces générées sous sollicitation dynamique.

**Modèle analytique associé**

Pour interpréter les mesures de DMA dans la cellule fluide, un modèle analytique peut être établi à partir des équations de Navier-Stokes, en considérant un écoulement permanent, axisymétrique et unidimensionnel le long de l'axe $z$. La vitesse complexe $U_c^*(r)$ du fluide vérifie alors :

$$\eta \frac{1}{r}\frac{\partial}{\partial r}\left(r\frac{\partial U_c^*}{\partial r}\right) = \frac{\partial p}{\partial z} - \rho g = K$$

où $\eta$ est la viscosité du matériau et $\partial p/\partial z - \rho g$ représente la force appliquée sur le fluide, combinant la variation de pression et le poids du fluide.

Pour un fluide newtonien, K peut ainsi être mesuré à partir de la cellule et de la fréquence de sollicitation :

$$K^* = \frac{F^*}{D_{dyn}} = 4\pi^2 L\eta e^{i\pi/2}\frac{r_c^2 + r_e^2}{\Delta} f = ik^* f$$

Dans ce cas, la réponse est essentiellement visqueuse ($K' \approx 0$, de sorte que $K = K'' = K^*$). Ensuite, une fois $K$ déterminé, il peut être intégré pour déterminer les modules viscoélastiques du matériau :

$$G' = \frac{K}{\alpha_L}\cos\delta + \rho\omega^2\beta, \quad G'' = G'\tan\delta$$

où $\alpha_L$ et $\beta$ sont des coefficients dépendant de la cellule (longueur, rayon etc.).

Pour les solutions WJ et RT, présentant un comportement viscoélastique non-newtonien, ce modèle analytique n'est pas directement applicable, car la viscosité devient dépendante de la fréquence et la composante élastique n'est plus négligeable. Néanmoins, le concept de raideur dynamique reste pertinent pour relier la réponse de la cellule fluide aux propriétés viscoélastiques et constitue un point de départ pour développer un modèle adapté aux fluides non-newtoniens.

#### 3.4.3.2 Elastographie par IRM

Une autre technique permettent de caractériser les propriétés mécaniques des solutions est l'élastographie par résonance magnétique (ERM) (en anglais "*Magnetic Resonance Elastography*" ou MRE). Cette méthode non invasive repose sur l'application de vibrations générant des ondes de cisaillement dans le matériau. Les déplacements induits par les ondes sont mesurés par

IRM à l'aide de gradients d'encodage du mouvement (ou gradients de sensibilisation au mouvement), puis reconstruits sur des tranches (*slice*) de l'échantillon. Ces gradients d'encodage du mouvement sont des gradients de champ magnétique appliqués pendant l'acquisition IRM, synchronisés avec l'onde de cisaillement. Ils rendent le signal IRM sensible aux déplacements locaux dans le matériau. Des cartographies locales du module de cisaillement sont ensuite obtenues, à l'aide de méthodes d'inversion ou de corrélation [283, 284, 285].

Le choix de la fréquence d'excitation influence fortement la qualité des mesures, car une atténuation trop importante dans les matériaux viscoélastiques peut limiter l'exploitation de ces cartographies. L'ERM permet d'obtenir des cartographies spatiales du module de cisaillement, offrant ainsi une caractérisation volumique des propriétés mécanique et la mise en évidence d'éventuelles hétérogénéités internes, donc plus représentative que des mesures ponctuelles de rhéologie ou de DMA. De plus, elle permet d'étudier ces propriétés à des fréquences élevées (de l'ordre de quelques centaines de Hz) sans contact direct avec l'échantillon, ce qui préserve l'intégrité des solutions.

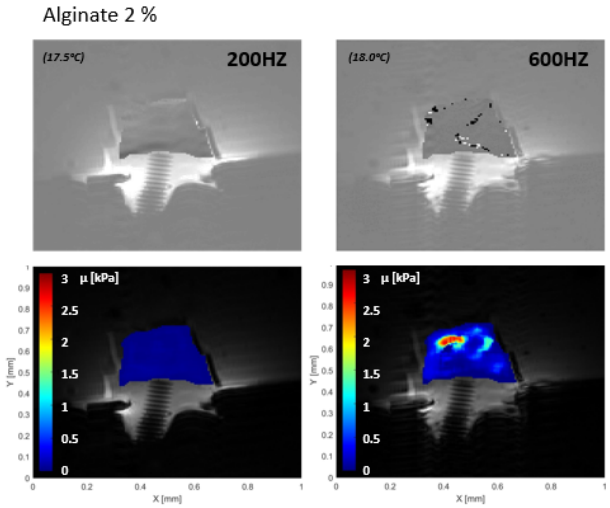
Dans cette étude exploratoire, les solutions testées sont ceux à base d'alginate (à 2 % et 4 %), ainsi que ceux d'origine naturelle (WJ et RT). Les mesures ont été réalisées par le laboratoire ICube (Strasbourg) [286] sur une plage de fréquences de 200 à 800 Hz, en utilisant une IRM 7T. Le champ magnétique élevé de 7 Tesla permet une résolution spatiale et un rapport signal/bruit optimaux, indispensables pour détecter les déplacements très faibles induits par les vibrations dans ces matériaux mous. La température des échantillons a également été surveillée, afin de s'assurer que les propriétés mécaniques n'étaient pas influencées par des variations thermiques pendant les mesures.

| **Fréquences** / **Échantillons** | **200 Hz** | **400 Hz** | **600 Hz** | **800 Hz** | **1 kHz** |
|---|---|---|---|---|---|
| Alginate 2 % | ✓ | ✓ | × | - | - |
| Alginate 4 % | - | ✓ | ✓ | ⚠ | × |
| WJ | ✓ | ✓ | ✓ | - | - |
| RT | ⚠ | ⚠ | ⚠ | - | - |

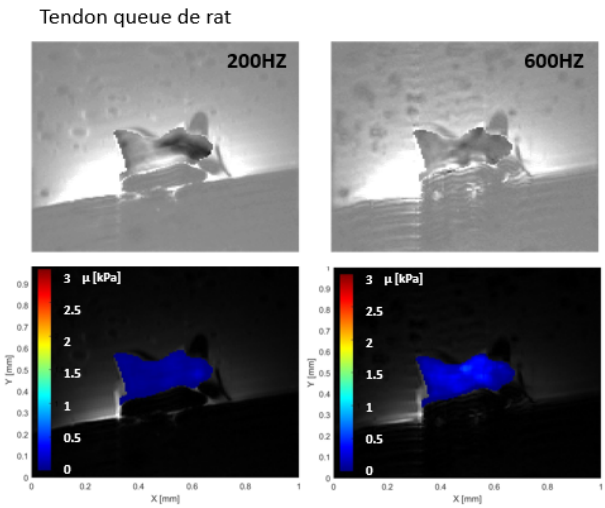
TABLE 3.4 – **Fréquences des essais d'élastographie pour chacun des échantillons.** *Les cases cochées (✓) indique une fréquence adaptée pour une acquisition fiable, les triangles (⚠) signalent une utilisation limitée (atténuation ou faible rapport signal/bruit) et les croix (×) indiquent une fréquence non exploitable. Ces limites dépendent de la composition des solutions et de la concentration d'alginate.*

Les figures ci-dessous (**Figure 3.18**) présentent tout d'abord les images en gris (ligne supérieure) et montrent l'intensité du signal IRM dans chaque vowel (pixel 3D). Elles permettent de visualiser l'échantillon, de localiser les zones d'intérêt et de vérifier la qualité de l'acquisition. Le déplacement local induit par les ondes de cisaillement est encodé par le gradient de phrase de l'IRM, fournissant un champ vectoriel de déplacement à chaque voxel. A

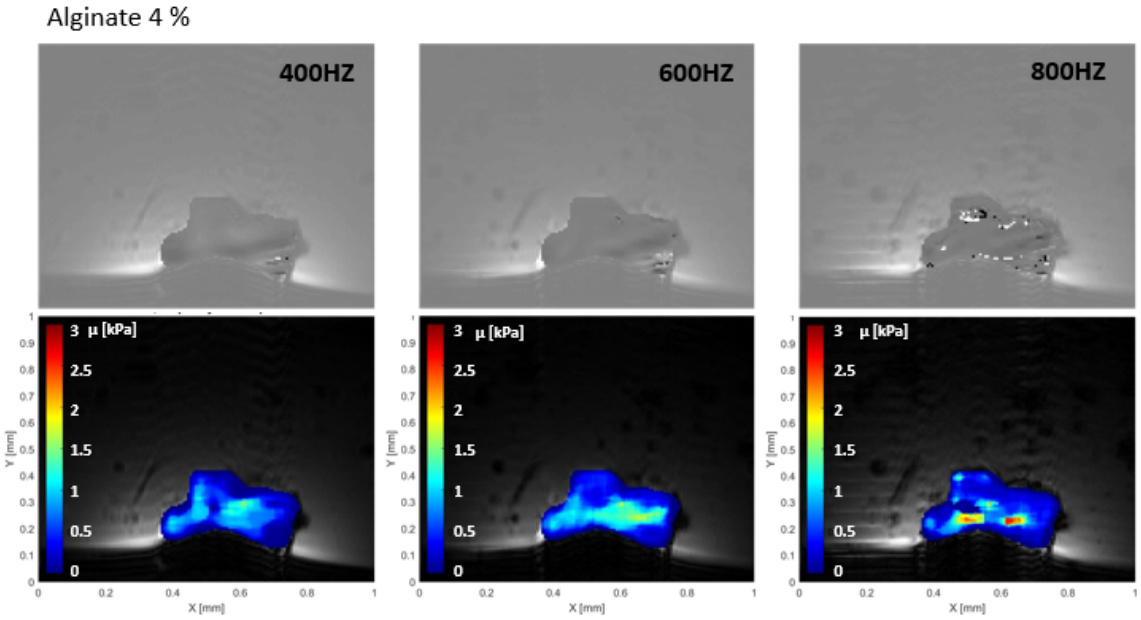
partir de ce champ, l'équation d'onde - une équation aux dérivées partielles qui régit la propagation des ondes dans un matériau - est inversée pour calculer les modules viscoélastiques voxel par voxel. L'ensemble de ces valeurs forme ainsi une cartographie complète des propriétés mécaniques.



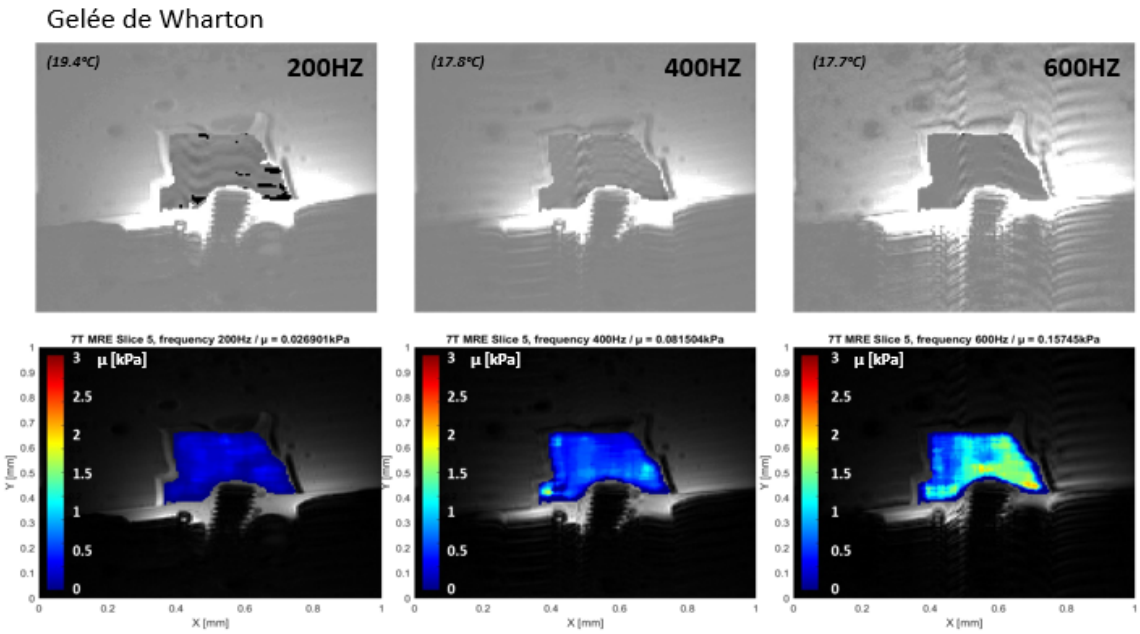

(a) Alginate 2 %




(b) Tendon queue de rat




(c) Alginate 4 %




(d) Gelée de Wharton

FIGURE 3.18 – **Cartographies des modules de cisaillement obtenues par élastographie IRM pour différents matériaux et fréquences.** *(Images en gris : images de magnitude IRM (dessus) ; élastogrammes : cartographies des modules viscoélastiques, rigidité codée du bleu (faible) au rouge (fort) pour les solutions : (a) alginate 2 %, (b) RT, (c) alginate 4 % et (d) WJ.*

Pour l'alginate à 2 %, la technique fonctionne correctement mais sur un volume limité en raison de l'atténuation importante du signal, liée à la viscosité du gel. Les mesures sont exploitables jusqu'à 400 Hz, au-delà desquelles le signal devient trop faible. La température mesurée pour ces échantillons varie entre 17,7°C et 18,5°C. L'ordre de grandeur du module de cisaillement est de 36,8 Pa à 200 Hz et de 129,1 Pa à 400 Hz, tandis que les mesures à 600 Hz ne sont pas exploitables.

Pour l'alginate à 4 %, les résultats sont similaires mais permettent de pousser les mesures à des fréquences plus élevées, jusqu'à 600 Hz de manière fiable, avec une limite à 800 Hz et des mesures non exploitables à 1 kHz. La température des échantillons n'a pas été enregistrés pour ce cas de figure. Les modules de cisaillement mesurés sont d'environ 553,2 Pa à 400 Hz et 731,7 Pa à 600 Hz.

Pour la solution de RT, bien que l'on observe quelques ondes, leur amplitude est très faible et l'atténuation importante rend les résultats peu fiables. La température des échantillons a été enregistrée entre 18,3°C et 20°C. Les modules de cisaillement n'ont pas pu être déterminés de manière fiable.

Enfin, pour la solution à base de WJ, les mesures sont très prometteuses. Les résultats sont cohérents sur l'ensemble des fréquences étudiées, même si l'amplitude des ondes diminue à partir de 500 Hz. Un volume légèrement plus grand permettrait d'améliorer la qualité et la fiabilité

des mesures. La température des échantillons est comprise entre 17,7°C et 19,4°C, et les modules de cisaillement mesurés sont de l'ordre de 47,05 Pa à 200 Hz, 86,5 Pa à 400 Hz et 172,5 à 600 Hz.

| **Fréquences** / **Échantillons** | **200 Hz** | **400 Hz** | **600 Hz** | **800 Hz** | **1 kHz** |
|---|---|---|---|---|---|
| Alginate 2 % | 36,8 Pa | 129,1 Pa | × | - | - |
| Alginate 4 % | - | 553,2 Pa | 731,7 Pa | 621,5 Pa | × |
| WJ | 41,1 ± 9,91 Pa | 86,5 ± 24,5 Pa | 172,5 ± 37,3 Pa | - | - |
| RT | 47,5 Pa | 105,5 Pa | 205,8 Pa | - | - |

TABLE 3.5 – **Modules de cisaillement $G$ obtenus par ERM à différentes fréquences d'excitation** *Valeurs correspondant au module complexe $|G^*|$ pour les solutions : alginate 2 %, alginate 4 %, WJ et RT.*

Pour les solutions étudiées (alginate 2 %, alginate 4 %, WJ et RT) les modules viscoélastiques en rhéologie oscillatoire et en élastographie ont des ordres de grandeurs similaires, malgré la différence de fréquences explorées. En rhéologie oscillatoire, sur la plage de 0,1 à 100 Hz, les modules $G^*$ varient de $10^{-1}$ à $10^2$ Pa pour l'alginate 2 %, de $10^0$ à $10^2$ Pa pour l'alginate 4 %, de $10^{-1}$ à $10^2$ Pa pour WJ et de $10^0$ à $10^2$ Pa pour RT. Tandis qu'en ERM, pour des fréquences de 200 à 600 Hz, les valeurs se situent entre $10^1$ et $10^2$ pour l'alginate 2 %, vers $10^2$ pour l'alginate 4 %, $10^1$ et $10^2$ pour WJ et $10^1$ et $10^2$ pour RT. Cette comparaison montre que, bien que l'élastographie IRM et la rhéologie oscillatoire fournissent toutes deux des indications sur les modules viscoélastiques des solutions à différentes fréquences. Cependant, il reste difficile de les comparer directement, en raison de la sensbilité des matériaux à la fréquence imposée et des conditions spécifiques à chaque technique.

En résumé, l'élastographie par IRM s'est avérée efficace pour caractériser la solution de WJ, en complément des essais de DMA, l'objectif étant de croiser différents approches afin de mieux comprendre le comportement des solutions d'origine naturelle. D'un point de théorique, l'inversion algébrique de l'équation d'onde permet, en l'absence de bruit et en émettant l'hypothèse d'un milieu homogène, d'estimer les modules viscoélastiques. En pratique, cette reconstruction dépend fortement de plusieurs paramètres expérimentaux tels que la fréquence d'excitation, l'amplitude du déplacement induit, la taille des voxels ou encore le rapport signal-à-bruit.
De plus, bien que les solutions ont tous un comportement viscoélastique, leurs propriétés diffèrent selon la concentration en alginate (modifiant la viscosité) ou la présence de fibres de collagène entraînant une hétérogénéité. Ces caractéristiques impactent donc la propagation et l'atténuation des ondes de cisaillement, et peuvent limiter la précision des mesures.

## 3.5 Modélisation du comportement des solutions pour leur implémentation dans les simulations numériques

Pour simuler la déformation d'une goutte en lévitation acoustique, il est nécessaire de définir une loi de comportement représentative des six matériaux utilisés, notamment les solutions WJ et RT. A partir des essais de rhéologie dynamique oscillatoire, nous avons obtenu les modules de stockage $G'(\omega)$ et de perte $G''(\omega)$ sur une plage de fréquences. Ces données expérimentales servent de base dans la détermination les modules $G_i$ et les temps de relaxation $\tau_i$ à intégrer dans le modèle numérique. Parmi les différents modèles rhéologiques couramment utilisés, la série de Prony s'avère la plus adaptée pour représenter fidèlement le comportement viscoélastique de ces solutions. En effet, elle permet de prendre en compte plusieurs temps de relaxation et ainsi de reproduire plus fidèlement l'évolution fréquentielle des modules $G'(\omega)$ et $G''(\omega)$ observée expérimentalement.

### 3.5.1 Modèles rhéologiques usuels

Les modèles rhéologiques permettent de représenter le comportement mécanique des matériaux viscoélastiques à partir d'éléments simples. Ces éléments sont le ressort, qui représente la partie élastique capable de stocker l'énergie, et l'amortisseur, qui représente la partie visqueuse dissipant l'énergie sous forme de chaleur. En combinant ces deux éléments, on peut ainsi reproduire différents comportements mécaniques observés expérimentalement.

#### 3.5.1.1 Modèle de Maxwell

Le modèle de Maxwell simple est constitué d'un ressort et d'un amortisseur montés en série. Il permet de décrire un fluide viscoélastique avec une temps de relaxation unique $\tau$, correspondant au temps caractéristique de relaxation du matériau. En cisaillement, les modules dynamiques s'expriment :

$$G' = \frac{G\omega^2\tau^2}{1+\omega^2\tau^2}, \quad G'' = \frac{G\omega\tau}{1+\omega^2\tau^2}$$

où $G$ est le module de cisaillement et $\omega$ est la fréquence angulaire de sollicitation. Dans ce modèle, $G'$ représente la partie élastique et $G''$ la partie visqueuse. Néanmoins le modèle de Maxwell est utilisé pour décrire des fluides simples ou des matériaux viscoélastiques dominés par un unique temps de relaxation.

#### 3.5.1.2 Modèle de Jeffrey

Le modèle de Jeffrey est une extension du modèle de Maxwell, dans lequel un amortisseur est ajouté en parallèle. Il est utilisé pour décrire des fluides contenant des particules, telles que des suspensions ou des émulsions diluées. L'amortisseur simple représente le fluide porteur, tandis

que l'élément de Maxwell décrit le comportement des particules en suspension. Les modules s'écrivent alors :

$$G' = G_p \frac{\omega^2 \tau_p^2}{1 + \omega^2 \tau_p^2}, \quad G'' = G_p r \omega \tau_p + \frac{\omega \tau_p}{1 + \omega^2 \tau_p^2}$$

où $\tau_p = \eta_p / G_p$ le temps de relaxation associé aux particules et $r = \eta_s / \eta_p$ le rapport entre la viscosité du solvant et l'excès de viscosité dû aux particules. Ce modèle, malgré une meilleure description que le modèle de Maxwell simple, reste insuffisant pour décrire des fluides viscoélastiques complexes comme les solutions.

#### 3.5.1.3 Maxwell généralisé et série de Prony

Pour les fluides viscoélastiques tels que WJ et RT, le modèle de Maxwell généralisé est plus approprié. Il consiste en plusieurs éléments de Maxwell montés en parallèle, chacun caractérisé par un module $G_i$ et un temps de relaxation $\tau_i$. Les modules dynamiques s'expriment comme :

$$G'(\omega) = \sum_1^n G_i \frac{\omega^2 \tau_i^2}{1 + \omega^2 \tau_i^2} \tag{3.2}$$

$$G''(\omega) = \sum_1^n G_i \frac{\omega \tau_i}{1 + \omega^2 \tau_i^2} \tag{3.3}$$

Ce modèle permet de reproduire avec précision le comportement viscoélastique des solutions. La série de Prony constitue une représentation équivalente dans le domaine temporel, où le module de cisaillement est décrit par une somme de termes exponentiels :

$$G(t) = G_{\text{inf}} + \sum_{i=1}^n G_i, e^{-t/\tau_i}, \tag{3.4}$$

où $G_{\text{inf}}$ représente le modèle de cisaillement à long terme ($t \to \infty$), $G_i$ le module associé à l'élément i et $\tau_i$ son temps de relaxation.

Cette formulation est particulièrement utile pour l'implémentation du comportement des solutions au sein de codes de résolution utilisant la méthode des éléments finis, qui intégrent pour la plupart ce type de loi de comportement pour représenter des matériaux viscoélastique.

### 3.5.2 Détermination des paramètres viscoélastiques

Les paramètres du modèle de Maxwell généralisé ont été identifiés à partir des données expérimentales de rhéologie dynamique oscillatoire. Les modules de cisaillement $G_i$ et les temps de relaxation $\tau_i$ ont été identifiés à partir des modules de stockage $G'$ et de perte $G''$ mesurés expérimentalement.

Le processus d'identification a été réalisé à l'aide de Matlab, en utilisant une optimisation non linéaire (`lsqnonlin`). La fonction d'erreur a été définie comme la différence entre les mo-

dules expérimentaux et les modules calculés par le modèle de Maxwell généralisé. Les valeurs situées à hautes fréquences ont été exclues du processus d'identification, car elles présentent des fluctuations incohérentes. Ces anomalies peuvent provenir de limitations expérimentales, mais aussi de la consistance particulière des solutions, qui rend certaines mesures instables à ces fréquences (**Figure 3.10**). De plus, afin de tenir compte des différents ordres de grandeur des modules, l'erreur a été évaluée en échelle logarithmique sur l'ensemble de la plage de fréquences.

La procédure d'identification a consisté à :

1. Filtrer les données pour exclure les valeurs incohérentes à hautes fréquences
2. Ajuster les paramètres $G_i$ et $\tau_i$ afin de minimiser l'écart entre le modèle et les données expérimentales
3. Vérifier la qualité de l'identification sur les modules $G'(\omega)$ et $G''(\omega)$ en représentation log-log

Des essais préliminaires avec les modèles de Maxwell et de Jeffrey ont été réalisés afin d'évaluer leur capacité à reproduire le comportement viscoélastique observé. Ces modèles simples suffisent pour décrire les quatre solutions à différentes concentration d'alginate principalement visqueux. Néanmoins, ils ne permettent pas de rendre fidèlement compte de la réponse expérimentale sur l'ensemble de la plage fréquentielle pour les solutions WJ et RT, justifiant l'utilisation du modèle de Maxwell généralisé avec plusieurs termes.

L'identification a été réalisée pour chaque solution étudiée : alginate 1-2-3-4 %, WJ et RT. Le choix du nombre de termes dans le modèle a été guidé par la capacité a reproduire le plus fidèlement la réponse expérimentale. La qualité de l'identification a notamment été évaluée à l'aide du RMSE global, calculé entre les modules expérimentaux et ceux prédits par le modèle sur l'ensemble des fréquences considérées. Cette mesure permet ainsi de quantifier l'écart moyen.

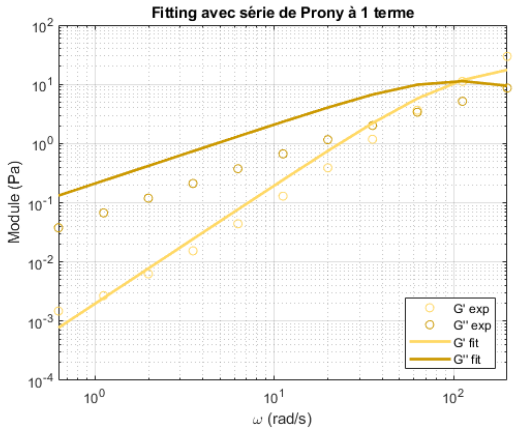
- Alginate 1-4 % : un seul terme a été retenu, les identifications avec deux termes conduisant à des temps de relaxation quasi identiques et donc à une redondance des paramètres.
- WJ : des identifications ont été réalisées avec deux, trois et quatre termes. Le RMSE global diminue de 0,178 avec deux termes à 0,153 avec trois termes. En revanche, l'ajout d'un quatrième terme n'améliore pas le RMSE et conduit même à une légère augmentation de celui-ci. Par conséquent, un modèle de trois termes a été retenu.
- RT : des identifications ont été effectuérs avec trois, quatre et cinq termes afin de capturer un comportement viscoélastique plus complexe. Le passage de trois à quatre termes entraîne une diminution notable du RMSE global de 0,808 à 0,082. Néanmoins, l'ajout d'un cinquième terme entraîne une augmentation de RMSE global, atteignant 1,18. Le modèle à quatre termes a donc été retenu.

Les paramètres déterminés pour chaque solution sont résumés ci-dessous :

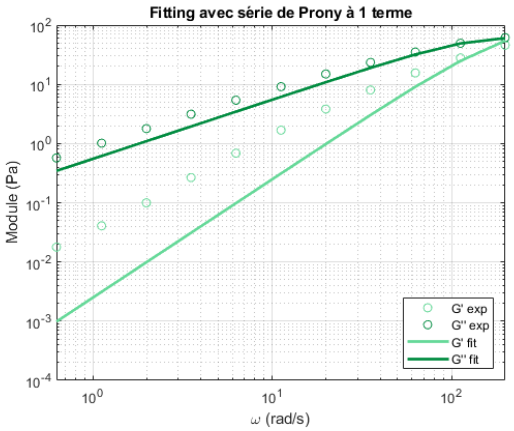
| Fréquences / Hydrogels | Modules $G_i$ | Temps de relaxation $\tau_i$ |
|---|---|---|
| Alginate 1 % | $G_i = 22,6277$ Pa | $tau_i = 0,0093$ s |
| Alginate 2 % | $G_i = 121,4161$ Pa | $tau_i = 0,0045$ s |
| Alginate 3 % | $G_i = 229,0302$ Pa | $tau_i = 0,0055$ s |
| Alginate 4 % | $G_i = 507,6470$ Pa | $tau_i = 0,0064$ s |
| WJ | $G_1 = 0,3718$ Pa<br>$G_2 = 8,0105$ Pa<br>$G_3 = 1,2710$ Pa | $\tau_1 = 2,1579$ s<br>$\tau_2 = 0,0168$ s<br>$\tau_3 = 0,1684$ s |
| RT | $G_1 = 6,7166$ Pa<br>$G_2 = 12,7226$ Pa<br>$G_3 = 2,6800$ Pa<br>$G_4 = 3,3565$ Pa | $\tau_1 = 14,323$ s<br>$\tau_2 = 0,0166$ s<br>$\tau_3 = 0,8463$ s<br>$\tau_4 = 0,1434$ s |

TABLE 3.6 – **Modules de cisaillement $G_i$ et temps de relaxation $\tau_i$ des différentes solutions.**

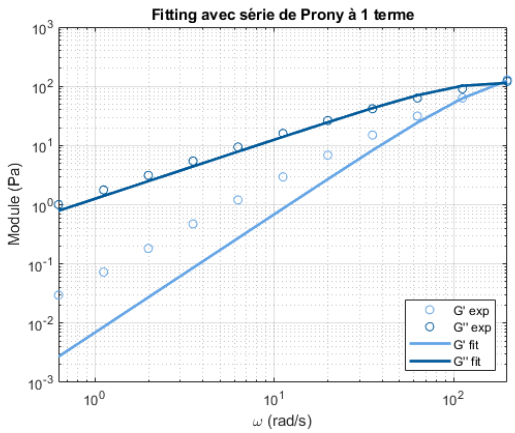
Les graphes suivants montrent les modules élastique G' et visqueux G" expérimentaux comparés aux G' et G" identifiés pour chacun des échantillons :



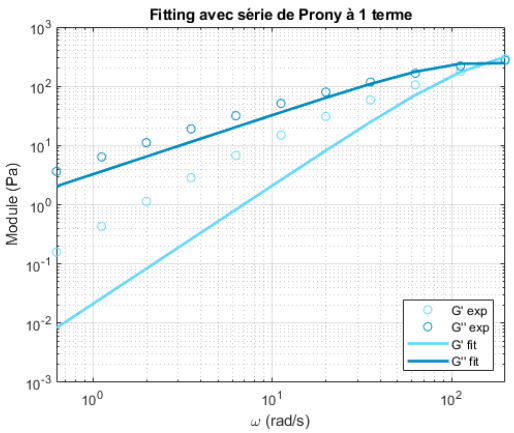

(a) Alginate 1 %



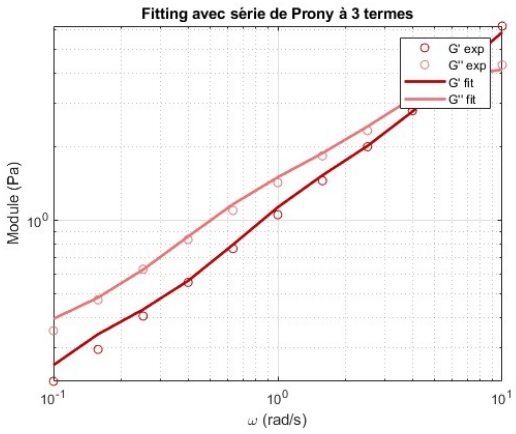

(b) Alginate 2 %



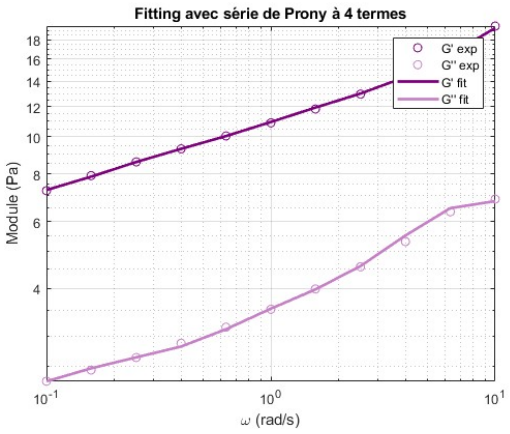

(c) Alginate 3 %




(d) Alginate 4 %




(e) Gelée de Wharton




(f) Tendon queue de rat

FIGURE 3.19 – **Comparaison expérimentale et modélisée des modules viscoélastiques des solutions.** *Modules de stockage $G'$ et de perte $G''$ obtenus expérimentalement (points) et simulés via la série de Prony (lignes) pour chacune des six solutions : (a) Alginate 1 % (jaune), (b) Alginate 2 % (vert), (c) Alginate 3 % (bleu foncé), (d) Alginate 4 % (bleu clair), (e) WJ (rouge) et (f) RT (violet).*

### 3.5.3 Implémentation dans les simulations numériques

Une fois les modules $G_i$ et les temps de relaxation $\tau_i$ déterminés pour chaque solution à partir du processus d'identification des paramètres du modèle de Maxwell généralisé, ces paramètres sont directement utilisés pour définir les solutions dans le modèle numérique d'éléments finis (par l'intermédiaire de GIBBON pour mettre en forme le jeu de données) pour réaliser les simulations numériques, comme détaillé au chapitre précédent (**section 2.3**).

Pour l'implémentation numérique, les modules de Prony $g_i$ sont obtenus en normalisant les $G_i$ par le module initial total :

$$g_i = \frac{G_i}{G_0}, \quad \text{avec} \quad G_0 = G_\infty + \sum_{i=1}^{n} G_i \tag{3.5}$$

où $G_\infty$ correspond au module à long terme du matériau. Dans le cas d'un solide viscoélastique, $G_\infty > 0$ et pour un fluide viscoélastique $G_\infty = 0$. Dans notre étude, la valeur du module de cisaillement à long terme $G_\infty$ n'est pas directement accessible expérimentalement, la plage de fréquences explorée ne permettant pas d'atteindre le régime quasi-statique. On émet donc l'hypothèse que $G_\infty = 0$ pour toutes les solutions, y compris les solutions WJ (fluide tendant vers un comportement solide viscoélastique) et RT (solide viscoélastique). Décrire ces matériaux comme des solides viscoélastiques impliquerait d'ajouter une composante élastique supplémentaire en parallèle dans le modèle rhéologique, ce qui n'aurait pas de sens physique compte tenu de leur nature fluide. La "solidité" apparente résulte plutôt des différents temps de relaxation et notamment de leur composition en fibres de collagène, et non d'une résistance élastique pure à long terme.

Le module de Young $E$ est ensuite déduit à partir de $G_0$ et du coefficient de Poisson $\nu$ :

$$E = 2G_0(1 + \nu) \tag{3.6}$$

Pour les solutions de polymère, qui sont considérées quasi-incompressibles, la valeur de $\nu$ choisie est de 0,49. De plus, pour ceux ayant une série de Prony a un terme, $g1 = 0,999$ afin de garantir la stabilité numérique.

Dans les simulations numériques, ces paramètres sont ensuite intégrés pour chaque matériau viscoélastique : $g_i$ en Pa et $\tau_i$ en s définissent la relaxation, $E$ en Pa et $\nu$ décrivent la partie élastique modélisée par un comportement néo-Hookéen, et la masse volumique du matériau est précisée à 997 kg/m$^3$ (car à base d'eau) pour la simulation dynamique.

| **Hydrogels** | **Alginate 1 %** | **Alginate 2 %** | **Alginate 3 %** |
|---|---|---|---|
| Paramètres | $G_0 = 22,6277$ Pa<br>$g_1 = 1$<br>$E = 67,44$ Pa | $G_0 = 121,4161$ Pa<br>$g_1 = 1$<br>$E = 361,82$ Pa | $G_0 = 229,0302$ Pa<br>$g_1 = 1$<br>$E = 682,51$ Pa |

| **Hydrogels** | **Alginate 4 %** | **WJ** | **RT** |
|---|---|---|---|
| Paramètres | $G_0 = 507,6470$ Pa<br>$g_1 = 1$<br>/<br>/<br>/<br>$E = 1512,79$ Pa | $G_0 = 9,6563$ Pa<br>$g_1 = 0.0385$<br>$g_2 = 0.8299$<br>$g_3 = 0,1316$<br>/<br>$E = 28,58$ Pa | $G_0 = 25,4757$ Pa<br>$g_1 = 0,2636$<br>$g_2 = 0,4994$<br>$g_3 = 0,1052$<br>$g_4 = 0,1318$<br>$E = 75,92$ Pa |

TABLE 3.7 – **Paramètres viscoélastiques obtenues pour les différentes solutions.**

Ces paramètres viscoélastiques des différentes solutions ainsi identifiés sont ensuite implémentées dans le modèle numérique.

## Conclusion du chapitre

Les différentes propriétés obtenues expérimentalement fournissent une base de données riche pour comprendre la comportement et la dynamique des gouttes d'solutions en lévitation.

Le chapitre suivant se focalise sur l'exploitation des développements expérimentaux et numériques décrits au chapitre 2, afin d'analyser les comportements observés. La connaissance précise des propriétés des matériaux permettra d'interpréter plus finement la forme et la dynamique des gouttes, et grâce à l'apport de la simulation, d'obtenir des cartographies du microenvironnement mécanique au sein des gouttes en lévitation.

# Chapitre 4

# Analyse du comportement des solutions de polymère lors de la lévitation acoustique

Ce chapitre présente les résultats expérimentaux et numériques concernant le comportement des gouttes de solution de polymère en lévitation acoustique. L'objectif est d'analyser comment différents paramètres influencent la forme, la dynamique et la stabilité des gouttes, et de mettre en évidence les liens entre observations expérimentales et simulations numériques.

Dans un premier temps, la partie expérimentale s'intéresse à l'étude de l'effet de la tension d'entrée sur la compression des gouttes, des phénomènes d'évaporation dans différentes conditions, de la réponse de la goutte à des modulations du champ acoustique, ainsi qu'à des observations issues de mesures PIV. Ces résultats expérimentaux sont interprétés en lien avec les propriétés mécaniques des solutions déterminées au chapitre précédent, telles que la tension de surface, la viscoélasticité et la mouillabilité. L'intégration de ces informations permet de mieux comprendre les différences de comportement entre les solutions étudiées.
Dans un second temps, les simulations numériques sont utilisées pour comprendre la réponse observée lors de la lévitation, et étudier le microenvironnement mécanique qui résulte de la modulation de tension.

Ainsi, ce chapitre met en évidence l'interaction entre les paramètres de la lévitation acoustique, les propriétés des matériaux et la dynamique des gouttes, en fournissant des éléments clés pour interpréter les comportements observés et préparer les analyses comparatives entre expériences et simulations.

### Communication et publication

Une partie des résultats discutés dans cette partie ont fait l'objet d'une présentation lors du 50ème congrès de la Société de Biomécanique et de la rédaction d'une publication actuellement en phase de soumission dans le journal JMBBM.

### Implémentations numériques

La résolution numérique utilisée dans ce chapitre a été développée par Guillaume Castanet au sein du laboratoire LEMTA, en collaboration avec les auteurs du modèle analytique de Yarin et al. présentée dans l'article "*On the acoustic levitation of droplets*" (https ://doi.org/10.1017/S0022112097007829).
Le modèle numérique a été réalisé à l'aide de GIBBON, développé par Kevin Moerman de l'Université de Galway, servant d'interface pour le logiciel d'éléments finis FEBio. Ce travail s'est inscrit dans le cadre du projet à l'étranger DrEAM, permettant de se familiariser avec l'outil et d'explorer ses fonctionnalités.

## Sommaire Chapitre 1


4.1 Effet de la tension d'entrée sur la goutte . . . . . 124
4.1.1 Paramètres géométriques en fonction de la tension d'entrée . . . . 124
4.1.2 Influence des caractéristiques des solutions de polymère . . . . . 129
4.1.3 Oscillations et instabilité des gouttes en lévitation acoustique . . . 130
4.2 Modulation de la tension d'entrée et réponse dynamique des gouttes . . . 134
4.2.1 Résultats expérimentaux . . . . . 134
4.2.2 Analyse numérique préliminaire des modes de résonance des gouttes de solutions . . . . . 144
4.2.3 Comportement en résonance . . . . . 146
4.3 Evaporation . . . . . 147
4.3.1 Evaporation sans enceinte . . . . . 147
4.3.2 Evaporation avec enceinte . . . . . 149
4.4 Analyse des écoulements internes par PIV . . . . . 152
4.5 Simulation du profil déformé des gouttes en lévitation sur la base d'un modèle analytique . . . . . 155
4.5.1 Description du modèle analytique . . . . . 155
4.5.2 Paramètres physiques utilisés . . . . . 156
4.5.3 Evaluation numérique des gouttes . . . . . 157
4.6 Simulation numérique du microenvironnement méca-nique au sein des gouttes par la méthode des éléments finis . . . . . 171
4.6.1 Convergence de maillage . . . . . 172
4.6.2 Tests de simulation . . . . . 172

## 4.1 Effet de la tension d'entrée sur la goutte

Cette section examine l'effet de la tension d'entrée appliquée au transducteur sur les gouttes en lévitation. Les expériences ont été réalisées sur six solutions : quatre formulations d'alginate (1, 2, 3 et 4 %), à base de gelée de Wharton (WJ) et à base de collagène de queue de rat (RT), pour trois volumes représentatifs (5 µL, 9 µL et 13 µL). Pour chaque goutte, les dimensions principales (axes majeurs et mineurs) et le ratio de déformation (axe majeur/axe mineur) ont été mesurés à partir des images obtenues par ombroscopie.

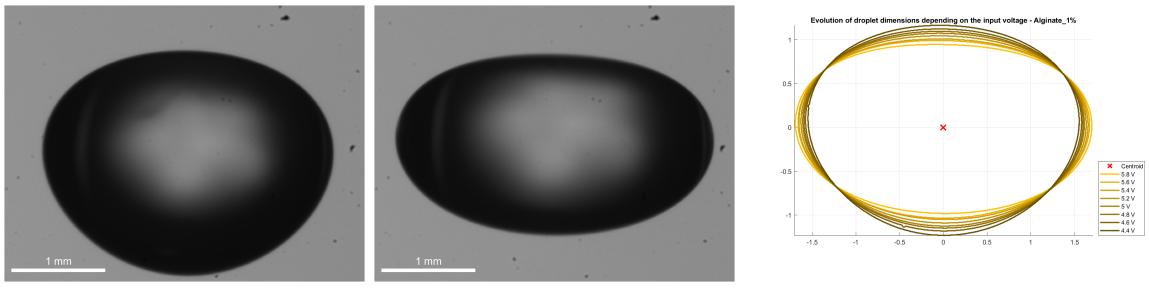
Deux méthodes de calcul du volume de la goutte à partir des images 2D ont été comparées : (i) une première méthode sur l'hypothèse d'une goutte sphéroïdale et (ii) une seconde méthode consistant à reconstruire le volume par intégration du profil de la goutte, découpée en tranches verticales. Ces méthodes ont été préalablement détaillées dans le chapitre 2. On rappelle que la méthode sphéroïdale constitue une première approximation du volume de la goutte ; la méthode d'intégration du profil a été employée en complément afin de vérifier la pertinence de cette approximation en présence de légères asymétries observées sur certaines gouttes.
Une analyse de variance à deux facteurs (two-way ANOVA) a été réalisée afin d'évaluer l'influence de la méthode de calcul du volume et de la solution sur le volume mesuré. Des comparaisons multiples post hoc ont été effectuées à l'aide du test de Dunnett, en prenant la solution d'alginate 1% comme référence. Le seuil de significativé a été fixé à $p < 0,05$.

Cette analyse permet ainsi d'évaluer :

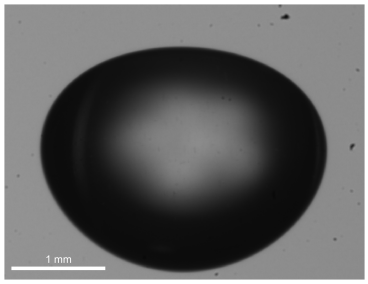
- l'influence de la tension d'entrée sur la déformation de la goutte,
- la cohérence des mesures de volume selon la méthode choisie,
- les limites expérimentales de lévitation pour chaque solution et chaque volume

### 4.1.1 Paramètres géométriques en fonction de la tension d'entrée

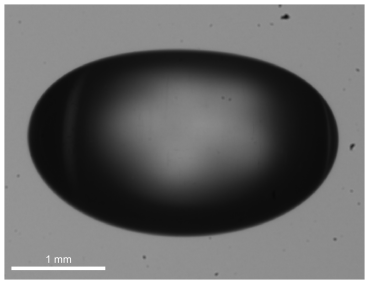
Pour chaque matériau et volume, les images ci-dessous (**Figure 4.1**) présentent la goutte à la tension minimale (forme quasi sphérique) et à la tension maximale (la forme la plus écrasée), illustrant l'étendue des déformations observées. Pour une question de visibilité, les contours des gouttes ont été centrés à (0,0) et les dimensions .



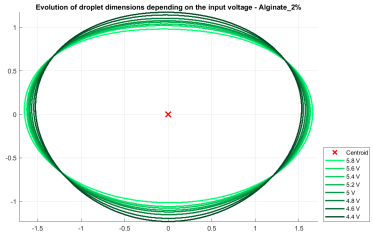

(a) Goutte d'alginate 1 % à 4,4 V à 13 µL (b) Goutte d'alginate 1 % à 5,8 V à 13 µL (c) Contour goutte en fonction de la tension



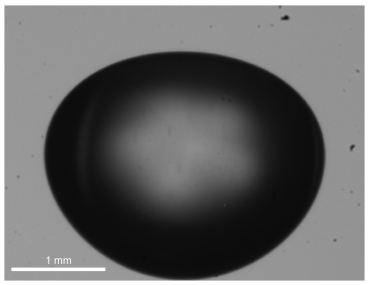

(d) Goutte d'alginate 2 % à 4,4 V à 13 µL



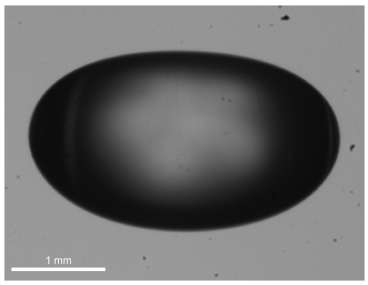

(e) Goutte d'alginate 2 % à 5,8 V à 13 µL



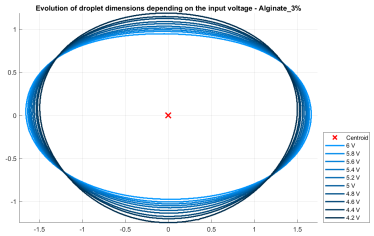

(f) Contour goutte en fonction de la tension



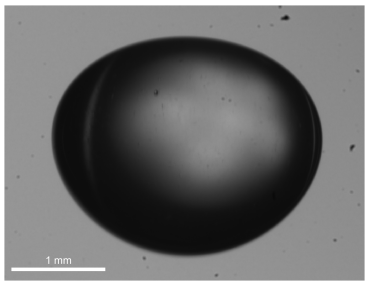

(g) Goutte d'alginate 3 % à 4,2 V à 13 µL



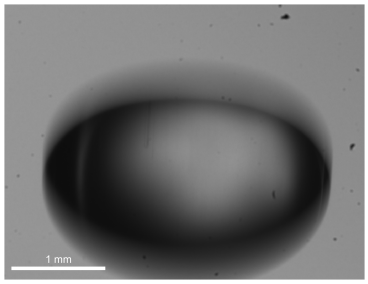

(h) Goutte d'alginate 3 % à 6,0 V à 13 µL



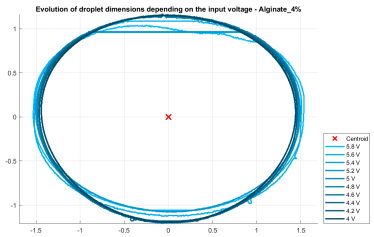

(i) Contour goutte en fonction de la tension



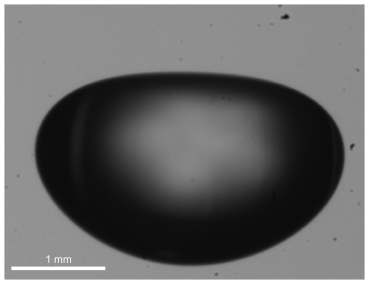

(j) Goutte d'alginate 4 % à 4,0 V à 13 µL



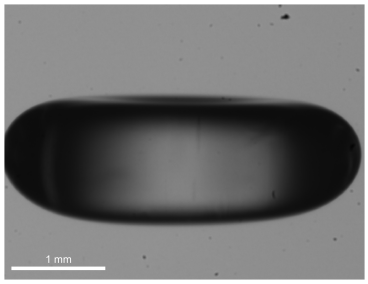

(k) Goutte d'alginate 4 % à 5,8 V à 13 µL (*résultats discutés ci-dessous*)



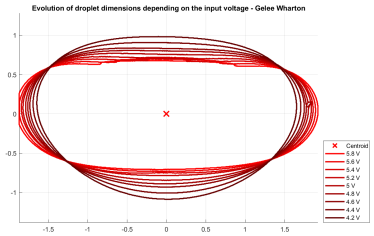

(l) Contour goutte en fonction de la tension



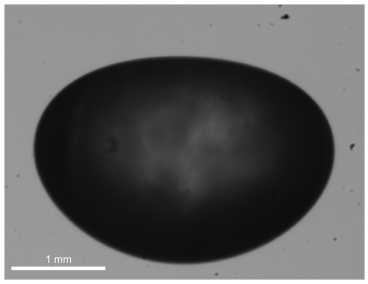

(m) Goutte de WJ à 4,2 V à 13 µL



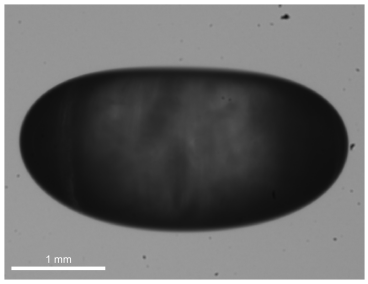

(n) Goutte de WJ à 5,8 V à 13 µL



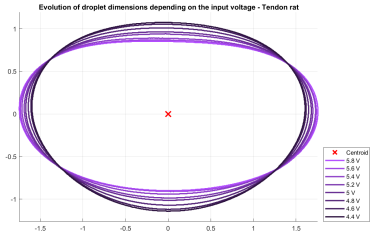

(o) Contour goutte en fonction de la tension




(p) Goutte de RT à 4,4 V à 13 µL




(q) Goutte de RT à 5,8 V à 13 µL

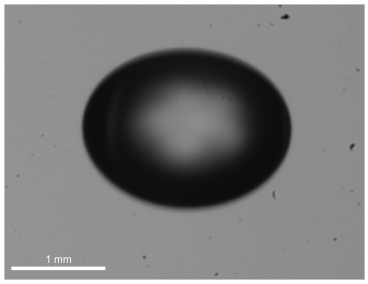



(r) Contour goutte en fonction de la tension

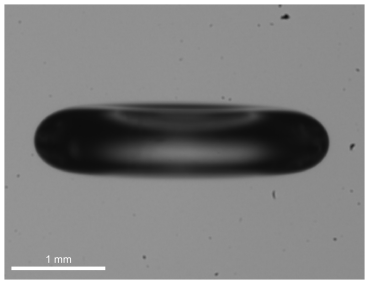
FIGURE 4.1 – **Forme des gouttes à tension minimale et maximale pour toutes les solutions à 13 µL**. *(a-c) Alginate 1 % ; (d-f) Alginate 2 % ; (g-i) Alginate 3 % ; (j-l) Alginate 4 % ; (m-o) WJ ; (p-r) RT. Pour chaque sous-figure : l'image de gauche montre la forme de la goutte à tension minimale et celle du milieu à tension maximale. L'image de droite illustre l'évolution de la forme de la goutte par la superposition des contours extraits entre les tensions minimale et maximale centrés à (0,0).*

L'aspect flou observé pour la solution d'alginate 4 % provient de la forte instabilité de la goutte en lévitation, qui rend l'acquisition d'images nettes difficiles. Cette instabilité est discutée plus en détails dans la section 4.1.3.

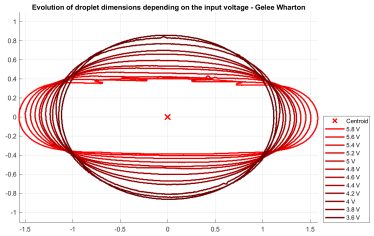
Les figures suivantes (**Figure 4.2**) illustrent l'effet du volume sur la forme d'une goutte aux tensions minimales et maximales, pour un matériau donné. L'ensemble des images des gouttes aux tensions minimales et maximales, ainsi que les contours associés, pour chaque volume et chaque solution, est présenté en annexe.



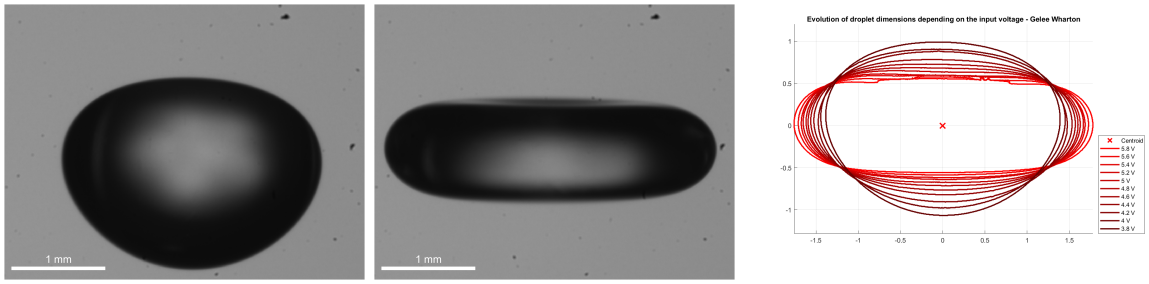

(a) Goutte de WJ à 3,6 V à 5 µL




(b) Goutte de WJ à 5,8 V à 5 µL




(c) Contours goutte en fonction de la tension




(d) Goutte de WJ à 3,8 V à 9 µL (e) Goutte de WJ à 5,8 V à 9 µL (f) Contour goutte en fonction de la tension

FIGURE 4.2 – **Forme de la goutte de WJ en fonction de la tension appliquée à différents volumes**. *(a-c) Volume de 5 µL ; (d-f) Volume de 9 µL. Forme de la goutte de WJ aux tensions minimales et maximales, ainsi que superposition des contours extraits intermédiaires.*

L'évolution des axes majeur et mineur ainsi que du ratio de déformation des gouttes (**Figure 4.3**) a été étudiée en fonction de la tension d'entrée, pour les volumes expérimentaux de 5 µL, 9 µL et 13 µL et pour les six solutions étudiés.

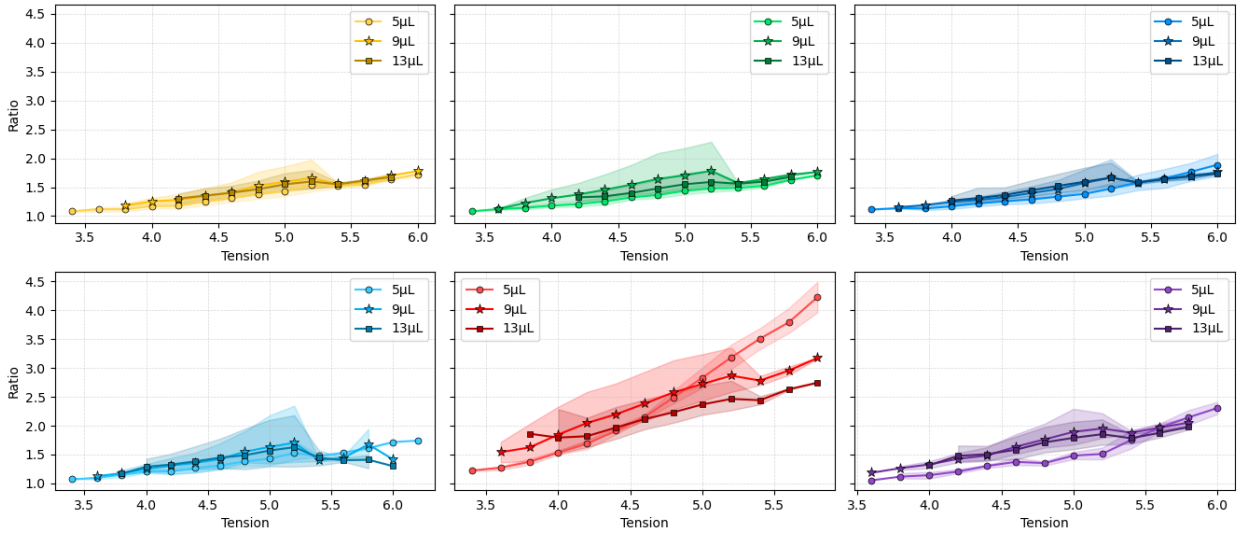



FIGURE 4.3 – **Ratio axes majeur/mineur en fonction de la tension d'entrée sur les six solutions.** *Alginate 1 %, 2 % et 3 % respectivement en jaune, vert et bleu foncé (haut) et alginate 4 %, WJ et RT en bleu clair, rouge et violet (bas). Les trois volumes (5 µL, 9 µL et 13 µL) sont distingués par des marqueurs de type cercle, étoile et carré. La figure montre l'évolution du ratio de la goutte - indicateur de sa compression - en fonction de la tension d'entrée.*

L'analyse des ratios de déformation indique que le ratio minimum reste globalement constant entre les différentes solutions et se raproche d'une valeur de 1 correspondant à une forme quasi-sphérique, quel que soit le volume étudié, à l'exception de la solutoin de WJ qui présente un ratio minimum légèrement plus élevé.

Concernant les ratios maximums en revanche, les tendances dépendent du volume et du

type de la solution de polymère. A 5 µL, les solutions d'alginate à 1 %, 2 % et 4 % affichent des valeurs comparables, tandis que l'alginate 3 % et la solution de RT présentent des ratios légèrement supérieurs. A 9 µL, les ratios maximum des alginates 1 %, 3 % et 4 % restent prochent les uns des autres, alors que ceux de l'alginate 2 % et de la solution de RT sont un peu plus élevés et se situent à un niveau similaire. Enfin, à 13 µL, les alginates 1 % et 2 % montrent des ratios proches, l'alginate 3 % se distingue par un ratio légèrement accru, et l'alginate 4 % et la solution de RT atteingnent des valeurs un peu plus élevées et similaires. La solution de WJ constitue un cas particulier, avec un ratio maximum moyen supérieur à toutes les autres solutions montrant une grande déformabilité, particulièrement à 5 µL, et qui diminue légèrement lorsque le volume augmente.
De manière générale, l'écart-type des ratios est comparable entre la plupart des échantillons et volumes, réflétant une variabilité homogène.

Pour la précision des mesures de volume, nous avons comparé les résultats obtenus par la méthode sphéroïdale, qui repose sur l'approximation de la goutte par une sphéroïde, et la méthode par intégration verticale, qui reconstruit le volume en découpant le profil de la goutte en tranches. Ces mesures ont été effectuées pour les volumes déposés en lévitation et contrôlés à l'aide de la micropipette pour les trois volumes.
Les comparaisons statistiques ont été effectuées à l'aide d'une analyse de variance à deux facteurs (two-way ANOVA), avec pour facteurs la méthode de calcul du volume et le type de solution, suivie d'un test de comparaisons multiples de Dunnett pour identifier les différences significatives.

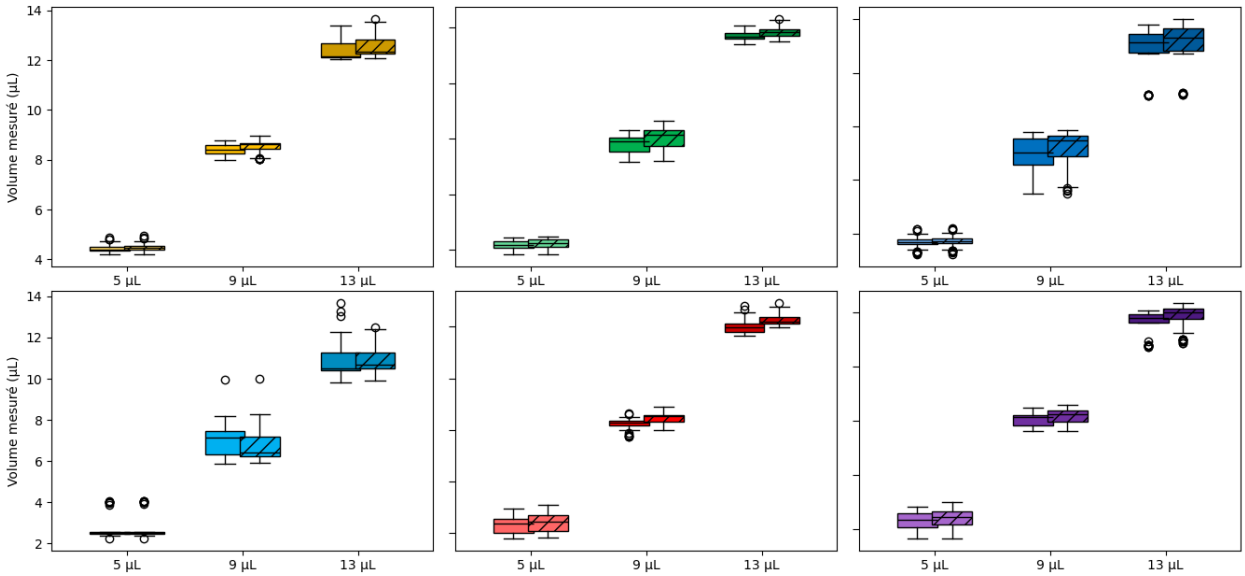



FIGURE 4.4 – **Comparaison des volumes mesurés selon deux méthodes de calcul pour les six solutions.** *Alginate 1 %, 2 % et 3 % respectivement en jaune, vert et bleu foncé (haut) et alginate 4 %, WJ et RT en bleu clair, rouge et violet (bas). Les trois volumes (5 µL, 9 µL et 13 µL) sont distingués par nuances clair → foncé, et chaque volume est représenté par deux boxplots côte à côte, correspondant aux deux méthodes de calcul : la méthode sphéroïdale (boîte pleine) et la méthode par intégration verticale (boîte hachurée) .*

Les analyses statistiques n'ont mis en évidence aucune différence significative entre les méthodes de calcul pour les trois volumes mesurés. Bien que le volume initial des gouttes ait été fixé à l'aide d'une micropipette, le volume effectif diminue légèrement avec l'augmentation de la concentration d'alginate. Cette observation s'explique par la viscosité élevée des solutions plus concentrées, ce qui rend la manipulation plus difficile et donc limite le volume réellement déposé.

Cela s'explique par la grande déformabilité de ce matériau : les gouttes s'éloignent davantage de la forme sphéroïdale idéale, adoptant une géométrie proche d'un anneau ou d'un "donut". Dans ce contexte, la mesure basée sur l'hypothèse d'une sphéroïde devient moins adaptée, tandis que le découpage vertical reste plus fiable pour estimer le volume réel d'un matériau déformable.

### 4.1.2 Influence des caractéristiques des solutions de polymère

Les propriétés des solutions, telles que la tension de surface, la mouillabilité et la composition, déterminent la morphologie et le comportement des gouttes en lévitation acoustique. Les mesures géométriques expérimentales permettent de quantifier les différences de forme et de profil entre les matériaux et de relier ces variations à leurs caractéristiques physico-chimiques. Les valeurs de tension de surface des solutions ont été déterminées dans le chapitre 3 (**section 3.4.2.2**).

Concernant les solutions d'alginate, l'analyse statistique (one-way ANOVA) (**section 3.4.2.1**) n'a pas mis en évidence d'effet significatif de la concentration sur la mouillabilité. En effet, le test post-hoc de Tukey ne révèle aucune différence significative entre la solution de référence à 1 % et les solutions à 2 %, 3 % et 4 % ($p > 0,05$). Une tendance similaire est observée pour la tension de surface. Ces résultats indiquent ainsi que, dans la gamme étudiée, la concentration en alginate n'influence pas significativement les propriétés interfaciales, ce qui conduit à des formes et ratios similaires pour un volume donné en lévitation acoustique.

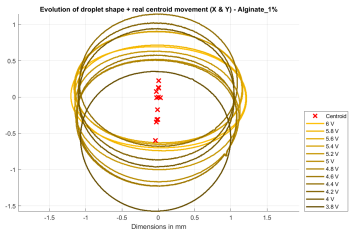
En revanche, la composition des solutions apparaît comme un facteur déterminant. La solution de WJ, caractérisé par une forte hydrophilie, présente une mouillabilité élevée et une faible tension de surface, cohérente avec sa richesse en GAG. Cela favorise sa déformation sous contrainte acoustique, conduisant à une compression importante voir l'adoption d'une forme auriculaire à haute tension, associées à une plage de ratio plus étendue. A l'inverse, la solution de RT présente une hydrophobie apparente malgré la présence de GAG, possiblement en raison d'une concentration plus faible et d'une organisation différente liée à des fibres de collagène plus épaisses. Sa tension de surface, intermédiaire entre celle de WJ et des solutions à base d'algainte, est cohérente avec une compression moindre et une plage de ratios plus restreinte que celle observée pour WJ. La caractérisation de son hydrophobie apaprente est ainsi pertinente avec la cohésion interne de la solution, susceptible d'exposer les cellules à des environements mécaniques distincts. La modulation de la tension d'entrée qui permet d'appliquer des com-

pressions cyliques permettra également d'étudier l'influence des propriétés des solutions sur leur dynamique, ce qui fait l'objet de la section suivante.

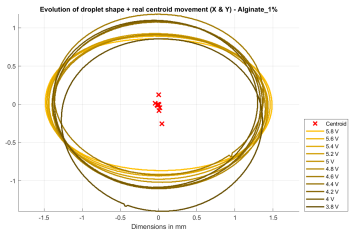
Pour conclure, ces observations d'effet de la tension d'entrée sur les gouttes constituent une base de comparaison entre les données expérimentales et numériques. Elles permettront de confronter les résultats obtenus via la modélisation analytique inspirée par Yarin et al. et d'étudier la déformation des gouttes par le modèle *in silico* proposé ci-après, en fonction des paramètres matériaux et de répartition des valeurs de pression.

### 4.1.3 Oscillations et instabilité des gouttes en lévitation acoustique

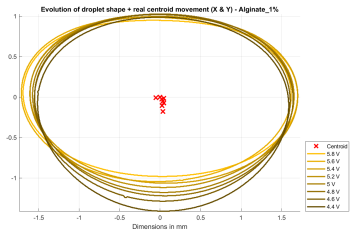
Les observations expérimentales montrent que le centre de la goutte n'est pas fixe. Théoriquement, avec l'augmentation de la tension d'entrée et l'acroissement de l'écrasement, le centre de la goutte devrait se rapprocher du noeud de pression. Cependant, comme discuté dans la section théorique du chapitre 2, les gouttes lévitées ne sont pas parfaitement stables et sont soumises à des oscillations. L'identification univoque des facteurs contrôlant la rapidité et l'amplitude de ces oscillations. Les conditions environnmentales semblent notamment jouer un rôle : des températures et des niveux d'humidité plus élevés favorisent une meilleure stabilisation des solutions , en particulier pour les concentrations d'alginate 3 % et 4 %, tandis que les solutions à base de WJ et de RT restent plus sensibles. De plus, un volume élevé (13 µL) induit une stabilisation plus importante que les autres volumes de 5 et 9 µL.



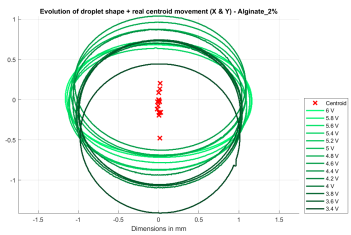

(a) Position réelle goutte d'alginate 1 % à 5 µL



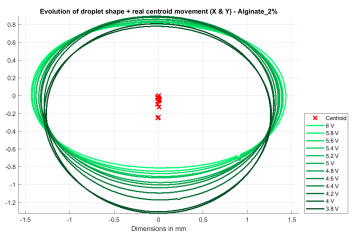

(b) Position réelle goutte d'alginate 1 % à 9 µL



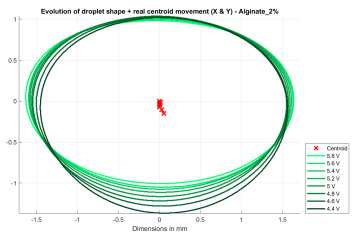

(c) Position réelle goutte d'alginate 1 % à 13 µL



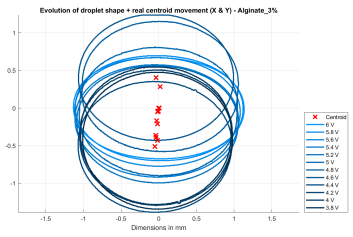

(d) Position réelle goutte d'alginate 2 % à 5 µL



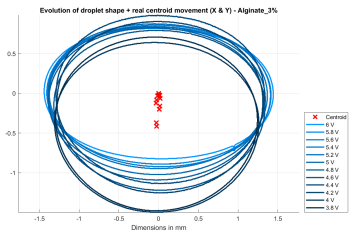

(e) Position réelle goutte d'alginate 2 % à 9 µL



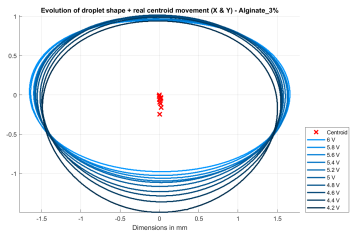

(f) Position réelle goutte d'alginate 2 % à 13 µL



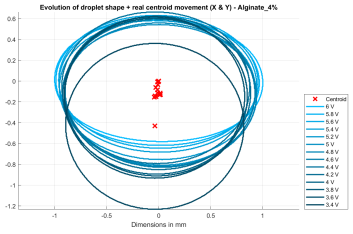

(g) Position réelle goutte d'alginate 3 % à 5 µL



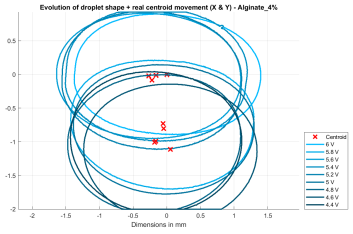

(h) Position réelle goutte d'alginate 3 % à 9 µL



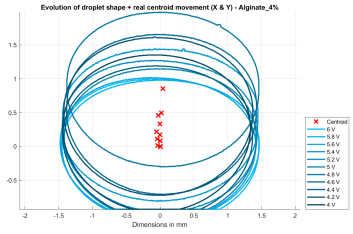

(i) Position réelle goutte d'alginate 3 % à 13 µL



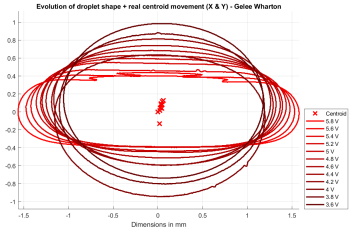

(j) Position réelle goutte d'alginate 4 % à 5 µL



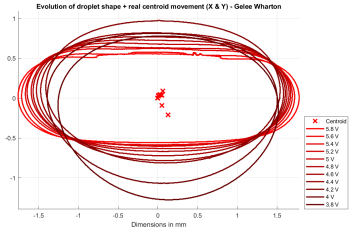

(k) Position réelle goutte d'alginate 4 % à 9 µL



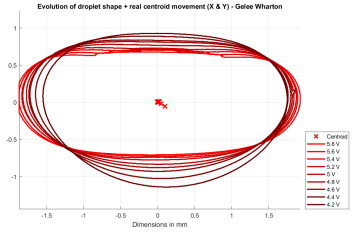

(l) Position réelle goutte d'alginate 4 % à 13 µL



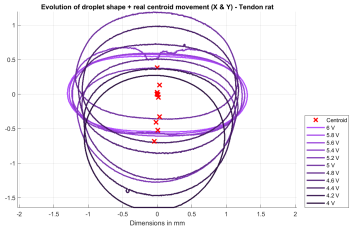

(m) Position réel goutte de solution de WJ à 5 µL



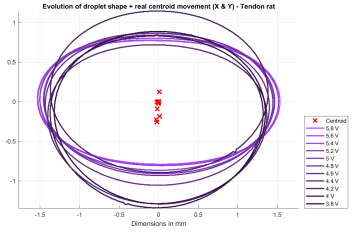

(n) Position réel goutte de solution de WJ à 9 µL



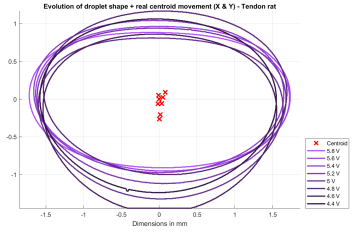

(o) Position réel goutte de solution de WJ à 13 µL




(p) Position réel goutte de solution de RT à 5 µL




(q) Position réel goutte de solution de RT à 9 µL




(r) Position réel goutte de solution de RT à 13 µL

FIGURE 4.5 – **Position réelle de la goutte pour différents volumes pour les six solutions de polymère.** *Permettent d'illustrer l'instablité des gouttes en fonction du volume (5, 9 et 13 µL) à différentes valeurs de tension d'entrée pour les solutions : (a-c) Alginate 1 %, (d-f) Alginate 2 %, (g-i) Alginate 3 %, (j-l) Alginate 4 %, (m-o) WJ et (p-r) RT. L'augmentation du volume et/ou de la tension modifie la position réelle voir favoriser l'apparition d'instabilités.*

Des mesures de vibrométrie ont été effectuées. Bien que le diamètre du laser soit plus large que la taille des gouttes et ne permette donc pas une analyse précise de la distribution des oscillations, ces mesures ont tout de même montré que les vitesses d'oscillations de surface sont plus faibles pour un matériau plus visqueux.
Les mesures de vitesse de surface obtenues par vibrométrie laser peuvent être positives ou négatives, selon la direction du déplacement de la surface par rapport au laser. Pour les deux viscosités d'alginate testées, la plage de vitesses observée variait approximativement de -45,7 à 26,1 mm/s pour la viscosité de 0,5 % et de -1,6 à 1 mm/s pour la viscosité de 4 %, confirmant que la dynamique de surface est globalement atténuée à plus grande viscosité.

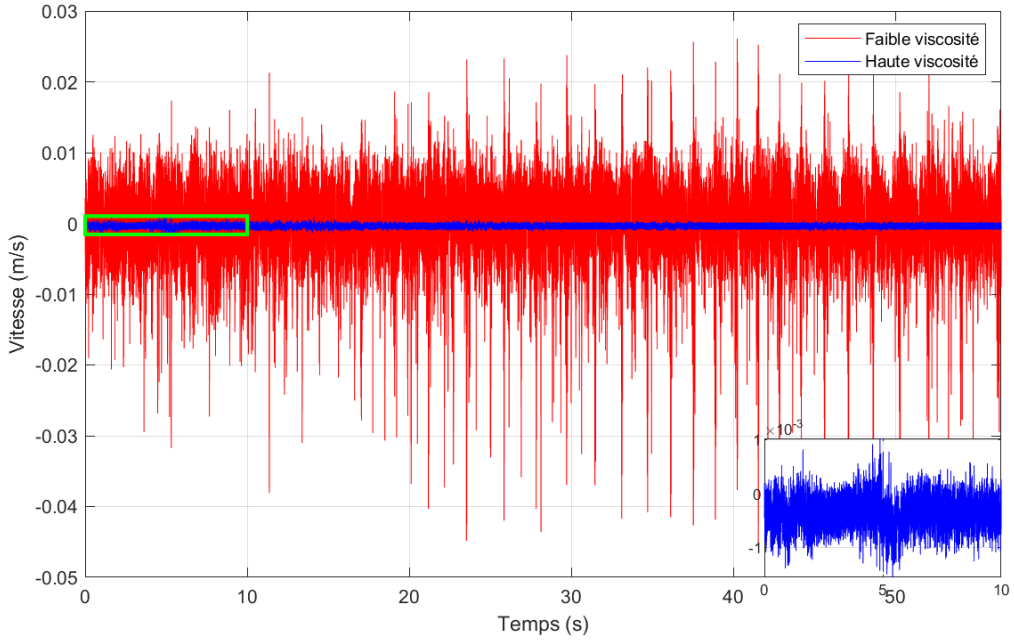



FIGURE 4.6 – **Vitesse de surface mesurée par vibrométrie laser pour deux viscosités d'alginate.** *Signal temporel de la vitesse de surface mesurée par vibrométrie laser sur des gouttes d'alginate en lévitation acoustique, à faible viscosité (0,5 %, rouge) et à forte viscosité (4 %, bleu). Un zoom est présenté sur le signal correspond à l'alginate 4 % afin de mieux visualiser ses valeurs minimales et maximales.*

En revanche, les expériences en lévitation acoustique mettent en évidence qu'au délà d'une certaine viscosité, les gouttes présentent une instabilité accrue des oscillations horizontales et verticales. Cette différence suggère que la viscosité amortit efficacement les vitesses à la surface de la goutte mais résulte en une instabilité globale à l'échelle de la goutte. La survenue de ces instabilités dépend fortement de la concentration d'alginate : elle est quasi immédiate pour la solution d'alginate 4 %, tandis que ceux à 3 % et 2 %, elle n'apparaît qu'après un certain temps. Ce délai s'explique par l'évaporation, étudié dans la section suivante, qui induit une augmentation progressive de la concentration. Cela suggère ainsi une viscosité critique au-delà de laquelle la stabilité de la goutte est compromise.

La suite des expérimentations consiste à moduler la tension d'entrée afin d'appliquer des

compressions cycliques aux gouttes. Des phénomènes de résonance ont pu être observés, dont l'analyse détaillée, distinguant effets de résonance et fréquences parasites, ainsi que l'impact sur les gouttes avec ou sans modulation, sera abordé dans la section suivante consacrée à la modulation de la tension d'entrée.

Pour assurer un volume suffisant et dans l'optique des applications biologiques, les analyses expérimentales suivantes se concentreront sur les gouttes de 13 µL.

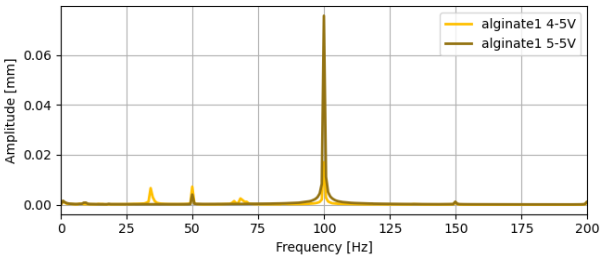
## 4.2 Modulation de la tension d'entrée et réponse dynamique des gouttes

Cette étude se concentre sur la réponse dynamique des gouttes en lévitation acoustique aux variations de la tension d'entrée. Les différentes solutions ont été testées à deux tensions d'entrée différentes soit 4,5 V et 5,5 V, sur une gamme de fréquences de modulation comprise entre 10 Hz et 2 KHz (10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 et 2000 Hz). Les fréquences de modulation ont été choisies dans la plage 10-2000 Hz conformément aux spécifications du lévitateur acoustique utilisé. Cette gamme permet d'explorer la réponse dynamique des gouttes sur différents régimes, avec un échantillonnage des fréquences approximativement doublé d'un point à l'autre afin de couvrir efficacement l'intervalle étudié sans multiplier les conditions expérimentales.

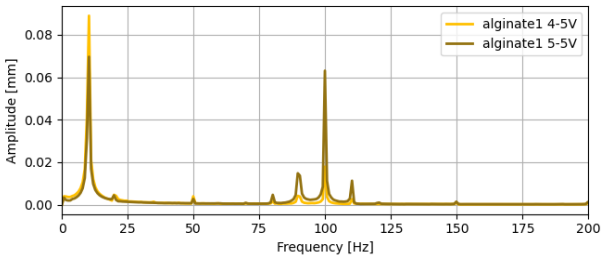
Pour chaque condition, l'évolution temporelle de l'axe mineur des gouttes a été enregistrée afin d'évaluer leur capacité à suivre les variations imposées. La réponse des gouttes a ensuite été analysée dans le domaine fréquentiel à l'aide d'une transformée de Fourier, permettant de quantifier l'amplitude et la fréquence de déformation en fonction de la fréquence de modulation. Cette approche met en relation la dynamique des gouttes avec leurs propriétés matérielles et permet de déterminer les limites de suivi de la modulation, en s'appuyant sur les principes et les méthodes détaillés dans le chapitre 2.

### 4.2.1 Résultats expérimentaux

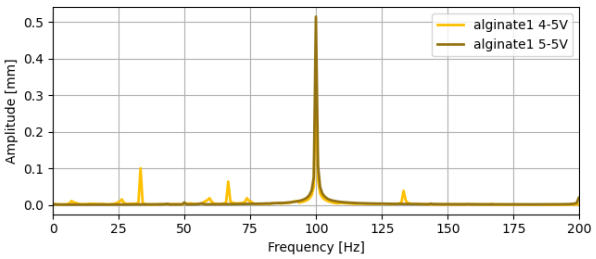
#### 4.2.1.1 Amplitudes en fonction de la fréquence de modulation



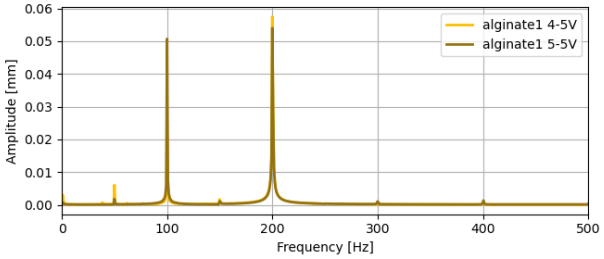

(a) Alginate 1 % à modulation non imposée



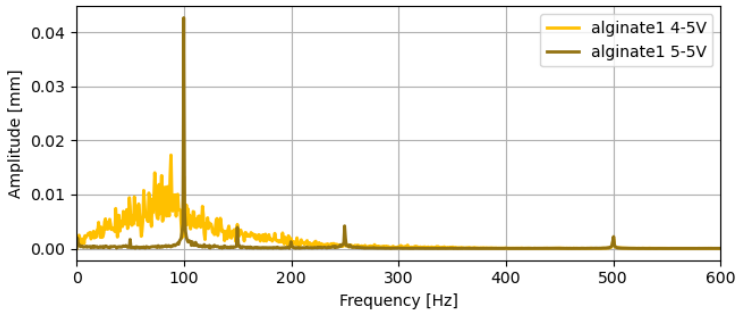

(b) Alginate 1 % à 10 Hz imposé




(c) Alginate 1 % à 100 Hz imposé

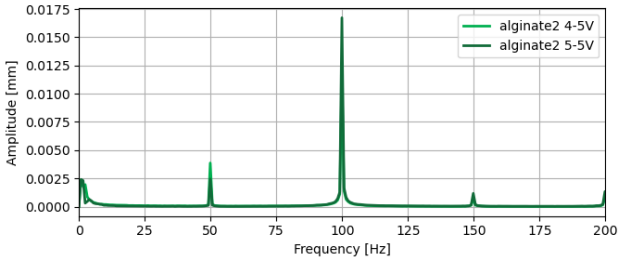



(d) Alginate 1 % à 200 Hz imposé

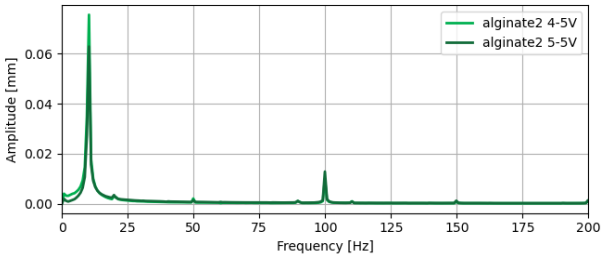



(e) Alginate 1 % à 500 Hz imposé

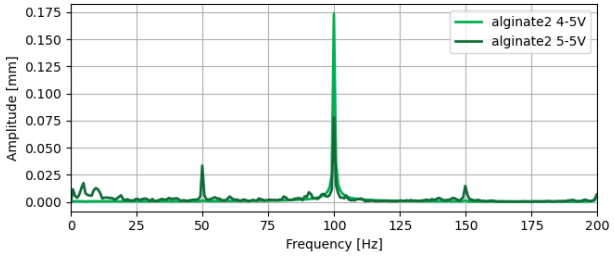
FIGURE 4.7 – **Spectres FFT des gouttes d'alginate 1 %.** *Les figures (a) à (e) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 0-10-100-200-500 Hz. Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (jaune clair) et à 5,5 V (jaune foncé). Les spectres des autres fréquences imposées sont présentés en annexes.*



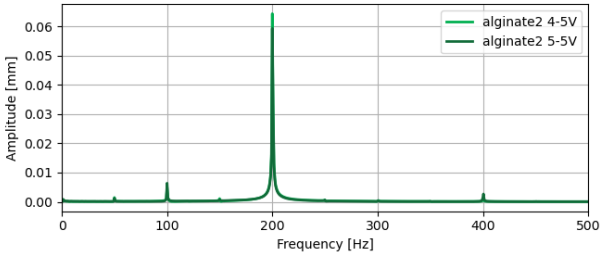

(a) Alginate 2 % à modulation non imposée



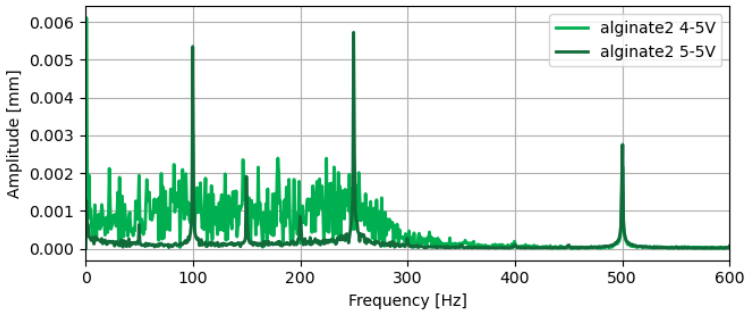

(b) Alginate 2 % à 10 Hz imposé




(c) Alginate 2 % à 100 Hz imposé

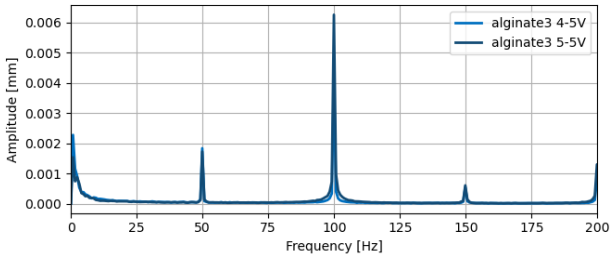



(d) Alginate 2 % à 200 Hz imposé

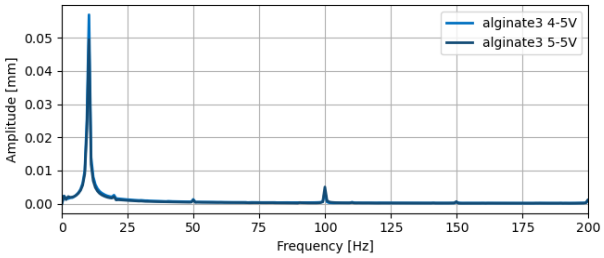



(e) Alginate 2 % à 500 Hz imposé

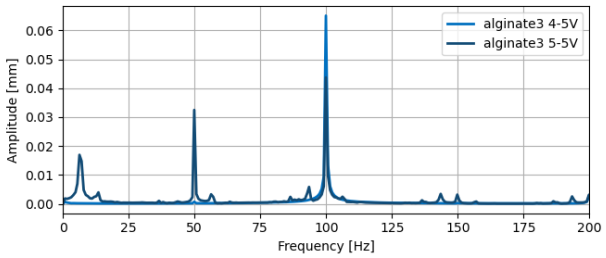
FIGURE 4.8 – **Spectres FFT des gouttes d'alginate 2 %.** *Les figures (a) à (e) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 0-10-100-200-500 Hz. Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (vert clair) et à 5,5 V (vert foncé). Les spectres des autres fréquences imposées sont présentés en annexes.*



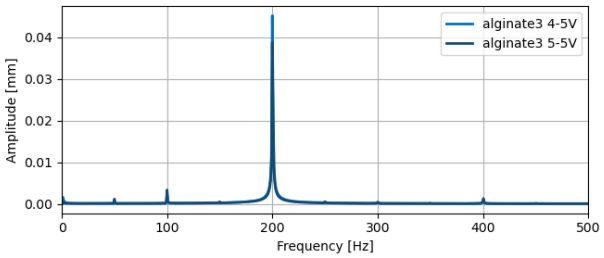

(a) Alginate 3 % à modulation non imposée



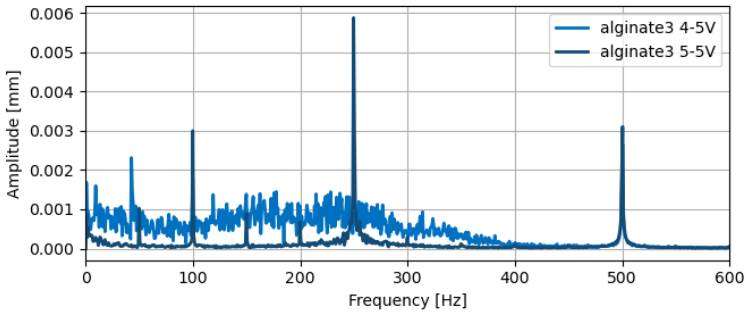

(b) Alginate 3 % à 10 Hz imposé




(c) Alginate 3 % à 100 Hz imposé

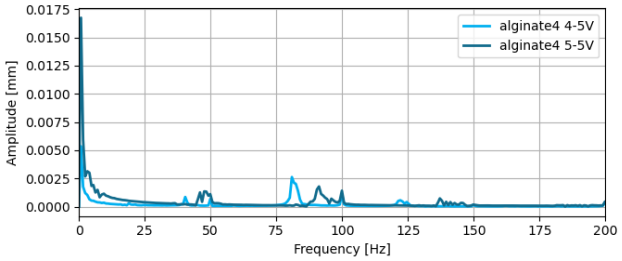



(d) Alginate 3 % à 200 Hz imposé

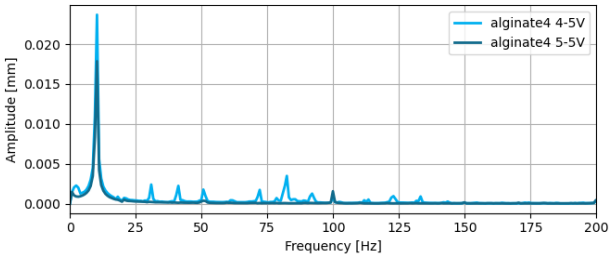



(e) Alginate 3 % à 500 Hz imposé

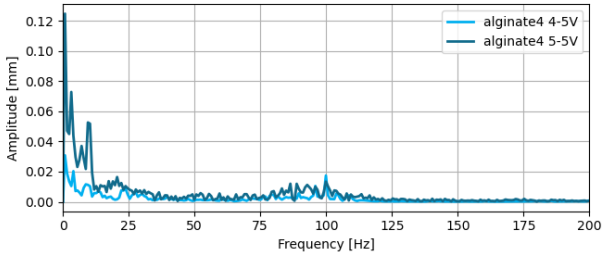
FIGURE 4.9 – **Spectres FFT des gouttes d'alginate 3 %.** *Les figures (a) à (e) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 0-10-100-200-500 Hz. Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (bleu clair) et à 5,5 V (bleu foncé). Les spectres des autres fréquences imposées sont présentés en annexes.*



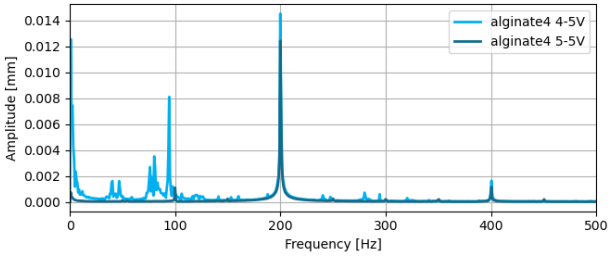

(a) Alginate 4 % à modulation non imposée



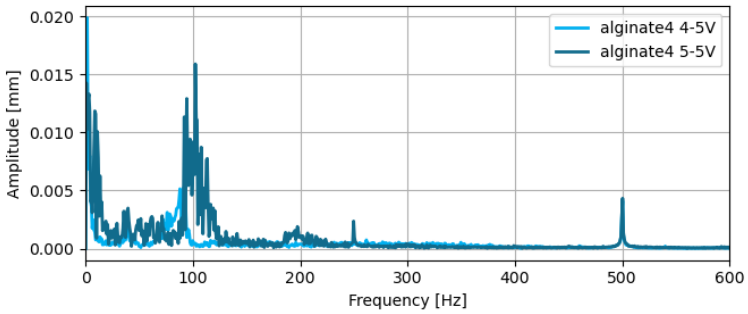

(b) Alginate 4 % à 10 Hz imposé




(c) Alginate 4 % à 100 Hz imposé

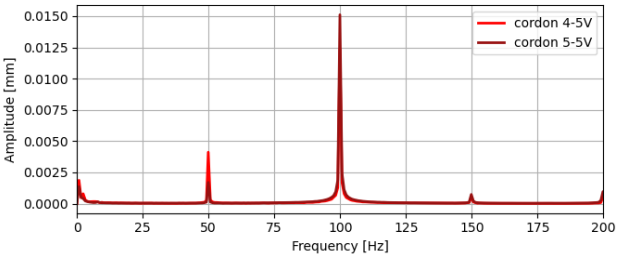



(d) Alginate 4 % à 200 Hz imposé

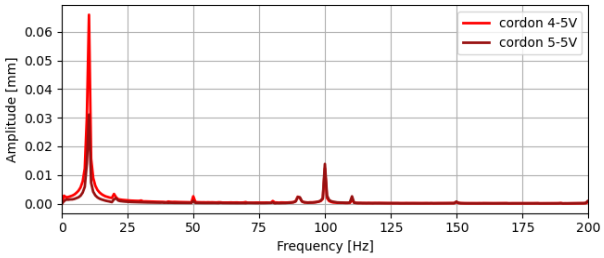



(e) Alginate 4 % à 500 Hz imposé

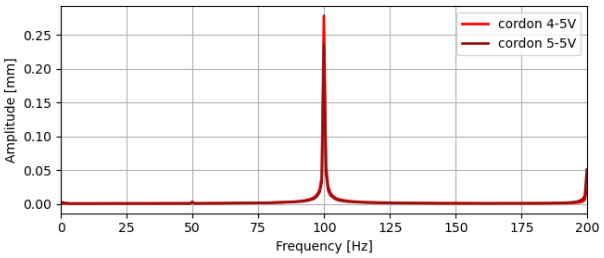
FIGURE 4.10 – **Spectres FFT des gouttes d'alginate 4 %.** *Les figures (a) à (e) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 0-10-100-200-500 Hz. Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (cyan clair) et à 5,5 V (cyan foncé). Les spectres des autres fréquences imposées sont présentés en annexes.*



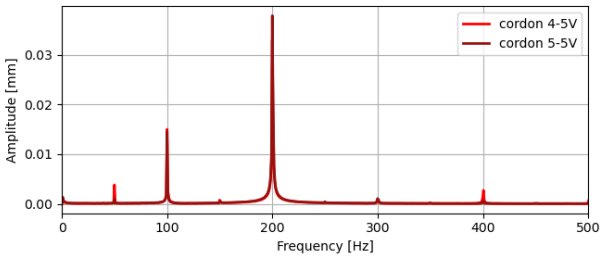

(a) WJ à modulation non imposée



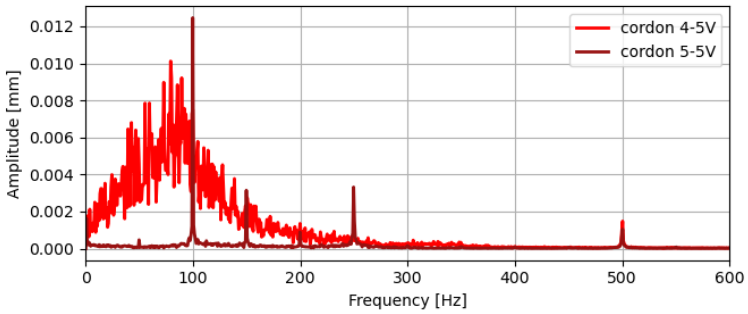

(b) WJ à 10 Hz imposé




(c) WJ à 100 Hz imposé

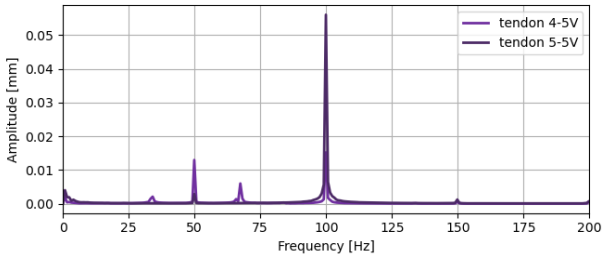



(d) WJ à 200 Hz imposé

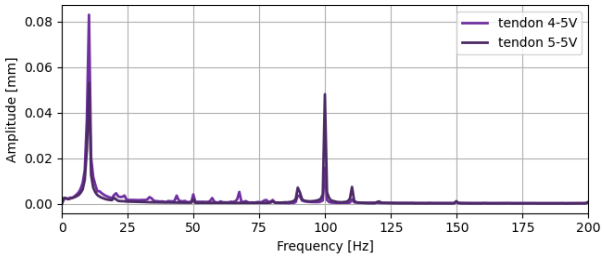



(e) WJ à 500 Hz imposé

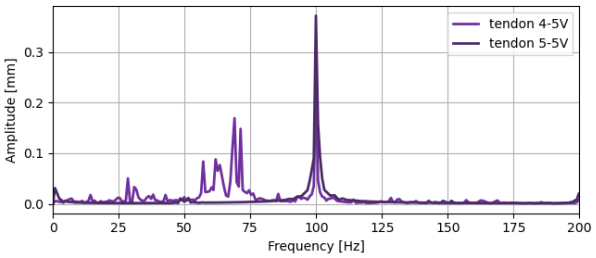
FIGURE 4.11 – **Spectres FFT des gouttes de WJ.** *Les figures (a) à (e) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 0-10-100-200-500 Hz. Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (rouge clair) et à 5,5 V (rouge foncé). Les spectres des autres fréquences imposées sont présentés en annexes.*



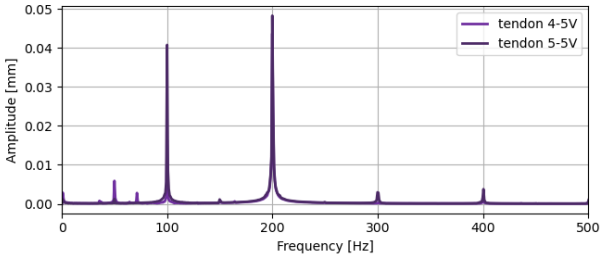

(a) RT à modulation non imposée



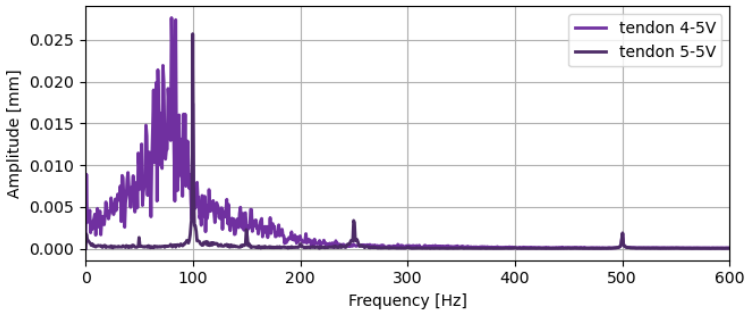

(b) RT à 10 Hz imposé




(c) RT à 100 Hz imposé



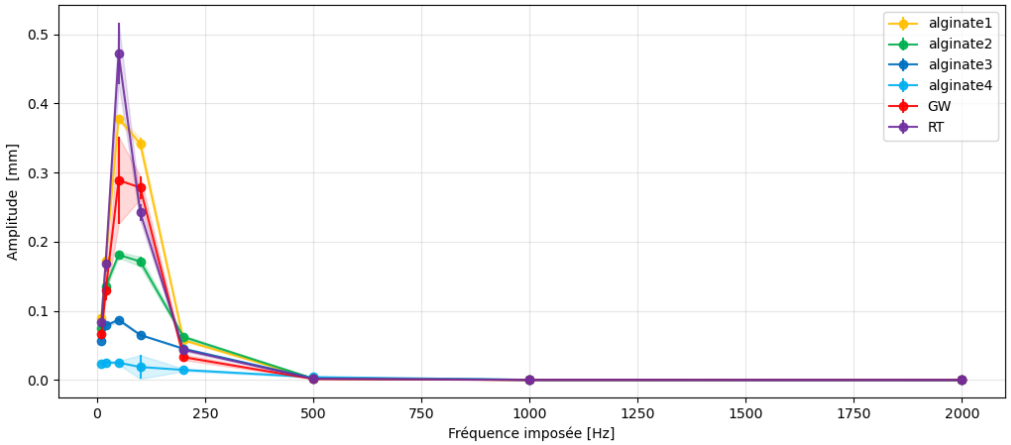

(d) RT à 200 Hz imposé



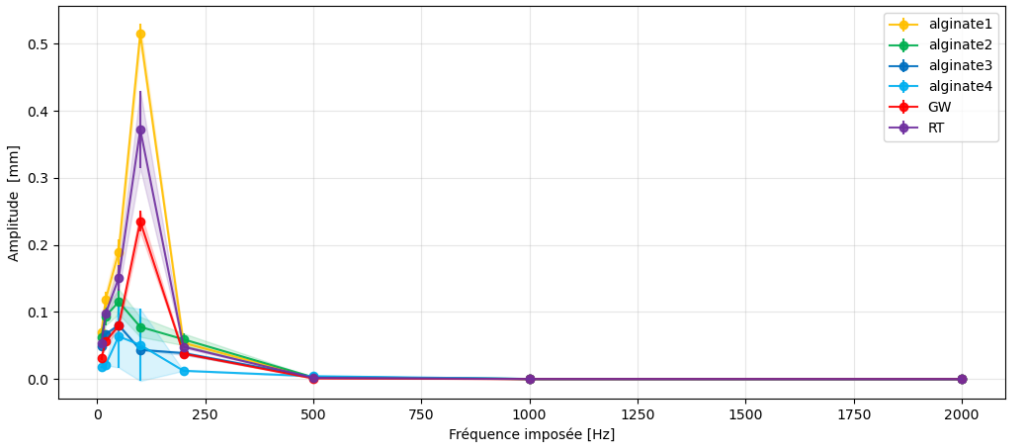

(e) RT à 500 Hz imposé

FIGURE 4.12 – **Spectres FFT des gouttes de RT.** *Les figures (a) à (e) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 0-10-100-200-500 Hz. Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (violet clair) et à 5,5 V (violet foncé). Les spectres des autres fréquences imposées sont présentés en annexes.*

Les figures suivantes montrent l'amplitude du déplacement des gouttes mesurée à la fréquence de modulation imposée, telle qu'extraite des spectres de Fourier.




(a) Tension d'entrée de 4,5 V




(b) Tension d'entrée de 5,5 V

FIGURE 4.13 – **Amplitude de déformation en fonction de la fréquence imposée.** *Amplitude mesurée pour les six solutions sous (a) 4,5 V et (b) 5,5 V. Les matériaux sont : alginate 1 % (jaune), alginate 2 % (vert), alginate 3 % (bleu foncé), alginate 4 % (cyan), WJ (rouge) et RT (violet). Les valeurs correspondent à la fréquence dominante extraite par FFT, avec barres d'erreur calculées sur trois gouttes par condition.*

Toutes les gouttes de solutions de polymère testées sont capables de suivre la modulation jusqu'à 200 Hz, caractérisée par la présence d'un pic spectrale distincte à cette fréquence dans les spectres de Fourier. Cependant, le comportement varie fortement selon la fréquence imposée. A 20 Hz, on observe une instabilité importante des gouttes, se traduisant par de fortes oscillations horizontales qui peuvent parfois provoquer l'éjection de la goutte de son noeud de pression. A 100 Hz, les gouttes présentent une déformation significative, mais celle-ci ne correspond pas à des compressions cycliques de la goutte ; la forme évolue plutôt de manière plus complexe (voir figures ci-après). A 200 Hz, la déformation est encore différente, avec l'apparition d'un effet de vague à la surface des gouttes.

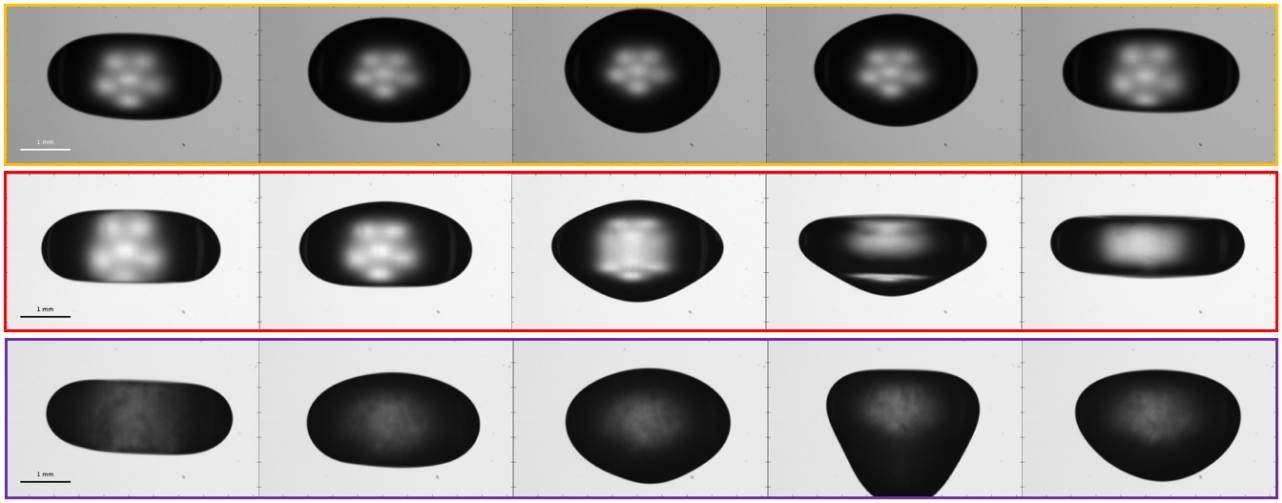
Au-délà, à 500 Hz, on atteint une limite de suivi : un pic reste visible dans le spectre, mais une fréquence de 100 Hz domine désormais. Pour des fréquences plus élevées (1000 et 2000 Hz), les gouttes, quel que soit le matériau, ne peuvent plus suivre la modulation, en raison de leur amortissement visqueux.

Lors de l'analyse des spectres de Fourier pour toutes les gouttes et toutes les fréquences de modulation, on remarque systématiquement la présence d'un pic autour de 100 Hz, indépendamment de la fréquence imposée ou du matériau testé. Cette observation a motivé une investigation plus approfondie afin de comprendre l'origine de cette fréquence parasite.

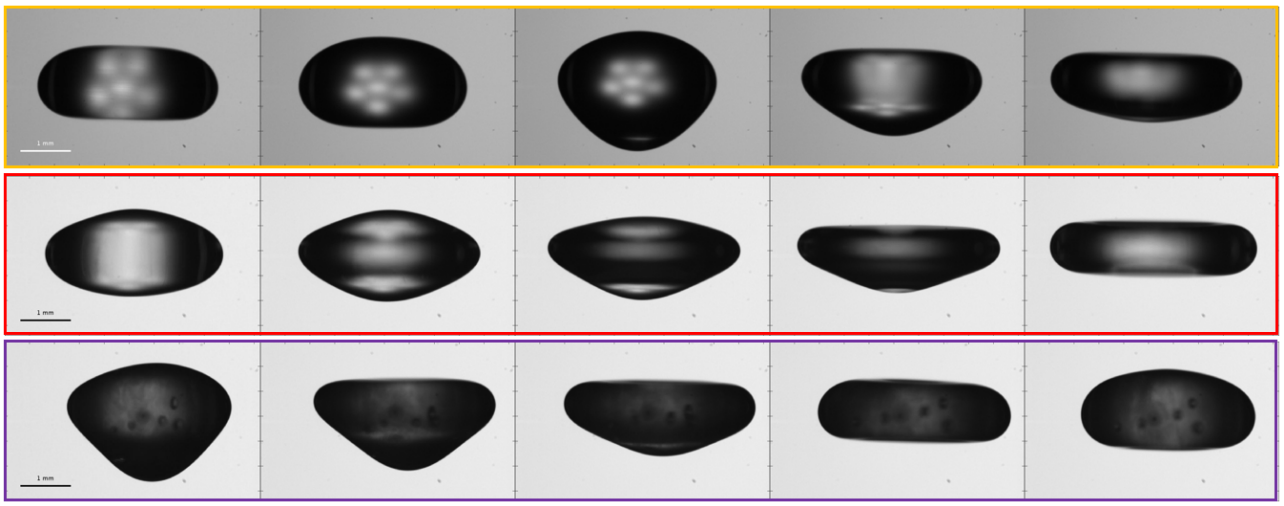
#### 4.2.1.2 Présence d'une fréquence parasite

Les figures suivantes (**Figure 4.14**) présentent le profil déformé des différents gouttes lorsque la fréquence de modulation imposée est de 100 Hz. Aucune échelle temporelle précise n'est

donnée, l'objectif étant d'illustrer comment chaque goutte réagit à cette fréquence spécifique.

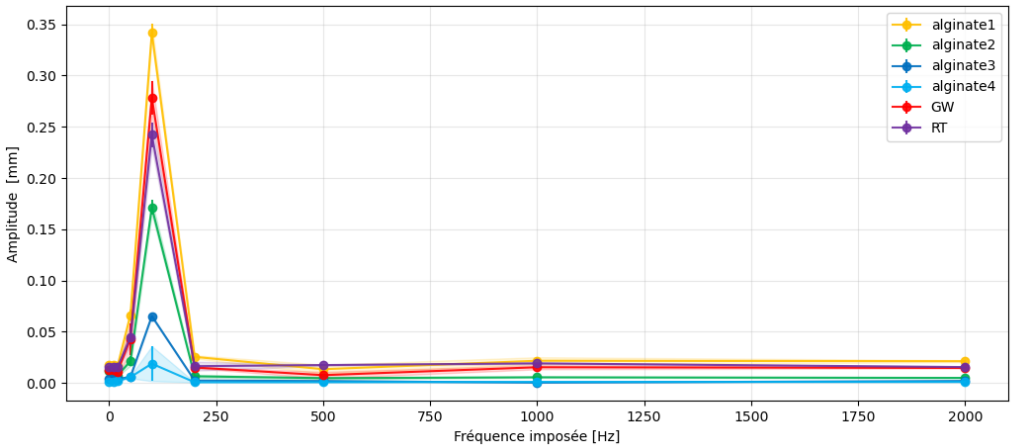


(a) Profils des gouttes à la tension d'entrée de 4,5 V

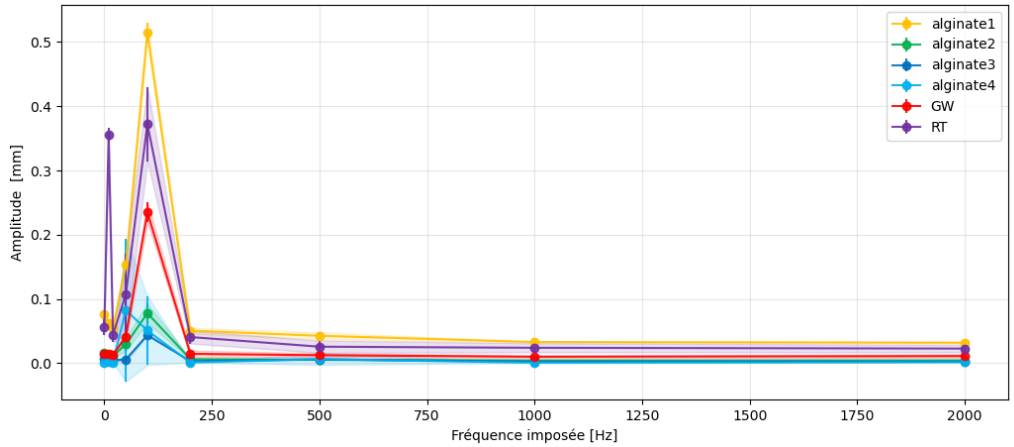


(b) Profil des gouttes à la tension d'entrée de 5,5 V

FIGURE 4.14 – **Profil des gouttes de solution à 100 Hz pour deux tensions d'entrée.** *Les sous-figures présentent les séquences d'images des gouttes à deux tensions : (a) 4,5 V et (b) 5,5 V. Chaque couleur correspond à une solution spécifique : algiante 1 % (orange), alginate 2 % (vert foncé), alginate 3 % (bleu foncé), alginate 4 % (bleu clair), WJ (rouge) et RT (violet).*




(a) Tension d'entrée de 4,5 V




(b) Tension d'entrée de 5,5 V

FIGURE 4.15 – **Amplitude de la composante à 100 Hz en fonction de la fréquence de modulation imposée.** *Amplitude du pic fréquentiel autour de 100 Hz pour les six solutions sous (a) 4,5 V T1 et (b) 5,5 V. Les matériaux sont : alginate 1 (jaune), alginate 2 (vert), alginate 3 (bleu foncé), alginate 4 (cyan), WJ (rouge) et RT (violet). Les valeurs proviennent de la FFT moyenne sur trois gouttes par condition, avec barres d'erreur associées.*

Les valeurs permettant de tracer la figure (**Figure 4.15**) sont disponibles dans le tableau de l'annexe (**5.2.5**).

Dans tous les cas, un pic autour de 100 Hz est observé, particulièrement lorsque la fréquence imposée coïncide avec celle-ci, entraînant une amplitude importante des solutions testées. Ce pic est également visible lorsque aucune modulation n'est appliquée, suggérant que cela n'est pas une fréquence naturelle de la goutte.

On peut donc en conclure que ce pic est généré par le lévitateur acoustique lui-même. Bien que sur secteur, le courant alternatif (AC) fonctionne à 50 Hz, le pic observé à 100 Hz peut être expliqué par le fait que la pression acoustique efficace est proportionnelle au carré de la tension appliquée [215]. Si l'on considère une tension sinusoïdale $V(t) = V_0 \sin(\omega t)$, son carré s'écrit :

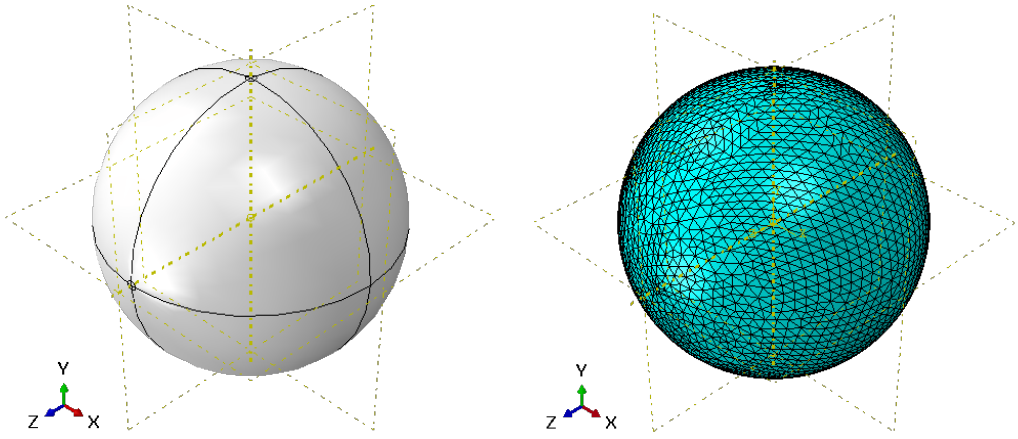
$$V^2(t) = \frac{V_0^2}{2}(1 - \cos(2\omega t))$$

d'après l'identité trigonométrique $(\sin x^2) = \frac{1-cos(2x)}{2}$, on voit donc apparaître un composant à deux fois la fréquence d'origine, soit $2 \times 50\text{Hz} = 100\text{Hz}$, ce qui permet de formuler un élément d'explication des observations relatives à ces spectres expérimentaux. Ce phénomène est indépendant du comportement des gouttes et semble donc reflèter simplement la fréquence sur secteur du signal appliqué au lévitateur.

### 4.2.2 Analyse numérique préliminaire des modes de résonance des gouttes de solutions

Afin d'étudier la dynamique des gouttes et déterminer leurs fréquences de résonance en fonction des paramètres matériaux des solutions décrit dans le chapitre 3 (section 3.5.2), une simulation utilisant la méthode des éléments finis a été développé sur le logiciel commercial Abaqus. Ce choix a été justifié par le fait que le code de calcul FEBio utilisé dans la suite de ce chapitre ne permet pas facilement d'effectuer des analyses vibratoires.

Pour reproduire les conditions de lévitation acoustique sans modéliser la force de radiation acoustique, le centre de la sphère a été contraint à l'aide d'une petite région sphérique interne. La géométrie a été partitionnée selon les plans XY, YZ et ZX afi de créer des cylindres internes convergeant vers le centre, définissant ainsi une sphère centrale à contraindre. Une condition aux limites de type *PINNED* a été appliquée à cette région, bloquant les degrés de liberté en translation tout en laissant libre en rotation. Quant au maillage, il est constitué d'éléments tétraédriques quadratiques (C3D10),

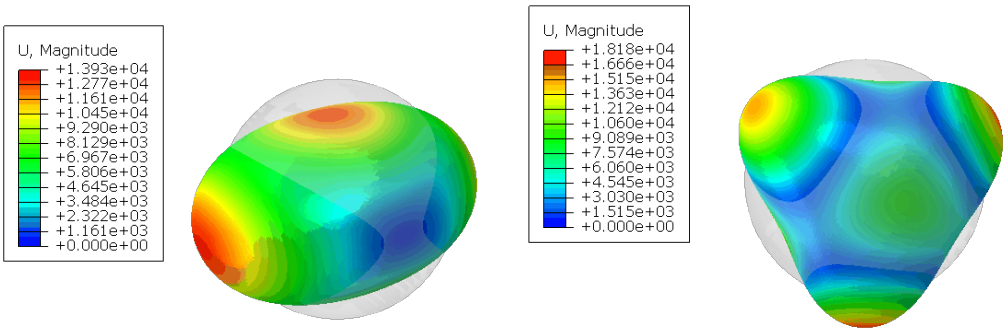



(a) (b)

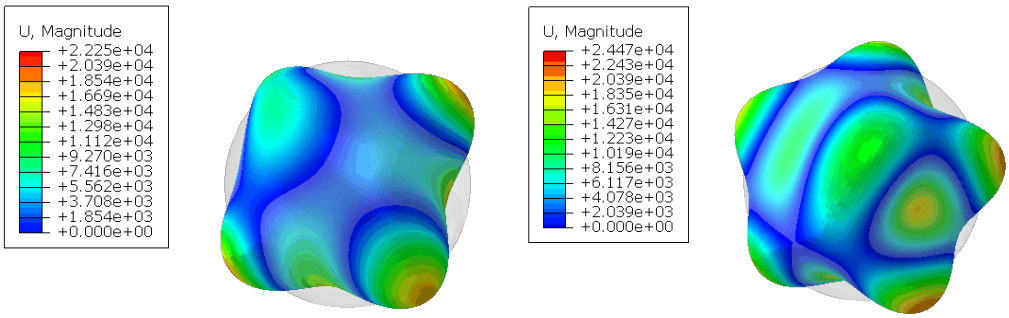
FIGURE 4.16 – **Modèle numérique d'une goutte de 13 µL.** *(a) Forme initial de la goutte avant simulation et (b) maillage associé.*

Une analyse modale a ensuite été menée afin d'identifier les fréquences propres de la goutte lévitée pour les six solutions de polymère étudiées et de caractériser leur comportement dynamique. En raison de la géométrie sphérique, une forte densité de modes propres apparaît et le nombre de modes extrait a été adapté pour couvrir la plage fréquentielle pertiente. Les quatres

premiers modes principaux présentent tous une forme sectorielle similaire : à titre d'exemple la **Figure 4.17** illustre ces modes pour la solution RT. Cette approche permet d'interpréter les faibles pics observés dans les spectres de Fourier en dehors de la fréquence de modulation imposée et de relier ces phénomènes aux caractéristiques spécifiques des solutions de polymère. Les fréquences varient entre 43,96 et 102,81 Hz pour l'alginate 1 %, entre 101,83 et 238,17 Hz pour l'alginate 2 %, entre 139,85 et 327,11 Hz pour l'alginate 3 %, entre 208,21 et 487 Hz pour l'alginate 4 %, entre 28,7 et 78,40 Hz pour WJ et entre 46,64 et 109,09 Hz pour RT.




(a) Fréquence de 46,64 Hz (b) Fréquence de 69,95 Hz




(c) Fréquence de 90,16 Hz (d) Fréquence de 109,09 Hz

FIGURE 4.17 – **Déformations modales de la goutte.** *Déformations de la goutte obtenues par analyse modale pour différentes fréquences : (a) 46,64 Hz, (b) 69,95 Hz, (c) 90,16 Hz et (d) 109,81 Hz, illustrant les quatres premiers modes.*

Les fréquences obtenues numériquement ont été comparées aux estimations analytiques issues de la formule de fréquences de résonance développée par Rayleigh et Lamb [287, 226] :

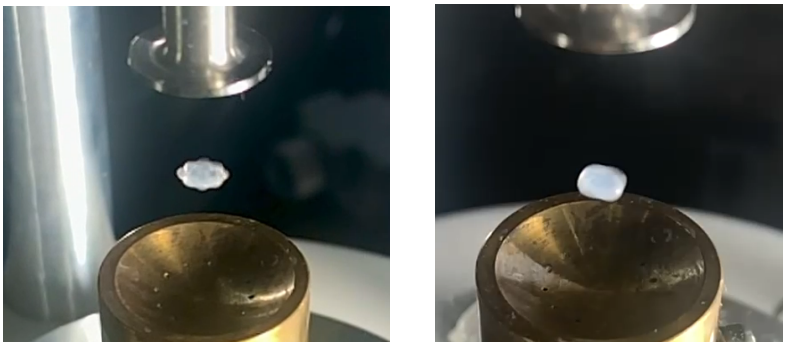
$$f_n = \frac{1}{2\pi}\sqrt{\frac{n(n-1)(n+2)\gamma}{\rho R^3}} \tag{4.1}$$

avec $\gamma$ la tension de surface, $\rho$ la densité, $R$ le rayon et $n \geqslant 2$ l'ordre du mode.
Cette formule fournit un ordre de grandeur des fréquences de résonance d'une goutte libre. Toutefois, dans le cas présent, la présence d'une contrainte centrale visant à reproduire la lévitation acoustique ainsi que le comportement viscoélastique des solutions étudiés introduisent des écarts avec la théorie de Rayleigh. Cette comparaison permet néanmoins de vérifier la cohérence des résultats numériques.

Les fréquences théoriques des quatre premiers modes varient entre 66,06 et 276,18 Hz pour l'alginate 1 %, entre 67,29 et 281,5 Hz pour l'alginate 2 %, entre 68,43 et 286,27 Hz pour l'alginate 3 %, entre 69,49 et 290,68 Hz pour l'alginate 4 %, entre 49,03 et 205,12 Hz pour WJ, et entre 60,67 et 258,83 Hz pour RT.

### 4.2.3 Comportement en résonance

Des observations mettent en évidence des comportements spécifiques de la goutte, avec ou sans modulation, correspondant à des motifs de résonance parfois qualifiés de "solide" ou en "étoile" dans la littérature (**voir chapitre 2**). Ces observations restent qualitatives, et la survenue de ces formes dépendait des conditions expérimentales : elles apparaissaient de manière imprévisible, sans qu'il ait encore été possible de prédire exactement quand ou comment elles se manifestaient.



(a) Etoile à quatre lobes (b) Etoile à deux lobes

FIGURE 4.18 – **Formes étoilées observés sur les gouttes en résonance.** *Images montrant des gouttes en lévitation acoustique ayant une forme étoile en résonance : (a) Etoile à 4 lobes et (b) étoile à 2 lobes.*

## 4.3 Evaporation

L'étude de l'évaporation est essentielle pour comprendre la stabilité des gouttes en lévitation et l'évolution de leur volume au cours du temps. Elle est également déterminante pour les applications biologiques, permettant d'estimer les temps de culture cellulaire possibles, afin d'éviter une perte trop importante du milieu qui pourrait influencer le comportement et réponse des cellules.
Trois scénarios sont envisagés : évaporation sans enceinte, évaporation avec enceinte et évaporation sous PSM (Poste de Sécurité Microbiologique), cette dernière étant spécifiquement destinée aux applications biologiques présentées dans le chapitre 5. Cette section se concentre sur l'impact des conditions environnementales sur la diminution du volume et sur la durée de maintien des gouttes.

Deux représentations complémentaires ont été utilisées. La première consiste à tracer le volume normalisé $V/V_0$ en fonction du temps. Cette représentation montre directement la fraction de liquide restant dans la goutte. Elle permet de comparer facilement les différents échantillons et les conditions expérimentales (sans ou avec enceinte), ainsi que la variabilité entre solutions. Une analyse statistique préalable a montré l'absence de différence significative entre les méthodes de calcul du volume (formule sphéroïde et par intégration verticale) ; en conséquence, seule la méthode fondée sur l'approximation sphéroïdale est retenue dans la présente section.

La seconde représentation repose sur une loi classique d'évaporation en $D^2$. Dans ce cas, il s'agit de calculer le diamètre sphérique équivalent $D$ à partir du volume mesuré et de tracer $(D/D_0)^2$ en fonction du temps normalisé $t/D_0^2$. Selon cette loi, dans des conditions idéales d'évaporation quasi-statique, le carré du diamètre de la goutte décroît linéairement avec le temps. Cette approche met donc l'accent sur la cinétique géométrique de la goutte, indépendamment du volume initial, et permet de comparer différents échantillons ou réplicas sur une même échelle.

En résumé, le graphe $V/V_0$ permet d'illustrer de manière intuitive la perte de volume et la dynamique globale de chaque goutte, tandis que le graphe $D^2$ normalisé permet de vérifier la conformité à la loi physique et de détecter d'éventuelles déviations par rapport au modèle théorique.

### 4.3.1 Evaporation sans enceinte

Dans ce scénario, l'évolution du volume des gouttes est analysée dans l'air ambiant sans enceinte, afin de suivre l'évaporation tout en vérifiant la répétabilité des mesures à température et humidité relativement constantes au cours de la journée, bien que non contrôlées (température comprise entre 18,9 et 20,6°C et humidité entre 30 et 34,3 %). La tension d'entrée a été fixée à 4,5 V pour toutes les solutions , à l'exception de la solution de WJ dont la forte compression a

nécessité une tension réduite à 4 V.

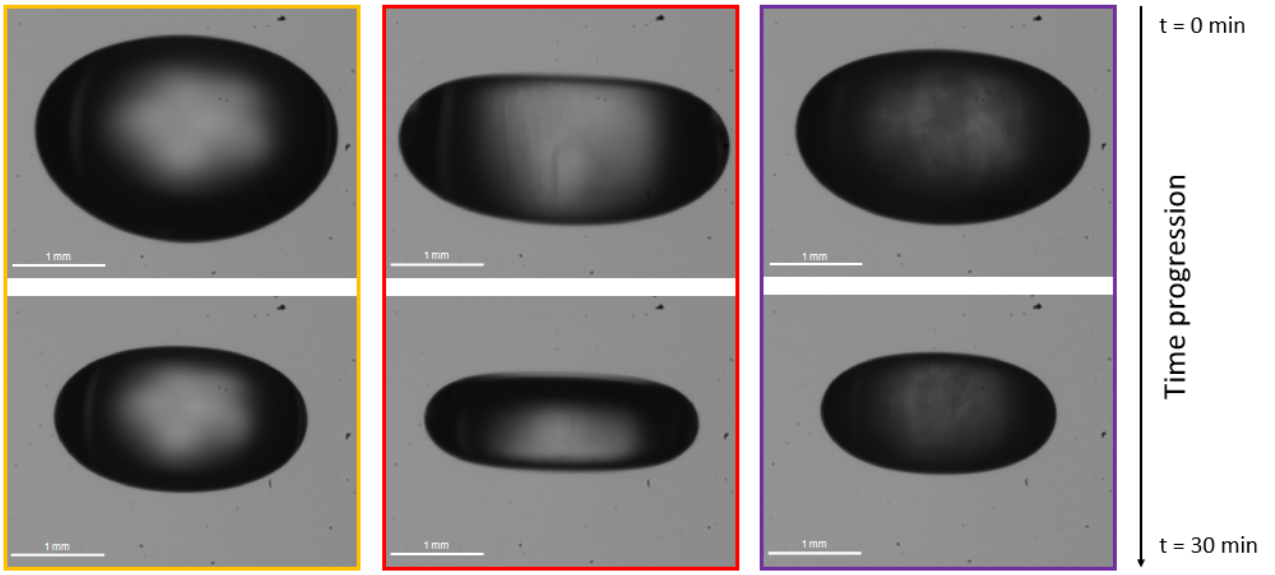
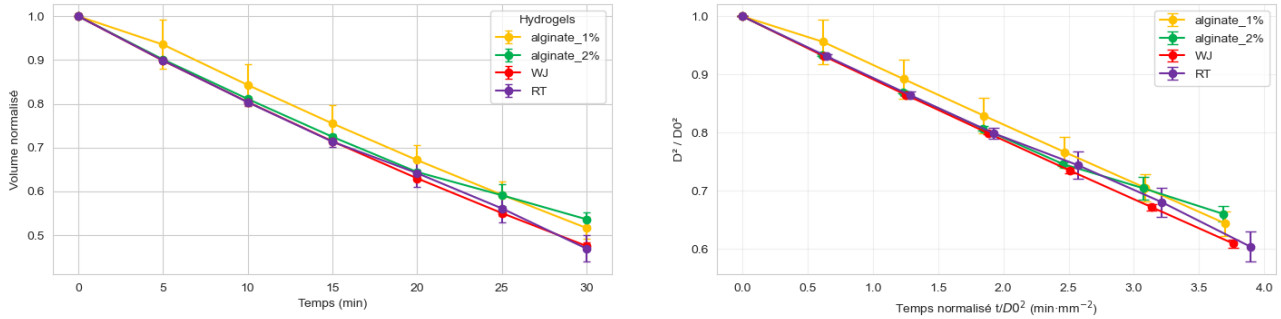



FIGURE 4.19 – **Évolution de la forme des gouttes au cours de l'évaporation.** *Images des gouttes à t = 0 min (début de l'expérience) et t = 30 min (fin de l'expérience), illustrant la variation de volume et de forme au cours du temps pour différents solutions .*




(a) Volume normalisé en fonction de t

(b) Loi de $D^2$ en fonction de $t/D0^2$

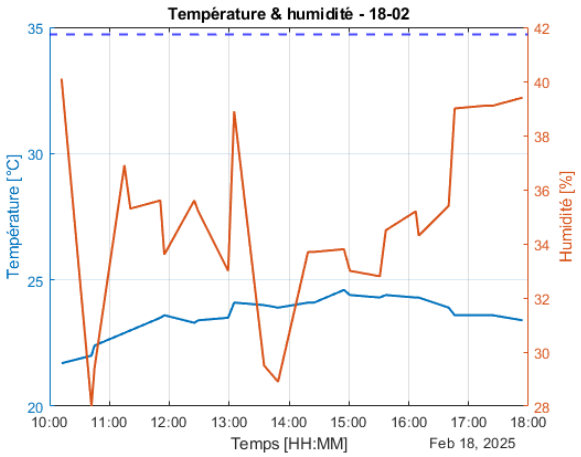
FIGURE 4.20 – **Evaporation des gouttes sans enceinte : volume normalisé et loi de $D^2$.** *Evolution du volume normalisé des gouttes pour les six échantillons : alginate 1 % (jaune), 2 % (vert), 3 % (bleu foncé), 4 % (bleu clair), WJ (rouge) et RT (violet),*

Les essais sur les solutions d'alginate 3 % et alginate 4 % n'ont pas pu être réalisés, car les solutions étaient trop instables et ne pouvaient rester en lévitation. Par conséquent, seuls les quatre autres solutions sont présentées dans la figure. Pour chacune des solutions , la perte de volume moyenne après 30 min d'évaporation était de 48,4 ± 2,5 % pour l'alginate 1 %, de 46,4 ± 1,6 % pour l'alginate 2 %, de 52,5 ± 0,8 % pour WJ et de 53,1 ± 3,0 % pour RT. L'analyse statistique post hoc de Tukey réalisée sur ces données montre qu'il n'y a pas de différence significative entre la solution de référence alginate 1 % et les trois hautes solutions testées.

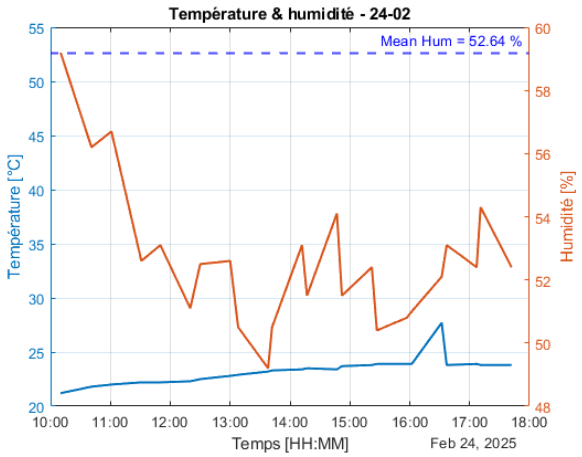
### 4.3.2 Evaporation avec enceinte

L'objectif de ce scénario était de limiter l'évaporation en plaçant les gouttes dans une enceinte, tout en conservant une lévitation stable. En pratique, le volume maximal a été limité à 11 µL. Sans insert en mousse, la présence de l'enceinte en verre induisait des interférences dans le champ acoustique, rendant le maintien des gouttes plus difficile. L'ajout d'insert en mousse a permis de stabiliser le champ acoustique, suffisamment pour déposer et maintenir une goutte en lévitation, tout en restant inférieur au volume maximal déposé en l'absence d'enceinte. Cela a ainsi permis d'étudier si l'enceinte contribue effectivement à réduire l'évaporation des gouttes sous des conditions partiellement contrôlées. Les expériences ont été conduites à température et humidité ambiantes non contrôlées variant significativement dans les mêmes journées, comprises entre 21,2 et 27,7 °C et entre 28 et 56,2 % ce qui peut expliquer les écart-types. La tension d'entrée a également été fixée à 4,5 V pour toutes les solutions, à l'exception de la solution de WJ où une tension de à 4 V est appliquée. Au cours de la mesure et dû à une évaporation rapide, comme décrit à la suite, une diminution de la tension à 4 V a dû être appliquée aux solutions afin d'éviter une compression trop importante pouvant mener à l'éjection de la goutte.

Les figures suivantes montrent l'évolution de la température et de l'humidité au sein de l'enceinte, mesurées par un capteur connecté à une carte Raspeberry Pi. De nombreuses fluctuations sont observées, principalement liées à l'ouverture de la petite trappe nécessaire pour récupérer et déposer une goutte. Ces variations peuvent contribuer aux écarts observés entre les différents solutions, et montrent également que l'ajout d'une enceinte avec ce type d'ouverture pour placer la goutte ne permet pas de maintenir des conditions de température et d'humidité plus stables.



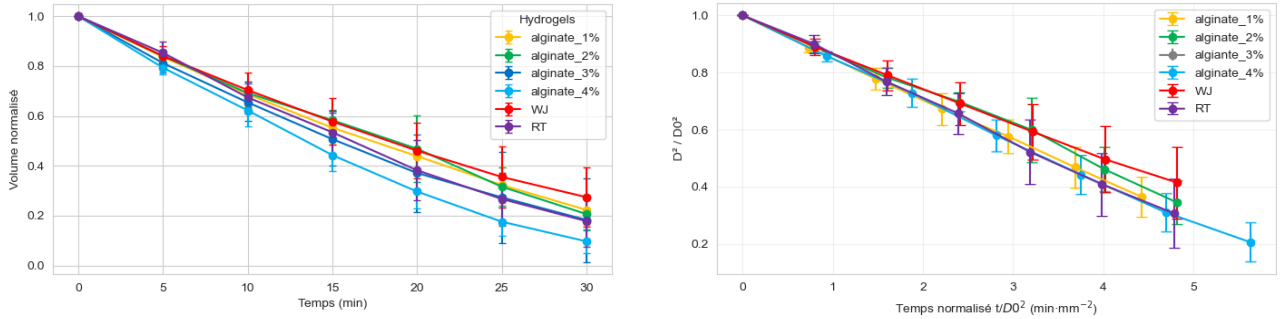

(a) Evolution temporelle de la température et de l'humidité mesurées au cours de la 1ère journée




(b) Evolution temporelle de la température et de l'humidité mesurées au cours de la 2ème journée

FIGURE 4.21 – **Evolution de la températion et de l'humidité dans l'enceinte sur deux journées.** *La température et l'humidité relative ont été enregistées dans l'enceinte sur deux journées à l'aide d'un capteur contrôlé par une carte Raspeberry Pi, permettant de suivre les variations au cours du temps.*

Une analyse statistique à deux facteurs (two-way ANOVA) a été réalisée préalablement afin d'évaluer l'effet du jour d'expérimentation sur les mesures effectuées en présence de l'enceinte. Cette analyse visait à déterminer si les données acquises lors des deux sessions expérimentales distinctes, réalisées des conditions de température et d'humidité différentes, pouvaient être regroupées en vue de la comparaison avec les données obtenues en l'absence d'enceinte. L'analyse n'ayant révélé aucun effet significatif du facteur "jour", l'ensemble des données correspondantes a été regroupé au sein d'un même jeu de données pour les analyses ultérieures.




(a) Volume normalisé en fonction de t

(b) Loi de $D^2$ en fonction de $t/D0^2$

FIGURE 4.22 – **Evaporation des gouttes avec enceinte : volume normalisé et loi de $D^2$.** *Evolution du volume normalisé des gouttes pour les six échantillons : alginate 1 % (jaune), 2 % (vert), 3 % (bleu foncé), 4 % (bleu clair), WJ (rouge) et RT (violet),*

Dans ces conditions, il a été possible de faire léviter de manière stable des gouttes de solutions d'alginate 3 % et alginate 4 %, contrairement aux expériences précédentes sans enceinte où ils ne pouvaient pas être maintenues. Pour chacun des six solutions, la perte moyenne volume était de 77,7 ± 6 % pour l'alginate 1 %, 79,4 ± 6,6 % pour l'alginate 2 %, 81,7 ± 16,8 % pour l'alginate 3 %, 90,3 ± 4,8 % pour l'alginate 4 %, 72,6 ± 11,9 % pour WJ et 82,2 ± 10,1 % pour RT. L'analyse statistique post hoc de Tukey indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les solutions ($p > 0,05$), donc que le type de solution n'a pas d'effet significatif sur l'évaporation. Néanmoins, les écarts-types importants montrent bien que les variations de la température et de l'humidité dans l'enceinte ont un effet notable sur les mesures d'évaporation.

De manière générale, le facteur "enceinte" a montré un effet marqué sur l'évaporation. En moyenne, la perte de volume est environ deux fois plus importante en l'absence d'enceinte et environ trois fois en présence de l'enceinte. Les analyses statistiques confirment que cet effet est significatif ($p < 0,0001$), contrairement au facteur "type de solution", qui ne présente pas d'influence significative. Ce résultat est cohérent avec le fait que l'ensemble des solutions étudiées est constitué majoritairement d'eau ; ainsi, la composition (concentration en alginte ou présence de fibres) n'a qu'un effet limité, voir négligeable sur la cinétique d'évaporation. De plus, une légère modification de la pente des courbes est observée dans le cas avec enceinte. Cette évolution est cohérente avec le comportement rapporté lors des études d'évaporation, caractérisé par une phase initiale quasi linéaire suivie d'une tendance vers un palier. Toutefois, cet effet reste subtil et demeure une observation qualitative, qui pourrait faire l'objet d'études

complémentaires.

Pour conclure cette partie, l'analyse des mesures d'évaporation montre que l'ajout d'une enceinte ne permet pas de freiner l'évaporation. Au contraire, celle-ci en est même accentué, ce qui peut sembler contre-intuitif. Les variations de l'évolution du volume observées entre les différentes solutions semblent principalement liées aux fluctuations de la température et de l'humidité relative dans l'enceinte. En effet, les solutions étant majoritairement constituées d'eau, leur composition (alginate, collagène) ne semble pas avoir d'influence significative sur la volatilisation par rapport aux conditions environnementales, telles que la température, l'humidité relative ou la tension d'entrée.
Les mécanismes exacts expliquant l'effet de l'enceinte et de l'insert en mousse restent néanmoins difficiles à préciser. Il est possible que la mousse agisse comme un léger isolant thermique ou que, bien qu'elle réduise certaines interférences acoustiques, elle modifie le champ acoustique de manière à influencer les transferts de masse et de chaleur au niveau de la goutte. De plus, la proximité du transducteur pourrait induire un effet thermique local, potentiellement moins dissipé en présence de l'enceinte, ce qui pourrait contribuer à une regénération plus rapide de la couche limite.
Globalement, ces résultats indiquent que l'utilisation d'une enceinte n'apporte pas de bénéfices pour limiter l'évaporation et induit au contraire une variabilité accrue de la température et de l'humidité relative. L'ajout d'un dispositif permettant de contrôler précisément ces paramètres, la température et l'humidité relative pourrait être utilisé afin de stabiliser la température et de saturer en humidité, plus amplement discutés en perspective **(lien chapitre 5)**.

## 4.4 Analyse des écoulements internes par PIV

L'étude de vélocimétrie par images de particules (*Particles Image Velocimetry* ou PIV) permet d'observer les écoulements internes au sein des gouttes en lévitation acoustique. Cette approche offre une vision qualitative des mouvements induits par le champ acoustique et permet d'éventuelles contraintes de cisaillement local en raison du mouvement fluide, tout en identifiant les limites expérimentales et en confrontant les résultats aux observations de la littérature.

Des essais préliminaires ont été réalisés avec différents types de particules traceuses mélangées dans la solution afin de visualiser les écoulements internes par PIV. Ces expérimentations ont été effectuées avec la solution d'alginate 1 %, choisi pour sa faible viscosité, facilitant le mélange de particules ainsi que sa manipulation. Différents traceurs ont été testés selon leur taille et leurs propriétés optiques, notamment des billes de polyamide (PSP) de diamètre 5, 20 et 50 µm, des billes de verre de 15 µm ainsi que des particules à base de dioxyde de titane ($Ti0_2$) ou fluorescentes à base de rhodamine B de 20-50 µm.

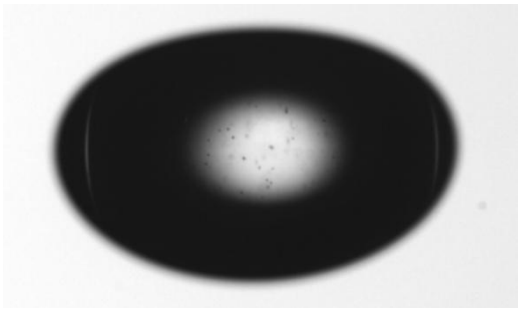
Des premiers essais ont été effectués avec les billes de verre, à raison d'environ 350 particules pour 13 µL, puis 1000 particules afin d'augmenter la concentration. A titre de comparaison, des concentrations similaires (environ 1000 particules) ont ensuite été testées avec les particules de PSM de 20 et 50 µm. De manière générale, les particules étaient visibles, mais l'effet lentille induit par la goutte sphérique compliquait la localisation des particules dans un plan donné. Or, pour le traitement d'images PIV nécessite l'obtention d'un plan de coup bien définie de la goutte, afin que les fenêtres d'interrogation analysent des particules situées dans une même "coupe" du fluide. La détermintation d'une concentration optimale de traceurs est également importante : un nombre suffisant de particules est nécessaire pour la visualisation, tandis qu'une concentration trop élevée peut générer du bruit et des réflexions parasites au sein de la goutte (comme sur la figure ? avec 1 mg de Ti02 dans 1,5 mL de solution).

Afin d'améliorer la qualité des images, des essais ont ensuite été réalisés avec un laser pulsé et des traceurs fluorescents à base de rhodamine B. Ce colorant présente un maximum d'absorption dans le vert ($\approx$ 540-560 nm) et une émission autour de 610 nm. L'excitation a été réalisée à l'aide d'un laser vert ($\approx$ 532 nm), tandis qu'un filtre optique centré à 610 nm (610/nm) a été utilisé pour bloquer la lumière laser diffusée et ne transmettre que la fluorescence. Malgré cette configuration, l'effet lentille de la goutte demeurent également limitant et la totalité de la goutte étant éclairée, il n'était pas possible d'isoler un plan de coupe exploitable.

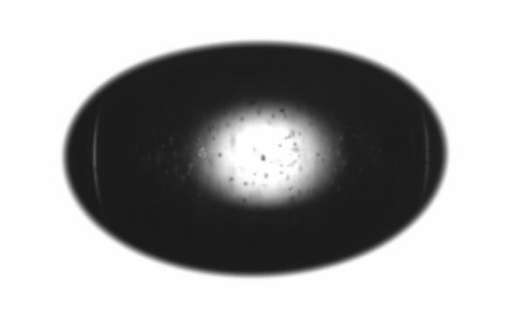
Ces observations qualitatives mettent principalement en évidence un mouvement global de type corps solide de la goutte : les particules semblent tourner collectivement autour de l'axe axial de la goutte, sans recirculations nettes telles que décrites par Yarin et Trinh, Il est donc difficile de distinguer avec certitude l'effet du flux interne de celui du mouvement global de la

goutte.

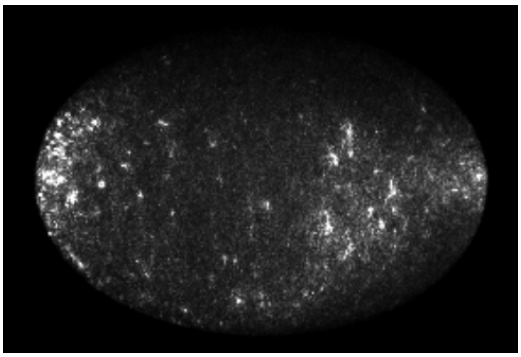
Les figures présentent différents approches qui ont été mises en oeuvre pour visualiser les particules au sein des gouttes, soit par ombroscopie, soit par illumination laser.



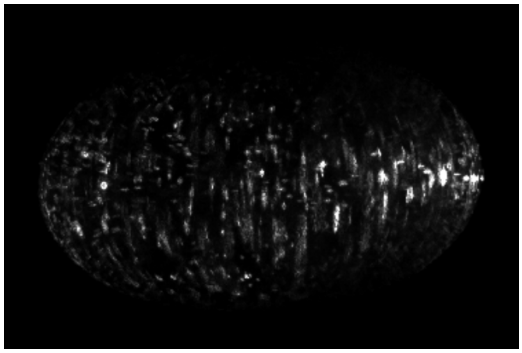
(a) Billes de verre 15 nm



(b) PSP de 20 nm

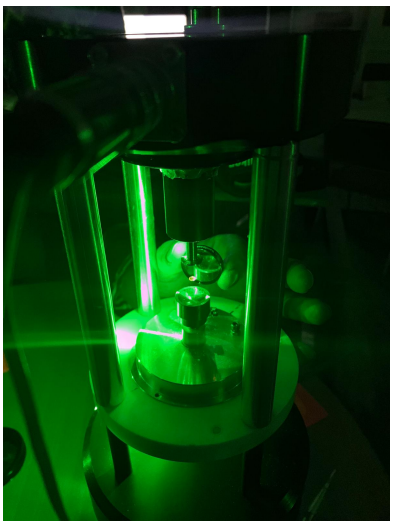


(c) Particules de $Ti0_2$

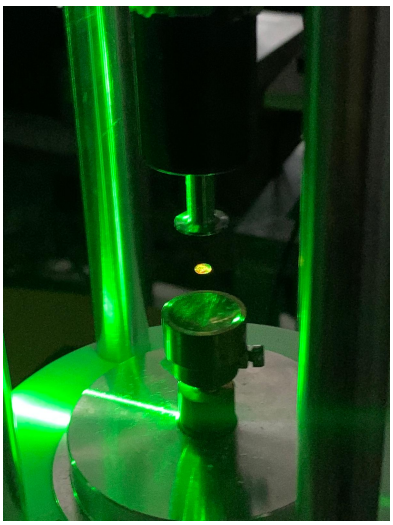


(d) PSP de 50 nm

FIGURE 4.23 – **Images de goutte sous laser ou lumière LED avec différentes particules.** *(a) Billes de verre et (b) Particules de polyamide PSP 20 nm sous source LED, (c) particules de Ti02 et (d) PSP 50 nm sous laser.*



(a) Laser pulsé ($\approx$ 532 nm) et filtre optique 610/10 nm



(b) Goutte lévitée ensemencée avec particules fluorescentes

FIGURE 4.24 – **Configuration expérimentale de PIV en lévitation acoustique.** *(a) Mise en place d'un laser pulsé permettant l'excitation des particules fluorecentes à base de rhodamine B, associé à un filtre optique bloquant la lumière laser diffusée tout en transmettant l'émission fluorescente. (b) Zoom sur une goutte d'alginate 1 % contenant des particules fluorecentes à base de rhodamine B visibles sur l'image.*

Dans les études suivantes (modélisations analytique et numérique de la déformation de la goutte en lévitation), le flux interne sera ainsi considéré comme négligeable et la goutte sera traitée comme un corps solide, sans recirculation interne. Cette hypothèse est notamment alimentée par les propriétés fortement visqueuses mentionnées au chapitre précédent, qui limitent les recirculations internes et certains phénomènes locaux parfois décrits dans la littérature. Néanoins, il s'agira de garder à l'esprit cette hypothèse lors de la quantification des stimulis mécaniques locaux issus de la simulation numérique de la goutte, qui seront donc uniquement attribués aux déformations locales de la solution et non à des contraintes de cisaillement résultant d'un éventuel mouvement local du fluide au sein de la goutte.

## 4.5 Simulation du profil déformé des gouttes en lévitation sur la base d'un modèle analytique

Afin de comprendre les mécanismes de déformation observés expérimentalement lors de la lévitation acoustique, de premières simulations ont été réalisées à l'aide du modèle analytique développé par Yarin et al. [7]. Ce modèle permet de déterminer la **répartition de pression acoustique sur la surface d'une goutte lévitée**, ainsi que la **forme d'équilibre** résultant de l'équilibre entre gravité, tension de surface et forces de radiation acoustique.

Dans l'installation expérimentale utilisée, il n'est pas possible de contrôler directement la SPL générée par le transducteur du lévitateur acoustique : seule la tension d'entrée appliquée peut être ajustée, ce qui modifie la pression acoustique de manière indirecte. L'intérêt majeur de ce modèle est de fournir un **lien quantitatif entre la pression acoustique (SPL)** et les **déformations observées**, permettant ainsi d'interpréter les variations de formes mesurées expérimentalement en fonction de la tension d'entrée.

L'objectif de cette partie est double :
(i) **déterminer les formes d'équilibre** en fonction du volume et de la pression acoustique (SPL), pour les six solutions étudiées expérimentalement ;
(ii) **quantifier les paramètres géométriques** (axes majeur,mineur, ratio de la goutte) afin de les comparer directement aux données expérimentales.

### 4.5.1 Description du modèle analytique

Le modèle analytique développé par Yarin et al. décrit le comportement d'une goutte en lévitation soumise à un champ acoustique stationnaire. Dans ce travail, ce modèle est exploité à l'aide d'une résolution numérique. La goutte est considérée comme axysymétrique et sa surface est discrétisée en $NT = 51$ éléments. La résolution numérique associée au modèle permet de déterminer :

- la géométrie de la goutte par minimisation de l'énergie totale,
- la distribution locale de pression acoustique imposée par le champ sonore stationnaire,
- la forme d'équilibre pour une valeur donnée de SPL, de volume et de tension de surface.

Le modèle analytique présenté dans le **chapitre 2**, basé sur les travaux de Yarin et al. permet de déterminer de la distribution des valeurs de pression acoustique à la surface de la goutte 2D en se reposant sur la résolution des équations d'onde de Helmotz. On rappelle que le champ acoustique est obtenu par superposition des ondes incidente et réfléchie, en approximation d'onde plane, et que la goutte est considérée comme imperméable au son. La pression acoustique local est ensuite combinée avec la pression capillaire et la pression statique pour établir l'équilibre mécanique à la surface, de sorte que la force de radiation acoustique com-

pense le poids de la goutte.

Certaines hypothèses du modèle sont précisées : le champ acoustique est décrit à partir de la vitesse du son dans l'air (calculée à partir de la température ambiante et de la composition du gaz) et de l'indice adiabatique $\gamma$. L'indice adiabatique correspond au rapport des capacités thermiques du gaz à pression et volume constants. Dans le modèle, ($\gamma = c_p/c_v$) les fluctuations de pression et de densité induites par le champ acoustique sont suffisamment rapides pour être considérées comme quasi adiabatiques. On utilise donc l'indice adiabatique de l'air $= 1,402$, ce qui permet de relier pression et densité via la loi $p\rho^{-\gamma} = constante$. Dans le cadre acoustique linéaire, cette hypothèse conduit à l'expression de la vitesse du son : $c^2 = \gamma\frac{p_0}{\rho_0}$ où $p_0$ et $\rho_0$ sont respectivement la pression et la densité statiques de l'air au repos [288].
La pression acoustique imposée sur la surface de la goutte dépend directement du SPL, paramètre clé qui contrôle la déformation de la goutte.

Deux types d'application sont possibles : l'application directe de la pression acoustique (SPL imposé) et l'application d'un rapport d'axes cible, pour lequel le modèle calcule la SPL nécessaire à reproduire la déformation souhaitée. Dans notre cas, seul le mode à SPL imposé ($Imposed_{SPL} = 1$) a été utilisé, car il permet de déterminer directement les formes et déformations de la goutte en fonction de la pression acoustique.

### 4.5.2 Paramètres physiques utilisés

La résolution numérique des valeurs de pression sur la surface de la goutte a été réalisée dans des conditions représentatives de l'expérience, afin de permettre une comparaison directe avec les données obtenues expérimentalement. Les principaux paramètres physiques considérés sont présentés dans le tableau suivant :

TABLE 4.1 – **Paramètres physiques utilisés dans les simulations.**

| **Paramètre** | **Symbole** | **Valeur / Condition** |
|---|---|---|
| Température ambiante | $T_{\text{amb}}$ | 20 °C |
| Température de la goutte | $T_{\text{droplet}}$ | 20 °C |
| Pression atmosphérique | $P$ | 101 325 Pa |
| Fréquence du transducteur | $f$ | 58 kHz |
| Indice adiabatique de l'air | $\gamma$ | 1,402 |
| Masse molaire de l'air | $M_{\text{air}}$ | 28,96 g/mol |
| Constante des gaz parfaits | $R$ | 8,314 J·mol$^{-1}$·K$^{-1}$ |
| Vitesse du son calculée | $c$ | $c^2 = \gamma p_0/\rho_0 \approx 343$ m/s |
| Densité de l'air | $\rho_0$ | calculée via la loi des gaz parfaits |
| Diffusivité vapeur/air | $D$ | $2,29 \times 10^{-5}$ m$^2$/s |
| Nombre d'éléments de surface | NT | 51 |

En parallèle, cette résolution numérique a été effectuée pour les six solutions étudiés expérimentalement, chacun caractérisé par sa tension de surface $\gamma$ (caractérisées dans le chapitre 3).

Ces valeurs déterminent ainsi la capacité de lévitation et le degré de déformation des gouttes :

- Alginate 1 % : 66,62 mN/m
- Alginate 2 % : 69,12 mN/m
- Alginate 3 % : 71,48 mN/m
- Alginate 4 % : 73,7 mN/m
- Gelée de Wharton : 36,66 mN/m
- Tendon queue de rat : 56,16 mN/m

Avec ces paramètres établis, le modèle analytique peut être utilisé pour explorer comment le volume, la tension de surface et la pression acoustique influencent la forme et la stabilité des gouttes en lévitation acoustique.

### 4.5.3 Evaluation numérique des gouttes

L'application du modèle analytique a été réalisée pour les six solutions : pour chacun, la plage de volumes allait de volume minimum commun de 0,5 µL jusqu'au volume maximum propre à ce matériau, dépendant de la tension de surface, avec un pas de 0,5 µL. Pour chaque volume, deux situations ont été considérées : la **pression acoustique minimale ($\mathbf{SPL_{min}}$)**, correspondant à une lévitation stable quasi sphérique, et la **pression maximale ($\mathbf{SPL_{max}}$)**, correspondant à la limite de déformation que le modèle peut atteindre pour le matériau, au-delà de laquelle la simulation ne converge plus.

Pour les volumes d'intérêt expérimentaux (5 µL et 9 µL), un balayage de SPL a également été effectué afin de caractériser la relation entre la pression acoustique et la compression de la goutte. Ces résultats permettent ainsi de relier directement les simulations à la tension d'entrée appliquée dans les expériences.

A partir de ces simulations, plusieurs analyses ont été réalisées :

1. **Capacité de lévitation** : détermination du volume maximal stable pour chaque solution.
2. **Formes et ellipses** : visualisation des déformations de la goutte à $\mathbf{SPL_{min}}$ et $\mathbf{SPL_{max}}$, ainsi qu'à différents niveaux de SPL pour les volumes expérimentaux.
3. **Paramètres géométriques** : récupération des axes majeur et mineur, ainsi que du ratio majeur/mineur pour quantifier la déformation des gouttes
4. **Influence des paramètres physiques** : analyse de l'effet du volume, de la tension de surface et de la pression acoustique sur la forme et la stabilité des gouttes.

**Volume maximal lévitable pour chaque solution**

La première analyse consiste à déterminer les volumes maximaux pouvant être lévités pour chaque solution simulée. Le modèle de Yarin permet d'estimer la limite du volume stable, en tenant compte de la tension de surface et des proprités du matériaux.

Les résultats montrent que cette limite varie significativement selon la tension de surface : les solutions présentant une tension de surface plus élevée peuvent maintenir des volumes plus

importants, tandis que les matériaux plus souples ou à faible tension de surface atteignent la limite du modèle à des volumes plus petits.

- Alginate 1 % : 10,77 µL
- Alginate 2 % : 11 µL
- Alginate 3 % : 11,25 µL
- Alginate 4 % : 11,5 µL
- Gelée de Wharton : 7,6 µL
- Tendon queue de rat : 9,85 µL

Ces valeurs fournissent une première indication des volumes accessibles à la lévitation acoustique dans le modèle analytique. La limite supérieure obtenue pour le volume n'est pas une limite physique intrinsèque de la goutte, mais résulte de la manière dont le modèle est formulé : il ne prend pas en compte les déformations importantes conduisant à des formes non sphéroïdales (par exemple auricualires), et il existe notamment une contrainte numérique liée à la convergence de résolution. En revanche, dans les expériences, la limite de volume semble davantage dictée par le poids de la goutte, pouvant atteindre jusqu'à 13 µL, voire légèrement plus.

Le modèle reste néanmoins essentiel pour déterminer les valeurs de $\mathbf{SPL_{min}}$ et $\mathbf{SPL_{max}}$ aux volumes étudiés expérimentalement (5 µL et 9 µL), ce qui permet de quantifier la pression acoustique appliquée sur la goutte - une grandeur non mesurable expérimentalement. Ces données constituent la base pour comprendre la compression des gouttes et pour intégrer les conditions de pression dans des simulations numériques qui seront décrites en section (**lien section**), via le modèle FEBio/GIBBON, où la répartition des pressions sur la goutte est un paramètre essentiel du jeu de données initiales.

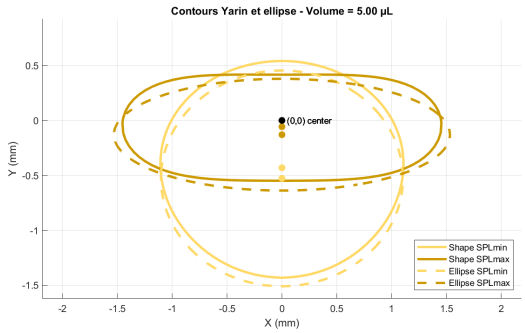
Le tableau en annexe (**lien annexe**) présente, pour chaque solution, les valeurs de $\mathbf{SPL_{min}}$ et $\mathbf{SPL_{max}}$ pour tous les volumes considérés, en partant d'un volume minimal de 0,5 µL jusqu'au volume maximal de chaque solution, avec un pas de 0,5 µL. La SPL est un paramètre modifiable correspondant au niveau de pression acoustique en dB. $\mathbf{SPL_{min}}$ est liée à la force de radiation acoustique minimale permettant de contrecarrer la gravité et pour laquelle la goutte est quasi sphérique, tandis que $\mathbf{SPL_{max}}$ correspond à la compression maximale que le modèle peut résoudre. L'intérêt de ces données est d'observer, selon le modèle analytique, comment ces limites de SPL évoluent avec le volume et la tension de surface du matériau.

Pour les volumes expérimentaux d'intérêt (5 µL et 9 µL), les formes des gouttes à $\mathbf{SPL_{min}}$ et $\mathbf{SPL_{max}}$ sont illustrées ci-après. Chaque figure contient :

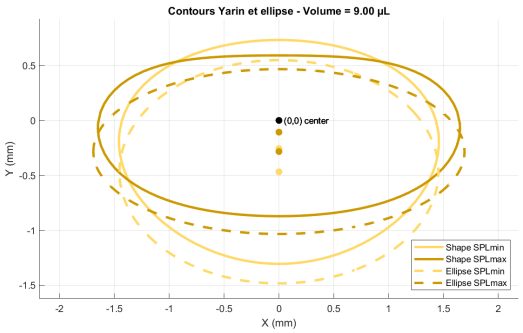
- Ellipse : forme théorique sphéroïdale de la goutte selon le modèle analytique, à SPL donnée
- Shape : forme numérique obtenue à partir du même modèle analytique à la même SPL, mais incluant l'effet de la gravité, ce qui donne un profil plus réaliste à la goutte, proche de celui observé expérimentalement

Ces figures montrent clairement la différence entre $\mathbf{SPL_{min}}$ et $\mathbf{SPL_{max}}$ : à $\mathbf{SPL_{max}}$, la goutte est repoussée vers le noeud central de pression, mais une légère descente vers le bas reste visible

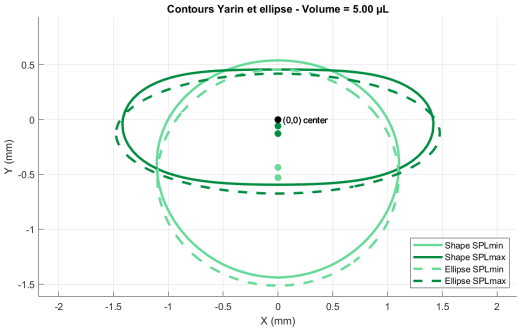
en raison du poids de la goutte, ce qui sera utile pour comparer avec les déplacements observées expérimentalement.



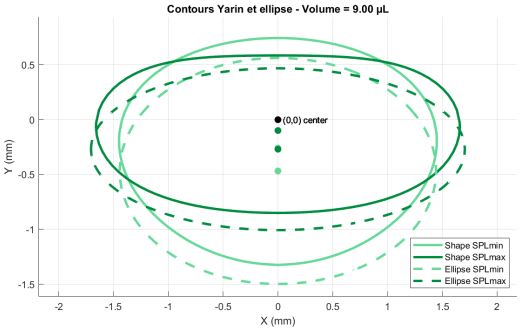

(a) Alginate 1 % à 5 µL



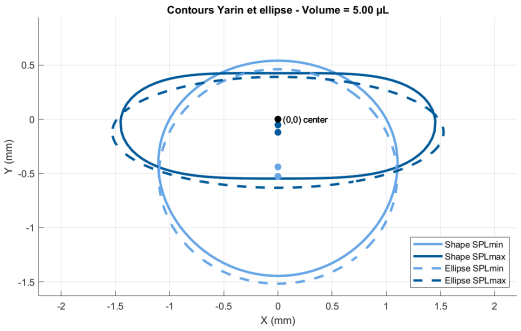

(b) Alginate 1 % à 9 µL



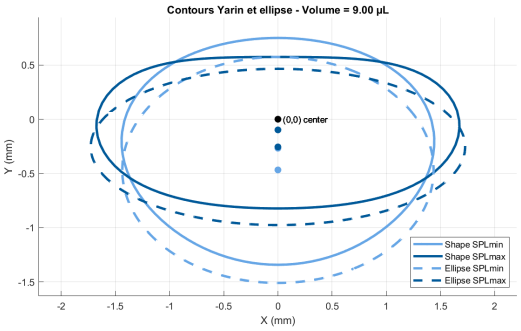

(c) Alginate 1 % à 5 µL



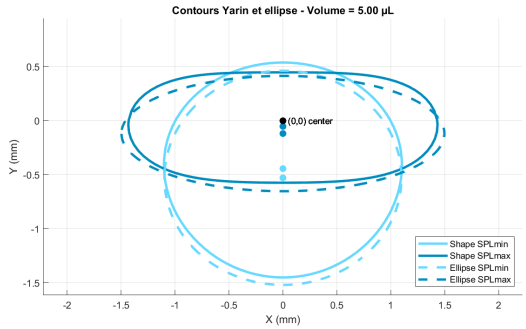

(d) Alginate 1 % à 9 µL



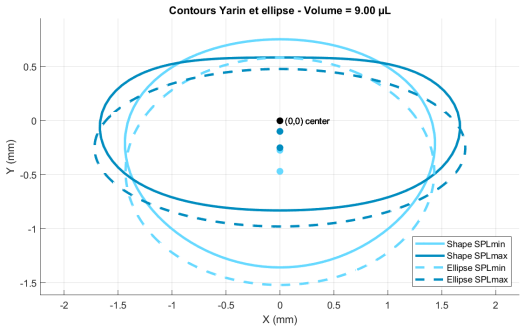

(e) Alginate 3 % à 5 µL



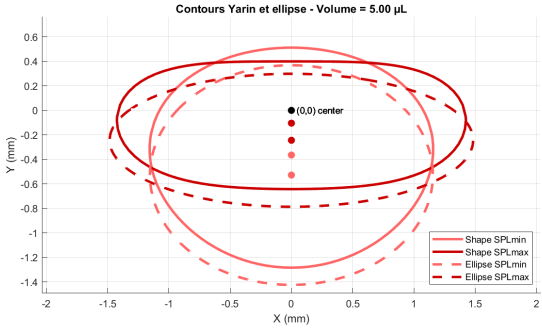

(f) Alginate 3 % à 9 µL



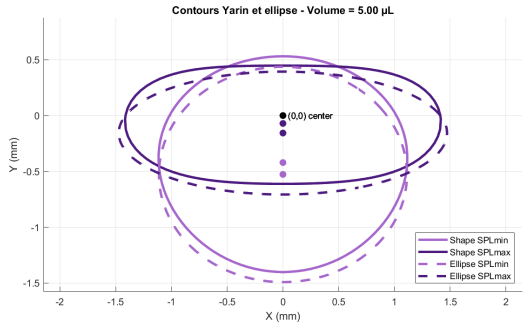

(g) Alginate 4 % à 5 µL



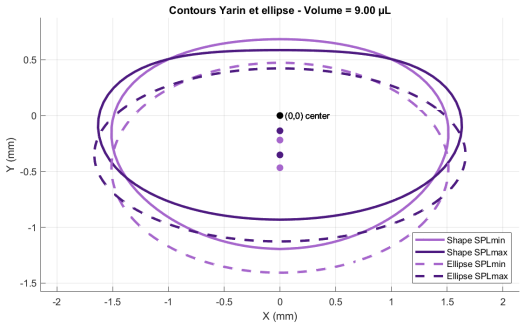

(h) Alginate 4 % à 9 µL




(i) WJ à 5 µL




(j) RT à 5 µL




(k) RT à 9 µL

FIGURE 4.25 – **Formes des gouttes à 5 µL et 9 µL pour les différents solutions.** *Contours des gouttes pour les volumes de 5 µL et 9 µL, selon deux représentation : "ellipse" (forme sphéroïdale théorique en traits pointillés) et "shape" (forme numérique issue du même modèle avec gravité appliquée, en traits continues, représentant une goutte plus réaliste). Les sous-figures (a-b) correspondent à l'alginate 1 %, (c-d) à l'alginate 2 %, (e-f) à l'alginate 3 %, (g-h) à l'alginate 4 %, (i) à WJ et (j-k) à RT. Les contours clairs représentent les formes à* $\mathbf{SPL_{min}}$ *et les contours foncés à* $\mathbf{SPL_{max}}$

Lors du post-traitement des sorties du modèle analytique, les points définissant la surface de la goutte ont été réorganisés pour tracer un contour continu et cohérent. Cette étape permet d'éliminer les artefacts liés à l'ordre du maillage interne et fournit une représentation exploitable de la forme de la goutte pour les analyses géométriques et acoustiques.

**Analyse des déformations de la goutte en fonction du volume**

Cette section examine l'effet du volume sur la déformation des gouttes obtenues via le modèle analytique, en considérant l'évolution des paramètres géométriques (axes majeur et mineur, ratio majeur/mineur), de la pression d'onde dans l'air, ainsi que des nombres sans dimension Bond et Weber. Les analyses sont réalisées pour les deux limites de niveau pression acoustique : $\mathbf{SPL_{min}}$, correspondant à la force minimale de radiation acoustique permettant de faire léviter la goutte, et $\mathbf{SPL_{max}}$, correspondant à la compression maximale que le modèle peut résoudre. Ces analyses permettent de relier le volume et la tension de surface à la déformation observée.

Dans les simulations, plusieurs notions de pression doivent être distinguées pour éviter toute confusion :

- **Amplitude de l'onde acoustique ($A_0$)** : correspond à la pression maximale générée dans l'air par le transducteur, calculée à partir du SPL. Elle représente la pression du champ acoustique avant toute interaction avec la goutte et peut atteindre plusieurs kilopascals.
- **Pression appliquée sur la surface de la goutte** : beaucoup plus faible, de l'ordre de quelques dizaines de pascals, et dépendante de la position de la goutte dans le nœud de pression ainsi que de sa forme et de sa déformation. Cette pression locale est celle qui provoque la lévitation et la compression de la goutte.
- **Force de radiation acoustique** : résultante de toutes les pressions appliquées sur la surface de la goutte. C'est cette force qui équilibre le poids de la goutte et la maintient en lévitation.

Même si l'amplitude de l'onde peut sembler très élevée, la compression effective de la goutte reste modérée et cohérente avec les observations expérimentales (qui sont données à la suite). Cette distinction est essentielle pour interpréter correctement les résultats.

Les nombres sans dimension **Bond** ($Bo$) et **Weber** ($We$) permenttent de quantifier l'importance relative des différentes forces agissant sur la goutte.

- Le **nombre de Bond** évalue le rapport entre le poids de la goutte et la tension de surface, et se définit par :

$$Bo = \frac{\rho g R^2}{\gamma}$$

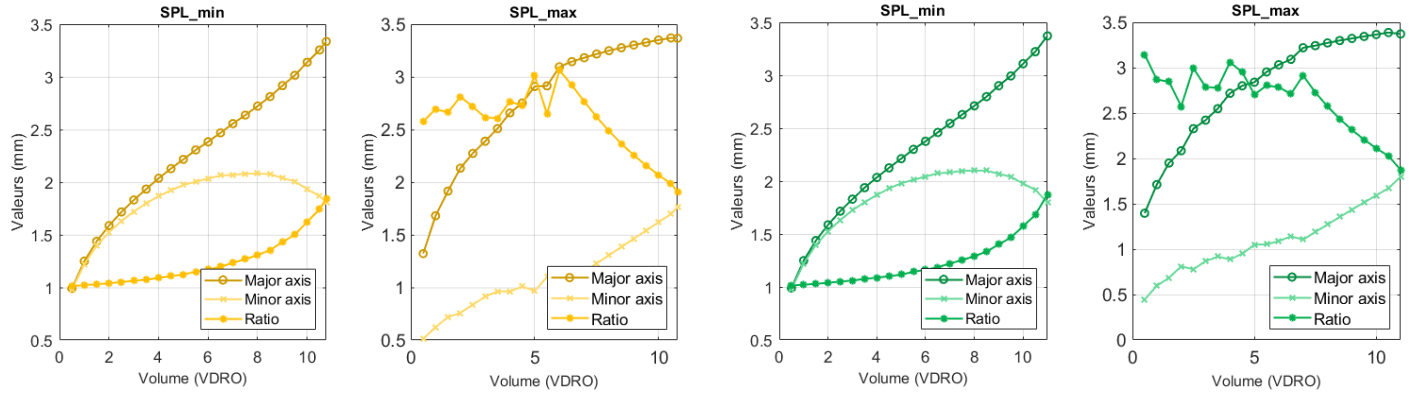
où $\rho$ est la densité de la goutte, $g$ l'accélération gravitationnelle, R un rayon caractéristique et $\gamma$ la tension de surface. Un $Bo$ inférieur à 1 indique que la tension de surface domine, et que la gravité a un effet limité sur la forme de la goutte.

- Le nombre de Weber mesure le rapport entre les forces inertielles (ici induites par le champ acoustique) et la tension de surface, défini par :

$$We = \frac{\rho v^2 R}{\gamma}$$

où $v$ est une vitesse caractéristique de surface. Des valeurs de $We > 1$ signalent que les forces intertielles sont supérieures à la tension de surface et peuvent provoquer une compression et un étalement de la goutte.

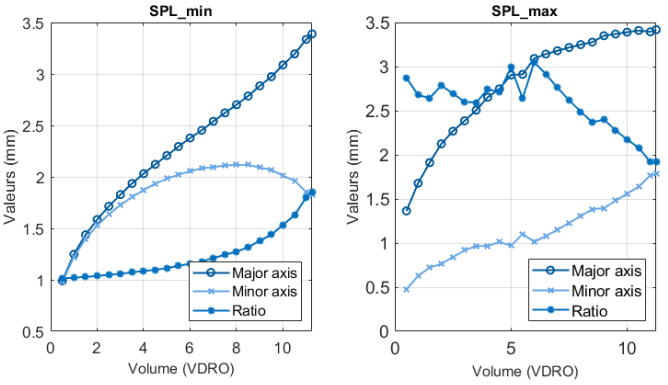
Ces nombres dépendent donc essentiellement du volume et des propriétés de la goutte (densité, tension de surface), et constituent un outil pratique pour interpréter le régime physique dominant dans les simulations, sans faire intervenir directement la valeur de la SPL.



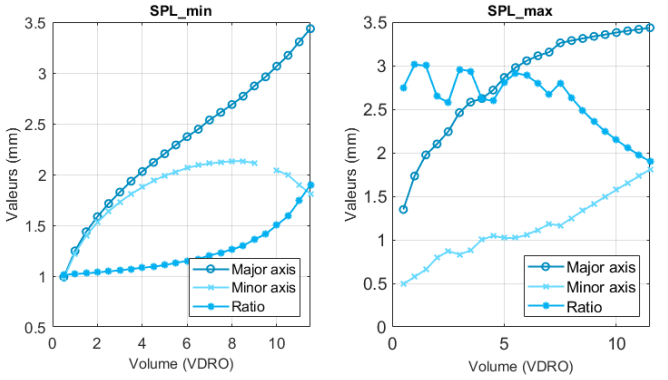

(a) Alginate 1 %



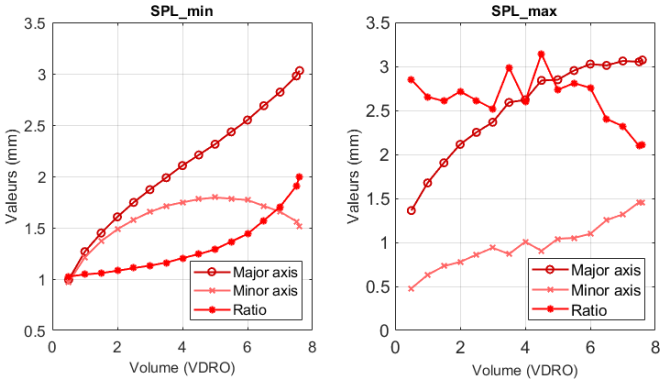

(b) Alginate 2 %



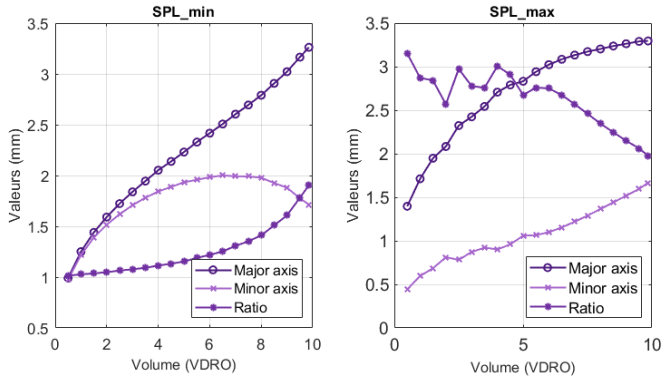

(c) Alginate 3 %




(d) Alginate 4 %

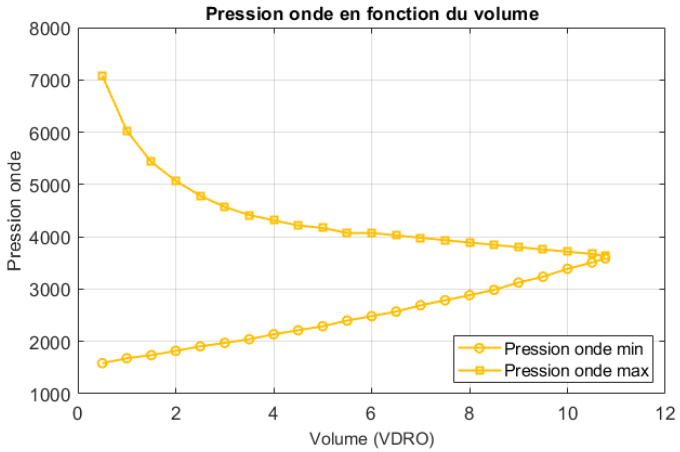



(e) Gelée de Wharton

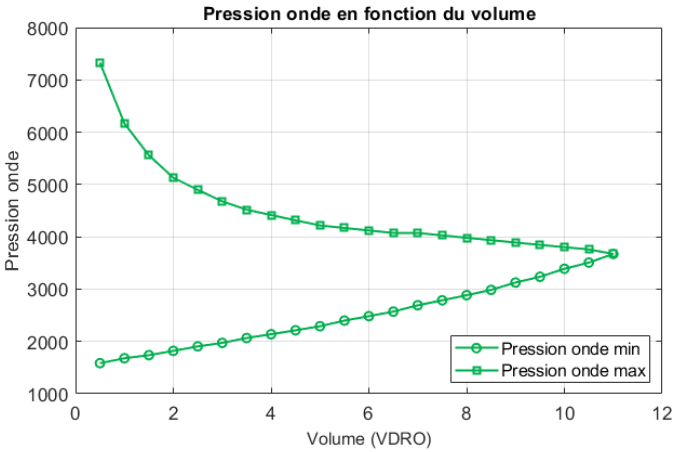



(f) Tendon queue de rat

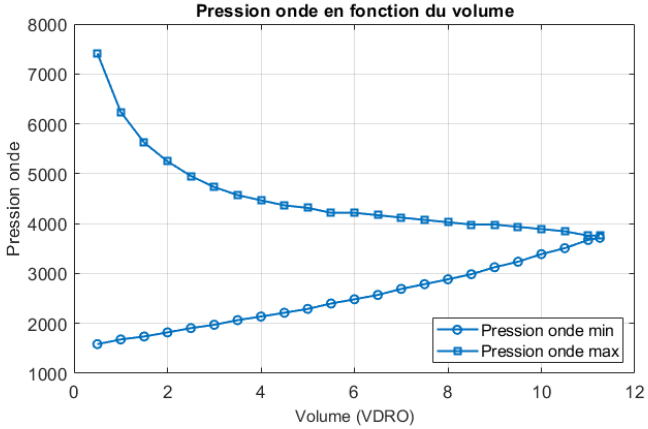
FIGURE 4.26 – **Paramètres géométriques des gouttes simulées en fonction du volume.** *Évolution des axes majeur (foncé) et mineur (clair) ainsi que du ratio majeur/mineur (couleur associée à la solution) pour tous les échantillons simulés, à* $\mathbf{SPL_{min}}$ *à gauche et* $\mathbf{SPL_{max}}$ *à droite.*



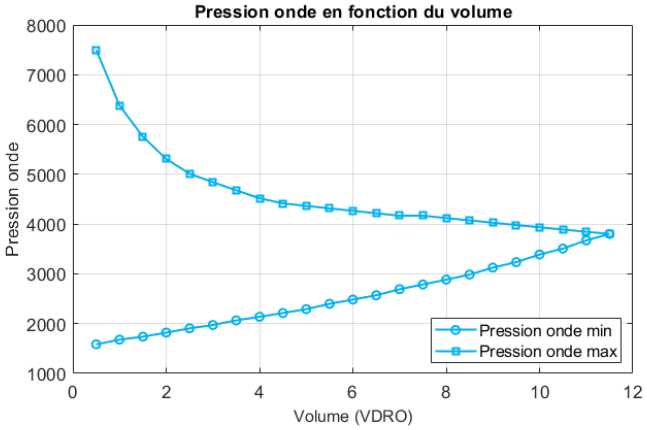

(a) Alginate 1 %



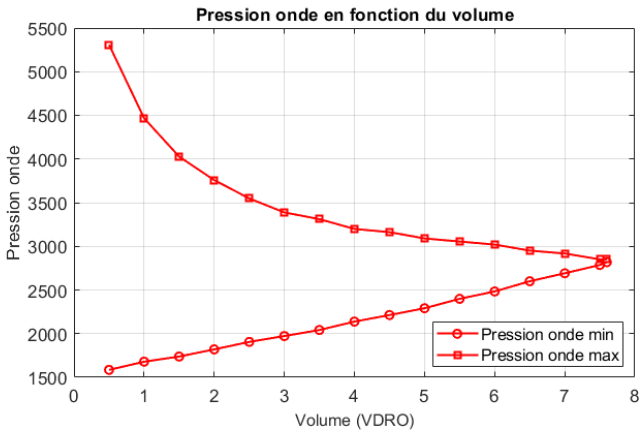

(b) Alginate 2 %



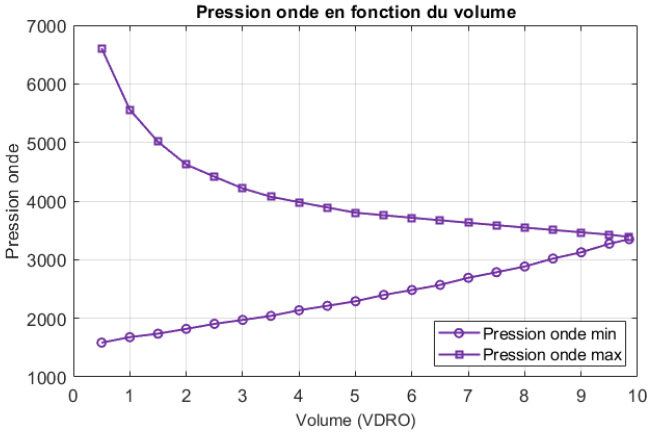

(c) Alginate 3 %




(d) Alginate 4 %

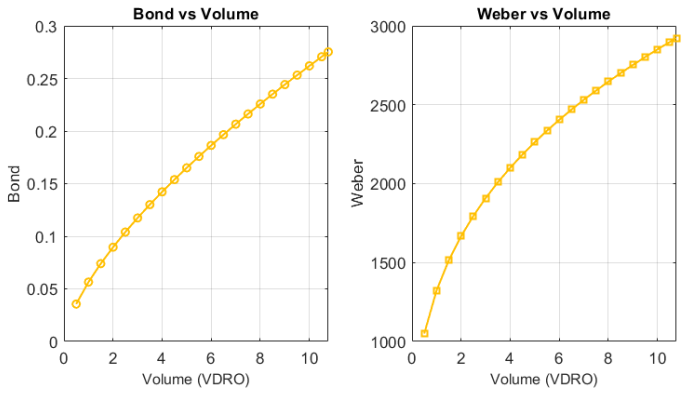



(e) Gelée de Wharton

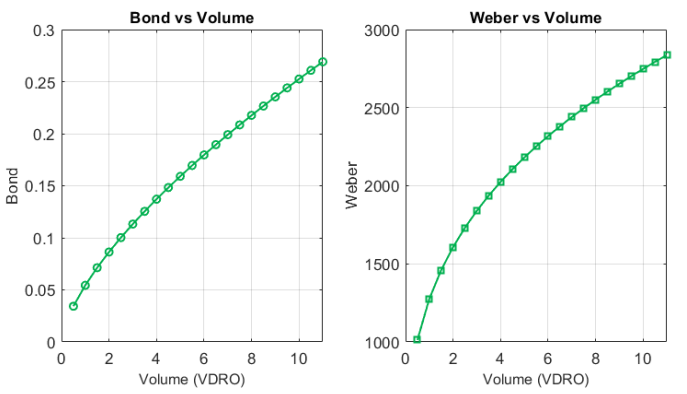



(f) Tendon queue de rat

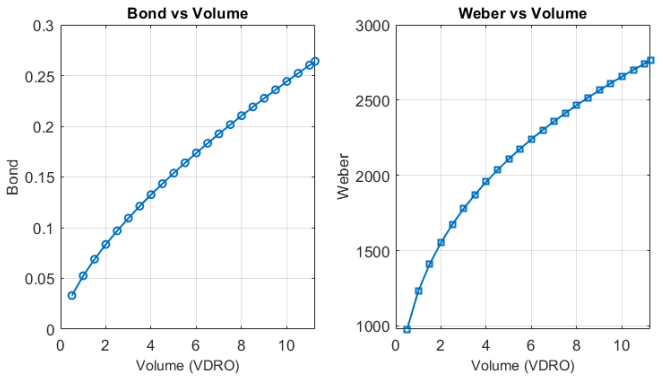
FIGURE 4.27 – **Pression acoustique en fonction du volume.** *Amplitude de l'onde acoustique à* $\mathbf{SPL_{min}}$ *(marqueur cercle) et* $\mathbf{SPL_{max}}$ *(marqueur carré), à la couleur associée à la solution de polymère, pour tous les échantillons simulés.*



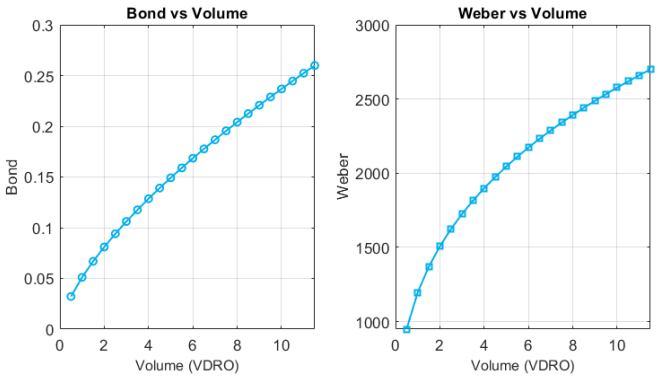

(a) Alginate 1 %



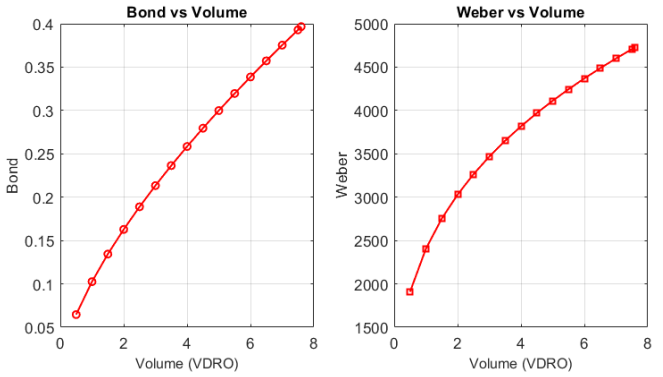

(b) Alginate 2 %



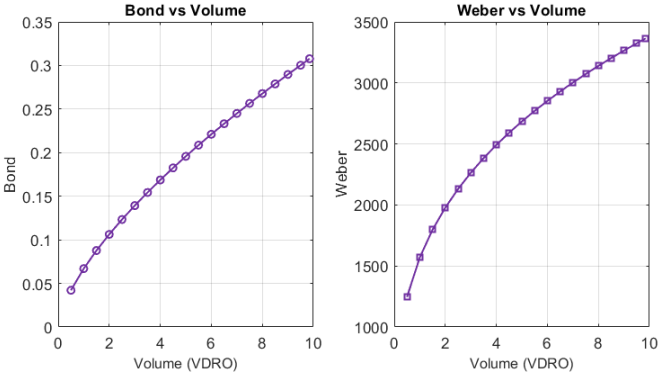

(c) Alginate 3 %




(d) Alginate 4 %




(e) Gelée de Wharton



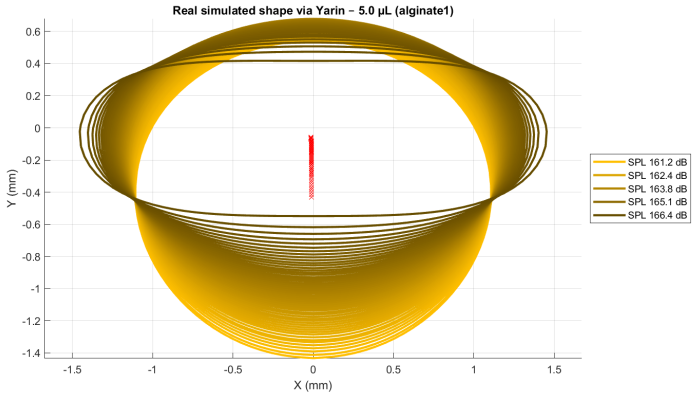

(f) Tendon queue de rat

FIGURE 4.28 – **Nombres sans dimension.** *Évolution de Bond (marqueur cercle) à droite et Weber (marqueur carré) à gauche, de couleur associée à la solution, pour tous les échantillons simulés.*

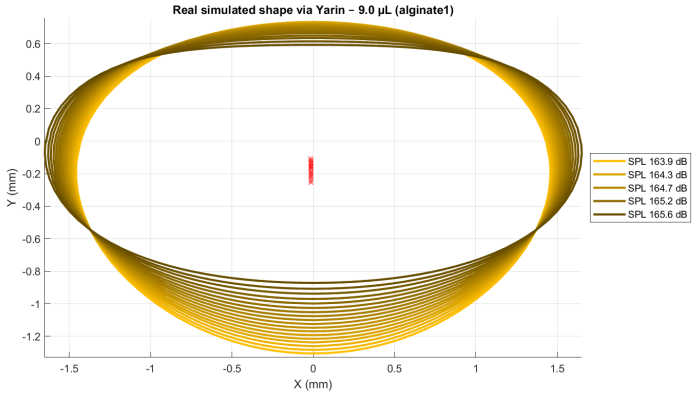
**Paramètres géométriques et pression d'onde en fonction de la SPL**

Expérimentalement, lors de l'essai de l'effet de la tension d'entrée sur le profil de la goutte, les volumes 5, 9 et 13 µL ont été étudiés. Cependant, le modèle analytique ne permet d'évaluer que des volumes inférieurs à environ 11 µL, selon la solution considérée, ce qui définit son domaine d'application. Pour permettre une comparaison directe entre expérience et modèle, seules les gouttes de 5 µL et 9 µL, accessibles dans les deux cas, ont été retenues pour l'analyse. L'objectif de modèle analytique est ainsi d'estimer les valeurs de SPL correspondantes à ces volumes pour les confronter aux données exéprimentales, et d'en déduire par extrapolation le comportement attentu à 13 µL. Cette démarche permet de quantifier la SPL effective correspondant à chaque tension d'entrée expérimentale. En effet, la tension d'entrée appliquée influence indirectement

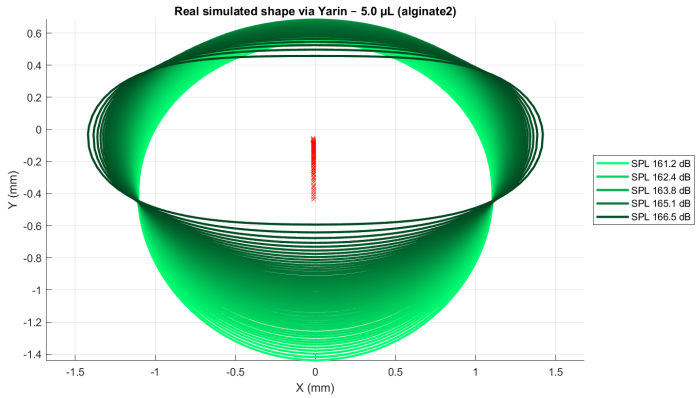
la compression de la goutte, tandis que la SPL constitue le paramètre agissant directement.



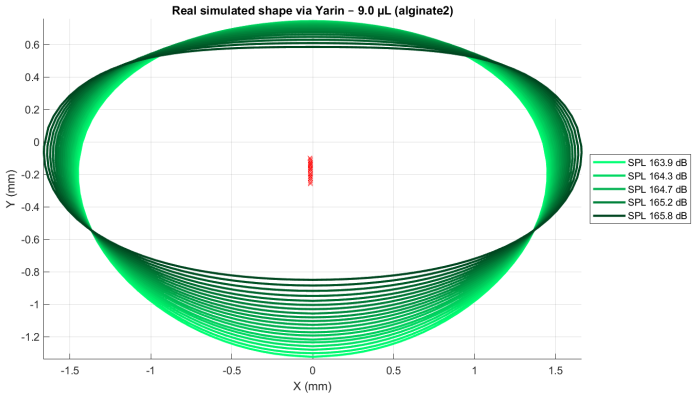

(a) Alginate 1 % à 5 µL



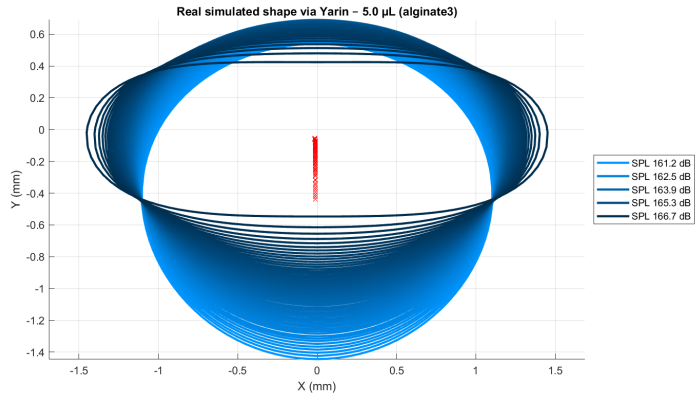

(b) Alginate 1 % à 9 µL



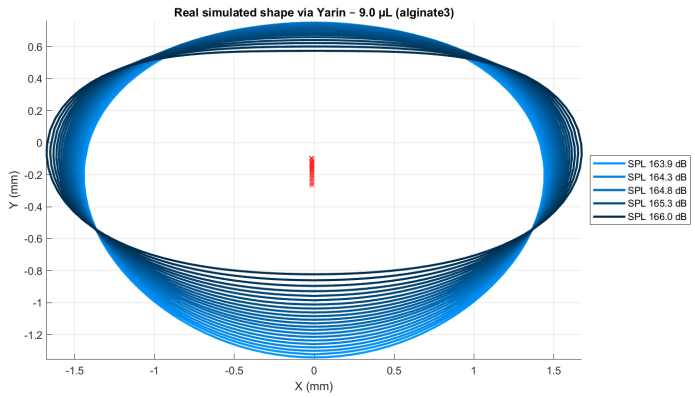

(c) Alginate 2 % à 5 µL



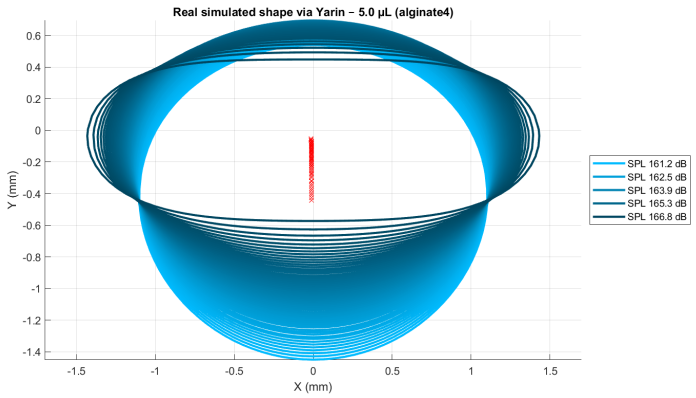

(d) Alginate 2 % à 9 µL



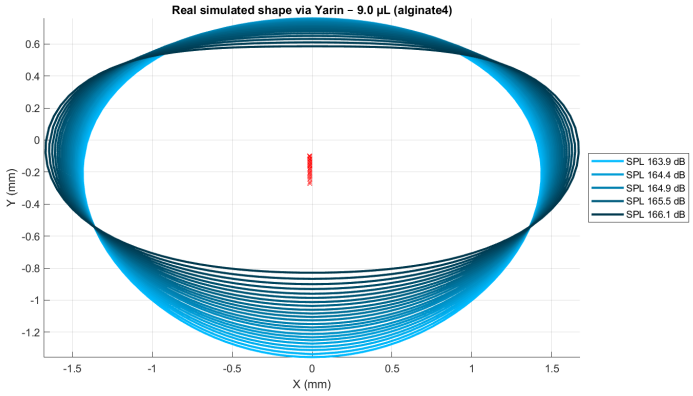

(e) Alginate 3 % à 5 µL



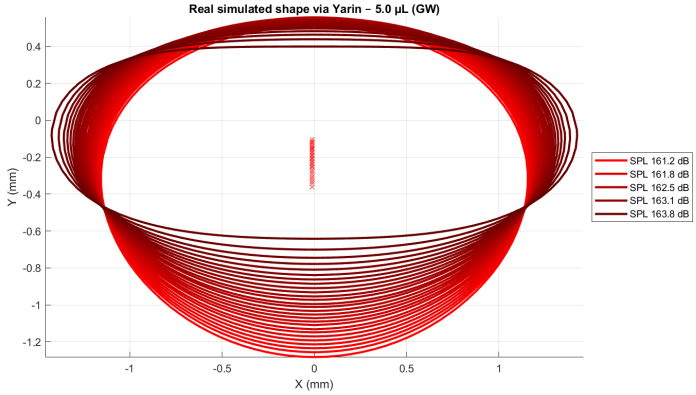

(f) Alginate 3 % à 9 µL



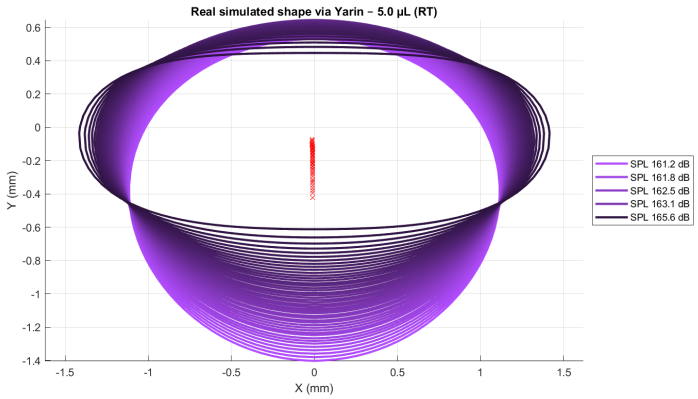

(g) Alginate 4 % à 5 µL



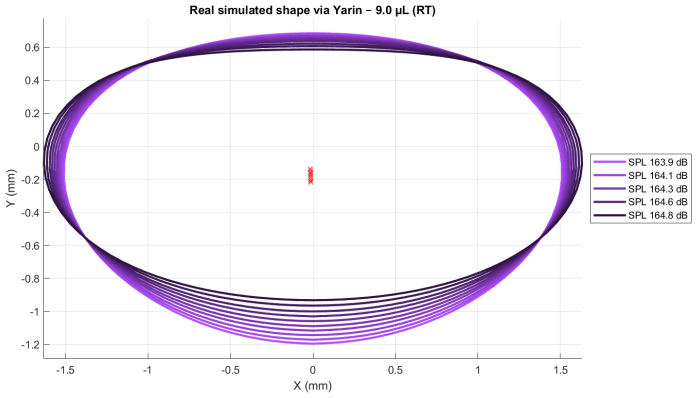

(h) Alginate 4 % à 9 µL




(i) WJ à 5 µL




(j) RT à 5 µL




(k) RT à 9 µL

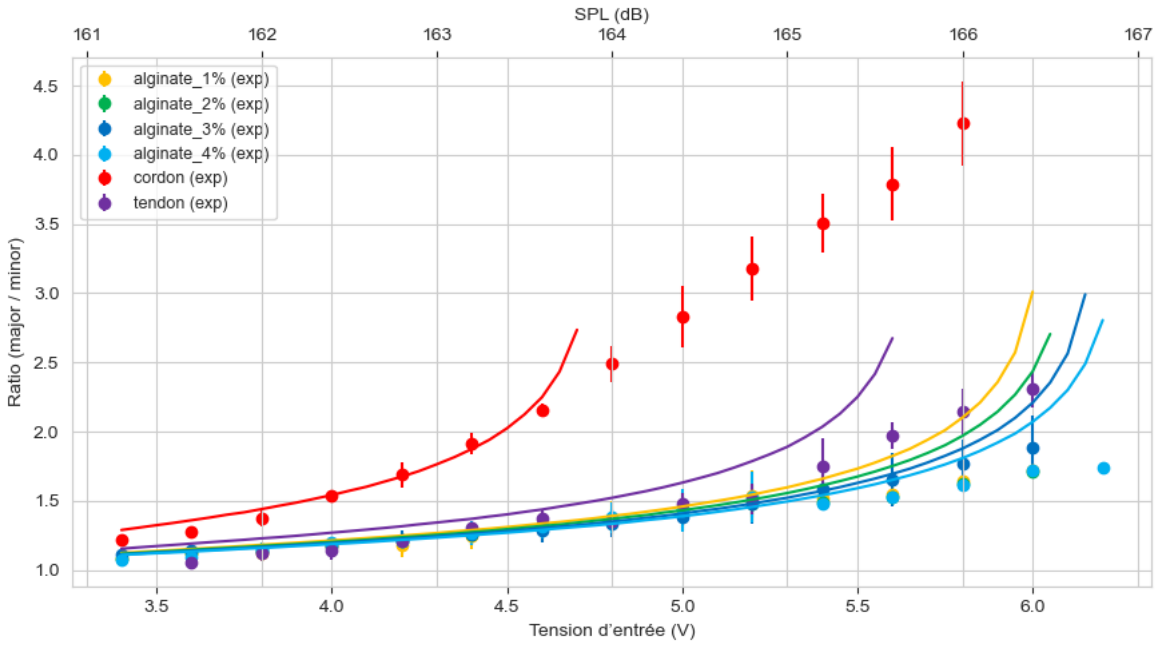
FIGURE 4.29 – **Formes des gouttes issues du modèle analytique pour les différentes solutions de polymères à 5 µL et 9 µL.** *Le modèle prend en compte l'effet de la gravité, conduisant à un effet légèrement bombée du bas de la goutte : (a-b) alginate 1 %, (c-d) alginate 2 %, (e-f) alginate 3 %, (g-h) alginate 4 %, (i) WJ et (j-k) RT.*

La SPL ne peut être directement contrôlée expérimentalement, elle est donc estimée à partir d'une approche indirecte. Pour chaque tension d'entrée, le ratio de la goutte mesuré expérimentalement est comparé aux ratios simulés pour différentes SPL. La SPL correspondant au même ratio que celui mesuré expérimentalement est alors interpolée à partir des simulations, ce qui permet d'associer une valeur de SPL à chaque tension d'entrée. Cette méthode fournit ainsi une calibration directe du lévitateur, reliant la grandeur expérimentale contrôlable (tension

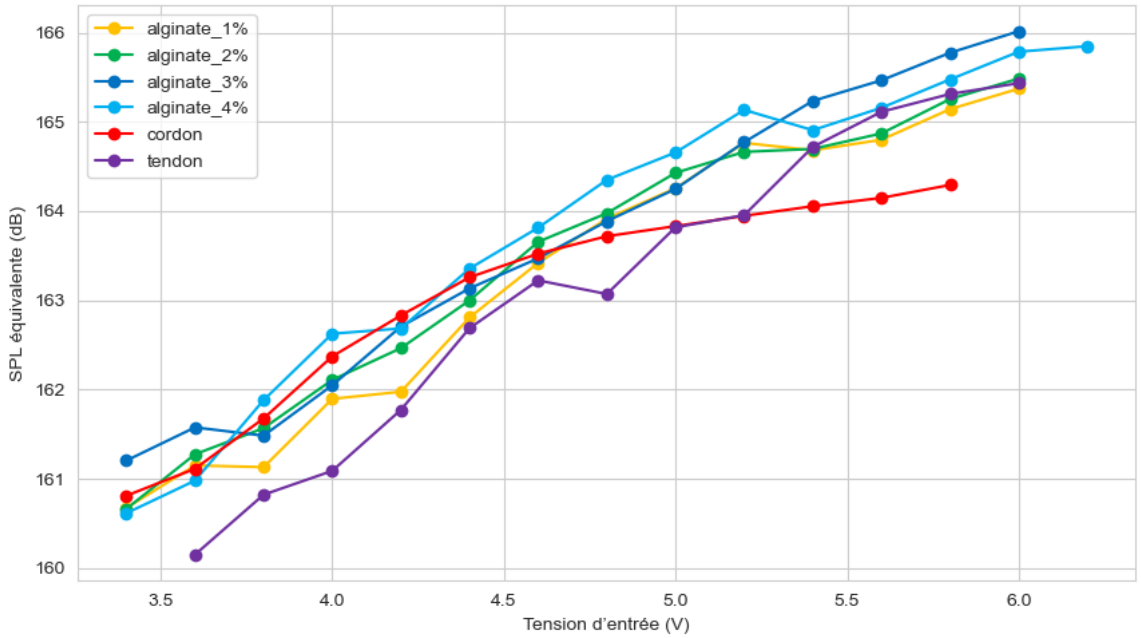
d'entrée) à la grandeur physique pertinente (SPL).

Les figures suivantes présentent respectivement les résultats de cette approche. La figure (**Figure 4.30a**) illustre la correspondance entre les ratios mesurés sur les gouttes expérimentales et ceux obtenus à partir du modèle de Yarin pour un volume de 5 µL. Les ratios expérimentaux sont représentés par des points tandis que les courbes simulées représentent l'évolution attendue des ratios en fonction de la SPL. Ces résultats permettent ainsi de valider le modèle, en soulignant que les simulations reproduisent fidèlement la déformation des gouttes expérimentalement. La figure 4.30b présente la SPL équivalente en fonction de la tension d'entrée appliquée sur le lévitateur acoustique.

Ainsi, la combinaison des deux figures permet à la fois de valider le modèle de Yarin et de déterminer quantitativement la pression acoustique exercée sur les gouttes en fonction de la tension appliquée, assurant un lien direct entre les mesures expérimentales et les simulations.



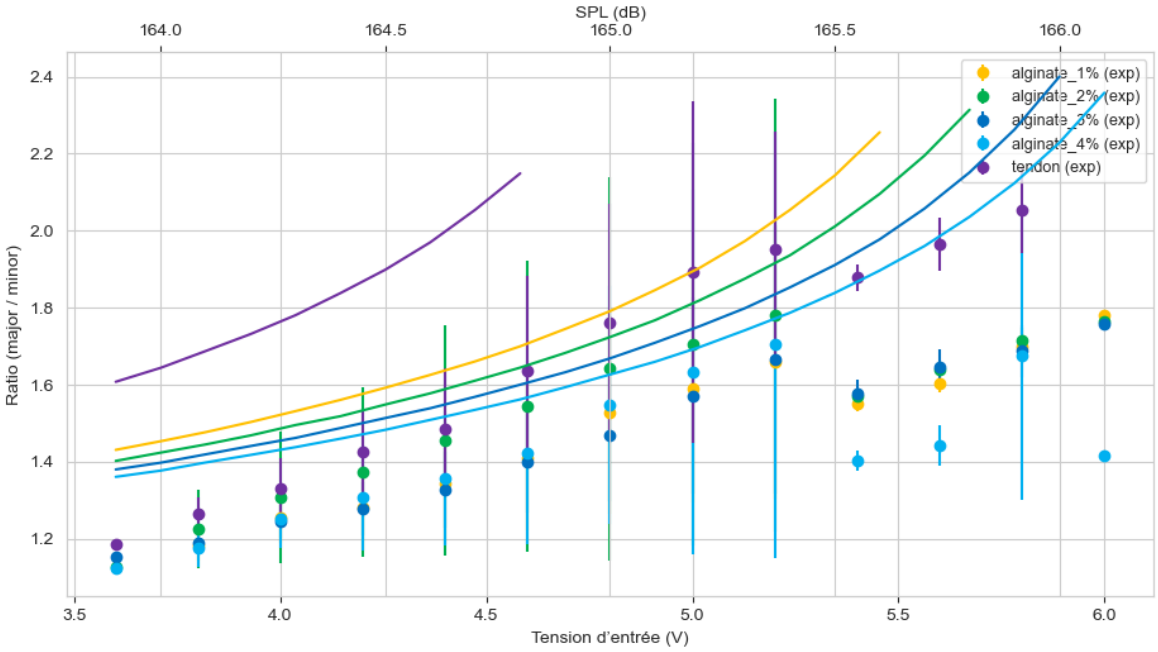

(a) Ratios majeur/mineur : points = expérimentaux, lignes = simulations.



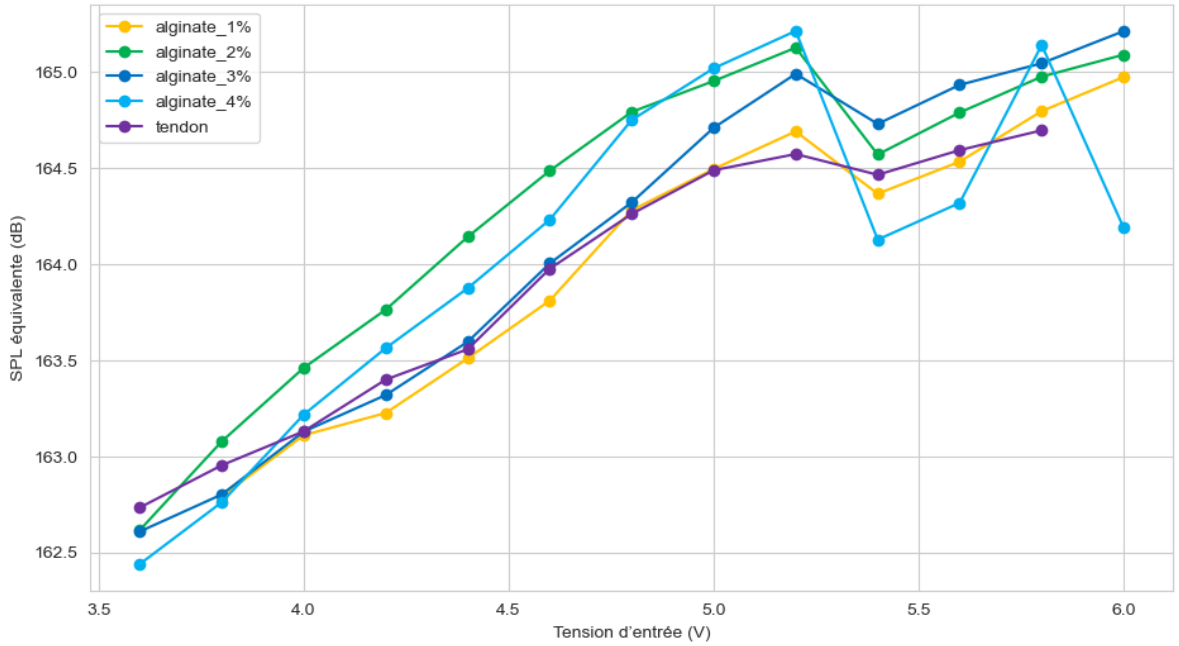

(b) SPL équivalente interpolée en fonction de la tension d'entrée.

FIGURE 4.30 – **Comparaison des déformations expérimentales et simulation, et calibration tension-SPL pour les gouttes de 5 µL**. *Les deux subfigures présentent les résultats pour des gouttes de volume 5 µL et de forme sphérique. Chaque couleur correspond à un matériau spécifique : alginate 1 % (orange), alginate 2 % (vert foncé), alginate 3 % (bleu), alginate 4 % (bleu clair), WJ (rouge), RT (violet).*

Pour les gouttes de 9 µL, la comparaison entre les ratios expérimentaux et ceux obtenus vie le modèle analytique montre une correspondance moins précise que pour 5 µL, en particulier pour certains matériaux. Cela s'explique par les limites du domaine de simulation, le volume de 9 µL approchant la capacité maximale modélisée, ce qui réduit la densité des points simulés disponibles pour interpolation. De plus, il n'y a pas de comparaison pour la solution de WJ car le modèle ne permet pas de dépasser le volume de 7,6 µL.

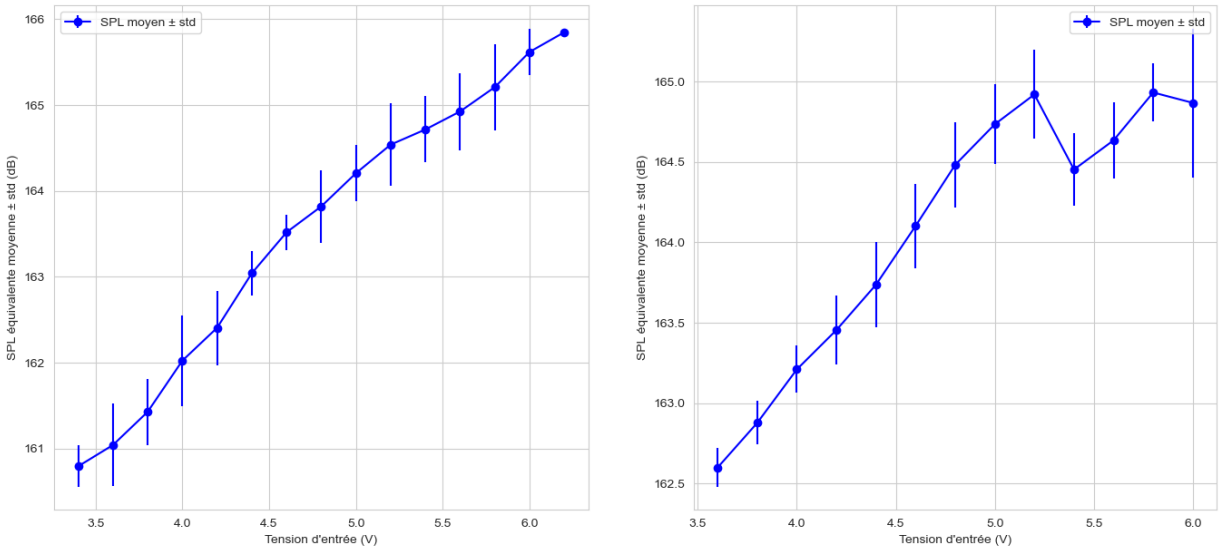



(a) Ratios majeur/mineur : points = expérimentaux, lignes = simulations.




(b) SPL équivalente interpolée en fonction de la tension d'entrée.

FIGURE 4.31 – **Comparaison des déformations expérimentales et simulation, et calibration tension-SPL pour les gouttes de 9 µL**. *Les deux subfigures présentent les résultats pour des gouttes de volume 9 µL et de forme sphérique. Chaque couleur correspond à un matériau spécifique : alginate 1 % (orange), alginate 2 % (vert foncé), alginate 3 % (bleu), alginate 4 % (bleu clair), WJ (rouge), RT (violet).*




(a) SPL moyenne avec écart-type à 5 µL (b) SPL moyenne avec écart-type à 9 µL

FIGURE 4.32 – **SPL équivalente moyenne en fonction de la tension d'entrée à différents volumes**. *SPL équivalente moyenne pour tous les échantillons confondus, avec les barres d'erreur représentant l'écart-type, au volume de 5 µL à gauche (a) et de 9 µL à droite (b).*

**Distribution de la pression acoustique sur la goutte**

Pour chaque solution à 5 µL et 9 µL, la répartition des valeurs de pression acoustique sur la surface de la goutte a été analysée afin d'identifier les zones de pression acoustique maximale. Ces informations sont essentielles pour la modélisation de la goutte par la démarche basée sur la simulation numérique décrite ensuite, avec ou sans gravité.

**Synthèses des résultats obtenus à partir du modèle analytique de Yarin**

Les simulations réalisées avec le modèle de Yarin ont permis de mettre en évidence les limites du modèle par rapport aux observations expérimentales, en particulier la limitation du volume maximal lévitable selon la tension de surface des différentes solutions.

Elles ont également fourni une mesure quantitative de la pression acoustique appliquée sur la surface des gouttes, une grandeur qui n'est pas accessible expérimentalement. Cette information est essentielle pour comprendre les effets physiques qui contrôlent la lévitation et, surtout, la déformation des gouttes.

Enfin, ces résultats servent de base pour compléter les simulations numériques décrites ci-après, permettant de récupérer des cartographies 3D de contraintes et de déformations au sein de la goutte, également non mesurables expérimentalement. La section suivante présente ces simulations et ce qu'elles permettent d'obtenir en complément des observations expérimentales et des résultats issus de l'utilisation du modèle de Yarin.

## 4.6 Simulation numérique du microenvironnement mécanique au sein des gouttes par la méthode des éléments finis

Le modèle analytique décrit précédemment permet de fournir une description des compressions de la goutte et permet de calculer la distribution des valeurs de pression sur sa surface. Cependant, ce modèle ne fournit pas d'informations détailéles sur l'état des contraintes et de déformations au sein de la goutte, ce qui est essentiel pour étudier l'environnement mécanique ressenti par les cellules encapsulées. Pour répondre à cette limitation, nous avons développé un modèle numérique *in silico* basé sur la méthode des éléments finis, permettant de reproduire la géométrie de la goutte à partir de ses dimensions expérimentales et de calculer les cartographies de contraintes et de déformations, fournissant une base quantitative pour l'analyse mécanobiologique.

Les simulations numériques de la goutte en lévitation ont été implémentées en utilisant le solveur FEBio, ainsi que l'interface GIBBON/Matlab pour mettre en forme les données d'entrée, automatiser la résolution, et visualiser les résultats. Le fichier d'entrée (.feb) contient la description complète du modèle, notamment le maillage, les propriétés mécaniques des matériaux et les conditions aux limites.
Les fichiers de sortie ("log files") ont été configurés afin de récupérer les grandeurs mécaniques d'intérêt aux différents noeuds et éléments de la goutte, incluant :

- Déplacements nodaux (ux, uy, uz)
- Contrainte maximale en compression ($\sigma_{III}$), correspondant à la région de la goutte la plus comprimée
- Déformations, représentées par les trois valeurs propres du tenseur de Green-Lagrange. A partir de ces valeurs, la déformation octaédrique est calculée.

Ces données permettent ensuite de visualiser et d'analyser la répartition des déplacements, déformations et contraintes au sein de la goutte, en fonction des paramètres d'entrée du modèle et des conditions de lévitation. L'extraction et le traitement des résultats sont réalisés à l'aide de fonctions Matlab et GIBBON.

Deux sous-sections détaillent ensuite :

1. Convergence du maillage : évaluation de la stabilité numérique et de la précision des résultats en fonction de la densité du maillage.
2. Déformations et contraintes simulées : analyse des champs obtenus et comparaison

### 4.6.1 Convergence de maillage

Une étude de convergence de maillage a été réalisée sur la densité d'énergie de déformation (*Strain Energy Density* ou SED) afin de vérifier l'indépendance des résultats vis-à-vis du maillage. Six maillages de densité croissante ont été testés et l'erreur relative de chaque maillage a été calculée par rapport au dernier maillage le plus fin, considéré comme solution de référence. Les écarts relatifs observés sont de l'ordre de 4 % pour le maillage 5 et de 2 % pour le maillage 6, indiquant une stabilisation progressive de la solution. Le maillage le plus fin a donc été retenu pour la suite des simulations, un raffinement supplémentaire étant limité par le coût de calcul.

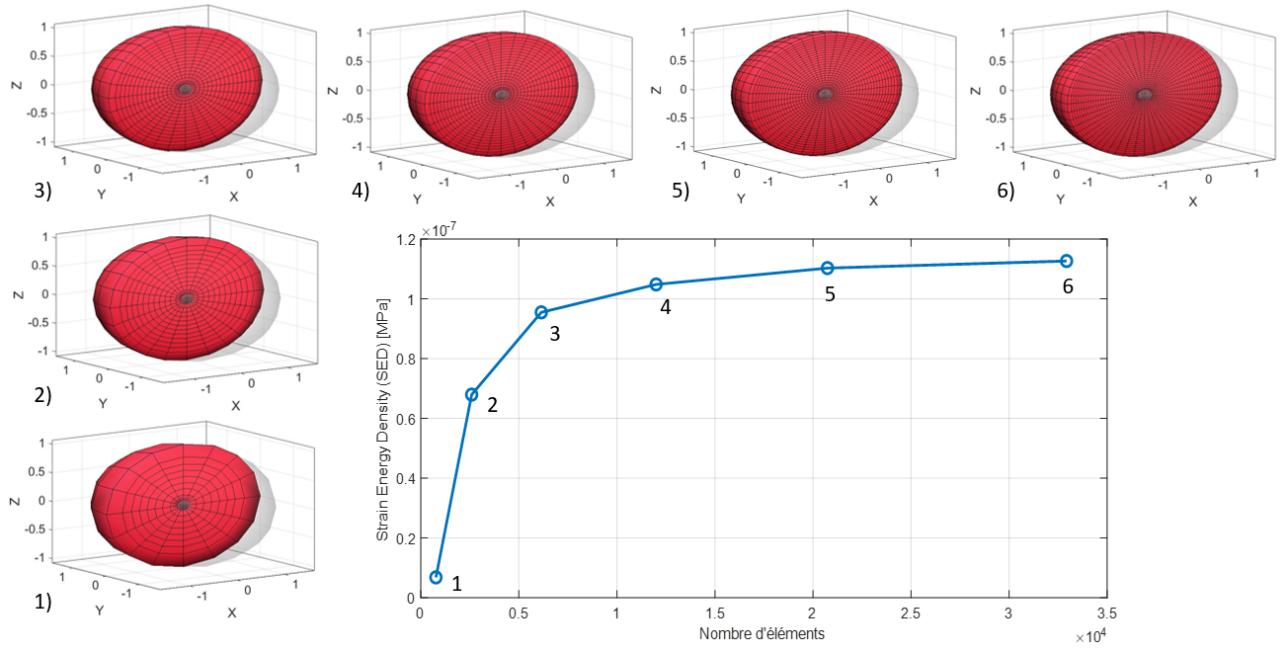
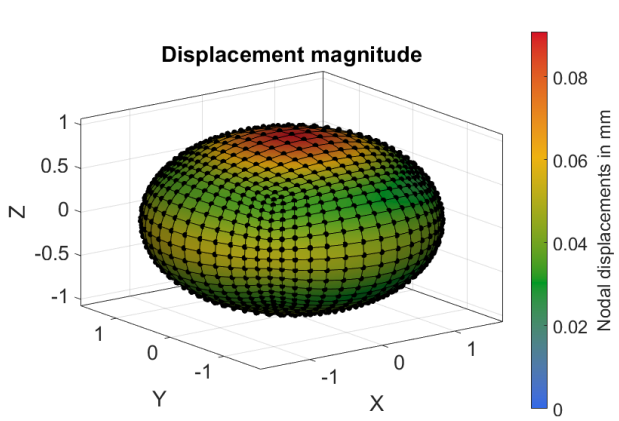



FIGURE 4.33 – **Etude de convergence de la SED.** *Evolution de la SED moyenne en fonction du nombre d'éléments, dont chaque point est illustré par l'image correspondante au maillage testé.*

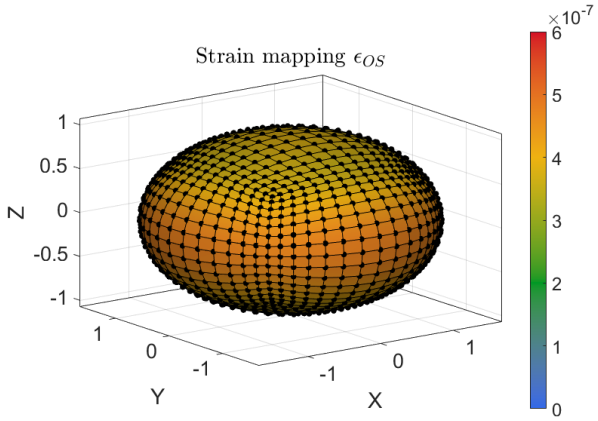
### 4.6.2 Tests de simulation

Afin d'évaluer les capacité du modèle numérique à reproduire la compression d'une goutte en lévitation, une première simulation a été réalisée à partir d'une géométrie initiale sphéroïdale à l'état le moins comprimé. Un jeu de paramètres a été considéré, en utilisant la loi angulaire simplifiée décrite en chapitre 2 et en utilisant les paramètres matériaux de la solution WJ (donnés en chapitre 3).

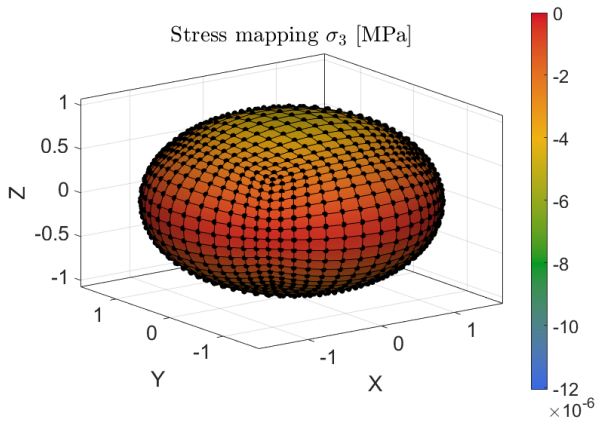
La simulation permet de reproduire la déformation globale observée expérimentalement, comme l'illustrent les champs de déplacement et de contraintes $\sigma_3$ ainsi que la contrainte octaédrique. La contrainte principale minimale $\sigma_3$ correspond à la composante de compression maximale du tenseur des contraintes de Cauchy. Les valeurs minimales, maximales et moyennes de $\sigma_3$ évoluent de manière cohérente avec la progression de la compression appliquée.



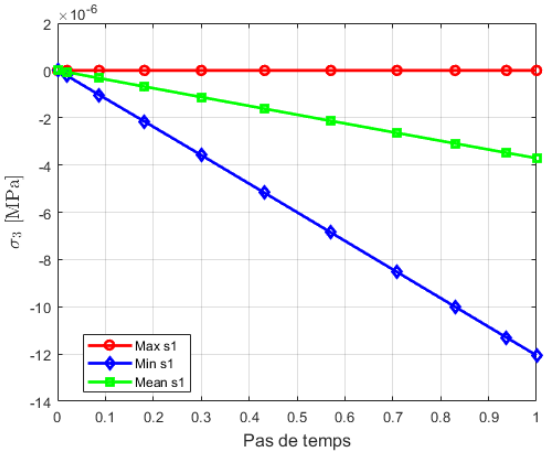

(a) Champ de déplacements




(b) Champ de contrainte octaédrique




(c) Champ de contrainte $\sigma_3$




(d) Evolution min, max et moyen de $\sigma_3$

FIGURE 4.34 – **Simulation de compression d'une goutte en lévitation acoustique.** *Champs mécaniques obtenus lors de la simulation numérique de la compression d'une goutte à une amplitude de 5 Pa : (a) champ de déplacement, (b) champ de contrainte octaédrique, (c) champ de la contrainte principale minimale $\sigma_3$ et (d) évolution des valeurs minimales, maximales et moyenne de $\sigma_3$ au cours de la compression.*

Pour quantifier l'erreur entre la forme finale simulée et la géométrie expérimentale, la géométrie 3D de la goutte est d'abord reconstruire à partir des données expérimentales, puis superposées avec la géométrie issue de la simulation en centrant les deux modèles sur un même point de référence. Une carte de distance point à point entre les deux surfaces est ensuite calculée, permettant de définir une valeur scalaire unique d'erreur quadratique moyenne (RMSE) pour quantifier l'erreur global entre simulation et expérience. La comparaison montre un accord raisonnable compte tenu des simplificatrices retenues. La RMSE gloable est de 0,0787 mm, avec des valeurs de 0,0396, 0,0378 et 0,0565 mm selon les coordonnées x, y et z, respectivement.

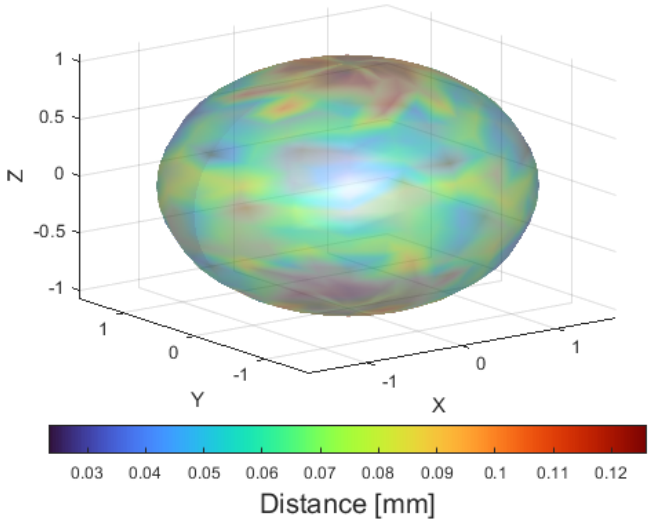



FIGURE 4.35 – **Cartographie des distances simulation/expérimental.** *Ecart local entre la surface simulée et la géométrie expérimental, avec amplitude des distances.*

Cette étude constitue ainsi une première validation du modèle et une base opérationnelle pour l'étude de la compression de gouttes en lévitation acoustique. Dans la continuité de cette approche exploratrice, plusieurs développements constituent des perspectives de travaux futurs. Ces perspectives incluent notamment à étendre la simulation aux différentes solutions étudiées dans la thèse ainsi qu'à différentes géométies initiales (formes sphérique et sphéroïdale), tout en affinant la mise en place de la compression de la goutte. Dans un premier temps, la loi angulaire décrivant la répartition de la pression acoustique à la surface pourrait être optimisée, puis complétée par l'étude de profils non linéaires, notamment de type gaussien, afin de reproduire plus fidèlement les distributions expérimentales. Enfin, l'intégration de la pression de radiation acoustique permettrait de s'affranchir des conditions de fixation et de reproduire la lévitation de manière plus réaliste.

Ces développements pourraient ensuite être explorés à l'aide des deux approches de méthodes inverses décrites dans le chapitre 2 : d'une part, l'identification de la répartition des pressions acoustiques à partir de matériaux dont les propriétés ont été caractérisées au chapitre 3 ; d'autre part, l'estimation des propriétés mécaniques des solutions à partir des distributions de pression acoustique issues du modèle analytique de Yarin et al présenté précédemment (**lien section**).

## Conclusion du chapitre

Ce chapitre a permis d'étudier les différents phénomènes associés à la lévitation acoustique, notamment l'effet de la tension d'entrée sur la forme de la goutte, ainsi que l'analyse des réponses dynamiques de gouttes soumises à des compressions cycliques, dont l'objectif est d'induire des stimulations mécaniques sur des cellules ensemencées, lors des essais préliminaires qui vont être présentées au chapitre suivant. L'étude d'un modèle analytique a permis de mieux comprendre la répartition des valeurs de pression acoustique à la surface d'une goutte en lévitation. En parallèle, la mise en place d'une première modélisation numérique apporte de premiers élements de compréhension de la dynamique de la goutte, et constitue une base pour de futures approches inverses complémentaires qui seront approfondies afin d'établir un dialogue entre les résultats des simulations et la base de données expérimentales collectées dans ce chapitre. L'ensemble de ces éléments contribue ainsi à une compréhension globale de la lévitation et constitue une base solide pour de futures applications de ce procédé en bioingénierie.

# Chapitre 5

# Applications biologiques et perspectives

La lévitation acoustique a été étudiée tout au long de cette thèse principalement dans le cadre de l'étude du comportement mécanique et rhéologique des solutions de polymère en lévitation et de leur dynamique. Les travaux se sont notamment concentrés sur les conditions permettant une lévitation stable et contrôlée. Cependant, pour que ce dispositif puisse être utilisé en bioingénierie, il est essentiel de vérifier l'impact sur les biomatériaux (organisation des polymères, fibrillogenèse) et sur les cellules ensemencées (capacité à adhérer post-stimulation, test viabilité) en fonction du temps et de la fréquence de stimulation. Ce chapitre a pour objectif de présenter les résultats préliminaires biologiques qui ont été menés pour vérifier la faisabilité de l'utilisation de la lévitation acoustique comme un nouveau procédé de stimulation mécanique de solutions de polymère lors de cultures cellulaires. Ces résultats permettent ainsi de dresser un état des lieux concernant l'utilisation de ce nouveau procédé, et d'identifier les limites et les contraintes rencontrées.

La seconde partie du chapitre est consacrée aux perspectives et à d'éventuels développements futurs, incluant l'automatisation du lévitateur, le contrôle précis des conditions environnementales (température et humidité), l'analyse mécanique des solutions via DMA, ainsi que l'optimisation des simulations numériques. Ces différents axes de développpement à venir illustrent le potentiel de la lévitation acoustique pour de futures applications en rhéologie et en bioingénierie

## Sommaire Chapitre 5


5.1 Applications biologiques : études de faisabilité . . . . . 179
5.1.1 Tests préliminaires : lévitation sous PSM et évaporation . . . . . 179
5.1.2 Effets de la lévitation sur la composition et la structure des solutions 181
5.1.3 Caractérisation de la viabilité cellulaire . . . . . 184
5.1.4 Analyse de l'adhérence cellulaire post-lévitation . . . . . 187
5.1.5 Conclusions . . . . . 188
5.2 Perspectives en mécanobiologie et en ingénierie des procédés . . . . . 190
5.2.1 Amélioration du contrôle de l'environnement : température et humidité . . . . . 190
5.2.2 Automatisation du passage des gouttes . . . . . 191
5.2.3 Extension de la DMA aux fluides non newtoniens . . . . . 193
5.2.4 Modélisation numérique de la goutte et méthode inverses . . . . . 193
5.1 Annexe du chapitre 3 . . . . . 196
5.2 Annexe du chapitre 4 . . . . . 196
5.2.1 Effet de la tension sur la forme des gouttes . . . . . 196
5.2.2 Ratios des gouttes . . . . . 201
5.2.3 Volume des gouttes selon les deux méthodes . . . . . 202
5.2.4 Spectres FFT . . . . . 203
5.2.5 Amplitudes des fréquences imposées . . . . . 206
5.2.6 Amplitudes des fréquences imposées . . . . . 208
5.2.7 Valeurs d'évaporation des gouttes . . . . . 211
5.2.8 Valeurs de SPL et tension d'entrée . . . . . 211

## 5.1 Applications biologiques : études de faisabilité

Différents essais ont été réalisés afin de déterminer d'une part s'il était possible de faire léviter des gouttes de solution de polymère dans un environnement stérile de culture cellulaire (avec flux d'air), et d'autre part pour évaluer les effets des stimulations mécaniques à l'échelle microscopique sur l'organisation des fibres de collagène et sur la viabilité des cellules. Cette sous-section s'articule donc autour de trois axes :

1. **Essais préliminaires de lévitation** : vérification de la stabilité des gouttes dans un environnement stérile contrôlé (PSM ou "hotte à flux laminaire"), et mesure de l'évaporation afin de comparer avec les conditions sans/avec enceinte.
2. **Effets sur les biomatériaux** : vérification d'une éventuelle dénaturation des fibres de collagène dans les solutions de polymère après lévitation et stimulations mécaniques, à l'aide de la microscopie SHG.
3. **Viabilité et adhérence cellulaire** : évaluation de la viabilité et de l'adhérence cellulaire après lévitation sur différentes solutions et milieu de culture, afin de déterminer si la lévitation est compatible avec un usage biologique.

### 5.1.1 Tests préliminaires : lévitation sous PSM et évaporation

Les expériences des chapitres 3 et 4 ont été réalisées dans un environnement statique, sans flux d'air. Cependant la culture de cellule et le maintien de la stérilité nécessite de travailler sous un Poste de Sécurité Microbiologique (PSM), ou hotte à flux laminaire. Avant de procéder à la lévitation de gouttes de solution de polymère ensemencés de cellules, il est donc nécessaire de vérifier que celles-ci peuvent être lévitées de manière stable lorsqu'elles sont exposées au flux d'air généré par le PSM.

Pour cela, le banc expérimental a été installé au sein du laboratoire BIOS, à l'Université de Reims Champagne-Ardennes. Le lévitateur a été placé sous PSM, et la caméra rapide Dantec (avec l'objectif microscopique Sigma) a été utilisée pour observer le comportement des gouttes (**Figure 5.1**). Cette configuration a permis de suivre d'éventuelles variations de position ou de forme des gouttes en conditions expérimentales biologiques, tout en offrant la possibilité d'observer les cellules lors de tests ultérieurs.

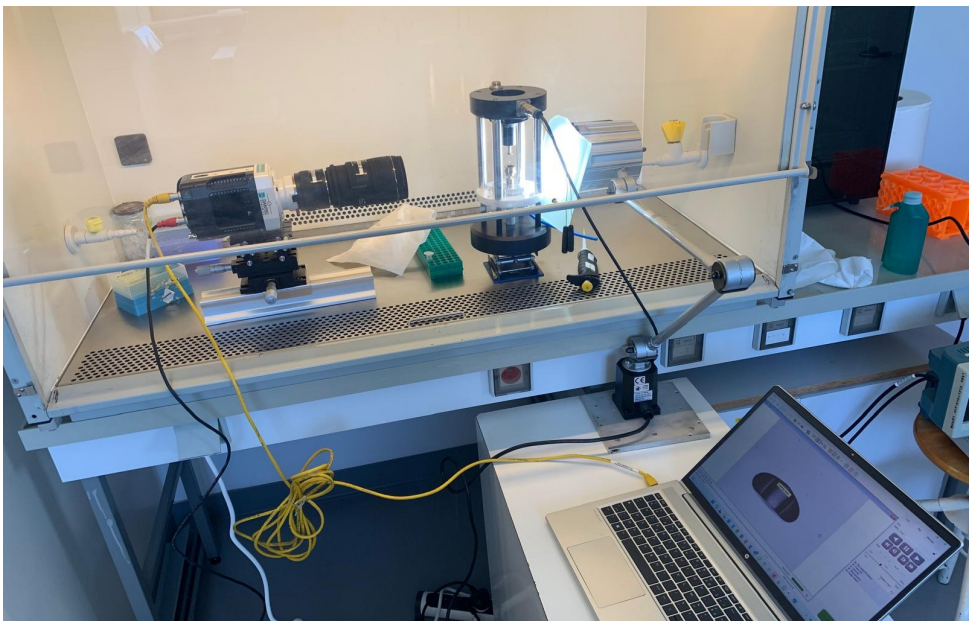


FIGURE 5.1 – **Banc expérimental avec lévitateur acoustique sous PSM.** *Installation sous hotte à flux laminaire du lévitateur acoustique, avec la caméra rapide Dantex équipée de l'objectif microscopique Sigma et la source LED pour l'éclairage des gouttes.*

Sous PSM, la lévitation des gouttes ne pouvait pas se faire au troisième noeud de pression, utilisé lors des expressions précédentes, mais au quatrième noeud. En effet, lors du placement de la goutte, celle-ci était soit éjectée, soit retombait spontanément au quatrième noeud. Cette différence s'explique par les perturbations induites par le flux d'air, qui modifient localement la pression acoustique et la stabilité des noeuds de pression. De plus, la plage de valeurs de tension d'entrée était plus restreinte que dans un environnement hors PSM : il était nécessaire de maintenir la tension à 5,2-5,4 V afin de garantir la mise en place de la goutte et sa stabilité pendant toute la durée de l'expérience. En effet, pour une valeur de tension plus faible, la goutte tombait spontanément.

Les gouttes présentaient également une légère modification de forme. En dehors du PSM, on rappelle qu'elles étaient légèrement bombées vers le bas, probablement sous l'effet de la gravité. En revanche, sous PSM, les gouttes apparaissaient plutôt bombées vers le haut, vraisemblablement en raison du flux d'air. Une instabilité modérée a été observée durant les 1 à 2 premières minutes, avec des oscillations horizontales, avant que la goutte ne se stabilise.

Des essais préliminaires d'évaporation ont été réalisés afin de comparer ces conditions à celles d'un environnement statique, avec et sans enceinte. Une image de solution de polymère RT a été capturée toutes les 1 min 30, lévitée à une tension d'entrée de 5,2-5,4 V. La même méthode de traitement d'images que celle décrite dans le chapitre 2 a été utilisée et les paramètres (température et humidité) n'ont pas été contrôlés. Ces essais ont montré que l'évaporation est de l'ordre de 33,7 % au bout de 10 min 30, comparé à 19,6 % en moyenne sans enceinte et 32,6 % en moyenne avec enceinte (**section 4.3** du chapitre 4). Des analyses statistiques ont été réalisées afin d'évaluer l'influence de l'environnement expérimental. Pour cela, une analyse de

variance à un facteur (one-way ANOVA) a d'abord été appliquée, suivie d'un test post hoc de Tukey. Les résultats montrent une différence significative entre les conditions de lévitation sans enceinte et sous PSM ($p < 0,05$), indiquant que l'absence d'enceinte influence l'évaporation. En revanche, aucune différence significative n'a été observée entre les conditions "avec enceinte" et "sous PSM".

Sur la base de ces observations, les expériences biologiques ont dont été limitées à des durées de 2 min et 7 min afin de minimiser l'impact de l'évaporation tout en assurant la faisabilité des manipulations. En effet, l'évaporation entraîne une réduction du volume du milieu, ce qui se traduit par une augmentation apparente de la concentration cellulaire et des solutés, notamment les sels. Cette variation peut provoquer une déshydratation et un choc osmotique sur les cellules, affectant leur viabilité.

### 5.1.2 Effets de la lévitation sur la composition et la structure des solutions

Avant d'exposer des cellules à la lévitation acoustique et notamment aux stimulations mécaniques, des essais ont été réalisés sur des gouttes de solution de polymère de WJ et de RT, décrits dans le **chapitre 2**. L'objectif était d'évaluer la structure des fibres de collagène après exposition, à l'aide de la microscopie confocal couplé à la génération de la seconde harmonique (SHG), et de vérifier si une fibrillogenèse est induite par la lévitation acoustique.

Les deux solutions ont été lévitées hors PSM dans différentes conditions : témoin sans lévitation, lévitation sans compressions cycliques pendant 2 ou 7 minutes, et lévitations combinées à des compressions cycliques à 10, 100 ou 100 Hz (également pendant 2 ou 7 minutes).

La tension d'entrée était adaptée aux deux matériaux pour tenir compte de leur tension de surface. Pour la solution de WJ, de tension de surface faible (36,66 mN/m), une tension de 4,6-4,8 V était appliquée, tandis que pour la solution de RT plutôt 5-5,3 V. Cette différence visait à éviter que la goutte de solution WJ ne soit trop comprimée. Les valeurs indiquées sont approximatives, la tension pouvant varier légèrement au cours de l'expérience. Toutes les combinaisons prévues n'ont toutefois pas pu être évaluées pour tous les échantillons en raison de conditions expérimentales défavorables (température estivale non compatible avec des appareils comme le microscope confocal). Les essais ont donc été réalisés sur les solutions WJ et RT pour une durée de 2 min, et un essai à 7 min pour la solution RT. Cette approche permet de dégager des tendances sur l'impact de la lévitation acoustique et notamment des stimulations mécaniques à différentes fréquences sur les fibres de collagène.

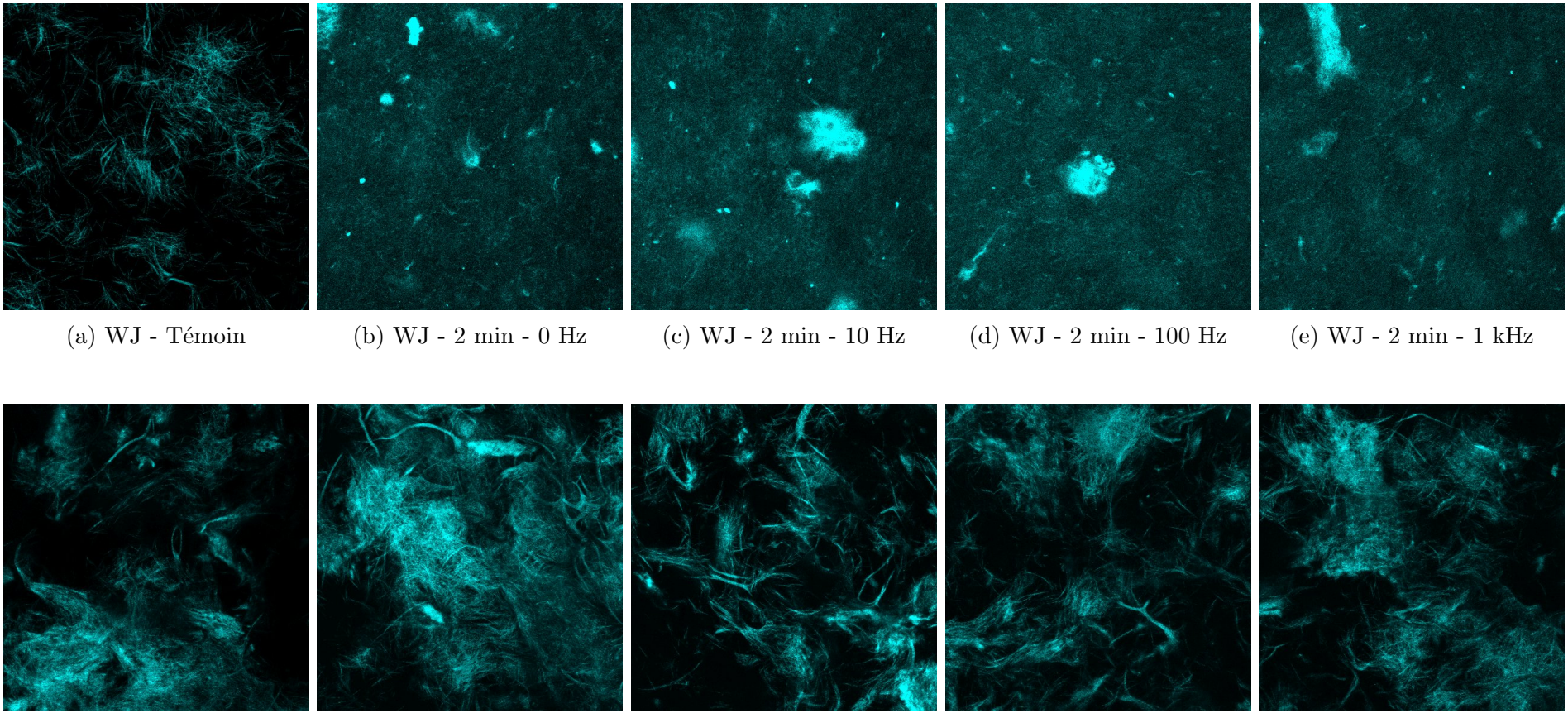
#### Principe de la microscopie SHG

En biologie, l'imagerie par fluorescence est couramment utilisée, nécessitant l'emploi de marqueurs fluoresecents afin de visualiser les structures d'intérêts. Bien que cette approche soit largement répandue, elle présente certaines limitations, notamment le fait que certaines molécules et structures ne sont pas fluorescentes , et que l'utilisation de marqueurs peut modifier le comportement ou la viabilité des systèmes biologiques étudiés.

La microscopie par génération de seconde harmonique (GSH ou "*SHG*" pour *Second Harmonic Generation*) constitue une alternative permettant l'imagerie sans marquage, en exploitant les propriétés intrinsèques des matériaux. Elle repose sur un processus optique non linéaire, au cours duquel deux photons incidents interargissent avec la matière pour générer un photon unique. Ce phénomène est induit par l'utilisation d'un laser pulsé ultrapide, dans l'infrarouge [289, 290]. La SHG est particulièrement adaptée à l'imagerie de molécules non centrosymétriques ou encore de structures organisées, telles que dans les fibres de collagène.
Dans notre étude, nous avons utilisé un microscope confocal à balayage laser à excitation à deux photons avec SS-pSHG (LSM 710-NL0, Carl Zeiss SAS, Allemagne), couplé à un laser fentoseconde Chameleon Titanium-Sapphire (Coherent, Etats-Unis) [267], afin d'acquérir des images SHG des fibres de collagène dans les solutions.

**Moyenne de la fluorescence**

La fluorescence moyenne a été mesurée pour chaque condition afin de comparer l'intensité du signal des fibres de collagène entre les groupes comme presenté dans les figures suivantes. Une analyse statistique à deux facteurs (two-way ANOVA) a été réalisée pour comparer les différents conditions expérimentales. Les facteurs pris en compte étaient la stimulation imposée (témoin, sans ou avec compression cyclique) et le type de solution (WJ ou RT) utilisé. Un test de post hoc de Tukey a été appliqué pour évaluer les différences entre les groupes. Aucune différence significative n'a été observée ($p > 0,05$), quel que soit le facteur considéré, indiquant que ni le type de stimulation ni le type de solution n'influençaient de manière significative.



(a) WJ - Témoin (b) WJ - 2 min - 0 Hz (c) WJ - 2 min - 10 Hz (d) WJ - 2 min - 100 Hz (e) WJ - 2 min - 1 kHz

(f) RT - Témoin (g) RT - 2 min (h) RT - 10 Hz (i) RT - 100 Hz (j) RT - 1 kHz

FIGURE 5.2 – **Images SHG sous différentes conditions expérimentales.** *(Haut) Solution WJ. (Bas) Solution RT. Chaque colonne représente une condition spécifique : témoin, lévitation 2 min sans compression cyclique et lévitation 2 min avec compression à 10 Hz, 100 Hz ou 1 kHz.*

### 5.1.3 Caractérisation de la viabilité cellulaire

Après avoir vérifié que la lévitation acoustique, et en particulier les compressions cycliques des gouttes, entraîne ou non une fibrillogenèse, des essais de viabilité cellulaire ont été réalisés afin d'évaluer l'impact de ces conditions sur les cellules.

Des fibroblastes dermiques humains ont été ensemencées dans les solutions de WJ et RT ainsi que dans du milieu de culture DMEM-Glutamax à une densité de $10^6$ cellules/mL. Le milieu de culture a pu être mis en lévitation sous PSM, alors qu'il était trop instable hors PSM en raison de sa faible viscosité. En effet, cette faible viscosité entraînait des oscillations importantes et des résonances, voir une éjection de la goutte, ce qui rendait difficile la réalisation des autres tests (tension, évaporation, modulation) décrits au chapitre 4. Les cellules ont été cultivées pendant 4, 7 et 11 jours dans du DMEM-Glutamax (Gibco, Etats-Unis à supplémenté avec 5 % (v/v) de sérum de veau foetal et 1 % de mélanges antiobiotiques/antimycotiques (pénicilline, streptomycine, amphotéricine).

Les gouttes de solution ensemencés de cellules ont ensuite été soumises aux mêmes conditions expérimentales que celles décrites précédemment, à l'exception des stimulations mécaniques à 100 Hz. Dans ce cas, la goutte était trop instable et était éjectée de son noeud de pression, car cette fréquence correspond à la fréquence parasite du système (comme montré dans **chapitre 4**), amplifiant les oscillations.
Après lévitation et stimulations mécaniques, les gouttes ont été déposées sur une plaque de verre et les cellules ont été colorées avec du calcein et de l'iodure de propidium (Merck, Etats-Unis) pour évaluer leur viabilité. Les images ont ensuite été acquises à l'aide d'un microscope à fluorecence Anxiovert 200 M (Zeiss, Allemagne). Les cellules vivantes apparaissent en vert grâce au calcein, tandis que les cellules mortes sont marquées en rouge par l'iodure de propidium [267].

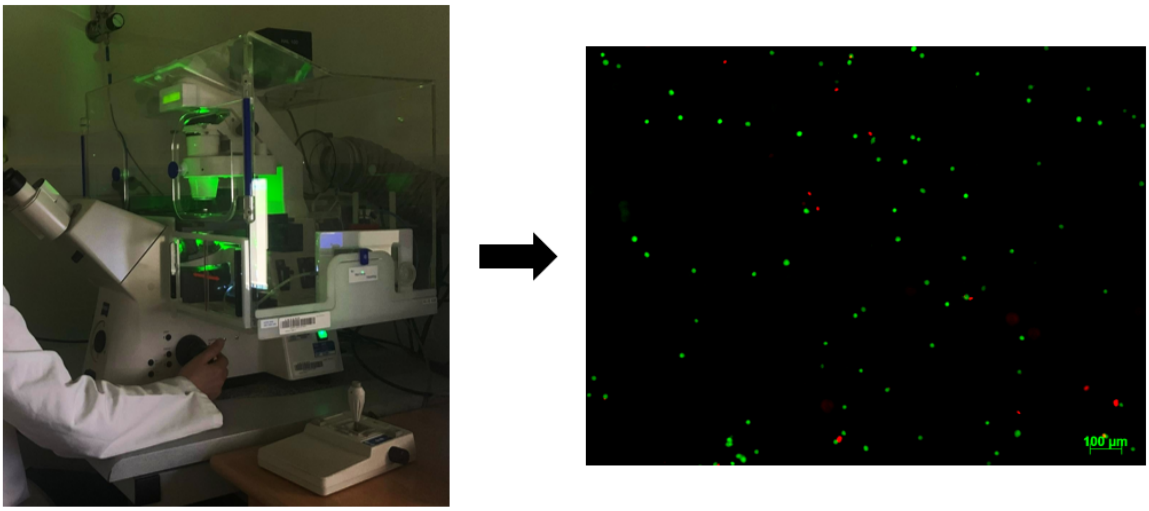
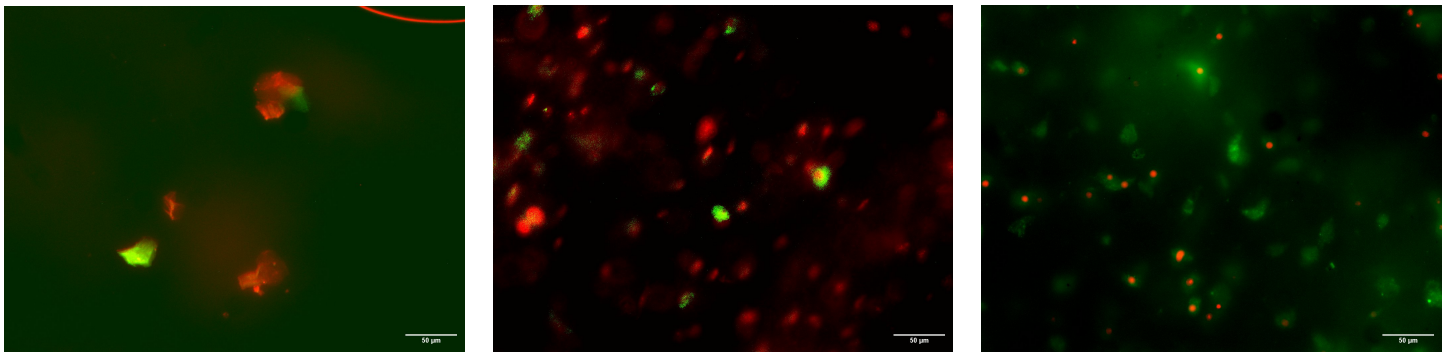


FIGURE 5.3 – **Acquisition et traitement des images résultant des essais de viabilité cellulaire.** *Microscope utilisé pour capturer les images de cellules marquées pour le test Live/Dead (gauche) et images traitées montrant les cellules vivantes (vert) et les cellules mortes (rouge).*

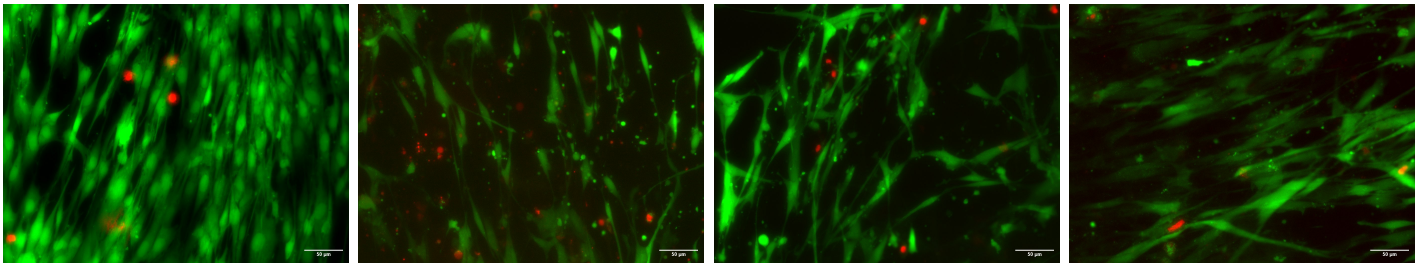


(a) Cas sans lévitation.

(b) Lévitation avec compressions cycliques à 10 Hz pendant 2 minutes.

(c) Lévitation avec compressions cycliques à 1 kHz pendant 7 minutes.

FIGURE 5.4 – **Images Live/Dead après 7 jours de culture pour la solution de WJ.** *Acquisition des images après 7 jours de culture pour les sept conditions, avec cellules vivantes en vert et cellules mortes en rouge.*

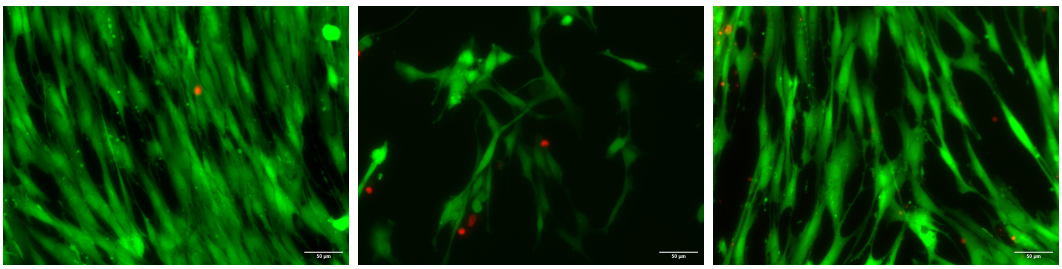


(a) Témoin

(b) 2 min - 0 Hz

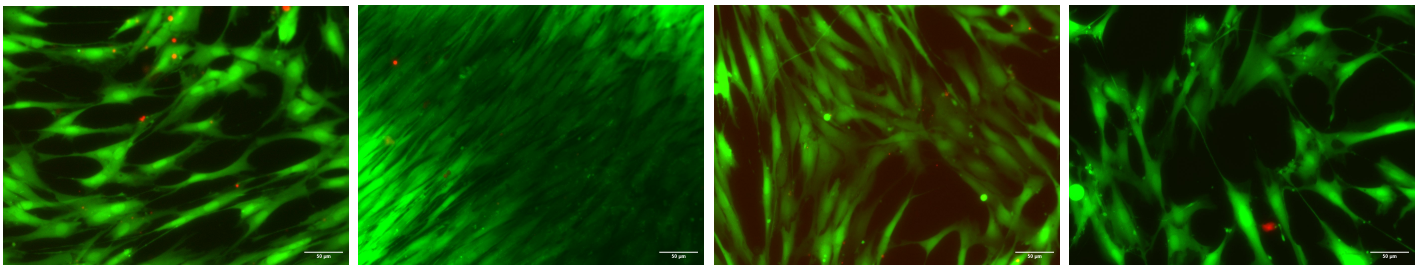
(c) 2 min - 10 Hz

(d) 2 min - 1 kHz

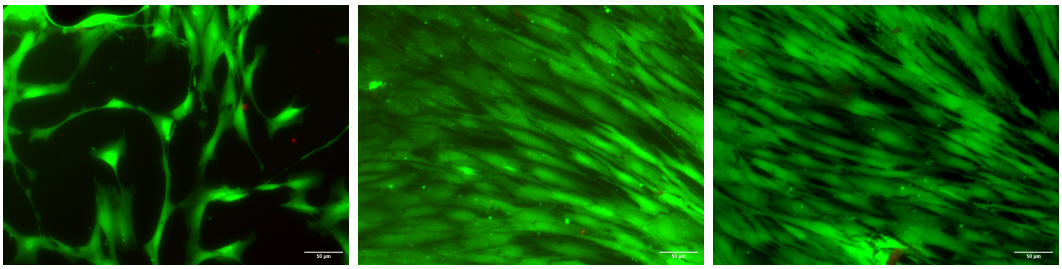


(a) 7 min - 0 Hz (b) 7 min - 10 Hz (c) 7 min - 1 kHz

FIGURE 5.6 – **Images Live/Dead après 7 jours de culture pour la solution de RT.** *Acquisition des images après 7 jours de culture pour les sept conditions, avec cellules vivantes en vert et cellules mortes en rouge. 0 Hz correspond au cas de lévitation sans modulation imposée.*



(a) Témoin (b) 2 min - 0 Hz (c) 2 min - 10 Hz (d) 2 min - 1kHz



(a) 7 min - 0 Hz (b) 7 min - 10 Hz (c) 7 min - 1 kHz

FIGURE 5.8 – **Images Live/Dead après 7 jours de culture pour le milieu de culture.** *Acquisition des images après 7 jours de culture pour les sept conditions, avec cellules vivantes en vert et cellules mortes en rouge. 0 Hz correspond au cas de lévitation sans modulation imposée.*

De manière générale, les observations montrent une bonne viabilité cellulaire, quel que soit le milieu utilisé, après lévitation et stimulations mécaniques, indiquant que les compressions cycliques des gouttes n'affectent pas la survie des cellules. Les cellules ont ensuite été remises en culture, et au bout de 7 jours, il était possible d'observer l'adhésion des cellules dans la solution de RT et dans le milieu de culture. Il semble également exister une différence entre 2 minutes et 7 minutes de stimulation, avec un allongement plus prononcé des cellules, suggérant un effet dépendant de la durée de stimulation mécanique. L'interprétation de ce phénomène nécessiterait toutefois des analyses supplémentaires pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents.

En revanche, une faible viabilité cellulaire a été constatée dans la solution WJ. Cette diminution de viabilité pourrait s'expliquer par un problème interne lié à l'élaboration de la solution,

pouvant entraîner la présence de composés toxiques. Des expériences complémentaires seraient nécessaire pour confirmer cette hypothèse.

### 5.1.4 Analyse de l'adhérence cellulaire post-lévitation

Des essais d'adhésion cellulaire ont ensuite été réalisés en utilisant les trois mêmes substrats - solutions de WJ et RT, ainsi que le milieu de culture - dans les mêmes sept conditions expérimentales, avec le même type cellulaire (fibroblastes dermiques humains) et une densité de $10^6$ cellules par mL.

Le dépôt des gouttes par micropipette a nécessité l'utilisation d'un volume initial légèrement supérieur (17 µL), afin d'obtenir un volume effectif entre 13 et 15 µL. Cette précaution permettait de faciliter le détachement de la goutte tout en maintenant une tension d'entrée de 5,4 V, au-délà de laquelle il n'était pas possible d'augmenter la tension (limite du lévitateur).

Pour les essais réalisés avec de la solution de RT et le milieu de culture, la tension d'entrée a été maintenue entre 5,2 V et 5,4 V (voir 5,5 V). Des tensions plus faibles entraînaient une instabilité marquée de la goutte, pouvant conduire à sa chute ou à son éjection du noeud de pression.
A l'inverse, pour la solution WJ, la tension d'entrée a été réglée au plus proche de la valeur minimale atteignable soit 3,7-3,8 V. En effet, cette solution est très sensible à la pression acoustique appliquée en raison de sa faible tension de surface et de sa grande mouillabilité, ce qui la rend facilement compressible. Hors PSM, une tension trop élevée donnait à la goutte une forme auriculaire (type "donut"), tandis que sous PSM, cela favorisait la formation de bulles d'air. Il était donc nécessaire de maintenir une compression minimale pour préserver les cellules encapsulées. De plus, le choix s'est effectué de manière à prendre en compte la diminution de volume liée à l'évaporation et donc éviter la formation de bulles lors de l'expérience. Ce comportement est cohérent avec les propriétés de la solution décrites dans le chapitre 3, dont la tension de surface est plus faible que celle des deux autres milieux. Hors PSM, des tensions d'entrée plus élevées (6-6,2 V) conduisaient à une compression marquée de la goutte, jusqu'à prendre une forme annulaire ("donut") voir piéger une bulle d'air, un effet accentué en présence du flux d'air.

Les gouttes ont ensuite été récupérées sur des plaques en verre et placées dans une plaque de culture à 24 puits. Des images ont été acquises le jour de l'expérience, au bout de 24 h et au bout de 48 h après changement de milieu. Comme pour les essais Live/Dead, il s'agit d'observations qualitatives visant à vérifier l'adhérence cellulaire en fonctions des conditions de stimulation et du milieu utilisé.

L'analyse des images montre que les cellules ont survécu et adhéré, quelles que soient les conditions de stimulation et le milieu utilisé. Dans le cas de la solution de WJ, un nombre plus faible de cellules a été observé. Ce résultat pourrait être relié à la présence de composés toxiques

et nécessite des études supplémentaires avec d'autres lots afin de déterminer si cette faible viabilité est effectivement due à la formulation de la solution ou aux stimulations mécaniques appliquées.

Il est intéressant de noter que pour la condition avec compressions cycliques à 1 kHz pendant 7 minutes, des agrégats cellulaires semblent avoir été formés. Toutefois, il est difficile de conclure si cette observation reflètent une organisation réelle des cellules ou simplement une condensation de la solution. Cette observation pourrait être mise en lien avec les résultats obtenus lors des tests sans cellules, pour lesquels une organisation légèrement différent des fibres de collagène a été observée sous la même condition de stimulation. Toutefois, cette interprétation reste à confirmer, car aucune réponse correspondante n'a été identifiée sur le spectre de Fourier lors de l'analyse de la réponse dynamique des gouttes à la fréquence imposée de 1 kHz. En effet, ces résultats suggèrent que la goutte ne renvoie pas directement cette fréquence à l'échelle macroscopique. Néanmoins l'absence de cette signature fréquentielle mesurable au niveau de la goutte n'exclut pas la possibilité que les cellules puissent percevoir ou ressentir cette fréquence à l'échelle microscopique.

### 5.1.5 Conclusions

Pour conclure, ces premiers résultats apparaissent encourageants et mettent en évidence la possiblité d'utiliser la lévitation acoustique, en particulier les compressions cycliques à différentes fréquences, comme nouveau bioprocédé.

Toutefois, des essais supplémentaires doivent être envisagés afin d'étoffer la base de données et mieux comprendre les facteurs influençant le comportement des gouttes, en particulier sur les fibres de collagène et les cellules. Comme montré au chapitre 4 (**section 4.2**), l'amplitude des déformations d'une goutte induites par les compressions cycliques varie en fonction de la tension d'entrée et de la fréquence de modulation appliquée. De plus, le chapitre 2 a mis en évidence que le positionnement d'une goutte dans un noeud de pression donné peut également avoir une influence sur sa stabilité et sa dynamique.

Une condition expérimentale regroupe ainsi plusieurs paramètres, incluant la tension d'entrée, la fréquence de modulation, la durée de stimulation et le positionnement de la goutte. L'étude d'un large panel de ces paramètres permettrait d'évaluer plus précisément leur influence sur les fibres de collagène et les cellules, en particulier si la condition 1 kHz-7 min induit ces différences observées lors des premiers essais préliminaires. Ces observations suggèrent ainsi que l'exploration de ces paramètres nécessiterait un vaste plan d'expériences biologiques et constitue un sujet de recherche à part entière, offrant de nombreuses perspectives pour approfondir la compréhension des interactions entre stimulations mécaniques et réponses cellulaires.

L'ensemble de ces investigations complémentaires a ainsi contribué à mieux cerner les possibilités d'utilisation de ce dispositif dans des applications biologiques. A terme, l'association

avec des simulations numériques pourraient permettre d'identifier les paramètres clés, notamment les fréquences et amplitudes de compressions cycliques, et de prédire la déformation locale subie par les cellules. Pour différents couples viscosité/tension d'entrée/taille de goutte, il serait ainsi possible de fixer les paramètres expérimentaux de manière à obtenir la même déformation locale au niveau cellulaire, ce qui faciliterait l'optimisation du dispositif et l'interprétation des résultats.

## 5.2 Perspectives en mécanobiologie et en ingénierie des procédés

La première section de ce chapitre a montré qu'il était possible d'utiliser la lévitation acoustique comme dispositif de stimulation mécanique des cellules, ouvrant la voie à des applications biologiques futures. Cependant, d'autres perspectives existent, tant sur les aspects expérimentaux décrits dans cette thèse que sur le volet numérique. Celles-ci pourraient permettre d'améliorer les conditions de mesure, d'étoffer la base de données expérimentales, et d'élargir ou d'optimiser certaines techniques.

### 5.2.1 Amélioration du contrôle de l'environnement : température et humidité

Des essais d'évaporation des gouttes en lévitation acoustique ont été réalisés et décrits dans le chapitre 4, selon deux configurations : sans et avec enceinte. Ces expériences ont mis en évidence une évaporation significative dans les deux cas. De manière inattendue, l'ajout d'une enceinte, initialement envisagé afin de freiner ce phénomène, a conduit à une augmentation du taux d'évaporation.
L'analyse des résultats a montré que l'évaporation est fortement sensible à différents paramètres expérimentaux, notamment la température et l'humidité ambiante, ainsi qu'à la tension d'entrée, laquelle contrôle le niveau de pression acoustique (SPL). La variation de l'un ou plusieurs de ces paramètres peut ainsi modifier de manière significative ce processus.

Pour une série de mesures sur différents jours, cette sensibilité rend la comparaison des données délicate. En effet, pour un même matériau, des variations de température et d'humidité peuvent être observées d'un essai à l'autre, conduisant à des conditions expérimentales non strictement comparables. Cette problématique est d'autant plus marquée dans le cas des expériences menées avec enceinte, pour lesquelles la température et l'humidité à l'intérieur de l'enceinte peuvent varier au cours d'une même journée.

Ainsi, une amélioration du contrôle de la température et de l'humidité à l'intérieur de l'enceinte pourrait être envisagée. L'intégration d'un système de type *Controlled Evaporator and Mixer* (CEM, Bronkhorst, Pays-bas) permettrait de réguler précisément l'humidité et la température. Le CEM est conçu pour contrôler le débit massique de vapeurs générées à partir de liquides et de gaz en fonctionnement des conditions spécifiées. Il comprends une vanne de régulation ("mixing valve"), une chambre de mélange et un échangeur de chaleur, permettant d'ajouter un liquide à un gaz vecteur et donc de transformer le mélange en vapeur. Un capteur de température intégré à l'échangeur permet de suivre en continu la température interne du système, et donc de garantir un contrôle précis des conditions de production de vapeur.
Le montage a été réalisé dans la salle de manipulation (**Figure 5.9**). Néanmoins, en raison de

contraintes de temps, il n'a toutefois pas été possible de procéder à des tests expérimentaux.



(a) Installation (b) Contrôle

FIGURE 5.9 – **Système CEM pour le contrôle de la température et de l'humidité dans l'enceinte du lévitateur acoustique.** *(a) Vue d'ensemble du CEM, intégrant régulateurs et chambre de mélange. (b) Boîtier de contrôle associé, permettant de réguler les débits et la température via l'interface utilisateur.*

La vérification de la température et de l'humidité à l'intérieur de l'enceinte serait ensuite réalisée à l'aide du capteur piloté par Raspberry Pi, décrit au chapitre 2, selon le même protocole de mesure. Cette approche permettrait de maintenir des conditions environnementales plus stables sur des durées prolongées et donc de garantir la répétabilité des expériences menées avec le lévitateur acoustique.

### 5.2.2 Automatisation du passage des gouttes

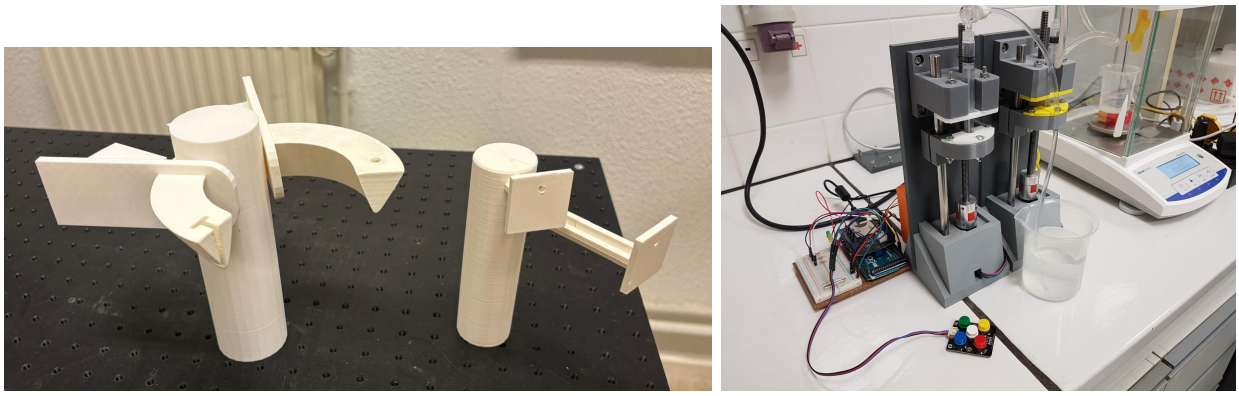
Pour chacune des expériences effectuées, la mise en place de la goutte en lévitation a été réalisée manuellement à l'aide d'une micropipette. Cette approche présente l'avantage d'un contrôle précis du volume de la goutte ainsi que de son positionnement au niveau du noeud de pression acoustique sélectionné. Cela a ainsi permis de garantir une bonne reproductibilité des conditions expérimentales.
Cependant, cette procédure manuelle reste limitée car elle constitue une action répétitive, peu adaptée à la culture de grandes quantités de cellules, nécessitant une intervention constante de l'opérateur et ne permettant pas un fonctionnement autonome du dispositif. Ces contraintes limitent l'enchaînement de séries de tests sur une grand nombre de gouttes.

Une perspective consisterait donc à automatiser la mise en place des gouttes en lévitation acoustique. Une telle automatisation permettrait d'envisager un fonctionnement entièrement autonome du système, depuis le dépôt de la goutte jusqu'à sa récupération après stimulations

mécaniques. Cette mise en oeuvre ouvrirait ainsi la voie à la production d'un plus grand nombre de gouttes contenant des cellules ayant été soumises à des stimulations mécaniques contrôlées. Cela conduirait à une quantité plus importante de matériel biologique pour les analyses après stimulation mécanique. Cet aspect est particulièrement important pour certaines analyses biologiques qui nécessitent un nombre suffisant de cellules.

Une première approche d'automatisation a été explorée dans le cadre d'un projet étudiant que j'ai encadré (projet de 60h recherche et développement, dernière année d'ingénieur ENSEM), avec le développement d'un prototype par impression 3D. Il s'agit d'une structure, de type tronc ou arbre, équippée de deux branches servant au dépôt et à la récupération de la goutte (**Figure 5.10a**). La rotation de la structure est effectuée par un servomoteur piloté par une carte Arduino. L'objectif serait de déposer la goutte à l'aide d'un pousse-seringue sur une des branches, tandis que l'autre branche permettrait de la récupérer après stimulations mécaniques. Bien que fonctionnelle, cette approche nécessite encore des développements, notamment pour un réglage plus fin de la vitesse et de l'angle de rotation, ainsi que pour l'ajustement des dimensions du prototype en fonction de la position du noeud de pression ciblé.

Concernant le pousse-seringue nécessaire à la déposition d'un volume de goutte donné, différentes options sont possibles et ont été considérées. Un pousse-seringue commercial constituerait une solution simple, tandis qu'un matériel *ad hoc* comme celui développé par le laboratoire LIEC à partir de pièces imprimées, pourraît également constituer une alternative à faible coût (**Figure 5.10b**). Ce système intègre un moteur commandant le déplacement du piston de la seringue, permettant soit l'aspiration du liquide depuis un réservoir, soit son injection via un système de clapets. Le pilotage du moteur est assuré par une carte Arduino, avec une interface de commande permettant de définir le sens de rotation et la vitesse du moteur.



(a) Prototypes imprimé en 3D (b) Pousse-seringue à faible coût

FIGURE 5.10 – **Prototypes pour l'automatisation des gouttes dans le lévitateur acoustique.** *(a) Structures imprimées en 3D de type tronc/arbre avec branches pour le dépôt et la récupération des gouttes par rotation motorisée. (b) Pousse-seringue à faible coût avec pièces imprimées en 3D et piloté par carte Arduino.*

Enfin, la récupération de la goutte après stimulation reste également un point à optimiser.

Plusieurs pistes peuvent être envisagées, telles que l'utilisation d'un système d'aspiration par seringue ou d'un support mécanique.

### 5.2.3 Extension de la DMA aux fluides non newtoniens

Des essais de DMA, décrits dans le chapitre 3 (**section 3.4.3.1**), ont été réalisés en complément des mesures rhéologiques pour caractériser les propriétés viscoélastiques des deux solutions de WJ et RT. La DMA permet de mesurer la raideur dynamique $K^*$ de matériaux, qui peut ensuite être reliée aux modules viscoélastiques $G'$ et $G''$ via un modèle analytique. Or, ce modèle n'est valable que pour des fluides newtoniens, ce qui n'est pas le cas des solutons à base biologique.

Une des perspetives inhérentes aux travaux qui ont été décrits serait donc d'étendre le modèle analytique sous-jacent vers une version intégrant la viscosité complexe dépendante de la fréquence $\eta^*(\omega)$. Cette extension permettait ainsi de déterminer $G'(\omega)$ et $G''(\omega)$ à partir de la raideur dynamique $K^*$.

### 5.2.4 Modélisation numérique de la goutte et méthode inverses

Dans ce travail, nous avons posé les bases d'un modèle numérique visant à reproduire le comportement d'une goutte en lévitation sous l'effet de la pression acoustique. La simulation réalisée se base sur une version simplifiée de la loi angulaire, permettant de distribuer les valeurs de pression acoustique sur la surface de la goutte, dont les propriétés des matériaux ont été identifiés dans le chapitre 3. Une autre façon de répartir les valeurs de pression acoustique consisterait à utiliser une loi gaussienne, afin de tester un profil linéaire et donc obtenir une répartition plus précise, plus proche des résultats expérimentaux. Par ailleurs, l'application directe de la force de radiation acoustique, pour comprimer la goutte tout en contrecarrant la gravité, permettrait de reproduire la goutte de façon encore plus réaliste. Il s'agirait ensuite de tester ces conditions dans le cas des différentes solutions afin de déterminer les valeurs de pression acoustique.

Une approche inverse complémentaire, également décrite dans le chapitre 2, consisterait à appliquer les valeurs de pression acoustique obtenues via le modèle analytique de Yarin et al. (décrit et testé dans le chapitre 4). Cette approche permettrait de définir les paramètres matériaux correspondants (comme s'ils n'avaient pas été identifiés) en minimisant les erreurs du modèle vis-à-vis des résultats expérimentaux, et offrirait un deuxième point de validation du modèle, en comparaison avec les propriétés mécaniques identifiées dans le chapitre 3.

Enfin, ce modèle numérique peut également être mis à profit et enrichi par des modèles de mécanobiologie, qu'ils soient basés sur des approches continues (implémentant principale les équations de diffusion-réaction) ou basés sur des agents (*agent-based*) afin de mieux comprendre et interpréter les résultats d'observations biologique et donc d'optimiser le procédé (**1.3.4**).

Les modèles continus permettraient d'incorporer des équations de transport chimique ou des modèles de croissance, et donc prédire la croissance globale des cellules sous contraintes. Les modèles *agent-based* permettraient d'évaluer l'effet de contraintes sur la viabilité, la migration ou la différenciation des cellules en considérant la compléxité de leurs interactions dans un environnement 3D [291].

## Conclusion du chapitre

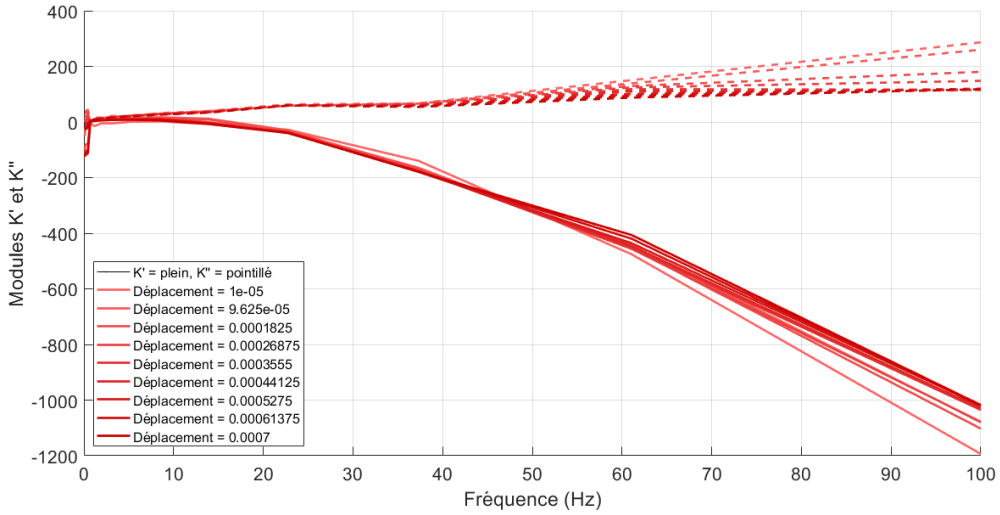
Ce chapitre a permis d'étudier et de mettre en place un nouveau bioprocédé fondé sur la lévitation acoustique, en caractérisant notamment la dyanmique de réponse de gouttes soumises à des compressions cycliques. Ces travaux visent à exploiter ce système comme outil de stimulation mécanique pour des cellules dans des solutions de polymères à base biologique, ouvrant ainsi des perspectives de nouvelles stratégies de stimulations mécaniques sans contact. L'ensemble des développements expérimentaux, analytiques et numériques constitue ainsi une base d'ingénierie robuste, quasi opérationnelle, pour l'utilisation de la lévitation acoustique.

Cette plateforme ouvre deux voies principales de recherche : d'une part, son application directe en biologie et bio-ingénierie pour l'étude et l'optimimisation des réponses cellulaires aux stimuli mécaniques ; d'autre part, le développement et l'optimisation du modèle numérique afin d'affiner la compréhension du microenvironnement des cellules soumises à des compressions cycliques lors de la lévitation.

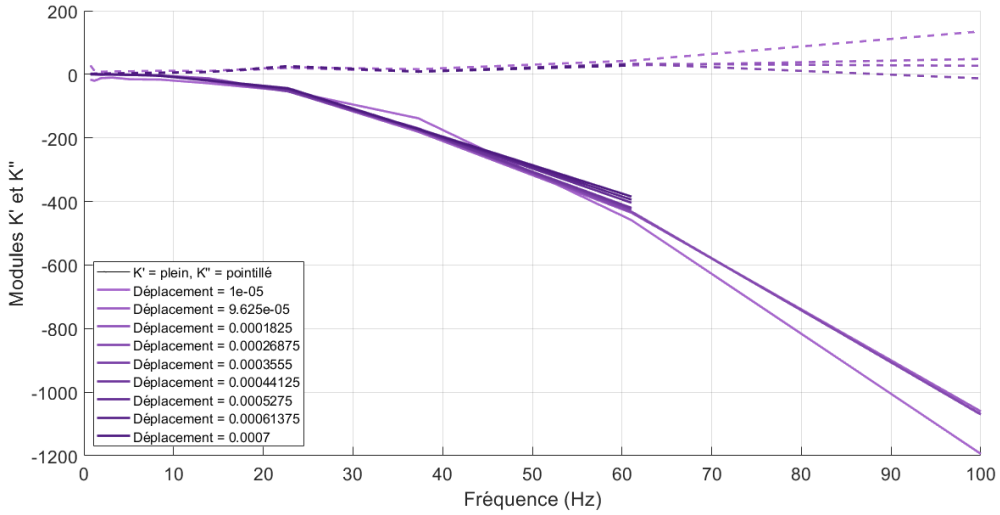
# Annexes

## 5.1 Annexe du chapitre 3

Les figures suivantes montrent les modules de raideur dynamique $K'$ et $K''$ des solutions WJ et RT, mesurés lors d'un balage en fréquence pour différents déplacements imposés du piston.




(a) Solution de WJ



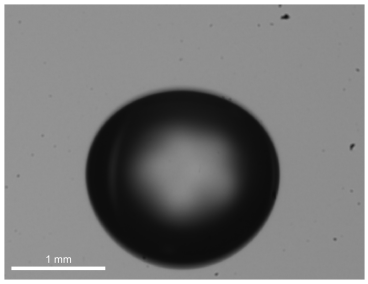

(b) Solution de RT

FIGURE 5.11 – **Modules de raideur dynamique $K'$ et $K''$ en fonction de la fréquence pour différents déplacements du piston.** *(a) Solution WJ, (b) Solution RT, dont certaines valeurs à des déplacements élevés n'ont pu être enregistrées au-délà de 61 Hz.*

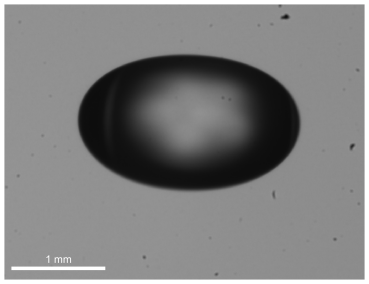
## 5.2 Annexe du chapitre 4

### 5.2.1 Effet de la tension sur la forme des gouttes

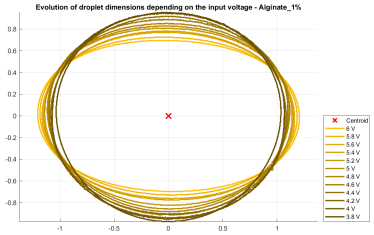
Les figures suivantes complètent les résultats du chapitre 4 (**section 4.1.1**) et illustrent l'effet de la tension (minimale et maximale) sur la forme des gouttes, pour chaque volume et solution étudiée, ainsi que les contours extraits associés.



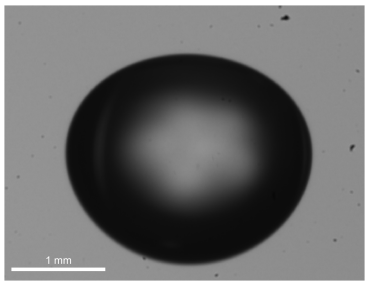

(a) Goutte d'alginate 1 % à 3,8 V à 5 µL



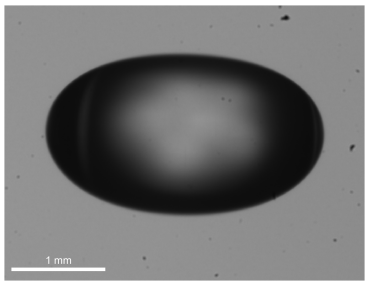

(b) Goutte d'alginate 1 % à 5,8 V à 5 µL



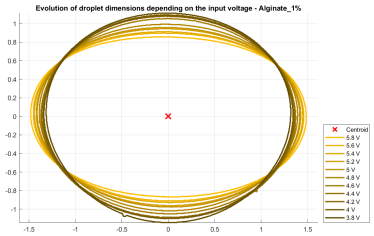

(c) Contours goutte en fonction de la tension



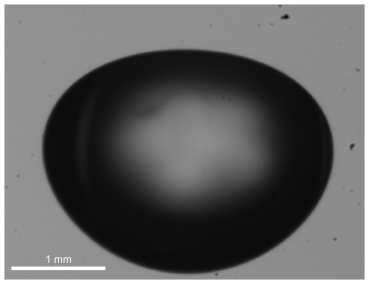

(d) Goutte d'alginate 1 % à 3,8 V à 9 µL



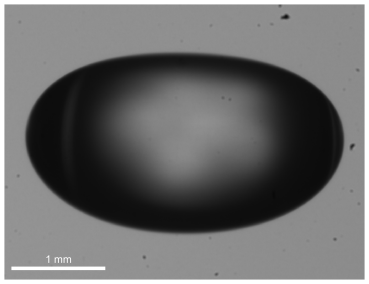

(e) Goutte d'alginate 1 % à 5,8 V à 9 µL



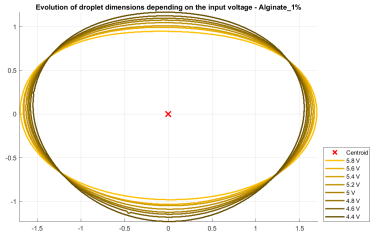

(f) Contour goutte en fonction de la tension




(g) Goutte d'alginate 1 % à 4,4 V à 13 µL

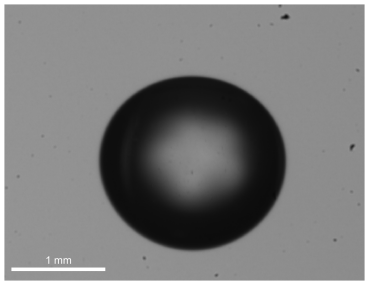



(h) Goutte d'alginate 1 % à 5,8 V à 13 µL

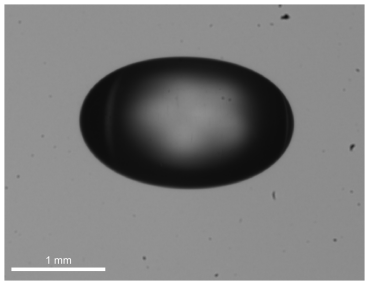



(i) Contour goutte en fonction de la tension

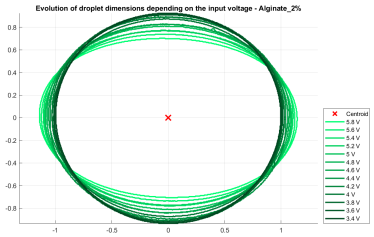
FIGURE 5.12 – **Gouttes de solution d'alginate 1% à tension min et max, pour les volumes 5 µL, 9 µL et 13 µL.**



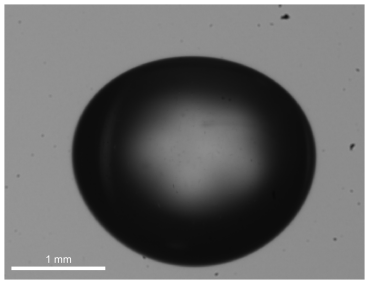

(a) Goutte d'alginate 2 % à 3,4 V à 5 µL



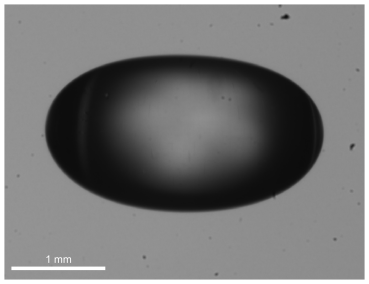

(b) Goutte d'alginate 2 % à 5,8 V à 5 µL



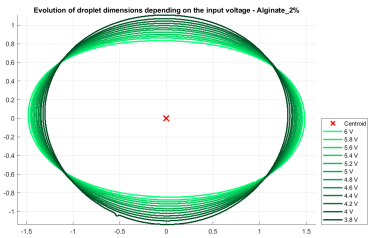

(c) Contours goutte en fonction de la tension



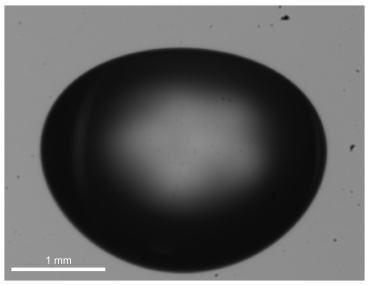

(d) Goutte d'alginate 2 % à 3,8 V à 9 µL



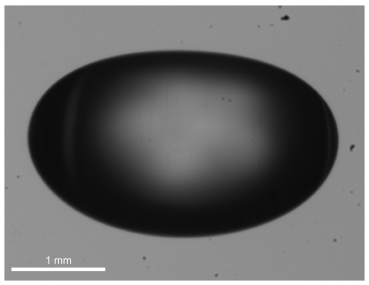

(e) Goutte d'alginate 2 % à 6,0 V à 9 µL



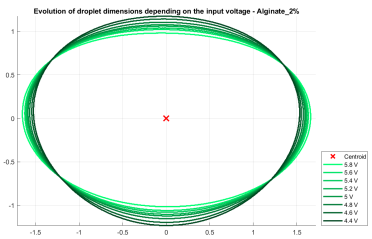

(f) Contours goutte en fonction de la tension




(g) Goutte d'alginate 3 % à 4,4 V à 13 µL

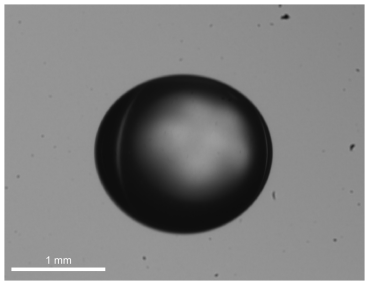



(h) Goutte d'alginate 3 % à 5,8 V à 13 µL

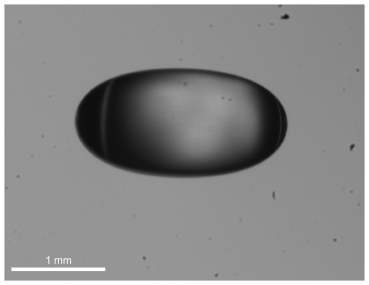



(i) Contours goutte en fonction de la tension

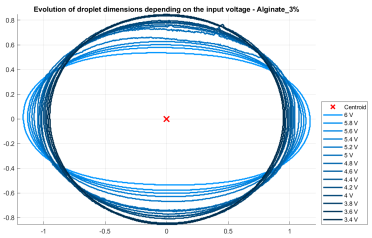
FIGURE 5.13 – **Gouttes de solution d'alginate 2% à tension min et max, pour les volumes 5 µL, 9 µL et 13 µL.**



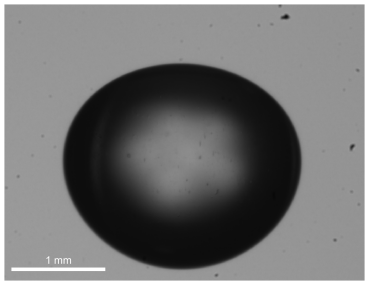

(a) Goutte d'alginate 3 % à 3,4 V à 5 µL



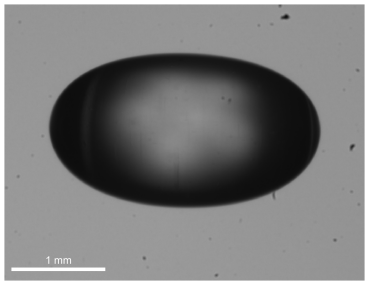

(b) Goutte d'alginate 3 % à 5,8 V à 5 µL



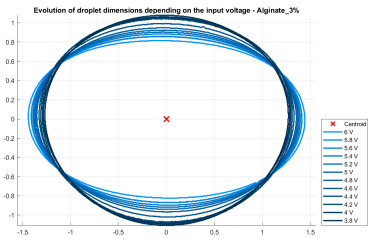

(c) Contours goutte en fonction de la tension



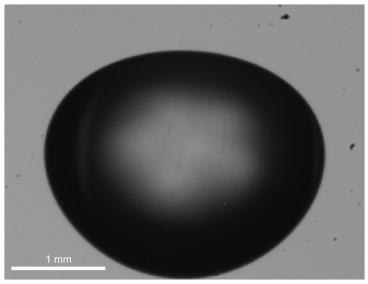

(d) Goutte d'alginate 3 % à 3,8 V à 9 µL



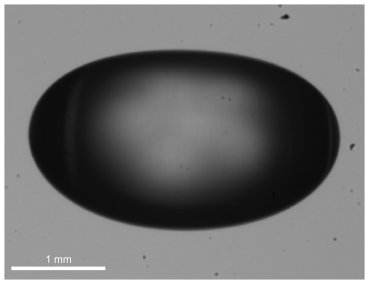

(e) Goutte d'alginate 3 % à 6,0 V à 9 µL



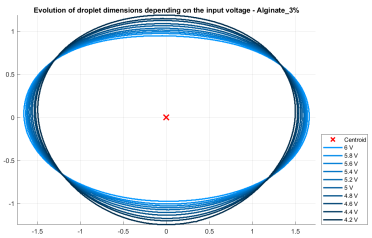

(f) Contours goutte en fonction de la tension




(g) Goutte d'alginate 3 % à 4,2 V à 13 µL

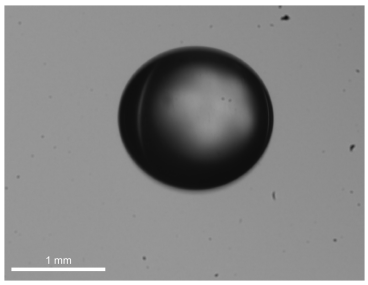



(h) Goutte d'alginate 3 % à 6,0 V à 13 µL

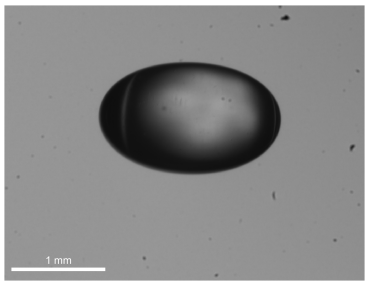



(i) Contours goutte en fonction de la tension

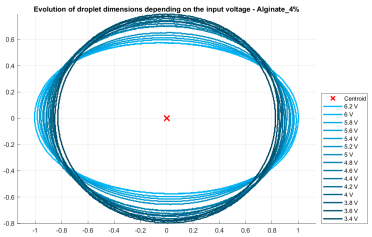
FIGURE 5.14 – **Gouttes de solution d'alginate 3% à tension min et max, pour les volumes 5 µL, 9 µL et 13 µL.**



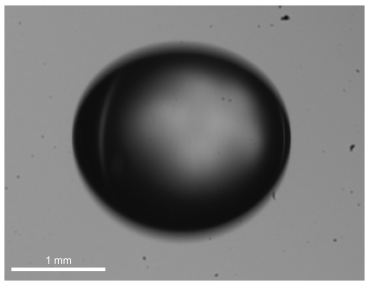

(a) Goutte d'alginate 4 % à 3,4 V à 5 µL



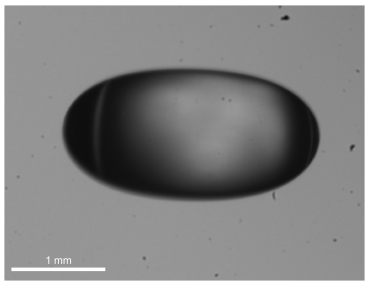

(b) Goutte d'alginate 4 % à 5,8 V à 5 µL



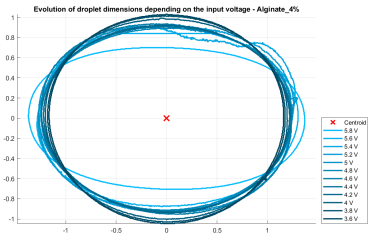

(c) Contours goutte en fonction de la tension



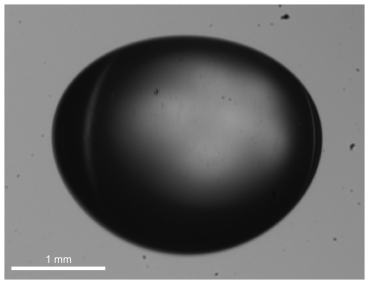

(d) Goutte d'alginate 3 % à 3,6 V à 9 µL



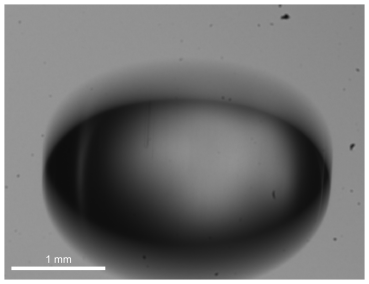

(e) Goutte d'alginate 3 % à 5,8 V à 9 µL



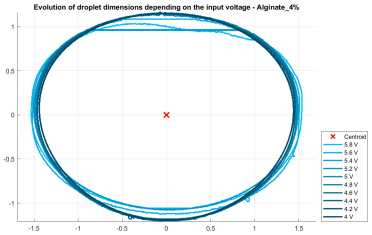

(f) Contours goutte en fonction de la tension




(g) Goutte d'alginate 4 % à 4,0 V à 13 µL

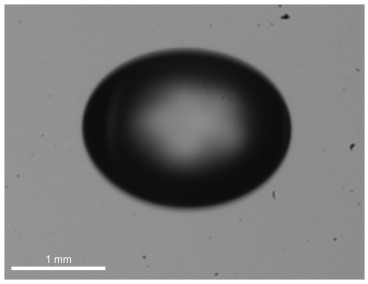



(h) Goutte d'alginate 4 % à 5,8 V à 13 µL

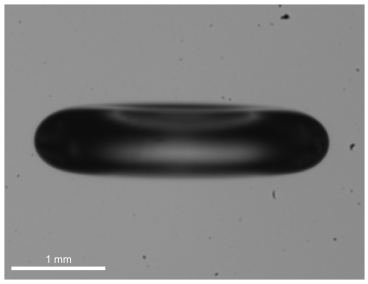



(i) Contours goutte en fonction de la tension

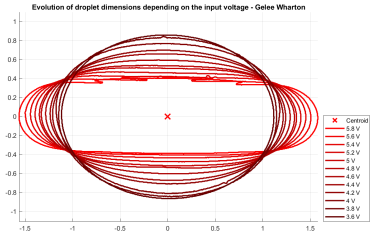
FIGURE 5.15 – **Gouttes de solution d'alginate 4% à tension min et max, pour les volumes 5 µL, 9 µL et 13 µL.**



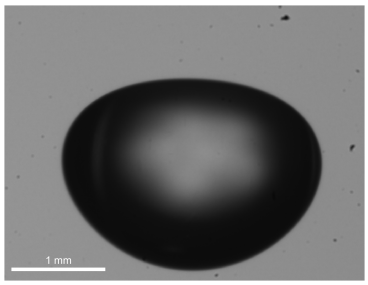

(a) Goutte de GW à 3,6 V à 5 µL



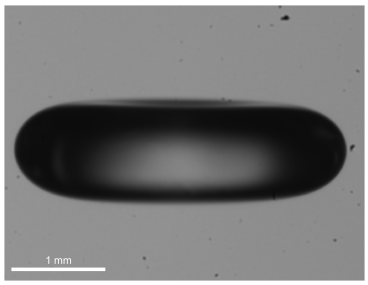

(b) Goutte de GW à 5,8 V à 5 µL



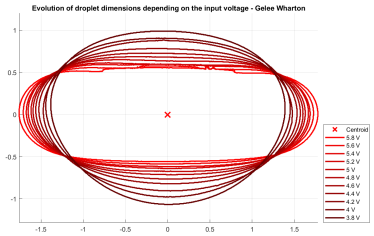

(c) Contours goutte en fonction de la tension



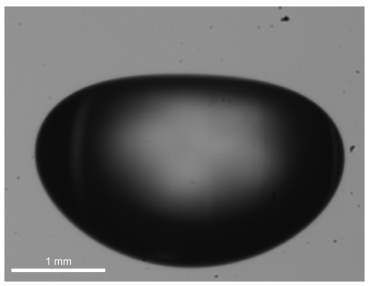

(d) Goutte de GW à 3,8 V à 9 µL



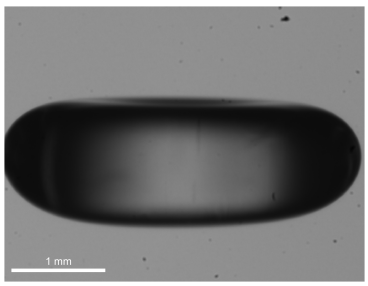

(e) Goutte de GW à 5,8 V à 9 µL



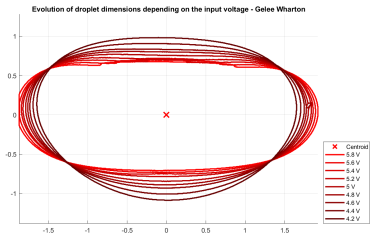

(f) Contour goutte en fonction de la tension




(g) Goutte de GW à 4,2 V à 13 µL

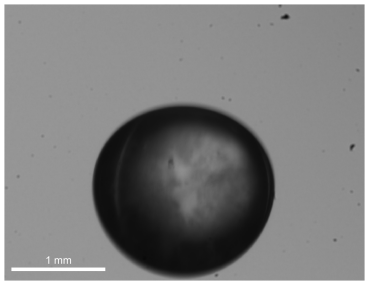



(h) Goutte de GW à 5,8 V à 13 µL

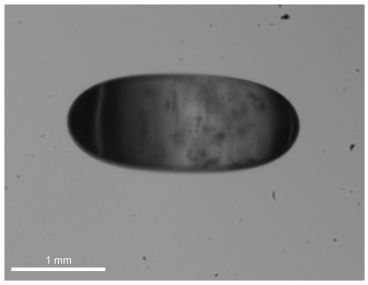



(i) Contours goutte en fonction de la tension

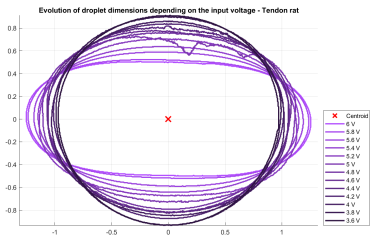
FIGURE 5.16 – **Gouttes de solution GW à tension min et max, pour les volumes 5 µL, 9 µL et 13 µL.**



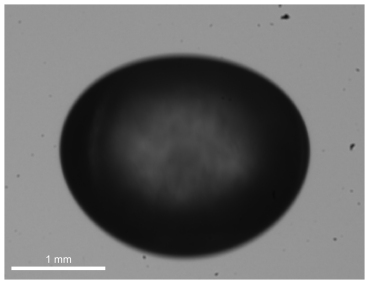

(a) Goutte de RT à 3,6 V à 5 µL



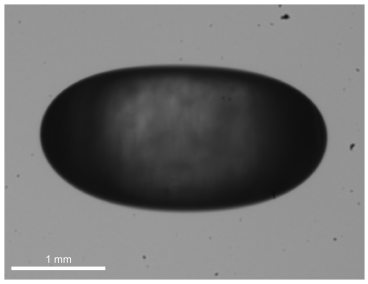

(b) Goutte de RT à 6,0 V à 5 µL



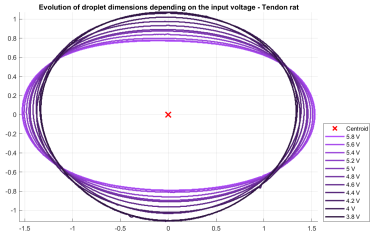

(c) Contours goutte en fonction de la tension



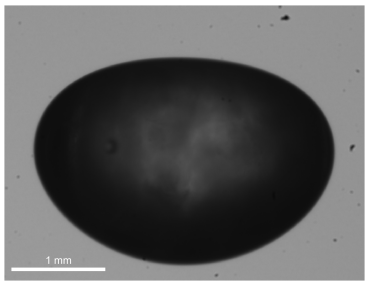

(d) Goutte de RT à 3,8 V à 9 µL



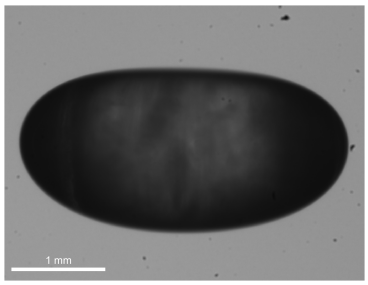

(e) Goutte de RT à 5,8 V à 9 µL



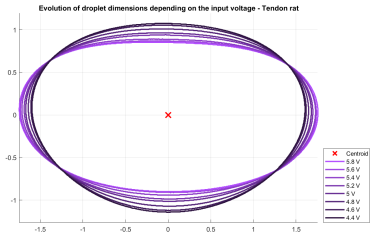

(f) Contour goutte en fonction de la tension




(g) Goutte de RT à 4,4 V à 13 µL




(h) Goutte de RT à 5,8 V à 13 µL




(i) Contours goutte en fonction de la tension

FIGURE 5.17 – **Gouttes de solution RT à tension min et max, pour les volumes 5 µL, 9 µL et 13 µL.**

### 5.2.2 Ratios des gouttes

Les ratios minimaux et maximaux pour chacun des volumes et solutions, avec les écarts-types, sont également présentés en complément des figures.

TABLE 5.1 – **Résumé des ratios minimum et maximum pour toutes les solutions et volumes.**

| Sample | Volume (µL) | Ratio min | Ratio max | Ecart-type |
|---|---|---|---|---|
| Alginate 1% | 5 | 1,07 | 1,86 | ± 0,212 |
| | 9 | 1,15 | 2,29 | ± 0,242 |
| | 13 | 1,22 | 1,99 | ± 0,172 |
| Alginate 2% | 5 | 1,07 | 1,73 | ± 0,191 |
| | 9 | 1,12 | 2,79 | ± 0,348 |
| | 13 | 1,26 | 1,98 | ± 0,172 |
| Alginate 3% | 5 | 1,09 | 2,16 | ± 0,255 |
| | 9 | 1,15 | 2,28 | ± 0,232 |
| | 13 | 1,19 | 2,18 | ± 0,212 |
| Alginate 4% | 5 | 1,07 | 1,74 | ± 0,204 |
| | 9 | 1,12 | 2,34 | ± 0,289 |
| | 13 | 1,17 | 2,45 | ± 0,31 |
| GW | 5 | 1,21 | 4,53 | ± 0,994 |
| | 9 | 1,35 | 3,81 | ± 0,656 |
| | 13 | 1,52 | 3,09 | ± 0,414 |
| RT | 5 | 1,05 | 2,47 | ± 0,398 |
| | 9 | 1,18 | 2,68 | ± 0,336 |
| | 13 | 1,32 | 2,34 | ± 0,256 |

### 5.2.3 Volume des gouttes selon les deux méthodes

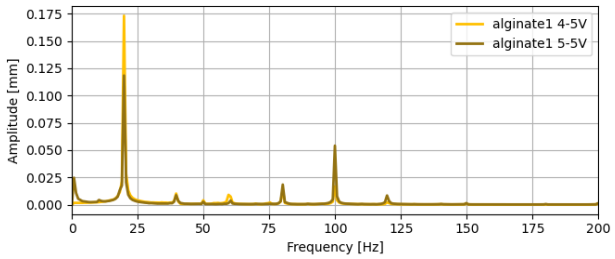
Pour chaque solution et chaque volume (5, 9 et 13 µL), les volumes mesurés avec la méthode sphéroïdale ont été comparés à ceux obtenus avec la méthode par intégration verticale à l'aide d'un test t de Student pour échantillons indépendants. La moeynne et l'écart-type ont été calculés pour chaque groupe, La stastistique t et la p-value ont été reportées pour chaque comparaison, et une différence a été considérée significative lorsque $p < 0,05$. Les résultats complets, incluant les moyennes, écarts-types, t-stastiques, p-values et indication de significativité, sont présentés dans le tableau en annexe.

TABLE 5.2 – **Comparaison des volumes mesurés par les méthodes sphéroïdale et par intégration verticale pour chaque solution et volume.**

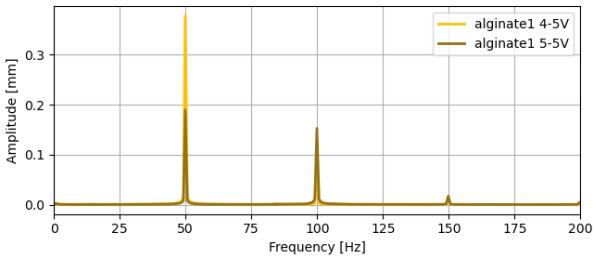
| Sample | Volume (µL) | Méthode sph moy ± std | Méthode vl moy ± std | p-value | Signif, |
|---|---|---|---|---|---|
| Alg, 1% | 5 | 4,44 ± 0,154 | 4,48 ± 0,16 | 0,16 | Non |
| | 9 | 8,38 ± 0,203 | 8,54 ± 0,218 | 5,79e-5 | Oui |
| | 13 | 12,5 ± 0,49 | 12,6 ± 0,5 | 0,19 | Non |
| Alg, 2% | 5 | 4,18 ± 0,155 | 4,22 ± 0,159 | 0,14 | Non |
| | 9 | 7,76 ± 0,363 | 8,03 ± 0,404 | 8e-5 | Oui |
| | 13 | 11,71 ± 0,213 | 11,84 ± 0,23 | 0,009 | Oui |
| Alg, 3% | 5 | 3,67 ± 0,216 | 3,71 ± 0,213 | 0,37 | Non |
| | 9 | 6,9 ± 0,76 | 7,17 ± 0,697 | 0,028 | Oui |
| | 13 | 10,95 ± 0,856 | 11,08 ± 0,90 | 0,49 | Non |
| Alg, 4% | 5 | 2,81 ± 0,637 | 2,83 ± 0,634 | 0,89 | Non |
| | 9 | 7,02 ± 0,88 | 6,75 ± 0,759 | 0,14 | Non |
| | 13 | 10,95 ± 0,94 | 10,88 ± 0,67 | 0,73 | Non |
| GW | 5 | 4,29 ± 0,358 | 4,40 ± 0,366 | 0,12 | Non |
| | 9 | 8,24 ± 0,2 | 8,45 ± 0,196 | 7,3e-7 | Oui |
| | 13 | 12 ± 0,279 | 12,27 ± 0,225 | 4,9e-6 | Oui |
| RT | 5 | 4,31 ± 0,355 | 4,38 ± 0,355 | 0,33 | Non |
| | 9 | 8,03 ± 0,23 | 8,17 ± 0,246 | 0,003 | Oui |
| | 13 | 11,59 ± 0,487 | 11,8 ± 0,499 | 0,6 | Non |

### 5.2.4 Spectres FFT

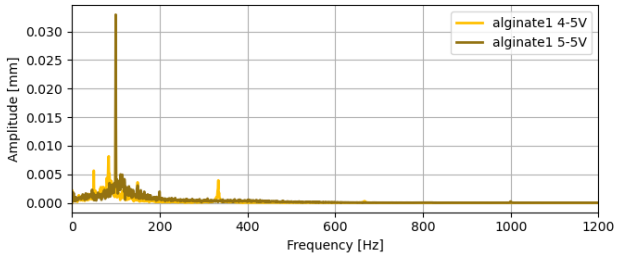
Les figures présentées ici montrent l'amplitude de modulation à d'autres fréquences non incluses dans le chapitre 4 (**section 4.2.1.1**) et viennent compléter les résultats principaux discutés dans ce chapitre.



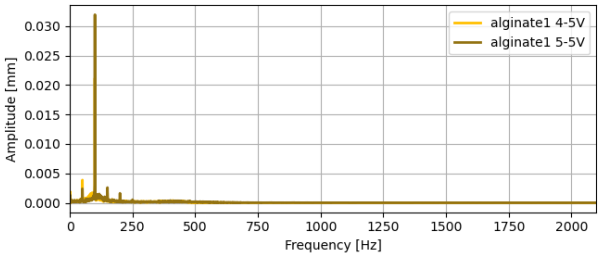

(a) Alginate 1 % à 20 Hz imposé




(b) Alginate 1 % à 50 Hz imposé

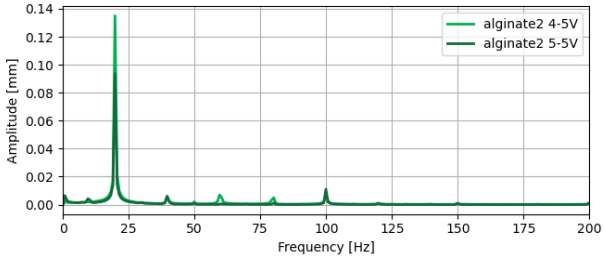



(c) Alginate 1 % à 1000 Hz imposé

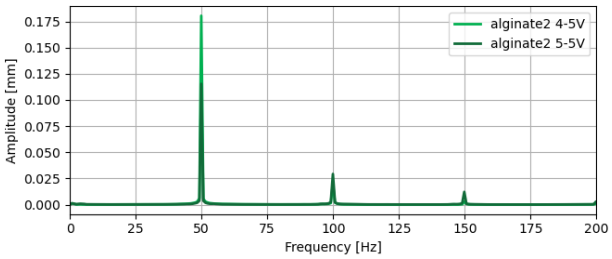



(d) Alginate 1 % à 2000 Hz imposé

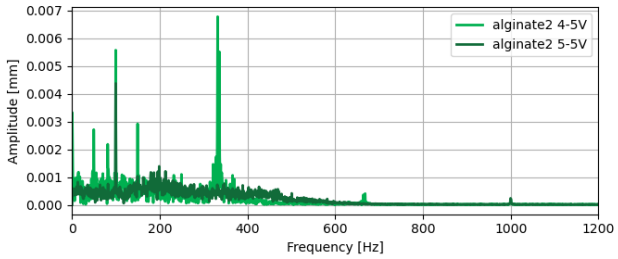
FIGURE 5.18 – **Spectres FFT des gouttes d'alginate 1 %.** *Les figures (a) à (d) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 20-50-1000-2000 Hz, Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (jaune clair) et à 5,5 V (jaune foncé).*



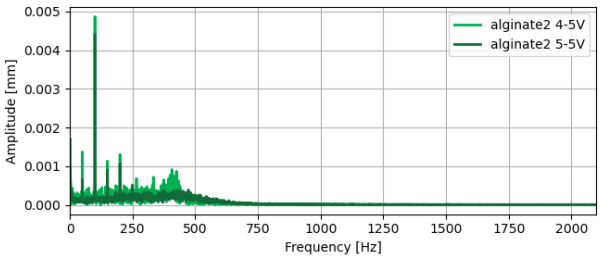

(a) Alginate 2 % à 20 Hz imposé




(b) Alginate 2 % à 50 Hz imposé

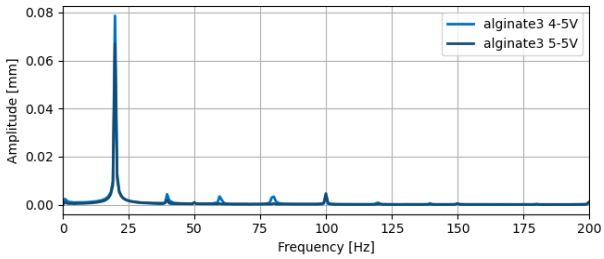



(c) Alginate 2 % à 1000 Hz imposé

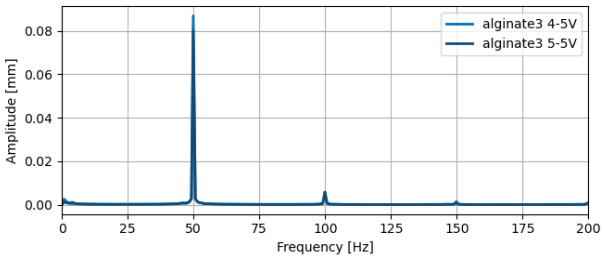



(d) Alginate 2 % à 2000 Hz imposé

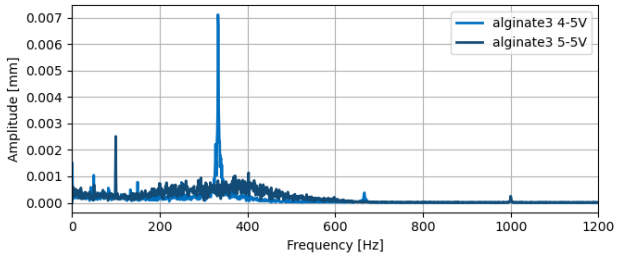
FIGURE 5.19 – **Spectres FFT des gouttes d'alginate 2 %.** *Les figures (a) à (d) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 20-50-1000-2000 Hz, Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (vert clair) et à 5,5 V (vert foncé).*



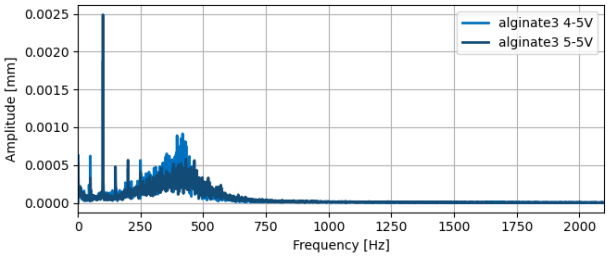

(a) Alginate 3 % à 20 Hz imposé




(b) Alginate 3 % à 50 Hz imposé

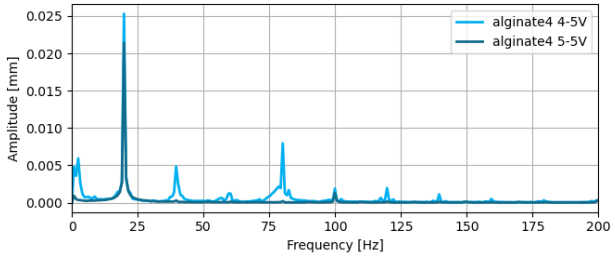



(c) Alginate 3 % à 1000 Hz imposé

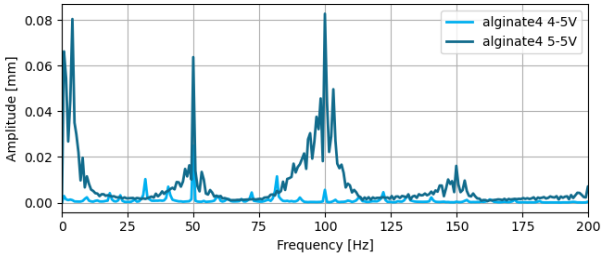



(d) Alginate 3 % à 2000 Hz imposé

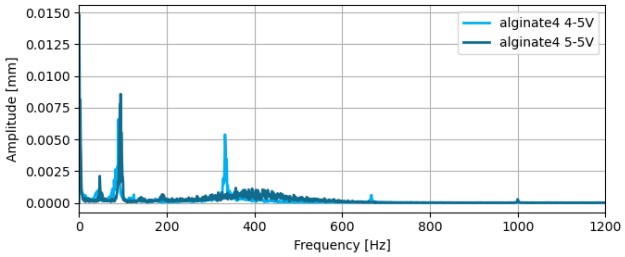
FIGURE 5.20 – **Spectres FFT des gouttes d'alginate 3 %.** *Les figures (a) à (d) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 20-50-1000-2000 Hz, Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (bleu clair) et à 5,5 V (bleu foncé).*



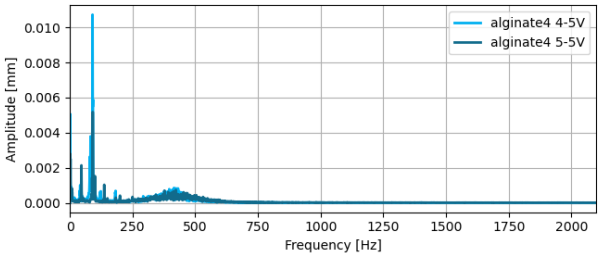

(a) Alginate 4 % à 20 Hz imposé




(b) Alginate 4 % à 50 Hz imposé

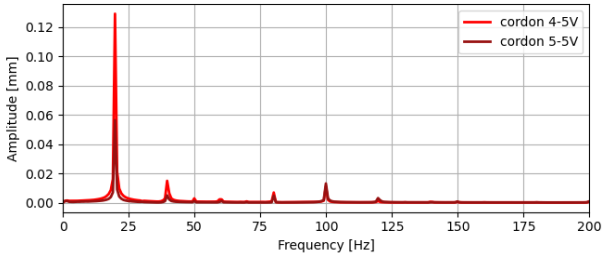



(c) Alginate 4 % à 1000 Hz imposé

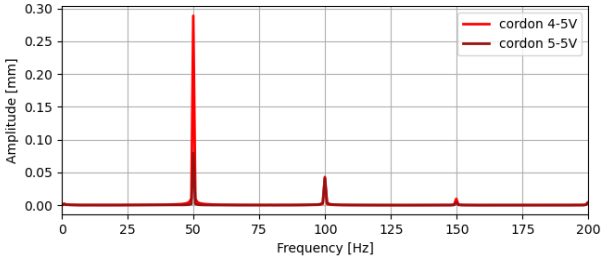



(d) Alginate 4 % à 2000 Hz imposé

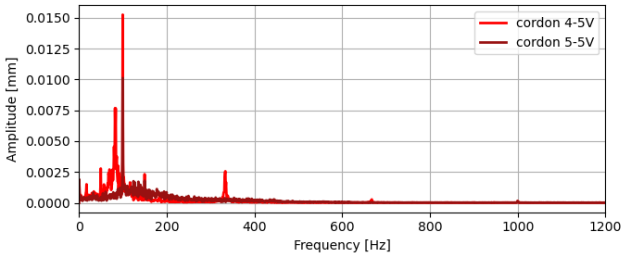
FIGURE 5.21 – **Spectres FFT des gouttes d'alginate 4 %.** *Les figures (a) à (d) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 20-50-1000-2000 Hz, Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (cyan clair) et à 5,5 V (cyan foncé).*



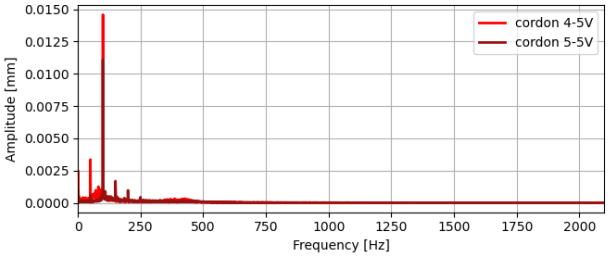

(a) GW à 20 Hz imposé




(b) GW à 50 Hz imposé

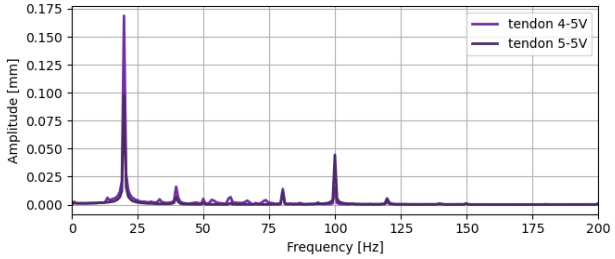



(c) GW à 1000 Hz imposé

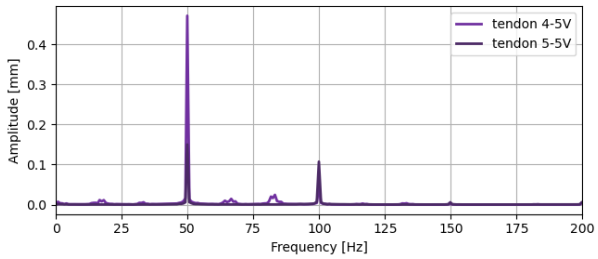



(d) GW à 2000 Hz imposé

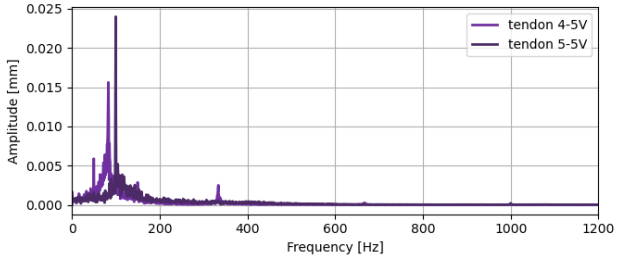
FIGURE 5.22 – **Spectres FFT des gouttes de GW.** *Les figures (a) à (d) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 20-50-1000-2000 Hz, Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (rouge clair) et à 5,5 V (rouge foncé).*



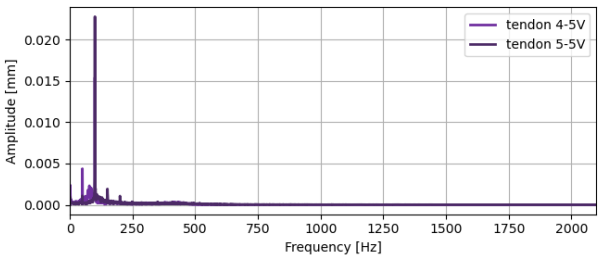

(a) RT à 20 Hz imposé




(b) RT à 50 Hz imposé




(c) RT à 1000 Hz imposé




(d) RT à 2000 Hz imposé

FIGURE 5.23 – **Spectres FFT des gouttes de RT.** *Les figures (a) à (d) présentent les spectres FFT des gouttes pour des fréquences de modulation imposées de 20-50-1000-2000 Hz. Pour chaque fréquence de modulation, les mesures ont été réalisées à deux tensions d'entrée : 4,5 V (violet clair) et à 5,5 V (violet foncé).*

### 5.2.5 Amplitudes des fréquences imposées

Les tableaux suivants complète la figure du chapitre 4 (**section 4.13**) résumant les amplitudes de l'axe mineur de chaque solution de polymère à la fréquence de modulation imposée.

TABLE 5.3 – **Amplitude des gouttes mesurées en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 1 %, Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.**

| **Fréquence (Hz)** | | **Amplitude (mm)** | |
|---|---|---|---|
| **Fréq. imposée** | **Fréq. récupérée** | 4,5 V (moy ± std) | 5,5 V (moy ± std) |
| 10 | 10,31 | 0,089 ± 0,006 | 0,07 ± 0,003 |
| 20 | 19,82 | 0,173 ± 0,005 | 0,118 ± 0,012 |
| 50 | 49,94 | 0,378 ± 0,002 | 0,189 ± 0,019 |
| 100 | 99,89 | 0,342 ± 0,008 | 0,515 ± 0,015 |
| 200 | 199,78 | 0,058 ± 0,002 | 0,054 ± 0,004 |
| 500 | 500,24 | 0,002 ± 2,8E-5 | 0,002 ± 8,1E-5 |
| 1000 | 999,68 | 1,7E-4 ± 1,3E-5 | 2,3E-4 ± 1,4E-5 |
| 2000 | 2000,16 | 8,04E-6 ± 1,2E-5 | 1,2E-5 ± 3,3E-6 |

TABLE 5.4 – **Amplitude des gouttes mesurées en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 2 %. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.**

| **Fréquence (Hz)** | | **Amplitude (mm)** | |
|---|---|---|---|
| **Fréq. imposée** | **Fréq. récupérée** | 4,5 V (moy ± std) | 5,5 V (moy ± std) |
| 10 | 10,31 | 0,076 ± 7E-4 | 0,063 ± 0,005 |
| 20 | 19,82 | 0,135 ± 0,005 | 0,094 ± 0,013 |
| 50 | 49,94 | 0,181 ± 0,004 | 0,115 ± 0,019 |
| 100 | 99,89 | 0,171 ± 0,007 | 0,078 ± 0,015 |
| 200 | 199,78 | 0,062 ± 0,003 | 0,059 ± 0,009 |
| 500 | 500,24 | 0,002 ± 1E-4 | 0,003 ± 1E-4 |
| 1000 | 999,68 | 2E-4 ± 1,2E-5 | 2,3E-4 ± 1,4E-5 |
| 2000 | 2000,16 | 1,2E-5 ± 1,9E-6 | 1,2E-5 ± 4,3E-6 |

TABLE 5.5 – **Amplitude des gouttes mesurées en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 3 %. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.**

| **Fréquence (Hz)** | | **Amplitude (mm)** | |
|---|---|---|---|
| **Fréq. imposée** | **Fréq. récupérée** | 4,5 V (moy ± std) | 5,5 V (moy ± std) |
| 10 | 10,31 | 0,057 ± 0,001 | 0,049 ± 0,001 |
| 20 | 19,82 | 0,079 ± 0,002 | 0,067 ± 0,001 |
| 50 | 49,94 | 0,087 ± 0,002 | 0,08 ± 0,002 |
| 100 | 99,89 | 0,065 ± 9E-4 | 0,044 ± 7E-4 |
| 200 | 199,78 | 0,045 ± 0,001 | 0,039 ± 0,003 |
| 500 | 500,24 | 0,003 ± 9E-5 | 0,003 ± 8E-5 |
| 1000 | 999,68 | 2E-4 ± 1E-5 | 2E-4 ± 6E-6 |
| 2000 | 2000,16 | 9E-6 ± 3E-6 | 1E-5 ± 3E-6 |

TABLE 5.6 – **Amplitude des gouttes mesurées en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 4 %. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.**

| **Fréquence (Hz)** | | **Amplitude (mm)** | |
|---|---|---|---|
| **Fréq. imposée** | **Fréq. récupérée** | 4,5 V (moy ± std) | 5,5 V (moy ± std) |
| 10 | 10,31 | 0,024 ± 8E-4 | 0,018 ± 7E-4 |
| 20 | 19,82 | 0,025 ± 2E-4 | 0,021 ± 6E-4 |
| 50 | 49,94 | 0,025 ± 0,003 | 0,064 ± 0,046 |
| 100 | 99,89 | 0,019 ± 0,017 | 0,051 ± 0,054 |
| 200 | 199,78 | 0,015 ± 0,002 | 0,012 ± 4E-5 |
| 500 | 500,24 | 0,004 ± 8E-4 | 0,004 ± 7E-4 |
| 1000 | 999,68 | 2E-4 ± 5E-5 | 2E-4 ± 5E-5 |
| 2000 | 2000,16 | 2E-5 ± 6E-6 | 1E-5 ± 5E-6 |

TABLE 5.7 – **Amplitude des gouttes mesurées en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour la solution WJ. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.**

| **Fréquence (Hz)** | | **Amplitude (mm)** | |
|---|---|---|---|
| **Fréq. imposée** | **Fréq. récupérée** | 4,5 V (moy ± std) | 5,5 V (moy ± std) |
| 10 | 10,31 | 0,066 ± 0,007 | 0,031 ± 0,002 |
| 20 | 19,82 | 0,129 ± 0,014 | 0,056 ± 0,005 |
| 50 | 49,94 | 0,289 ± 0,063 | 0,079 ± 0,005 |
| 100 | 99,89 | 0,278 ± 0,017 | 0,235 ± 0,016 |
| 200 | 199,78 | 0,33 ± 0,004 | 0,38 ± 0,001 |
| 500 | 500,24 | 0,001 ± 9E-5 | 0,001 ± 4E-5 |
| 1000 | 999,68 | 1E-4 ± 2E-5 | 1E-4 ± 3E-5 |
| 2000 | 2000,16 | 1E-5 ± 4E-6 | 7E-6 ± 2E-6 |

TABLE 5.8 – **Amplitude des gouttes mesurées en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour la solution de RT. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.**

| **Fréquence (Hz)** | | **Amplitude (mm)** | |
|---|---|---|---|
| **Fréq. imposée** | **Fréq. récupérée** | 4,5 V (moy ± std) | 5,5 V (moy ± std) |
| 10 | 10,31 | 0,083 ± 0,005 | 0,053 ± 0,002 |
| 20 | 19,82 | 0,169 ± 0,012 | 0,1 ± 0,007 |
| 50 | 49,94 | 0,472 ± 0,045 | 0,15 ± 0,019 |
| 100 | 99,89 | 0,242 ± 0,012 | 0,372 ± 0,058 |
| 200 | 199,78 | 0,044 ± 0,002 | 0,048 ± 0,002 |
| 500 | 500,24 | 0,002 ± 1E-4 | 0,002 ± 3E-5 |
| 1000 | 999,68 | 1E-4 ± 2E-5 | 1E-4 ± 8E-6 |
| 2000 | 2000,16 | 9E-6 ± 2E-6 | 1E-5 ± 4E-6 |

### 5.2.6 Amplitudes des fréquences imposées

Les tableaux suivants complète la figure du chapitre 4 (**section 4.2.1.2**) résumant les amplitudes de l'axe mineur de chaque solution de polymère à la fréquence de modulation de

100 Hz.

TABLE 5.9 – **Amplitude des gouttes mesurées à 100 Hz en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 1 %. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.**

| **Fréquence imposée (Hz)** | **Amplitude mesurée (mm)** | |
|---|---|---|
| | **4,5 V (moy ± std)** | **5,5 V (moy ± std)** |
| 0 | 0,017 ± 0,003 | 0,076 ± 0,007 |
| 10 | 0,018 ± 0,003 | 0,063 ± 0,006 |
| 20 | 0,016 ± 0,003 | 0,054 ± 0,003 |
| 50 | 0,066 ± 0,006 | 0,153 ± 0,015 |
| 100 | 0,342 ± 0,009 | 0,515 ± 0,015 |
| 200 | 0,025 ± 0,002 | 0,051 ± 0,005 |
| 500 | 0,013 ± 0,004 | 0,043 ± 0,005 |
| 1000 | 0,022 ± 0,003 | 0,033 ± 7E-4 |
| 2000 | 0,021 ± 0,001 | 0,032 ± 0,001 |

TABLE 5.10 – **Amplitude des gouttes mesurées à 100 Hz en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 2 %. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.**

| **Fréquence imposée (Hz)** | **Amplitude mesurée (mm)** | |
|---|---|---|
| | **4,5 V (moy ± std)** | **5,5 V (moy ± std)** |
| 0 | 0,012 ± 9E-4 | 0,017 ± 0,003 |
| 10 | 0,01 ± 8E-4 | 0,013 ± 0,001 |
| 20 | 0,007 ± 7E-4 | 0,011 ± 0,001 |
| 50 | 0,021 ± 0,005 | 0,029 ± 0,011 |
| 100 | 0,171 ± 0,007 | 0,078 ± 0,015 |
| 200 | 0,006 ± 0,002 | 0,006 ± 0,001 |
| 500 | 0,005 ± 0,001 | 0,005 ± 3E-4 |
| 1000 | 0,005 ± 4E-4 | 0,004 ± 1E-4 |
| 2000 | 0,005 ± 4E-4 | 0,004 ± 4E-4 |

TABLE 5.11 – **Amplitude des gouttes mesurées à 100 Hz en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 3 %. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.**

| **Fréquence imposée (Hz)** | **Amplitude mesurée (mm)** | |
|---|---|---|
| | **4,5 V (moy ± std)** | **5,5 V (moy ± std)** |
| 0 | 0,004 ± 3E-4 | 0,006 ± 1E-4 |
| 10 | 0,004 ± 4E-4 | 0,005 ± 1E-4 |
| 20 | 0,004 ± 4E-4 | 0,005 ± 2E-4 |
| 50 | 0,006 ± 0,001 | 0,006 ± 0,003 |
| 100 | 0,065 ± 9E-4 | 0,043 ± 7E-4 |
| 200 | 0,002 ± 3E-4 | 0,003 ± 3E-4 |
| 500 | 0,002 ± 5E-4 | 0,009 ± 5E-4 |
| 1000 | 2E-4 ± 1E-5 | 0,003 ± 1E-4 |
| 2000 | 0,002 ± 1E-4 | 0,002 ± 6E-4 |

TABLE 5.12 – **Amplitude des gouttes mesurées à 100 Hz en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour l'alginate 4 %. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.**

| **Fréquence imposée (Hz)** | **Amplitude mesurée (mm)** | |
|---|---|---|
| | **4,5 V (moy ± std)** | **5,5 V (moy ± std)** |
| 0 | 0,001 ± 1E-4 | 0,001 ± 7E-4 |
| 10 | 8E-4 ± 7E-5 | 0,002 ± 4E-5 |
| 20 | 0,002 ± 1E-4 | 0,001 ± 8E-5 |
| 50 | 0,006 ± 0,001 | 0,083 ± 0,111 |
| 100 | 0,019 ± 0,017 | 0,051 ± 0,054 |
| 200 | 0,001 ± 3E-5 | 0,001 ± 2E-4 |
| 500 | 7E-4 ± 3E-4 | 0,006 ± 0,009 |
| 1000 | 0,001 ± 3E-4 | 7E-4 ± 4E-4 |
| 2000 | 0,001 ± 3E-4 | 0,002 ± 2E-4 |

TABLE 5.13 – **Amplitude des gouttes mesurées à 100 Hz en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour la solution de WJ. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.**

| **Fréquence imposée (Hz)** | **Amplitude mesurée (mm)** | |
|---|---|---|
| | **4,5 V (moy ± std)** | **5,5 V (moy ± std)** |
| 0 | 0,013 ± 9E-4 | 0,015 ± 7E-4 |
| 10 | 0,012 ± 0,001 | 0,014 ± 4E-4 |
| 20 | 0,011 ± 0,001 | 0,013 ± 2E-4 |
| 50 | 0,043 ± 0,015 | 0,042 ± 0,009 |
| 100 | 0,28 ± 0,017 | 0,235 ± 0,016 |
| 200 | 0,015 ± 7E-4 | 0,015 ± 0,005 |
| 500 | 0,008 ± 0,003 | 0,012 ± 0,003 |
| 1000 | 0,015 ± 0,002 | 0,01 ± 0,002 |
| 2000 | 0,015 ± 5E-4 | 0,011 ± 0,003 |

TABLE 5.14 – **Amplitude des gouttes mesurées à 100 Hz en fonction de la fréquence imposée et de la tension d'entrée pour la solution de RT. Les valeurs moyennes et écarts-types sont indiquées pour chaque tension.**

| **Fréquence imposée (Hz)** | **Amplitude mesurée (mm)** | |
|---|---|---|
| | **4,5 V (moy ± std)** | **5,5 V (moy ± std)** |
| 0 | 0,015 ± 0,002 | 0,056 ± 0,012 |
| 10 | 0,016 ± 0,02 | 0,355 ± 0,011 |
| 20 | 0,016 ± 0,001 | 0,044 ± 0,012 |
| 50 | 0,044 ± 0,008 | 0,107 ± 0,064 |
| 100 | 0,24 ± 0,012 | 0,372 ± 0,058 |
| 200 | 0,016 ± 0,004 | 0,040 ± 0,01 |
| 500 | 0,017 ± 7E-4 | 0,026 ± 0,01 |
| 1000 | 0,019 ± 8E-4 | 0,024 ± 0,007 |
| 2000 | 0,015 ± 4E-4 | 0,023 ± 0,006 |

### 5.2.7 Valeurs d'évaporation des gouttes

Le tableau résume les pourcentages de perte de volume due à l'évaporation d'une goutte dans l'enceinte pour les différentes solutions de polymère, calculé ) partir des volumes obtenus par les méthodes sphéroïdale ou par intégration verticale.

TABLE 5.15 – **Pourcentage d'évaporation des gouttes avec enceinte à deux temps caractéristiques, calculé à partir des volumes obtenus par les méthodes sphéroïde et verticale. Les valeurs sont exprimées sous forme moyenne ± écart-type.**

| **Échantillon** | **Évaporation (%)** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Temps $t_2$** | | **Temps $t_6$** | |
| | **Sphéroïde** | **Verticale** | **Sphéroïde** | **Verticale** |
| Alginate 1 % | 31,3 ± 5,0 | 29,1 ± 7,0 | 77,7 ± 6,0 | 76,5 ± 7,2 |
| Alginate 2 % | 30,8 ± 4,5 | 29,0 ± 5,5 | 79,4 ± 6,6 | 78,9 ± 7,0 |
| Alginate 3 % | 34,6 ± 7,6 | 34,2 ± 8,3 | 81,7 ± 16,8 | 81,6 ± 17,4 |
| Alginate 4 % | 37,8 ± 6,4 | 36,7 ± 6,8 | 90,3 ± 4,8 | 90,1 ± 4,6 |
| GW | 29,6 ± 7,0 | 26,3 ± 7,1 | 72,6 ± 11,9 | 70,6 ± 12,5 |
| RT | 32,6 ± 6,3 | 31,5 ± 5,6 | 82,2 ± 10,1 | 82,4 ± 9,8 |

### 5.2.8 Valeurs de SPL et tension d'entrée

Le tableau résume les valeurs de niveau de pression acoustique (SPL), issues du modèle analytique de Yarin et al., pour chacune des solutions et à différents volumes.

TABLE 5.16 – **Résumé des volumes et SPL pour les différentes concentrations d'alginate.**

| Hydrogel | Alginate 1% | | Alginate 2% | | Alginate 3% | | Alginate 4% | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **SPL** / **Volume (µL)** | SPL_min | SPL_max | SPL_min | SPL_max | SPL_min | SPL_max | SPL_min | SPL_max |
| 0,5 | 158 | 171 | 158 | 171,3 | 158 | 171,4 | 158 | 171,5 |
| 1,0 | 158,5 | 169,6 | 158,5 | 169,8 | 158,5 | 169,9 | 158,5 | 170,1 |
| 1,5 | 158,8 | 168,7 | 158,8 | 168,9 | 158,8 | 169 | 158,8 | 169,2 |
| 2,0 | 159,2 | 168,1 | 159,2 | 168,2 | 159,2 | 168,4 | 159,2 | 168,5 |
| 2,5 | 159,6 | 167,6 | 159,6 | 167,8 | 159,6 | 167,9 | 159,6 | 168 |
| 3,0 | 159,9 | 167,2 | 159,9 | 167,4 | 159,9 | 167,5 | 159,9 | 167,7 |
| 3,5 | 160,2 | 166,9 | 160,3 | 167,1 | 160,3 | 167,2 | 160,3 | 167,4 |
| 4,0 | 160,6 | 166,7 | 160,6 | 166,9 | 160,6 | 167 | 160,6 | 167,1 |
| 4,5 | 160,9 | 166,5 | 160,9 | 166,7 | 160,9 | 166,8 | 160,9 | 166,9 |
| 5,0 | 161,2 | 166,4 | 161,2 | 166,5 | 161,2 | 166,7 | 161,2 | 166,8 |
| 5,5 | 161,6 | 166,2 | 161,6 | 166,4 | 161,6 | 166,5 | 161,6 | 166,7 |
| 6,0 | 161,9 | 166,2 | 161,9 | 166,3 | 161,9 | 166,5 | 161,9 | 166,6 |
| 6,5 | 162,2 | 166,1 | 162,2 | 166,2 | 162,2 | 166,4 | 162,2 | 166,5 |
| 7,0 | 162,6 | 166 | 162,6 | 166,2 | 162,6 | 166,3 | 162,6 | 166,4 |
| 7,5 | 162,9 | 165,9 | 162,9 | 166,1 | 162,9 | 166,2 | 162,9 | 166,4 |
| 8,0 | 163,2 | 165,8 | 163,2 | 166 | 163,2 | 166,1 | 163,2 | 166,3 |
| 8,5 | 163,5 | 165,7 | 163,5 | 165,9 | 163,5 | 166 | 163,5 | 166,2 |
| 9,0 | 163,9 | 165,6 | 163,9 | 165,8 | 163,9 | 166 | 163,9 | 166,1 |
| 9,5 | 164,2 | 165,5 | 164,2 | 165,7 | 164,2 | 165,9 | 164,2 | 166 |
| 10,0 | 164,6 | 165,4 | 164,6 | 165,6 | 164,6 | 165,8 | 164,6 | 165,9 |
| 10,5 | 164,9 | 165,3 | 164,9 | 165,5 | 164,9 | 165,7 | 164,9 | 165,8 |
| 10,77 / 11 | 165,1 | 165,2 | 165,3 | / | 165,3 | 165,5 | 165,3 | 165,7 |
| 11,25 / 11,5 | / | / | / | / | 165,4 | 165,5 | 165,6 | / |

TABLE 5.17 – **Résumé des volumes et SPL pour les solutions d'origine naturelle.**

| Hydrogel | Gelée de Wharton | | Tendon de queue de rat | |
|---|---|---|---|---|
| **SPL** / **Volume (µL)** | SPL_min | SPL_max | SPL_min | SPL_max |
| 0,5 | 158 | 168,5 | 158 | 170,4 |
| 1,0 | 158,5 | 167 | 158,5 | 168,9 |
| 1,5 | 158,8 | 166,1 | 158,8 | 168 |
| 2,0 | 159,2 | 165,5 | 159,2 | 167,3 |
| 2,5 | 159,6 | 165 | 159,6 | 166,9 |
| 3,0 | 159,9 | 164,6 | 159,9 | 166,5 |
| 3,5 | 160,2 | 164,4 | 160,2 | 166,2 |
| 4,0 | 160,6 | 164,1 | 160,6 | 166 |
| 4,5 | 160,9 | 164 | 160,9 | 165,8 |
| 5 | 161,2 | 163,8 | 161,2 | 165,6 |
| 5,5 | 161,5 | 163,7 | 161,5 | 165,5 |
| 6 | 161,9 | 163,6 | 161,9 | 165,4 |
| 6,5 | 162,2 | 163,4 | 162,2 | 165,3 |
| 7 | 162,6 | 163,3 | 162,6 | 165,2 |
| 7,5 | 162,9 | 163,1 | 162,9 | 165,1 |
| 7,6 / 8 | 163 | 163,1 | 163,2 | 165 |
| 8,5 | / | / | 163,6 | 164,9 |
| 9 | / | / | 163,9 | 164,8 |
| 9,5 | / | / | 164,3 | 164,7 |
| 9,85 | / | / | 164,5 | 164,6 |

Les tableaux suivants présentent les ratios obtenus expérimentalement à SPL équivalente pour chaque solution de polymère à 5 µL.

TABLE 5.18 – **Ratio expérimental et SPL équivalente pour les gouttes de volume 5 µL,**

| Hydrogel | Alginate 1% | | Alginate 2% | | Alginate 3% | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Tension d'entrée (V)** | ratio expé | SPL équ | ratio expé | SPL équ | ratio expé | SPL équ |
| 3,4 | 1,08 | 160,67 | 1,08 | 160,66 | 1,11 | 161,2 |
| 3,6 | 1,11 | 161,15 | 1,12 | 161,27 | 1,14 | 161,58 |
| 3,8 | 1,11 | 161,13 | 1,14 | 161,57 | 1,13 | 161,48 |
| 4 | 1,17 | 161,9 | 1,18 | 162,11 | 1,67 | 162,05 |
| 4,2 | 1,18 | 162 | 1,21 | 162,46 | 1,22 | 162,71 |
| 4,4 | 1,25 | 162,8 | 1,25 | 163 | 1,26 | 163,13 |
| 4,6 | 1,31 | 163,42 | 1,32 | 163,7 | 1,29 | 163,47 |
| 4,8 | 1,38 | 163,92 | 1,37 | 163,98 | 1,33 | 163,89 |
| 5 | 1,43 | 164,26 | 1,44 | 164,43 | 1,38 | 164,25 |
| 5,2 | 1,54 | 164,76 | 1,48 | 164,66 | 1,47 | 164,77 |
| 5,4 | 1,52 | 164,68 | 1,49 | 164,7 | 1,58 | 165,23 |
| 5,6 | 1,54 | 164,8 | 1,52 | 164,87 | 1,65 | 165,47 |
| 5,8 | 1,64 | 165,14 | 1,63 | 165,26 | 1,76 | 165,77 |
| 6 | 1,72 | 165,37 | 1,71 | 165,49 | 1,89 | 166,02 |

TABLE 5.19 – **Ratio expérimental et SPL équivalente pour les gouttes de volume 5 µL - suite -**

| Hydrogel | Alginate 4% | | GW | | RT | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Tension d'entrée (V)** | ratio expé | SPL équ | ratio expé | SPL équ | ratio expé | SPL équ |
| 3,4 | 1,07 | 160,61 | 1,22 | 160,81 | / | / |
| 3,6 | 1,1 | 160,98 | 1,27 | 161,11 | 1,05 | 160,15 |
| 3,8 | 1,15 | 161,88 | 1,37 | 161,68 | 1,12 | 160,82 |
| 4 | 1,20 | 162,63 | 1,53 | 162,37 | 1,14 | 161,09 |
| 4,2 | 1,21 | 162,68 | 1,69 | 162,83 | 1,21 | 161,77 |
| 4,4 | 1,27 | 163,36 | 1,91 | 163,26 | 1,30 | 162,69 |
| 4,6 | 1,31 | 163,81 | 2,15 | 163,52 | 1,37 | 163,22 |
| 4,8 | 1,38 | 164,35 | 2,49 | 163,72 | 1,35 | 163,07 |
| 5 | 1,43 | 164,66 | 2,83 | 163,83 | 1,48 | 163,82 |
| 5,2 | 1,52 | 165,13 | 3,18 | 163,95 | 1,51 | 163,95 |
| 5,4 | 1,48 | 164,9 | 3,51 | 164,05 | 1,75 | 164,72 |
| 5,6 | 1,53 | 165,16 | 3,79 | 164,15 | 1,97 | 165,11 |
| 5,8 | 1,61 | 165,48 | 4,23 | 164,29 | 2,14 | 165,31 |
| 6 | 1,72 | 165,79 | / | / | 2,31 | 165,43 |
| 6,2 | 1,74 | 165,85 | / | / | / | / |

Les tableaux suivants présentent les ratios obtenus expérimentalement à SPL équivalente pour chaque solution de polymère à 9 µL.

TABLE 5.20 – **Ratio expérimental et SPL équivalente pour les gouttes de volume 9 µL**

| Hydrogel | Alginate 1% | | Alginate 2% | | Alginate 3% | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Tension d'entrée (V)** | ratio expé | SPL équ | ratio expé | SPL équ | ratio expé | SPL équ |
| 3,6 | / | / | 1,13 | 162,62 | 1,15 | 162,61 |
| 3,8 | 1,18 | 162,79 | 1,23 | 163,08 | 1,19 | 162,80 |
| 4 | 1,25 | 163,11 | 1,31 | 163,46 | 1,25 | 163,13 |
| 4,2 | 1,28 | 163,22 | 1,37 | 163,76 | 1,29 | 163,32 |
| 4,4 | 1,34 | 163,51 | 1,45 | 164,14 | 1,33 | 163,6 |
| 4,6 | 1,41 | 163,81 | 1,54 | 164,49 | 1,4 | 164 |
| 4,8 | 1,53 | 164, 28 | 1,64 | 164,79 | 1,47 | 164,32 |
| 5 | 1,59 | 164,5 | 1,70 | 164,95 | 1,57 | 164,71 |
| 5,2 | 1,66 | 164,69 | 1,78 | 165,13 | 1,67 | 164,99 |
| 5,4 | 1,55 | 164,37 | 1,57 | 164,57 | 1,58 | 164,73 |
| 5,6 | 1,60 | 164,53 | 1,64 | 164,79 | 1,64 | 164,93 |
| 5,8 | 1,7 | 164,8 | 1,71 | 164,98 | 1,68 | 165,05 |
| 6 | 1,78 | 165 | 1,76 | 165,09 | 1,76 | 165,21 |

TABLE 5.21 – **Ratio expérimental et SPL équivalente pour les gouttes de volume 9 µL - suite -**

| Hydrogel | Alginate 4% | | RT | |
|---|---|---|---|---|
| **Tension d'entrée (V)** | ratio expé | SPL équ | ratio expé | SPL équ |
| 3,6 | 1,12 | 162,44 | 1,18 | 162,73 |
| 3,8 | 1,18 | 162,76 | 1,26 | 162,95 |
| 4 | 1,25 | 163,22 | 1,33 | 163,95 |
| 4,2 | 1,31 | 163,56 | 1,43 | 163,4 |
| 4,4 | 1,36 | 163,88 | 1,48 | 163,56 |
| 4,6 | 1,42 | 164,23 | 1,64 | 163,98 |
| 4,8 | 1,55 | 164,75 | 1,76 | 164,26 |
| 5 | 1,63 | 165,02 | 1,89 | 164,49 |
| 5,2 | 1,70 | 165,21 | 1,95 | 164,57 |
| 5,4 | 1,40 | 164,13 | 1,88 | 164,47 |
| 5,6 | 1,44 | 164,32 | 1,97 | 164,59 |
| 5,8 | 1,68 | 165,14 | 2,05 | 164,7 |
| 6 | 1,42 | 164,19 | / | / |

Le tableau résume les ratios mesurés pour les volumes de 5 et 9 µL en fonction de la tension d'entrée, toutes solutions confondues.

TABLE 5.22 – **SPL moyen tout échantillon confondu.**

| **Volume** | **Volume 5 µL** | | **Volume 9 µL** | |
|---|---|---|---|---|
| **SPL** / **Tension d'entrée** | SPL moy | std | SPL moy | std |
| 3,4 | 160,79 | ± 0,24 | / | / |
| 3,6 | 161,4 | ± 0,48 | 162,60 | ± 0,12 |
| 3,8 | 161,43 | ± 0,39 | 162,88 | ± 0,13 |
| 4,0 | 162,02 | ± 0,53 | 163,21 | ± 0,14 |
| 4,2 | 162,41 | ± 0,43 | 163,46 | ± 0,21 |
| 4,4 | 163,04 | ± 0,26 | 164,10 | ± 0,27 |
| 4,6 | 163,52 | ± 0,2 | 164,48 | ± 0,26 |
| 4,8 | 163,82 | ± 0,42 | 164,73 | ± 0,27 |
| 5,0 | 164,21 | ± 0,33 | 164,92 | ± 0,25 |
| 5,2 | 164,54 | ± 0,48 | 164,45 | ± 0,28 |
| 5,4 | 164,72 | ± 0,39 | 164,63 | ± 0,23 |
| 5,6 | 164,21 | ± 0,45 | 161,5 | ± 0,24 |
| 5,8 | 165,21 | ± 0,5 | 164,93 | ± 0,18 |
| 6 | 165,62 | ± 0,27 | 164,87 | ± 0,46 |
| 6,2 | 165,85 | ± / | / | / |

# Bibliographie


[1] Emilie Sapin de Brosses and David Mitton. Biomécanique du tissu osseux et de ses interactions avec les tissus environnants. In Cédric Laurent and Claude Verdier, editors, *Mécanique des tissus vivants : Imagerie, caractérisation et modélisation pour l'étude des tissus mous*, pages 289–312. ISTE, 2023.

[2] Brian Bich. Bone Tissue – Tutorial. Book Title : Histology Atlas for Anatomy and Physiology.

[3] Fuqiang Zhang and Zelai Jin. The Experiment of Acoustic Levitation and the Analysis by Simulation. *Open Access Library Journal*, 5(10) :1–8, October 2018. Number : 10 Publisher : Scientific Research Publishing.

[4] Qianqian Shi, Wenli Di, Dashen Dong, Lim Wei Yap, Lin Li, Duyang Zang, and Wenlong Cheng. A General Approach to Free-Standing Nanoassemblies via Acoustic Levitation Self-Assembly. *ACS Nano*, 13(5) :5243–5250, May 2019. Publisher : American Chemical Society.

[5] C. L. Shen, W. J. Xie, Z. L. Yan, and B. Wei. Internal flow of acoustically levitated drops undergoing sectorial oscillations. *Physics Letters A*, 374(39) :4045–4048, August 2010.

[6] Zilong () Fang, Xiao () Huang, Mohammad E. Taslim, and Kai-tak () Wan. Flexural bending resonance of acoustically levitated glycerol droplet. *Physics of Fluids*, 33(7) :071701, July 2021.

[7] A. L. Yarin, G. Brenn, O. Kastner, D. Rensink, and C. Tropea. Evaporation of acoustically

levitated droplets. *Journal of Fluid Mechanics*, 399 :151–204, November 1999. Publisher : Cambridge University Press.

[8] Emilie Wiedemann-Fodé, Jessica Schiavi-Tritz, Halima Kerdjoudj, and Cédric Laurent. Effects of mechanical stimuli on bone cells for regenerative medicine : A review of recent experimental and computational methods. *Medical Engineering & Physics*, 142 :104369, August 2025.

[9] Karin A. Jansen, Dominique M. Donato, Hayri E. Balcioglu, Thomas Schmidt, Erik H. J. Danen, and Gijsje H. Koenderink. A guide to mechanobiology : Where biology and physics meet. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1853(11, Part B) :3043–3052, November 2015.

[10] Torben Steiniche and Ellen M. Hauge. Normal Structure and Function of Bone. In Yuehuei H. An and Kylie L. Martin, editors, *Handbook of Histology Methods for Bone and Cartilage*, pages 59–72. Humana Press, Totowa, NJ, 2003.

[11] Stuart H. Ralston. Bone structure and metabolism. *Medicine*, 49(9) :567–571, September 2021.

[12] Natacha Rosa, Marcelo F. S. F. Moura, Susana Olhero, Ricardo Simoes, Fernão D. Magalhães, António Torres Marques, João P. S. Ferreira, Ana Rita Reis, Mariana Carvalho, and Marco Parente. Bone : An Outstanding Composite Material. *Applied Sciences*, 12(7) :3381, January 2022. Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[13] Yumiao Niu, Tianming Du, and Youjun Liu. Biomechanical Characteristics and Analysis Approaches of Bone and Bone Substitute Materials. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(4) :212, April 2023.

[14] Caitlyn J. Collins, Orestis G. Andriotis, Vedran Nedelkovski, Martin Frank, Orestis L. Katsamenis, and J. Thurner Philipp. Bone Micro- and Nanomechanics. pages 22–44, January 2019. Publisher : Elsevier.

[15] M.P. Yavropoulou and J.G. Yovos. The molecular basis of bone mechanotransduction. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions*, 16(3) :221–236, September 2016.

[16] Tamara A. Franz-Odendaal, Brian K. Hall, and P. Eckhard Witten. Buried alive : How osteoblasts become osteocytes. *Developmental Dynamics*, 235(1) :176–190, 2006. _eprint : https ://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/dvdy.20603.

[17] Amy Creecy, John G. Damrath, and Joseph M. Wallace. Control of Bone Matrix Properties by Osteocytes. *Frontiers in Endocrinology*, 11 :578477, January 2021.

[18] Meng Chen Michelle Li, Simon Kwoon Ho Chow, Ronald Man Yeung Wong, Ling Qin, and Wing Hoi Cheung. The role of osteocytes-specific molecular mechanism in regulation of mechanotransduction – A systematic review. *Journal of Orthopaedic Translation*, 29 :1–9, July 2021.

[19] A. Santos, A. D. Bakker, and J. Klein-Nulend. The role of osteocytes in bone mechanotransduction. *Osteoporosis International*, 20(6) :1027–1031, June 2009.

[20] Carla Palumbo and Marzia Ferretti. The Osteocyte : From "Prisoner" to "Orchestrator". *Journal of Functional Morphology and Kinesiology*, 6(1) :28, March 2021.

[21] Siyu Zhu, Ming-Qi Yan, Alasdair Masson, Wei Chen, and Yi-Ping Li. Cell signaling and transcriptional regulation of osteoclast lineage commitment, differentiation, bone resorption and diseases. *Cell Discovery*, 12(1) :6, January 2026. Publisher : Nature Publishing Group.

[22] Julius Wolff. Das Gesetz der Transformation der Knochen. *DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 19(47) :1222–1224, November 1893.

[23] Jan-Hung Chen, Chao Liu, Lidan You, and Craig A. Simmons. Boning up on Wolff's Law : Mechanical regulation of the cells that make and maintain bone. *Journal of Biomechanics*, 43(1) :108–118, January 2010.

[24] Julius Wolff. Remodelling of the Internal Architecture and External Shape of Bones. In Julius Wolff, editor, *The Law of Bone Remodelling*, pages 23–74. Springer, Berlin, Heidelberg, 1986.

[25] A. Glücksmann. Studies on bone mechanics in vitro. I. Influence of pressure on orientation of structure. *The Anatomical Record*, 72(1) :97–113, 1938. _eprint : https ://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/ar.1090720109.

[26] H. M. Frost. Bone "mass" and the "mechanostat" : A proposal. *The Anatomical Record*, 219(1) :1–9, 1987. _eprint : https ://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/ar.1092190104.

[27] Jung-Min Kim, Chujiao Lin, Zheni Stavre, Matthew B. Greenblatt, and Jae-Hyuck Shim. Osteoblast-Osteoclast Communication and Bone Homeostasis. *Cells*, 9(9) :2073, September 2020. Number : 9 Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[28] R. L. Duncan and C. H. Turner. Mechanotransduction and the functional response of bone to mechanical strain. *Calcified Tissue International*, 57(5) :344–358, November 1995.

[29] Yunfeng Chen, Zhiyong Li, and Lining Arnold Ju. Tensile and compressive force regulation on cell mechanosensing. *Biophysical Reviews*, 11(3) :311–318, May 2019.

[30] Claudia Wittkowske, Gwendolen C. Reilly, Damien Lacroix, and Cecile M. Perrault. In Vitro Bone Cell Models : Impact of Fluid Shear Stress on Bone Formation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 4, 2016.

[31] Xiaogang Wu, Xiyu Wang, Chaoxin Li, Zhaowei Wang, Yuqin Sun, Yang Yan, Yixian Qin, Pengcui Li, Yanqin Wang, Xiaochun Wei, and Weiyi Chen. A fluid flow model in the lacunar-canalicular system under the pressure gradient and electrical field driven loads. *Applied Mathematics and Mechanics*, 43(6) :899–916, June 2022.

[32] Fengjian Yang, Weilun Yu, Xuyang Huo, Hongliang Li, Qiuju Qi, Xiaohang Yang, Nianqiu Shi, Xiaogang Wu, and Weiyi Chen. Effects of Osteocyte Shape on Fluid Flow and Fluid Shear Stress of the Loaded Bone. *BioMed Research International*, 2022 :3935803, May 2022.

[33] S. Weinbaum, S. C. Cowin, and Yu Zeng. A model for the excitation of osteocytes by mechanical loading-induced bone fluid shear stresses. *Journal of Biomechanics*, 27(3) :339–360, March 1994.

[34] P.J. Prendergast, R. Huiskes, and K. Søballe. Biophysical stimuli on cells during tissue differentiation at implant interfaces. *Journal of Biomechanics*, 30(6) :539–548, June 1997.

[35] D. Lacroix and P. J. Prendergast. A mechano-regulation model for tissue differentiation during fracture healing : analysis of gap size and loading. *Journal of Biomechanics*, 35(9) :1163–1171, September 2002.

[36] Lidan You, Sara Temiyasathit, Peling Lee, Chi Hyun Kim, Padmaja Tummala, Wei Yao, Wade Kingery, Amanda M. Malone, Ronald Y. Kwon, and Christopher R. Jacobs. Osteocytes as mechanosensors in the inhibition of bone resorption due to mechanical loading. *Bone*, 42(1) :172–179, January 2008.

[37] A. Neve, A. Corrado, and F. P. Cantatore. Osteocytes : central conductors of bone biology in normal and pathological conditions. *Acta Physiologica*, 204(3) :317–330, 2012. _eprint : https ://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1748-1716.2011.02385.x.

[38] Lei Qin, Wen Liu, Huiling Cao, and Guozhi Xiao. Molecular mechanosensors in osteocytes. *Bone Research*, 8(1) :1–24, June 2020. Number : 1 Publisher : Nature Publishing Group.

[39] Mitchell B. Schaffler and Oran D. Kennedy. Osteocyte Signaling in Bone. *Current Osteoporosis Reports*, 10(2) :118–125, June 2012.

[40] An M. Nguyen and Christopher R. Jacobs. Emerging role of primary cilia as mechanosensors in osteocytes. *Bone*, 54(2) :196–204, June 2013.

[41] Sara Temiyasathit, W. Joyce Tang, Philipp Leucht, Charles T. Anderson, Stefanie D. Monica, Alesha B. Castillo, Jill A. Helms, Tim Stearns, and Christopher R. Jacobs. Mechanosensing by the Primary Cilium : Deletion of Kif3A Reduces Bone Formation Due to Loading. *PLOS ONE*, 7(3) :e33368, March 2012. Publisher : Public Library of Science.

[42] Sirisha Burra, Daniel P. Nicolella, W. Loren Francis, Christopher J. Freitas, Nicholas J. Mueschke, Kristin Poole, and Jean X. Jiang. Dendritic processes of osteocytes are mechanotransducers that induce the opening of hemichannels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(31) :13648–13653, August 2010.

[43] Xuehua Li, Jacob Kordsmeier, and Jinhu Xiong. New Advances in Osteocyte Mechanotransduction. *Current Osteoporosis Reports*, 19(1) :101–106, February 2021.

[44] Ning Wang, Yangfan Lu, Benjamin B. Rothrauff, Aojie Zheng, Alexander Lamb, Youzhen Yan, Katelyn E. Lipa, Guanghua Lei, and Hang Lin. Mechanotransduction pathways in articular chondrocytes and the emerging role of estrogen receptor-. *Bone Research*, 11(1) :13, March 2023. Publisher : Nature Publishing Group.

[45] Rui Feng, Wenhui Hu, Yuheng Li, Xuan Yao, Jianmei Li, Xiaoming Li, Jing Zhang, Yu Wu, Fei Kang, and Shiwu Dong. Mechanotransduction in subchondral bone microenvironment and targeted interventions for osteoarthritis. *Mechanobiology in Medicine*, 2(2) :100043, June 2024.

[46] Yizhong Jenny Hu, Xinchen Wu, Fuhua Wang, Yu Jin, Yangchen Jin, Yuchen Liu, Qian Cong, and Yingzi Yang. Piezo1-mediated mechanotransduction controls osteocyte maturation and dendrite development via a YAP-CCN-Src signaling axis. *Nature Communications*, 16(1) :10859, November 2025. Publisher : Nature Publishing Group.

[47] John A. Robinson, Moitreyee Chatterjee-Kishore, Paul J. Yaworsky, Diane M. Cullen, Weiguang Zhao, Christine Li, Yogendra Kharode, Linda Sauter, Philip Babij, Eugene L. Brown, Andrew A. Hill, Mohammed P. Akhter, Mark L. Johnson, Robert R. Recker,

Barry S. Komm, and Frederick J. Bex. Wnt/beta-catenin signaling is a normal physiological response to mechanical loading in bone. *The Journal of Biological Chemistry*, 281(42) :31720–31728, October 2006.

[48] Peipei Duan and LF Bonewald. The Role of the Wnt/-catenin Signaling Pathway in Formation and Maintenance of Bone and Teeth. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 77(Pt A) :23–29, August 2016.

[49] Jesus Delgado-Calle, Amy Y. Sato, and Teresita Bellido. Role and mechanism of action of sclerostin in bone. *Bone*, 96 :29–37, March 2017.

[50] Alexander G. Robling, Paul J. Niziolek, Lee A. Baldridge, Keith W. Condon, Matthew R. Allen, Imranul Alam, Sara M. Mantila, Jelica Gluhak-Heinrich, Teresita M. Bellido, Stephen E. Harris, and Charles H. Turner. Mechanical Stimulation of Bone in Vivo Reduces Osteocyte Expression of Sost/Sclerostin*. *Journal of Biological Chemistry*, 283(9) :5866–5875, February 2008.

[51] J. Klein-Nulend, R. F. M. van Oers, A. D. Bakker, and R. G. Bacabac. Nitric oxide signaling in mechanical adaptation of bone. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 25(5) :1427–1437, May 2014.

[52] Salvador Moncada and Annie Higgs. The L-Arginine-Nitric Oxide Pathway. *New England Journal of Medicine*, 329(27) :2002–2012, December 1993. Publisher : Massachusetts Medical Society.

[53] R. J. van't Hof, K. J. Armour, L. M. Smith, K. E. Armour, X. Q. Wei, F. Y. Liew, and S. H. Ralston. Requirement of the inducible nitric oxide synthase pathway for IL-1-induced osteoclastic bone resorption. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(14) :7993–7998, July 2000.

[54] Makoto Watanuki, Akinori Sakai, Takeshi Sakata, Hiroshi Tsurukami, Masao Miwa, Yasuo Uchida, Ken Watanabe, Kyoji Ikeda, and Toshitaka Nakamura. Role of Inducible Nitric Oxide Synthase in Skeletal Adaptation to Acute Increases in Mechanical Loading. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(6) :1015–1025, 2002. _eprint : https ://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1359/jbmr.2002.17.6.1015.

[55] Matías N. Möller, Natalia Rios, Madia Trujillo, Rafael Radi, Ana Denicola, and Beatriz Alvarez. Detection and quantification of nitric oxide–derived oxidants in biological systems. *Journal of Biological Chemistry*, 294(40) :14776–14802, October 2019.

[56] Sarah Stewart, Alastair Darwood, Spyros Masouros, Claire Higgins, and Arul Ramasamy. Mechanotransduction in osteogenesis. *Bone & Joint Research*, 9(1) :1–14, May 2020.

[57] Anthony A. Bertrand, Sri Harshini Malapati, Dean T. Yamaguchi, and Justine C. Lee. The Intersection of Mechanotransduction and Regenerative Osteogenic Materials. *Advanced Healthcare Materials*, 9(20) :2000709, 2020. _eprint : https ://advanced.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/adhm.202000709.

[58] Zhaoshuo Liu, Qilin Wang, Junyou Zhang, Sihan Qi, Yingying Duan, and Chunyan Li. The Mechanotransduction Signaling Pathways in the Regulation of Osteogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(18) :14326, September 2023.

[59] Xiajie Huang, Wenjun Hao, Yangzhou Mo, Xinyun Liang, Xiaomei Wu, Daofu Zeng, Yubin Mo, William Lu, Di Chen, and Yan Chen. Mechanotransduction and musculoskeletal regeneration : Molecular mechanisms and interdisciplinary applications. *Genes & Diseases*, 13(2) :101731, March 2026.

[60] Emma C. Watson and Ralf H. Adams. Biology of Bone : The Vasculature of the Skeletal System. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(7) :a031559, July 2018.

[61] Hiroyuki Sagayama, Emi Kondo, Yoko Tanabe, Takahiro Ohnishi, Yosuke Yamada, and Hideyuki Takahashi. Bone mineral density in male weight-classified athletes is higher than that in male endurance-athletes and non-athletes. *Clinical Nutrition ESPEN*, 36 :106–110, April 2020. Publisher : Elsevier.

[62] Xun Ma and Xiaoqian Zhang. Research progress of diabetic osteoporosis : a comprehensive review. *Frontiers in Endocrinology*, 16, September 2025. Publisher : Frontiers.

[63] Genna E. Monahan, Jessica Schiavi-Tritz, Marissa Britton, and Ted J. Vaughan. Longitudinal alterations in bone morphometry, mechanical integrity and composition in Type-2 diabetes in a Zucker diabetic fatty (ZDF) rat. *Bone*, 170 :116672, May 2023.

[64] Marissa Britton, Genna E. Monahan, Colin G. Murphy, Stephen R. Kearns, Aiden T. Devitt, Anaïs Okwieka, Stéphane Jaisson, Laurence Van Gulick, Abdelilah Beljebbar, Halima Kerdjoudj, Jessica Schiavi, and Ted J. Vaughan. An investigation of composition, morphology, mechanical properties, and microdamage accumulation of human type 2 diabetic bone. *Bone*, 187 :117190, October 2024.

[65] Sonali Rastogi, Ritu Verma, Sampath A. Gouru, Krishnaraju Venkatesan, P. Muthu Pandian, Mohd Ianveer Khan, Trinayan Deka, and Pawan Kumar. Emerging Technologies in Bone Tissue Engineering : A Review. *Journal of Bionic Engineering*, 22(5) :2261–2285, September 2025.

[66] The Effects of Mechanical Loading on Mesenchymal Stem Cell Differentiation and Matrix Production. In *Vitamins & Hormones*, volume 87, pages 417–480. Academic Press, January 2011. ISSN : 0083-6729.

[67] Chao Huang, Jingxing Dai, and Xin A. Zhang. Environmental physical cues determine the lineage specification of mesenchymal stem cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1850(6) :1261–1266, June 2015.

[68] Xiaofang Zhang, Sibo Zhang, and Tianlu Wang. How the mechanical microenvironment of stem cell growth affects their differentiation : a review. *Stem Cell Research & Therapy*, 13(1) :415, August 2022.

[69] Vicky Kartsogiannis and Kong Wah Ng. Cell lines and primary cell cultures in the study of bone cell biology. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 228(1) :79–102, December 2004.

[70] Edward L. Mertz, Elena Makareeva, Lynn S. Mirigian, and Sergey Leikin. Bone Formation in 2D Culture of Primary Cells. *JBMR Plus*, 7(1) :e10701, 2023. _eprint : https ://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jbm4.10701.

[71] James A. Gallagher. Human osteoblast culture. *Methods in Molecular Medicine*, 80 :3–18, 2003.

[72] F. a. A. Weyts, B. Bosmans, R. Niesing, J. P. T. M. van Leeuwen, and H. Weinans. Mechanical control of human osteoblast apoptosis and proliferation in relation to differentiation. *Calcified Tissue International*, 72(4) :505–512, April 2003.

[73] Sandwiches to better understand cells – Atlas of Science.

[74] José Ballester-Beltrán, Myriam Lebourg, and Manuel Salmerón-Sánchez. Sandwich-like Microenvironments to Harness Cell/Material Interactions. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, (102) :e53090, August 2015.

[75] Beatrice Yue. Biology of the Extracellular Matrix : An Overview. *Journal of glaucoma*, pages S20–S23, 2014.

[76] Elena Makareeva and Sergey Leikin. Chapter 7 - Collagen Structure, Folding and Function. In Jay R. Shapiro, Peter H. Byers, Francis H. Glorieux, and Paul D. Sponseller, editors, *Osteogenesis Imperfecta*, pages 71–84. Academic Press, San Diego, January 2014.

[77] Elisa D'Arcangelo and Alison P McGuigan. Micropatterning strategies to engineer controlled cell and tissue architecture in vitro. *BioTechniques*, 58(1) :13–23, January 2015. Publisher : Future Science.

[78] Chen Zhang, Astrid D. Bakker, Jenneke Klein-Nulend, and Nathalie Bravenboer. Studies on Osteocytes in Their 3D Native Matrix Versus 2D In Vitro Models. *Current Osteoporosis Reports*, 17(4) :207–216, 2019.

[79] Irene Simfia, Jessica Schiavi, and Laoise M. McNamara. Alterations in osteocyte mediated osteoclastogenesis during estrogen deficiency and under ROCK-II inhibition : An *in vitro* study using a novel postmenopausal multicellular niche model. *Experimental Cell Research*, 392(1) :112005, July 2020.

[80] Mesude Bicer, Graeme S. Cottrell, and Darius Widera. Impact of 3D cell culture on bone regeneration potential of mesenchymal stromal cells. *Stem Cell Research & Therapy*, 12(1) :31, January 2021.

[81] Alison Abbott. Biology's new dimension. *Nature*, 424(6951) :870–872, August 2003. Number : 6951 Publisher : Nature Publishing Group.

[82] Justin Ham, Lauren Lever, Maura Fox, and Michaela R Reagan. In Vitro 3D Cultures to Reproduce the Bone Marrow Niche. *JBMR Plus*, 3(10) :e10228, October 2019.

[83] Rita Silva-Pedrosa, António José Salgado, and Pedro Eduardo Ferreira. Revolutionizing Disease Modeling : The Emergence of Organoids in Cellular Systems. *Cells*, 12(6) :930, January 2023. Number : 6 Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[84] Désirée Baruffaldi, Gianluca Palmara, Candido Pirri, and Francesca Frascella. 3D Cell Culture : Recent Development in Materials with Tunable Stiffness. *ACS Applied Bio Materials*, 4(3) :2233–2250, March 2021. Publisher : American Chemical Society.

[85] Sara M Badenes. Microcarrier-based platforms for in vitro expansion and differentiation of human pluripotent stem cells in bioreactor culture systems. *Journal of Biotechnology*, 2016.

[86] Hossein Tavassoli. Large-scale production of stem cells utilizing microcarriers : A biomaterials engineering perspective from academic research to commercialized products. 2018.

[87] Allen Kuan-Liang Chen, Shaul Reuveny, and Steve Kah Weng Oh. Application of human mesenchymal and pluripotent stem cell microcarrier cultures in cellular therapy : Achievements and future direction. *Biotechnology Advances*, 31(7) :1032–1046, November 2013.

[88] Qasim A. Rafiq, Karen Coopman, Alvin W. Nienow, and Christopher J. Hewitt. Systematic microcarrier screening and agitated culture conditions improves human mesenchymal stem cell yield in bioreactors. *Biotechnology Journal*, 11(4) :473–486, 2016. _eprint : https ://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/biot.201400862.

[89] Sorour Derakhti, Seyed Hamid Safiabadi-Tali, Ghassem Amoabediny, and Mojgan Sheikhpour. Attachment and detachment strategies in microcarrier-based cell culture technology : A comprehensive review. *Materials Science and Engineering : C*, 103 :109782, October 2019.

[90] P Silva Couto. Expansion of human mesenchymal stem/stromal cells (hMSCs) in bioreactors using microcarriers_ lessons learnt and what the future holds. *Biotechnology Advances*, 2020.

[91] Benson Koh, Nadiah Sulaiman, Mh Busra Fauzi, Jia Xian Law, Min Hwei Ng, Ruszymah Bt Hj Idrus, and Muhammad Dain Yazid. Three dimensional microcarrier system in mesenchymal stem cell culture : a systematic review. *Cell & Bioscience*, 10(1) :75, June 2020.

[92] I. Yuste, F. C. Luciano, E. González-Burgos, A. Lalatsa, and D. R. Serrano. Mimicking bone microenvironment : 2D and 3D in vitro models of human osteoblasts. *Pharmacological Research*, 169 :105626, July 2021.

[93] Yutaro Yamada, Tadashi Okano, Kumi Orita, Tomomi Makino, Fumiaki Shima, and Hiroaki Nakamura. 3D-cultured small size adipose-derived stem cell spheroids promote bone regeneration in the critical-sized bone defect rat model. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 603 :57–62, May 2022.

[94] Wenjie Wang, Keiji Itaka, Shinsuke Ohba, Nobuhiro Nishiyama, Ung-il Chung, Yuichi Yamasaki, and Kazunori Kataoka. 3D spheroid culture system on micropatterned substrates for improved differentiation efficiency of multipotent mesenchymal stem cells. *Biomaterials*, 30(14) :2705–2715, May 2009.

[95] Katherine H. Griffin, Shierly W. Fok, and J. Kent Leach. Strategies to capitalize on cell spheroid therapeutic potential for tissue repair and disease modeling. *npj Regenerative Medicine*, 7(1) :1–13, December 2022. Number : 1 Publisher : Nature Publishing Group.

[96] V. Prabhakaran, R. Hawkswell, and J. Paxton. INVESTIGATING THE FORMATION OF 3D BONE CELL SPHEROIDS FOR SCAFFOLD-FREE BONE TISSUE ENGINEERING. *Orthopaedic Proceedings*, 105-B(SUPP_7) :80–80, April 2023. Publisher : Bone & Joint.

[97] Xu Xue, Yan Hu, Sicheng Wang, Xiao Chen, Yingying Jiang, and Jiacan Su. Fabrication of physical and chemical crosslinked hydrogels for bone tissue engineering. *Bioactive Materials*, 12 :327–339, June 2022.

[98] Elizabeth E. Antoine, Pavlos P. Vlachos, and Marissa Nichole Rylander. Review of Collagen I Hydrogels for Bioengineered Tissue Microenvironments : Characterization of Mechanics, Structure, and Transport. *Tissue Engineering. Part B, Reviews*, 20(6) :683–696, December 2014.

[99] Rui Yao, Renji Zhang, Jie Luan, and Feng Lin. Alginate and alginate/gelatin microspheres for human adipose-derived stem cell encapsulation and differentiation. *Biofabrication*, 4(2) :025007, June 2012.

[100] Kuen Yong Lee and David J. Mooney. Alginate : Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 37(1) :106–126, January 2012.

[101] Sida Liao, Haoye Meng, Jun Zhao, Wancheng Lin, Xiuzhi Liu, Zhuang Tian, Lan Lan, Hanyu Yang, Yulan Zou, Yichi Xu, Xiao Gao, Shibi Lu, and Jiang Peng. Injectable adipose-derived stem cells-embedded alginate-gelatin microspheres prepared by electrospray for cartilage tissue regeneration. *Journal of Orthopaedic Translation*, 33 :174–185, March 2022.

[102] T. Distler, L. Kretzschmar, D. Schneidereit, S. Girardo, R. Goswami, O. Friedrich, R. Detsch, J. Guck, A. R. Boccaccini, and S. Budday. Mechanical properties of cell- and microgel bead-laden oxidized alginate-gelatin hydrogels. *Biomaterials Science*, 9(8) :3051–3068, April 2021. Publisher : The Royal Society of Chemistry.

[103] F. Ahmadi, Z. Oveisi, S. Mohammadi Samani, and Z. Amoozgar. Chitosan based hydrogels : characteristics and pharmaceutical applications. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 10(1) :1–16, 2015.

[104] Jaisanghar Nallusamy and Raunak Kumar Das. Hydrogels and Their Role in Bone Tissue Engineering : An Overview. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 13(Suppl 2) :S908–S912, November 2021.

[105] K. Cheikho, C. Laurent, and J. F. Ganghoffer. An advanced method to design graded cylindrical scaffolds with versatile effective cross-sectional mechanical properties. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 125 :104887, January 2022.

[106] K. Cheikho, J. F. Ganghoffer, A. Baldit, E. Labbé, S. Alix, H. Kerdjoudj, C. Mauprivez, A. Lebée, and C. Laurent. A flexible design framework to design graded porous bone scaffolds with adjustable anisotropic properties. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 140 :105727, April 2023.

[107] Guobao Chen, Chanjuan Dong, Li Yang, and Yonggang Lv. 3D Scaffolds with Different Stiffness but the Same Microstructure for Bone Tissue Engineering. *ACS applied materials & interfaces*, 7(29) :15790–15802, July 2015.

[108] Guoke Tang, Zhiqin Liu, Yi Liu, Jiangming Yu, Xing Wang, Zhihong Tan, and Xiaojian Ye. Recent Trends in the Development of Bone Regenerative Biomaterials. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, May 2021. Publisher : Frontiers.

[109] Molly M. Stevens. Biomaterials for bone tissue engineering. *Materials Today*, 11(5) :18–25, May 2008.

[110] Naghmeh Abbasi, Stephen Hamlet, Robert Love, and Nam-Trung Nguyen. Porous Scaffolds for Bone Regeneration. February 2020.

[111] Seunghun S. Lee, Xiaoyu Du, Inseon Kim, and Stephen J. Ferguson. Scaffolds for bone-tissue engineering. *Matter*, 5(9) :2722–2759, September 2022.

[112] Division of Biomechanics and Engineering Design, K.U. Leuven, Leuven, Belgium, A Torcasio, Gh Van Lenthe, and H Van Oosterwyck. The importance of loading frequency, rate and vibration for enhancing bone adaptation and implant osseointegration. *European Cells and Materials*, 16 :65–68, November 2008.

[113] Kar Wey Yong, Jane Ru Choi, Jean Yu Choi, and Alistair C. Cowie. Recent Advances in Mechanically Loaded Human Mesenchymal Stem Cells for Bone Tissue Engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(16) :5816, August 2020.

[114] Yuyang Sun, Ben Wan, Renxian Wang, Bowen Zhang, Peng Luo, Diaodiao Wang, Jing-Jun Nie, Dafu Chen, and Xinbao Wu. Mechanical Stimulation on Mesenchymal Stem Cells and Surrounding Microenvironments in Bone Regeneration : Regulations and Applications. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10, 2022.

[115] Julian Chaudhuri and Mohamed Al-Rubeai, editors. *Bioreactors for Tissue Engineering : Principles, Design and Operation*. Springer Netherlands, Dordrecht, 2005.

[116] Georgia-Ioanna Kontogianni, Konstantinos Loukelis, Amedeo Franco Bonatti, Elisa Batoni, Carmelo De Maria, Raasti Naseem, Kenneth Dalgarno, Giovanni Vozzi, David B. MacManus, Subrata Mondal, Nicholas Dunne, Chiara Vitale-Brovarone, and Maria Chatzinikolaidou. Effect of Uniaxial Compression Frequency on Osteogenic Cell Responses in Dynamic 3D Cultures. *Bioengineering*, 10(5) :532, May 2023. Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[117] M. Brunelli, C. M. Perrault, and D. Lacroix. Short bursts of cyclic mechanical compression modulate tissue formation in a 3D hybrid scaffold. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 71 :165–174, July 2017.

[118] Joseph Lovecchio, Paolo Gargiulo, Jose Luis Vargas Luna, Emanuele Giordano, and Ólafur Eysteinn Sigurjónsson. A standalone bioreactor system to deliver compressive load under perfusion flow to hBMSC-seeded 3D chitosan-graphene templates. *Scientific Reports*, 9(1) :16854, November 2019. Publisher : Nature Publishing Group.

[119] Carolina Gamez, Barbara Schneider-Wald, Karen Bieback, Andy Schuette, Sylvia Büttner, Mathias Hafner, Norbert Gretz, and Markus L. Schwarz. Compression Bioreactor-Based Mechanical Loading Induces Mobilization of Human Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells into Collagen Scaffolds In Vitro. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21) :8249, January 2020. Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[120] Carolina Gamez, Barbara Schneider-Wald, Andy Schuette, Michael Mack, Luisa Hauk, Arif ul Maula Khan, Norbert Gretz, Marcus Stoffel, Karen Bieback, and Markus L. Schwarz. Bioreactor for mobilization of mesenchymal stem/stromal cells into scaffolds under mechanical stimulation : Preliminary results. *PLOS ONE*, 15(1) :e0227553, January 2020. Publisher : Public Library of Science.

[121] Jianhua Zhang, Julia Griesbach, Marsel Ganeyev, Anna-Katharina Zehnder, Peng Zeng, Gian Nutal Schädli, Anke de Leeuw, Yuxiao Lai, Marina Rubert, and Ralph Müller. Long-term mechanical loading is required for the formation of 3D bioprinted functional osteocyte bone organoids. *Biofabrication*, 14(3) :035018, June 2022. Publisher : IOP Publishing.

[122] Chunqiu Zhang, Xizheng Zhang, Xin Dong, Han Wu, and Guodong Li. A loading device suitable for studying mechanical response of bone cells in hard scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research Part B : Applied Biomaterials*, 91B(1) :481–488, 2009. _eprint : https ://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jbm.b.31462.

[123] Cédric P. Laurent, Cédryck Vaquette, Céline Martin, Emmanuel Guedon, Xiude Wu, Alain Delconte, Dominique Dumas, Sébastien Hupont, Natalia De Isla, Rachid Rahouadj, and Xiong Wang. Towards a Tissue-Engineered Ligament : Design and Preliminary Evaluation of a Dedicated Multi-Chamber Tension-Torsion Bioreactor. *Processes*, 2(1) :167–179, March 2014. Number : 1 Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[124] S. Djien Tan, Teun J. de Vries, Anne Marie Kuijpers-Jagtman, Cornelis M. Semeins, Vincent Everts, and Jenneke Klein-Nulend. Osteocytes subjected to fluid flow inhibit osteoclast formation and bone resorption. *Bone*, 41(5) :745–751, November 2007.

[125] Andrew B. Yeatts and John P. Fisher. Bone tissue engineering bioreactors : Dynamic culture and the influence of shear stress. *Bone*, 48(2) :171–181, February 2011.

[126] Fiona E. Freeman, Jessica Schiavi, Meadhbh A. Brennan, Peter Owens, Pierre Layrolle, and Laoise M. McNamara. Mimicking the Biochemical and Mechanical Extracellular Environment of the Endochondral Ossification Process to Enhance the In Vitro Mineralization Potential of Human Mesenchymal Stem Cells. *Tissue Engineering Part A*, 23(23-24) :1466–1478, December 2017. Publisher : Mary Ann Liebert, Inc., publishers.

[127] Elena Stavenschi, Michele A. Corrigan, Gillian P. Johnson, Mathieu Riffault, and David A. Hoey. Physiological cyclic hydrostatic pressure induces osteogenic lineage commitment of human bone marrow stem cells : a systematic study. *Stem Cell Research & Therapy*, 9(1) :276, October 2018.

[128] Regina Puts, Karen Ruschke, Thomas H. Ambrosi, Anke Kadow-Romacker, Petra Knaus, Klaus-Vitold Jenderka, and Kay Raum. A Focused Low-Intensity Pulsed Ultrasound (FLIPUS) System for Cell Stimulation : Physical and Biological Proof of Principle. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 63(1) :91–100, January 2016. Conference Name : IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control.

[129] Regina Puts, Josefine Albers, Anke Kadow-Romacker, Sven Geissler, and Kay Raum. Influence of Donor Age and Stimulation Intensity on Osteogenic Differentiation of Rat Mesenchymal Stromal Cells in Response to Focused Low-Intensity Pulsed Ultrasound. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 42(12) :2965–2974, December 2016.

[130] Thomas K. Kristiansen, John P. Ryaby, Joan McCABE, John J. Frey, and Linda R. Roe. Accelerated Healing of Distal Radial Fractures with the Use of Specific, Low-Intensity Ultrasound. A Multicenter, Prospective, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study*. *JBJS*, 79(7) :961, July 1997.

[131] Raman Mundi, Stephen Petis, Roopinder Kaloty, Vijay Shetty, and Mohit Bhandari. Low-intensity pulsed ultrasound : Fracture healing. *Indian Journal of Orthopaedics*, 43(2) :132–140, 2009.

[132] Lutz Claes and Bettina Willie. The enhancement of bone regeneration by ultrasound. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 93(1) :384–398, January 2007.

[133] Fang-Yuan Wei, Kwok-Sui Leung, Gang Li, Jianghui Qin, Simon Kwoon-Ho Chow, Shuo Huang, Ming-Hui Sun, Ling Qin, and Wing-Hoi Cheung. Low Intensity Pulsed Ultrasound Enhanced Mesenchymal Stem Cell Recruitment through Stromal Derived Factor-1 Signaling in Fracture Healing. *PLoS ONE*, 9(9) :e106722, September 2014.

[134] Yanxin An, Yan Song, Zhaoling Wang, Jing Wang, Gaoyi Wu, Guoxiong Zhu, and Lei Chen. Effect of low-intensity pulsed ultrasound on the biological behaviors of bone marrow mesenchymal stem cells on titanium with different surface topographies. *American Journal of Translational Research*, 10(1) :67–76, January 2018.

[135] Shucai Xie, Xili Jiang, Rui Wang, Shaowei Xie, Yongyong Hua, Shuai Zhou, Yijun Yang, and Jianquan Zhang. Low-intensity pulsed ultrasound promotes the proliferation of human bone mesenchymal stem cells by activating PI3K/AKt signaling pathways. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(9) :15823–15833, 2019. _eprint : https ://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jcb.28853.

[136] Peng Xia, Yi Shi, Xiaoju Wang, and Xueping Li. Advances in the application of low-intensity pulsed ultrasound to mesenchymal stem cells. *Stem Cell Research & Therapy*, 13(1) :214, May 2022.

[137] Bo Zong, Weikang Sun, Chao Cai, and Peng Shang. The Effects and Mechanisms of Low-Intensity Pulsed Ultrasound on Bone Remodeling : From Laboratory to Clinic. *Biomolecules*, 15(10) :1351, October 2025. Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[138] Beatriz de Lucas, Laura M. Pérez, Aurora Bernal, and Beatriz G. Gálvez. Application of low-intensity pulsed therapeutic ultrasound on mesenchymal precursors does not affect their cell properties. *PLOS ONE*, 16(2) :e0246261, February 2021. Publisher : Public Library of Science.

[139] Abdollah Amini, Sufan Chien, and Mohammad Bayat. Impact of Ultrasound Therapy on Stem Cell Differentiation - A Systematic Review. *Current Stem Cell Research & Therapy*, 15(5) :462–472.

[140] R. Puts, L. Vico, N. Beilfuß, M. Shaka, F. Padilla, K. Raum, R. Puts, L. Vico, N. Beilfuß, M. Shaka, F. Padilla, and K. Raum. Pulsed ultrasound for bone regeneration – outcomes and hurdles in the clinical application : a systematic review. *European Cells & Materials*, 42 :281–311, October 2021. Publisher : FMP.

[141] Duyang Zang, Yinkai Yu, Zhen Chen, Xiaoguang Li, Hongjing Wu, and Xingguo Geng. Acoustic levitation of liquid drops : Dynamics, manipulation and phase transitions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 243 :77–85, May 2017.

[142] Aditya Vashi, Ajeet Singh Yadav, Nam-Trung Nguyen, and Kamalalayam Rajan Sreejith. Parametric analysis of acoustically levitated droplet for potential microgravity application. *Applied Acoustics*, 213 :109624, October 2023.

[143] Chenxin Lyu, Daofan Tang, Chengqian Zhang, Jun Xie, Qingyan Zhang, Jing Nie, Yong He, Jianzhong Fu, Jingdai Wang, and Peng Zhao. Magnetic levitation for non-contact manipulation and measurement of cells. *Sensors and Actuators B : Chemical*, 385 :133692, June 2023.

[144] Claudia Arbore, Laura Perego, Marios Sergides, and Marco Capitanio. Probing force in living cells with optical tweezers : from single-molecule mechanics to cell mechanotransduction. *Biophysical Reviews*, 11(5) :765–782, October 2019.

[145] Tatsunori Kishimoto, Kyoko Masui, Wataru Minoshima, and Chie Hosokawa. Recent advances in optical manipulation of cells and molecules for biological science. *Journal of Photochemistry and Photobiology C : Photochemistry Reviews*, 53 :100554, December 2022.

[146] Sooheyong Lee, Wonhyuk Jo, Yong chan Cho, Hyun Hwi Lee, and Geun Woo Lee. Solution electrostatic levitator for measuring surface properties and bulk structures of an extremely supersaturated solution drop above metastable zone width limit. *Review of Scientific Instruments*, 88(5) :055101, May 2017.

[147] L. Hennet, V. Cristiglio, J. Kozaily, I. Pozdnyakova, H. E. Fischer, A. Bytchkov, J. W. E. Drewitt, M. Leydier, D. Thiaudière, S. Gruner, S. Brassamin, D. Zanghi, G. J. Cuello, M. Koza, S. Magazù, G. N. Greaves, and D. L. Price. Aerodynamic levitation and laser heating :. *The European Physical Journal Special Topics*, 196(1) :151–165, May 2011.

[148] Marco A. B. Andrade, Nicolás Pérez, and Julio C. Adamowski. Particle manipulation by a non-resonant acoustic levitator. *Applied Physics Letters*, 106(1) :014101, January 2015.

[149] Jhon F. Pazos Ospina, Victor Contreras, Jordan Estrada-Morales, Diego Baresch, Joao Luis Ealo, and Karen Volke-Sepúlveda. Particle-Size Effect in Airborne Standing-Wave Acoustic Levitation : Trapping Particles at Pressure Antinodes. *Physical Review Applied*, 18(3) :034026, September 2022. Publisher : American Physical Society.

[150] M. C. Schlegel, K.-J. Wenzel, A. Sarfraz, U. Panne, and F. Emmerling. A wall-free climate unit for acoustic levitators. *Review of Scientific Instruments*, 83(5) :055101, May 2012.

[151] Rosa Mondragon, Leonor Hernandez, J. Enrique Julia, Juan Carlos Jarque, Sergio Chiva, Belal Zaitone, and Cameron Tropea. Study of the drying behavior of high load multiphase droplets in an acoustic levitator at high temperature conditions. *Chemical Engineering Science*, 66(12) :2734–2744, June 2011.

[152] Jung Hwan Park, Ju-Ro Lee, Sungkwon Park, Yu-Jin Kim, Jeong-Kee Yoon, Hyun Su Park, Jiyu Hyun, Yoon Ki Joung, Tae Il Lee, and Suk Ho Bhang. Subaqueous 3D stem cell spheroid levitation culture using anti-gravity bioreactor based on sound wave superposition. *Biomaterials Research*, 27(1) :51, May 2023.

[153] Angela Tait, Peter Glynne-Jones, Alison R. Hill, David E. Smart, Cornelia Blume, Bjorn Hammarstrom, Adam L. Fisher, Martin C. Grossel, Emily J. Swindle, Martyn Hill, and Donna E. Davies. Engineering multi-layered tissue constructs using acoustic levitation. *Scientific Reports*, 9(1) :9789, July 2019. Publisher : Nature Publishing Group.

[154] Charlène Bouyer, Pu Chen, Sinan Güven, Tuğrul Tolga Demirtaş, Thomas J. F. Nieland, Frédéric Padilla, and Utkan Demirci. A Bio-Acoustic Levitational (BAL) Assembly Method for Engineering of Multilayered, 3D Brain-Like Constructs, Using Human Embryonic Stem Cell Derived Neuro-Progenitors. *Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla.)*, 28(1) :161–167, January 2016.

[155] Nathan Jeger-Madiot, Lousineh Arakelian, Niclas Setterblad, Patrick Bruneval, Mauricio Hoyos, Jérôme Larghero, and Jean-Luc Aider. Self-organization and culture of Mesenchymal Stem Cell spheroids in acoustic levitation. *Scientific Reports*, 11(1) :8355, April 2021. Number : 1 Publisher : Nature Publishing Group.

[156] Lucile Rabiet, Lousineh Arakelian, Nathan Jeger-Madiot, Duván Rojas García, Jérôme Larghero, and Jean-Luc Aider. Acoustic levitation as a tool for cell-driven self-organization of human cell spheroids during long-term 3D culture. *Biotechnology and Bioengineering*, 121(4) :1421–1433, 2024. _eprint : https ://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/bit.28651.

[157] Lucile Rabiet, Nathan Jeger-Madiot, Duván Rojas García, Lucie Tosca, Gérard Tachdjian, Sabrina Kellouche, Rémy Agniel, Jérôme Larghero, Jean-Luc Aider, and Lousineh Arakelian. Improved functionality of hepatic spheroids cultured in acoustic levitation compared to existing 2D and 3D models. *Scientific Reports*, 14(1) :21528, September 2024.

[158] Camille Perier-Metz, Georg N. Duda, and Sara Checa. Mechano-Biological Computer Model of Scaffold-Supported Bone Regeneration : Effect of Bone Graft and Scaffold Structure on Large Bone Defect Tissue Patterning. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, November 2020. Publisher : Frontiers.

[159] J. A. Alierta, M. A. Pérez, and J. M. García-Aznar. An interface finite element model can be used to predict healing outcome of bone fractures. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 29 :328–338, January 2014.

[160] Ester Comellas and Sandra J. Shefelbine. The role of computational models in mechanobiology of growing bone. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 2022.

[161] José Manuel García-Aznar, Gabriele Nasello, Silvia Hervas-Raluy, María Ángeles Pérez, and María José Gómez-Benito. Multiscale modeling of bone tissue mechanobiology. *Bone*, 151 :116032, October 2021.

[162] Bianca Cristina dos Santos, Pedro Yoshito Noritomi, Jorge Vicente Lopes da Silva, Izaque Alves Maia, and Bruna Maria Manzini. Biological multiscale computational modeling : A promising tool for 3D bioprinting and tissue engineering. *Bioprinting*, 28 :e00234, December 2022.

[163] Monan Wang, Ning Yang, and Xinyu Wang. A review of computational models of bone fracture healing. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 55(11) :1895–1914, November 2017.

[164] Haja-Sherief N. Musthafa, Jason Walker, and Mariusz Domagala. Computational Modelling and Simulation of Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Computation*, 12(4) :74, April 2024. Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[165] Stefaan W. Verbruggen, Ted J. Vaughan, and Laoise M. McNamara. Strain amplification in bone mechanobiology : a computational investigation of the in vivo mechanics of osteocytes. *Journal of The Royal Society Interface*, 9(75) :2735–2744, June 2012. Publisher : Royal Society.

[166] James G. Mcgarry, Jenneke Klein-Nulend, Margriet G. Mullender, and Patrick J. Prendergast. A comparison of strain and fluid shear stress in stimulating bone cell responses—a computational and experimental study. *The FASEB Journal*, 19(3) :1–22, 2005. _eprint : https ://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1096/fj.04-2210fje.

[167] Subhomoy Chatterjee. Finite Element Analysis in Biomechanics. pages 16–47. January 2022.

[168] Tiago Pires, John W. C. Dunlop, Paulo Rui Fernandes, and André P. G. Castro. Challenges in computational fluid dynamics applications for bone tissue engineering. *Proceedings of the Royal Society A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 478(2257) :20210607, January 2022.

[169] Theodoor H. Smit. Finite Element Models of Osteocytes and Their Load-Induced Activation. *Current Osteoporosis Reports*, 20(2) :127–140, 2022.

[170] Quentin A. Meslier and Sandra J. Shefelbine. Using Finite Element Modeling in Bone Mechanoadaptation. *Current Osteoporosis Reports*, 21(2) :105–116, April 2023.

[171] Philippe K Zysset, Enrico Dall'Ara, Peter Varga, and Dieter H Pahr. Finite element analysis for prediction of bone strength. *BoneKEy Reports*, 2 :386, August 2013.

[172] Sandeep Kumar Parashar and Jai Kumar Sharma. A review on application of finite element modelling in bone biomechanics. *Perspectives in Science*, 8 :696–698, September 2016.

[173] A. Boccaccio, A. Ballini, C. Pappalettere, D. Tullo, S. Cantore, and A. Desiate. Finite Element Method (FEM), Mechanobiology and Biomimetic Scaffolds in Bone Tissue Engineering. *International Journal of Biological Sciences*, 7(1) :112–132, January 2011.

[174] Thiagarajan Ganesh, Loretta E. Laughrey, Mohammadmehdi Niroobakhsh, and Nuria Lara-Castillo. Multiscale finite element modeling of mechanical strains and fluid flow in osteocyte lacunocanalicular system. *Bone*, 137 :115328, August 2020.

[175] Xiaozhou Zhou, John E. Novotny, and Liyun Wang. Anatomic variations of the lacunar–canalicular system influence solute transport in bone. *Bone*, 45(4) :704–710, October 2009.

[176] Eric J. Anderson and Melissa L. Knothe Tate. Idealization of pericellular fluid space geometry and dimension results in a profound underprediction of nano-microscale stresses imparted by fluid drag on osteocytes. *Journal of Biomechanics*, 41(8) :1736–1746, January 2008.

[177] Rommel G. Bacabac, Daisuke Mizuno, Christoph F. Schmidt, Fred C. MacKintosh, Jack J. W. A. Van Loon, Jenneke Klein-Nulend, and Theo H. Smit. Round versus flat : Bone cell morphology, elasticity, and mechanosensing. *Journal of Biomechanics*, 41(7) :1590–1598, January 2008.

[178] Mario Giorgi, Stefaan W. Verbruggen, and Damien Lacroix. In silico bone mechanobiology : modeling a multifaceted biological system. *WIREs Systems Biology and Medicine*, 8(6) :485–505, 2016. _eprint : https ://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/wsbm.1356.

[179] Stefaan W. Verbruggen, Ted J. Vaughan, and Laoise M. McNamara. Fluid flow in the osteocyte mechanical environment : a fluid–structure interaction approach. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 13(1) :85–97, January 2014.

[180] Matthew G. Haugh, Ted J. Vaughan, and Laoise M. McNamara. The role of integrin V3 in osteocyte mechanotransduction. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 42 :67–75, February 2015.

[181] Jean-Louis Milan, Josep A. Planell, and Damien Lacroix. Computational modelling of the mechanical environment of osteogenesis within a polylactic acid–calcium phosphate glass scaffold. *Biomaterials*, 30(25) :4219–4226, September 2009.

[182] Feihu Zhao, Ted J. Vaughan, and Laoise M. Mcnamara. Multiscale fluid–structure interaction modelling to determine the mechanical stimulation of bone cells in a tissue engineered scaffold. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 14(2) :231–243, April 2015.

[183] Andy L. Olivares, Èlia Marsal, Josep A. Planell, and Damien Lacroix. Finite element study of scaffold architecture design and culture conditions for tissue engineering. *Biomaterials*, 30(30) :6142–6149, October 2009.

[184] C. Jungreuthmayer, M. J. Jaasma, A. A. Al-Munajjed, J. Zanghellini, D. J. Kelly, and F. J. O'Brien. Deformation simulation of cells seeded on a collagen-GAG scaffold in a flow perfusion bioreactor using a sequential 3D CFD-elastostatics model. *Medical Engineering & Physics*, 31(4) :420–427, May 2009.

[185] Feihu Zhao, Johanna Melke, Keita Ito, Bert van Rietbergen, and Sandra Hofmann. A multiscale computational fluid dynamics approach to simulate the micro-fluidic environment within a tissue engineering scaffold with highly irregular pore geometry. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 18(6) :1965–1977, 2019.

[186] E. Birmingham, G. L. Niebur, L. M. McNamara, and P. E. McHugh. An Experimental and Computational Investigation of Bone Formation in Mechanically Loaded Trabecular Bone Explants. *Annals of Biomedical Engineering*, 44(4) :1191–1203, April 2016.

[187] Cécile Baron, Vu-Hieu Nguyen, Salah Naili, and Carine Guivier-Curien. Interaction of ultrasound waves with bone remodelling : a multiscale computational study. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 19(5) :1755–1764, October 2020.

[188] Abdolrasol Rahimi and Natasha Case. Computational model to evaluate modulation of the acoustic field in an ultrasonic bioreactor by incorporation of a water layer bounded by an acoustic absorbent boundary layer. *Ultrasonics*, 103 :106086, April 2020.

[189] Kianoosh Abbassi, Maziar Janghorban, Farshad Javanmardi, and Saleh Mobasseri. Feasibility study of femur bone with continuum model. *Journal of Medical Engineering & Technology*, 47(7) :355–366, October 2023.

[190] Jose A. Sanz-Herrera and Esther Reina-Romo. Continuum Modeling and Simulation in Bone Tissue Engineering. *Applied Sciences*, 9(18) :3674, January 2019. Number : 18 Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[191] Philippe K. Zysset and Uwe Wolfram. A rate-independent continuum model for bone tissue with interaction of compressive and tensile micro-damage. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 74 :448–462, October 2017.

[192] Jack J. Kendall, Charles Ledoux, Francisco C. Marques, Daniele Boaretti, Friederike A. Schulte, Elise F. Morgan, and Ralph Müller. An in silico micro-multiphysics agent-based approach for simulating bone regeneration in a mouse femur defect model. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11 :1289127, 2023.

[193] Olufunto Faweya, Prathamesh S. Desai, and C. Fred Higgs III. Towards an agent-based model to simulate osseointegration in powder-bed 3D printed implant-like structures. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 126 :104915, February 2022.

[194] Daniele Boaretti, Francisco C. Marques, Charles Ledoux, Amit Singh, Jack J. Kendall, Esther Wehrle, Gisela A. Kuhn, Yogesh D. Bansod, Friederike A. Schulte, and Ralph Müller. Trabecular bone remodeling in the aging mouse : A micro-multiphysics agent-based in silico model using single-cell mechanomics. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11 :1091294, 2023.

[195] Aurélie Carlier, Nick van Gastel, Liesbet Geris, Geert Carmeliet, and Hans Van Oosterwyck. Size Does Matter : An Integrative In Vivo-In Silico Approach for the Treatment of Critical Size Bone Defects. *PLOS Computational Biology*, 10(11) :e1003888, November 2014. Publisher : Public Library of Science.

[196] Darae Jeong, Ana Yun, and Junseok Kim. Mathematical model and numerical simulation of the cell growth in scaffolds. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 11(5) :677–688, May 2012. Number : 5.

[197] Ahmadreza Ghaffarizadeh, Randy Heiland, Samuel H. Friedman, Shannon M. Mumenthaler, and Paul Macklin. PhysiCell : An open source physics-based cell simulator for 3-D multicellular systems. *PLOS Computational Biology*, 14(2) :e1005991, February 2018. Publisher : Public Library of Science.

[198] Maciej H. Swat, Gilberto L. Thomas, Julio M. Belmonte, Abbas Shirinifard, Dimitrij Hmeljak, and James A. Glazier. Multi-scale modeling of tissues using CompuCell3D. *Methods in Cell Biology*, 110 :325–366, 2012.

[199] Jörn Starruß, Walter de Back, Lutz Brusch, and Andreas Deutsch. Morpheus : a user-friendly modeling environment for multiscale and multicellular systems biology. *Bioinformatics*, 30(9) :1331–1332, May 2014.

[200] Paul Regtien and Edwin Dertien. 9 - Acoustic sensors. In *Sensors for Mechatronics*, pages 267–303. Second edition edition, 2018.

[201] 8.8 : Standing Waves, October 2022.

[202] Juhyeon Park, Ahreum Min, Jayaraman Theerthagiri, Muthupandian Ashokkumar, and Myong Yong Choi. *In situ* studies on free-standing synthesis of nanocatalysts via acoustic levitation coupled with pulsed laser irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 94 :106345, March 2023.

[203] Acoustic Levitator via COMSOL multiphysics.

[204] k-Wave : A MATLAB toolbox for the time domain simulation of acoustic wave fields.

[205] Levitate Python Toolbox 3.0.0 documentation.

[206] Louis Vessot King. On the acoustic radiation pressure on spheres. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A - Mathematical and Physical Sciences*, 147(861) :212–240, November 1934. Publisher : Royal Society.

[207] Alexander A. Doinikov. Acoustic radiation pressure on a compressible sphere in a viscous fluid. *Journal of Fluid Mechanics*, 267 :1–22, May 1994.

[208] L.P. Gor'kov. On the forces acting on a small particle in an acoustical field in an ideal fluid. In *Selected Papers of Lev P. Gor'kov*, pages 315–317. January 2014. Journal Abbreviation : Selected Papers of Lev P. Gor'kov.

[209] L.D. LANDAU and E.M. LIFSHITZ. *Fluid Mechanics*, volume 6. Second edition edition, 1987. ISBN : 9780080339337.

[210] Henrik Bruus. Acoustofluidics 2 : Perturbation theory and ultrasound resonance modes. *Lab on a Chip*, 12(1) :20–28, December 2011. Publisher : The Royal Society of Chemistry.

[211] Henrik Bruus. Acoustofluidics 7 : The acoustic radiation force on small particles. *Lab on a Chip*, 12(6) :1014–1021, February 2012. Publisher : The Royal Society of Chemistry.

[212] Marco A. B. Andrade, Nicolás Pérez, and Julio C. Adamowski. Review of Progress in Acoustic Levitation. *Brazilian Journal of Physics*, 48(2) :190–213, April 2018.

[213] C. L. Shen, W. J. Xie, and B. Wei. Parametric resonance in acoustically levitated water drops. *Physics Letters A*, 374(23) :2301–2304, May 2010.

[214] D. L. Geng, W. J. Xie, N. Yan, and B. Wei. Vertical vibration and shape oscillation of acoustically levitated water drops. *Applied Physics Letters*, 105(10) :104101, September 2014.

[215] E. Trinh and T. G. Wang. Large-amplitude free and driven drop-shape oscillations : experimental observations. *Journal of Fluid Mechanics*, 122 :315–338, September 1982.

[216] Ruihao Deng. Liquid droplet oscillations in an acoustic levitator. 2021.

[217] Nicolás Pérez, Marco A. B. Andrade, Rafael Canetti, and Julio C. Adamowski. Experimental determination of the dynamics of an acoustically levitated sphere. *Journal of Applied Physics*, 116(18) :184903, November 2014.

[218] K. Hasegawa and K. Kono. Oscillation characteristics of levitated sample in resonant acoustic field. *AIP Advances*, 9(3) :035313, March 2019.

[219] Koji Hasegawa and Manami Murata. Oscillation Dynamics of Multiple Water Droplets Levitated in an Acoustic Field. *Micromachines*, 13(9) :1373, September 2022. Number : 9 Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[220] Delu Geng, Na Yan, Wenjun Xie, Yongjun Lü, and Bingbo Wei. Extraordinary Solidification Mechanism of Liquid Alloys Under Acoustic Levitation State. *Advanced Materials*, 35(50) :2206464, 2023. _eprint : https ://advanced.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/adma.202206464.

[221] Xiaozhen Wang, Qin Chang, Pengfei Wu, Delong Xu, Weijun Lin, and Hao Chen. On the instability of single-axis acoustic levitation under radial perturbations. *Journal of Applied Physics*, 136(11) :114901, September 2024.

[222] Marco A. B. Andrade, Nicolás Pérez, and Julio C. Adamowski. Experimental study of the oscillation of spheres in an acoustic levitator. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 136(4) :1518–1529, October 2014.

[223] Marco A. B. Andrade, Spyros Polychronopoulos, Gianluca Memoli, and Asier Marzo. Experimental investigation of the particle oscillation instability in a single-axis acoustic levitator. *AIP Advances*, 9(3) :035020, March 2019.

[224] Steven L. Garrett. The Simple Harmonic Oscillator. In Steven L. Garrett, editor, *Understanding Acoustics : An Experimentalist's View of Sound and Vibration*, pages 59–131. Springer International Publishing, Cham, 2020.

[225] Lord Rayleigh. On the Capillary Phenomena of Jets. *Proceedings of the Royal Society of London*, 29 :71–97, 1879. Publisher : Royal Society.

[226] W. Ran and Steven Fredericks. Shape oscillation of a levitated drop in an acoustic field. October 2013.

[227] E. H. Trinh. Compact acoustic levitation device for studies in fluid dynamics and material science in the laboratory and microgravity. *Review of Scientific Instruments*, 56(11) :2059–2065, November 1985.

[228] C. L. Shen, W. J. Xie, and B. Wei. Parametrically excited sectorial oscillation of liquid drops floating in ultrasound. *Physical Review E*, 81(4) :046305, April 2010. Publisher : American Physical Society.

[229] Duyang Zang, Zhen Chen, and Xingguo Geng. Sectorial oscillation of acoustically levitated nanoparticle-coated droplet. *Applied Physics Letters*, 108(3) :031603, January 2016.

[230] Chushun Wang, Kai-tak Wan, and Mohammad E. Taslim. Harmonic resonance of acoustically levitated two-phase droplets. March 2025.

[231] S. I. Tamim and J. B. Bostwick. The elastic Rayleigh drop. *Soft Matter*, 15(45) :9244–9252, November 2019. Publisher : The Royal Society of Chemistry.

[232] Saiful I. Tamim and Joshua B. Bostwick. Oscillations of a soft viscoelastic drop. *npj Microgravity*, 7(1) :42, November 2021. Publisher : Nature Publishing Group.

[233] Yuren Tian, Glynn Holt, and Robert Apfel. A new method for measuring liquid surface tension with acoustic levitation. *Review of Scientific Instruments*, 66 :3349–3354, June 1995.

[234] X. Shao, S.A. Fredericks, J.R. Saylor, and J.B. Bostwick. Elastocapillary Transition in Gel Drop Oscillations. *Physical Review Letters*, 123(18) :188002, October 2019. Publisher : American Physical Society.

[235] Smaragda-Maria Argyri, Lars Evenäs, and Romain Bordes. Contact-free measurement of surface tension on single droplet using machine learning and acoustic levitation. *Journal of Colloid and Interface Science*, 640 :637–646, June 2023.

[236] J. Kremer, A. Kilzer, and M. Petermann. Simultaneous measurement of surface tension and viscosity using freely decaying oscillations of acoustically levitated droplets. *Review of Scientific Instruments*, 89(1) :015109, January 2018.

[237] Vahideh Hosseinzadeh, Carlo Brugnara, and Glynn Holt. Shape oscillations of single blood drops : applications to human blood and sickle cell disease. *Scientific Reports*, 8, November 2018.

[238] Thierry Baasch, Alexander A. Doinikov, and Jürg Dual. Acoustic streaming outside and inside a fluid particle undergoing monopole and dipole oscillations. *Physical Review E*, 101(1) :013108, January 2020. Publisher : American Physical Society.

[239] Z. L. Yan, W. J. Xie, and B. Wei. Vortex flow in acoustically levitated drops. *Physics Letters A*, 375(37) :3306–3309, August 2011.

[240] Abhishek Saha, Saptarshi Basu, and Ranganathan Kumar. Velocity and rotation measurements in acoustically levitated droplets. *Physics Letters A*, 376(45) :3185–3191, October 2012.

[241] K. Kobayashi, A. Goda, K. Hasegawa, and Y. Abe. Flow structure and evaporation behavior of an acoustically levitated droplet. *Physics of Fluids*, 30(8) :082105, August 2018.

[242] Christian Lieber, Stephan Autenrieth, Kai-Yannic Schönewolf, Amy Lebanoff, Rainer Koch, Sterling Smith, Paul Schlinger, and Hans-Jörg Bauer. Application of acoustic levitation for studying convective heat and mass transfer during droplet evaporation. *International Journal of Multiphase Flow*, 170 :104648, January 2024.

[243] Belal Ali Al Zaitone and Cameron Tropea. Evaporation of pure liquid droplets : Comparison of droplet evaporation in an acoustic field versus glass-filament. *Chemical Engineering Science*, 66(17) :3914–3921, September 2011.

[244] Duyang Zang, Sujata Tarafdar, Yuri Yu. Tarasevich, Moutushi Dutta Choudhury, and Tapati Dutta. Evaporation of a Droplet : From physics to applications. *Physics Reports*, 804 :1–56, April 2019.

[245] M. Radmilovic-Radjenovic, D. Radjenovic, M. Mitric, and B. Radjenovic. Experimental Studies of the Evaporation of Pure Liquid Droplets in a Single-Axis Non-Resonant Levitator. *Journal of Applied Fluid Mechanics*, 14(2) :581–587, November 2020.

[246] Zhaochu Yang, Guangcan Yang, Yongqing He, Zhongyuan Shi, and Tao Dong. Evaporation issues of acoustically levitated fuel droplets. *Ultrasonics Sonochemistry*, 98 :106480, August 2023.

[247] Belal Al Zaitone. Oblate spheroidal droplet evaporation in an acoustic levitator. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 126 :164–172, November 2018.

[248] Günter Brenn, O. Kastner, D. Rensink, and C. Tropea. Evaporation and drying of multicomponent and multiphase droplets in a tube levitator : Annual Meeting of the Institute for Liquid Atomization and Spray Systems - Europe. *Proc. 15th International Conference on liquid atomization and spray systems, ILASS Europe*, pages –, 1999. Publisher : .

[249] Yuki Wakata, Xing Chao, Chao Sun, and Christian Diddens. Evaporation of acoustically levitated bicomponent droplets : mass and heat transfer characteristics. *Journal of Fluid Mechanics*, 984 :A17, April 2024.

[250] Yutaro Maruyama and Koji Hasegawa. Evaporation and drying kinetics of water-NaCl droplets via acoustic levitation. *RSC Advances*, 10(4) :1870–1877, January 2020. Publisher : The Royal Society of Chemistry.

[251] Mehdi Stiti, Guilaume Castanet, Andrew Corber, Marcus Alden, and Edouard Berrocal. Transition from saliva droplets to solid aerosols in the context of COVID-19 spreading. *Environmental Research*, 204 :112072, March 2022.

[252] Christopher R. Field and Alexander Scheeline. Design and implementation of an efficient acoustically levitated drop reactor for in stillo measurements. *Review of Scientific Instruments*, 78(12) :125102, December 2007.

[253] Sebastian Baer, Marco A. B. Andrade, Cemal Esen, Julio Cezar Adamowski, Gustav Schweiger, and Andreas Ostendorf. Analysis of the particle stability in a new designed ultrasonic levitation device. *Review of Scientific Instruments*, 82(10) :105111, October 2011.

[254] A. Stindt, M. A. B. Andrade, M. Albrecht, J. C. Adamowski, U. Panne, and J. Riedel. Experimental and numerical characterization of the sound pressure in standing wave acoustic levitators. *Review of Scientific Instruments*, 85(1) :015110, January 2014.

[255] Mehmet Hakan Kandemir and Mehmet Çalışkan. Standing wave acoustic levitation on an annular plate. *Journal of Sound and Vibration*, 382 :227–237, November 2016.

[256] GibbonCode.

[257] FEBio Software Suite.

[258] A. L. Yarin, M. Pfaffenlehner, and C. Tropea. On the acoustic levitation of droplets. *Journal of Fluid Mechanics*, 356 :65–91, February 1998. Publisher : Cambridge University Press.

[259] Duyang Zang, Jun Li, Zhen Chen, Zhicong Zhai, Xingguo Geng, and Bernard P. Binks. Switchable Opening and Closing of a Liquid Marble via Ultrasonic Levitation. *Langmuir*, 31(42) :11502–11507, October 2015. Publisher : American Chemical Society.

[260] Marta Szekalska, Agata Puciłowska, Emilia Szymańska, Patrycja Ciosek, and Katarzyna Winnicka. Alginate : Current Use and Future Perspectives in Pharmaceutical and Biomedical Applications. *International Journal of Polymer Science*, 2016(1) :7697031, 2016. _eprint : https ://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1155/2016/7697031.

[261] Jayachandran Venkatesan, Ira Bhatnagar, Panchanathan Manivasagan, Kyong-Hwa Kang, and Se-Kwon Kim. Alginate composites for bone tissue engineering : A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72 :269–281, January 2015.

[262] Aurora C. Hernández-González, Lucía Téllez-Jurado, and Luis M. Rodríguez-Lorenzo. Alginate hydrogels for bone tissue engineering, from injectables to bioprinting : A review. *Carbohydrate Polymers*, 229 :115514, February 2020.

[263] M. Z. I. Mollah, H. M. Zahid, Z. Mahal, Mohammad Rashed Iqbal Faruque, and M. U. Khandaker. The Usages and Potential Uses of Alginate for Healthcare Applications. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, October 2021. Publisher : Frontiers.

[264] Roya Abka-khajouei, Latifa Tounsi, Nasim Shahabi, Anil Kumar Patel, Slim Abdelkafi, and Philippe Michaud. Structures, Properties and Applications of Alginates. *Marine Drugs*, 20(6) :364, May 2022.

[265] Leo Q. Wan, Jie Jiang, Diana E. Arnold, X. Edward Guo, Helen H. Lu, and Van C. Mow. Calcium Concentration Effects on the Mechanical and Biochemical Properties of Chondrocyte-Alginate Constructs. *Cellular and Molecular Bioengineering*, 1(1) :93–102, March 2008.

[266] V. Magnenet, J. Schiavi-Tritz, C. Huselstein, and R. Rahouadj. Constitutive equations for Ca2+ -alginate gels. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 5(1) :90–98, January 2012.

[267] Anais Lavrand, Lorinne Adam, Alexis Da Rocha, Flora Lemaire, Capucine Loth, Adrien Baldit, Maxime Vasseaux, Laurence Van Gulick, Abdelilah Beljebbar, Pedro Augusto, Alexandre Berquand, Chrystelle Salameh, Nadine Nassif, Fouzia Boulmedais, Cédric Mauprivez, Esteban Brenet, and Halima Kerdjoudj. Hydrogels from Wharton's jelly as alternative to conventional extracellular matrix-based constructs. *International Journal of Biological Macromolecules*, 328 :147552, November 2025.

[268] M. Dubus, L. Scomazzon, J. Chevrier, A. Montanede, A. Baldit, C. Terryn, F. Quilès, C. Thomachot-Schneider, S. C. Gangloff, N. Bouland, F. Gindraux, H. Rammal, C. Mauprivez, and H. Kerdjoudj. Decellularization of Wharton's Jelly Increases Its Bioactivity and Antibacterial Properties. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10 :828424, 2022.

[269] Luize Kremer Gamba, Victoria Stadler Tasca Ribeiro, Rossana Baggio Simeoni, Laiza Kremer Gamba, Elis Cristine Bevian Graf, Marcos Antônio Denk, Meila Bastos de Almeida, Paulo Ricardo Baggio Simeoni, Carlos de Almeida Barbosa, Julio Cesar Francisco, and Luiz Cesar Guarita-Souza. Decellularized Wharton's Jelly : Biomaterial Potential for Regenerative Medicine Applications - A Mini-Review. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 66 :e23220292, 2023. Publisher : Instituto de Tecnologia do Paraná - Tecpar.

[270] Bin Zhao, Zhengcheng Dang, Lingling Li, Jing Gao, Haiyan Wang, and Mengzhi Li. Development of a simplified and scalable hydrogel-based method for 3D cell culture. *Science Progress*, 108(2) :00368504251347478, May 2025.

[271] Chungeun Jeong, Seonghui Kim, Chanmin Lee, Suengmok Cho, and Seon-Bong Kim. Changes in the Physical Properties of Calcium Alginate Gel Beads under a Wide Range of Gelation Temperature Conditions. *Foods*, 9(2) :180, February 2020.

[272] L. Scomazzon, L. Adam, A. Lavrand, F. Lemaire, F. Lamret, C. Guillaume, A. Baldit, V. Ball, J. Braux, J. Philips, P. E. D. Augusto, A. Zoghlami, F. Boulmedais, C. Mauprivez, E. Brenet, and H. Kerdjoudj. Exploring the multifunctional potential of tannic acid-crosslinked Wharton's jelly hydrogel as a scaffold for bone regenerative medicine. *International Journal of Biological Macromolecules*, 346 :150500, February 2026.

[273] Michelle A. LeRoux, Farshid Guilak, and Lori A. Setton. Compressive and shear properties of alginate gel : Effects of sodium ions and alginate concentration. *Journal of Biomedical Materials Research*, 47(1) :46–53, 1999. _eprint : https ://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/%28SICI%291097-4636%28199910%2947%3A1%3C46%3A%3AAID-JBM6%3E3.0.CO%3B2-N.

[274] Junyi Ma, Yanbin Lin, Xiangling Chen, Baotang Zhao, and Ji Zhang. Flow behavior, thixotropy and dynamical viscoelasticity of sodium alginate aqueous solutions. *Food Hydrocolloids*, 38 :119–128, July 2014.

[275] Ivana M. Savić Gajić, Ivan M. Savić, and Zorica Svirčev. Preparation and Characterization of Alginate Hydrogels with High Water-Retaining Capacity. *Polymers*, 15(12) :2592, January 2023. Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[276] J. I. Rosales-Leal, M. A. Rodríguez-Valverde, G. Mazzaglia, P. J. Ramón-Torregrosa, L. Díaz-Rodríguez, O. García-Martínez, M. Vallecillo-Capilla, C. Ruiz, and M. A. Cabrerizo-Vílchez. Effect of roughness, wettability and morphology of engineered titanium surfaces on osteoblast-like cell adhesion. *Colloids and Surfaces A : Physicochemical and Engineering Aspects*, 365(1) :222–229, August 2010.

[277] P. T. Kühn. *The effect of wettability and stiffness on stem cell behavior at biointerfaces*. Phd thesis, University of Groningen, 2016. Thesis fully internal (DIV), Rijksuniversiteit Groningen.

[278] Yingying Li, Shutao Wang, and Lei Jiang. Chapter 16 - Wettability Effect on Stem Cell Behavior. In Ajaykumar Vishwakarma and Jeffrey M. Karp, editors, *Biology and Engineering of Stem Cell Niches*, pages 245–255. Academic Press, Boston, January 2017.

[279] Surface tension measurement by Du Noüy ring method.

[280] Onofrio Rosario Battaglia, Aurelio Agliolo Gallitto, Giulia Termini, and Claudio Fazio. Affordable methods for surface tension and contact angle measurements. *European Journal of Physics*, 44(5) :055001, July 2023. Publisher : IOP Publishing.

[281] Sebastián Jaramillo-Isaza, Camilo Andrés Alfonso-Rodriguez, John Fredy Rios-Rojas, and Jaime Alexis García-Guzmán. Dynamic mechanical analysis of agarose-based biopolymers with potential use in regenerative medicine. *Materials Today : Proceedings*, 49 :16–22, January 2022.

[282] Kimberly Cook-Chennault, Sharmad Anaokar, Alejandra M. Medina Vázquez, and Mizan Chennault. Influence of High Strain Dynamic Loading on HEMA–DMAEMA Hydrogel Storage Modulus and Time Dependence. *Polymers*, 16(13) :1797, January 2024. Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

[283] R. Muthupillai, D. J. Lomas, P. J. Rossman, J. F. Greenleaf, A. Manduca, and R. L. Ehman. Magnetic resonance elastography by direct visualization of propagating acoustic strain waves. *Science*, 269(5232) :1854–1857, September 1995. Place : New York, N.Y.

[284] Kerstin Riek, Dieter Klatt, Hassan Nuzha, Susanne Mueller, Ulf Neumann, Ingolf Sack, and Jürgen Braun. Wide-range dynamic magnetic resonance elastography. *Journal of Biomechanics*, 44(7) :1380–1386, April 2011.

[285] Tom Meyer, Johannes Castelein, Jakob Schattenfroh, Anna Sophie Morr, Rafaela Vieira da Silva, Heiko Tzschätzsch, Rolf Reiter, Jing Guo, and Ingolf Sack. Magnetic resonance elastography in a nutshell : Tomographic imaging of soft tissue viscoelasticity for detecting and staging disease with a focus on inflammation. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 144-145 :1–14, November 2024.

[286] Aude Loumeaud, Chrystelle Po, Benoît Wach, Sabine F Bensamoun, Gwenaël Pagé, Sabrina Doblas, Philippe Garteiser, Denis Grenier, Kevin Tse Ve Koon, Olivier Beuf, Pilar Sango-Solanas, and Simon Chatelin. Preclinical multi-organ magnetic resonance elastography (mre) at 7t : an original piezoelectric actuator design with dedicated sequences. *Multidisciplinary Biomechanics Journal*, 49th congress of the Société de Biomécanique, janv. 2025.

[287] Horace Lamb. *Hydrodynamics*. Cambridge edition, 1895.

[288] Finn Jacobsen, Torben Poulsen, Jens Rindel, Anders Gade, and Mogens Ohlrich. *Fundamentals of Acoustics and Noise Control*. September 2011.

[289] Penser au-delà de la fluorescence : l'imagerie biologique avec la microscopie SHG et THG | Olympus LS.

[290] Multiphoton - BICEL de l'Université de Lille.

[291] Paul Liedekerke. *Quantitative modeling of cell and tissue mechanics with agent-based models*. PhD thesis, March 2019.