

## Modèles et maquettes du transport actif des ions Conversion électrochimique de l'énergie par les membranes \*

par Charles Eyraud

(Université Claude Bernard-Lyon I, Laboratoire de chimie appliquée et génie chimique, associé au CNRS, 43, boulevard du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex)

### Chapitre II. Maquettes biomimétiques du transport actif des ions à travers les membranes

#### II.1. Introduction



*« Le critère essentiel auquel doit satisfaire une théorie physique est de conduire à des prévisions vérifiables. On doit pouvoir monter des expériences dont la théorie prédise les résultats... De ce point de vue la mécanique quantique est pleinement satisfaisante ». Ainsi s'exprime B. d'Espagnat dans un article intitulé « Théorie quantique et réalité » (1). De ce même point de vue, la théorie chimiosmotique du transport actif des ions à travers les membranes biologiques n'a pas encore à notre avis fait ses preuves.*

En ce qui concerne la théorie des dipôles galvaniques membranaires nous avons entrepris d'examiner, dans un premier temps, quatre types de prévisions dont la vérification nous paraît de nature à étayer les mécanismes biologiques invoqués. Les expériences que nous nous sommes proposés de réaliser à cet effet sont les suivantes :

1. Construction d'une « membrane électroactive » constituée d'une mosaïque de piles à combustibles.
2. Construction d'une maquette présentant les fonctions essentielles de l'épuration rénale.
3. Mise en évidence de deux sites électrocatalytiques, respectivement anionique et cationique, d'une enzyme oxydoréductase.
4. Élaboration d'une pile à hydrolyse.

\* Texte remanié d'une conférence prononcée, le 9 mai 1979, à la « Journée de la filtration en génie biologique et médical », à l'Université Claude Bernard-Lyon I. Manuscrit reçu le 12 octobre 1980. (1<sup>re</sup> partie, L'actualité chimique, 1981, 2, 13).

## Lexique

**ATP-ase** : enzyme considérée comme responsable du transport actif des ions ou de la phosphorylation de l'ADP.

**Coenzyme** : groupement moléculaire plus ou moins énergiquement lié à la partie protéinique d'une enzyme, au niveau d'un site actif. La coenzyme joue le rôle de transporteur et n'est régénérée qu'à la suite d'une deuxième réaction enzymatique, au cours de laquelle le radical transporté est cédé à une molécule acceptrice. Les enzymes de la « chaîne respiratoire » sont des enzymes oxydoréductases qui, selon la théorie classique, transporteraient le radical hydrogène, et selon la théorie galvanique constitueraient des réactifs redox mobiles tels que ceux du couple NAD-NADH<sub>2</sub> par exemple.

**Cytochromes** : protéines comportant un groupement porphyrinique comparable à celui de l'hémoglobine. Leur passage de l'état réduit à l'état oxydé est lié au changement de valence du métal complexé. Leurs propriétés de semi-conducteurs les désignent comme responsables de la conduction électronique de la membrane. L'association d'un cytochrome particulier à une enzyme oxydoréductase membranaire constitue un dipôle galvanique spécifique. Le potentiel normal de chaque famille de cytochromes doit être compris entre les potentiels normaux des deux réactions redox catalysées par l'enzyme correspondante.

**Cytoplasme** : milieu compris entre le noyau et la membrane d'une cellule biologique.

**Éléments figurés du sang** : le sang est constitué de plusieurs familles de cellules appelées éléments figurés (hématies, leucocytes, plaquettes) en suspension dans un plasma (solution de sels minéraux et de protéines plasmatiques).

**Enzyme** : catalyseur spécifique d'une réaction biochimique. Il est constitué d'une protéine particulière, l'apoenzyme, et d'une coenzyme plus ou moins fortement liée à l'apoenzyme.

**Glomérule** : partie du néphron qui réalise l'ultrafiltration du plasma sanguin.

**Mitochondrie** : organite hôte de la cellule. Elle est délimitée par une membrane interne électroactive, et une membrane externe passive. La membrane interne est le siège, d'une part, de l'oxydation électrochimique de NAD par O<sub>2</sub> qui met en cause une série d'éléments galvaniques associés à des couples redox, d'autre part, de la phosphorylation de l'ADP. Ces deux fonctions jumelées sont également connues sous les noms de « phosphorylation oxydative », « chaîne respiratoire » ou « chaîne des transporteurs d'électrons » de la membrane mitochondriale interne.

**Néphron** : le rein humain est composé d'environ un million d'unités excrétrices, appelées néphrons, contenues dans un tissu interstitiel où se trouvent aussi les vaisseaux et les nerfs intrarénaux.

**Organites** : structures incluses dans le cytoplasme et délimitées par une ou plusieurs membranes.

**Transporteur d'énergie** : molécule dont l'enthalpie libre d'hydrolyse est fortement négative, qui peut être synthétisée en certaines régions de la cellule et dissociée en d'autres régions, soit pour favoriser une réaction chimique, soit pour participer à une réaction galvanique, soit enfin pour réaliser une conversion mécanoélectrochimique de l'énergie. C'est par exemple le cas de l'adénosine triphosphate.

**Tubule** : partie du néphron qui fait suite au glomérule. Il est subdivisé en plusieurs segments : le tube proximal et le tube distal, raccordés par l'anse de Henlé.

## II.2. Maquette de membrane électroactive

Le terme de membrane active est généralement réservé pour caractériser une masse catalytique constituée de une ou plusieurs enzymes supportées par un matériau macromoléculaire naturel ou synthétique en forme de feuille (2). Un tel matériau est utilisé en génie chimique pour catalyser des réactions biochimiques, ou en électrochimie pour réaliser des électrodes spécifiques.

Pour les membranes qui nous concernent, et qui sont le siège de réactions galvaniques, nous proposons le terme de « membranes électroactives ».

Nous nous sommes proposés de réaliser une structure mosaïque comportant des piles à combustibles locales, sans aucun matériau biologique, et qui présente cependant la caractéristique essentielle du transport actif des ions, à savoir la disparition des gradients de concentrations ioniques quand les réactions chimiques catalysées par la membrane sont supprimées.

Nous avons ainsi réalisé au laboratoire une membrane à la fois conductrice électronique et ionique, capable de manifester le transport actif des ions sodium et chlorure (3). Elle est constituée de piles à combustibles à oxygène et hydrogène, selon l'arrangement mosaïque représenté par les figures 1a et 1b.

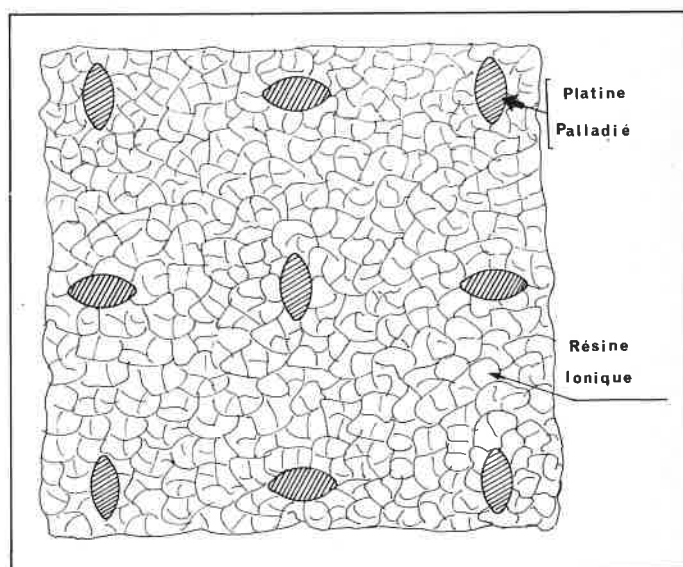


Figure 1a. Membrane électroactive, vue de face.

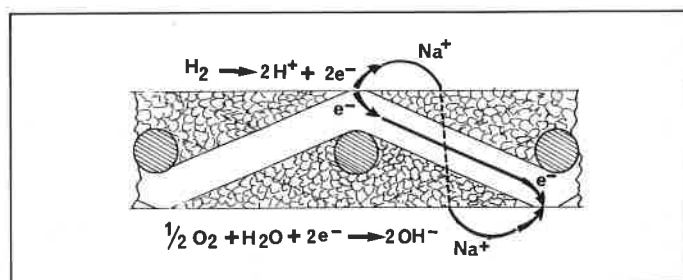


Figure 1b. Membrane électroactive, vue de profil.

Une grille de platine à maille carrée, constituée de fils de platine de 0,5 mm de diamètre, distants de 0,71 mm, est vernie au moyen d'une résine « époxy » polymérisable qui isole électriquement les fils, sans toucher les ouvertures. Une enduction ultérieure au moyen d'un collodion de PVC convenablement chargé de grains très fins d'une résine de polystyrène-divinylbenzène sulfoné assure un bouchage efficace des ouvertures de la grille. La membrane

ionique ainsi constituée est relativement résistante aux milieux acides et alcalins. Pour la rendre « électroactive » elle est alors abrasée sur les deux faces, et les petites surfaces métalliques mises à nu sont palliées électrochimiquement de manière à leur conférer une meilleure activité catalytique. Ces émergences métalliques constitueront les microélectrodes de piles à combustibles locales. Des disques de papier filtre de 45 mm de diamètre, saturés au moyen de 0,26 cm<sup>3</sup> d'une solution de chlorure de sodium N/10, pressés de part et d'autre de la membrane, constituent les compartiments électrolytes. Les deux faces de cet assemblage sont exposées respectivement à une circulation d'hydrogène et à une circulation d'oxygène saturés de vapeur d'eau. Après 5 heures de fonctionnement, les deux solutions sont analysées. L'un des compartiments contient alors cinq fois plus d'ions sodium et cinq fois moins d'ions chlorure que l'autre.

Cette expérience appelle un certain nombre de remarques :

1. Il peut paraître surprenant qu'une membrane cationique laisse passer autant d'ions sodium dans un sens que d'ions chlorure dans l'autre. Cela tient, d'une part, au fait que la perméabilité de la résine aux cations n'est pas idéale, d'autre part, au fait que les polarisations de concentrations dans des milieux non agités tendent à égaliser les flux anioniques et cationiques. Dans le cas des membranes biologiques les distances de diffusion étant de l'ordre du centième de micromètre, les polarisations de concentrations aux interfaces sont plus faibles de plusieurs puissances de 10, toutes conditions égales par ailleurs.
2. On sait depuis longtemps réaliser des membranes phospholipidiques bicouches, B.L.M. (bilayer membrane), de quelques centaines d'angströms (4). La solution technique pour réaliser des membranes bicouches électroactives n'est pas évidente. Mais tout

laisse à penser que la maquette décrite ci-dessus fonctionnerait de la même manière à l'échelle 1/10<sup>5</sup>.

3. Quand les concentrations [Cl<sup>-</sup>] et [Na<sup>+</sup>] deviennent trop faibles au voisinage des électrodes, les ions H<sup>+</sup> et OH<sup>-</sup> participent alors au transport électrique.

4. Dans le langage de la théorie chimiosmotique on dirait, dans ce cas, que la réaction d'oxydoréduction crée une force « protonmotrice » et que « l'énergie du gradient de pH » est convertie en gradients de concentrations d'ions sodium et chlore. Dans le langage des physiiciens, la réaction d'oxydoréduction, l'établissement d'un gradient de pH et le transport des ions de l'électrolyte support sont présentés comme un « processus galvanique » et non comme une suite d'effets et de causes.

5. Pour que l'expérience précédente constitue une maquette vraiment représentative du fonctionnement de la membrane d'une cellule épithéliale de l'estomac, il faudrait que les trois conditions suivantes soient remplies simultanément :

- a) La résine devrait être anionique, mais elle résisterait mal en milieu acide.
  - b) La résine devrait être perméable idéale, sinon les milieux électrolytiques devraient être agités pour diminuer les polarisations de concentrations.
  - c) La structure membranaire devrait être asymétrique pour augmenter le gradient de pression osmotique dans la couche de transport diffusif.
6. Le matériau composite réalisé, présentant simultanément des propriétés de catalyseur de réactions redox, de conducteur électronique et de conducteur ionique au sein d'une structure de membrane électroactive, n'avait jamais été imaginé auparavant. Il est directement le fruit de la théorie galvanique concernant les membranes biologiques.

## II.3. Maquette biomimétique de l'épuration rénale

### II.3.1. Réabsorption tubulaire

La physiologie du rein a fait l'objet de travaux considérables (5, 6). Le fait essentiel est que cet organe produit un excrétat dans lequel se rassemblent, à plus forte concentration que dans le sang, les déchets du métabolisme. Cette fonction de concentration est réalisée par une structure élémentaire appelée « néphron » (figure 2), présente à quelques millions d'unités dans un rein. A

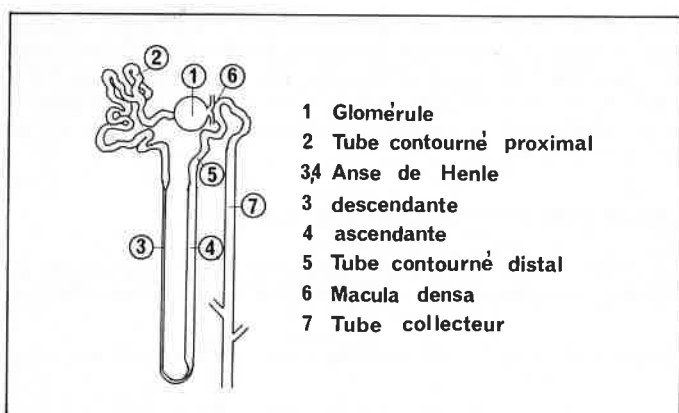


Figure 2. Schéma du néphron.

travers la paroi très vascularisée des glomérules, le sang subit une ultrafiltration. Un flux de 200 l.jour<sup>-1</sup> environ de filtrat glomérulaire, débarrassé des éléments figurés et des protéines du sang, accède aux tubules de l'ensemble des néphrons. Il est dessalé par un mécanisme de transport actif d'ions chlore et d'ions sodium à travers la paroi épithéliale des tubules. Sous la différence de pression osmotique qui en résulte, 199 l.jour<sup>-1</sup> d'eau environ diffusent de la lumière des tubules vers les régions interstitielles

pour retourner à la circulation sanguine. Suivant la perméabilité de la paroi des tubules à chacun des métabolites concernés, l'effet de concentration osmotique est plus ou moins accusé. C'est ainsi que l'on passe normalement de la concentration d'urée de 0,3 g.l<sup>-1</sup> dans le sang à la concentration de 20 g.l<sup>-1</sup> dans l'urine, alors que la concentration devrait être multipliée par un facteur 200, et non 70, si la paroi des tubules était totalement imperméable à l'urée.

L'homme de génie chimique doit tout naturellement se pencher sur une telle opération, totalement réalisée à température ordinaire, et qui peut se résumer ainsi. Le rein est une unité qui réalise la concentration osmotique de solutés en consommant l'énergie chimique de la réaction :



une étape évidente du procédé étant le dessalement préalable effectué par des membranes cellulaires. En première analyse nous ne nous intéresserons pas aux ajustements des concentrations en divers ions (Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, HPO<sub>4</sub><sup>-2</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) qui sont réalisés à divers niveaux des tubules et qui sont également essentiels dans la fonction rénale. Ils relèvent tantôt de transports actifs, tantôt de transports passifs.

On peut chercher à réaliser, par des moyens de physicien, une opération biomimétique de la réabsorption tubulaire. On est tout naturellement conduit à proposer l'électrodialyse comme moyen de dessalement et l'omose comme moyen de transport d'eau, le transport par l'électro-osmose étant d'une efficacité trop faible pour l'objectif visé. Nous rappelons brièvement les principes de ces trois types de transport.

### II.3.2. Électrodialyse

L'électrodialyse est un procédé basé sur le transport sélectif des ions (7). Elle a trois applications industrielles :

- a) La réduction de la concentration ionique d'une solution, dont le principal intérêt est le dessalement des eaux saumâtres ;

- b) L'augmentation de la concentration en sel d'une solution, dont une application est l'obtention d'une saumure très concentrée à partir d'eau de mer ;  
 c) La séparation d'un soluté ionique d'un soluté non ionique, comme c'est le cas pour la déminéralisation du lactosérum ou celle d'une solution glucosée.

Le principe du dessalement est schématisé par la figure 3.

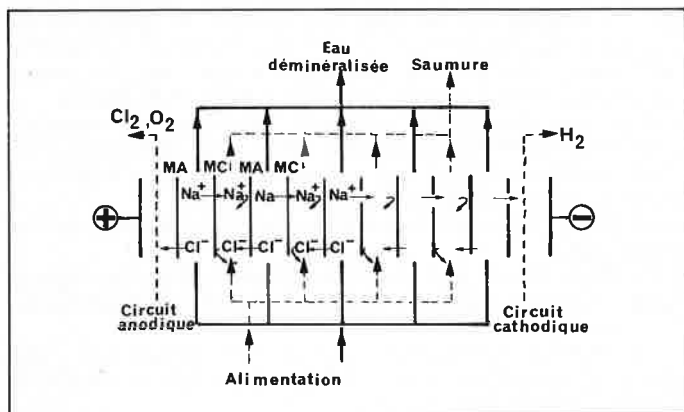


Figure 3.

Une « membrane sélective pour les cations », ou « membrane cationique », est constituée d'une résine réticulée polyanionique. Les groupements sulfoniques  $-SO_3^-$  immobilisés dans la matrice excluent plus ou moins totalement les anions mobiles.

Une « membrane sélective pour les anions » ou « membrane anionique » est constituée d'une résine réticulée polycationique. Les groupements ammonium quaternaire  $-N^+(CH_3)_3$  immobilisés dans la matrice excluent plus ou moins complètement les cations mobiles.

Quand un cation  $Na^+$  se dirigeant vers l'électrode négative rencontre une membrane anionique il ne peut la traverser. Il reste alors dans le compartiment compris entre les deux membranes. L'augmentation de la concentration locale en ions  $Na^+$  qui en résulte est compensée électriquement par l'arrivée d'anions,  $Cl^-$  par exemple, qui traversent la membrane anionique. Un « compartiment de concentration » est ainsi encadré par deux « compartiments de dessalement ».

### II.3.3. Osmose (9)

Soit une membrane hémiperméable séparant deux compartiments. L'un contient par exemple un solvant pur non ionisé, l'autre ce même solvant et un soluté non ionique (figure 4). Seules, les molécules de solvant diffusent à travers la membrane. On peut dire

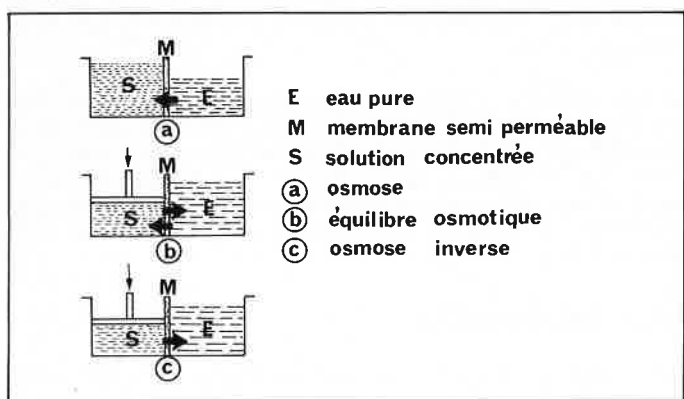


Figure 4. Principe de l'osmose.

à volonté, soit qu'elles sont sollicitées par la différence de potentiel chimique du solvant entre les deux compartiments, soit qu'elles sont sollicitées par la différence de pression osmotique. La pression osmotique s'exprime par la relation :

$$\Pi = - \frac{RT}{v} \ln a$$

- $v$  est le volume molaire partiel du solvant,
- $a$  est l'activité du solvant, égale à 1 par convention pour le solvant pur.

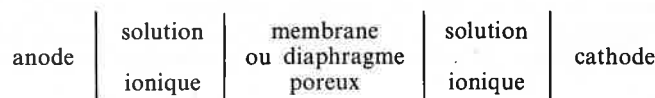
Si on applique à la solution une pression différentielle  $P$  supérieure à la pression osmotique, dans l'hypothèse où le flux d'eau à travers la membrane est de nature entièrement diffusionnelle, les molécules de solvant traversent la membrane en sens inverse sous une pression efficace de filtration  $P_{eff}$  donnée par la relation

$$P_{eff} = P - \Pi$$

C'est le principe de « l'hyperfiltration » ou « osmose inverse » (10). L'équilibre osmotique est réalisé quand  $P = \Pi$ .

### II.3.4. Électro-osmose

Considérons la cellule électrochimique ci-dessous :



L'application d'un champ électrique s'accompagne non seulement d'un transport d'ions à travers la paroi perméable, mais également d'un transport d'eau appelé transport électro-osmotique. D'un point de vue formel les relations phénoménologiques de la thermodynamique des processus irréversibles rendent compte de chaque flux en fonction de toutes les forces qui le sollicitent. Ces relations expriment en particulier que, même en l'absence de générateur extérieur, un champ électrique s'établit dans la membrane et un courant circule si on impose à la solution de s'écouler sous l'effet d'une différence de pression.

De nombreuses études ont été publiées sur ce sujet. Une bonne analyse en a été faite par N. Lakshminarayanaiah (11).

La prise en compte de modèles particuliers simplifie le problème. Deux cas limites permettent de décrire les phénomènes en termes de mécanismes. Il s'agit, d'une part, des diaphragmes poreux à larges pores dans lesquels l'écoulement est hydrodynamique. Il s'agit, d'autre part, des membranes dans lesquelles les flux sont de nature diffusionnelle.

#### 1. Écoulement hydrodynamique idéal (figure 5)

L'adsorption préférentielle d'une espèce d'ions crée, au voisinage de l'interface, une distribution ionique différente de celle qui existe au

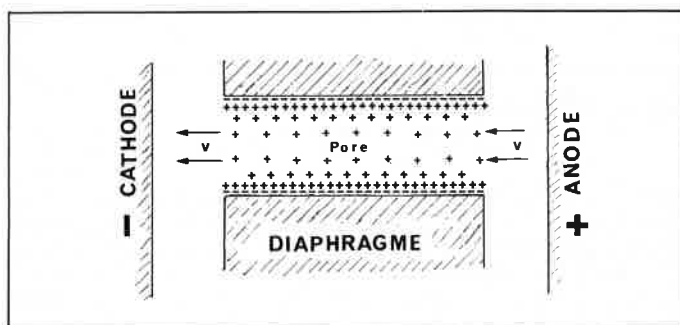


Figure 5.

sein de la solution. Au voisinage immédiat de la paroi les ions excédentaires des deux signes sont immobiles, constituant la couche double de Helmholtz. Par analogie avec la théorie de Debye et Hückel définissant un « rayon de l'atmosphère ionique », on définit une surface à une certaine distance  $d$  du plan de Helmholtz externe. Au niveau de cette surface sont supposées placées toutes les charges excédentaires de la couche diffuse de Gouy-Chapmann et le potentiel est pris égal à zéro. Le potentiel au niveau du plan de Helmholtz externe est alors égal à  $\zeta$  (« potentiel zêta ») (12). Tout le fluide contenu à l'intérieur de cette surface de glissement ainsi définie s'écoule sous l'effet du courant électrique superficiel dû à ces charges mobiles. On établit une relation exprimant la vitesse  $v$  d'écoulement de la solution (13) :

$$v = \frac{\epsilon \zeta E}{4\pi \eta}$$

où  $\epsilon$  est la constante diélectrique du fluide,  $E$  le champ électrique parallèle à l'interface, et  $\eta$  la viscosité du fluide.

Cette analyse n'est plus valable dans les deux cas suivants :

- quand la concentration ionique de la solution est trop importante,
- quand le rayon des pores est si petit que les transferts de quantité de mouvement entre les molécules du fluide et la paroi sont plus fréquents que les transferts entre les molécules de fluide elles-mêmes.

## 2. Écoulement diffusif idéal

Nous admettrons que les membranes ioniques permselectives relèvent de l'analyse simplifiée suivante. Les molécules de solvant libre et les ions solvatés mobiles (« contre-ions ») diffusent dans des canaux jalonnés d'ions solvatés fixes (« co-ions »). Le degré de solvation de chaque espèce d'ions dépend de la concentration des solutions d'une part, de la concentration de la membrane en co-ions d'autre part. Dans ces conditions, le transport de solvant résulte de la contribution d'un flux électro-osmotique et d'un flux osmotique. Le premier est dû à l'entraînement des molécules de solvation de l'ion mobile, il est proportionnel au courant et indépendant de l'épaisseur de la membrane. Le deuxième est dû au gradient de la pression osmotique; il est donc inversement proportionnel à l'épaisseur de la membrane pour une différence de pression osmotique donnée. En supposant ces deux flux indépendants on peut écrire :

$$\Phi_{\text{solvant}} = \Phi_{\text{électro-osmotique}} + \Phi_{\text{osmotique}} \quad (I)$$

Il faut cependant noter que la plupart des auteurs réservent l'appellation de flux électro-osmotique à la part du transfert de solvant qui est de nature convectionnelle, c'est-à-dire à celle qui relève d'un mécanisme analogue à celui du paragraphe précédent, même si la petitesse des pores d'une membrane ionique rend l'exploitation théorique impossible (14, 15). Ils écrivent donc :

$$\Phi_{\text{eau}} = \Phi_{\text{électro-osmotique}} + \Phi_{\text{eau de solvation}} + \Phi_{\text{osmotique}} \quad (II)$$

La terminologie que nous avons adoptée s'accorde avec le fait qu'on ne peut accéder indépendamment aux deux premiers termes de la relation II. Seule, leur somme est connue. Dans les conditions habituelles du dessalement par électrodialyse, les membranes sont homogènes et ont une épaisseur d'environ 0,15 mm. Le flux osmotique est de l'ordre du dixième du flux électro-osmotique d'eau. Le flux électro-osmotique correspond lui-même à environ 8 molécules d'eau transportées par cation sodium (15, 16), et il est proportionnel au courant électrique (16) pour des densités de courant supérieures à 0,5 ma.cm<sup>-2</sup> (15). L'effet recherché étant le dessalement, les membranes d'électrodialyse homogènes conviennent parfaitement, car la perte d'eau représente moins de 30 % du volume qui traverse le compartiment de dessalement.

## II.3.5. Osmoélectrodialyse

On peut imaginer de concentrer une solution aqueuse d'un soluté macromoléculaire par élimination osmotique d'eau au moyen d'un gradient de sel maintenu par électrodialyse. Un tel procédé n'est concevable qu'en augmentant de plusieurs puissances de dix le flux osmotique, c'est-à-dire le gradient de concentration de sel. Comme il n'est pas possible, pour des raisons technologiques, de réduire dans le même rapport l'épaisseur d'une membrane homogène, nous avons réalisé des « membranes ioniques permselectives asymétriques ». Leur procédé de fabrication, à partir d'un collodion d'une substance macromoléculaire anionique ou cationique, est identique à celui décrit par Loeb et Sourirajan (17) à propos des membranes asymétriques d'ultrafiltration et d'hyperfiltration (18, 19). La texture est celle d'une couche mésoporeuse épaisse associée, sur une face seulement, à une pellicule « glacée » compacte dont l'épaisseur est de l'ordre du micron. Ainsi se trouvent réunies trois qualités indispensables, la microstructure d'un filtre moléculaire, une bonne résistance mécanique, et une grande perméabilité. En ce qui concerne les membranes ioniques asymétriques, seule la couche glacée est permselective anionique ou cationique. La figure 6 représente la distribution des concentrations au voisinage des interfaces d'une membrane cationique idéale asymétrique. En

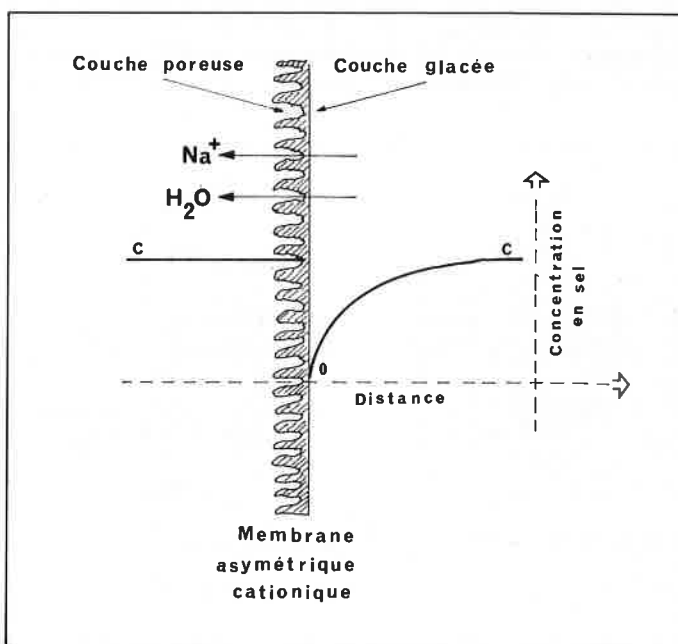


Figure 6.

régime stationnaire de « réabsorption totale » d'une solution de chlorure de sodium, (et en l'absence de tout autre soluté), la composition à l'interface du compartiment récepteur est égale à la composition d'entrée du compartiment d'épuisement. A l'interface du compartiment d'épuisement s'établit un gradient de concentration de sel tel que les flux convectifs et diffusifs vérifient la condition de conservation des masses. Le flux d'eau est donc proportionnel à la densité de courant électrique. Pour une membrane d'osmoélectrodialyse donnée le flux d'eau maximal correspond, d'une part, au gradient maximal de potentiel chimique de l'eau dans la couche glacée, d'autre part, à une densité de courant électrique limite qui ne dépend que de la concentration d'entrée du compartiment d'épuisement. Bien entendu, s'il s'agit de concentrer par osmoélectrodialyse un soluté non ionique comme l'urée, la créatinine ou une protéine de masse moléculaire moyenne ou élevée, le flux d'eau sera diminué du fait de la diminution du gradient de potentiel chimique du solvant dans la couche glacée de la membrane. L'étude théorique des transferts du soluté et des solvants en fonction des caractéristiques des membranes, de la configuration de l'unité de concentration et de la composition des solutions relève des méthodes du génie chimique. Nous avons proposé d'appeler ce procédé « osmoélectrodialyse ».

## II.3.6. Rôle de l'osmoélectrodialyse dans le règne animal et le règne végétal

Selon la théorie des dipôles galvaniques membranaires, la source électrique nécessaire à l'osmoélectrodialyse est incorporée à la membrane biologique. En étudiant la physiologie animale et la physiologie végétale, trois fonctions essentielles paraissent répondre très exactement au mécanisme décrit ci-dessous de transferts conjugués électriques, osmotiques, et hydrauliques. Il s'agit de la formation d'une sécrétion, de la formation d'un excrétat, et de la circulation de la sève. Le premier cas fait l'objet du schéma *a* de la figure 7. Les éléments du suc gastrique traversent l'interface vers la lumière de l'estomac. Le drainage liquidien amont est assuré par le flux sanguin au sein d'un milieu interstitiel très vascularisé. Nous reviendrons sur cet exemple au chapitre III. Le schéma *b* est relatif à la concentration de certains solutés du filtrat glomérulaire, le transport de sel et le transport d'eau de la lumière du tubule vers le milieu interstitiel étant assurés respectivement par électrodialyse et osmose. Le pouvoir de concentration vis-à-vis des déchets à éliminer est limité par les perméabilités respectives à l'eau et aux solutés des membranes cellulaires en cause. Une maquette de cette fonction est décrite au paragraphe suivant. Le schéma *c* rend compte du mécanisme qui assure la circulation de la sève le long d'un « tube criblé ». Ce tube est constitué par des cellules de forme allongée communiquant entre elles par des perforations de la membrane squelettique (20). Il est ceinturé de « cellules compagnes » riches en mitochondries et de « cellules de transfert » assurant les transports latéraux (21). Les mécanismes qui

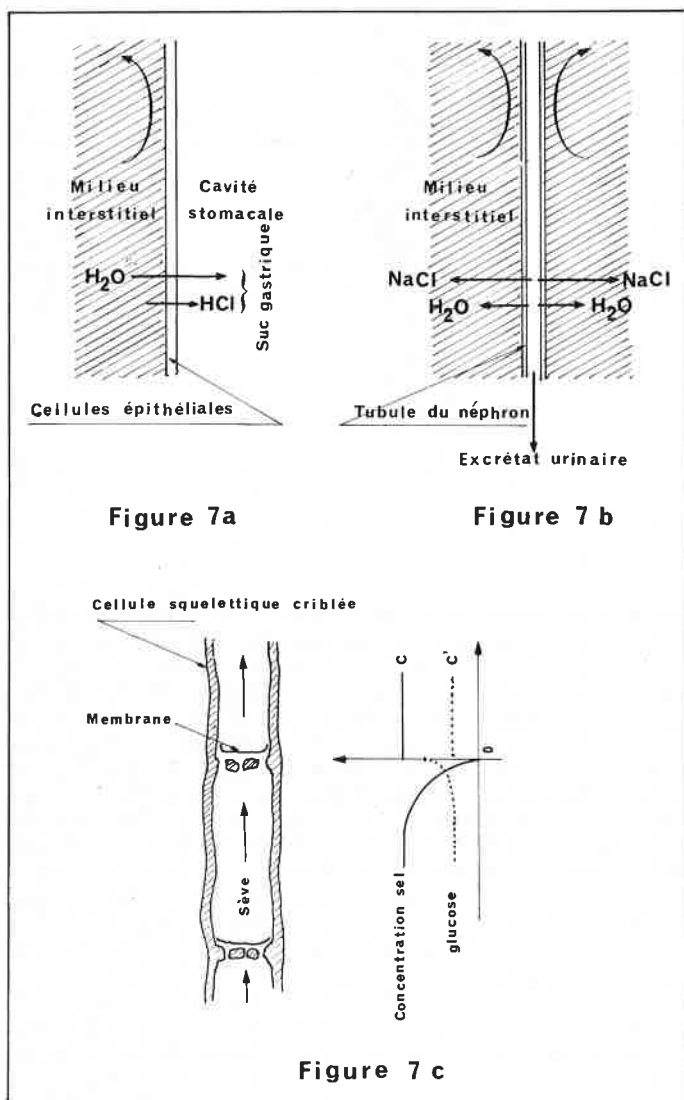


Figure 7.

déterminent deux flux convectionnels de sève de sens contraires, des feuilles aux racines et des racines aux feuilles, ont déjà fait l'objet de nombreuses hypothèses toutes également controversées (22). Compte tenu des très fortes pertes de charge qu'on peut calculer sur la base des sections des tubes criblés et des vitesses d'écoulement observées, D. C. Spanner (23) réfute le schéma d'un transport osmotique déterminé par le gradient de concentration de sucre entre un puits (oxydation totale) et une source (synthèse des sucres). Cet auteur suggère l'existence d'un pompage électro-osmotique au niveau des cloisons perforées. De ce schéma nous retiendrons la notion de « pompes électrochimiques de reprise » échelonnées le long du tube criblé. En revanche, nous ne retiendrons pas l'hypothèse d'un transfert d'eau par électro-osmose qui suppose, comme nous l'avons vu au paragraphe précédent, une densité de courant d'électrodialyse beaucoup trop importante pour un flux d'eau déterminé, c'est-à-dire une consommation d'énergie chimique incompatible avec l'économie qui caractérise les structures vivantes. L'osmoélectrodialyse, en revanche, satisfait à toutes les exigences. Le schéma montre les profils des concentrations de sel et de sucre au voisinage de la membrane biologique qui fait corps avec la cloison criblée servant de support. Il s'agit donc d'une membrane asymétrique qui présente tous les avantages d'une membrane bicouche électroactive et, en outre, la résistance mécanique requise pour résister aux fortes différences de pression. Les pressions dues à la hauteur de liquide et la perte de charge sont reportées, section par section, à la paroi latérale des tubes criblés par l'intermédiaire de la membrane asymétrique. La densité de courant d'électrodialyse, le flux osmotique d'eau, et le flux de sucre sont tels qu'en régime stationnaire la composition de la sève, à l'aval d'une membrane, est la même qu'au niveau de la membrane précédente et de la suivante, aux échanges latéraux près. Il n'est pas exclu que les sucres soient également transportés activement, sous forme d'ions négatifs obtenus par phosphorylation. La maquette qui va être décrite au paragraphe suivant, relative à l'épuration extracorporelle, fournira des arguments de nature à conforter le modèle de pompe d'osmoélectrodialyse proposé pour rendre compte du mécanisme de la circulation de la sève.

## II.3.7. Maquette de la réabsorption tubulaire du néphron

L'épuration extracorporelle peut être réalisée par hémodialyse ou par hémofiltration, ou encore par une combinaison des deux techniques, l'hémodiafiltration (24). Selon la technique d'hémofiltration, une unité d'ultrafiltration sépare un filtrat plasmatique des

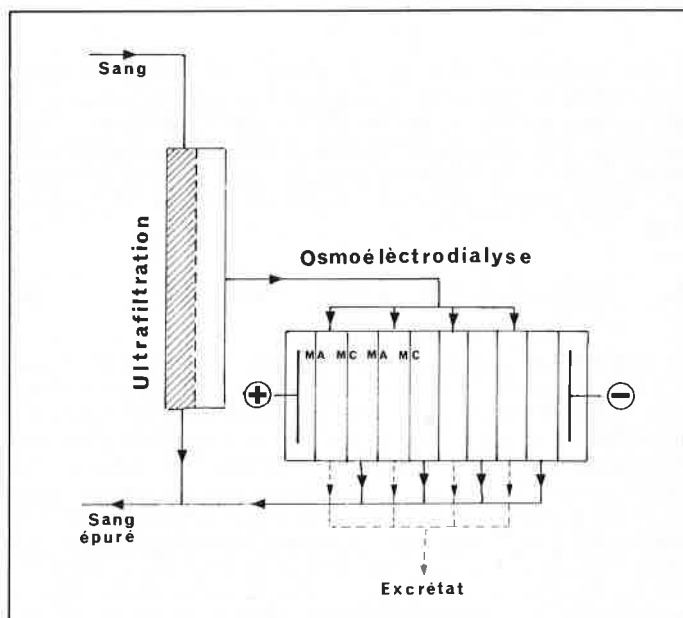


Figure 8.

éléments figurés et des protéines du sang. Simultanément on introduit dans la circulation sanguine soit un volume équivalent d'une solution de composition convenable, soit l'ultrafiltrat lui-même après une épuration chimique convenable (référence 2), p. 535-549). Si l'osmoélectrodialyse est effectivement responsable de la réabsorption d'eau dans les tubules des néphrons, on peut espérer réaliser une épuration selon une technique originale d'hémofiltration-réabsorption selon le schéma de la figure 8, plus représentative de l'épuration naturelle par le rein que les systèmes précédents. L'étape non encore expérimentée est l'osmoélectrodialyse. En collaboration avec C. Daneyrolle et J. F. Reberol, nous avons fabriqué des membranes asymétriques, anioniques et cationiques et construit une unité expérimentale schématisée par la figure 9 (25).

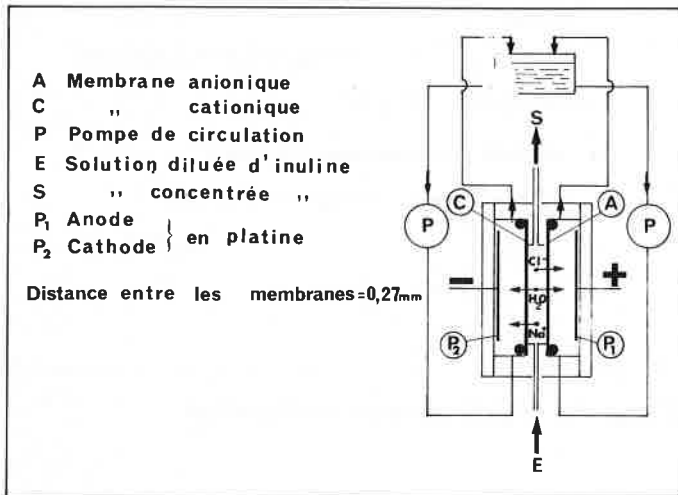


Figure 9. Osmoélectrodialyse.

Les solutions des compartiments anodique et cathodique sont mises en circulation rapide au moyen de pompes. Elles sont ensuite mélangées pour neutralisation et recyclage. Elles ont au départ la même composition que la solution qui alimente le « compartiment de concentration » compris entre les deux membranes ioniques. L'état stationnaire réalisé au cours d'un essai, pour une densité de courant de  $2,76 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ , est caractérisé par les données suivantes :

● caractéristiques relevées à l'entrée du compartiment central :

débit liquide	$2,5 \text{ cm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$
composition { NaCl	$15 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$
{ inuline	$50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$

● caractéristiques relevées à la sortie du compartiment central :

débit liquide	$0,83 \text{ cm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$
composition { NaCl	$1,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$
{ inuline	$169 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$

Ainsi, pour  $3 \text{ cm}^3$  d'eau qui entrent dans le compartiment de concentration,  $2 \text{ cm}^3$  sont réabsorbés par osmose, ce qui permet de recueillir l'inuline à concentration triple dans la solution sortante, à la précision près de la méthode de dosage de ce soluté ; il s'agit d'un triage colorimétrique par le résorcinol (26).

### II.3.8. Remarques

Les enseignements tirés de cette maquette ont des aspects théoriques et technologiques.

1. Un calcul simple montre que le flux osmotique d'eau est une

## II.4. Maquette de la fonction galvanique d'une enzyme oxydoréductase

On peut chercher à associer une enzyme et une électrode redox soit dans un but analytique, soit en vue de démontrer la fonction galvanique d'une enzyme oxydoréductase membranaire.

centaine de fois supérieur à la seule contribution électro-osmotique, comme prévu.

2. Une autre conséquence, de caractère fondamental, est que l'électrodialyse, au moyen de membranes ioniques de caractéristiques convenables, est capable de concentrer un soluté par élimination d'eau à température ordinaire, sans faire intervenir une pression de filtration ou le vide, ce que réalise un néphron au niveau des tubules. Il n'y a qu'un pas à franchir pour imaginer que le transport actif des ions n'est pas autre chose qu'un phénomène d'électrodialyse à générateur électrochimique incorporé. Bien entendu ce modèle expérimental de formation d'un excréta est, sur le plan des structures, moins proche de l'architecture biologique que ne l'est la maquette de membrane mosaïque électroactive précédemment décrite. Il comporte en effet deux membranes au lieu d'une pour faire la même opération, trois secteurs liquidiens au lieu de deux, et un générateur électrique qui est extérieur au système, au lieu de lui être incorporé sous forme de piles à combustibles élémentaires. Observons cependant qu'une expérience identique pourrait être réalisée, associant des membranes ioniques à une pile à combustible, comme l'indique la figure 10.

3. Dans un but purement didactique, sur le principe de l'osmoélectrodialyse, il est possible de réaliser une pompe électrochimique biomimétique de celles qui font circuler la sève dans les tubes criblés.

4. Du point de vue technologique, l'osmoélectrodialyse ouvre peut-être une voie nouvelle au problème de l'épuration extracorporelle et à celui de la concentration des protéines plasmatiques. Dans le premier cas, l'avantage résiderait dans l'absence d'apport de liquide de dialyse (cas de l'hémodialyse), ou de liquide de compensation (cas de l'hémofiltration).

5. Nous constatons que la théorie selon laquelle des membranes biologiques sont constituées d'une mosaïque d'éléments galvaniques nous a conduit à imaginer et fabriquer un nouveau type de membrane ionique : la membrane ionique permselective asymétrique. Ses propriétés permettent d'envisager un nouveau type d'épuration extracorporelle ou d'unité de concentration, et de comprendre le mécanisme de circulation convective de la sève dans les plantes. Il est rare qu'une théorie nouvelle conduise à des conséquences aussi immédiates et directes dans des disciplines aussi différentes des sciences et des techniques. Nous allons décrire maintenant deux autres conséquences prévisibles, de caractère encore plus fondamental et concernant d'une part le mécanisme de certaines réactions enzymatiques d'oxydoréduction, d'autre part la perspective d'un nouveau type de générateur galvanique.

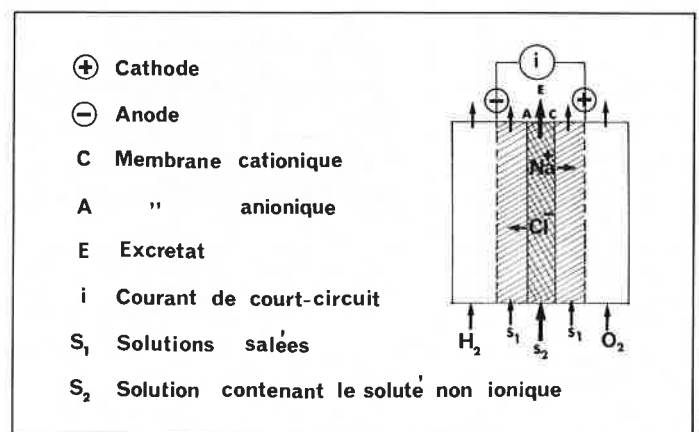


Figure 10. Concentration d'un soluté au moyen de

la réaction  $\text{H}_2 + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$ .

### 1. Électrode spécifique à enzyme

Au moyen d'une technique appropriée (27), l'enzyme est immobilisée dans une membrane interposée entre une solution

contenant un soluté à doser et une électrode spécifique du soluté ou de l'un de ses produits de transformation. La réaction catalysée par une glucosidase, une déaminase, ou une décarboxylase consomme le soluté au cours de sa diffusion à travers la membrane (référence 2, p. 351-397). L'électrode spécifique fournit alors une indication proportionnelle à la concentration de l'oxygène, de l'ammoniac, ou de l'anhydride carbonique au niveau de l'interface membrane-électrode.

## 2. Fonction galvanique d'une enzyme oxydoréductase

Nous avons admis qu'une enzyme membranaire qui catalyse une réaction d'oxydoréduction responsable du transport actif présente les deux sites spécifiques correspondant aux deux systèmes redox d'un élément galvanique. Les électrons sont échangés à distance macromoléculaire entre le site anode et le site cathode, le long d'une structure semi-conductrice associée à l'enzyme, sous un champ électrique local de plus de 100 000 volts par centimètre. Si cette manière de voir est conforme à la réalité, il doit être possible de réaliser une pile à combustible expérimentale dont chaque système redox constitue une demi-pile et dont les réactions d'électrodes sont catalysées par la même enzyme. Le schéma de la figure 11 se rapporte à une pile glucose-oxygène. La glucosidase greffée sur des électrodes de carbone à grande surface spécifique catalyse l'oxydation du glucose en gluconolactone à l'anode, et la réduction de l'oxygène en eau oxygénée à la cathode. L'étude des caractéristiques *i-v* des électrodes est de nature à montrer l'existence de deux sites enzymatiques et par conséquent à accréditer le rôle galvanique de l'enzyme isolée dans une solution contenant à la fois, et non plus séparément, du glucose et de l'oxygène dissous.

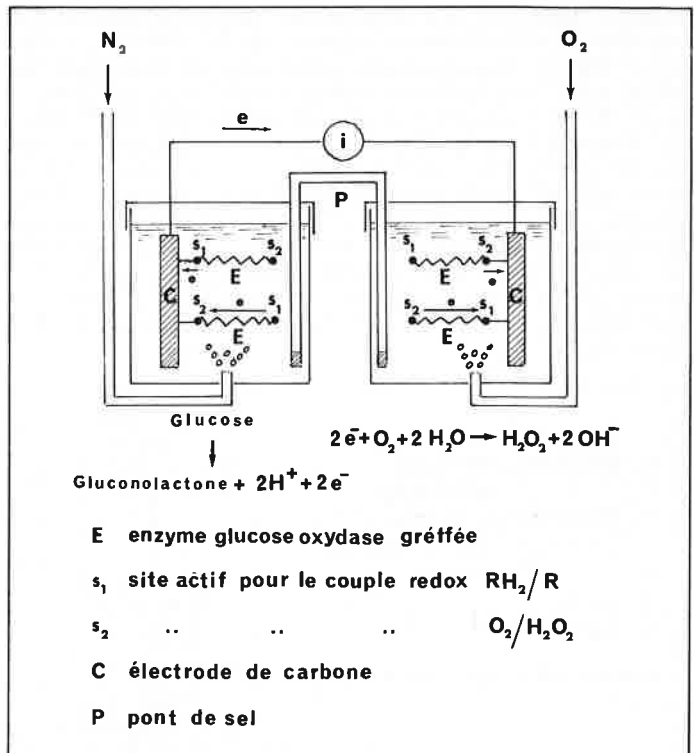


Figure 11. Électrocatalyse enzymatique.

## II.5. Pile à hydrolyse

Le flux des réactifs redox, qui est associé à l'activité de la membrane mitochondriale interne, est en accord avec une théorie galvanique classique. En revanche, dans le cas d'une membrane cellulaire, c'est l'énergie d'hydrolyse de l'ATP qui est manifestement

responsable du transport  $Na^+ - K^+$ . Cette donnée expérimentale est compatible avec la théorie des dipôles galvaniques membranaires si l'hydrolyse de l'ATP est associée à l'une des réactions d'électrode de systèmes redox cycliques. Pour

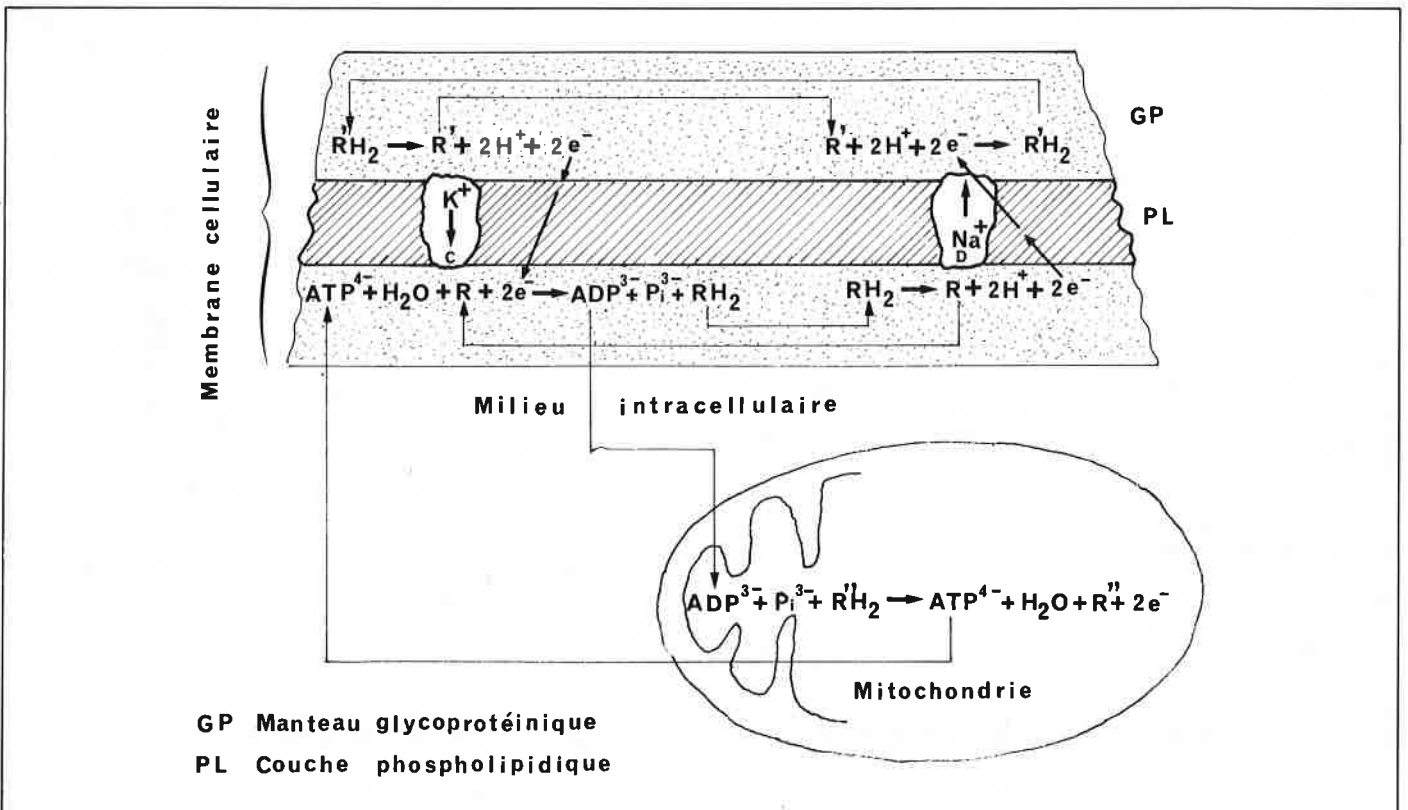
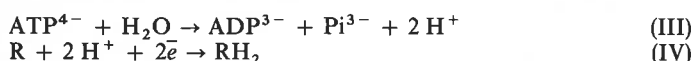


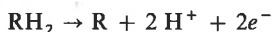
Figure 12.



comprendre la stoechiométrie d'une telle réaction on peut la dissocier arbitrairement en deux demi-réactions qui ne constituent en aucune manière des étapes réactionnelles :



l'acidification produite par la première déplace la seconde vers la droite. On sait que le solvant support d'électrolyte joue un rôle prépondérant vis-à-vis de l'orientation des processus à une électrode organique (28). On doit considérer ici que le solvant organique est constitué par une couche de molécules d'ATP adsorbées sur la microcathode. La configuration et la composition de la couche double de Helmholtz schématisée par la figure 12, associée à l'activité catalytique de l'un des sites de l'ATP-ase, détermine la réaction de l'électrode (C) de la figure. L'électrode (D) voisine est le siège de la réaction d'oxydation :



Les réactifs et produits  $\text{RH}_2$  et  $\text{R}$  diffusent dans la membrane d'un site à l'autre. Les produits  $\text{ADP}$  et  $\text{P}_i$  diffusent dans le cytoplasme

## II.6. Conclusion générale

Dans ce deuxième chapitre, nous n'avons montré que quelques-unes des conséquences pratiques de la théorie galvanique du transport actif. Elles concernent soit des techniques nouvelles de séparation de solutés, soit l'élaboration de matériaux nouveaux. Comme nous ne sommes pas en mesure, à l'heure actuelle, de reproduire exactement les fonctions d'une membrane biologique, dans le prochain chapitre nous nous bornerons à décrire des modèles à la lumière des données des deux précédents chapitres. Le fil directeur sera que le transport actif des ions, la conduction électronique transmembranaire, ainsi que la fonction ATP-ase sont des processus localisés car ils sont la manifestation de réactions galvaniques localisées. Les systèmes redox en cause sont, soit incorporés à la membrane (l'usage est de dire qu'ils appartiennent à « la chaîne des transporteurs d'électrons »), soit l'objet d'échanges avec le milieu extérieur contigu à la membrane.

En période d'activité de la membrane cellulaire, la symbiose entre

vers une mitochondrie, traversent les membranes mitochondriales externes et internes, et redonnent l'ATP consommée par la membrane cellulaire. Les mécanismes de la phosphorylation de l'ADP seront décrits au troisième chapitre. La force électromotrice disponible à l'intérieur des systèmes redox cycliques est donnée par

la relation  $E = -\frac{\Delta G}{2F}$ , où  $\Delta G$  est l'enthalpie libre de la réaction de

déphosphorylation de l'ATP. C'est le potentiel d'une pile d'hydrolyse. Le transport des ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$  charge une pile au potassium jusqu'au potentiel de repos de la membrane cellulaire. Le système électrochimique membranaire est alors à l'équilibre, le potentiel de la pile de concentration s'opposant exactement au potentiel de la pile d'hydrolyse.

Les hypothèses proposées ci-dessus trouveraient un support solide si on réalisait une pile à hydrolyse expérimentale constituée de deux électrodes utilisant un même système redox. La dissymétrie nécessaire à la traduction d'une enthalpie libre d'hydrolyse en force électromotrice résiderait dans la nature des solvants et des électrodes. Une telle maquette de la fonction ATP-ase reste à définir et à construire.

la cellule et les mitochondries qu'elle contient se traduit en particulier par les processus suivants :

1. L'énergie chimique d'oxydation de  $\text{NADH}$  par  $\text{O}_2$  est convertie électrochimiquement, d'une part, en énergie chimique de phosphorylation de l'ADP en des sites particuliers de la face interne de la membrane mitochondriale interne (microanodes), d'autre part, en énergie électrique capacitive.
2. L'énergie contenue dans l'ATP formé (« transporteur d'énergie ») est convertie électrochimiquement en énergie électrique capacitive par le jeu de systèmes redox cycliques membranaires, la déphosphorylation de l'ATP en ADP s'opérant en des sites particuliers de la face interne de la membrane cellulaire (microcathodes).
3. Un flux d'ATP et un flux d'ADP de sens opposés s'établissent entre les sources et les puits que constituent microanodes et microcathodes vis-à-vis de ces deux molécules.

## Bibliographie

- (1) B. d'Espagnat, *Pour la Science*, 1980, 27 (janvier), 72.
- (2) Membrane Separation Processes, Edited by P. Meares, Elsevier, 1976, 353 à 393.
- (3) C. Eyraud et C. Daneyrolle, *C.R. Acad. Sci., Paris*, 1977, 284, Série C.
- (4) The Chemistry of Biosurfaces, Edited by M. L. Hair, Marcel Dekker Inc., 1971, Vol. 1, 233-340.
- (5) Néphrologie, J. Hamburger et coll. Edition Flammarion, tome 1, 1966.
- (6) Physiologie humaine, édité par P. Meyer, Flammarion, 1977, 440-519.
- (7) Principles of desalination, edited by K. S. Spiegler, Academic Press, 1966.
- (8) Physical technics in biology research, edited by P. H. Moore, second edition, volume II A, Academic Press, 1968, 315.
- (9) Non-equilibrium thermodynamics, S. R. De Groot et P. Mazur, North-Holland Publishing Company, 1969, 435-438.
- (10) A. Maurel, Technique de l'ingénieur, Génie chimique, J 2790-J 2795.
- (11) Transport phenomena in membranes, N. Lakshminarayanaiah, Academic Press, 1969, 242-274.
- (12) Treatise on electrochemistry, G. Kortüm, Elsevier Publishing Company, 1965, 391.
- (13) Modern electrochemistry, J. O'M. Bockris and A. K. N. Reddy, Plenum Press, New-York, Third Edition, 1972, Vol. 2.
- (14) K. S. Spiegler, *Trans. Farad. Soc.*, 1958, 54, 1408-1428.
- (15) J. H. B. George and R. A. Courant, *The Journal of Physical Chemistry*, 1967, 71, 246.
- (16) M. Demarty, A. Maurel et E. Selegny, *Journal de Chimie Physique*, 1974, 71, 811-835.
- (17) S. Loeb and S. Sourirajan, *Adv. Chem. Ser.*, 1963, 38, 117.
- (18) V. T. Stannet, W. J. Koros, D. R. Paul, H. K. Lonsdale and R. W. Backer, *Advances in Polymers Sciences*, 1979, 32, 69-121.
- (19) Membrane science and technology; industrial, biological, and waste treatment presses, ed. by J. E. Flinn, Plenum Press, New York, London, 1970, 144.
- (20) La cellule, M. Durand et P. Favard, 1968, 24.
- (21) Photosynthèse et production végétale, C. Costes, Gauthier-Villars, 1975, 149-154.
- (22) Phloem translocation, M. J. Canny, Cambridge at the University Press, 1973.
- (23) D. C. Spanner, *J. exp. Bot.*, 1958, 9, 332-342.
- (24) Replacement of renal function by dialysis, edited by W. Drukker, F. M. Parsons and J. F. Maher, Martinus Nihoff Publishers, 1978.
- (25) C. Eyraud, C. Daneyrolle et J. F. Reberol, Journée de la filtration en génie biologique et médical, Lyon, 1979, Recueil de conférences, 85-97.
- (26) C. Fontenaille et M. Boulange, *Annales de biologie chimique*, 1968, 26, 1123.
- (27) P. R. Coulet et D. C. Gautheron, *L'actualité chimique*, 1980 (sous presse) (Enzymes immobilisées sur membrane de collagène, propriétés biotechnologiques).
- (28) Fortschritte der chemischen Forschung, Topics in Current Chemistry, 21, Organic Electrochemistry, L. Ebersson, H. Schäfer, Springer-Verlag, 1971, 25.