

Développement d'un dispositif de trajectographie optique nécessaire pour la caractérisation expérimentale par une approche Euler-Lagrange des écoulements dans des bioréacteurs à cuve agitée.

COLLIGNON Marie-Laure^{a*}, DELAFOSSE Angélique^a, DELVIGNE Frank^b, THONART Philippe^b,
CRINE Michel^a et TOYE Dominique^a

^a Laboratoire de Génie Chimique, Université de Liège
Allée de la Chimie 3, 4000 Liège, Belgique

^b Centre Wallon de Biologie Industrielle, Université de Liège
Passage des déportés 2, 5030 Gembloux, Belgique

Résumé

Les bioréacteurs à cuve agitée sont des dispositifs largement utilisés dans l'industrie pharmaceutique. Les performances globales des cultures menées dans ces bioréacteurs dépendent fortement de l'environnement physico-chimique et hydrodynamique local rencontré par les microorganismes et ce au cours du temps. Pour parvenir à caractériser cet historique de conditions locales rencontrées, une approche Euler-Lagrange doit être adoptée. La difficulté dans ce type d'approche est d'être capable de mesurer de manière fiable la trajectoire suivie par le microorganisme au sein du bioréacteur. Pour ce faire, le Laboratoire de Génie Chimique de l'Université de Liège a conçu un dispositif de trajectographie optique. L'objectif de cet article est de présenter ce dispositif, les développements qui ont été nécessaire à sa mise en œuvre et les résultats obtenus. Le dispositif se compose de deux caméras observant selon deux axes de l'espace un bioréacteur rétro-éclairé par des panneaux leds. La trajectoire suivie par une particule noire en gel d'alginate de calcium de 491 μm de diamètre est construite à partir des images acquises par ces deux caméras préalablement modélisée par un modèle pinhole et traitées par une approche rationnée. La validité des trajectoires mesurées a été prouvée dans un bioréacteur de 20 L mélangé par une hélice TTP en comparant les champs de vitesse moyen et d'énergie cinétique turbulent extraits de la trajectoire avec ceux obtenus par la technique eulérienne Stéréo P.I.V. La convergence de ces deux champs avec le temps d'acquisition de la trajectoire a également été démontrée.

Mots-clés : Suivi lagrangien, trajectographie optique, bioréacteur à cuve agitée

1. Introduction

Dans l'industrie biotechnologique, une grande variété de microorganismes est cultivée en bioréacteurs à cuve agitée. Dans une majorité de cas, un fort couplage est observé entre l'hydrodynamique au sein de la cuve agitée et la réponse biologique. De nombreuses études associent, en effet, la présence de gradients de concentration ou la présence d'importantes contraintes hydrodynamiques à une modification de la vitesse de croissance, de la viabilité, de l'activité métabolique ou de la morphologie de microorganismes, et ce pour des microorganismes aussi variées que les bactéries, les levures, les champignons ou les cellules animales (Gasch et Wermer-Washburne, 2002 ; Papoutsakis, 1991 ; ...). Des expériences scale-down dans des dispositifs aux conditions contrôlées et connues ont été menées pour caractériser ce lien hydro-bio (Delvigne et al., 2006 ; Godoy-Silva et al., 2009). Il en est ressorti que l'état du microorganisme est fonction de la succession de conditions physico-chimiques et hydrodynamiques qu'il rencontre localement au cours du temps. Une connaissance clé est donc la fréquence à laquelle le microorganisme est soumis à une grandeur fluctuante ainsi que l'amplitude de ces fluctuations.

Ainsi, si l'on souhaite comprendre l'impact sur la réponse des microorganismes du choix des paramètres opératoires d'un bioréacteur à cuve agitée, tel que le design de la cuve, de son ou ses mobiles d'agitation

* Auteur/s à qui la correspondance devrait être adressée : mlcollignon@ulg.ac.be

et de leur vitesse de rotation, cette connaissance étant indispensable à une mise en œuvre optimisée du procédé à l'échelle industrielle, il est nécessaire de caractériser l'historique des conditions physico-chimiques et hydrodynamiques rencontrées par les microorganismes dans le bioréacteur à cuve agitée en fonction des paramètres opératoires choisis. Cette connaissance ne peut être obtenue que par une approche couplée Euler-Lagrange décrivant respectivement la répartition spatiale des grandeurs clés de l'écoulement et la trajectoire suivie au cours du temps par le microorganisme.

Les études eulériennes décrivant l'écoulement turbulent au sein d'un bioréacteur à cuve agitée sont légions dans la littérature. Les outils expérimentaux (L.D.A, P.I.V., P.T.V., ...) ou de simulations numériques (logiciel fluent avec modèles RANS, LES, ...) employés dans ces études sont devenus, au fil des années, des méthodes standard présentes dans tous laboratoires spécialisés. Ces diverses études ont ainsi mis en évidence que les grandeurs caractéristiques de l'écoulement turbulent, telles que l'énergie cinétique turbulente k ou son taux de dissipation ε auxquelles peuvent être reliées l'intensité des contraintes hydrodynamiques et les mécanismes de micromélange se répartissent spatialement de manière extrêmement hétérogène en étant nettement plus intense dans les zones localisées à proximité des mobiles d'agitation par rapport au reste de la cuve (Gabriele et al., 2009).

Les études lagrangiennes décrivant la trajectoire d'un microorganisme dans ces champs hétérogènes sont, par contre, très peu fréquentes (Luo et al., 2003). Cette rareté provient, d'une part, que très peu de dispositifs expérimentaux permet d'accéder à cette mesure. Pour le monde entier, un seul prototype PEPT (Barigou, 2004) et deux prototypes CARPT (Rammohan et al., 2001) existent respectivement à l'Université de Birmingham, à l'Université de Washington à St Louis et à l'Université de Montréal. Ces deux techniques mesurent la position d'une particule radioactive émettant respectivement des positrons et des rayons gamma. D'autre part, les trajectoires calculées à partir de simulations numériques sont peu fiables si elles n'ont pas été validées par des mesures expérimentales car, comme mis en évidence par Delafosse (2008), leur structure dépend fortement du modèle sélectionné pour représenter la turbulence.

Sur base de ce constat, le laboratoire de Génie Chimique et le Centre Wallon de Biologie Industrielle de l'Université de Liège se sont associés pour concevoir un dispositif original de trajectographie optique. L'objectif du présent article est de présenter ce dispositif. Dans un premier volet, les éléments composants le dispositif ainsi que les développements nécessaires à sa mise en œuvre seront présentées. Dans un deuxième volet, la validité et la convergence des trajectoires mesurées seront prouvées. Quelques perspectives d'utilisation de ces trajectoires dans une approche couplée Euler Lagrange seront enfin abordés.

2. Description du dispositif de trajectographie optique

Le principe de la trajectographie optique est simple. Comme illustré à la Figure 1, le bioréacteur à cuve agitée est tout d'abord placé dans un aquarium cubique remplie d'eau afin d'éliminer les distorsions optiques due à sa forme cylindrique. Il est rétro-éclairé par deux panneaux de leds (backlights). Une particule noire unique est placée dans le bioréacteur et suit l'écoulement local. Sa position au cours du temps est mesurée grâce aux images acquises simultanément par deux caméras qui observent la cuve selon deux axes de l'espace.

Par contre, la mise en œuvre de ce dispositif est complexe et requiert des solutions élaborées pour résoudre les nombreux problèmes rencontrés.

Le choix de la particule de traceur est essentiel car ses caractéristiques influencent la qualité des trajectoires mesurées. Ce dispositif ayant été développé dans le cadre d'un projet de recherche s'intéressant à la culture de cellules animales adhérentes cultivées sur microporteurs, une particule sphérique de taille et de comportement similaire aux microporteurs Cytodex 1TM a été spécifiquement fabriquée en encapsulant dans un gel d'alginate de calcium, du charbon actif, pour lui donner une coloration noire nécessaire à sa détection dans les images, et de l'huile de paraffine pour ajuster sa densité. La particule ainsi fabriquée à un diamètre de 490 μm . Il s'agit du plus petit objet donc la position de son centre peut être mesurée avec précision dans les images acquises par les caméras car son diamètre correspond à la taille de trois pixels. La différence de densité entre la particule et le fluide contenu dans

le bioréacteur est de 7 kg m^{-3} (0.7% rel.). Sa vitesse de chute dans ce fluide stagnant est dès lors de 1 mm s^{-1} . Cette particule peut être considérée comme un traceur idéal car le temps de réponse de la particule, évalué comme le ratio de sa vitesse limite de chute sur l'accélération de la pesanteur, est inférieur d'un facteur 100 aux temps caractéristiques de toutes les structures tourbillonnaires présentes au sein de l'écoulement turbulent aux conditions d'agitation étudiées. Ainsi, la particule est donc à même de suivre toutes les structures locales d'écoulement dont la taille caractéristique est supérieure à son diamètre.

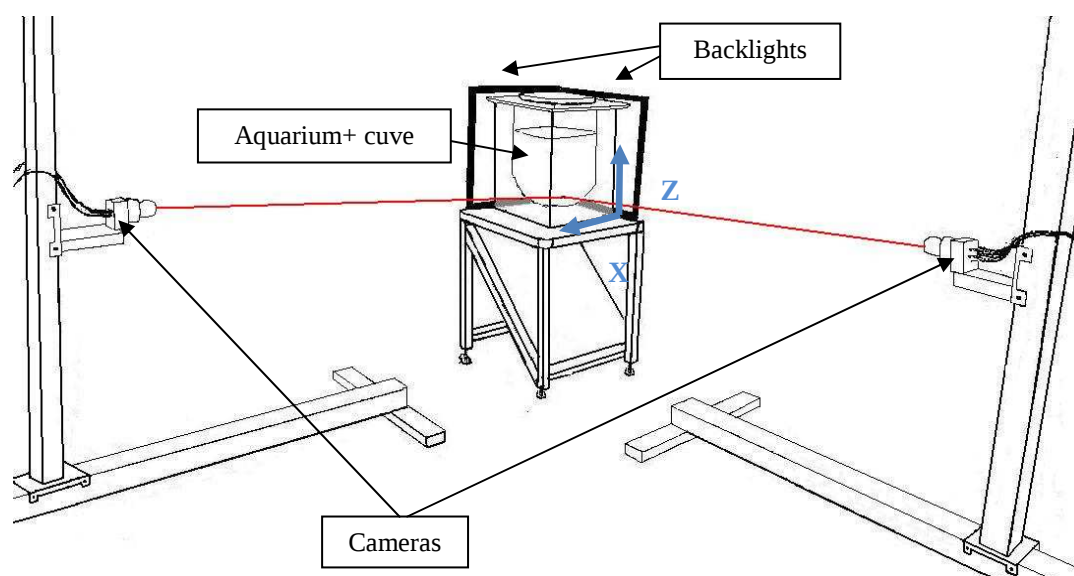


Figure 1. Représentation schématique du dispositif de trajectographie optique

L'éclairage du bioréacteur est assuré par des panneaux leds (backlight Phlox carrée de 540 mm de coté) fonctionnant en continu pendant de nombreuses heures. Cette solution permet d'éviter, contrairement à des spots, tout échauffement global ou local du bioréacteur et les problèmes associés comme une variation de la densité du fluide contenu dans le bioréacteur.

Pour mesurer la position de la particule au cours du temps, deux caméras Falcon 4M60 (Teledyne Dalsa, capteur CMOS 2352×1728 pixels) sont employées. Elles sont équipées d'un optique Linos (Inspecx.L 60 mm, bague de mise au point Modular Focus 0-25 mm). Elles fonctionnent de manière synchronisées grâce à l'emploi d'un boîtier électronique externe (Timing Controller CC320, Gardsoft). Elles transfèrent 60 images par seconde à une carte d'acquisition (framegrabber X64 Xcelerera, Teledyne Dalsa). Elles observent le bioréacteur selon deux axes formant approximativement un angle de 90° dans l'espace.

Calculer dans un repère spatial choisi, les coordonnées x, y, z de la particule à partir de ses coordonnées a, b et a', b' (exprimées en pixels) dans les images acquises par les deux caméras n'est pas directe. Chaque caméra doit être préalablement représentée par un modèle pinhole (Salvi et al., 2002). Ce modèle associe à chaque pixel de l'image un ensemble de points alignés dans l'espace selon une droite. L'équation de chacune de ces droites dépend des distorsions introduites par la lentille de la caméra et de son orientation par rapport au repère spatial choisi. Comme illustré à la Figure 1, le repère spatial arbitrairement sélectionné a son axe Z qui se confond avec une des arêtes verticales de l'aquarium tandis que les axes X et Y correspondent à deux arêtes horizontales. Les paramètres du modèle pinhole sont ajustés par la méthode des moindres carrés grâce à l'analyse d'une trentaine d'images représentant une mire en damier placée à diverses positions dans l'espace. Pour réaliser cet ajustement, le logiciel développé par J.Y Bouguet (2012) lors de ses recherches doctorales et mis en libre accès sur internet a été employé. Les caméras étant tous deux modélisées, aux coordonnées a, b et a', b' , correspondant à la position de la particule dans les deux images, peuvent être associées deux droites qui s'intersectent dans l'espace (Figure 1). Cependant, cette intersection ne correspond pas exactement aux coordonnées x, y, z de la particule car les rayons lumineux subissent de la réfraction aux interfaces des divers matériaux qui constituent l'aquarium, la cuve et leur contenu. La modification d'orientation des droites doit donc être

calculée avant d'établir les coordonnées de leur intersection. Cette correction est établie en appliquant les lois de Snell-Descartes aux niveaux des différentes interfaces. L'application de ces lois requiert cependant la connaissance précise de la géométrie de l'aquarium et de la cuve ainsi que la valeur des indices de réfraction des divers matériaux. Les indices de réfraction ont été obtenus à l'aide de base de données (Kabe et Laby, 2012) ou par des mesures au réfractomètre tandis que la géométrie a été directement mesurée grâce à un dispositif de tomographie à rayons X disponible au Laboratoire de Génie Chimique (Toye et al., 2005).

Une gestion raisonnée des données enregistrées par le dispositif de trajectographie a dû être mise en place. En effet, sachant que chaque image enregistrée a une taille de 2.6 Mo et que chaque caméra transfère 60 images à la seconde, il faut un peu moins de 30 minutes pour remplir un disque de 500 Go. Pour pallier ce problème, un logiciel a été développé en partenariat avec Yves Daoust de la société Vision for Vision Sprl pour traiter les images dès leur envoi par la caméra et ne conserver dans des fichiers de type .txt que les coordonnées dans l'image de groupes de pixels dont la taille et le niveau de gris sont compatibles avec les caractéristiques de la particule. Grâce à ce traitement la taille des données enregistrées chute à 1Go par 30 minutes. Une centaine d'objets sont cependant identifiés par image. Ces objets peuvent être un reflet ou un défaut dans la cuve en verre. Un traitement doit dès lors être appliqué pour reconnaître la particule parmi ces candidats. Pour ce faire un algorithme de tri a été développé dans l'environnement Matlab. Dans une première étape, cet algorithme compare les candidats obtenus dans les différentes images acquises par une même caméra. Il élimine les objets apparaissant systématiquement à une même coordonnée à tous les pas de temps. Ces objets fixes ne sont forcément pas la particule qui elle est en mouvement. Après ce traitement, le nombre de candidats par image (ou chaque pas de temps) devient inférieur à 10. Dans un second traitement, les informations enregistrées par les deux caméras sont mise en commun ; les coordonnées en pixels a, b des candidats de la caméra 1 et a', b' des candidats de la caméra 2 sont combinés deux à deux pour déterminer les coordonnées x, y, z des objets correspondant dans l'espace. Les objets situés hors du bioréacteur sont éliminés. A ce stade, il y a entre 1 à 20 objets identifiés à chaque pas de temps. Une troisième et dernière étape identifie la particule parmi ces objets en se basant sur des considérations cinématiques. Si les deux dernières positions de la particule sont connues, sa position au pas de temps suivant peut être estimée en supposant qu'elle se déplace en ligne droite à vitesse constante; cette approximation pouvant être adoptée au vue du très faible pas de temps égale à $1/60^{\text{ème}}$ de seconde. Le candidat sélectionné au pas de temps suivant est celui qui, dans un rayon fixé autour de cette position estimée, est situé le plus à proximité. Cette idée est appliquée de pas de temps en pas de temps, en raffinant l'estimation de la position supposée de la particule par le calcul d'une accélération moyenne lorsque trois positions antérieures successives sont connues. Cependant, la position de la particule n'est pas connue pour les deux premiers pas de temps ou pour les pas de temps où la correspondance est perdue car la particule passe derrière l'axe, le mobile d'agitation ou les contres pales du bioréacteur pour une des deux caméras. Dans ce cas, l'algorithme décrit ci-dessus est appliqué à tous les candidats de ces deux pas de temps. Le candidat pour lequel on obtient le plus grand nombre de correspondance et donc le plus long morceau de trajectoire est la particule. La trajectoire suivie par cette particule se construit ainsi étape par étape par application de cet algorithme.

Les trajectoires obtenues grâce à ce dispositif sont des objets tridimensionnels complexes. Leur représentation sur un support papier est dès lors périlleuse. Une tentative est néanmoins menée dans la Figure 2 en montrant une représentation 3D, une projection verticale et une projection horizontale d'un morceau de trajectoire mesurée pendant 82 secondes lorsque la particule suit l'écoulement local au sein d'un bioréacteur à cuve agitée de 20L mélangé par un mobile axiale de type TTP (Mixel). Les caractéristiques géométriques du bioréacteur et du mobile sont présentées à la Figure 3 et résumées dans la Table 1. La structure de l'écoulement moyen apparaît dans l'allure de ce morceau de trajectoire. En effet, dans le plan vertical, la trajectoire suivie par la particule forme effectivement des boucles de recirculation axiales autour du mobile et dans le plan horizontal, elle forme une structure qui en moyenne tourne autour de l'axe de rotation dans le même sens que le mobile. La nature « aléatoire » de l'écoulement turbulent est également visible. En effet, même lorsque la particule se situe dans une zone donnée de la cuve, le chemin qu'elle suit et la forme du fragment de trajectoire ainsi créé varient fortement d'un passage à l'autre.

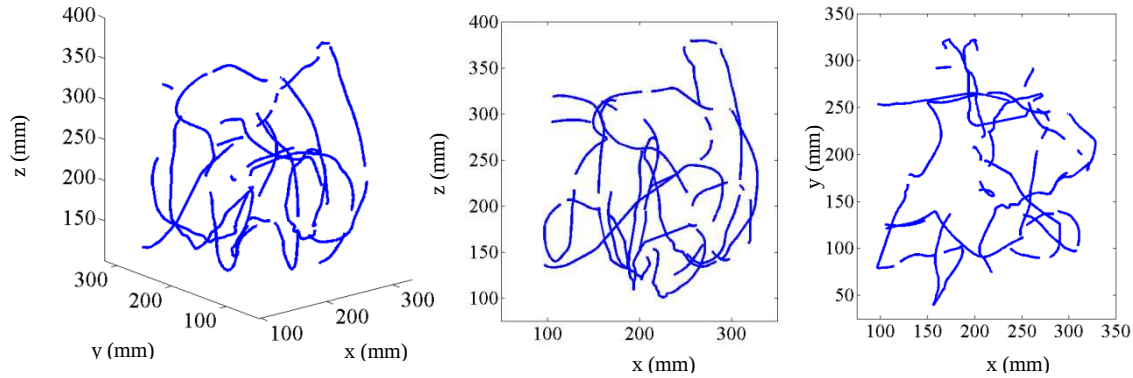


Figure 2. Morceau de trajectoire mesuré pendant 82 secondes au sein du bioréacteur présenté à la Figure 3. (gauche) Représentation 3D (milieu) Projection dans le plan x-z (droite) Projection dans le plan x-y.

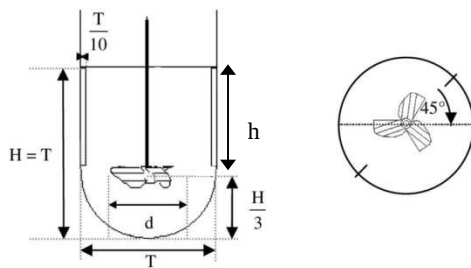


Figure 3. Géométrie du bioréacteur

Table 1. Dimensions du bioréacteur

Cuve à fond hémisphérique	
V	20 L
$T = H$	300 mm
Hélice TTP (Mixel)	
$d_{\text{hélice TTP}}$	125 mm
$Y = H/3$	100 mm
2 contre-pales	
$b = T/10$	30 mm
h	172 mm

3. Validation des trajectoires mesurées

Le dispositif de trajectographie optique présenté dans le point précédent est opérationnel et permet de mesurer des trajectoires. Il reste néanmoins à évaluer la qualité de ces trajectoires. Pour évaluer si la particule est effectivement un traceur idéal qui suit parfaitement les structures locales d'écoulement, le champ de vitesse moyen et la distribution spatiale de l'énergie cinétique turbulente k que l'on peut déduire des trajectoires sont comparés avec ceux mesurés par la technique stéréo-P.I.V. (Prasad, 2000)

Pour établir ces champs, il faut calculer la vitesse instantanée u de la particule à partir de ses positions successives et associer ce vecteur à un point donné du bioréacteur. Il faut ensuite découper le bioréacteur en zones et calculer pour chaque zone la moyenne arithmétique $\bar{u}$ des vitesses instantanées appartenant à cette zone ainsi que la valeur de l'énergie cinétique turbulente k en appliquant la relation :

$$k = \frac{1}{2} \left\{ \overline{(u_x - \bar{u}_x)^2} + \overline{(u_y - \bar{u}_y)^2} + \overline{(u_z - \bar{u}_z)^2} \right\} \quad (1)$$

Les zones choisies sont des solides de révolution autour de l'axe de rotation du mobile ayant tous une section carrée de 2 mm de coté. Ce choix a été réalisé pour s'aligner sur les caractéristiques des mesures stéréo P.I.V. En effet, ces mesures sont réalisées dans un plan axial unique de la cuve et chaque champ instantané de vitesse est établi en déterminant par une méthode de corrélation croisée le déplacement moyen le plus probable d'une dizaine de particule dans des zones carrées de 2 mm de coté.

Les Figures 4 (gauche) montrent le champ moyen de vitesses et la distribution spatiale de l'énergie cinétique turbulente obtenus à partir de la trajectoire suivie par la particule au sein du bioréacteur lorsque celui-ci est agité par l'hélice TTP tournant à la vitesse de 50 tours par minutes et ce pendant un temps total d'acquisition de 42 heures. Les Figures 4 (droites) comparent respectivement le profil axial de ces deux grandeurs obtenu par stéréo-P.I.V. (rouge) et par trajectographie (bleu) à la coordonnée $r/R=0.4$ correspondant à l'extrémité de la pale de l'hélice. Ces figures montrent que globalement un excellent accord est observé entre les deux types de mesures. La structure typique de l'écoulement généré par l'hélice TTP est effectivement obtenue à partir de la mesure de la trajectoire. Ces résultats laissent présumer que la particule se comporte donc comme un traceur idéal.

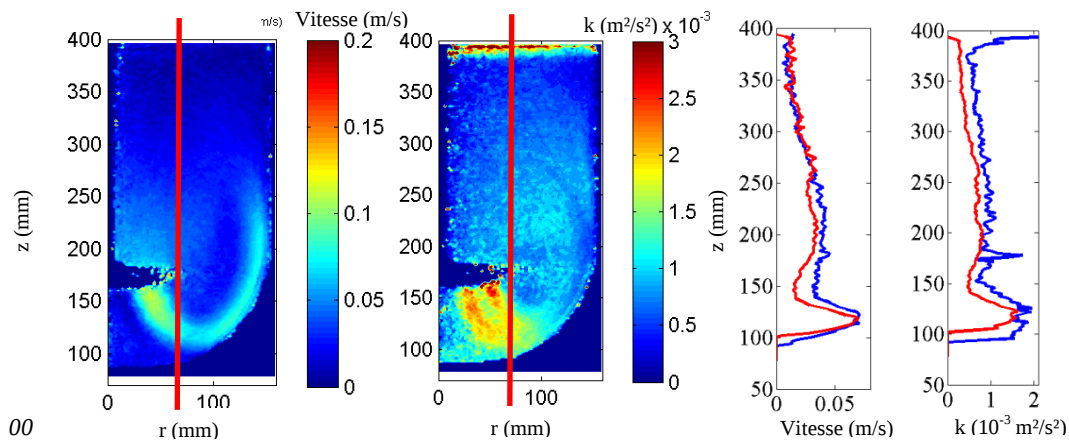


Figure 4. Champ moyen de vitesse (m/s) et distribution spatiale de l'énergie cinétique turbulente k (m^2/s^2) obtenus à partir d'une trajectoire de 42h mesurée au sein du bioréacteur lorsque l'hélice TTP tourne à 50 rpm. Comparaison des résultats obtenus à partir des trajectoires (bleu) avec ceux obtenus par des mesures stéréo P.I.V (rouge) à la coordonnée radiale $r/R=0.4$ correspondant à l'extrémité de la pale de l'hélice TTP.

Les Figures 4 montrent également que les résultats obtenus à partir des mesures trajectographiques sont plus bruités que ceux mesurés par stéréo-P.I.V. Cela provient de la stratégie employée dans les deux cas pour obtenir les valeurs moyennes. En stéréo-P.I.V., les grandeurs moyennes sont issues du suivi de milliers de particules pendant un temps très court tandis qu'en trajectographie, elles sont issues du suivi d'une seule particule pendant un temps très long. Ainsi pour mener une analyse pertinente de toutes grandeurs moyennes issues des trajectoires mesurées, il est indispensable de s'assurer que le temps d'acquisition a été suffisamment long que pour garantir une convergence de la grandeur étudiée. A titre d'illustration, cette vérification a été menée sur les champs de vitesse moyenne et d'énergie cinétique turbulente en observant l'évolution des valeurs prises pour ces deux grandeurs dans sept zones du bioréacteur (Figure 5) en fonction du temps d'acquisition. Les figures 5 montrent que le temps minimum pour obtenir la convergence des résultats dépend de la zone étudiée. Cela est dû à une évolution différente du nombre de visite de la particule dans chaque zone avec le temps. Cette différence résulte de deux phénomènes : d'une part, la particule visite plus fréquemment certaines zones de la cuve, comme celle située dans le jet à la sortie de la pale, et d'autre part les zones n'ont pas toutes le même volume, celui-ci augmentant plus la distance par rapport à l'axe de rotation croît. Néanmoins, un temps d'acquisition de 42 heures semble suffisant pour obtenir des résultats convergés dans l'ensemble des zones étudiées.

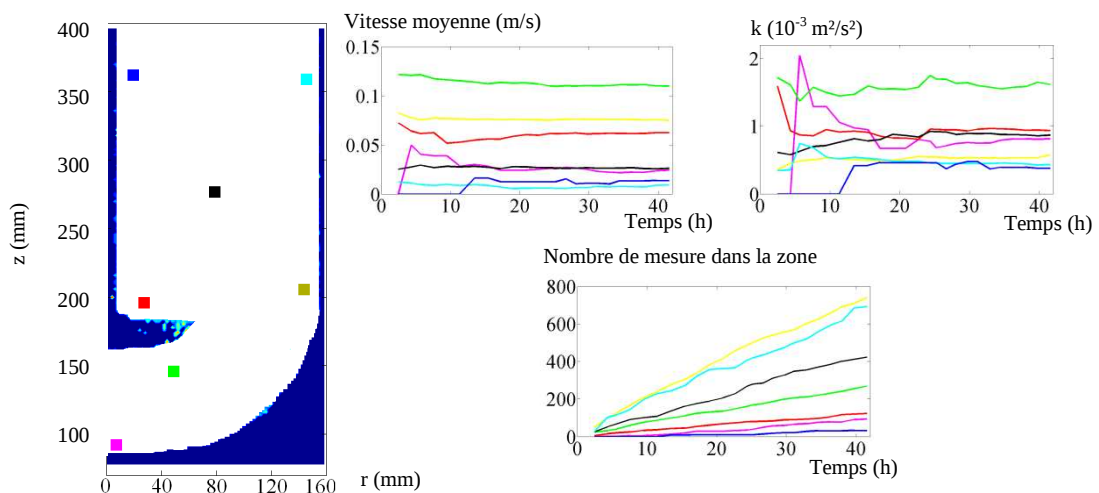


Figure 5. Localisation des 7 zones étudiées dans le bioréacteur. Évolution de la vitesse moyenne, de l'énergie cinétique turbulente et du nombre de visite dans les 7 zones étudiées avec le temps total d'acquisition de la trajectoire.

3. Conclusions et perspectives

La mise au point du dispositif de trajectographie optique imaginé par le laboratoire de Génie Chimique de l'Université de Liège aura requis des solutions élaborées pour résoudre les nombreux problèmes rencontrés. Ce dispositif est maintenant pleinement opérationnel et les trajectoires mesurées par celui-ci ont pu être validées.

Il est dès lors disponible pour la réalisation d'études Euler-Lagrange dont l'objectif est d'établir la succession de conditions physico-chimiques et hydrodynamiques locales rencontrées au sein du bioréacteur par un microorganisme au cours du temps. Comme l'illustre la Figure 6, cette succession peut être établie en superposant la trajectoire mesurée à une distribution spatiale d'une grandeur clé, ici il s'agit du taux de dissipation de l'énergie cinétique turbulente mesuré par stéréo-P.I.V. Le résultat de cette superposition est un signal qui fluctue fortement au cours du temps. Ce signal peut être analysé par des outils classiques afin d'établir à quelle fréquence caractéristique le micro-organisme est soumis à une condition donnée définie par une valeur d'intensité ainsi que le temps passé dans cette condition à chaque visite. Les résultats de ces études Euler-Lagrange répétées pour diverses conditions d'agitation (vitesse de rotation, type de mobiles) et combinées à des données de cultures devraient fortement aider à établir des modèles prédictifs hydro-bio précieux pour sélectionner de manière optimale les conditions d'agitation des bioréacteurs pour une application donnée et pour leur montée en échelle.

Notons enfin que les trajectoires mesurées avec le dispositif de trajectographie optique pourront également servir de données de validation pour les trajectoires obtenues par simulation numérique et pour les modèles d'où sont issus ces simulations.

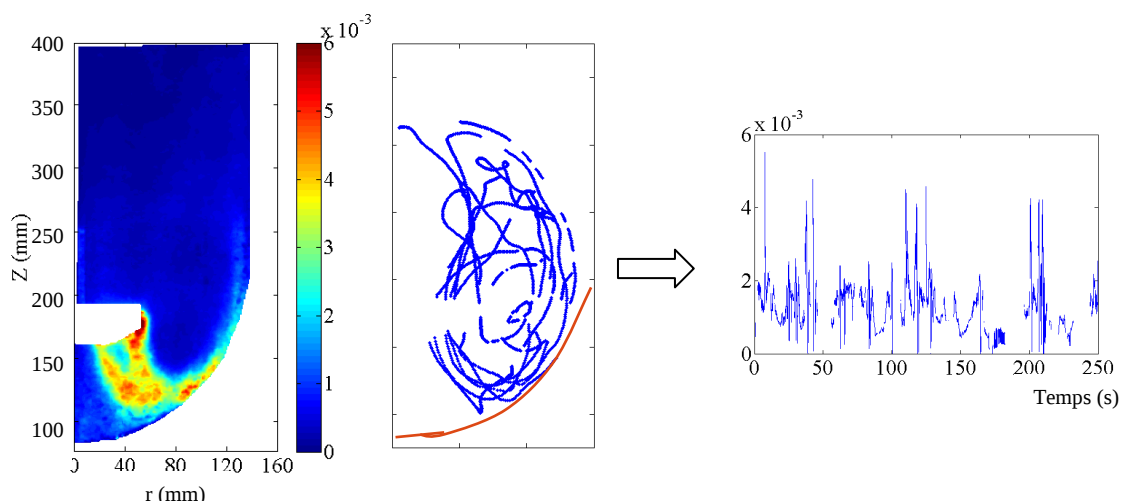


Figure 6. Couplage de l'approche eulérienne, ici la distribution spatiale du taux de dissipation de l'énergie cinétique turbulente (m^2/s^3) mesurée par stéréo P.I.V. à l'approche lagrangienne, ici la trajectoire obtenue à partir du dispositif de trajectographie optique pour établir l'historique des conditions rencontrées par le microorganisme.

Remerciements

Les auteurs remercient le F.R.S-FNRS pour le financement du projet de recherche FRFC n°2.4.579.09.F. Ils remercient également le Professeur Grandfils du Centre Interfacultaire des Biomatériaux de l'ULg pour son expertise et son soutien logistique lors de l'élaboration de la particule utilisée dans le dispositif.

Références

- Barigou M, 2004, Particle tracking in opaque mixing systems: an overview of the capabilities of PET and PEPT, Chem. Eng. Res. Des. 82, 1258-1267.
- Bouquet, J.Y., site web: <http://www.vision.caltech.edu/bouquetj/> où sont disponibles les codes Matlab® pour réaliser la calibration des caméras. Consulté pour la dernière fois le 27 avril 2012
- Delafosse, A. 2008. Analyse et étude numérique des effets de mélange dans un bioréacteur. Thèse de Doctorat, INSA Toulouse, France.
- Delvigne F., Lejeune A., Destain J. et Thonart P., 2006, Modelling of the substrate heterogeneities experienced by a limited microbial population in scale-down and in large-scale bioreactors. Chem. Eng. J 120, 157-167.

- Gasch A.P. et Wermer-Washburne M., 2002, The genomics of yeast responses to environmental stress and starvation. *Funct. Integr. Genomics* 2, 181-192.
- Gabriele A, Nienow A.W. et Simmons M.J.H., 2009, Use of angle resolved P.I.V to estimate local specific energy dissipation rates for up- and down-pumping pitched blade agitators in a stirred tank. *Chem. Eng. Sci.* 64, 126-143.
- Godoy-Silva R., Chalmers JJ, Casnocha S.A., Bass L.A. et Ma N., 2009, Physiological responses of CHO cells to repetitive hydrodynamic stress. *Biotechnol. Bioeng.* 6, 1103-1117.
- Kaye et Laby, *Tables of Physical & Chemical Constants*. Base de données en ligne : www.kayelaby.npl.co.uk. Consulté pour la dernière fois le 27 avril 2012.
- Luo H.P., Kemoun A., Al-Dahhan M.H., Fernandez Sevilla J.M., Garcia Sanchez J.L., Garcia Camacho F. et Molina Grima E., 2003, Analysis of photobioreactors for culturing high value microalgae and cyanobacteria via advanced diagnostic technique: CARPT. *Chem. Eng. Sci.* 58, 2519-2527.
- Papoutsakis E.T., 1991, Fluid mechanical damage of animal cells in bioreactors. *Trends Biotechnol.* 9, 427-437
- Prasad A.K., 2000, Stereoscopic particle image velocimetry. *Exp. Fluids* 29, 103-116.
- Rammohan A.R., Kemoun A., Al-Dahhan M.H. et Dudkovic M.P., 2001, A Lagrangian description of flows in stirred tanks via computer automated radioactive particle tracking (CARPT). *Chem. Eng. Sci.* 56, 2629-2639
- Salvi J., Armangué X. et Battle J., 2002, A comparative review of camera calibrating methods with accuracy evaluation. *Pattern Recognition* 35, 1617-1635.
- Toye D., Crine M. et Marchot P., 2005. Imaging of liquid distribution in reactive distillation packings with a new high energy x-ray tomograph. *Meas. Sci. and Technol.* 16, 2213-2220.

Development of an optical trajectography device required for the Euler-Lagrange experimental characterization of the turbulent flow inside a stirred bioreactor

Collignon Marie-Laure^{a,*}, DELAFOSSE Angélique^a, DELVIGNE Frank^b, THONART Philippe^b, CRINE Michel^a and TOYE Dominique^a

^a Laboratory of Chemical Engineering, Liege University
Allée de la Chimie 3, 4000 Liège, Belgium

^b Wallon Center of Industrial Biology, Liege University
Passage des déportés 2, 5030 Gembloux, Belgium

Abstract

Stirred bioreactors are devices that are widely used in the pharmaceutical industry. The global performance of the microorganism culture strongly depend on the physico-chemical and hydrodynamic environment present locally in these tanks. To fully describe this local environment, an Eulerian - Lagrangian approach must be adopted in order to establish the history of conditions met by a microorganism. This approach implies to determine the trajectory followed by this microorganism. To this aim, the Chemical Laboratory of Liege University has developed a prototype of optical trajectography device. The objective of this paper is to present this device, developments that were necessary for its use and the results obtained. The device is composed of two cameras which observed according to two axes the bioreactor highlighted by two backlights. The trajectory followed by a black bead made of alginate calcium gel is computed from images acquired by the two cameras, given these cameras have been represented by a pinhole model. The measured trajectory has been validated by comparing average time velocity fields and turbulent kinetic energy field deduced from it to those measured, in the same operating conditions, by stereo particle image velocimetry (P.I.V.). The convergence of the results with the acquisition time has also been demonstrated.

Keywords : Optical trajectography, stirred bioreactor, Lagrangian tracking

* Authors(s) to whom the correspondence should be sent : mlcollignon@ulg.ac.be