

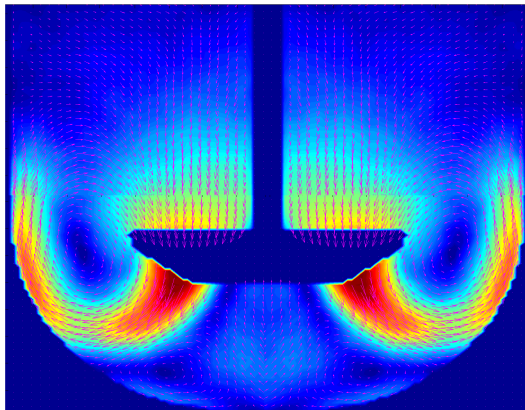


**Université de Liège**  
**Faculté des sciences appliquées**  
**Laboratoire de Génie Chimique**



---

**Etude du mélange par P.I.V. et P.L.I.F.  
dans un bioréacteur de culture cellulaire**



---

Travail de fin d'études présenté par

**Marie-Laure COLLIGNON**

pour l'obtention du grade  
d'ingénieur civil chimiste  
Année Académique 2006-2007  
**Promoteur : Pr. M. CRINE**

---

# Remerciements

---

Je tiens tout d'abord à exprimer toute ma gratitude à Monsieur le Professeur Michel CRINE pour la qualité de son enseignement et pour l'occasion qu'il m'a donnée de réaliser ce travail de fin d'études.

Je remercie également la Société GlaxoSmithKline Biologicals et plus particulièrement Messieurs Jean-François CHAUBARD et Ludovic PEETERS ainsi que Madame Sandrine DESSOY pour avoir permis de donner un aspect concret à cette étude en l'appliquant à une situation réelle. Je tiens également à souligner le plaisir que cela aura été de collaborer avec eux.

Je tiens à présenter ma reconnaissance à Mesdames Dominique TOYE et Emeline VERDIN pour leur suivi attentif, leurs conseils judicieux et leurs encouragements qui m'ont été d'une grande aide.

Je remercie Messieurs les Professeurs Pierre MARCHOT et Philippe THONART qui ont accepté de faire partie de mon Jury.

Ma gratitude s'adresse également à Monsieur le Professeur Christian GRANFILS pour son aide précieuse, son accueil et sa grande disponibilité.

Je ne peux oublier mes parents, ma sœur et mon compagnon pour leur soutien et leur aide durant ces cinq années.

Enfin, je remercie toutes les personnes qui, directement et indirectement, m'ont aidée lors de la réalisation de ce travail.

Marie-Laure

## Résumé

---

**Etude du mélange par P.I.V. et P.L.I.F dans un bioréacteur de culture cellulaire**

Travail de fin d'études présenté par : Marie-Laure Collignon

en vue de l'obtention du grade d'Ingénieur Civil Chimiste

Année académique 2006-2007

Ce mémoire consiste en l'étude expérimentale de l'hydrodynamique et du mélange dans un bioréacteur de 20 litres de culture de cellules animales sur microporteurs. Les résultats obtenus serviront aux chercheurs de la société GlaxoSmithKline Biologicals qui procèdent actuellement à la montée en échelle à partir d'un bioréacteur de 20 litres pour atteindre une échelle industrielle de plusieurs mètres cubes. Dès lors un grand nombre de paramètres ont été imposés tels que la géométrie du système et la gamme des vitesses de rotation du mobile et le type de celui-ci (hélice TT).

Les techniques expérimentales utilisées sont la P.I.V. (Particle Image Velocimetry) et la P.L.I.F. (Planar Laser Induced Fluorescence) qui permettent d'accéder respectivement au champ de vitesses et champ de concentrations dans un plan vertical éclairé par le laser.

Ce travail consiste en une étude paramétrique au cours de laquelle nous avons fait varier les différents constituants du nombre de Reynolds dans une cuve agitée : la vitesse de rotation  $N$ , la taille du mobile  $d$  et la viscosité du fluide  $\mu$ .

Nous avons déterminé expérimentalement les grandeurs globales suivantes : le débit et nombre de pompage, le débit et nombre de circulation, la puissance dissipée globalement et le nombre de puissance  $y$  correspondant, la hauteur théorique équivalente d'une pompe et le temps de mélange. Nous avons également caractérisé l'hydrodynamique et le mélange de manière locale : en décrivant le champ de vitesses dans le plan éclairé par le laser, en déterminant la répartition du cisaillement et de la dissipation de l'énergie dans ce même plan et en représentant le mélange par un modèle compartimenté constitué d'un réseau de cuves parfaitement mélangées mises en série. L'évolution de ces grandeurs globales et locales en fonction des paramètres du nombre de Reynolds a été analysée. Les résultats obtenus donneront des informations importantes qui aideront les chercheurs de G.S.K. BIO. à affiner leur stratégie de scale-up.

Enfin, un des points cruciaux de l'opération de mélange est le maintien en suspension complète des petites billes sur lesquelles se développent les cellules qui sont appelées les microporteurs. La vitesse de rotation qui permet le maintien de cette suspension complète a été caractérisée expérimentalement et à l'aide d'un modèle qui pourra être aisément utilisé lors du processus de scale-up.

# **Table des matières**

---

---

Remerciements .....	1
Résumé .....	3
Table des matières .....	5
Listes des symboles utilisés .....	9
Introduction .....	12
Chapitre I Rappels théoriques.....	23
1 Hydrodynamique au sein d'une cuve agitée.....	24
1.1 Les régimes d'écoulement.....	24
1.1.1 L'écoulement laminaire ( $Re < 10 - 40$ ).....	24
1.1.2 L'écoulement transitoire ( $10 - 40 < Re < 10\ 000 - 100\ 000$ ).....	25
1.1.3 L'écoulement turbulent ( $10\ 000 - 100\ 000 < Re$ ).....	25
1.1.4 Les mobiles d'agitation .....	27
1.2 Les paramètres globaux du mélange .....	30
1.2.1 La puissance volumique dissipée .....	30
1.2.2 Le débit de pompage et le débit de circulation.....	33
1.2.3 Mélange et temps de mélange .....	35
1.3 Paramètres locaux du mélange .....	36
1.3.1 Le cisaillement.....	36
1.3.2 La dissipation de l'énergie.....	38
2 La suspension des particules dans une cuve agitée .....	40
Chapitre II Matériels et méthodes .....	43
1 Cuve agitée .....	44
1.1 Cuve.....	44
1.2 Moteur .....	45
1.3 Mobile d'agitation : Hélice TT de Mixel.....	46
2 Mesures P.I.V. ....	46
2.1 Principe.....	46
2.2 Dispositif expérimental.....	48
2.3 La corrélation croisée .....	49
2.4 Traitement des images .....	53
3 Mesures P.L.I.F. ....	56
3.1 Théorie à la base de cette méthode.....	56
3.2 Application de cette méthode à l'étude du mélange.....	57

---

3.3	Dispositif expérimental complémentaire.....	57
4	Les microporteurs.....	58
5	Fluide utilisé lors des mesures P.I.V. et P.L.I.F.....	62
Chapitre III Résultats obtenus par la méthode P.I.V.....		64
1	Description des champs de vitesses obtenus par les mesures P.I.V.....	65
1.1	Introduction.....	65
1.2	Description qualitative de l'écoulement dans le plan du laser.....	65
1.3	Influence de la viscosité sur la structure de l'écoulement.....	67
1.4	Influence de la vitesse de rotation sur la structure de l'écoulement.....	68
1.5	Influence de la contre-pale sur la structure de l'écoulement.....	68
1.6	Effet du diamètre du mobile sur la structure de l'écoulement.....	69
1.7	Conclusion.....	71
2	Débit et nombre de pompage, débit et nombre de circulation.....	73
2.1	Méthodologie.....	73
2.2	Résultats.....	74
3	La puissance dissipée.....	78
3.1	Méthodologie.....	78
3.2	Evolution de la puissance et du nombre de puissance avec le Reynolds.....	78
3.3	Puissance dissipée dans 20L de Cytodex1 <sup>TM</sup> et concept de Metzner et Otto.....	82
3.4	Hauteur équivalente d'une pompe.....	83
4	Répartition du cisaillement dans le plan éclairé par le laser.....	86
4.1	Méthodologie.....	86
4.2	Explication générale des répartitions du cisaillement.....	87
4.3	Influence de la viscosité de la solution sur la répartition du cisaillement.....	89
4.4	Influence de la vitesse de rotation du mobile sur la répartition du cisaillement.....	90
4.5	Influence de la taille du mobile sur la répartition du cisaillement.....	90
4.6	Influence de la position de la contre-pale sur la répartition du cisaillement.....	91
4.7	Conclusions.....	91
5	Répartition de la dissipation de l'énergie.....	93
5.1	Méthodologie.....	93
5.2	Description de la répartition de la dissipation de l'énergie.....	94
5.3	Effet de la viscosité sur la dissipation de l'énergie.....	96
5.4	Effet de la vitesse de rotation du mobile sur la dissipation de l'énergie.....	96
5.5	Effet de la contre-pale sur la dissipation de l'énergie.....	96

---



---

5.6	Effet du diamètre du mobile sur la dissipation de l'énergie .....	96
5.7	Conclusions .....	97
Chapitre IV Résultats obtenus par la méthode P.L.I.F. ....		99
1	Le temps de mélange .....	100
1.1	Méthodologie.....	100
1.2	Traitement des images .....	101
1.3	Résultats.....	102
1.4	Discussion.....	105
1.4.1	Influence du point d'injection.....	105
1.4.2	Influence du Reynolds .....	105
2	Modèle compartimenté de mélange.....	108
2.1	Description du modèle.....	108
2.2	Equations du modèle .....	109
2.3	Résultats.....	112
2.4	Conclusions .....	113
Chapitre V Maintien en suspension des microporteurs .....		115
1	Introduction .....	116
2	Détermination de la distribution de la taille des microporteurs.....	116
3	Détermination de la vitesse de rotation minimale de maintien en suspension .....	119
Conclusions .....		123
1	Synthèse des résultats obtenus.....	124
2	Retombées positives sur le processus de scale-up.....	130
3	Limitations des résultats obtenus et perspectives futures.....	131
Bibliographie .....		135
Annexes .....		138

## **Listes des symboles utilisés**

---

**Liste des symboles utilisés**

A	$m^2$	Section balayée par l'agitateur
b	[m]	largeur de contre – pales
C	[N.m]	Couple
$C_v$	[%]	Concentration volumique en particules
$C_x$	[-]	Coefficient de traînée d'une particule
d	[m]	Diamètre du mobile d'agitation
D	[m]	Diamètre de la cuve
$d_p$	[m]	Diamètre moyen des billes de microporteurs
$E_0$	[J]	Energie du laser
F		Fluorescence de la Rhodamine 6G
g	[m/s <sup>2</sup> ]	Accélération de la pesanteur
H	[m]	Hauteur de liquide dans la cuve
$H^*$	[m]	Hauteur théorique du mobile
L	[m]	Hauteur de la pale de l'agitateur
m	[-]	Exposant de la loi de Zaki
N	[s <sup>-1</sup> ] ou [rpm]	Vitesse de rotation du mobile d'agitation
P	[W]	Puissance effectivement transmise au fluide agité
$Q_C$	[m <sup>3</sup> /s]	Débit de circulation
$Q_P$	[m <sup>3</sup> /s]	Débit de pompage
$t_C$	[s]	Temps de circulation
$t_M$	[s]	Temps de mélange
$t_P$	[s]	Temps de pompage
U	[m/s]	Vitesse instantannée
$\bar{U}$	[m/s]	Vitesse moyenne
u	[m/s]	Fluctuation de la vitesse = $U - \bar{U}$
$\bar{u}$	[m/s]	Moyenne des fluctuations de la vitesse
$u'$	[m/s]	Valeur quadratique moyenne des fluctuations de la vitesse
$U_C$	[m/s]	Vitesse ascensionnelle
V	[m <sup>3</sup> ]	Volume de la phase liquide agitée
$v_{lim}$	[m/s]	Vitesse limite d'une particule
$v_{ss}$	[m/s]	Vitesse limite d'une particule selon le modèle de Zaki
$V_p$	[m/s]	Vitesse périphérique des pales
Y	[m]	Distance entre le fond de cuve et le mobile d'agitation

**Lettres grecques :**

$\alpha_c$	[-]	Coefficient de proportionnalité entre la fluorescence, la concentration en Rhodamine 6G et l'énergie du laser
$\dot{\gamma}$	[s <sup>-1</sup> ]	Vitesse de cisaillement
$\varepsilon$	[W/kg]	Dissipation d'énergie par unité de masse
$\lambda_k$	[m]	Echelle de Kolmogorov
$\mu$	[Pa.s]	Viscosité dynamique du liquide
$\nu$	[m/s <sup>2</sup> ]	Viscosité cinématique
$\nu_t$	[m/s <sup>2</sup> ]	Viscosité turbulente
$\rho$	[kg/m <sup>3</sup> ]	Masse volumique du liquide
$\rho_s$	[kg/m <sup>3</sup> ]	Masse volumique des billes de microporteurs
$\tau$	[N/m <sup>2</sup> ]	Taux de cisaillement
$\zeta$	[-]	Coefficient de frottement

**Groupements adimensionnels :**

Fr	Nombre de Froude du mobile	$Fr = \frac{N^2 \cdot d}{g}$
$N_p$	Nombre de puissance du mobile d'agitation	$N_p = \frac{P}{\rho \cdot N^3 \cdot d^5}$
$N_{QP}$	Nombre de pompage du mobile d'agitation	$N_{QP} = \frac{Q_p}{N \cdot d^3}$
$N_{QC}$	Nombre de circulation du mobile d'agitation	$N_{QC} = \frac{Q_c}{N \cdot d^3}$
Re	Nombre de Reynolds du mobile	$Re = \frac{\rho \cdot N \cdot d^2}{\mu}$
$Re_p$	Nombre de Reynolds d'une particule	$Re_p = \frac{\rho \cdot d_p \cdot v_{lim}}{\mu}$

**Acronymes :**

P.I.V.	Particule Image Velocimetry
P.L.I.F.	Planar Laser Induced Fluorescence
RPM	Round Per Minute

# Introduction

---

Les réacteurs polyphasiques à cuve agitée sont largement utilisés dans de nombreux domaines de l'industrie chimique. Citons par exemple les réacteurs « slurry » catalytiques, les réacteurs de cristallisation réactive, les réacteurs de polymérisation en suspension et les bioréacteurs. Ces réacteurs mettent en œuvre une phase solide finement divisée mise en suspension dans une phase liquide. Dans certains cas, une phase gazeuse peut également être dispersée sous forme de bulles dans la phase liquide.

L'hydrodynamique, les mécanismes physico-chimiques impliqués ainsi que la mise en œuvre industrielle de ces appareils ont fait l'objet de nombreuses études.

Le choix des conditions opératoires et de la géométrie du système doit répondre aux objectifs suivants :

- le contrôle de l'homogénéité de la suspension solide ;
- le contrôle de l'intensité des transferts massiques et thermiques entre le liquide et le solide ;
- le contrôle de l'intensité des contraintes mécaniques entre le liquide et le solide.

Les bioréacteurs occupent une place particulière dans cette famille de réacteurs polyphasiques. En effet, la phase solide est constituée d'organismes vivants et ceux-ci sont fortement sensibles aux mécanismes cités ci-dessus. Les bioréacteurs de cultures microbiennes sont utilisés depuis de nombreuses années, tandis que ceux de cultures de cellules animales ne se développent que depuis quelques dizaines d'années. Ils sont notamment utilisés dans la synthèse de vaccins antiviraux.

Le principe de la vaccination fut découvert en 1796 par le docteur Edward Jenner. Lorsqu'une personne entre en contact avec un agent pathogène (virus, microbes, ...), son système immunitaire réagit en deux étapes :

- la reconnaissance de l'agent pathogène ;
- la production d'anticorps pour éliminer celui-ci.

Le but de la vaccination est de réduire la période de reconnaissance et ainsi limiter l'infection. Pour réduire cette période, le système immunitaire doit une première fois rencontrer l'agent pathogène et « mémoriser » ses caractéristiques. Pour ce faire, des agents pathogènes inactivés (c'est-à-dire morts) ou atténués (c'est-à-dire vivants mais dont la croissance est limitée) sont introduits dans l'organisme. Depuis quelques dizaines d'années, des vaccins dits « sous-unitaires » sont apparus sur le marché. Ils sont composés d'une ou plusieurs sortes de

molécules (par exemple : une protéine de surface d'un virus) présentes dans l'agent pathogène et ayant le même effet sur le système immunitaire.

La production de ce type de vaccin se fait en plusieurs étapes.

1. Synthèse de la substance active ;  
Pour ce faire, une culture cellulaire est réalisée. Cette culture est ensuite infectée par l'agent pathogène qui se multiplie dans les cellules hôtes.
2. Purification de l'agent pathogène ;
3. Inactivation de l'agent pathogène ;
4. Purification de l'antigène ;
5. Ajout d'adjuvant et packaging.

Ce travail de fin d'études concerne uniquement l'étape de culture cellulaire et plus particulièrement l'étude de l'hydrodynamique au sein du bioréacteur. Il fait suite au mémoire réalisé par Ludovic Peeters [PEE06] en partenariat avec la société GlaxoSmithKline Biologicals.

Cette recherche s'inscrit dans un projet de montée en échelle d'un procédé de culture cellulaire sur microporteurs en cuve agitée. In fine, une échelle de production industrielle de plusieurs mètres cubes devra être atteinte.

Les cellules, utilisées pour produire le vaccin, sont des « cellules adhérentes » c'est-à-dire qu'elles ne peuvent se multiplier que si elles sont adsorbées sur une surface adéquate. De nombreux supports peuvent être choisis ; ils peuvent être en verre, en plastique.... De plus, la surface d'adhésion peut prendre des formes variées. Les cellules pourraient être cultivées sur un support plastique plan (comme les modules Cell Factory Nunclon™). Il suffirait d'augmenter le nombre de modules pour réaliser la montée en échelle. Néanmoins, cette augmentation s'accompagnerait d'un accroissement de la taille et du poids des réacteurs, ce qui exclut l'utilisation de ces supports dès l'échelle de 80 litres. De plus, ce type de support nécessite de nombreuses manipulations manuelles qui sont impossible à réaliser à grande échelle.



Figure 0-1: Support plastique plan

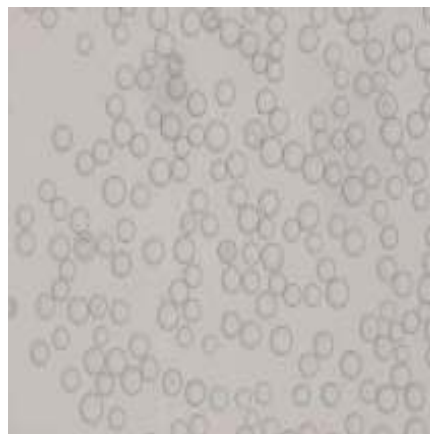


Figure 0-2: Microporteurs

Dès lors, une autre forme de support a été choisie pour les plus grandes échelles. Le choix s'est porté sur des microporteurs qui sont des billes en polymère d'un diamètre moyen de 250 $\mu$ m mises en suspension dans le milieu de culture et appelées Cytodex1<sup>TM</sup>. Cette solution présente l'avantage de maximiser le rapport de la surface accessible aux cellules sur le volume d'équipement. Dans un bioréacteur de plusieurs mètres cubes, une culture sera optimale si au moins une cellule adhère à chaque microporteur durant la phase d'accrochage, ainsi la surface disponible sera totalement exploitée durant la phase de croissance. Dès lors, l'inoculum doit contenir un très grand nombre de cellules et une ampoule cellulaire de laboratoire sera largement insuffisante. Partant de cette ampoule cellulaire, une culture statique sur support plastique plan sera d'abord réalisée à petite échelle. Cette culture servira d'inoculum pour une première culture d'amplification sur microporteurs. Une deuxième culture d'amplification cellulaire sera réalisée pour atteindre le niveau de concentration cellulaire de l'inoculum du réacteur de plusieurs mètres cubes.



Figure 0-3: Processus d'amplification cellulaire

La **géométrie du réacteur** étudié dans ce mémoire, a été imposée par les travaux réalisés préalablement chez G.S.K. BIO. Un rapport diamètre sur hauteur égal à 1 et un positionnement du mobile d'agitation au tiers de la hauteur ont été choisis pour maintenir une similitude géométrique entre les bioréacteurs utilisés afin d'exploiter plus aisément les résultats d'une échelle à l'autre lors du scale-up.



Le choix des **mobiles d'agitation** est également basé sur les résultats obtenus lors d'une précédente étude effectuée chez GSK [PEE06]. Cette étude portait sur la première phase du processus de scale-up depuis l'échelle d'un bioréacteur de 20 litres à celle d'un bioréacteur de 80 litres. La difficulté majeure provenait du fait que les cultures à petite échelle avaient été faites avec un agitateur de fabrication interne GSK, dont les caractéristiques (nombre de pompage, nombre de puissance, ...) n'étaient pas connues et qui présentait des coins saillants, potentiellement mal adaptés à une culture de cellules sensibles au microcisaillement. Afin de faciliter les étapes suivantes du scale-up, un mobile d'agitation standard, de caractéristiques connues a été sélectionné : l'hélice TT Mixel. Ce mobile présente les avantages suivants :

- C'est un mobile axial et donc efficace d'un point de vue pompage, ce qui permet d'une part de mettre en suspension les microporteurs et d'autre part de dissiper l'énergie dans un volume important et de manière relativement douce au niveau du cisaillement subi par les cellules ;
- Ses nombres de pompage et de puissance sont tels que les grandeurs qui caractérisent l'hydrodynamique dans le bioréacteur de 80 litres sont compatibles avec celles qui régnaient dans le bioréacteur de 20 litres. Les grandeurs qui ont été envisagées sont la vitesse périphérique des pales, le nombre de Reynolds, le débit de pompage, le débit de circulation, le taux de cisaillement en turbulence isotropique, la puissance volumique dissipée, la hauteur théorique du mobile d'agitation, les indicateurs de collisions des particules avec les microtourbillons, entre elles, avec les parois du bioréacteur et avec l'agitateur. Ces indicateurs ainsi que le taux de cisaillement permettent de caractériser les contraintes mécaniques imposées aux cellules et la pénalité de celles-ci sur la croissance cellulaire.



Figure 0-4: Agitateur de fabrication interne GSK



Figure 0-5: Hélice TT de Mixel

Le choix de limiter le **nombre de contre-pales** à 2, alors que dans la littérature [ROUa] les nombres de pompage et de puissance sont déterminés pour trois contre-pales, est également dicté par les résultats préalables de chez GSK. Les tests de culture dans le bioréacteur de 20 litres avaient été réalisés avec deux contre-pales. Il a été décidé de ne pas modifier ce paramètre lors de la montée en échelle par souci de continuité d'un part et d'autre part car les bioréacteurs de 80 litres disponibles ne disposaient que de deux contre-pales.

Afin de mettre en évidence les paramètres et les hypothèses qui influencent la **stratégie de scale-up**, rappelons rapidement la procédure traditionnellement utilisée :

- Tout d'abord, le but de l'opération de mélange doit être déterminée ;
- Ensuite, les grandeurs caractéristiques importantes doivent être mises en évidence. Celles-ci seront maintenues constantes lors de la montée en échelle.
- Enfin, il sera vérifié que les autres grandeurs hydrodynamiques moins cruciales à petites échelles ne deviennent pas limitantes à grandes échelles.

Dans le cas présent, l'opération de mélange sert à homogénéiser le milieu, que ce soit au niveau du maintien en suspension des microporteurs ou au niveau de l'uniformité des concentrations des substrats.

L'évaluation des grandeurs caractéristiques est réalisée sur base de corrélations empiriques. Cette démarche a été appliquée lors d'une étude préliminaire à ce travail et les conclusions suivantes ont été obtenues. A petite échelle, le facteur limitant est l'importance des contraintes mécanique imposées aux cellules. Celles-ci augmentent avec la puissance volumique dissipée  $P/d^3$ . Partant de cette constatation, il semble raisonnable de proposer une montée en échelle qui maintienne la similitude géométrique et la puissance volumique dissipée. Ceci provoque une diminution de vitesse de rotation et dès lors du temps de circulation. Le mélange étant moins intense à grande échelle, il peut limiter les transferts de matière et de chaleur et devenir critique.

L'effet d'une montée en échelle en maintenant la similitude géométrique et le temps de circulation constant a également été étudié. Dans ce cas, la puissance volumique dissipée augmente comme le carré du facteur d'échelle. Les contraintes appliquées aux cellules pourraient devenir inacceptables. De ces deux études, il a été déduit qu'une situation intermédiaire entre un scale-up à puissance volumique dissipée constante et un scale-up à temps de circulation constant devra être trouvée.

Néanmoins cette démarche présente une série de limitations. La principale est l'utilisation de corrélations empiriques pour l'estimation des paramètres caractéristiques du mélange. Dans ces corrélations, il apparaît des nombres tels que le nombre de pompage et le nombre de puissance, ... dont les valeurs peuvent être influencées par le nombre de contre-pales. Les valeurs mentionnées dans la littérature sont généralement relatives à des cuves agitées équipées de trois contre-pales alors que deux contre-pales sont utilisées dans la présente étude. De plus, les nombres pourraient être également influencés par le comportement rhéologique de la suspension de Cytodex1<sup>TM</sup>. Pour ces deux raisons, il conviendra de consolider la stratégie de scale-up en validant expérimentalement les nombres de pompage et de puissance.

Un des buts de l'opération de mélange est de maintenir en suspension les microporteurs. Il est dès lors important de connaître la vitesse de rotation minimale de l'agitateur en dessous de laquelle la suspension complète n'est plus assurée c'est-à-dire que les plus grosses particules stagnent au fond de la cuve. Dans un premier temps, celle-ci est calculée en égalisant la vitesse de chute, calculée par le modèle de Stokes tenant compte des interactions entre particules, à la vitesse ascensionnelle, obtenue par le rapport du débit de circulation sur la section de passage du fluide ascendant. Le débit de circulation et la section de passage du fluide ascendant peuvent être calculés par des corrélations mais les valeurs obtenues présenteraient dès lors les mêmes limitations que celles citées précédemment dues au nombre de contre-pales et au comportement rhéologique du fluide. Ils seront donc mesurés expérimentalement. La distribution de la taille des microporteurs, ainsi que la viscosité du milieu devront être prises en compte pour le calcul de la vitesse de chute. Ces deux-ci n'étant pas connues, elles seront également mesurées expérimentalement.

L'étude de l'écoulement du fluide dans le réacteur est indispensable afin d'apporter des informations clés pour le choix de la meilleure situation intermédiaire entre un scale-up à puissance dissipée constante et un scale-up à temps de mélange constant. Par exemple, la répartition dans la cuve du taux de cisaillement permettrait de connaître les contraintes imposées aux cellules. Ce type de répartition ne peut être déduite des paramètres globaux tels que le temps de circulation ou le puissance volumique dissipée. Elles vont être mesurées expérimentalement.

Les techniques expérimentales utilisées seront la P.I.V. (Particle Image Velocimetry) et la P.L.I.F. (Planar Laser Induced Fluorescence) qui sont bien adaptées à l'étude des écoulements dans une cuve agitée. La technique P.I.V. permet de mesurer les champs de vitesses instantanés dans un plan vertical de la cuve. La technique P.L.I.F. complète les mesures P.I.V. en donnant accès à la carte de concentration d'un traceur fluorescent dans ce même plan.

La technique P.I.V. a déjà été utilisée pour caractériser l'hydrodynamique dans un bioréacteur Couette-Taylor de culture de cellules animales [HAU03]. Elle pourra dès lors être appliquée dans le cas présent. Elle a des nombreuses applications dans des domaines très variés.

Citons par exemple :

- l'étude de l'hydrodynamique dans les cuves agitées,
- l'étude de l'écoulement de l'air autour d'un corps en aéronautique,
- l'étude de l'écoulement des fluides dans une chambre de combustion d'un moteur,
- ...

Les champs de vitesses obtenus par mesure P.I.V. peuvent être directement exploités pour calculer les caractéristiques hydrodynamiques de l'écoulement dans la cuve telles que le débit de pompage, le débit de recirculation, la répartition du taux de cisaillement dans le plan, la répartition de la dissipation de l'énergie... Dans de nombreuses études, ces champs de vitesses sont également utilisés pour valider des modèles d'écoulement calculés par la mécanique des fluides numériques (CFD). D'autres techniques telles que l'anémométrie à fil chaud (HFA) ou l'anémométrie laser à effet Doppler (LDA) permettent également d'accéder au champ de vitesses dans la cuve. Néanmoins la technique P.I.V. présente l'avantage considérable de donner instantanément le champ de vitesses dans tout le plan alors que les méthodes HFA et LDA ne donnent que la vitesse en un point du plan ; pour obtenir le champ de vitesses dans tout le plan, les mesures doivent être répétées aux différents points. La technique P.I.V. a par contre le désavantage de ne donner que les deux composantes de la vitesse comprises dans le plan alors que les autres méthodes donnent accès au trois composantes de la vitesse. Néanmoins, le plan vertical éclairé par le laser est orienté selon l'écoulement principal et la composante tangentielle non mesurée est généralement faible grâce à la présence de contre-pales qui cassent le mouvement rotatif transmis au fluide par l'agitateur en rotation. Ainsi, la technique P.I.V. sera favorisée par rapport aux méthodes HFA et LDA car elle permet de réaliser un gain de temps non négligeable.

La technique P.L.I.F. donne accès à la carte de concentration d'un traceur fluorescent dans le plan. Elle est souvent couplée à la technique P.I.V. car les mesures peuvent être réalisées simultanément. Elle permet de savoir comment un traceur va se répartir dans la cuve lorsque celui-ci est injecté en un point. Il s'agit d'une méthode de traceurs au même titre que la méthode conductométrique ou la méthode colorimétrique, néanmoins, elle se distingue par le fait qu'au lieu d'avoir un seul détecteur, elle a une infinité de détecteurs placés en chaque point du plan. La technique P.L.I.F. va permettre ainsi de mesurer le temps de mélange en chaque point du plan.

**L'objectif général de ce mémoire** est la caractérisation du mélange dans un bioréacteur en verre de 20 litres, en similitude géométrique avec celui de 80 litres utilisé chez GSK. Les résultats exposés dans les chapitres suivants vont venir tout d'abord compléter l'étude du scale-up réalisé par GSK. En effet, les différentes hypothèses vont être vérifiées ou levées :

- Les nombres de pompage et de puissance vont être mesurés expérimentalement ;
- La distribution de la taille des microporteurs va être mesurée et prise en compte pour le calcul de la vitesse de rotation minimum en dessous de laquelle la suspension n'est plus complète.

Ensuite, des résultats supplémentaires, telles que les mesures des champs de vitesses et du taux de cisaillement, vont permettre d'avoir des informations qui seront essentiels pour choisir une stratégie de montée en échelle judicieuse.

**Les objectifs spécifiques de ce mémoire** sont les suivants :

1. La caractérisation expérimentale du macromélange par les techniques de mesures P.I.V. et P.L.I.F. ;
2. La répartition spatiale des microporteurs dans la cuve en fonction de la vitesse d'agitation ;
3. La représentation du mélange par un modèle empirique de macromélange.

Lors de la caractérisation expérimentale du mélange, le comportement rhéologique de la suspension de Cytodex1<sup>TM</sup> est pris en compte. La détermination de la courbe de viscosité de la suspension en fonction du cisaillement nécessite un appareillage spécial qui maintient les microporteurs en suspension durant la mesure. Cet appareillage n'étant pas à notre disposition et n'ayant aucune information fiable sur le comportement rhéologique de la suspension, nous

avons décidé de réaliser une étude paramétrique au cours de laquelle les mesures P.I.V. et P.L.I.F. sont réalisées dans des solutions Newtoniennes composées d'eau et de glycérine et donc la viscosité varie entre 3 centipoises et 31 centipoises.

Les conditions qui permettent d'obtenir une suspension complète de microporteurs dans la cuve seront déterminées en plusieurs étapes. Tout d'abord, la distribution de la taille des microporteurs sera mesurée expérimentalement. Différentes techniques ont été testées : analyse granulométrique par diffusion de rayonnement, par compteur Coulter et par analyse d'images. Cette information sera utilisée pour déterminer la vitesse limite de chute des microporteurs par le modèle de Stokes tenant compte des interactions entre particules. La vitesse de rotation minimum en dessous de laquelle la suspension n'est plus complète pourra ainsi être calculée et vérifiée expérimentalement en filmant le comportement de la suspension en fonction de la vitesse de rotation.

Enfin, le mélange dans le réacteur sera représenté par un modèle de macromélange. Les paramètres des différents modèles testés seront déterminés par ajustement entre les courbes de réponse théorique et les courbes expérimentales mesurées par P.L.I.F. Un signal de type impulsion de Dirac sera utilisé.

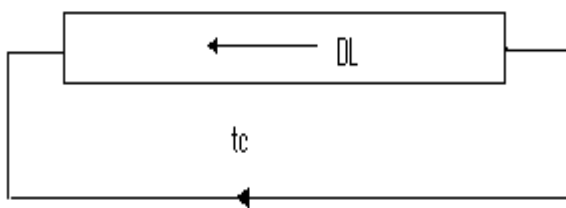


Figure 0-6: Modèle de Voncken

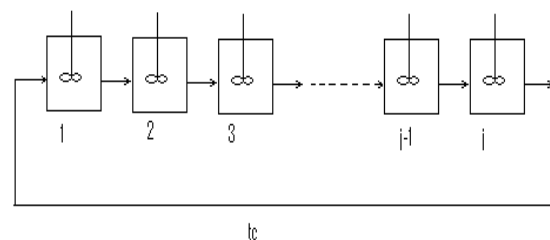


Figure 0-7: Modèle de Levenspiel

Parmi les modèles envisageables, citons par exemple, le modèle de Voncken [HOL64] qui représente les boucles de recirculation du fluide par un modèle piston dispersif. Les irrégularités telles que les distributions de vitesses et des longueurs des chemins d'écoulement, les échanges de matières entre boucles sont représentées par un coefficient de dispersion. Le coefficient de dispersion est le premier paramètre du modèle ; le second paramètre est le temps moyen de circulation du fluide dans la boucle de recirculation. Ce modèle est très couramment utilisé, mais il n'est pas très « explicite » d'un point de vue physique : on représente l'écoulement dans la cuve agitée par un écoulement piston dispersif. Le modèle de Levenspiel [LEV62] permet de mieux représenter ce qu'on observe

expérimentalement, car l'écoulement dans la cuve est modélisé par une série de cuves parfaitement mélangées mises en série. Le modèle de Levenspiel comporte également deux paramètres : le nombre de cuves et le temps moyen de circulation du fluide dans la boucle de recirculation.

Avant d'aborder ces différents points, un rappel théorique des différentes notions importantes pour la compréhension des résultats s'impose.

# **Chapitre I**

---

## **Rappels théoriques**



# 1 Hydrodynamique au sein d'une cuve agitée

## 1.1 Les régimes d'écoulement [PEE06], [VER05], [ROUb]

Expérimentalement, nous constatons que trois régimes d'écoulement au sein de la cuve se succèdent lorsque nous augmentons la vitesse de rotation de l'agitateur. À faibles vitesses, le régime laminaire est observé. À hautes vitesses, le régime turbulent apparaît. Entre les deux cas extrêmes, un régime transitoire existe. Ces différents types d'écoulement se distinguent par le comportement des filets de fluide les uns par rapport aux autres. Chaque mode d'écoulement est caractérisé par un intervalle de valeur du nombre de Reynolds ; celui-ci sert ainsi d'échelle de référence. Le nombre de Reynolds est un nombre adimensionnel. Il traduit l'importance des forces d'inertie par rapport aux forces de viscosité. Dès lors, son expression théorique est :

$$Re = \frac{\rho \cdot \text{vitesse caractéristique} \cdot \text{longueur caractéristique}}{\mu}$$

où  $\rho$  est la densité du fluide ( $\text{kg/m}^3$ ),  $\mu$  la viscosité dynamique du fluide (Pa.s).

Lorsque le nombre de Reynolds est appliqué à une cuve agitée, la longueur caractéristique est le diamètre  $d$  de l'agitateur en mètre et la vitesse caractéristique est  $N \cdot d$  où  $N$  est la vitesse de rotation en  $\text{s}^{-1}$ . L'expression du nombre de Reynolds devient :

$$Re = \frac{\rho N d^2}{\mu} = \frac{N d^2}{\nu}$$

Où  $\nu$  est la viscosité cinématique ( $\text{m}^2/\text{s}$ ).

### 1.1.1 L'écoulement laminaire ( $Re < 10 - 40$ ) [VER05],[ROUb]

L'écoulement laminaire est caractérisé par des valeurs du nombre de Reynolds très faibles. Ce régime est décrit par des trajectoires de paquets de fluides toutes parallèles et l'absence de mouvement de fluide dans une autre direction que celle imposé par l'agitateur. Dès lors, le mélange entre couches parallèles n'a lieu que par diffusion moléculaire et est indépendante de la puissance fournie qui est dissipée sous forme de chaleur par le frottement visqueux.

### 1.1.2 L'écoulement transitoire ( $10 - 40 < Re < 10\ 000 - 100\ 000$ ) [VER05]

L'écoulement transitoire est décrit par l'apparition de tourbillons instables: ils se forment en un point et disparaissent presque instantanément pour se reformer ailleurs. À des vitesses de rotation croissantes, cette turbulence apparaît d'abord dans le voisinage immédiat de l'agitateur et gagne ensuite progressivement le reste de la cuve. Le passage d'un régime à l'autre dépend de causes qui provoquent la naissance de tourbillons. En effet, les perturbations existantes au sein du fluide en mouvement ne peuvent pas se maintenir pour des faibles nombres de Reynolds inférieurs à une valeur comprise entre 10 et 40. Elles sont au contraire d'autant plus facilement entretenues que le nombre de Reynolds est élevé et supérieur à des valeurs de 10 000 à 100 000. Dans une cuve agitée, la valeur du nombre de Reynolds pour lequel les transitions se font entre les différents écoulements est fonction de la configuration du système d'agitation : hauteur de liquide par rapport au diamètre de la cuve, présence et nombre de baffles, rapport des diamètres du mobile d'agitation et de la cuve, position, type et géométrie du mobile d'agitation...

### 1.1.3 L'écoulement turbulent ( $10\ 000 - 100\ 000 < Re$ ) [VER05], [ROUb], [MAR07]

Lorsque l'écoulement devient suffisamment rapide, ou que les particules de fluide subissent des accélérations assez sévères pour que s'établissent des composantes de vitesse perpendiculaires à l'écoulement principal, l'écoulement devient turbulent. Expérimentalement des tourbillons et des structures en filaments sont observés, ce sont les structures cohérentes. Ces structures ont un spectre de taille. Les plus grandes ont une taille du même ordre de grandeur que le diamètre de l'agitateur ; les plus petites ont une dimension caractéristique de quelques microns. Lorsque la turbulence est observée en un point fixe, il est constaté que celle-ci n'est pas uniforme dans le temps mais que des bouffées de turbulence se produisent aléatoirement. Ce phénomène s'appelle l'intermittence de la turbulence. De ces deux constatations, il est déduit que la turbulence est hétérogène dans le temps et dans l'espace.

Différents modèles ont été mis au point pour décrire la turbulence.

Un premier modèle est l'approche de Reynolds. Celui-ci décrit l'écoulement turbulent comme un écoulement moyen auquel se superpose un écoulement fluctuant dans le temps. Par exemple, la composante horizontale de la vitesse d'une particule de fluide  $U_x$  est égale à la somme de la vitesse moyenne  $\overline{U}_x$  et d'une fluctuation aléatoire  $u_x$  telle que la moyenne de ces fluctuations  $\overline{u_x}$  soit nulle.

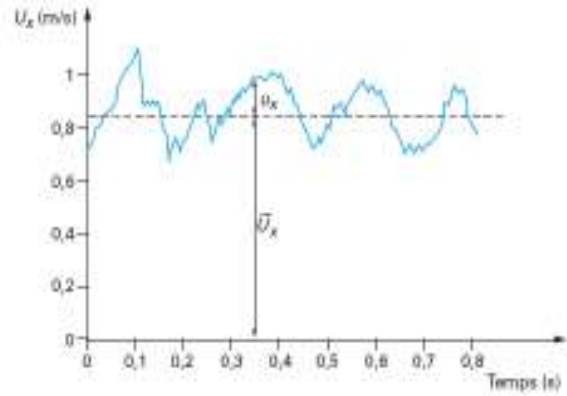


Figure I-1: Evolution en fonction du temps de la vitesse en un point donné

Lorsque cette décomposition est réalisée dans les bilans de matière, de chaleur et d'impulsion, les moyennes du produit de deux variables, comme par exemple  $\overline{u_x \cdot u_y}$  ne s'annulent pas car la moyenne du produit de deux variables aléatoires n'est pas égale au produit de leurs moyennes lorsqu'elles sont corrélées. Dès lors, le nombre d'inconnues dans les bilans augmente alors que le nombre d'équations reste inchangé. Le système est dit non fermé ; des équations supplémentaires devront être introduites pour déterminer les inconnues. Ces équations sont obtenues en écrivant des modèles de turbulence. Citons par exemple, le modèle Boussinesq qui postule que l'écoulement turbulent possède une viscosité accrue appelée la viscosité turbulente  $\nu_T$ . Cette viscosité est reliée à la grandeur  $-\rho \overline{u_i \cdot u_j}$ , appelée le tenseur de contrainte de Reynolds à deux dimensions par la relation :

$$-\rho \cdot \overline{u_i \cdot u_j} = \rho \cdot \nu_T \frac{\partial \overline{U}_x}{\partial y},$$

où  $\rho$  est la densité du fluide et  $U_x$  la vitesse suivant l'axe x. L'introduction de cette expression dans le bilan d'impulsion permet de le résoudre après avoir déterminé la valeur de la viscosité turbulente.

Un second modèle, qui décrit l'écoulement turbulent au même titre que l'approche de Reynolds, est le modèle de la turbulence homogène et isotrope de Kolmogorov. Celui-ci bien qu'étant en contradiction avec l'hétérogénéité de la turbulence donne de bons résultats en première approximation. Ce modèle suppose que la turbulence est homogène et isotrope. Dès lors  $u'_x = u'_y = u'_z$  où  $u'$  fait référence à la valeur quadratique moyenne de la fluctuation. Il stipule également que les grands tourbillons, créés par le mouvement de l'agitateur et caractérisés par des basses fréquences de rotation, conduisent à une cascade de structures de

plus en plus petites, qui tournent de plus en plus vite, entre lesquelles se transfère l'énergie. Dans les structures les plus petites et tournant extrêmement vite (micro échelle), les gradients de vitesses sont très élevés et les forces de frictions visqueuses contrecarrent leur mouvement en transformant irréversiblement l'énergie cinétique en énergie vibrationnelle moléculaire, qui est finalement dissipée en chaleur.

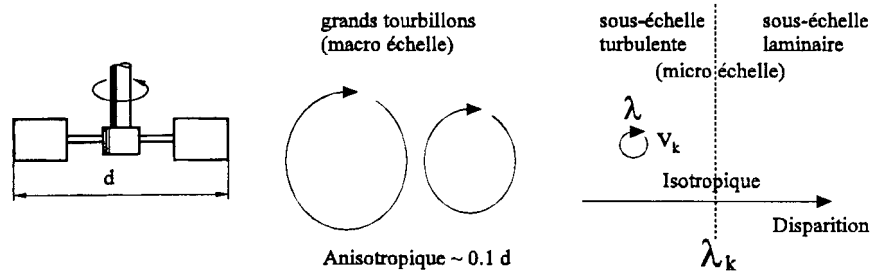


Figure I-2: Concept de Kolmogoroff d'un spectre de taille de tourbillons

Cette échelle à partir de laquelle les forces d'impulsion (turbulentes) et les forces visqueuses (laminaires) s'équilibrent et en dessous de laquelle la dissipation visqueuse prend place est appelée l'échelle de Kolmogorov  $\lambda_k$ . Les petites structures sont alimentées en permanence en énergie car les bouffées de fluide sont renouvelées par l'agitation constante du mobile. Cet état stationnaire implique que la taille des petits tourbillons est indépendante de la taille des gros tourbillons et ne dépend que de la puissance dissipée localement. Cette puissance  $\varepsilon$  dissipée par unité de masse vaut :  $\varepsilon \sim \frac{u'^3}{\lambda_k}$ . Dans un dispositif d'agitation donné, cette

puissance dissipée sera proportionnelle à la puissance volumique d'agitation  $\frac{P}{V}$ . Le facteur de proportionnalité va dépendre du point considéré dans la cuve et du type d'agitateur.

#### 1.1.4 Les mobiles d'agitation [VER06], [ROUb]

Deux famille d'agitateurs existent : Les agitateurs axiaux et les agitateurs radiaux.

Il est évident que l'écoulement généré dans une cuve dépend fortement du type de mobile d'agitation utilisé. La forme et la disposition d'un agitateur dans une cuve doivent être adaptées aux fonctions que doit remplir l'agitateur :

- La première fonction est le transfert de l'énergie au fluide pour le mettre en mouvement. Cette fonction est appelée l'action de pompage ;

- La seconde est le mélange des composants du fluide impliqués dans le procédé. Cette fonction est appelée l'action de turbulence.

Le volume de la cuve agitée peut être décomposé en deux régions dont le degré de mélange est très différent. Dans la région proche de l'agitateur, le mélange va être important et cette région est caractérisée principalement par l'action de turbulence. Dans le reste du récipient, le fluide circule, sous l'action du pompage, selon des boucles de recirculation et le mélange est beaucoup moins intense et se fait par diffusion moléculaire et par « dispersion laminaire ». Cette dernière résulte du fait qu'il existe des distributions de vitesses des différents filets fluides et des dispersions de longueurs des boucles de circulation. Le résultat de l'opération de mélange dépendra du rapport de ces deux actions dont la valeur sera essentiellement liée au type et à la géométrie de l'agitateur.

Il existe une grande variété d'agitateurs dont les caractéristiques dépendent de l'application à laquelle ils sont destinés. Les différentes formes peuvent être classées en plusieurs catégories selon les critères suivants :

- la direction de l'écoulement secondaire qui est induit (radial, axial) ;
- le rapport des diamètres de l'agitateur et de la cuve ;
- la gamme de viscosité dans laquelle ils sont utilisables, ...

Dans la mesure où tout agitateur crée un écoulement tangentiel par la transmission de son mouvement rotatif au liquide, l'écoulement dans une cuve agitée est nécessairement tridimensionnel. Néanmoins, la présence de contre pales, leur position et leur nombre réduit fortement cette composante tangentielle par rapport aux composantes situées dans un plan vertical. En pratique, il s'est avéré utile de différencier les mobiles d'agitation selon la direction de l'écoulement principal à la sortie de l'agitateur. Nous distinguons les mobiles à courant radial et les mobiles à courant axial.

Le mobile à courant radial expulse le fluide perpendiculairement à l'axe de l'agitation. Les lignes de courant atteignent la paroi de la cuve et se divisent en deux. Les particules de fluides sont ensuite ramenées vers l'agitateur par des boucles de recirculation qui divisent la cuve en quatre régions différentes.

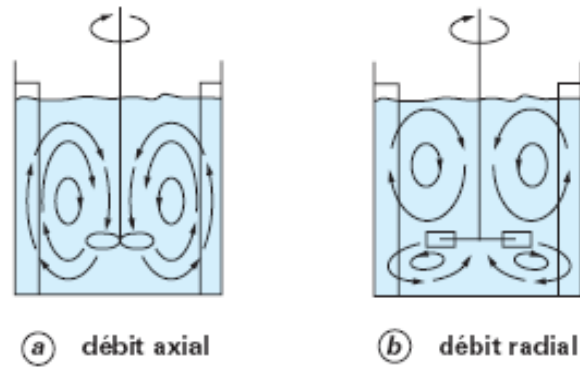


Figure I-3: Représentation de l'écoulement dans les agitateurs axiaux et radiaux

Ce type de mobile crée des effets de cisaillement importants et est appelé mobile de turbulence. Les turbines de Rushton et les turbines à pales incurvées font partie de cette catégorie d'agitateur.



Figure I-4: Mobile radial: à gauche: turbine Rushton à 6 pales droites. à droite: turbine droite à 6 pales incurvées

Le mobile à courant axial pompe le fluide dans la direction parallèle à l'axe d'agitation. Les lignes de courant se divisent en deux au fond du récipient. L'écoulement est caractérisé par deux zones de recirculation. Ces mobiles assurent une circulation du fluide importante et sont appelés des mobiles de pompage. Se trouvent dans cette catégorie des mobiles tels que l'hélice marine, la turbine à pales inclinées ou d'autres mobiles de conception plus élaborée et de marques déposées.

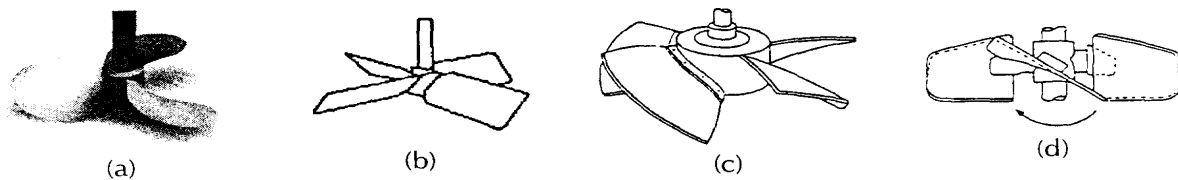


Figure I-5: Mobiles axiaux (a) hélice marine, (b) turbine à pales inclinées, (c) Prochem Maxflo Hydrofoil, (d) Lightnin A315

## 1.2 Les paramètres globaux du mélange

### 1.2.1 La puissance volumique dissipée [VER05], [ROUb], [EKA91]

Comme explicité dans l'introduction, la culture cellulaire étudiée dans ce mémoire est sensible aux contraintes mécaniques. Dès lors, la puissance volumique dissipée est un élément clé du scale-up. Il convient d'expliciter les notions qui y sont liées. Premièrement, il faut différencier la puissance volumique dissipée de la puissance consommée par le moteur. La première est mesurée directement sur l'arbre du moteur d'agitation ; elle correspond aux énergies mécanique et thermique effectivement transférées au fluide par unité de temps et par unité de volume. Il faut y ajouter les divers rendements mécaniques et électriques du moteur pour calculer la puissance consommée par celui-ci.

Si le mobile d'agitation est assimilé à une pompe et que la puissance dissipée est calculée par l'équation de Bernoulli, alors :

$$P = \Delta p Q_p$$

où  $Q_p$  est le débit volumétrique ( $\text{m}^3/\text{s}$ ) et  $\Delta p$  la variation de pression (Pa).

Le débit volumétrique pompé  $Q_p$  est égal au produit de la vitesse périphérique des pales  $v_p (= \pi N d)$  et de la section balayée  $A$ . Pour un mobile à écoulement axial  $A = \frac{\pi d^2}{4}$ , et pour un mobile à écoulement radial  $A = \pi L d$  où  $L$  est la hauteur de la pale avec  $L = c d$  où  $c$  est une constante. La section balayée  $A$  est donc proportionnelle à  $d^2$  dans tous les cas, ce qui entraîne :

$$Q_p \propto N d^3$$

L'augmentation de pression  $\Delta p$  est contrebalancée par les pertes de charges du système qui sont calculées selon la même expression que celle utilisée pour déterminer la perte de charge dans une conduite. Elles sont proportionnelles au coefficient de frottement  $\zeta (-)$ , à la densité  $\rho$  ( $\text{kg}/\text{m}^3$ ) et au carré de la vitesse de l'écoulement  $U$  ( $\text{m}/\text{s}$ ) :

$$\Delta p \propto \zeta \rho U^2$$

Or la vitesse de l'écoulement est relié au débit volumique par:  $U = \frac{Q_p}{A} \Rightarrow U \propto \frac{N d^3}{d^2}$

D'où  $\Delta p \propto \zeta \rho N^2 d^2$

Et finalement :  $P \propto \zeta \rho N^3 d^5$

C'est la relation fondamentale utilisée pour le calcul de la puissance dissipée en mélange, où  $\zeta$  et les autres coefficients de proportionnalité sont regroupés pour former le nombre de puissance  $N_p$  (adimensionnel), également appelé nombre de Newton ou nombre d'Euler :

$$P = N_p \rho N^3 d^5$$

Le nombre de puissance  $N_p$  est équivalent à un coefficient de frottement dans les écoulements en conduite. Il dépend du nombre de Reynolds  $Re$ , de la géométrie et du nombre de Froude  $Fr$ . Ce dernier représente le rapport entre la force centrifuge et la gravité. Néanmoins les effets du nombre de Froude sont négligeables dans une cuve bafflée car les contre-pales empêchent la formation d'un vortex dans lequel les effets de gravité deviendraient non négligeables.

Dès lors, en l'absence de vortex, la relation qui lie le nombre de puissance au Reynolds est du type :

$$N_p = k \cdot Re^x$$

Où les valeurs de  $k$  et de  $x$  dépendent du régime d'écoulement et de la géométrie étudiée.

La représentation de l'évolution du nombre de puissance en fonction du nombre de Reynolds est appelée la courbe de puissance.

Des exemples sont repris dans la figure 6

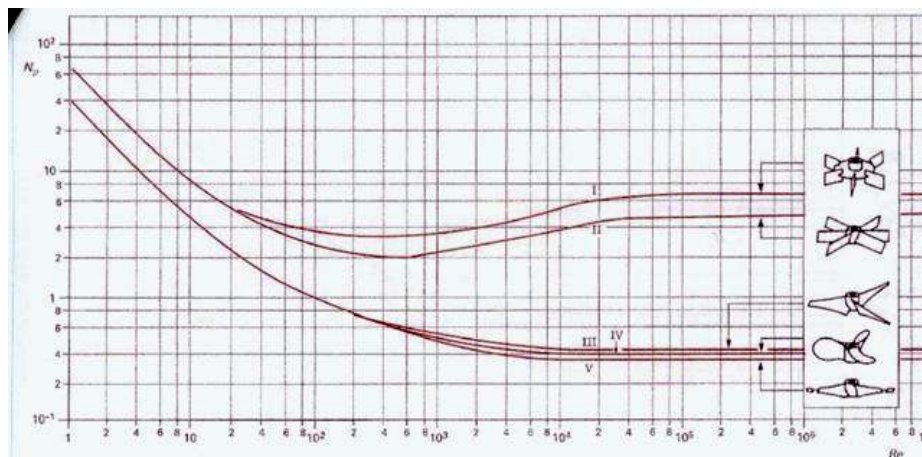


Figure I-6: Courbe de puissance pour divers agitateurs. ( H/L=1)

Fondamentalement, trois zones différentes se distinguent (les bornes sont données à titre indicatif puisque le passage d'un régime à l'autre varie en fonction du fluide, du mobile, de la géométrie globale) :



- $Re < 10$  : en régime laminaire, le nombre de puissance diminue inversement au nombre de Reynolds :

$$N_p \propto Re^{-1} \quad \text{ou} \quad N_p = \frac{c}{Re} = \frac{c \cdot \nu}{N \cdot d^2}$$

$P$  varie donc en fonction de la viscosité. La valeur de la constante  $c$  dépend du mobile d'agitation.

- $10 < Re < 10^4$  : en régime transitoire, il n'y a pas de relation simple entre  $N_e$  et  $Re$ . La forme de la courbe est différente selon le schéma d'écoulement engendré par le mobile.
- $Re > 10^4$  : en régime turbulent et en présence de contre-pales, le nombre de puissance est constant et indépendant du nombre de Reynolds. Cela signifie que l'on a

$$P \propto N^3 d^5$$

Dans ce cas,  $P$  est indépendante de la viscosité et fortement dépendante du diamètre du mobile  $d$ .

Bien que les fabricants fournissent des abaques de  $N_p$  versus  $Re$  pour de larges gammes du nombre de Reynolds et de la viscosité, la dépendance exacte entre ces grandeurs n'est que rarement connue ou disponible dans la littérature publique. De nombreux facteurs géométriques influencent la valeur de la puissance dissipée : position de l'agitateur, nombre de mobiles, présence et nombre de contre-pales, hauteur de liquide, etc. La méthode la plus exacte est de le déterminer expérimentalement dans le cas du dispositif étudié.

Une deuxième méthode pour caractériser la puissance dissipée est de définir la hauteur théorique  $H^*$  du mobile d'agitation. Cette hauteur théorique représente la hauteur théorique qu'une pompe dissipant la même puissance réaliserait. Elle est calculée par la relation :  $P = \rho \cdot g \cdot Q_p \cdot H^*$ . La hauteur théorique  $H^*$  est lié directement à la turbulence créée au sein de la solution. Elle sera utilisée par la suite pour comparer l'action de la turbulence et l'action de pompage de l'agitateur.

### 1.2.2 Le débit de pompage et le débit de circulation [VER05], [ROUb], [EKA91]

Il est plus difficile de définir le débit volumique  $Q$  dans le cadre d'un écoulement libre comme celui qui existe dans une cuve agitée que dans le cas de l'écoulement d'un fluide dans une conduite. Des effets d'entraînement existent entre les filets de fluide qui passent réellement dans l'agitateur et ceux situés dans le reste de la cuve. Nous devons donc différencier le débit de pompage primaire  $Q_p$  (qui prend place uniquement sur la hauteur d'un mobile radial ou sur la largeur d'un mobile axial) du débit de circulation  $Q_c$  (ou de pompage secondaire), qui prend en compte l'entraînement du fluide adjacent et qui est donc supérieur au débit de pompage primaire. Ce débit de circulation  $Q_c$  correspond au débit total entraîné et peut valoir jusqu'à 2,5 fois plus que le débit de pompage, bien que d'autres auteurs affirment qu'expérimentalement ce rapport vaut 1,8.

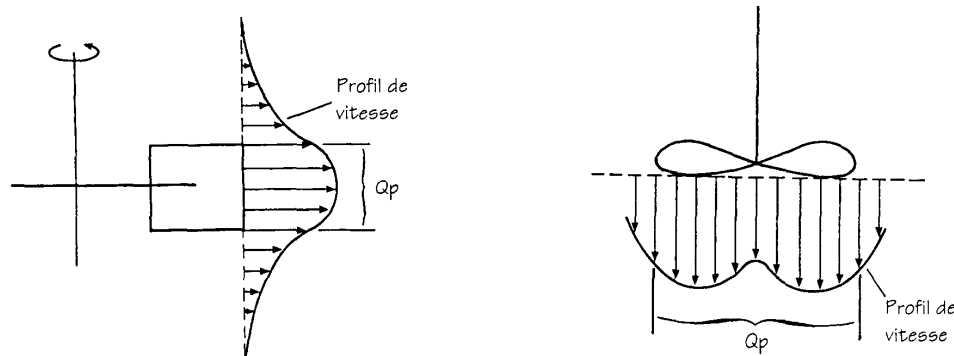


Figure I-7: Débit de pompage  $Q_p$  pour un mobile radiale (gauche) et pour un mobile axiale (droite)

Les débits de pompage  $Q_p$  et de circulation  $Q_c$  se calculent comme suit pour un mobile axial :

$$Q_p = 2\pi \int_0^{r_2} v_{axiale}(r, z=0) r dr$$

$$Q_c = 2\pi \int_0^{r_0} v_{axiale}(r, z) r dr$$

Avec  $r$  la distance par rapport à l'axe de l'agitateur et  $z$  la distance sous l'agitateur.

Notons  $r_2$  est le rayon de l'agitateur tandis que  $r_0$  est la distance mesurée par rapport à l'axe de l'agitateur à partir de laquelle la vitesse  $v_{axiale}$  s'annule.

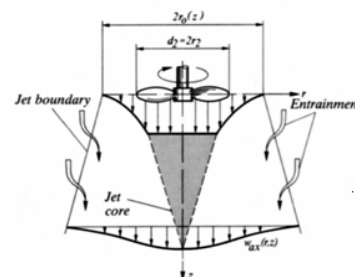


Figure I-8: Définition du débit de pompage et de circulation

Seule la composante de la vitesse axiale est prise en compte. Cette façon de faire provient de l'analogie avec une pompe sans calandre qui débite un volume par unité de temps égale à celui du mobile. La composante radiale n'est pas prise en compte car le fluide ne sait pas sortir radialement à travers la paroi de la pompe. La valeur de débit de pompage ainsi calculée pourra être comparée à la hauteur théorique équivalente de cette même pompe. En effet, le débit de pompage caractérise l'action de pompage du mobile tandis que la hauteur théorique équivalente caractérise son action de turbulence. Ainsi un mobile qui a un rapport  $Q_p/H^*$  faible indique que celui-ci a tendance à dissiper rapidement sa puissance sous forme de turbulence. Le volume, dans lequel cette turbulence est dissipée, est faible. Ce type de mobile est appelé « mobile à turbulence » ; il s'agit principalement des mobiles à écoulement radial. A l'opposé, lorsque qu'un mobile a un rapport  $Q_p/H^*$  élevé, il transmettra d'abord son énergie sous forme de débit avant que celle-ci ne se transforme de lui-même en turbulence après un certain temps. Ainsi, la turbulence sera répartie de manière plus homogène dans le volume liquide. Ces mobiles appelés « mobile à pompage » sont généralement des agitateurs à écoulement axial.

Expérimentalement, il est démontré que le débit de pompage est proportionnel à la vitesse de rotation du mobile  $N$  et proportionnel au cube du diamètre du mobile  $d$ , ainsi :

$$Q_p = N_{Qp} N d^3$$

Le coefficient de proportionnalité  $N_{Qp}$  est appelé le nombre de pompage. Sa valeur dépend de la géométrie du système et du régime hydrodynamique et donc du nombre de Reynolds. Pour des écoulements turbulents,  $N_{Qp}$  devient constant et indépendant du Reynolds.

De la même façon que le nombre de pompage, le nombre de circulation  $N_c$  (-) se définit comme :

$$N_{Qc} = \frac{Q_c}{N d^3}$$

Nous constatons que, similairement au rapport  $\frac{Q_c}{Q_p}$ , le rapport  $\frac{N_{Qc}}{N_{Qp}}$  est proche de 2, car :

$$\frac{N_{Q_c}}{N_{Q_p}} = \frac{\frac{Q_c}{N d^3}}{\frac{Q_p}{N d^3}} = \frac{Q_c}{Q_p}$$

Une autre grandeur, qui est déduite du débit de pompage, est le temps de pompage. Elle est obtenue en divisant le volume de liquide contenu dans la cuve par le débit de pompage. Il est défini comme étant l'intervalle de temps moyen entre deux passages d'une même particule de fluide dans l'agitateur. De même, on obtient le temps de circulation en divisant le volume de liquide par le débit de circulation. Ce temps représente l'intervalle de temps moyen entre deux passages dans le même sens d'une particule de fluide à travers un plan horizontal bien défini.

### 1.2.3 Mélange et temps de mélange [VER05], [ROUb], [MAR07]

Le mélange peut être défini comme le processus qui diminue l'hétérogénéité d'un système, par exemple le contenu d'une cuve. Différents mécanismes contribuent pour réduire les hétérogénéités. En régime laminaire, la diffusion intervient principalement. Dans ce processus, les molécules agitées par les mouvements thermiques browniens semblent décrire une marche aléatoire dans les trois directions de l'espace. La conséquence de cette marche aléatoire est que la diffusion n'est pas efficace pour de grandes distances. Par contre, elle conduit à une homogénéisation parfaite pour les très petites échelles et après un temps suffisant. C'est le mécanisme ultime de mélange. En régime turbulent, différents mécanismes interviennent à différentes échelles. Lorsqu'un fluide est mélangé à une autre, lors d'un test de traceurs par exemple, des agrégats de fluides vont se former sous l'influence des gradients de vitesses. Ces agrégats ont une concentration homogène mais la concentration et la composition évoluent d'un agrégat à l'autre. Sous l'effet du cisaillement turbulent, la taille des agrégats diminue progressivement ; la surface de contact entre agrégats augmente par conséquence. La taille des agrégats diminue jusqu'à l'échelle de Kolmogorov où les forces de viscosité l'emportent sur l'action de la turbulence. Pour des tailles plus petites que l'échelle de Kolmogorov, le mélange est assuré par le cisaillement laminaire et la diffusion moléculaire jusqu'à une dimension en-dessous de laquelle la diffusion efface les variations de concentrations restantes. Cette dimension est l'échelle de Batchelor ; elle est de l'ordre de grandeur du micron.

Le temps de mélange  $t_M$  est défini comme étant l'intervalle de temps nécessaire entre le début de l'agitation et le moment où un degré d'homogénéisation choisi est obtenu dans des conditions d'agitations bien déterminées. L'état initial est généralement réalisé par l'injection instantanée d'une certaine quantité de traceur. La définition d'une composition uniforme dépend de l'échelle à laquelle on se situe. Il est bien évident que le temps de mélange ne sera pas le même si on se situe à l'échelle du millilitre ou à l'échelle moléculaire. Le temps de mélange est fonction des caractéristiques physico-chimiques du fluide à mélanger, des conditions d'agitation et du système cuve-agitateur.

Pour un système d'agitation donné et en régime turbulent, une loi du type :  $N.t_M = k' Re^x$  a été trouvée expérimentalement.  $k'$  et  $x$  sont des constantes qui dépendent uniquement du type de mobile.

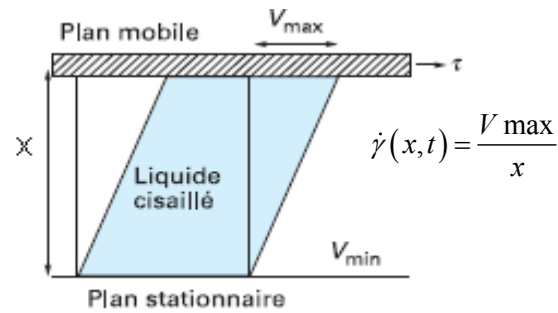
### 1.3 Paramètres locaux du mélange

Dans une cuve agitée par un mobile, la vitesse des particules de fluide n'est pas la même partout mais caractérisée par un champ de vitesses ; Elles sont maximales dans la zone d'éjection du mobile et évoluent le long des différentes boucles de recirculation. Grâce aux mesures P.I.V., nous avons accès à ce champ de vitesses sous la forme d'un tableau reprenant la norme et les composantes des vecteurs vitesses disposés à des intervalles réguliers dans le plan éclairé par le laser. Cette information nous permet de calculer le gradient des vitesses moyennes et instantanées et d'accéder à la répartition du cisaillement et de la dissipation d'énergie dans le plan éclairé par le laser.

#### 1.3.1 Le cisaillement [EKA91], [VER05]

Le cisaillement est classiquement introduit par l'exemple suivant : lorsqu'un fluide est placé entre deux plaques parallèles, l'une immobile, l'autre se déplaçant à la vitesse  $v$ , un gradient de vitesse perpendiculaire à l'écoulement va s'établir dans le fluide. En effet, les particules de fluide, situées au niveau de la plaque immobile, ont une vitesse nulle ; tandis que celles, situées au niveau de la plaque mobile, se déplacent à la vitesse  $v$ . La vitesse de cisaillement, liée à ce gradient de vitesses, est définie par :

$$\dot{\gamma}(x,t) = \frac{dv(x,t)}{dx}$$

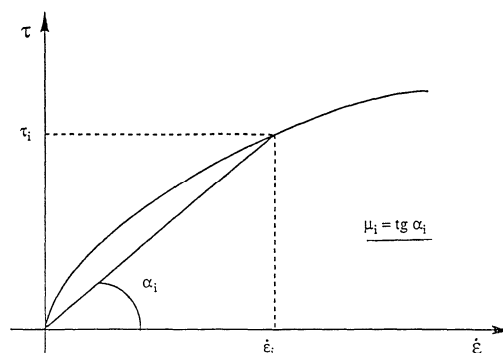


**Figure I-9: Représentation du cisaillement au sein d'un matériau pris en sandwich entre deux plans parallèles dont l'un est fixe et l'autre est mobile**

où  $x$  est orienté selon la direction du gradient de vitesse. Elle s'exprime en  $s^{-1}$  et est appelé le « shear rate » en anglais. Suite à ce mouvement laminaire de cisaillement, deux couches adjacentes se déplacent l'une par rapport à l'autre, ce qui engendre des forces de frottement parallèlement à la surface des couches. Ces forces tangentielles  $F$  sont appelées forces de cisaillement. Le rapport de la force de cisaillement par unité de surface définit la contrainte de cisaillement  $\tau = \frac{dF}{dS}$ . Cette contrainte de cisaillement, appelé « shear stress » en anglais, a la dimension d'une pression et s'exprime en Pascal.

La contrainte de cisaillement et la vitesse de cisaillement sont reliées par une loi rhéologique qui dépend de la nature et des propriétés du matériau. En effet, la vitesse de cisaillement résultant de l'application d'une contrainte de cisaillement dépend de la résistance que la substance oppose à l'écoulement. Cette résistance est appelée la viscosité du fluide et les trois grandeurs sont reliées par la loi rhéologique suivante :

$$\tau = \mu \dot{\gamma}$$



**Figure I-10: Contrainte de cisaillement en fonction de la vitesse de cisaillement**

Si une substance a une viscosité qui est indépendante de la contrainte de cisaillement, on l'appelle un fluide Newtonien. Dans ce cas, la représentation de la contrainte en fonction de la

vitesse de cisaillement sera une droite. A l'opposé, on appelle un fluide Non - Newtonien ceux dont la viscosité varie avec la contrainte de cisaillement.

Dans une cuve agitée, les particules de fluides voisines se déplacent à des vitesses différentes. Grâce aux mesures P.I.V., nous connaissons les composantes de la vitesse comprises dans le plan éclairé par le laser. En parallèle avec l'écoulement entre deux plaques, nous pouvons définir le cisaillement de la composante  $U_x$  de la vitesse comme le gradient de cette composante dans la direction  $y$  et le cisaillement de la composante  $U_y$  de la vitesse comme le cisaillement de cette composante dans la direction  $x$ .

### 1.3.2 La dissipation de l'énergie [Mar07],[BAL],[EKA91]

Physiquement, la dissipation de l'énergie peut être expliquée de la sorte :

Lorsque des particules de fluide frottent les unes sur les autres, une partie de leur énergie cinétique est transformée irréversiblement en chaleur dû aux frottements visqueux. La vitesse à laquelle cette énergie mécanique est transformée en chaleur en chaque point est appelée la dissipation de l'énergie en ce point. L'importance de la dissipation sera d'autant plus élevée que le gradient de vitesse entre les particules de fluide est important et que la viscosité et dès lors les frottements visqueux sont élevés.

Cette dissipation d'énergie intervient à l'échelle de Kolmogorov. En effet, les gradients de vitesses et les frottements visqueux sont les plus élevés dans les petits tourbillons tournant à la fréquence la plus élevée sur eux-mêmes. La théorie de Kolmogorov a été expliquée au point 1.1.3, nous conseillons donc au lecteur de relire cette section.

Il existe de nombreuses expressions pour calculer la puissance dissipée  $\varepsilon$  en chaque point. Elles ont toutes la structure d'un gradient de la fluctuation de la vitesse  $u$  au carré multiplié par la viscosité. Nous utiliserons dans ce travail celle proposée par Baldi& al [BAL] qui est la plus complète :

$$\varepsilon = \nu \cdot \left\{ \begin{array}{l} 2 \cdot \left[ \overline{\left( \frac{\partial u_x}{\partial x} \right)^2} + \overline{\left( \frac{\partial u_y}{\partial y} \right)^2} + \overline{\left( \frac{\partial u_z}{\partial z} \right)^2} \right] + 2 \cdot \left( \overline{\frac{\partial u_x}{\partial y} \cdot \frac{\partial u_y}{\partial x}} + \overline{\frac{\partial u_x}{\partial z} \cdot \frac{\partial u_z}{\partial x}} + \overline{\frac{\partial u_y}{\partial z} \cdot \frac{\partial u_z}{\partial y}} \right) \\ + \overline{\left( \frac{\partial u_x}{\partial z} \right)^2} + \overline{\left( \frac{\partial u_y}{\partial z} \right)^2} + \overline{\left( \frac{\partial u_z}{\partial y} \right)^2} + \overline{\left( \frac{\partial u_x}{\partial y} \right)^2} + \overline{\left( \frac{\partial u_y}{\partial x} \right)^2} + \overline{\left( \frac{\partial u_z}{\partial x} \right)^2} \end{array} \right\}$$

Par les mesures P.I.V., seules les fluctuations de vitesses  $u_x$  et  $u_y$  ainsi que les gradients  $\left(\frac{\partial u_x}{\partial x}\right), \left(\frac{\partial u_y}{\partial y}\right), \left(\frac{\partial u_z}{\partial y}\right), \left(\frac{\partial u_x}{\partial y}\right)$  sont accessibles. Les gradients non mesurés seront obtenus en supposant une turbulence isotropique. Dès lors, en coordonnées cylindriques où les vecteurs  $r$  et  $z$  sont compris dans le plan du laser caractérisé par un  $\varphi=0^\circ$ , les grandeurs sont reliées par les relations suivantes :

$$\begin{aligned} \overline{\left(\frac{\partial u_\varphi}{\partial \varphi}\right)^2} &= \frac{1}{2} \cdot \left\{ \left[ \overline{\left(\frac{\partial u_r}{\partial r}\right)^2} + \overline{\left(\frac{\partial u_z}{\partial z}\right)^2} \right] \right\} \\ \overline{\left(\frac{\partial u_r}{\partial \varphi}\right)^2} &= \overline{\left(\frac{\partial u_\varphi}{\partial r}\right)^2} = \overline{\left(\frac{\partial u_z}{\partial \varphi}\right)^2} = \overline{\left(\frac{\partial u_\varphi}{\partial z}\right)^2} = \frac{1}{2} \cdot \left\{ \left[ \overline{\left(\frac{\partial u_r}{\partial z}\right)^2} + \overline{\left(\frac{\partial u_z}{\partial r}\right)^2} \right] \right\} \\ \overline{\frac{\partial u_r}{\partial \varphi} \cdot \frac{\partial u_\varphi}{dr}} &= \overline{\frac{\partial u_z}{\partial \varphi} \cdot \frac{\partial u_\varphi}{dz}} = -\frac{1}{4} \cdot \left\{ \left[ \overline{\left(\frac{\partial u_r}{\partial r}\right)^2} + \overline{\left(\frac{\partial u_z}{\partial z}\right)^2} \right] \right\} \end{aligned}$$

Ainsi, l'expression de la dissipation d'énergie devient :

$$\varepsilon = \nu \cdot \left\{ 2 \cdot \overline{\left(\frac{\partial u_r}{\partial r}\right)^2} + 2 \cdot \overline{\left(\frac{\partial u_z}{\partial z}\right)^2} + 3 \cdot \overline{\left(\frac{\partial u_r}{\partial z}\right)^2} + 3 \cdot \overline{\left(\frac{\partial u_z}{\partial r}\right)^2} + 2 \cdot \overline{\frac{\partial u_r}{\partial z} \cdot \frac{\partial u_z}{dr}} \right\}$$

Cette expression sera appliquée pour le calcul de répartition de la dissipation de l'énergie dans le plan éclairé par le laser.



## 2 La suspension des particules dans une cuve agitée

[PEE06], [ROU6], [EKA91]

Comme indiqué dans l'introduction, un des objectifs poursuivis dans ce travail est la caractérisation de la répartition des microporteurs dans la cuve agitée en fonction de la vitesse d'agitation. Afin de comprendre la méthodologie qui sera suivie dans les chapitres suivants, introduisons deux notions fondamentales.

La première est l'état de la suspension. En effet, il faudra distinguer une suspension partielle, d'une suspension complète et d'une suspension uniforme. La première se caractérise par le fait qu'une partie seulement des particules est mise en suspension ; les plus grosses restent sur le fond de la cuve. A l'opposé, toutes les particules sont mises en suspension dans une suspension complète mais la concentration n'est pas uniforme partout. La concentration est uniforme dans la cuve lorsque la suspension uniforme est atteinte.

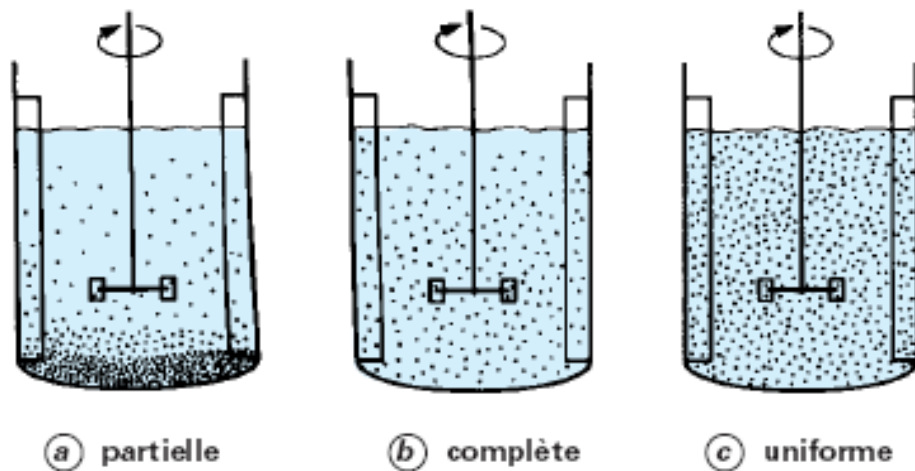
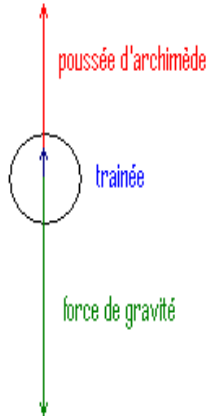


Figure I-11: Illustration d'une suspension partielle, complète et uniforme

Le choix de l'état de la suspension dépendra de l'objectif poursuivi lors de l'opération de mélange. Généralement, la suspension complète est choisie car elle permet d'accéder complètement à la surface disponible développée par l'aire extérieure des microporteurs sans pour autant consommer un surplus d'énergie nécessaire pour l'homogénéisation de la concentration.

La deuxième notion fondamentale est la sédimentation des microporteurs. Lorsqu'une particule chute dans un milieu liquide, plusieurs forces agissent sur elle :



**La force de gravité** exercée par l'attraction de la Terre :

$$F = \rho_{solide} \cdot V_{solide} \cdot g \text{ où } g \text{ est l'accélération de la pesanteur}$$

**La poussée d'Archimède** qui est la résultante des forces de pression exercée sur un solide lorsque celui-ci est plongé dans un liquide :

$$A = \rho_{liquide} \cdot V_{liquide \text{ déplacé}} \cdot g$$

**La force de traînée** qui résulte de l'effet de frottement entre la particule et le liquide adjacent :  $T = \frac{1}{2} \cdot C_x \cdot \rho_{liquide} \cdot A_s \cdot v^2$  où  $C_x$  est le coefficient de traînée ;  $A_s$  est la surface de la projection de la sphère sur le plan perpendiculaire à direction de la chute et  $v$  est vitesse de chute de la bille.

Au temps initial lorsque la vitesse de la particule et la force de traînée sont nulles, la particule accélère puisque la force de gravité est supérieure à la poussée d'Archimède. Très rapidement, suite à l'augmentation de la vitesse de chute et de la force de traînée, la particule atteint une vitesse limite constante résultant de l'égalité des forces orientées vers le bas et vers le haut. Dans le cas d'une particule sphérique de diamètre  $d$ , cette vitesse est calculée en égalisant les forces et vaut :

$$v_{limite} = \sqrt{\frac{4d}{3C_x} \left( \frac{\rho_{solide}}{\rho_{liquide}} - 1 \right) \cdot g}$$

Dans la littérature [15], le coefficient de traînée est relié au Reynolds de la particule par la

relation :  $C_x = \frac{Re_p}{24}$  où le Reynolds de la particule est défini par :  $Re_p = \frac{d_{particule} \cdot v_{limite} \cdot \rho_{liquide}}{\mu}$

Ainsi, l'expression de la vitesse limite devient :  $v_{limite} = \frac{d_p^2 \cdot (\rho_s - \rho_l) \cdot g}{18 \cdot \mu}$

Cette expression permet de mettre en évidence les grandeurs nécessaires pour modéliser la sédimentation de la particule; à savoir la densité du liquide et du solide, la taille de la particule et la viscosité du fluide. Néanmoins, lorsque plusieurs particules chutent dans un liquide, le coefficient de traînée d'une particule sera influencé par le sillage des autres particules. Cela modifiera la vitesse limite de chute. Zaki [9] a développé un modèle tenant compte de ces

interactions entre particules. Dans son modèle, il corrige la vitesse limite d'une seule particule par la concentration volumique en solide  $C_v$  en % et par un facteur empirique  $m$  :

$$v_{ss} = v_{limite} (1 - C_v)^m ]$$

$$\text{Où } m = 4,375 \cdot Re_p^{-0,0875}$$

Connaissant toutes les grandeurs nécessaires, la vitesse limite de chute peut ainsi être calculée. Afin de maintenir une suspension complète, la vitesse de chute des plus grosses particules doit être comparée à la vitesse ascensionnelle. Celle-ci est obtenue en divisant le débit de circulation à la section de passage du fluide ascendant. Le débit de circulation étant relié à la vitesse de rotation, ce raisonnement permet de déterminer la vitesse de rotation minimale à partir de laquelle on obtient une suspension complète.

## **Chapitre II**

---

### **Matériels et méthodes**

# 1 Cuve agitée

## 1.1 Cuve

L'installation expérimentale consiste en une cuve transparente en verre d'un diamètre intérieur  $D$  de 305 mm, munie de 2 contre-pales d'une largeur  $b$  de 30 mm. Le mobile est une hélice TT produite par Mixel. Deux agitateurs seront testés ; le premier a un diamètre  $d$  de 125 mm, le second a un diamètre  $d$  de 150 mm. Ils seront tous deux placés à une distance  $Y$  de 103 mm du fond de la cuve, ce qui correspond au tiers de la hauteur du fluide ( $H=315$ mm). Le fond de la cuve est hémisphérique et son volume utile est de 20 litres. Les figures 1 et 2 illustrent cet agencement :

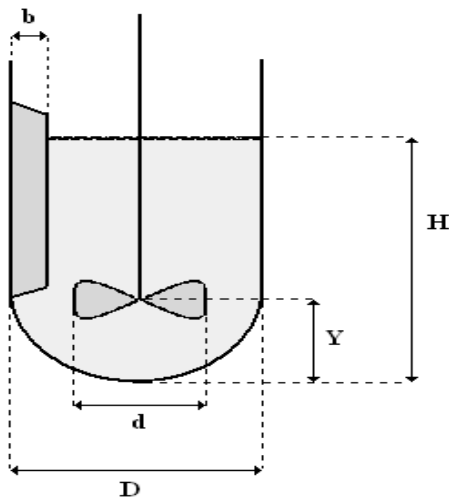


Figure II-1: Représentation de la géométrie du bioréacteur étudié



Figure II-2: Photographie de la cuve

La cuve doit être fabriquée en un matériau transparent pour permettre la réalisation des mesures P.I.V. et P.L.I.F. qui sont des méthodes optiques. De plus, si les mesures étaient réalisées telles quelles, les images apparaîtraient déformées en raison d'une part de la courbure de la cuve et d'autre part de la différence d'indice de réfraction entre l'air et le fluide présent dans la cuve. Pour remédier à ce problème, la cuve en verre est placée dans une cuve rectangulaire en plexiglas remplie également du même fluide.

## 1.2 Moteur

Deux moteurs ont été utilisés durant cette étude :

Le premier a été employé durant les mesures P.I.V. et P.L.I.F. Ses caractéristiques sont :

- Marque : Jane & Kunkel K.G
- Modèle : RM27W
- Puissance : 90 W
- Gamme de vitesses : 40 à 1440 rpm



Figure II-3: Moteur Jane & Kunkel K.G vu de profil (gauche) et de face (droite)

Le second acheté en cours d'expérimentation pour accéder à la mesure de la puissance dissipée se caractérise par :

- Marque : Heidolph
- Modèle : RZR 2102 Control
- Puissance : 100 W
- Gamme de vitesses: 12 à 2000 rpm



Figure II-4: Moteur Heidolph vu de profil (gauche) et de face (droite)

Le second moteur étant électronique, la vitesse réelle est affichée sur le panneau de commande. Par contre, le premier moteur étant nettement plus ancien et la vitesse étant réglée mécaniquement par un levier, elle est mesurée grâce à un phototachymètre dont les caractéristiques sont :

- Marque : Lutron
- Modèle : DT-2268
- Gamme de vitesses: 5 à 99999 rpm
- Résolution : 0.1 rpm
- Précision :  $\pm 0.05\%$  de la vitesse mesurée



Figure II-5: Phototachymètre Lutron vu de face (gauche) et d'en haut (droite)

Les vitesses de rotation appliquées lors de cette étude sont comprises entre 50 rpm et 120 rpm. Cette gamme de vitesses est imposée par les travaux réalisés préalablement par GSK. Elle permet de dissiper la même puissance que celle dissipée dans le réacteur de 80 L.

La mesure de la puissance dissipée est obtenue par la mesure du couple affichée par le moteur Heidolph.

### 1.3 Mobile d'agitation : Hélice TT de Mixel

L'hélice TT de Mixel est un mobile axial composé de 3 pales incurvées inclinées d'un angle moyen de  $45^\circ$ . La pale est composée de 4 paliers comme indiqué en pointillé sur la figure 6. Elle a une épaisseur de 2 mm et une hauteur de 27 mm. Deux diamètres de mobiles seront testés : 125 mm et 150mm.



Figure II-6: Schéma de principe de l'hélice TT vu d'en haut (a) et de profil (b)



Figure II-7: Hélice TT125



Figure II-8: Hélice TT150

## 2 Mesures P.I.V.

### 2.1 Principe [VER05], [PIVguide02]

La vélocimétrie par images de particules, communément appelée P.I.V. (Particle Image Velocimetry), est une méthode optique non intrusive permettant d'obtenir des cartes de vitesses instantanées dans un plan de l'écoulement étudié. Pour l'enregistrement des clichés, le fluide estensemencé par des microparticules fluorescentes de densité voisine à celle du fluide afin que ces microparticules suivent l'écoulement.

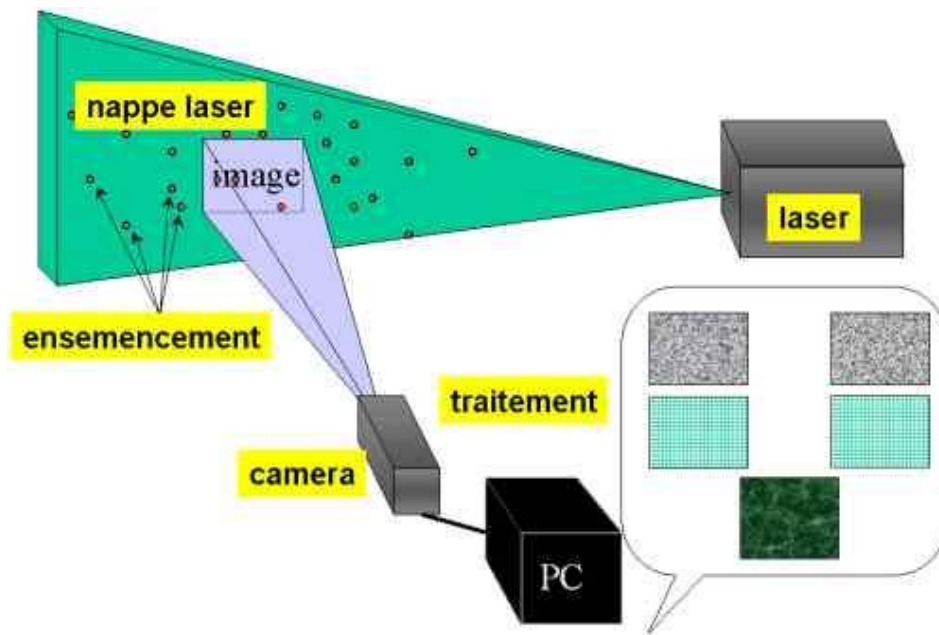


Figure II-9: Schéma de principe de la P.I.V.

Une source laser pulsée génère deux impulsions lumineuses décalées dans le temps d'un intervalle  $dt$  programmable. Ces impulsions traversent un dispositif optique qui transforme le faisceau en un plan de lumière. Les particules présentes dans ce plan sont ainsi éclairées à deux instants différents.

Une caméra CCD, placée perpendiculairement au plan lumineux, permet d'enregistrer les positions des particules pour chaque impulsion lumineuse, celles-ci étant enregistrées sur des clichés différents. L'enregistrement de ce doublet d'images est réalisé un grand nombre de fois.

Le champ de vitesses de l'écoulement  $\vec{V}$  peut être obtenu à partir de cette expérience en appliquant la formule suivante :

$$\vec{V} = \frac{1}{M} \left( \frac{\vec{D}}{\Delta t} \right)$$

où  $\vec{D}$  est le déplacement des particules pendant l'intervalle de temps  $dt$ , et  $M$  est facteur d'échelle qui existe entre la taille de l'objet sur l'image et sa taille réelle.

Les déplacements d'une particule durant  $dt$  peuvent être mesurés s'il est possible d'identifier dans chaque cliché le point lumineux qui correspond à la même particule, c'est-à-dire si le problème de correspondance de la P.I.V. peut être résolu. C'est réalisé par corrélation croisée (« cross-correlation »). Cette méthode est détaillée dans les paragraphes suivants.



## 2.2 Dispositif expérimental



(a)



(b)



(c)



(d)

**Figure II-10: Photographies (a) de l'installation au complet, (b) du laser, (c) des caméras CCD, (d) du corrélateur en temps réel**

Le système P.I.V.-P.L.I.F. Dantec 1500 system (Dantec, DK) comprend :

- Un laser Nd-Yag à double cavité d'une puissance 2x30 MJ qui produit un faisceau d'une longueur d'onde de 532 nm. Ce laser est le modèle Solo II-30 de la marque New Wave Gemini ;
- Deux caméras Hi/Sense P.I.V./ P.L.I.F. de  $1280 \times 1024$  pixels fournies par Dantec. Il s'agit de caméras CCD (Charge Coupled Device) équipées d'un objectif AF Micro Nikkor 60 mm F 2.8D de la marque Nikon ;
- Un processeur corrélateur en temps réel 2500 de la marque Dantec ;
- Le logiciel FlowManager version 4.00.27 produit par Dantec Dynamics ;
- L'ensemencement se fait au moyen de particules de résine de mélamine marquées à la rhodamine B (coloration rosée) d'un diamètre moyen compris entre 20 et 40  $\mu\text{m}$  et

d'une densité égale à  $1,5 \text{ g/cm}^3$ . Ces particules émettent un rayonnement maximum à une longueur d'onde de 590 nm. Un filtre est placé sur les caméras afin que le rayonnement émis par les particules soit enregistré tout en arrêtant le rayonnement émis par le laser. Ce filtre coupe le rayonnement dont la longueur d'onde est inférieure à 570 nm.

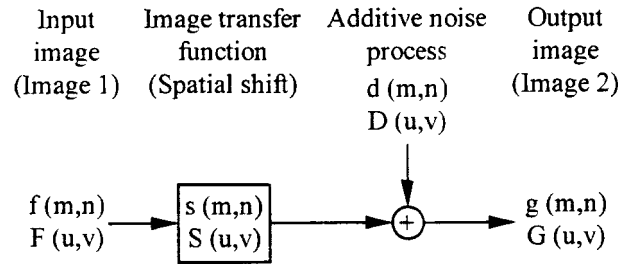
### 2.3 La corrélation croisée [VER06], [PIVguide02]

Autour de la résolution du problème de correspondance des particules, différentes étapes importantes du processus de traitement des images interviennent. Il est nécessaire de les décrire afin de comprendre la forme des résultats obtenus. Ces étapes sont :

- La division de l'image en fenêtres d'interrogations d'une taille de 32 pixels de large sur 32 pixels de long. Il y a environ 4000 fenêtres d'interrogations pour une image. Ces fenêtres doivent contenir un minimum de 5 à 10 particules afin d'obtenir un signal de bonne qualité ;
- La résolution du problème de correspondance pour les particules dans chaque fenêtre d'interrogations et l'obtention du déplacement moyen des particules comprises dans cette fenêtre ;
- Le calcul du vecteur moyen dans chaque fenêtre d'interrogation, calculé à partir du déplacement moyen et du temps entre les deux clichés ;
- La validation du vecteur obtenu. En effet, différents phénomènes parasites peuvent rendre le vecteur calculé complètement erroné. Par exemple, certaines particules sortent de la tranche de fluide illuminée durant l'intervalle de temps  $dt$  et d'autres y entrent. Certaines particules n'apparaissent que dans l'une des fenêtres d'interrogations lorsque le déplacement est grand par rapport à la taille de celle-ci.

Le problème de correspondance est résolu par la méthodologie mathématique suivante.

Dans chaque fenêtre d'interrogation, un déplacement spatial moyen des particules peut être observé d'un cliché à l'autre. Ce déplacement spatial peut être décrit par un modèle de traitement d'un signal numérique linéaire comme montré ci-dessous :



**Figure II-11: Fonction de déplacement spatial**

La fonction  $f(m,n)$  décrit l'intensité de la lumière enregistrée au temps  $t$  au sein de la fenêtre d'interrogation et la fonction  $g(m,n)$  décrit l'intensité de la lumière au temps  $t + \Delta t$ . Cette dernière peut être considérée comme le résultat de l'application d'une fonction du déplacement spatial  $s(m,n)$  à la fonction  $f(m,n)$  auquel a été ajouté la fonction bruit  $d(m,n)$ . Les fonctions en lettres capitales sont les transformées de Fourier des fonctions correspondantes et  $(u, v)$  sont les coordonnées dans le domaine fréquentiel.

La fonction du déplacement spatial  $s(m,n)$  est directement liée à l'écoulement du fluide et au temps entre les deux clichés, tandis que la fonction bruit  $d(m,n)$  résulte du mouvement de certaines particules qui entrent ou sortent de la fenêtre d'interrogation dans la période entre les deux images. La tâche la plus difficile est l'évaluation de la fonction du déplacement spatial  $s(m,n)$  sur base des valeurs mesurées de  $f(m,n)$  et  $g(m,n)$  car la présence du bruit complique les choses. La méthode choisie pour estimer la fonction  $s(m,n)$  est la technique statistique de corrélation croisée spatiale. La fonction de corrélation croisée  $\phi_{fg}(m,n)$  est donnée par la relation suivante :

$$\phi_{fg}(m,n) = E[f(m,n), g(m,n)]$$

$$\phi_{fg}(m,n) = \sum_{k=-\infty}^{\infty} \sum_{l=-\infty}^{\infty} f(k,l) \cdot g(k+m, l+n)$$

Lorsque beaucoup de particules s'accordent avec le déplacement calculé, la valeur de la corrélation est très élevée. Mais il existe également de petits pics de corrélation croisée là où quelques particules isolées s'accordent avec d'autres particules. La première est la vraie corrélation, tandis que les autres sont des corrélations aléatoires.

Les particules entrant ou sortant de la fenêtre d'interrogation entre les deux prises de vues ne contribuent pas à la corrélation vraie car la position initiale ou finale de la particule est manquante. Elles contribuent cependant aux corrélations aléatoires et diminuent ainsi le rapport signal sur bruit. Néanmoins, le pic le plus intense sera considéré comme la vraie

corrélation, bien qu'il puisse être un pic correspondant au bruit dans le cas d'un signal de très mauvaise qualité. La position de celui-ci par rapport au centre donne accès à la direction, au sens et à la longueur du déplacement des particules dans la fenêtre d'interrogation.

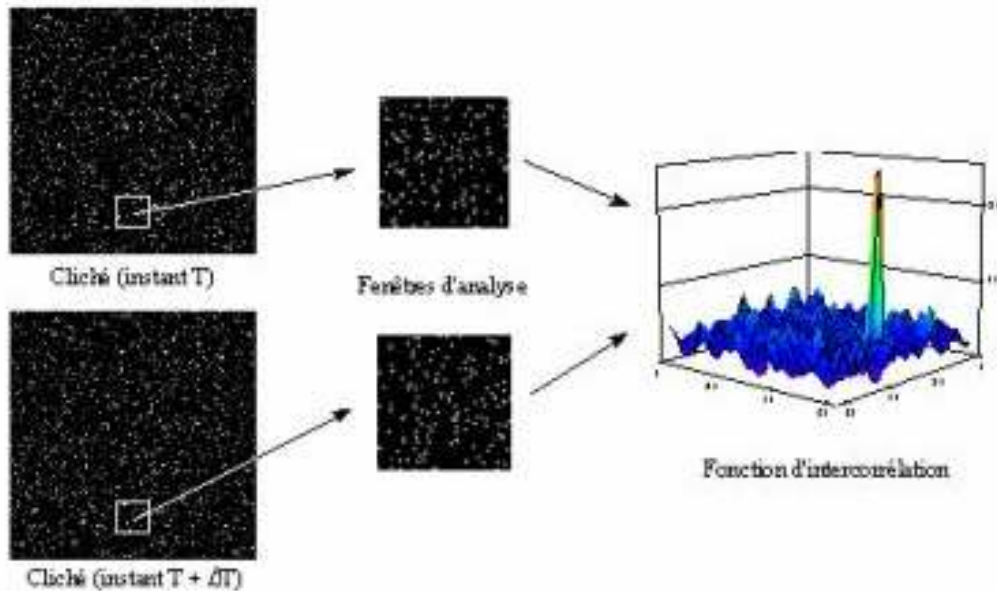


Figure II-12: Analyse par corrélation croisée numérique

A noter que pour avoir un rapport signal sur bruit le plus élevé possible, il est conseillé d'ajuster l'intervalle de temps entre deux impulsions lumineuses de manière à avoir un déplacement moyen inférieur au quart de la taille de la fenêtre d'interrogation. Une concentration de 5 à 10 particules par fenêtre d'interrogation est également recommandée.

Enfin, notons que le logiciel utilise en pratique les transformées de Fourier afin de calculer efficacement et plus rapidement la corrélation croisée. Le processus de calcul est illustré sur la figure 13.

Lorsque la corrélation est calculée par transformée de Fourier, cette méthode suppose que le motif décrit par la position des particules est régulier. Ceci conduit à des particules fantômes et des corrélations fantômes à la périphérie de la fenêtre d'interrogation. Ce problème est illustré à la figure 14. La « window function » permet d'éliminer cela en modifiant l'intensité lumineuse des pixels par un facteur variant entre 0 et 1 selon la position de celui-ci dans la fenêtre d'interrogation.

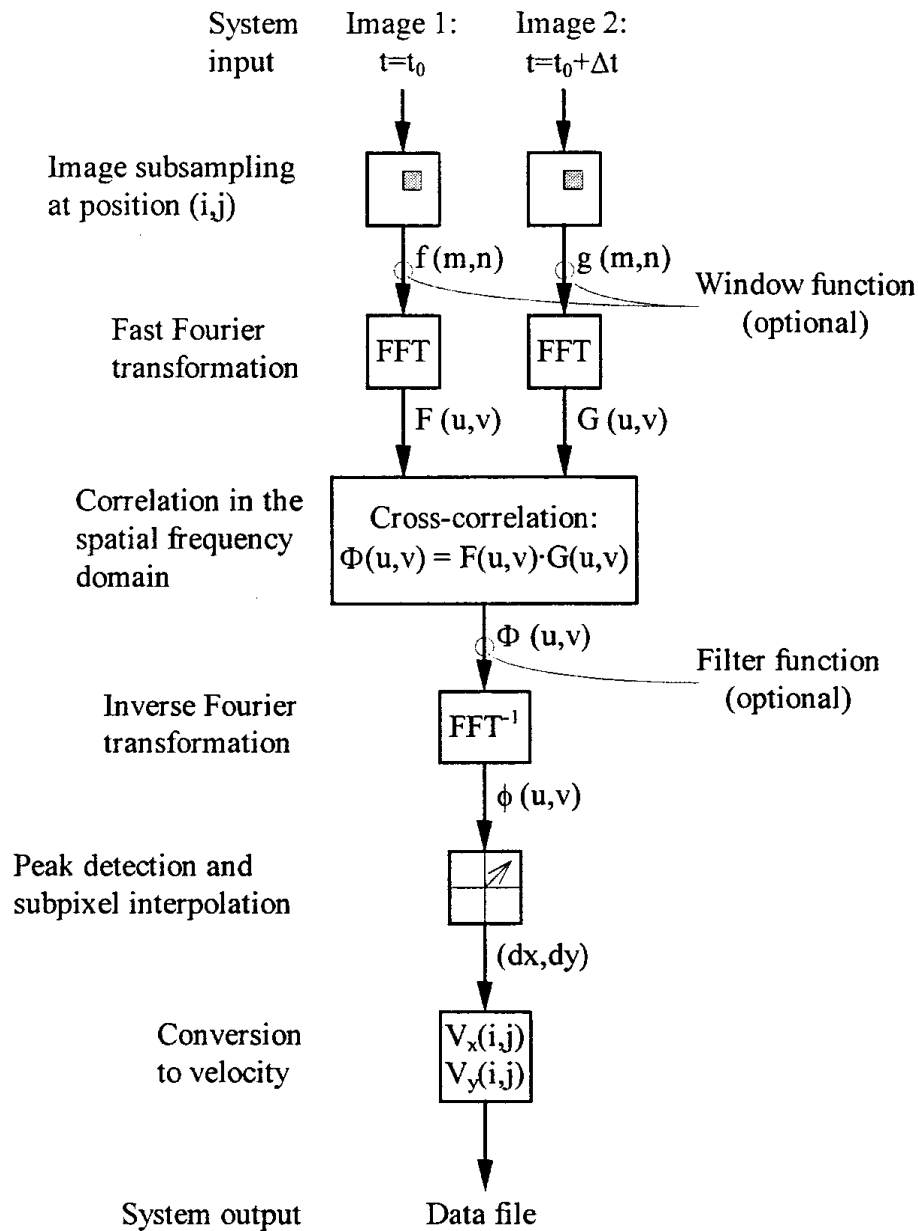


Figure II-13: Organigramme de traitement numérique de P.I.V.

Puisqu'une partie de la fenêtre d'interrogation n'est plus prise en compte, il est conseillé de réaliser un « overlapping ». Cette opération est illustrée à la figure 15. Elle consiste à déterminer le vecteur vitesse qui existe dans une fenêtre d'interrogation décalée par rapport à la grille définie préalablement. Cette opération ne permet pas d'augmenter la résolution de l'écoulement étudié mais doit être vue comme une interpolation obtenue à partir des images brutes. Enfin, la « filter function » permet d'améliorer le résultat obtenu en atténuant le bruit provenant, par exemple, de la réflexion lumineuse sur les surfaces présentes dans le local.

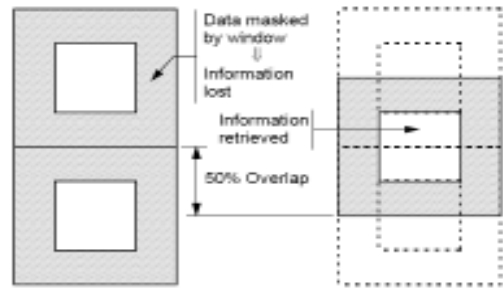
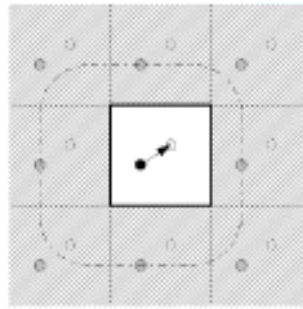
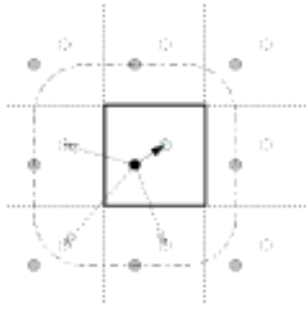


Figure II-14: Les particules fantômes et les corrélations fantômes (flèches en pointillés) montrées dans la figure gauche sont éliminées grâce à la « window fonction » dans la figure droite.

Figure II-15: Illustration d'un overlapping de 50% verticalement

## 2.4 Traitement des images

Afin d'obtenir des images brutes de qualité, divers paramètres doivent être réglés :

- La concentration en particules fluorescentes suffisantes pour avoir 5 à 10 particules par fenêtre d'interrogation ;
- L'intervalle de temps entre l'image A et l'image B d'un doublet d'images afin d'avoir un déplacement moyen des particules inférieur au quart de la taille de la fenêtre d'interrogation.

Un mauvais réglage entraîne un rapport signal / bruit faible et se marque par un nombre important de vecteurs d'orientation et de norme aberrantes. Ces paramètres ont été réglés expérimentalement. La concentration a été ajustée en comptant le nombre de particules par fenêtre d'interrogation. L'intervalle de temps optimal a été déterminé en testant une gamme assez large et en observant son influence sur l'évolution du nombre de vecteurs aberrants et sur l'évolution de la norme des vecteurs vitesses. Plus l'intervalle de temps est faible et plus le nombre de vecteurs erronés chute. Par contre, lorsque l'intervalle de temps devient très faible, le déplacement devient très faible et proche de la limite mesurable et l'erreur augmente. En théorie, la limite devrait être la taille d'un pixel. En pratique, le système a été amélioré et permet l'interpolation de la transformée de Fourier dans un pixel ; ce qui réduit la

limite [13] à  $\frac{1}{64}$ ème de la taille d'un pixel.

Une deuxième méthode pour augmenter la résolution des déplacements observables est de réduire la taille de la zone observée et dès lors la taille que représente un pixel dans l'image. Cette méthode a été appliquée. Les deux zones étudiées sont indiquées par le cadre rouge et le cadre bleu représentant respectivement le coin supérieur gauche et le coin inférieur gauche de la cuve sur la figure 16. L'écoulement dans la deuxième moitié de la cuve est obtenu en supposant une symétrie axiale autour de l'axe de l'agitateur.

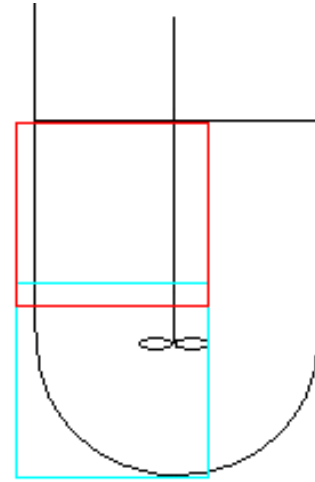


Figure II-16: Zones observées durant l'étude P.I.V.

Sur base de cette étude, voici les intervalles de temps choisis :

		$\Delta t$ pour l'hélice TT125	$\Delta t$ pour l'hélice TT150
50 rpm	Zone basse	5500 $\mu s$	4500 $\mu s$
	Zone haute	11000 $\mu s$	9000 $\mu s$
67,5 rpm	Zone basse	4750 $\mu s$	3875 $\mu s$
	Zone haute	9500 $\mu s$	7625 $\mu s$
85 rpm	Zone basse	4000 $\mu s$	3250 $\mu s$
	Zone haute	8000 $\mu s$	6250 $\mu s$
102,5 rpm	Zone basse	3250 $\mu s$	2625 $\mu s$
	Zone haute	6500 $\mu s$	4875 $\mu s$
120 rpm	Zone basse	2500 $\mu s$	2000 $\mu s$
	Zone haute	5000 $\mu s$	3500 $\mu s$

Pour chaque vitesse, 150 doublets d'images ont été enregistrés.

Une fois les images brutes obtenues, le programme Flowmanager laisse une grande liberté au niveau des traitements possibles. Le traitement suivant a été appliqué dans chaque cas :

1. Cross-corrélation : Fenêtre d'interrogation de **32X32** pixels

**Window function : Gaussian : k=1.19**

**Overlapping : 50%** horizontalement et verticalement

**Filtre : Low-Pass Gaussian : k=5**

2. Pose d'un masque qui élimine du traitement la zone située hors de la cuve ainsi que la zone où se trouve l'agitateur.

3. Validation des vecteurs obtenus par la méthode :

**Moving average validation** : Taille de la fenêtre **3X3** pixels

Nombre d'itérations : **3**

Facteur d'acceptance : **0.06**

4. Calcul du champ de vitesses moyen **en ne tenant compte que des vecteurs validés.**

Les termes mis en gras sont les paramètres sur lesquels un choix est possible. Ils ont été ajustés de manière à réduire le nombre de vecteurs aberrants tout en ne modifiant pas les normes et directions des vecteurs corrects.

Le détail de la signification des coefficients est repris en annexe pour le lecteur intéressé.

Néanmoins une explication sur la validation par « Moving Average Validation » s'impose. Cette méthode est basée sur le fait que le champ de vitesses évolue doucement et que dès lors un vecteur sera accepté ou rejeté sur base d'une comparaison de sa direction et de sa norme avec ses voisins. D'autres méthodes de validation existent. Citons la « Peak Height Validation » qui rejette un vecteur si le rapport des tailles du 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> pics de la corrélation croisée est inférieur à une certaine valeur où encore la « Velocity Range Validation » qui rejette un vecteur si sa norme est en dehors d'un certain intervalle. Les différentes validations ont été testées. Néanmoins la « Moving Average Validation » présente de nombreux avantages par rapport aux autres. Elle élimine totalement les vecteurs aberrants. De plus, elle les substitue par la moyenne obtenue sur les vecteurs voisins. Le choix du nombre minimum de voisins (8 voisins dans ce cas-ci) réduit fortement le risque de lissage de l'écoulement qui masquerait les changements de direction locaux et brutaux.

Les données enregistrées dans FlowManager peuvent être exportées sous format ASCII et traitées par d'autres logiciels. Nous pouvons ainsi effectuer des calculs supplémentaires et obtenir des graphiques permettant de présenter les résultats sous une forme plus conviviale.

Nous avons choisi de traiter nos résultats à l'aide du logiciel Matlab (version 7.01). Les différentes routines que nous avons conçues sont présentées en annexe. Elles nous permettent de réaliser les graphiques en 2D des champs de vitesses et de calculer les grandeurs globales du mélange telles que les débits de pompage et de circulation mais également les grandeurs locales telles que le cisaillement, les contraintes et la dissipation de l'énergie.



### 3 Mesures P.L.I.F.

#### 3.1 Théorie à la base de cette méthode [PLIFGuide02]

La méthode P.L.I.F. est une méthode non intrusive qui permet d'avoir accès à la carte de concentration dans un plan de la cuve. Le dispositif expérimental utilisé pour cette méthode est exactement le même que celui utilisé pour la méthode P.I.V. La principale différence réside dans le fait qu'au lieu d'avoir une répartition uniforme des particules fluorescentes (P.I.V.) dans la cuve, nous nous intéressons à la manière dont évolue au cours du temps une injection de quelques millilitres d'une solution de concentration donnée en la substance fluorescente.

Afin de relier l'intensité lumineuse mesurée par la caméra aux concentrations, un bref rappel sur la fluorescence s'impose. La fluorescence est un processus de désexcitation atomique au cours duquel un photon est émis. Ce photon a une énergie plus faible que celui qui a servi à exciter l'atome. Ainsi, il aura une longueur d'onde plus grande. En conséquence, le spectre d'absorption et le spectre d'émission des particules fluorescentes sont différents.

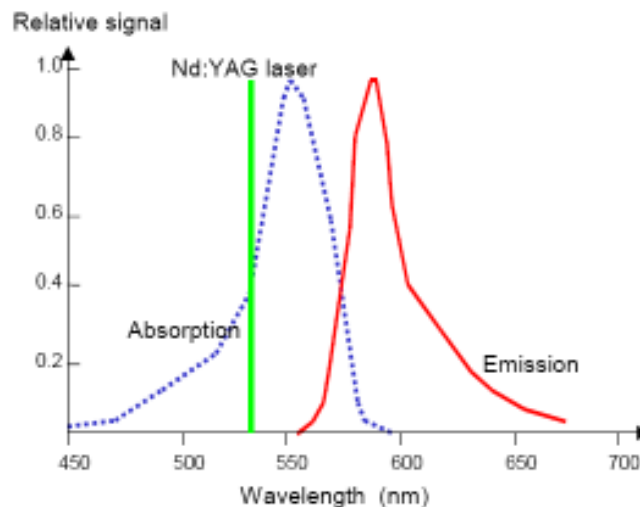


Figure II-17: Spectres d'absorption et d'émission de la Rhodamine 6B dans l'eau

A l'aide de filtre, il est possible de mesurer uniquement l'intensité lumineuse provenant de la fluorescence des particules. Cette intensité  $F$  dépend du niveau d'énergie  $E$  que le laser dissipe dans un volume donné  $V_c$ , de la concentration en particules fluorescentes  $C$  et des propriétés physiques du milieu utilisé. Ces grandeurs sont reliées par la loi :

$$F = f_{optique} \cdot A_c \cdot V_c \cdot E \cdot C \cdot Q_\lambda(T)$$

Où  $f_{optique}$  est un facteur qui tient compte de paramètres optiques de l'instrumentation ;

$Q_\lambda$  est le rendement quantique de particules à la température T ;

$A_c$  correspond au phénomène d'absorption qui est intégré sur l'entièreté du chemin optique qui sépare la particule de la caméra. Il vaut :  $A_c = e^{-\varepsilon.L.C}$  où  $\varepsilon$  est le facteur d'absorption du fluide et  $L$  la longueur du chemin optique.

A faible concentration, le phénomène d'absorption est très faible,  $A_c$  vaut 1 et la concentration est reliée à l'intensité de fluorescence  $F$  par une loi linéaire:

$$C \approx \frac{F}{\alpha_c \cdot E_0} \text{ avec } \alpha_c = f_{\text{optic}} \cdot V_c \cdot Q_\lambda$$

Le paramètre  $\alpha_c$  devra être déterminé par une courbe de calibration afin de pouvoir relier par la suite l'intensité fluorescente mesurée à la concentration qui y correspond.

### 3.2 Application de cette méthode à l'étude du mélange [Mar06] [PLIFguide02]

Cette méthode permet de suivre l'évolution au cours du temps d'une injection de traceur dans le plan de la cuve illuminé par le laser. Il s'agit d'une méthode de traceur au même titre que la méthode conductométrique ou la méthode colorimétrique, néanmoins, elle se distingue par le fait qu'au lieu d'avoir un seul détecteur, elle en a une infinité placés en chaque point du plan. Cependant, elle ne permet pas de suivre le mélange jusqu'à l'échelle de Batchelor. En effet, la taille d'un pixel dans l'image sera l'échelle limite où une différence de concentration est distinguable. Cette taille est de l'ordre de grandeur de 0.3 mm, soit largement supérieur à un micron.

### 3.3 Dispositif expérimental complémentaire

Le dispositif expérimental (caméra, laser, processeur, logiciel) est exactement le même que celui utilisé lors des mesures P.I.V. Néanmoins, il se distingue par deux points :

- Les particules de Rhodamine B sont remplacées par une solution de Rhodamine 6G (coloration orangée)
- Puisque la Rhodamine 6G et la Rhodamine B émettent un rayonnement à la même longueur d'onde (590 nm), les mesures simultanées P.I.V. et P.L.I.F. ne sont possibles qu'en remplaçant les particules de mélanine marquées à la Rhodamine B par des particules de polyamide d'un diamètre moyen de 20  $\mu\text{m}$ , d'une densité de 1,03  $\text{g}/\text{cm}^3$

et émettant dans le visible. Dès lors, un autre filtre laissant passer les rayonnements de longueurs d'onde comprises entre 3 nm et 532 nm est utilisé pour les mesures P.I.V.

Afin de se rapprocher d'un signal Dirac où l'entièreté de la Rhodamine 6G est injectée en un temps très court, les injections d'une solution de rhodamine 6G 0,008g/L sont réalisées à l'aide d'une seringue médicale de 5ml. Cette quantité permet d'augmenter la concentration en Rhodamine 6G dans la cuve de  $2\mu\text{g/L}$  par injection. La solution de Rhodamine 6G est injectée au point souhaité dans la cuve grâce à un dispositif spécifique illustré à la figure 18.

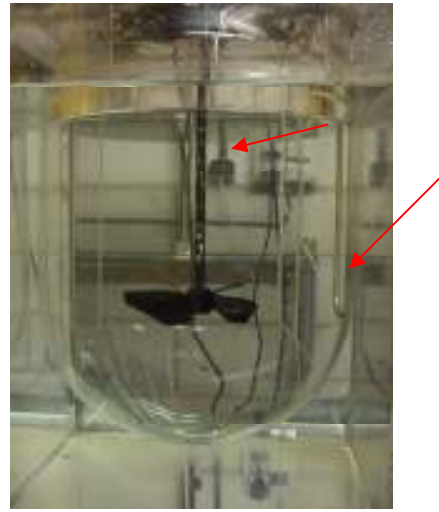


Figure II-18: Dispositif d'injection

Malheureusement, le processeur ayant des problèmes de mémoire vive lors de l'enregistrement simultané des mesures P.I.V. et P.L.I.F., il a été décidé de réaliser uniquement les mesures P.L.I.F. afin que celles-ci soient de qualité. L'intervalle de temps entre deux images est fixé à 250 ms et la caméra est réglée en « single frame » (une seule image par pulse du laser) afin d'augmenter sa sensibilité.

Les images correspondant aux injections ainsi que celles servant pour la courbe de calibration sont exportées du programme Flowmanager en format tif 16 bits. Elles seront traitées dans l'environnement Matlab (version 7.01) afin de déterminer le temps de mélange et de permettre l'ajustement d'un modèle compartimenté.

#### 4 Les microporteurs

Dans l'application qui nous concerne, les cellules cultivées dans le bioréacteur ne peuvent se multiplier que si elles s'accrochent à un support. Pour les raisons décrites dans l'introduction, GSK a décidé qu'à partir d'une échelle de 80 litres la culture aurait lieu sur des billes de Cytodex1<sup>TM</sup>. Ces billes translucides sont constituées d'une matrice de dextrane réticulée dans laquelle sont répartis de manière homogène des groupes N-N-diéthylaminoéthyl chargés positivement. Ces billes sont non poreuses ; les cellules se développent selon une

monocouche cellulaire à la surface de celles-ci. La granulométrie de ces microporteurs aura ainsi de l'importance car elle définira la surface totale disponible pour la reproduction cellulaire. Cette surface ne sera réellement disponible que si la suspension des microbilles est complète. L'état de la suspension sera influencé par la taille et la densité des microporteurs. D'après le fabricant, cette densité moyenne vaut 1.03 ce qui est supérieure à la densité de l'eau. La taille des microporteurs suit une loi normale qui dépend de la manière dont le Cytodex1<sup>TM</sup> est préparé.

Différentes techniques ont été utilisées pour déterminer la distribution de la taille des microporteurs. In fine, seule l'analyse d'image donne des résultats concluants.

Voici un récapitulatif des techniques utilisées :

### **1. Analyse granulométrique par diffusion et absorption de rayonnements**

- a) Principe [ALL] : Lorsqu'une particule sphérique est éclairée par un rayon laser, un motif de diffraction vient se superposer à l'image géométrique. La taille du motif dépend de la taille de la particule, les petites particules diffractant la lumière selon un angle plus grand que les grandes particules. La solution contenant les billes de Cytodex1<sup>TM</sup> est placée dans une cellule en verre agitée par un barreau magnétique qui maintient les particules en suspension. Lorsque le rayon traverse l'eau, aucune image de diffraction n'est observée. Lorsqu'il traverse une particule, un dispositif optique amène l'image de diffraction sur un détecteur solide multi-éléments. Cette opération étant répétée un grand nombre de fois par minute, un modèle de diffraction tel que celui de Fraunhofer ou Mie permet d'obtenir la distribution de la taille en volume des billes de Cytodex1<sup>TM</sup>.

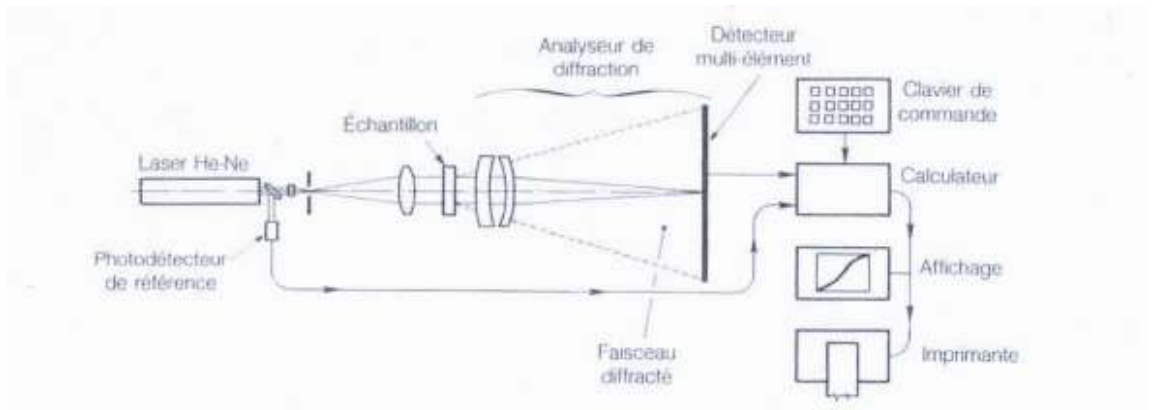


Figure II-19: Schéma de principe de la granulométrie par diffusion et adsorption de rayonnement

b) Appareillage utilisé :

- Un granulomètre Mastersizer 2000 hydro 200S de la marque Malvern
- Le programme de traitement est fourni par la firme Malvern. Le modèle de diffraction de Mie a été appliqué pour déterminer la taille des particules.

## 2. Analyse granulométrique par compteur Coulter

a) Principe [ALL] : La solution de Cytodex1<sup>TM</sup> est dispersée dans un électrolyte contenu dans un récipient. Un tube percé d'un orifice calibré est plongé dans l'électrolyte et deux électrodes de platine sont placées de part et d'autre de la paroi du tube. L'écoulement s'effectue à travers l'orifice sous l'effet d'une pompe à vide. Un courant circule entre les deux électrodes et lorsqu'une particule franchit l'orifice, elle déplace son propre volume d'électrolyte, changeant l'impédance électrique de l'orifice. Ce changement est détecté sous la forme d'impulsions de tension dont l'amplitude est proportionnelle au volume de la particule. Les impulsions sont mesurées et comptées. Suite à une calibration avec des particules de tailles connues, la distribution de la taille en volume des particules de Cytodex1<sup>TM</sup> est mesurée.

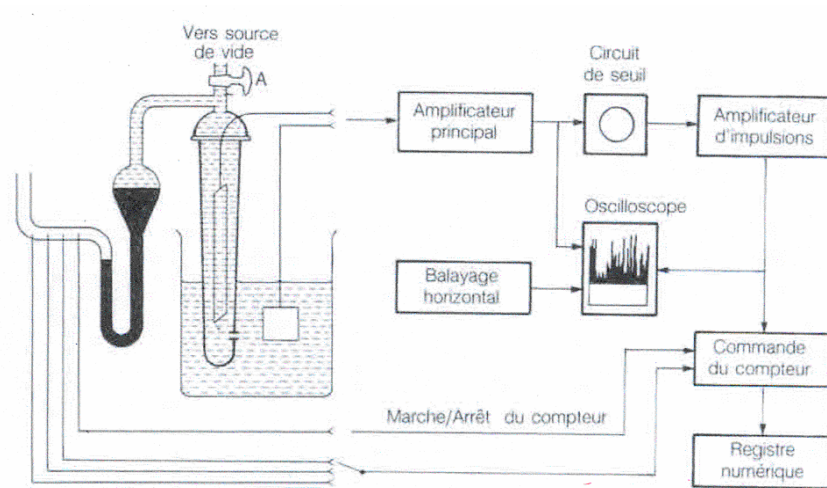


Figure II-20: Schéma de principe du compteur Coulter

b) Appareillage utilisé :

- Le Coulter Multisizier II ;
- Orifice de 1 mm de diamètre ;
- Etalon utilisé : CC size standard L43 certified NIST traceable, la taille nominale des billes de latex utilisées est de 43  $\mu\text{m}$ ;
- L'électrolyte est de l'isoton 2 (mélange de NaCl 9g/L, de conservateurs et de détergents).

### 3. Analyse d'images au microscope

a) Principe : Une goutte de solution contenant les billes de Cytodex1<sup>TM</sup> est placée entre deux lames d'un microscope d'objectif à grossissement de 2,5 X. L'image observée (figure 21) est enregistrée et cette

opération est répétée une quarantaine de fois afin d'obtenir un échantillon dont les tailles sont représentatives de la population des billes de Cytodex1<sup>TM</sup>. Les images sont ensuite traitées par un programme d'analyse d'images qui détermine les contours des billes et le rayon équivalent.

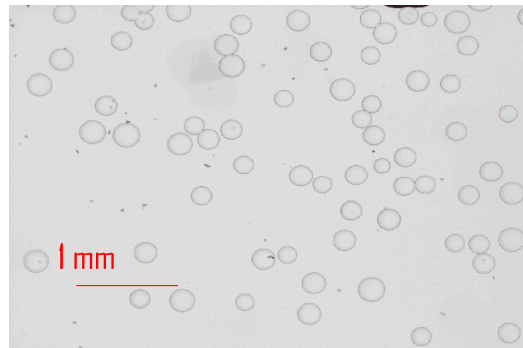


Figure II-21: Image des billes de Cytodex1<sup>TM</sup> obtenu au microscope avec un grossissement de 2.5 fois

b) appareillage utilisé :

- Microscope Olympus Provis avec observation en transmission et objectif de grossissement de 2,5 X ;
- Caméra Olympus D-50 ;
- Calibration réalisée avec une grille de calibration, Pyser SGI Limite, S2 Micrometer d'une taille de 5 mm par graduation de 0,05 mm avec un certificat NAMAS ;
- Programme d'analyse d'images : Lucia, V4.80, Image Analysis System (CZ).

La routine appliquée lors du traitement d'images se trouve en annexe

Lorsque la distribution de la taille des microporteurs est déterminée, la vitesse de chute des plus grandes est calculée par le modèle de Stokes amélioré par l'équation empirique de Zaki afin de tenir compte des interactions entre particules. Pour obtenir une suspension complète, la vitesse de rotation minimale de l'agitateur qui assure une vitesse ascensionnelle supérieure à la vitesse de sédimentation est calculée. Cette vitesse de rotation étant inférieure à 50 rpm (plus petite valeur testée pour les mesures P.I.V.), la vitesse ascensionnelle y correspondant a été extrapolée des mesures P.I.V.

Les résultats obtenus ont été vérifiés expérimentalement en plaçant 20 L d'une solution de Cytodex1<sup>TM</sup> dans la cuve. Une gamme de vitesses allant de 12 rpm à 50 rpm par pas de 3 rpm a été testée. Pour chaque vitesse, le dispositif expérimental P.L.I.F. (à savoir la caméra, le processeur et le programme Flowmanager) a été utilisé pour enregistrer une image toutes les 5 secondes pendant 1 heure.

## **5 Fluide utilisé lors des mesures P.I.V. et P.L.I.F.**

L'utilisation des méthodes P.I.V. et P.L.I.F. nécessite que le milieu soit transparent puisqu'elles sont basées sur des méthodes optiques. La suspension contenant les billes de Cytodex1<sup>TM</sup> étant trouble, un fluide aux propriétés rhéologiques similaires doit être trouvé. La première étape consiste à déterminer la courbe de l'évolution de la viscosité en fonction du cisaillement de la solution contenant les billes de Cytodex1<sup>TM</sup>. Celle-ci a été réalisée grâce au viscosimètre rotatif « Bohlin Rheometer CS ». Différents types de cellules ont été testées : cylindres coaxiaux, cone-plan, plan-plan. Une rampe de cisaillement a été imposée avec des

intervalles de temps de stabilisation entre chaque niveau très court de l'ordre de 5 secondes. Des courbes ont ainsi été obtenues qui tendaient à montrer que la suspension de Cytodex1<sup>TM</sup> avait un comportement rhéofluidifiant. Puisqu'il était difficile de trouver un fluide ayant les mêmes propriétés rhéologiques que la solution contenant les billes de Cytodex1<sup>TM</sup>, il a été décidé d'utiliser différents fluides Newtoniens (solutions de glycérine-eau) dont les viscosités sont susceptibles de couvrir la gamme de valeurs de viscosité de la solution de Cytodex1<sup>TM</sup> dans les conditions de cisaillement rencontrées dans la cuve agitée. Lors de la détermination de la courbe de viscosité de la glycérine, il a été remarqué que les cellules du viscosimètre avaient une inertie de l'ordre de 300 secondes et que dès lors les courbes obtenues pour la solution contenant les billes de Cytodex1<sup>TM</sup> étaient erronées. Lorsqu'un intervalle de temps de l'ordre de 300 secondes entre chaque niveau de cisaillement est imposé, les billes de Cytodex1<sup>TM</sup> ont le temps de sédimenter et seule la viscosité de l'eau est mesurée. Pour obtenir des mesures fiables de viscosité de la solution de Cytodex1<sup>TM</sup>, il faut remplacer la partie mobile du rhéomètre rotatif (spindle) par un dispositif spécifique qui maintient les particules en suspension. Les délais de livraison pour un dispositif de ce type étant très long (2 mois) et le problème ayant été découvert assez tardivement (fin mars), nous n'avons pas pu disposer, dans le cadre de ce travail, d'une mesure fiable de la courbe de viscosité de la suspension de Cytodex1<sup>TM</sup> en fonction du cisaillement. Une autre stratégie a du être adoptée. Celle-ci consiste en l'étude paramétrique de l'écoulement dans la cuve en fonction de la viscosité. Une solution Newtonienne composé d'un mélange d'eau et de glycérine a été utilisée. Une gamme de viscosités allant de 3 centiPoises (0.003 Pa.s) à 30 centiPoises a été testée. Un prolongement intéressant pour valider cette stratégie aurait été de faire les mesures P.I.V. et P.L.I.F. dans un fluide aux mêmes propriétés rhéologiques que celles de la suspension de Cytodex1<sup>TM</sup>. Malheureusement, la courbe de viscosité en fonction du cisaillement de la suspension de Cytodex1<sup>TM</sup> est arrivée trop tardivement (mi mai). Ce prolongement fera dès lors l'objet d'un prochain travail.



## **Chapitre III**

---

### **Résultats obtenus par la méthode P.I.V.**

# 1 Description des champs de vitesses obtenus par les mesures P.I.V.

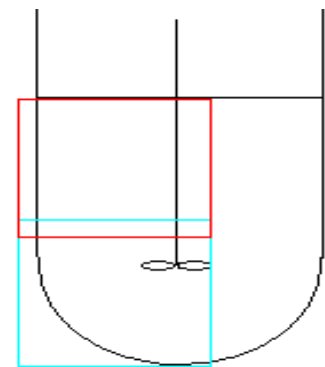
## 1.1 Introduction

Les mesures P.I.V. ont été réalisées dans **cinq** solutions composées d'un mélange d'eau et de glycérine dont les **viscosités**  $\mu$  sont respectivement 3.15 cP, 9.96 cP, 15.26 cP, 24.6 cP et 31.06 cP. **Cinq vitesses de rotation**  $N$  du mobile ont été testées : 50rpm, 67.5 rpm, 85 rpm, 102.5 rpm et 120 rpm. Le mobile utilisé pour mélanger le fluide est une hélice TT (Mixel). **Deux hélices** seront testées. La première a un diamètre  $d$  de 125 mm (TT125). La seconde a un diamètre  $d$  de 150 mm (TT150).

Si nous nous souvenons que le nombre de Reynolds dans une cuve agitée est défini par  $Re = \frac{\rho N d^2}{\mu}$ , nous constatons que l'étude paramétrique poursuivie dans ce travail fait varier les différents termes qui influencent la valeur du Reynolds.

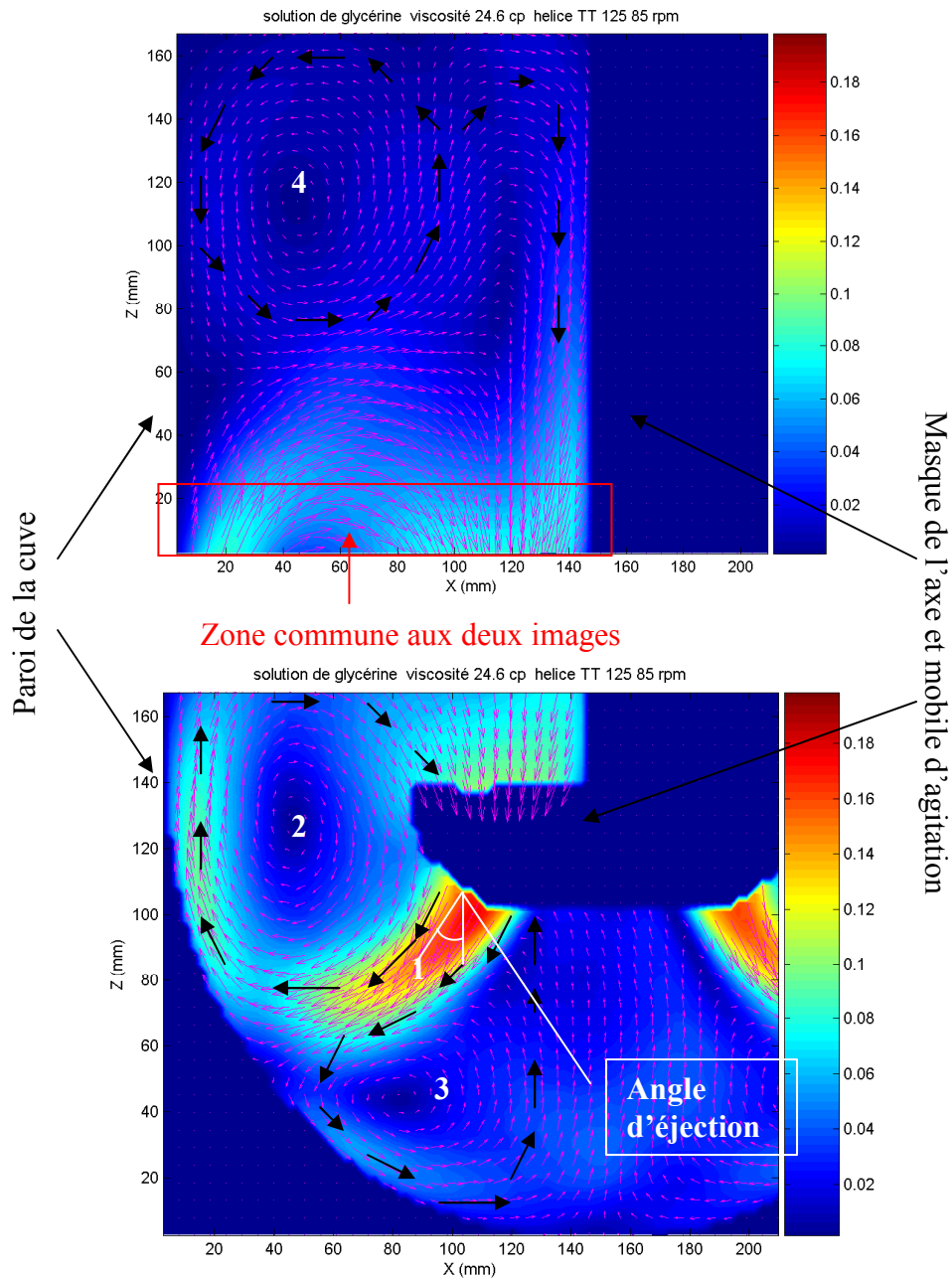
## 1.2 Description qualitative de l'écoulement dans le plan du laser

Comme expliqué dans la partie « appareils et méthodes », le champ de vitesses n'est pas mesuré dans l'entièreté de la cuve afin d'augmenter la résolution. La caméra est fixée sur les deux zones représentées par le rectangle bleu et le rectangle rouge. L'écoulement dans le reste de la cuve est obtenu en supposant une symétrie verticale autour de l'axe du mobile d'agitation. Dès lors pour chaque condition, deux images seront obtenues : une correspondant à la zone haute en rouge, l'autre correspondant à la zone basse en bleu. Notons que ces deux zones se chevauchent partiellement.



**Figure III-1: Zones sur lesquelles ont été réalisées les mesures P.I.V.**

La structure de l'écoulement obtenue dans chaque condition est sensiblement la même. Elle est illustrée sur la figure 2 où la coloration du fond indique la valeur de la norme du vecteur vitesse, tandis que leur orientation est représentée par les flèches roses :



**Figure III-2 : Description du champ de vitesse (m/s) produit par l'hélice TT125, tournant à une vitesse de 85 rpm dans un mélange glycérine eau d'une viscosité de 24.6 cP**

L'agitateur tourne dans le sens des aiguilles d'une montre et vu l'inclinaison à 45° de ses pales, il aspire le fluide de haut en bas. Ce mouvement crée dans la cuve quatre zones :

- **Une zone d'éjection** située à l'extrémité de la pale du mobile. L'angle formé par l'inclinaison de flux avec la verticale est appelé « angle d'éjection ».
- **Deux boucles de recirculation (zone 2 et zone 3)** Elles ont en commun la zone d'éjection et se séparent au niveau de la paroi de la cuve. La première remonte le long de la paroi et

repassent finalement dans l'agitateur. La seconde descend le long de la paroi. Elle remonte en direction de l'agitateur mais les particules de fluide appartenant à cette boucle ne repasseront pas dans l'agitateur vu la forme de celui-ci et le pompage de haut en bas qu'il imprime au fluide. Elles seront réentraînées par les particules de fluide appartenant à la zone d'éjection. Notons que le masque appliqué sur l'image est plus grand que la projection de l'hélice TT car cette projection varie suivant l'angle de rotation. Le masque couvre toutes ces projections.

- **Une zone située en haut de la cuve (zone 4).** Lorsque la viscosité est faible et la vitesse de rotation du mobile est élevée, cette zone est englobée dans la première boucle de recirculation. Dans le cas contraire, une troisième boucle de recirculation se forme comme illustré à la figure 2.

### 1.3 Influence de la viscosité sur la structure de l'écoulement

Comme représenté sur les figures 1 à 5 des pages 1 à 4 du fascicule annexe, l'observation la plus frappante est l'augmentation de l'angle d'éjection lorsque la viscosité augmente. Lorsque la viscosité augmente, les forces de frottements entre filets de fluide voisins augmentent et dissipent plus rapidement l'énergie cinétique fournie au fluide par le mobile. Le fluide perdant ainsi plus rapidement son inertie, il sera plus vite aspiré par la zone située juste au dessus de l'agitateur et caractérisée par une dépression. La première boucle de recirculation située à côté du mobile sera, dès lors, plus courte. Ce phénomène a également une conséquence sur l'écoulement dans la zone supérieure de la cuve. Lorsque la viscosité est faible, cette zone fait partie intégrante de la boucle de recirculation située à gauche de l'agitateur. Par contre, lorsque la viscosité devient importante, une boucle de recirculation tournant dans le sens contraire des aiguilles d'une montre se forme.

La viscosité n'a pas qu'un effet sur l'orientation des vecteurs vitesses, elle a également un effet sur leur norme. Nous constatons que la zone bleue marine, située en haut à gauche de l'image de la zone haute et caractérisée par des vitesses faibles, grandit lorsque la viscosité augmente. Notons que la valeur de la norme du plus grand vecteur diminue légèrement. Pour une vitesse de rotation de 85 rpm de l'hélice TT150, cette norme passe de 0.230 m/s à 0.211 m/s lorsque la viscosité augmente de 3.15 cP à 31.06 cP.

L'ensemble de ces phénomènes est donc dû à l'augmentation des forces de frottement qui dissipent l'énergie cinétique des particules de fluide réduisant ainsi leur inertie.

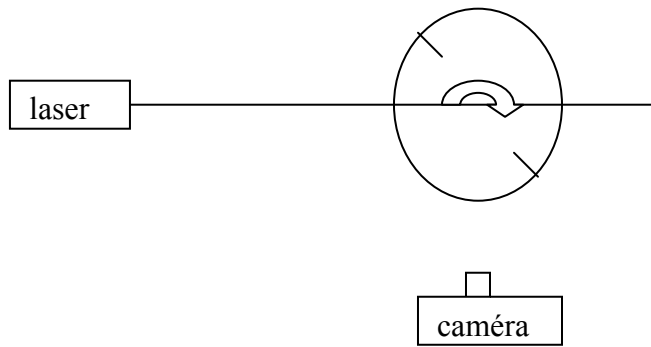
#### **1.4 Influence de la vitesse de rotation sur la structure de l'écoulement**

Comme observé sur les figures 1 à 5 des pages 5 à 8 du fascicule annexe, un accroissement de la vitesse de rotation du mobile augmente les vitesses des particules de fluide dans la zone d'éjection et dans les boucles de recirculation. La taille de la zone, située dans la partie supérieure gauche du plan et caractérisée par des faibles vitesses, diminue. Nous constatons également que l'angle d'éjection du fluide diminue légèrement lorsque la vitesse de rotation du mobile augmente.

Lorsque le mobile tourne plus vite, il transmet aux particules de fluide une plus grande énergie cinétique, une plus grande vitesse et dès lors une plus grande inertie. C'est cette plus grande inertie qui explique que les particules de fluide se déplacent plus longtemps dans la direction axiale (angle d'éjection plus petit) imposée par les pales du mobile et qu'elles atteignent un même point dans la cuve avec une vitesse plus importante.

#### **1.5 Influence de la contre-pale sur la structure de l'écoulement**

La cuve dispose de deux contre-pales en plexiglas. La position de celles-ci vis-à-vis du dispositif P.I.V. ne peut pas être quelconque : elles ne peuvent pas être dans le plan du laser sous peine d'atténuer par absorption l'énergie de celui-ci dans le reste de la cuve ; elles ne peuvent pas être devant le plan du laser dans une zone observée par la caméra car elles déforment l'image et donnent naissance à de nombreux vecteurs aberrants. Dès lors, elles sont placées comme indiqué sur la figure 3 pour toutes les mesures P.I.V. Seule la moitié gauche de la cuve a été observée par la caméra. Ce plan se situe à **135°** après la contre-pale puisque le



**Figure III-3 : Disposition du plan du laser vis-à-vis des contrepales.**

mobile tourne dans le sens des aiguilles d'une montre. Les places de la caméra et du laser ont été interverties pour les mesures P.L.I.F afin d'avoir suffisamment de recul avec la caméra pour enregistrer l'entièreté de la cuve. Nous avons profité de ce changement de position pour réaliser une série de mesure P.I.V. et voir

l'influence de la contre-pale sur la structure de l'écoulement. En effet, le plan observé se trouve à  $45^\circ$  après la contre-pale. Dans les deux configurations, les distances de la caméra et du laser vis-à-vis de la cuve sont restés identiques afin d'être dans les mêmes conditions. Notons que la caméra enregistre la partie située à droite de l'agitateur dans le plan. Le mélange présent dans la cuve a une viscosité de 3.15 cP. Les cinq vitesses de rotation ont été testées. Les résultats obtenus sont présentés sur les figures 1 à 5 des pages 9 à 16 du fascicule annexe. La structure de l'écoulement est fondamentalement semblable. Deux légères différences sont à noter. Les boucles de recirculation dans la zone basse ont une forme légèrement plus allongée. De même, la zone haute en bleu marine, caractérisée par des faibles vitesses, au lieu d'être localisée en haut de l'image le long de la paroi, se trouve décalée de celle-ci d'environ 3 cm vers le centre de la cuve. Cette distance correspond à la largeur de la contre-pale. Ces deux constatations montrent que la contre-pale a un effet sur la structure de l'écoulement mais cette effet semble suffisamment faible que pour juger l'hypothèse de symétrie de l'écoulement autour de l'axe de rotation acceptable.

## 1.6 Effet du diamètre du mobile sur la structure de l'écoulement

Pour étudier l'influence du diamètre du mobile sur la structure de l'écoulement, différents critères de comparaison vont être utilisés.

Les deux mobiles seront d'abord comparés à même vitesse de rotation. L'avantage de cette comparaison est qu'elle est directe vu la manière dont les mesures ont été prises mais les résultats obtenus sont qualitativement évidents avant même de réaliser les mesures.

Les deux mobiles seront ensuite comparés à même vitesse en bout de pale. Dans la littérature [ROUb],[PEE06], cette vitesse périphérique est reliée au taux de cisaillement maximum appliqué au fluide car c'est aux extrémités des pales du mobile que les gradients de vitesses sont les plus importants. Ce critère est intéressant car il permet la comparaison des deux

mobiles à même cisaillement maximum. Les vitesses périphériques ont été calculées pour les vitesses de rotation testées. Les conditions mises dans la même couleur pourront être comparées :

**Tableau III-1: Vitesse en bout de pale en fonction de la vitesse de rotation et du diamètre du mobile**

	TT125	TT150
50 rpm	0.327 m/s	0.392 m/s
67.5 rpm	0.441 m/s	0.531 m/s
85 rpm	0.556 m/s	0.667 m/s
102.5 rpm	0.670 m/s	0.805 m/s
120 rpm	0.785 m/s	0.942 m/s

Enfin, les deux mobiles pourront être comparés sur base d'une même puissance volumique dissipée. Dans la théorie de la turbulence isotopique, nous avons vu que l'énergie était transférée à travers une cascade de tourbillons de tailles décroissantes jusqu'à l'échelle de Kolmogorov. A cette échelle, les tourbillons ont une longueur caractéristique  $\lambda = \left( \frac{\rho \cdot v^3}{P/V} \right)^{1/4}$  et

une certaine vitesse  $v = \left( \frac{P/V \cdot \mu}{\rho^2} \right)^{1/4}$  qui sont toutes les deux fonctions de la puissance volumique

dissipée P/V. Le microcisaillement est défini par :  $\tau_i = \mu \cdot \frac{v}{\lambda}$  et est dès lors aussi fonction de la puissance volumique dissipée. Lorsque la taille caractéristique des microtourbillons est de l'ordre de grandeur de la taille des billes de Cytodex1<sup>TM</sup>, le microcisaillement subit par les cellules accrochées aux billes peut être important. Dès lors, le critère de comparaison des mobiles à même puissance dissipée est intéressant car il permet de les comparer à même niveau de microcisaillement. Les mesures et les résultats au niveau de la puissance volumique dissipée seront détaillés au point 3. L'hélice TT125 pourra être comparée à l'hélice TT150 aux vitesses de rotation suivantes car elles dissipent dans ces cas une même gamme de puissances volumiques :

**Tableau III-2: Vitesses de rotation auxquelles l'hélice TT125 dissipe une même puissance volumique que l'hélice TT150**

TT125	TT150
67.5 rpm	50 rpm
102.5 rpm	67.5 rpm

La culture cellulaire étant sensible au cisaillement, ces deux derniers critères donneront une des clés pour le choix du rapport  $\frac{d}{D}$  optimal pour le processus de scale-up. Notons que le but

de l'étude réalisée dans ce travail se limite à fournir une série d'informations qui viendront compléter celles dont disposent les chercheurs de G.S.K. BIO. A aucun moment, nous ne pourrions conclure qu'un rapport  $\frac{d}{D}$  est meilleur que l'autre car nous n'avons qu'une vue fractionnée du problème. En effet, nous ne disposons d'aucune information sur l'aération du bioréacteur et sur les propriétés physiologiques des cellules (contraintes maximales supportées, laps de temps maximal au cours duquel les cellules supportent une concentration non optimale en une substance sans changer de métabolisme...).

Les figures 1 à 5 des pages 5 à 8 du fascicule annexe montrent qu'à même vitesse de rotation, plus le diamètre du mobile augmente, plus les vitesses des particules de fluides en chaque point de la cuve augmentent. Ceci paraît logique. A même vitesse de rotation, un plus grand mobile pompera un plus grand débit. Le volume de liquide dans la cuve restant constant, cela se traduit par des vitesses en chaque point plus importantes. Dès lors, les particules de fluides ayant des vitesses plus grandes, elles ont une plus grande inertie et la boucle de recirculation située à gauche du mobile est plus allongée. Nous constatons également que lorsque le mobile est plus grand, la zone d'éjection est plus large, ce qui paraît logique également.

Nous constatons que lorsque la vitesse en bout de pale est la même pour les deux hélices, la même gamme de vitesses est observée dans l'entièreté de l'écoulement et les angles d'éjection sont très proches. Néanmoins, la largeur de la zone d'éjection pour l'hélice TT150 est toujours supérieure à celle de l'hélice TT125. Ceci s'explique simplement par le fait que la pale est plus grande et a dès lors une plus grande zone d'éjection.

Lorsque les deux mobiles sont comparés à même puissance dissipée, nous constatons que les vitesses dans la zone d'éjection sont légèrement plus faibles et que l'angle d'éjection est plus grand pour l'hélice TT150. La largeur de la zone d'éjection de l'hélice TT150 est toujours supérieure à celle de l'hélice TT125.

## 1.7 Conclusion

Nous constatons que toutes les conditions testées donnent lieu à une structure d'écoulement semblable. Le nombre de Reynolds a néanmoins un effet sur la taille des boucles, leur nombre et les vitesses en chaque point de la cuve. Cet effet dépend de la viscosité du fluide, de la



taille du mobile et de la vitesse de rotation de celui-ci. La position de la contre-pale vis-à-vis du plan observé a également un effet mais faible vis-à-vis des autres paramètres.

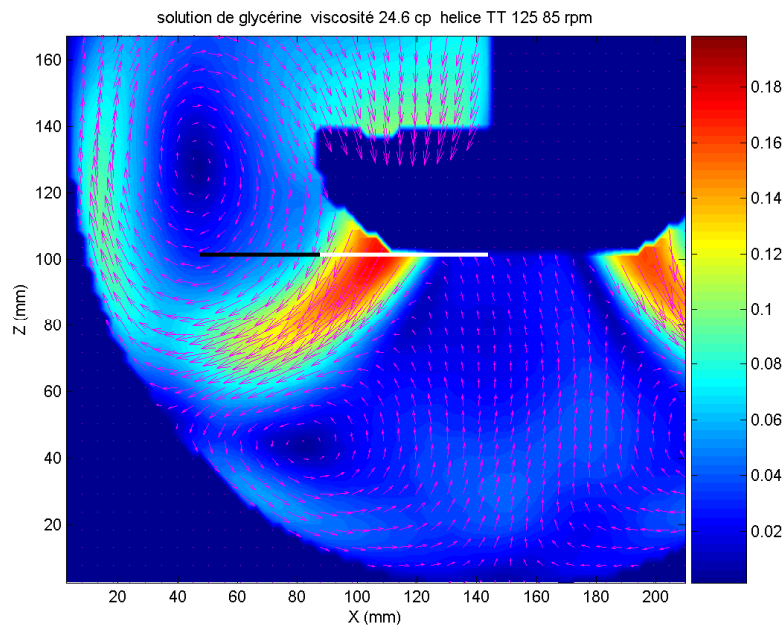
## 2 Débit et nombre de pompage, débit et nombre de circulation

### 2.1 Méthodologie

Les débits de pompage  $Q_p$  et de circulation  $Q_c$  sont obtenus à partir des champs de vitesses selon les formules suivantes :

$$Q_p = 2\pi \int_0^{r_2} v_{axiale}(r, z=0) r dr \qquad Q_c = 2\pi \int_0^{r_0} v_{axiale}(r, z) r dr$$

Le plan  $z$  choisi pour les calculer est illustré à la figure 4 :



**Figure III-4: Position des plans à travers lesquels sont calculés les débits de pompage et de circulation**

Comme expliqué au point 1.2.2 du rappel théorique, pour réaliser l'analogie du mobile d'agitation avec une pompe et comparer le débit de pompage à la hauteur équivalente  $H^*$ , le débit de pompage est mesuré en intégrant les **vitesses axiales** à travers la section balayée par le mobile, située dans le plan juste en dessous l'agitateur. La moitié de cette section est indiquée par la ligne blanche horizontale sur la figure 4. La position de la section à travers laquelle le débit de circulation est calculé est plus arbitraire. Nous avons choisi de garder le même plan que celui du débit de pompage. La moitié de la section, à travers laquelle sont intégrées les vitesses axiales, est représentée par la ligne blanche prolongée par la ligne noire.

En effet, nous arrêtons d'intégrer les vitesses axiales pour un rayon  $r_0$  où celles-ci changent de signe.

Les nombres de pompage et de circulation sont calculés grâce à :

$$N_{Qp} = \frac{Q_p}{N d^3} \qquad N_{Qc} = \frac{Q_c}{N d^3}$$

## 2.2 Résultats

Le tableau 3 donne une série de résultats sur lesquelles nous pouvons voir l'influence de la viscosité, du diamètre du mobile et de sa vitesse de rotation sur les débits de pompage et de circulation.

**Tableau III-3: Débits et nombres de pompage et de circulation de l'hélice TT**

TT125	Qp	NQp	Qc	Nqc	Nqc/Nqp	Re
3.15cP	m³/h	-	m³/h	-	-	-
50 rpm	3.03	0.517	4.51	0.770	1.49	4480
67.5 rpm	4.10	0.518	5.84	0.738	1.42	6049
85 rpm	5.44	0.546	8.22	0.825	1.51	7617
102.5 rpm	6.25	0.521	9.24	0.769	1.47	9185
120 rpm	7.50	0.533	10.94	0.777	1.45	10753
TT125	Qp	NQp 1	Qc	Nqc	Nqc/Nqp	Re
31.06 cP	m³/h	-	m³/h	-	-	-
50 rpm	1.55	0.265	3.55	0.607	2.28	503
67.5 rpm	2.39	0.303	4.77	0.603	1.98	679
85 rpm	2.95	0.296	6.18	0.620	2.09	855
102.5 rpm	4.15	0.346	7.81	0.650	1.87	1031
120 rpm	4.78	0.340	9.34	0.664	1.95	1207
TT150	Qp	NQp 1	Qc	Nqc1	Nqc/Nqp	Re
3.15 cP	m³/h	--	m³/h	-	-	-
50 rpm	5.15	0.509	6.07	0.600	1.17	6452
67.5 rpm	7.41	0.542	8.80	0.643	1.18	8710
85 rpm	8.96	0.521	10.47	0.608	1.16	10969
102.5 rpm	10.92	0.526	12.75	0.614	1.16	13227
120 rpm	12.76	0.525	15.50	0.638	1.21	15485
TT150	Qp	NQp	Qc 1	Nqc	Nqc/Nqp	Re
31.06 cP	m³/h	-	m³/h	-	-	-
50 rpm	2.50	0.247	3.91	0.386	1.56	724
67.5 rpm	3.55	0.260	5.38	0.393	1.51	977
85 rpm	5.70	0.331	8.48	0.492	1.48	1231
102.5 rpm	7.12	0.343	10.32	0.497	1.44	1485
120 rpm	9.89	0.407	14.20	0.584	1.43	1738

Logiquement, l'augmentation de la vitesse de rotation entraîne l'augmentation des débits de pompage et de circulation.

L'augmentation du diamètre du mobile à même vitesse de rotation entraîne également des plus grands débits de pompage et de circulation. Bien qu'il ait été dit au point 1.4 qu'à même vitesse en bout de pale<sup>1</sup> la gamme de vitesses pour les deux hélices soit la même, nous constatons que le débit de pompage est plus grand pour l'hélice TT150 que pour l'hélice TT125. Ceci est simplement du au fait qu'on intègre sur une plus grande surface. L'évolution des débits de pompage et circulation avec le diamètre du mobile à même puissance dissipée<sup>2</sup> est le résultat de deux effets antagonistes. En effet, nous avons dit au point 1.4 que les vitesses en chaque point sont plus faibles pour l'hélice TT150. Mais lorsque nous calculons les débits nous intégrons sur une plus grande surface pour l'hélice TT150. Suivant que la diminution de la vitesse est contrebalancée ou non par l'augmentation de la surface d'intégration, nous obtenons des débits de pompage et de circulation respectivement plus grands ou plus petits pour l'hélice TT150.

L'augmentation de la viscosité diminue les débits de pompage et de circulation. Ce résultat était attendu car, comme expliqué au point 1.3, l'importance de la composante radiale croît lorsque la viscosité augmente. Néanmoins si nous calculons un débit total composé du débit axial à travers la surface de l'agitateur et du débit radial à travers la surface cylindrique qui entoure le mobile, nous constatons que ce débit total diminue toujours avec la viscosité. Ce résultat vient soutenir la constatation faite au point 1.3 où il avait été dit que la norme de la vitesse maximale diminuait. Néanmoins, il faut garder en mémoire que la méthode P.I.V. ne donne accès qu'aux deux composantes de la vitesse comprises dans le plan éclairé par le laser. La troisième composante liée au mouvement de rotation du fluide n'est pas nulle, évolue sûrement avec la viscosité du fluide et doit avoir un effet sur les deux autres composantes de la vitesse et dès lors sur les débits calculés sur base de ces vitesses.

Afin d'avoir une vue complète, il est plus judicieux de regarder l'évolution des nombres de pompage et de circulation en fonction du Reynolds que d'en étudier les effets séparés des différentes composantes du Reynolds. Cette évolution est représentée aux figures 5 et 6.

---

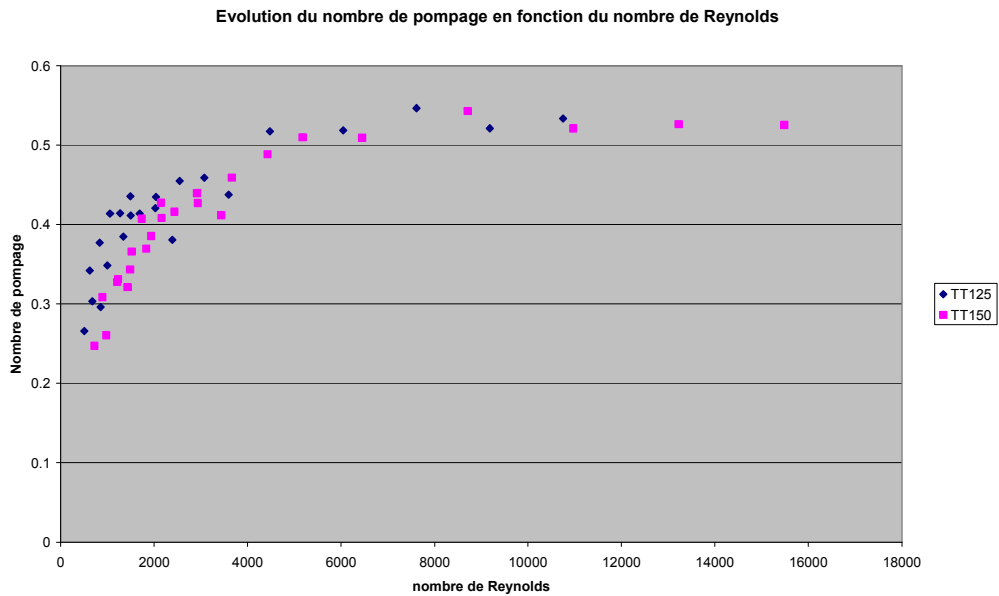
<sup>1</sup> Pour rappel les hélices sont comparées à même vitesse en bout de pale pour les couples de vitesses de rotation suivants :

TT125	TT150
85 rpm	67.5 rpm
102.5 rpm	85 rpm
120 rpm	102.5 rpm

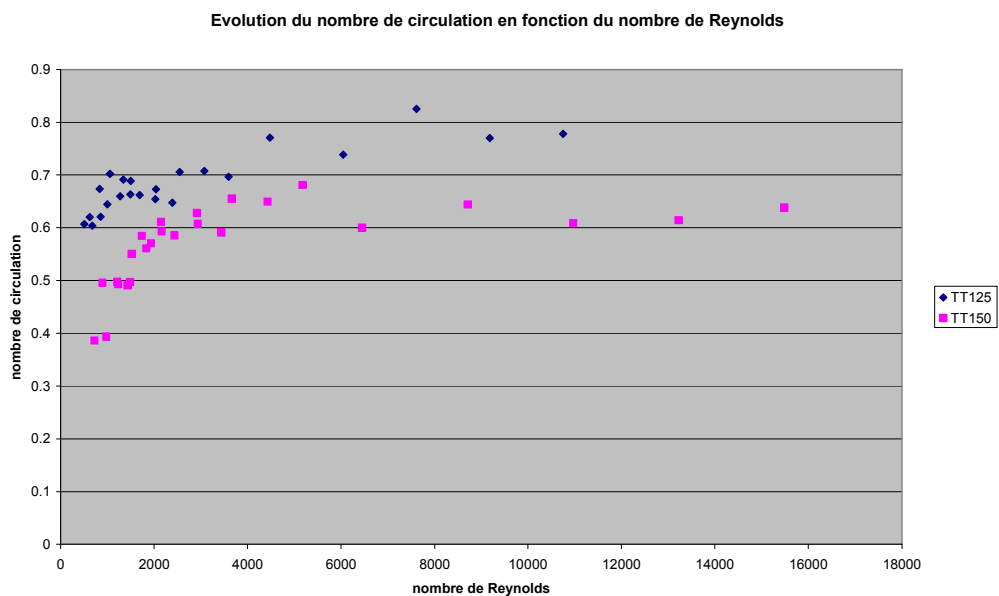
<sup>2</sup> Pour rappel les hélices sont comparées à même puissance dissipée pour les couples de vitesses de rotation suivants :

TT125	TT150
67.5 rpm	50 rpm
102.5 rpm	67.5 rpm

L'évolution du nombre de pompage des deux hélices est identique car les deux séries de résultats se superposent dans le graphique. Il croît progressivement avec le nombre de Reynolds pour atteindre une valeur constante lorsque le régime devient turbulent. Cette évolution est celle classiquement observée pour les mobiles axiaux.



**Figure III-5: Evolution du nombre de pompage en fonction du nombre de Reynolds**



**Figure III-6: Evolution du nombre de circulation avec le nombre de Reynolds**

Le nombre de circulation croît également avec le nombre de Reynolds pour atteindre une valeur constante lorsque le régime devient turbulent. Par contre, nous constatons que l'hélice TT125 a des nombres de circulation plus élevés que l'hélice TT150 à même valeur du nombre de Reynolds.

Les valeurs des nombres de pompage et de circulation, obtenues lorsque l'écoulement devient turbulent, sont légèrement inférieures à celles obtenues dans la littérature et indiquées dans le tableau 3.

**Tableau III-4: valeurs du nombres de pompage et de circulation de l'hélice TT trouvées dans la littérature**

Nom de l'auteur	Nombre de pompage	Nombre de circulation	Nombre de contre-pale, diamètre du mobile, d/D
Mavros & al [MAV 96]	0.73	0.91	4, d =95 mm, 0.5
Baudou & al [BAUD 97]	0.63	0.79	inconnu
Aubin & al [AUB01]	0.67	1.13	4, d =95 mm, 0.5
Ce travail	0.55	0.78	2, d=125 mm, 0.4
	0.55	0.62	2, d=150 mm, 0.5
Mixel : hélice TT [ROUa]	0.96	inconnu	3, $0.25 < d/D < 0.5$
Mixel : hélice TTP [ROUa]	0.65	inconnu	3, $0.25 < d/D < 0.5$

Cette valeur plus faible est sûrement due à la géométrie du dispositif et en particulier au nombre de contre-pales. Celles-ci « cassant » le mouvement rotatif du fluide, le mouvement, dans les plans passant par l'axe du mobile, doit être plus important. La seule manière de vérifier cette thèse est de réaliser les mesures P.I.V. avec 3 ou 4 contre-pales. Cette étude fera l'objet d'un futur travail.

La valeur fournie par le fabricant est nettement supérieure à toutes les autres valeurs rapportées dans la littérature pour le même mobile. Suite à un contact avec le service clientèle, nous avons appris que les améliorations, apportées à l'hélice TT et permettant d'avoir un nombre de pompage aussi important, ne sont effectives que pour des hélices de tailles conséquentes. Pour des hélices TT obtenues par moulage et de tailles inférieures à 200 mm, il faut prendre en considération le nombre de pompage de l'hélice TTP valant 0.65. Lors du scale-up, il faudra garder en mémoire l'évolution du nombre de pompage en fonction de la taille de l'hélice. Néanmoins, cette évolution va dans le bon sens pour la résolution du problème de maintien en suspension des billes de Cytodex1<sup>TM</sup>.

### **3 La puissance dissipée**

#### **3.1 Méthodologie**

Nous accédons à la mesure de la puissance dissipée grâce à la valeur du couple affichée sur le moteur. La valeur de ce couple affichée dépend de la puissance électrique consommée par le moteur. Afin de retirer les pertes dues au rendement mécanique du moteur, la procédure suivante est appliquée :

- L'axe de l'agitateur est retiré du mandrin du moteur ;
- Le moteur tourne durant 15 minutes à vitesse maximale afin de chauffer ;
- Le moteur est ensuite réglé à la vitesse de rotation à laquelle la mesure du couple doit être réalisée ;
- La valeur du couple est amenée à zéro grâce au bouton calibration ;
- L'axe de l'agitateur, à l'extrémité duquel est fixé l'agitateur, est replacé dans le mandrin du moteur ;
- Le moteur est relancé à la vitesse de rotation à laquelle la mesure du couple doit être réalisée, cette mesure s'affiche sur l'écran ;

Notons que le rendement électrique du moteur est pris en compte dans la relation qui existe entre la puissance électrique consommée et le couple. Cette relation a été établie par les concepteurs de moteur Heidolph. La puissance dissipée est obtenue par :  $P = C \cdot N$  où le couple  $C$  s'exprime en N.m et la vitesse de rotation  $N$  s'exprime en  $\text{rad.s}^{-1}$ .

#### **3.2 Evolution de la puissance et du nombre de puissance avec le nombre de Reynolds**

Le tableau 5 donne une série de résultats sur lesquels nous pouvons voir l'influence de la viscosité, du diamètre du mobile et de sa vitesse de rotation sur le couple et la puissance dissipée.

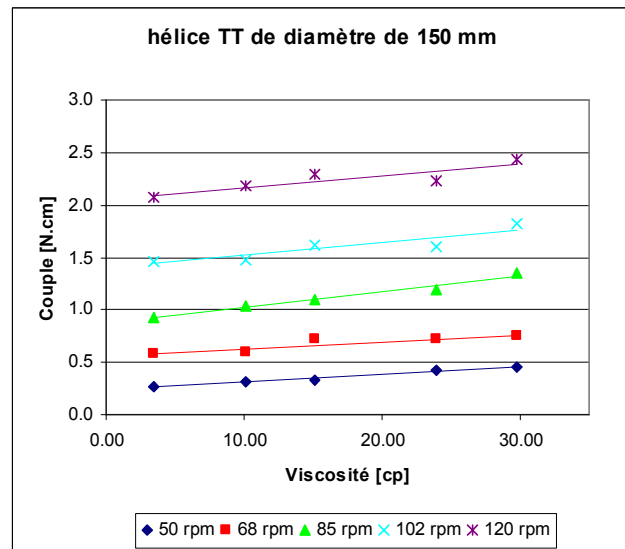
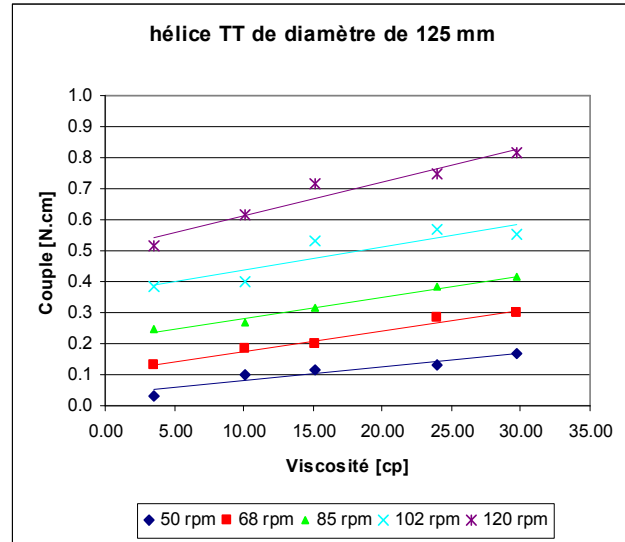
Comme attendu, le couple ainsi que la puissance dissipée augmentent progressivement lorsque la vitesse de rotation et la viscosité du fluide augmentent.

Ils augmentent fortement à même vitesse de rotation lorsque le diamètre du mobile augmente. Le couple étant le produit d'une force multipliée par la distance où celle-ci est appliquée, il est

normal qu'il augmente lorsque le diamètre du mobile augmente. A même vitesse en bout de pale<sup>3</sup>, le couple et donc la puissance dissipée augmentent également lorsque le diamètre du mobile augmente. La comparaison des deux mobiles à même puissance dissipée est dans ce cas-ci triviale.

**Tableau III-5: Couple, puissance dissipée et nombre de puissance de l'hélice TT**

TT125	Couple	Puissance	Np
3.15cP	N.cm	W	-
50 rpm	~ 0	0.0017	0.091
67.5 rpm	0.12	0.0094	0.197
85 rpm	0.25	0.0222	0.236
102.5 rpm	0.38	0.0409	0.251
120 rpm	0.52	0.0649	0.245
TT125	Couple	Puissance	Np
31.06 cP	N.cm	W	-
50 rpm	0.16	0.0087	0.411
67.5 rpm	0.3	0.0213	0.400
85 rpm	0.42	0.0370	0.356
102.5 rpm	0.55	0.0588	0.326
120 rpm	0.82	0.1026	0.350
TT150	Couple	Puissance	Np
3.15 cP	N.cm	W	-
50 rpm	0.26	0.0139	0.293
67.5 rpm	0.58	0.0415	0.346
85 rpm	0.93	0.0830	0.354
102.5 rpm	1.46	0.1566	0.387
120 rpm	2.06	0.2597	0.394
TT150	Couple	Puissance	Np
31.06 cP	N.cm	W	-
50 rpm	0.45	0.0235	0.446
67.5 rpm	0.75	0.0534	0.402
85 rpm	1.35	0.1201	0.463
102.5 rpm	1.82	0.1940	0.433
120 rpm	2.33	0.3057	0.419



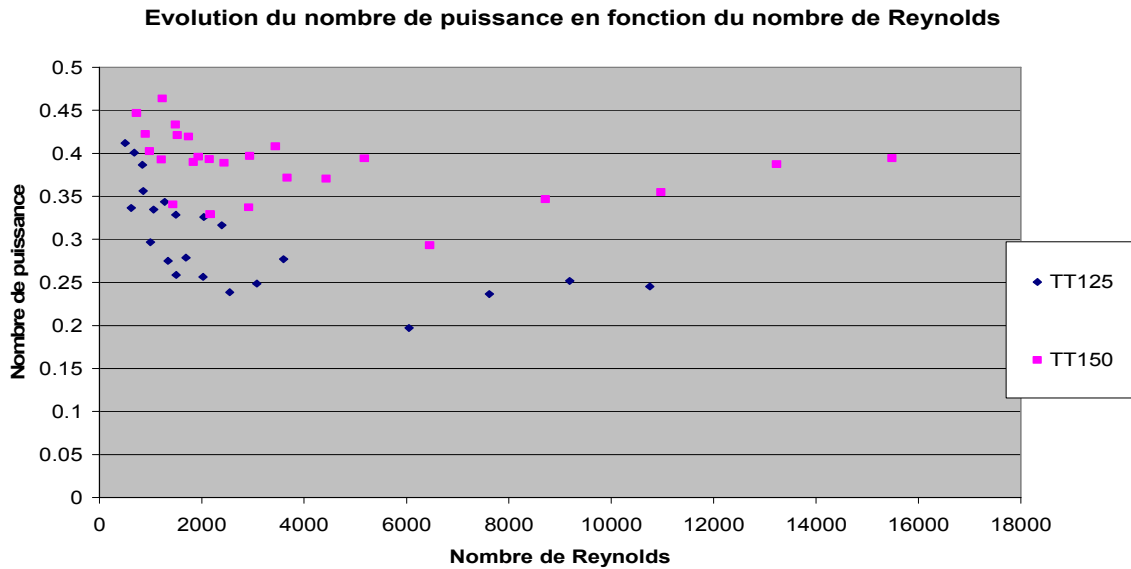
**Figure III-7: Evolution du couple en fonction de la vitesse de rotation et de la viscosité**

Comme pour les nombres de pompage et de circulation, regardons l'évolution du nombre de puissance en fonction du nombre de Reynolds.

<sup>3</sup> Pour rappel les hélices sont comparées à même vitesse en bout de pale pour les couples de vitesses de rotation suivants :

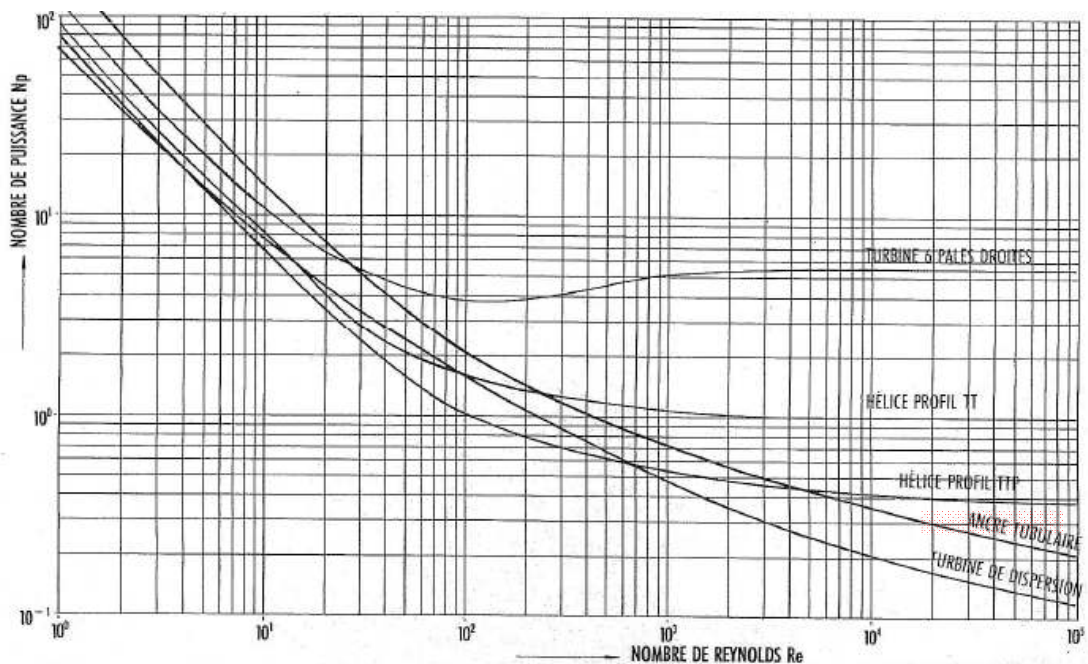
TT125	TT150
85 rpm	67.5 rpm
102.5 rpm	85 rpm
120 rpm	102.5 rpm





**Figure III-8: Evolution du nombre de puissance en fonction du nombre de Reynolds**

Bien que la dispersion des points soit importante, l'évolution du nombre de puissance en fonction de Reynolds est similaire à celles présentées dans le rappel théorique et à la figure 9 qui est fournie par le fabricant : En régime laminaire, le nombre de puissance diminue de manière linéaire avec le nombre de Reynolds. En régime transitoire, l'évolution avec le nombre de Reynolds est plus compliquée. En régime turbulent, le nombre de puissance est indépendant du nombre de Reynolds.



**Figure III-9: Evolution du nombre de puissance de l'hélice TT et l'hélice TTP en fonction du nombre de Reynolds, gravure fournie par le fabricant Mixel.**

Les points sur la figure 8 sont fort dispersés car la mesure du couple n'est pas précise. Les couples mesurés sont très faibles dans l'absolu, de l'ordre de 0.1 à 2 N.cm et par rapport aux couples que le moteur est capable de mesurer de manière précise (valeur nominale de 200 N.cm). La résolution d'affichage du couple est de 0.1 N.cm. Dans chaque configuration, trois mesures ont été réalisées et souvent le couple oscille entre deux valeurs séparées de 0.1 N.cm. La valeur du couple choisie pour le calcul de la puissance et le calcul du nombre de puissance est la moyenne des trois mesures.

La valeur constante du nombre de puissance obtenue en écoulement turbulent est comparée avec celles trouvées dans la littérature :

**Tableau III-6: Comparaison du nombre de pompage obtenu avec ceux trouvés dans la littérature**

Nom de l'auteur	Nombre de pompage	Nombre de contre-pale, diamètre du mobile, d/D
Mavros & al [MAV 96]	0.65	4, d =95 mm, 0.5
Baudou & al [BAUD 97]	0.60	inconnu
Aubin & al [AUB01]	0.74	4, d =95 mm, 0.5
Ce travail	0.25	2, d=125 mm, 0.4
	0.40	2, d=150 mm, 0.5
Mixel : hélice TT [ROUa]	1	3, $0.25 < d/D < 0.5$
Mixel : hélice TTP [ROUa]	0.38	3, $0.25 < d/D < 0.5$

Les mêmes conclusions, que celles faites pour le débit de pompage, peuvent être tirées. La géométrie du système influence le nombre de puissance. Pour des hélices TT obtenues par moulage et de tailles inférieures à 200 mm, il faut prendre en considération le nombre de puissance de l'hélice TTP valant 0.38. Nous obtenons cette valeur pour l'hélice TT d'un diamètre de 150 mm. Nous obtenons une valeur plus faible pour l'hélice TT d'un diamètre de 125 mm. Ceci peut partiellement s'expliquer par l'erreur sur la mesure. En effet, les points correspondant aux Reynolds les plus élevés sont les mesures réalisées dans le mélange eau glycérine de 3.15 cP. Les couples correspondant à ces expériences, comme montrés dans le tableau 4 sont très faibles et compris entre 0.1 à 0.55 cP. Par exemple, si on augmente le couple mesuré à 120 rpm de 0.55 à 0.65, ce qui correspond à l'imprécision sur les mesures, on obtient un nombre de puissance de 0.3 au lieu de 0.25.

Néanmoins, tout comme le nombre de pompage, il conviendra de garder en mémoire lors du scale-up, que le nombre de puissance passera de 0.38 à 1 pour des hélices TT de tailles conséquentes. Contrairement au nombre de puissance, cette transition va dans le mauvais sens car elle signifie que l'action du microcisaillement du mobile augmente. Cela pourrait être néfaste pour la culture cellulaire.

### 3.3 Puissance dissipée dans 20L de Cytodex1™ et concept de Metzner et Otto

Le couple développé par le moteur lorsque la cuve est remplie de 20L de Cytodex1™ a été mesuré. Ces valeurs sont comparées avec celles obtenues dans le mélange eau-glycérine afin d'avoir une idée de l'ordre de grandeur de la viscosité apparente du Cytodex1™ comme définie par le concept de Metzner et Otto [EKA91]. Lorsqu'un fluide est Non - Newtonien, la viscosité  $\mu$  dans la cuve n'a pas une valeur unique mais un spectre de valeurs qui dépend de la répartition spatiale des gradients de vitesses  $\dot{\gamma}$  au sein du fluide. La viscosité apparente est définie comme la viscosité moyenne existant dans la cuve. Elle est déterminée expérimentalement comme suit : considérons deux équipements (cuve et mobile d'agitation) identiques, dont l'un contient un fluide Newtonien, et l'autre un fluide Non-Newtonien. Ces fluides sont agités à la même vitesse de rotation, tout en restant dans le domaine laminaire. La viscosité du fluide Newtonien est modifiée en changeant sa concentration en additif jusqu'à obtenir la même puissance dissipée par l'agitateur dans les deux cuves. Dans ce cas, puisque toutes les variables sont identiques, on peut affirmer que les viscosités apparentes sont égales dans les deux systèmes. Nous pouvons alors déterminer la viscosité apparente du fluide Non-Newtonien dans ces conditions expérimentales en mesurant celle du fluide Newtonien. Les résultats suivants sont obtenus :

**Tableau III-7: Comparaison des puissances dissipées pour la suspension de Cytodex1™ et pour le mélange eau-glycérine**

TT125	Couple	Puissance	TT 125	Couple	Puissance
3.15cP	N.cm	W	Cytodex1™	N.cm	W
50 rpm	~ 0	0.0017	50 rpm	~ 0	0.00085
67.5 rpm	0.12	0.0094	67.5 rpm	0.15	0.01068
85 rpm	0.25	0.0222	85 rpm	0.25	0.0222
102.5 rpm	0.38	0.0409	102.5 rpm	0.35	0.0373
120 rpm	0.52	0.0649	120 rpm	0.5	0.0628

TT150	Couple	Puissance	TT 150	Couple	Puissance
3.15cP	N.cm	W	Cytodex1™	N.cm	W
50 rpm	0.26	0.0139	50 rpm	0.3	0.0157
67.5 rpm	0.58	0.0415	67.5 rpm	0.55	0.0391
85 rpm	0.93	0.0830	85 rpm	0.65	0.0578
102.5 rpm	1.46	0.1566	102.5 rpm	1.33	0.1459
120 rpm	2.06	0.2597	120 rpm	1.65	0.2073

Nous en déduisons, puisque les puissances dissipées dans un mélange eau-glycerine sont légèrement supérieures à celles dissipées dans une suspension de Cytodex1™, que la viscosité apparente de la suspension doit être légèrement inférieure à 3.15 cP. Ceci semblerait être confirmé par les mesures de viscosité réalisées avec le rhéomètre équipé du spindle qui maintient en suspension les billes de Cytodex1™ durant la mesure. Ces mesures montrent que la suspension se comporte comme un fluide Newtonien d'une viscosité de 0.83 cP. Notons que le fait que la suspension soit Newtonienne n'empêche nullement d'utiliser le concept de Metzner et Otto. En effet, ce concept sert à mesurer une viscosité moyenne qui dans le cas d'un fluide Newtonien est la valeur présente en chaque point de la cuve.

### 3.4 Hauteur équivalente d'une pompe et comparaison de l'action de turbulence et de circulation

Le mobile d'agitation peut être assimilé à une pompe. On définit la hauteur théorique équivalente du mobile  $H^*$  à la hauteur de liquide que réaliserait une pompe dissipant la même énergie. Cette grandeur est calculée par :  $P = \rho \cdot g \cdot Q_p \cdot H^*$ . Le rapport de  $\frac{Q_p}{H^*}$  permet de comparer l'action de circulation, caractérisée par  $Q_p$ , et l'action de turbulence, caractérisée par  $H^*$ , du mobile. Les résultats suivants sont obtenus :

Tableau III-8: Hauteur théorique équivalente et rapport de  $Q_p/H^*$

TT125	$H^*$	$Q_p$	$Q_p/H^*$	TT 125	$H^*$	$Q_p$	$Q_p/H^*$
3.15 cP	m	m <sup>3</sup> /h	m <sup>2</sup> /s	31.15 cP	m	m <sup>3</sup> /h	m <sup>2</sup> /s
50 rpm	0.00021	3.03	3.93	50 rpm	0.00171	1.55	0.25
67.5 rpm	0.00076	4.10	1.48	67.5 rpm	0.00266	2.39	0.25
85 rpm	0.00138	5.44	1.09	85 rpm	0.00384	2.95	0.21
102.5 rpm	0.00224	6.25	0.77	102.5 rpm	0.00438	4.15	0.26
120 rpm	0.00293	7.50	0.71	120 rpm	0.00656	4.78	0.20
TT150	$H^*$	$Q_p$	$Q_p/H^*$	TT 150	$H^*$	$Q_p$	$Q_p/H^*$
3.15 cP	m	m <sup>3</sup> /h	m <sup>2</sup> /s	31.15 cP	m	m <sup>3</sup> /h	m <sup>2</sup> /s
50 rpm	0.00091	5.15	1.56	50 rpm	0.00288	2.50	0.24
67.5 rpm	0.00185	7.41	1.11	67.5 rpm	0.00448	3.55	0.22
85 rpm	0.00313	8.96	0.79	85 rpm	0.00644	5.70	0.24
102.5 rpm	0.00492	10.92	0.61	102.5 rpm	0.00845	7.12	0.23
120 rpm	0.00688	12.76	0.51	120 rpm	0.00945	9.89	0.29

Nous constatons que, tout comme la puissance dissipée et le débit de circulation, la hauteur théorique équivalente augmente lorsque la vitesse de rotation du mobile augmente. Par contre le rapport du débit de pompage sur la hauteur équivalente diminue. Cela signifie que l'action de la turbulence du mobile prend le pas sur l'action de circulation.

Lorsque la viscosité augmente, ce rapport chute dramatiquement. En effet, l'augmentation de viscosité fait diminuer le débit de pompage et augmenter la puissance dissipée et la hauteur théorique équivalente.

Lorsque le diamètre du mobile augmente à même vitesse de rotation, le débit de pompage et la hauteur théorique équivalente augmentent. Mais cette dernière augmentant plus fortement que le débit de pompage, leur rapport diminue. Dès lors, à même vitesse de rotation, l'hélice TT150 a une action de turbulence par rapport à son action de pompage plus marquée que l'hélice TT125.

Par contre, lorsque les deux hélices sont comparées à même vitesse en bout<sup>4</sup> de pale, nous constatons que le débit de pompage et la hauteur théorique équivalente sont plus faibles pour l'hélice TT125 que pour l'hélice TT150. Néanmoins dans quatre cas sur six, leur rapport est également légèrement plus faible pour l'hélice TT125 que pour l'hélice TT150. Ainsi à même niveau de cisaillement maximum, l'hélice TT125 a une action de turbulence par rapport à son action de pompage légèrement plus marquée que l'hélice TT150.

Enfin, à même puissance dissipée<sup>5</sup>, les valeurs de hauteur théorique obtenues sont comprises dans la même gamme. Notons que les cas comparés dans chaque couple ne dissipent pas exactement la même puissance mais plutôt une gamme de puissances assez proche. Comme indiqué au point 2.2, l'évolution des débits, quand nous passons de l'hélice TT125 à l'hélice TT150, dépend si la diminution de vitesse est contrebalancée ou non par l'augmentation de la

---

<sup>4</sup> Pour rappel les hélices sont comparées à même vitesse en bout de pale pour les couples de vitesses de rotation suivants :

TT125	TT150
85 rpm	67.5 rpm
102.5 rpm	85 rpm
120 rpm	102.5 rpm

<sup>5</sup> Pour rappel les hélices sont comparées à même puissance dissipée pour les couples de vitesses de rotation suivants :

TT125	TT150
67.5 rpm	50 rpm
102.5 rpm	67.5 rpm

section de calcul du débit de circulation. Le rapport de  $\frac{Q_p}{H^*}$  augmente nettement lorsque la taille du mobile augmente dans le cas d'une solution eau-glycérine de 3.15 cP. Il diminue par contre très légèrement dans le cas d'une solution eau-glycérine de 31.06 cP. Puisque la viscosité de la suspension de Cytodex1<sup>TM</sup> est plus proche de 3.15 cP, nous en concluons, qu'à même niveau de microcisaillement, l'action de la turbulence de l'hélice TT150 par rapport à son action de pompage est plus importante que celle de l'hélice TT125.

Ces conclusions sont tirées des grandeurs globales de mélange. Les grandeurs locales, telles que la répartition du cisaillement et de la dissipation d'énergie dans le plan éclairé par le laser, vont permettre de les affiner.

## 4 Répartition du cisaillement dans le plan éclairé par le laser

### 4.1 Méthodologie

Grâce aux mesures P.I.V., nous avons accès au champ de vitesses dans le plan éclairé par le laser. Nous pouvons donc calculer, grâce au logiciel Matlab, le champ des gradient de vitesses  $y$  correspondant puisque les vecteurs vitesses sont calculés à des intervalles connus, d'environ 2.6 mm l'un de l'autre et que les valeurs de leurs composantes sont reprises dans une matrice. Pour rappel, le cisaillement  $\dot{\gamma}(x,t) = \frac{dv(x,t)}{dx}$  est généralement défini en se

basant sur l'exemple d'un fluide placé entre deux plaques dont l'une est immobile et l'autre mobile. Le mouvement de la plaque mobile crée un gradient de vitesse dans le fluide dans la direction perpendiculaire à l'écoulement. Par analogie, deux composantes de cisaillement peuvent être définies dans un plan de la cuve :

- La première  $dudy$  correspond au gradient de la composante horizontale  $U_x$  de la vitesse dans la direction verticale  $y$ .
- La seconde  $dvdz$  correspond au gradient de la composante verticale  $U_y$  de la vitesse dans la direction horizontale  $x$ .

Ces cisaillements seront représentés en valeur absolue dans l'ensemble des figures commentées dans la suite de ce travail.

Afin de tenir compte de la contribution des deux cisaillements, une grandeur appelée « supercis » est définie comme la somme algébrique des valeurs absolues de  $dudy$  et  $dvdz$ .

Nous aurions pu calculer supercis par le calcul de la norme  $\sqrt{dudy^2 + dvdz^2}$ . Cette méthode aurait donné les mêmes résultats qualitatifs que celle que nous avons appliquée et n'a pas plus de sens physique. En effet, pour calculer la norme du cisaillement totale appliquée en un point de la cuve, il faut connaître la composante de la vitesse  $U_z$  située hors du plan éclairé par le laser ainsi que les quatre composantes du cisaillement  $(\frac{dU_y}{dz}, \frac{dU_x}{dz}, \frac{dU_z}{dx}, \frac{dU_z}{dy})$  également

situées hors du plan éclairé par le laser. Nous n'y avons pas accès par la méthode P.I.V. Dès lors la méthodologie suivie doit être vue comme une première estimation de la position des zones à haut cisaillement et des valeurs de cisaillement subies par les cellules. Une technique telle que la 3 D P.I.V. permettrait d'accéder à ces composantes manquantes. Dès lors, une

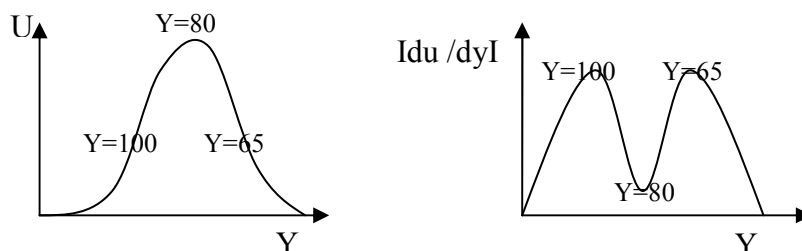
réponse plus précise sur les niveaux de cisaillement pourra être donnée le jour où l'installation actuelle sera améliorée pour permettre de faire des mesures 3 D P.I.V.

## 4.2 Explication générale des répartitions du cisaillement

Premièrement, il ne faut pas lier à une vitesse importante en un point un cisaillement important en ce point. En effet, un cisaillement ne sera important que si les composantes de vitesses de particules de fluides voisines varient fortement. De même, des particules de fluides, caractérisées par des vitesses importantes mais très proches les unes des autres, seront caractérisées par des cisaillements faibles. Ces remarques sont illustrées à la figure 11.

Si nous nous déplaçons de haut en bas le long des lignes blanches sur les deux figures 10 et 11 de la page suivante :

- La composante de la vitesse  $U_x$  augmente assez rapidement (figure10) ce qui se marque par un cisaillement croissant.
- Une valeur maximale de cisaillement est obtenue pour une valeur de  $Y=100$  mm. Celui-ci décroît ensuite pour atteindre une valeur minimale à  $Y=80$  mm. Par contre la composante de la vitesse  $U_x$  ne cesse de croître jusqu'au  $Y=80$  mm. L'explication est illustrée sur les schémas ci-dessous. Le profil de  $U_x$  selon  $Y$  est une cloche présentant 2 points d'inflexion. Avant le premier point d'inflexion, la concavité de la courbe est orientée vers le haut, sa pente et donc le cisaillement croissent en chaque point. Après le point d'inflexion, la concavité est orientée vers le bas, la pente et le cisaillement diminuent en chaque point jusqu'à atteindre un minimum correspondant au maximum de la courbe  $U_x$  en fonction de  $Y$ .



- La valeur du cisaillement réaugmente de  $Y=80$  à  $Y=65$ . Elle rediminue ensuite alors que la composante  $U_x$  de la vitesse ne cesse de décroître de  $Y=80$  jusque  $Y=30$ . Cette



évolution s'explique exactement de la même manière. Notons que la valeur du cisaillement de  $U_x$  selon  $Y$  est en valeur absolue.

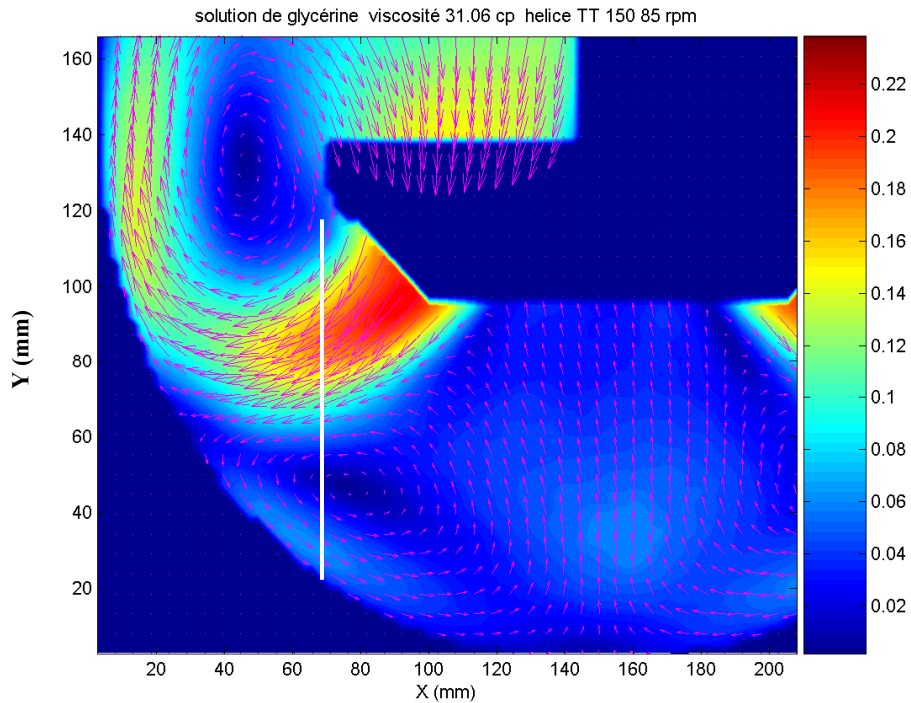


Figure III-10: Champ de vitesses (m/s) dans le cas d'un solution d'eau-glycérine de 31.06 cP mélangée par l'hélice TT150 à 85 rpm

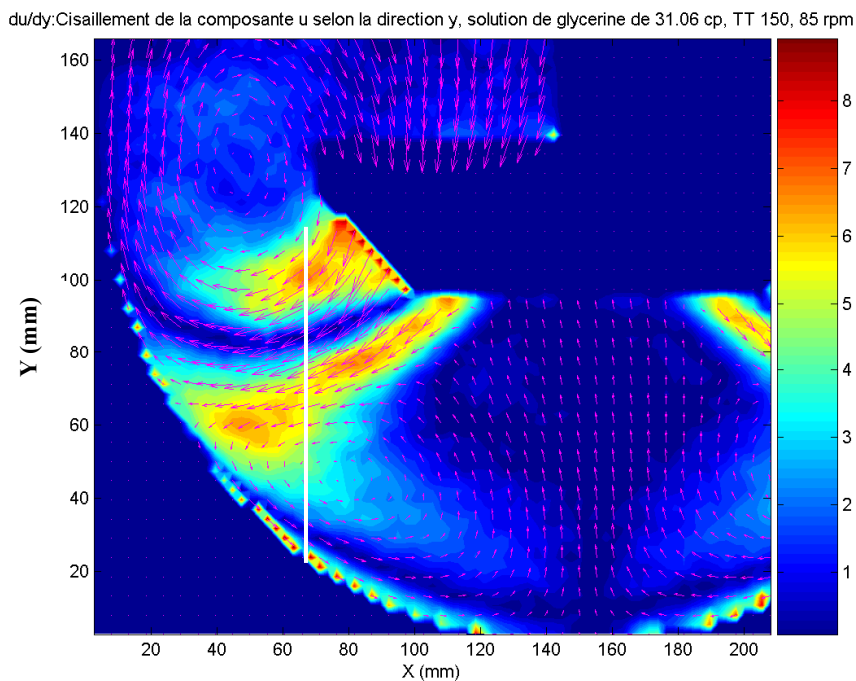


Figure III-11: Cisaillement ( $s^{-1}$ ) de la composante  $U$  selon la direction  $y$  pour une solution eau-glycérine de 31.06 cP mélangée par l'hélice TT150 à 85 rpm

Comme attendu, dans tous les résultats, la zone à haut cisaillement est située à la périphérie de la zone d'éjection là où les gradients de vitesses sont les plus marqués. Elle est également importante le long de la paroi de la cuve où les particules de fluide sont brutalement arrêtées. Elle est relativement faible dans le reste de la cuve.

### **4.3 Influence de la viscosité de la solution sur la répartition du cisaillement dans le plan éclairé par le laser**

Si nous observons l'évolution de la répartition spatiale (figures) et en valeur (histogrammes) du cisaillement en fonction de la viscosité, nous tirons les observations et conclusions suivantes :

- La valeur maximale du cisaillement de la composante  $U_x$  dans la direction  $y$  ( $dudy^6$ ) augmente avec la viscosité (figures 1 à 5 des pages 17 à 22 du fascicule annexe). Comme vu au point 1.3, l'écoulement à la sortie de la pale devient de plus en plus radial lorsque la viscosité augmente. Il est dès lors attendu que le gradient de vitesse à la périphérie de la zone d'éjection soit plus marqué.
- A contrario, la valeur maximale du cisaillement de la composante  $U_y$  dans la direction  $x$  ( $dvd_x^7$ ) diminue avec la viscosité (figures 1 à 5 des pages 23 à 28 du fascicule annexe). Cela provient de la diminution de l'importance de la composante  $U_y$  dans la zone d'éjection. Son gradient de vitesse est dès lors moins marqué.
- La gamme de valeurs de la grandeur supercis, qui est définie comme la somme algébrique des valeurs absolues de  $dudy$  et  $dvd_x$ , n'évolue pas avec la viscosité (figures 1 à 5 des pages 29 à 34 du fascicule annexe). Bien que les valeurs de supercis ne semblent pas varier avec la viscosité, la contrainte liée à ce cisaillement augmente d'un facteur 10 lorsque la viscosité passe de 3.15 cP à 31.06 cP (figures 1 à 5 des pages 33 à 36 du fascicule annexe). En effet, cette contrainte est définie comme le produit de la valeur de supercis par la viscosité de la solution eau-glycérine.
- Notons que les zones à haut cisaillement ( $dudy$ ,  $dvd_x$ , supercis) restent localisées à la périphérie de la zone d'éjection et au niveau de la paroi de la cuve. Leur léger déplacement avec l'augmentation de viscosité n'est dû qu'à l'augmentation de l'angle d'éjection déjà observée au point 1.3.

---

<sup>6</sup> Afin d'alléger le texte, nous appellerons dorénavant le cisaillement de la composante  $U$  dans la direction  $y$  par  $dudy$ .

<sup>7</sup> De même, nous appellerons le cisaillement de la composante  $V$  dans la direction  $x$  par  $dvd_x$ .

#### **4.4 Influence de la vitesse de rotation du mobile sur la répartition du cisaillement dans le plan éclairé par le laser**

Sur les figures 1 à 5 des pages 29 à 54 du fascicule annexe, nous constatons que tous les cisaillements (dvd<sub>x</sub>, dudy, supercis) augmentent lorsque la vitesse de rotation du mobile augmente. Ce résultat était attendu puisque les vitesses dans la zone d'éjection augmentent. Dès lors le gradient de vitesse à la périphérie de cette zone et au niveau de la paroi augmente également. Une augmentation assez brutale est observée dans chaque cas lorsque la vitesse de rotation passe de 102.5 rpm à 120 rpm. Nous aurions pu penser que cela provient d'un changement de régime d'écoulement. Ce n'est pas le cas. En effet, sur toutes les figures reprenant les champs de vitesses (figures 1 et 5 des pages 3 à 8 )et correspondant à des Reynolds variés, nous constatons que l'écoulement juste en dessous de l'extrémité de la pale n'est pas aussi régulier à 120 rpm que pour les autres vitesses. Pour les mesures faites à 120 rpm, l'intervalle de temps entre deux couples d'image est proportionnelle au temps nécessaire pour que le mobile tourne d'un tiers de tour. Dès lors, les champs de vitesses instantanés enregistrés sont tous caractérisés par une même position de la pale de l'agitateur par rapport au plan du laser. Il faudra faire attention de ne plus se retrouver dans cette situation dans les futures mesures car celles-ci n'intègrent pas toutes les situations rencontrées dans la cuve.

#### **4.5 Influence de la taille du mobile sur la répartition du cisaillement dans le plan éclairé par le laser**

La taille du mobile ne modifie pas la position des zones à haut cisaillement ; celles-ci sont localisées à la périphérie de la zone d'éjection et au niveau de la paroi pour l'hélice TT125 et pour l'hélice TT150.

A même vitesse de rotation, nous constatons sur les figures et sur les histogrammes (pages 39 à 54 du fascicule annexe) que la gamme de valeurs de dudy, dvd<sub>x</sub> et supercis, obtenues avec l'hélice TT de 125mm de diamètre, sont chaque fois inférieures à celles obtenues avec l'hélice TT de diamètre de 150mm. Ceci était attendu. En effet, d'une part la gamme de vitesses dans la zone d'éjection est moins étalée pour l'hélice TT125 que l'hélice TT150. D'autre part, le volume occupé par l'hélice TT125 est moindre que celui occupé par l'hélice TT150. L'espace disponible pour la zone d'éjection et les deux boucles de recirculation est donc plus grand. Dès lors, une gamme de valeurs plus étroite dans un volume plus grand induit forcément des gradients de vitesses plus faibles.

A même vitesse en bout de pale<sup>8</sup>, nous observons sur les figures et sur les histogrammes (pages 39 à 54 du fascicule annexe), une même gamme de valeurs pour dudy, dvdx et supercis. La répartition de ces valeurs dans le plan éclairé par le laser est semblable. Cette observation démontre expérimentalement que la vitesse en bout de pale est bel et bien reliée au cisaillement maximum.

A même puissance dissipée<sup>9</sup>, nous observons sur les figures et sur les histogrammes (pages 39 à 54 du fascicule annexe) que les cisaillements maxima (dudy, dvdx, supercis) sont plus faibles pour l'hélice TT150 que pour l'hélice TT125. Ce résultat était attendu puisque nous avons déjà observé au point 1.6 que les vitesses maximales dans la zone d'éjection sont plus faibles pour l'hélice TT150 et que cette zone d'éjection était plus large. Dès lors ces deux phénomènes conduisent à des gradients plus faibles.

#### 4.6 Influence de la position de la contre-pale sur la répartition du cisaillement dans le plan éclairé par le laser

Dans la description de l'écoulement, nous avons déjà noté que l'influence des contres pales sur la structure de l'écoulement était extrêmement faible. Son influence sur la répartition du cisaillement est encore moins perceptible. Dès lors, nous ne nous attarderons pas sur ce point et le lecteur intéressé trouvera sur le cd-rom joint à ce travail les images correspondant à la répartition spatiale et en valeur du cisaillement pour un mélange d'eau et de glycérine de 3.15cP dans la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>ème</sup> configuration.

#### 4.7 Conclusions

En résumé, nous avons remarqué que l'augmentation de la viscosité augmentait la valeur maximale de dudy, diminuait la valeur maximale de dvdx mais avait peu d'effet sur les gammes de valeurs de supercis. Elle a par contre un effet important sur la gamme de valeurs

---

<sup>8</sup> Pour rappel les hélices sont comparées à même vitesse en bout de pale pour les couples de vitesses de rotation suivants :

TT125	TT150
85 rpm	67.5 rpm
102.5 rpm	85 rpm
120 rpm	102.5 rpm

<sup>9</sup> Pour rappel les hélices sont comparées à même puissance dissipée pour les couples de vitesses de rotation suivants :

TT125	TT150
67.5 rpm	50 rpm
102.5 rpm	67.5 rpm

des contraintes car celles-ci sont égales au produit de supercis, qui est constant, par la viscosité qui augmente d'un facteur 10.

L'augmentation de la vitesse entraîne l'élargissement de la gamme de valeurs de  $dudy$ ,  $dvdx$  et supercis.

A même vitesse de rotation, les gammes de cisaillements induits par l'hélice TT125 sont plus étroites que celles induites par l'hélice TT150.

A même vitesse en bout de pale, la gamme de cisaillements est la même pour les deux hélices. Ce résultat montre expérimentalement que la vitesse en bout de pale est directement liée au cisaillement maximum.

A même puissance dissipée, les gammes des cisaillements induits par l'hélice TT125 sont plus larges que celles induites par l'hélice TT150.

Enfin, l'effet de la contre pale est non perceptible.

N'oublions pas que la méthode appliquée est une première estimation des valeurs de cisaillements auxquelles pourraient être soumises les cellules. En effet, elle ne donne pas une réponse complète dans le sens où nous n'avons pas accès à la composante de la vitesse et aux cisaillements hors du plan éclairé par le laser.

## 5 Répartition de la dissipation de l'énergie

### 5.1 Méthodologie

Comme expliqué dans le rappel théorique au point 1.3.2, la dissipation de l'énergie en un point est la vitesse à laquelle l'énergie cinétique des particules de fluide est transformée irréversiblement en chaleur par les frottements visqueux entre les filets de fluide voisins dans un tourbillon extrêmement petit (échelle de Kolmogorov) tournant très rapidement sur lui-même. Elle s'exprime donc en Joule/s et elle sera d'autant plus importante que les gradients des fluctuations de la vitesse sont grands et que la viscosité est grande.

Comme expliqué au point 1.3.2 du rappel théorique, il existe de nombreuses expressions pour calculer la dissipation de l'énergie en chaque point. Nous avons choisi la méthodologie de Baldi & Al [BAL] car celle-ci a été mise au point spécifiquement à partir de mesures P.I.V. Lorsque nous faisons l'hypothèse d'une turbulence isotropique pour le calcul des composantes non connues, l'expression de Baldi, pour le calcul de la dissipation de l'énergie en chaque point à partir des mesures P.I.V., devient :

$$\varepsilon = \nu \cdot \left\{ 2 \cdot \overline{\left( \frac{\partial u_r}{\partial r} \right)^2} + 2 \cdot \overline{\left( \frac{\partial u_z}{\partial z} \right)^2} + 3 \cdot \overline{\left( \frac{\partial u_r}{\partial z} \right)^2} + 3 \cdot \overline{\left( \frac{\partial u_z}{\partial r} \right)^2} + 2 \cdot \overline{\frac{\partial u_r}{\partial z} \cdot \frac{\partial u_z}{\partial r}} \right\}$$

Où  $u_r$  et  $u_z$  sont les composantes des fluctuations de la vitesse en coordonnées cylindriques dans lesquelles les coordonnées  $r$  et  $z$  sont relatives au plan éclairé par le laser caractérisé par  $\varphi=0$ .

La dissipation de l'énergie se produit à l'échelle de Kolmogorov. Puisque les mesures P.I.V. ne permettent pas de descendre à une échelle aussi petite, nous n'obtiendrons en chaque point qu'un pourcentage de la valeur de la dissipation de l'énergie. Ce pourcentage dépend du rapport de la résolution des mesures P.I.V. vis-à-vis de l'échelle de Kolmogorov en ce point. La résolution des mesures P.I.V. telles qu'elles ont été prises est de 2.66 mm puisqu'un vecteur moyen est calculé sur une zone de 32X32 pixels avec un overlapping de 50% et qu'il y a 6 pixels par mm. L'échelle de Kolmogorov est de l'ordre de 50  $\mu\text{m}$  dans la zone proche de l'agitateur où la dissipation de l'énergie est importante. Elle est de l'ordre de grandeur de 1 mm dans le reste de la cuve. D'après l'étude réalisée par Piirto & al [PII00], il semblerait

que lorsque le rapport de la résolution spatiale sur l'échelle de Kolmogorov est proche de 2, la valeur estimée de la dissipation de l'énergie à partir des mesures P.I.V. représente 90% de la valeur réelle. Elle chute à 65% lorsque le rapport vaut 9. Nous n'avons aucune information pour des rapports plus élevés.

Une méthode pour augmenter la résolution des mesures P.I.V. et se rapprocher de l'échelle de Kolmogorov est de réduire la taille de la zone observée par la caméra. Ainsi les mesures seraient réalisées dans une série de petites zones. La répartition de la dissipation de l'énergie dans l'entière de la cuve serait obtenue en remettant bout à bout ces différentes zones. Néanmoins cette méthodologie nécessiterait énormément de temps. Elle pourrait faire l'objet d'un futur travail. De plus, le sujet de la dissipation de l'énergie calculée à partir des mesures P.I.V. est un domaine très complexe qui fait l'objet de nombreuses études actuellement. Dès lors, nous n'aurons la prétention que de l'aborder de manière qualitative en insistant surtout sur la manière dont la viscosité, la vitesse de rotation du mobile et la taille modifient sa répartition spatiale. Nous garderons en mémoire que les valeurs obtenues en chaque point ne représentent qu'un certain pourcentage de la valeur réelle et que ce pourcentage n'est pas connu de manière précise.

## 5.2 Description de la répartition de la dissipation de l'énergie dans le plan éclairé par le laser

Dans chaque condition testée, la structure représentée à la figure 12 et 13 est obtenue pour la répartition de la dissipation de l'énergie dans le plan éclairé par le laser.

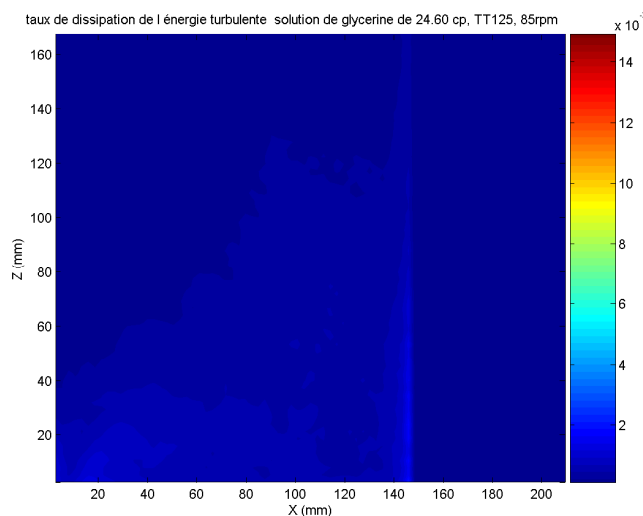
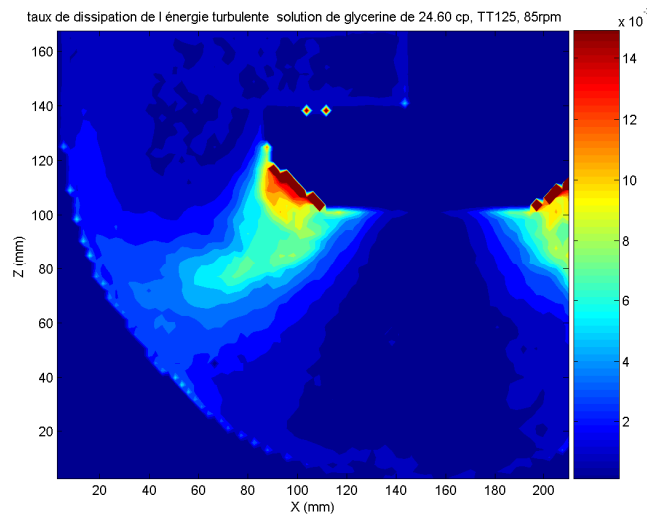
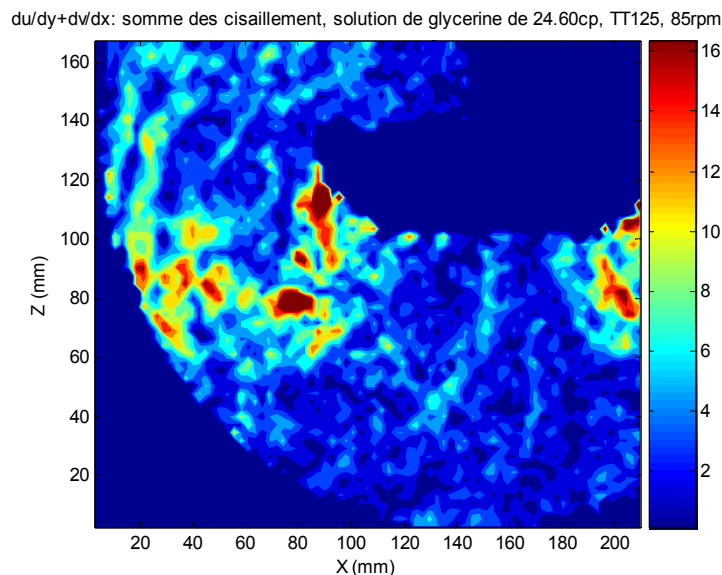


Figure III-12: Répartition de la dissipation de l'énergie dans la zone haute pour une solution eau glycérine de 24.60 cP mélangée par l'hélice TT125 à 85 rpm



**Figure III-13: Répartition de la dissipation de l'énergie dans la zone basse pour une solution eau glycérine mélangée par l'hélice TT125 tournant à 85 rpm**

Nous constatons que la dissipation de l'énergie est très importante à la sortie de la pale de l'agitateur. Elle est encore élevée dans la zone d'éjection et est très faible dans le reste de la cuve. La zone d'éjection et la zone à la sortie de la pale sont caractérisées par des fluctuations de vitesses importantes car la turbulence y est marquée. Leur gradient est également important comme il est montré à la figure 14. Dès lors il est logique vu l'expression de la dissipation de l'énergie que celle-ci y soit importante dans ces zones.



**Figure III-14: Gradient de la fluctuation ( $s^{-1}$ ) de la vitesse pour une solution eau glycérine de 24.60 cP mélangée par l'hélice TT125 tournant à 85 rpm**



### **5.3 Effet de la viscosité sur la dissipation de l'énergie**

Nous constatons sur les figures 1 à 5 pages 57 et 60 du fascicule annexe, que l'augmentation de la viscosité ne modifie pas la taille de la zone où la dissipation de l'énergie est supérieure à celle dans le reste de la cuve. Par contre les valeurs dans cette zone augmentent lorsque la viscosité augmente. Ceci était attendu. En effet, lorsque la viscosité augmente, les frottements visqueux augmentent et la dissipation de l'énergie augmente. Ce raisonnement se voit également directement dans l'expression de la dissipation de l'énergie où la valeur de la viscosité apparaît.

### **5.4 Effet de la vitesse de rotation du mobile sur la dissipation de l'énergie**

Nous constatons sur les figures 1 à 5 des pages 61 à 64 du fascicule annexe que l'augmentation de la vitesse de rotation induit une augmentation de la dissipation de l'énergie dans la zone située à la sortie de la pale de l'agitateur et dans la zone d'éjection. Lorsque la vitesse de rotation augmente, la turbulence dans la zone d'éjection augmente et les gradients de la fluctuation de la vitesse augmentent également. Vu l'expression de la dissipation de l'énergie, il est normal que celle-ci augmente en chaque point.

### **5.5 Effet de la contre-pale sur la dissipation de l'énergie**

Dans la description de l'écoulement, nous avons déjà noté que l'influence des contres pales sur la structure de l'écoulement était extrêmement faible. Son influence sur la répartition de la dissipation de l'énergie est encore moins perceptible. Dès lors, nous ne nous attarderons pas sur ce point et le lecteur intéressé trouvera sur le cd-rom joint à ce travail les images correspondant à la répartition de la dissipation de l'énergie pour un mélange d'eau et de glycérine de 3.15cP dans la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>ème</sup> configuration.

### **5.6 Effet du diamètre du mobile sur la dissipation de l'énergie**

A même vitesse de rotation, la dissipation de l'énergie dans la zone d'éjection et à la sortie de la pale est plus importante pour l'hélice TT150 que pour l'hélice TT125. En effet, l'hélice TT150 induit des gradients de fluctuations de la vitesse plus importants. Notons qu'au point 3.4, il avait déjà été remarqué que le rapport  $\frac{Q_p}{H^*}$  de l'hélice TT150 est plus faible que celle de

l'hélice TT125, ce qui signifie que l'action de turbulence par rapport à l'action de pompage de l'hélice TT150 est plus importante que celle de l'hélice TT125.

A même vitesse en bout de pale<sup>10</sup>, la dissipation de l'énergie dans la zone d'éjection et à la sortie de la pale est légèrement plus importante pour l'hélice TT125 que pour l'hélice TT150. Notons qu'au point 3.4, il avait déjà été dit que l'action de la turbulence par rapport à l'action de pompage de l'hélice TT125 était plus important que celle de l'hélice TT150.

A même puissance dissipée<sup>11</sup>, la dissipation de l'énergie est dans la même gamme de valeurs pour l'hélice TT125 et l'hélice TT150. Or l'énergie dissipée étant reliée au microcisaillement par sa formule, cela confirme bien que les comparaisons, dans les paragraphes précédents faites à même puissance dissipée, le sont à même niveau de microcisaillement.

## 5.7 Conclusions

La dissipation de l'énergie est importante à la sortie de la pale du mobile et dans la zone d'éjection. Ceci était attendu car la turbulence et les gradients de fluctuations de la vitesse  $u$  y sont marqués. Elle est faible dans le reste du plan éclairé par le laser.

L'accroissement de la vitesse de rotation de l'agitateur et de la viscosité entraîne l'augmentation de la dissipation de l'énergie. En effet, ces deux grandeurs augmentent respectivement les gradients de la fluctuation de la vitesse et les forces de frictions qui apparaissent dans l'expression de la dissipation de l'énergie en un point.

A même vitesse de rotation, l'augmentation du diamètre entraîne l'augmentation de la dissipation de l'énergie dans la zone d'éjection et à la sortie de la pale du mobile.

A même vitesse en bout de pale, l'augmentation du diamètre du mobile entraîne une légère diminution de la dissipation de l'énergie dans la zone d'éjection et à la sortie de la pale du mobile.

---

<sup>10</sup> Pour rappel les hélices sont comparées à même vitesse en bout de pale pour les couples de vitesses de rotation suivants :

TT125	TT150
85 rpm	67.5 rpm
102.5 rpm	85 rpm
120 rpm	102.5 rpm

<sup>11</sup> Pour rappel les hélices sont comparées à même puissance dissipée pour les couples de vitesses de rotation suivants :

TT125	TT150
67.5 rpm	50 rpm
102.5 rpm	67.5 rpm

Ces deux évolutions avaient déjà été observées lorsque les mobiles avaient été comparés sur base de leurs rapports  $\frac{Q_p}{H^*}$ .

A même puissance dissipée, les deux mobiles ont une même gamme de valeurs de la dissipation de l'énergie dans la zone d'éjection et à la sortie de la pale. La dissipation de l'énergie étant reliée par définition au microcisaillement, cela confirme bien que les comparaisons réalisées dans les paragraphes précédents à même puissance dissipée, le sont également à même niveau de microcisaillement.

Enfin, l'effet de la contre pôle est non perceptible.

## **Chapitre IV**

---

### **Résultats obtenus par la méthode P.L.I.F.**

# 1 Le temps de mélange

## 1.1 Méthodologie

Le temps de mélange  $t_M$  est défini comme étant le temps nécessaire, dans des conditions d'agitation bien définies, pour qu'une injection de traceur se répartisse de manière uniforme dans la cuve. Ce temps est mesuré expérimentalement grâce au dispositif P.L.I.F. Cette mesure intéresse les chercheurs de G.S.K. BIO. car ils sont confrontés à une situation similaire lorsqu'ils régulent, par exemple, le pH par injection d'acide ou de base. D'une part, il est utile de savoir si l'injection se répartit dans la cuve ou si elle reste confinée à l'endroit où elle est injectée. D'autre part, la valeur du temps de mélange pourra être comparée à la durée durant laquelle les cellules supportent un pH différent du pH optimal sans changer de métabolisme. Les conditions d'injection optimales pourront ainsi être choisies. Afin d'aider au choix de celles-ci, différents paramètres ont été intégrés dans l'étude :

- **Deux points d'injection sont testés.** Suite aux contraintes de maintien de la stérilité en cours de culture cellulaire, les points d'injection ne peuvent être placés que dans la zone située à la surface du liquide ou dans la zone située sur la paroi latérale cylindrique du réacteur. Le premier point testé est situé à la surface du liquide, à 3 cm de l'axe de l'agitateur. Cette distance à l'axe a été choisie car elle doit correspondre au temps de mélange le plus faible pour une injection en surface. En effet, d'après les mesures P.I.V., l'écoulement y est descendant et caractérisé par des vitesses plus importantes que dans la zone située près de la paroi de la cuve. Dès lors, l'injection de traceur passera après un délai plus court à travers le mobile qui la répartira dans l'entièreté de la cuve. Le second point d'injection testé est situé sur la paroi de la cuve à hauteur de l'agitateur. Cet endroit permet également un passage assez rapide du traceur à travers l'agitateur, ce qui se traduit par un temps de mélange court ;
- **Trois vitesses sont testées :** 50 rpm, 85 rpm, 120 rpm. Les mesures aux vitesses 67.5 rpm et 102.5 rpm ne seront pas réalisées car une mesure P.L.I.F. nécessite intrinsèquement un temps nettement plus important qu'une mesure P.I.V. De plus, contrairement aux mesures P.I.V. où la moyenne est réalisée sur 150 images ce qui réduit fortement l'erreur aléatoire, une injection ne représente qu'une seule mesure. Elle devra dès lors être répétée deux fois.
- **Deux viscosités sont testées.** Il s'agit de la viscosité minimale (3.39 cP) et maximale (31.39 cP) analysées par P.I.V.

- Les expériences seront réalisées avec l'hélice TT125 et l'hélice TT150 afin de mettre en évidence **l'influence du diamètre du mobile** sur le temps de mélange.

## 1.2 Traitement des images

Les données brutes obtenues sont des images où le niveau de gris est proportionnel en chaque point à la concentration en traceur. Afin de trouver le coefficient de proportionnalité, une courbe de calibration doit être réalisée. Néanmoins, la valeur du niveau de gris n'est pas uniquement influencée par la concentration en substance fluorescente, elle dépend également de l'énergie du laser comme le montre la relation suivante [PLIFGuide] :

$$F \approx C \cdot \alpha_c \cdot E_0$$

Où  $F$  est la fluorescence qui est proportionnelle au niveau de gris,

$C$  est la concentration en la substance fluorescente,

$\alpha_c$  est le coefficient de proportionnalité qui doit être déterminé par calibration,

$E_0$  est l'énergie du laser.

Or comme indiqué dans les publications de Kling&al [Kling], **l'énergie du laser varie** d'un pulse à l'autre **dans le temps**. Un « energy pulse meter » qui est une cellule photoélectrique mesurant à chaque pulse l'énergie du laser permettrait de corriger chaque image mais l'installation utilisée n'en est pas équipée. Nous pouvons cependant estimer l'erreur introduite en observant la variation du niveau de gris sur un jeu de 300 images correspondant à une concentration uniforme de 20µg/L. Cette variation en niveau de gris est retraduite en concentration et vaut 0.55 µg/L.

Ensuite, lorsqu'une image à concentration constante est analysée, on observe que le niveau de gris de chaque point n'est pas constant. Dès lors **l'énergie du laser varie dans l'espace**. Deux phénomènes se superposent :

- D'une part, l'énergie du laser n'est pas constante dans le plan ; elle est plus importante dans l'axe du laser qu'en périphérie de cet axe.
- D'autre part, l'énergie du laser est atténuée par la matière traversée (verre, solution, pale de l'agitateur...) ; elle sera donc plus importante dans la première moitié de la cuve située du côté du laser que dans l'autre moitié.

Afin de tenir compte de ces deux phénomènes, les coefficients de la courbe de calibration sont déterminés en chaque pixel de l'image grâce à une routine créée dans l'environnement Matlab (version 7.01) et placée en annexe.

### 1.3 Résultats

La première idée pour déterminer le temps de mélange a été de tracer l'évolution au cours du temps de la concentration de la substance fluorescente en chaque pixel de l'image. Cette méthode était irréalisable d'un point de vue technique (temps de calcul prohibitif et ressources informatiques insuffisantes) car une image est composée de 1280 pixels X 1024 pixels et une injection est constitué de 300 images.

La même méthodologie a dès lors été appliquée à un nombre limité de points dans l'image. Néanmoins, comme observé dans la figure 1 ci-dessous, l'évolution de la concentration varie fortement d'un point à l'autre. Un critère permettant de déterminer le temps de mélange dans la cuve était dès lors difficile à définir.

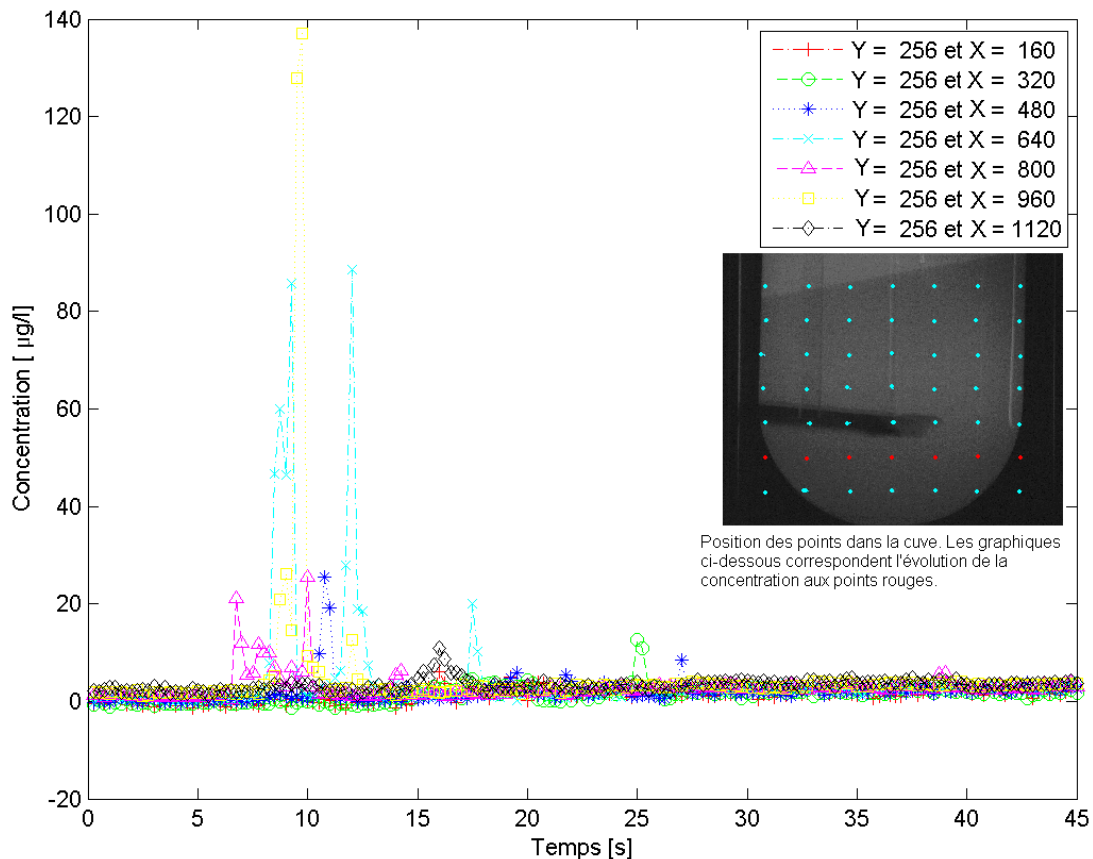
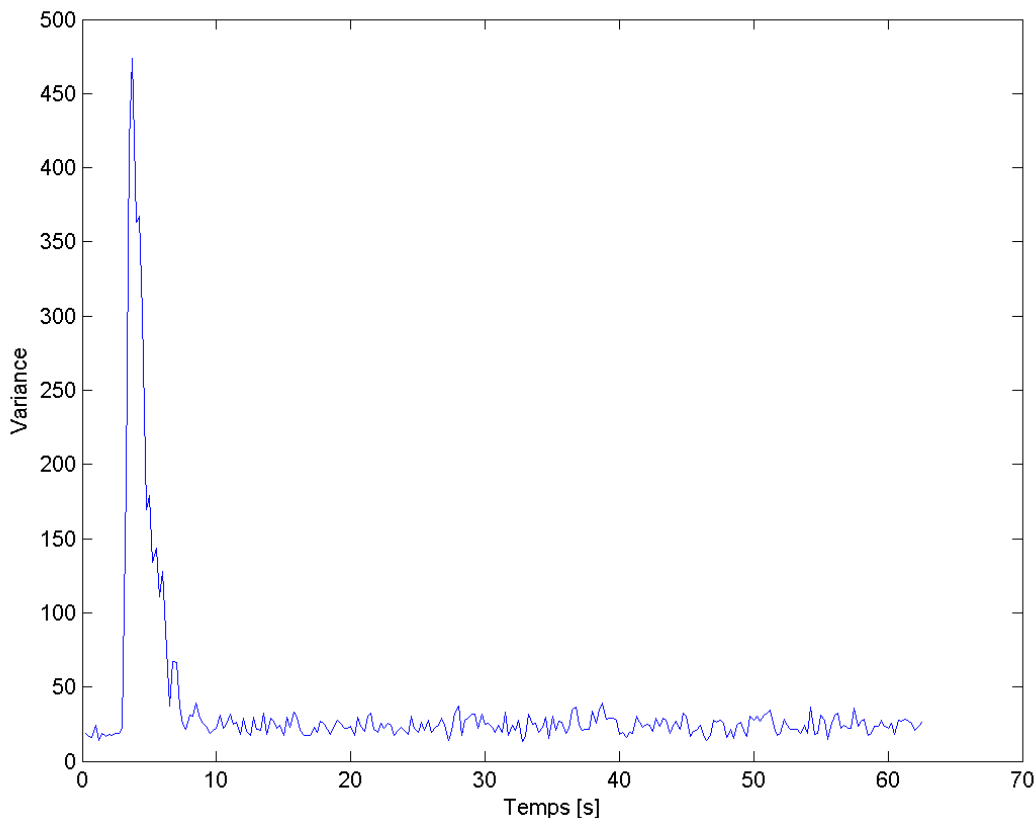


Figure IV-1: Evolution au cours du temps de la concentration aux endroits indiqués par un point rouge dans l'image. Conditions expérimentales : viscosité 3.39 cP, vitesse de rotation 50 rpm, hélice TT125, injection au point situé à la surface du liquide.

Puisqu' au moment de l'injection et les secondes qui suivent la gamme de niveau de gris dans l'image est très étalée, une détermination du temps de mélange sur base de l'évolution de la variance est possible. Un masque est d'abord appliqué afin d'éliminer la zone de l'image située hors de la cuve ainsi que les zones problématiques telles que celles correspondant à la contre-pale, à l'axe de l'agitateur, au mobile et à son ombre. La concentration en traceurs est calculée en chaque point grâce à la courbe de calibration du point. Une variance de concentration dans l'entièreté de la zone non masquée est calculée. Cette opération est répétée pour les différentes images correspondant à une injection. Les différentes images successives sont espacées d'un intervalle de temps de 250 ms. La routine Matlab réalisant ces opérations est reprise en annexe. Comme illustré à la figure 2 ci-dessous, la variance est constante avant l'injection. Elle augmente brutalement lors de l'injection et puis diminue progressivement. Elle redevient constante lorsque la concentration en substance fluorescente est uniforme dans la cuve. Le bruit observé provient de la variation de l'énergie du laser qui provoque une variation de variance de  $\pm 2.5$  unités.



**Figure IV-2: Evolution de la variance au cours du temps**

Le temps de mélange est obtenu en mesurant le temps entre le moment où la variance augmente et le moment où elle redevient constante. Afin de valider la méthode, les valeurs



mesurées ont été comparées à celles obtenues en observant visuellement les différentes images successives. Le critère choisi pour le temps de mélange est le temps nécessaire pour que plus aucun filet de fluide n'ait un niveau de gris différent de ces voisins. Ce critère est illustré à la figure 3.



**Figure IV-3: Illustration du critère:**

**à gauche : début d'injection**

**au milieu : le temps de mélange n'est pas encore atteint car certains filets de fluide sont encore plus claires que leur voisins (indiqué par les flèches rouges).**

**à droite : le temps de mélange est atteint.**

Notons que les lignes obliques très claires observées en haut de la cuve sont dues à une interférence entre le rayon du laser incident et le rayon du laser réfléchi par la surface du liquide. La ligne claire verticale située à droite de la cuve est le tube métallique permettant l'injection du traceur en position basse.

La comparaison des temps de mélange obtenus par les deux méthodes montre que la méthode basée sur la variance sous estime fortement les temps de mélange. En effet, la variance correspondant à de faibles variations de concentration entre filets de fluide voisins est proche de la valeur à concentration uniforme et sa variation est du même ordre de grandeur que celle induite par la fluctuation de l'énergie du laser. Néanmoins, les faibles variations de la concentration entre filets de fluide voisins restent perceptibles à l'œil. C'est pourquoi les résultats de temps de mélange exprimés en seconde et présentés ci-dessous seront basés sur la méthode visuelle.

**Tableau IV-1: Tableau récapitulatif des temps de mélange obtenus en seconde**

3.39 cP					31.39 cP				
TT125	Injection basse 1	Injection basse 2	Injection haute 1	Injection haute 2	TT125	Injection basse 1	Injection basse 2	Injection haute 1	Injection haute 2
50 rpm	29.503	50.748	39.497	31.505	50 rpm	80.246		Non exploitable	Non exploitable
85 rpm	21.752	21.501	19.758	21.501	85 rpm	72.504	53.497	85.002	Non exploitable
120 rpm	15.753	12.007	14.752	13.26	120 rpm	33.129	41.5	83.205	77.501

TT150	Injection basse 1	Injection basse 2	Injection haute 1	Injection haute 2	TT150	Injection basse 1	Injection basse 2	Injection haute 1	Injection haute 2
50 rpm	22.753	20.499	34.5	35.751	50 rpm	65.514	61.749	85.252	Non exploitable
85 rpm	15.002	11.746	20.249	22.001	85 rpm	37	30.254	71.002	82.759
120 rpm	8.302	9.51	11.748	10.004	120 rpm	19.756	18.506	54.748	44.755

## 1.4 Discussion

### 1.4.1 Influence du point d'injection

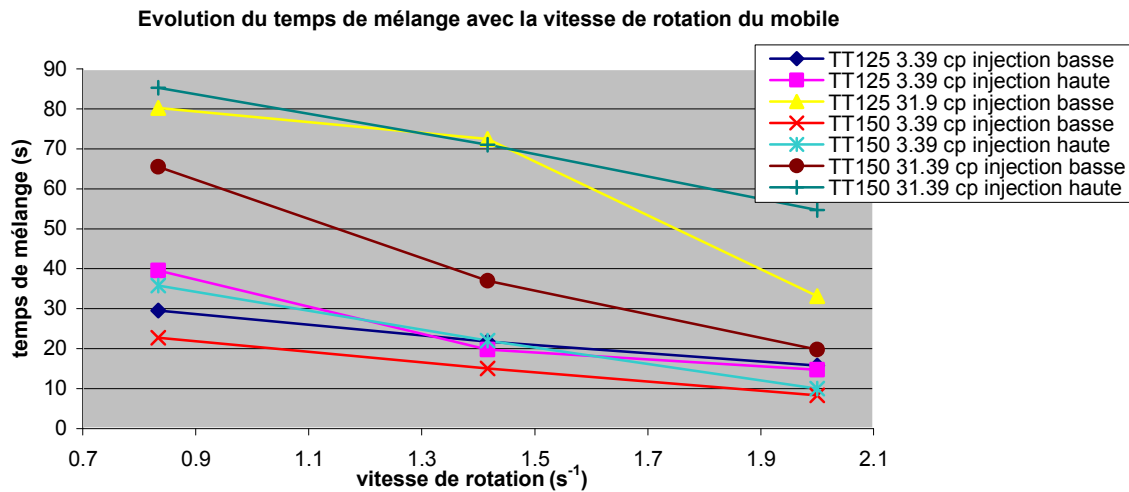
Les temps de mélange obtenus en injectant le traceur à la surface du liquide sont 1,2 fois à 2,5 fois plus élevés que ceux obtenus lorsque le traceur est injecté au niveau de la surface latérale. Néanmoins nous remarquons dans le tableau 1 que cette tendance est moins marquée lorsque le mélange a lieu avec l'hélice TT125 dans un fluide d'une viscosité de 3.39 cP.

La carte des champs de vitesses obtenus par P.I.V. (figures 1 et 5 des pages 1 à 4 du fascicule annexe) ainsi que leurs gradients (figures 1 et 5 des pages 29 à 32 du fascicule annexe) explique cette tendance. Le traceur se trouve dans une zone où les vitesses sont plus importantes et ont un effet plus dispersant (gradient de vitesses élevé) lorsqu'il est injecté le long de la surface latérale (appelée zone basse) que lorsqu'il est injecté à la surface du liquide (appelée zone haute). De plus, le point d'injection bas est plus proche du mobile que le point d'injection haut. Il faut dès lors un délai plus court pour que le paquet de traceur atteigne une première fois le mobile et soit dispersé dans la cuve par celui-ci.

Le choix de réguler le pH en injectant un acide ou une base à travers la surface latérale du réacteur à hauteur du mobile s'avère donc plus judicieuse.

### 1.4.2 Influence du Reynolds à travers la vitesse de rotation, la viscosité et le diamètre du mobile

Dans toutes les configurations, lorsque la vitesse de rotation augmente, le temps de mélange diminue. Si on trace le graphique de l'évolution du temps de mélange en fonction de la vitesse de rotation, on obtient dans la majorité des cas une droite de pente négative ou une hyperbole décroissante très aplatie.



**Figure IV-4: Evolution du temps de mélange avec le vitesse de rotation du mobile**

Lorsque la viscosité augmente, le temps de mélange augmente fortement. Ceci est dû à deux faits ; d'une part, le coefficient de diffusion diminue si la viscosité augmente, d'autre part, la solution injectée est composée d'eau et de Rhodamine 6G. Or pour atteindre une viscosité de 31.39 cP, la cuve est remplie d'un mélange de 72% de glycérine et de 28% d'eau dont la densité vaut 1200 kg/m<sup>3</sup>. Le fluide injecté ayant une densité égale à 1000 kg/m<sup>3</sup>, une partie de celui-ci a tendance à remonter à la surface du liquide et de ne s'y incorporer progressivement que par diffusion. Ce phénomène aurait pu être supprimé en dissolvant la rhodamine 6G dans un mélange eau-glycérine et en injectant ce mélange dans la cuve mais cela n'a pas été fait car lorsque les chercheurs de G.S.K. BIO. injectent une solution acide ou basique pour réguler le pH, elle n'a pas nécessairement la même densité que le milieu de culture.

Lorsque le diamètre de l'agitateur augmente et à même vitesse de rotation, la valeur du temps de mélange diminue de 12 à 47% suivant les configurations. Ceci s'explique par les mesures P.I.V., où les vitesses sont plus importantes (figures 1 à 5 des pages 5 à 8) et le cisaillement plus fort (figures 1 à 5 des pages 51 à 54) lorsque le diamètre de l'agitateur augmente. Le volume occupé par l'agitateur est également plus important. Or cette région est caractérisée par une turbulence plus importante qui favorise l'homogénéisation de la concentration. La comparaison des deux hélices sur base de la même vitesse en bout de pale et sur base de la même puissance dissipée ne peut pas être faite dans ce cas-ci. En effet, puisque les mesures n'ont pas été faites à 67.5 rpm et 102.5 rpm, les couples sur lesquels nous avons fait la comparaison dans les résultats P.I.V. disparaissent.

Comme expliqué dans le rappel théorique, il existe une relation entre temps de mélange et le Reynolds dans la cuve pour des systèmes géométriquement semblables, munis de chicanes et travaillant en régime turbulent :  $N \cdot t_M = k' \cdot Re^x$  où  $k'$  et  $x$  dépendent du type de mobile. Les valeurs de  $k$  et de  $x$  ont été déterminées par ajustement par la méthode des moindres carrés :

**Tableau IV-2: Paramètres ajustés de l'équation reliant le temps de mélange au Reynolds**

	TT125 injection basse 3.39 cP	TT125 injection haute 3.39 cP	TT125 injection basse 31.39 cP	TT150 injection basse 3.39 cP	TT150 injection haute 3.39 cP	TT150 injection basse 31.39 cP	TT150 injection haute 31.39 cP
$x$	0.6926	0.6459	0.9440	0.6454	0.6598	0.9379	0.9321
$k'$	3.616	3.818	4.235	3.258	3.160	4.455	4.744

Les valeurs de  $x$  obtenues permettent de savoir que la relation entre le temps de mélange et la vitesse de rotation n'est pas linéaire décroissante mais faiblement hyperbolique ( $t_M \propto N^{-0.35}$  ou  $t_M \propto N^{-0.06}$ ). Les valeurs de  $x$  et  $k'$  dépendent de la viscosité. Cela provient sûrement du problème de différence de densité expliqué ci-dessus. Par contre, les valeurs de  $x$  et  $k$  ne sont pratiquement pas influencées par la taille de l'agitateur et le point d'injection. L'ajustement de l'équation sur les résultats expérimentaux n'est pas parfait en toutes valeurs. Néanmoins, cette relation ajustée pourra servir comme première approximation pour le calcul du temps de mélange dans d'autres conditions ou pour la stratégie de scale-up.

En conclusion, les phénomènes qui font augmenter le Reynolds, telle que l'augmentation de la vitesse de rotation, l'augmentation du diamètre de l'agitateur et la diminution de la viscosité, ont pour effet de diminuer le temps de mélange. Si ce temps de mélange s'avérait problématique pour la qualité de la culture cellulaire, il serait possible de le réduire en jouant sur ces 3 paramètres. Mais en pratique, une fois la taille de l'agitateur choisie et la viscosité imposée par la composition du milieu de culture, seule la vitesse de rotation permet de réduire le temps de mélange. Néanmoins, une vitesse importante entraînera des cisaillements et contraintes importants qui réduiront également la qualité de la culture cellulaire. Un optimum devra donc être trouvé, qui dépendra du métabolisme cellulaire. Ces grandeurs limites (contraintes maximales, temps maximal d'exposition à un pH non optimal...) sont toujours à l'étude dans les laboratoires de G.S.K. BIO.

## 2 Modèle compartimenté de mélange

### 2.1 Description du modèle

Sur base des mesures P.I.V. et P.L.I.F., le mélange dans la cuve est représenté à l'aide d'un modèle compartimenté. Ce modèle, comme représenté à la figure 5 et 6, est composé de 9 zones considérées comme parfaitement mélangées.

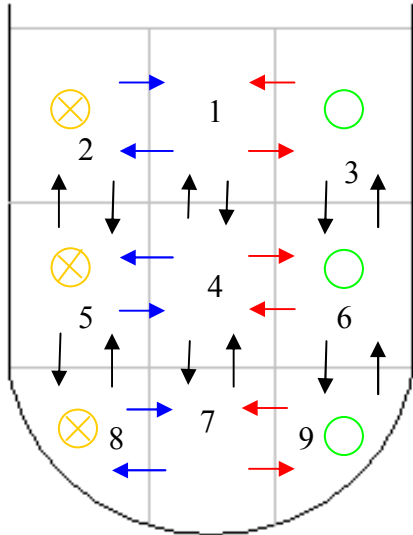


Figure IV-5: Compartimentage de la cuve  
vu de face

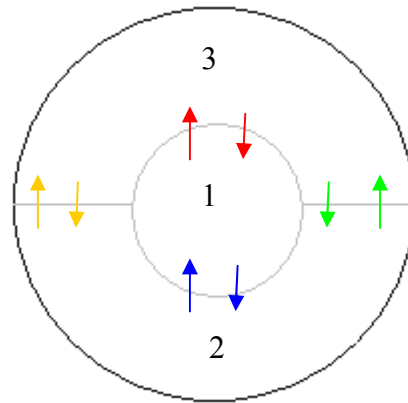


Figure IV-6: Compartimentage de la cuve  
vu d'en haut

La cuve est découpée sur sa hauteur en 3 zones :

- La zone inférieure comprend la calotte sphérique (hauteur = 128 mm) ;
- Les deux autres se répartissent de manière égale le volume cylindrique situé au dessus de la calotte sphérique. (hauteur = 97 mm)

Chaque zone est composée de 3 compartiments :

- Le compartiment central est un cylindre dont le diamètre est égal à celui du mobile ;
- Les deux compartiments périphériques se partagent le reste du volume.

Cette structure a été choisie sur base des observations faites à partir des mesures P.I.V. et P.L.I.F. Grâce aux mesures P.I.V., nous constatons un écoulement important dans le plan vertical du laser. Cet écoulement est traduit par les débits d'échanges axiaux (flèches noires) et radiaux (flèches rouges et bleues) à travers les différentes zones et compartiments. Grâce aux mesures P.L.I.F., nous constatons que la composante transversale de la vitesse non mesurée par P.I.V. n'est pas négligeable puisque le paquet de traceurs fluorescents sort à certains moments du plan du laser pour réapparaître dans le plan de l'autre côté de l'axe de l'agitateur. Ce mouvement est pris en compte grâce à la forme des compartiments (cylindre

centrale et deux demi couronnes) et grâce aux débits de rotation représentés par les flèches jaunes et vertes.

## 2.2 Equations du modèle

Les conventions suivantes ont été prises pour les noms des débits et des concentrations :

<b>Débits de rotation</b>		
debTR : zone haute	debMR : zone du milieu	debBR : zone basse
<b>Débits radiaux</b>		
L'écoulement étant symétrique selon l'axe de l'agitateur dans le plan éclairé par le laser, le débit radial provenant du compartiment 1 et entrant dans le compartiment 2 est supposé égal à celui provenant du compartiment 3 et entrant dans le compartiment 2. Les deux débits radiaux sortant du compartiment 2 sont aussi égaux. Le même raisonnement est appliqué à la zone du milieu et à la zone basse.		
debTin : entrant dans le compartiment 1	debTout : sortant du compartiment 1	
debMin : entrant dans le compartiment 4	debMout : sortant du compartiment 4	
debBin : entrant dans le compartiment 7	debBout : sortant du compartiment 7	
<b>Débits axiaux</b>		
debCTdown : orienté comp. 1 vers comp. 4	debCTup : orienté comp. 4 vers comp. 1	
debCBdown : orienté comp. 4 vers comp. 7	debCBup : orienté comp. 4 vers comp. 7	
debPTdown : débit axial périphérique dirigé zone haute vers zone milieu	debPTup : débit axial périphérique dirigé zone milieu vers zone haute	
debPBdown : débit axial périphérique dirigé zone milieu vers zone basse	debPBup : débit axial périphérique dirigé zone basse vers zone milieu	
<b>Noms des concentrations</b>		
CT1 : zone 1	CT2 : zone 2	CT3 : zone 3
CM1 : zone 4	CM2 : zone 5	CM3 : zone 6
CB1 : zone 7	CB2 : zone 8	CB3 : zone 9

Sur base des données géométriques de la cuve, les volumes des différents compartiments sont calculés. Ces volumes étant fixes au cours du temps, les débits volumiques entrant dans un compartiment doivent être égaux aux débits volumiques sortant de ce même compartiment. Ceci introduit les 6 contraintes suivantes sur le choix des débits imposés dans le modèle :

zone centrale haute	$debCTup + 2 \cdot debTin = deCTdown + 2 \cdot debTout$
zone centrale milieu	$debCTdown + debCBup + 2 \cdot debMin = debCTup + debCBdown + 2 \cdot debMout$
zone centrale basse	$debCBdown + 2 \cdot debBin = debCBup + 2 \cdot debBout$
zone périphérique haute	$debPTup + debTR + debTout = debPTdown + debTR + debTin$
zone périphérique milieu	$debPTdown + debPBup + debMout + debMR = debPTup + debPBdown + debMin + debMR$
zone périphérique basse	$debPBdown + debBR + debBout = debPBup + debBR + debBin$

Des onze débits pouvant être choisis librement, huit sont déterminés à partir de résultats P.I.V. et les trois débits de rotation sur lesquels nous ne disposons d'aucune valeur numérique sont estimés.

Disposant de tous les paramètres du modèle, l'évolution de la concentration au cours du temps dans les différents compartiments est obtenue grâce aux équations différentielles suivantes :

Compartiment 1:

$$\frac{dCT1}{dt} = \frac{1}{VT1} \cdot \left[ (debTin \cdot (CT2 + CT3)) - (2 \cdot debTout \cdot CT1) - (debCTdown \cdot CT1) + (debCTup \cdot CM1) \right]$$

Compartiment 2:

$$\frac{dCT2}{dt} = \frac{1}{VT2} \cdot \left[ (-debTin \cdot CT2) + (debTout \cdot CT1) + (debTR \cdot (CT3 - CT2)) - (debPTdown \cdot CT2) + (debTPup \cdot CM2) \right]$$

Compartiment 3:

$$\frac{dCT3}{dt} = \frac{1}{VT3} \cdot \left[ (-debTin \cdot CT3) + (debTout \cdot CT1) + (debTR \cdot (CT2 - CT3)) - (debPTdown \cdot CT3) + (debPTup \cdot CM3) \right]$$

Compartiment 4:

$$\frac{dCM1}{dt} = \frac{1}{VM1} \cdot \left[ (debMin \cdot (CM2 + CM3)) - (2 \cdot debMout \cdot CM1) + (debCTdown \cdot CT1) - (debCTup \cdot CM1) - (debCBdown \cdot CM1) + (debCBup \cdot CB1) \right]$$

Compartiment 5:

$$\frac{dCM2}{dt} = \frac{1}{VM2} \cdot \left[ (-debMin \cdot CM2) + (debMout \cdot CM1) + (debMR \cdot (CM3 - CM2)) + (debPTdown \cdot CT2) - (debPTup \cdot CM2) - (debPBdown \cdot CM2) + (debPBup \cdot CB2) \right]$$

Compartiment 6:

$$\frac{dCM3}{dt} = \frac{1}{VM3} \cdot \left[ (-debMin \cdot CM3) + (debMout \cdot CM1) + (debMR \cdot (-CM3 + CM2)) + (debPTdown \cdot CT3) - (debPTup \cdot CM3) - (debPBdown \cdot CM3) + (debPBup \cdot CB3) \right]$$

Compartiment 7:

$$\frac{dCB1}{dt} = \frac{1}{VB1} \cdot \left[ (debBin \cdot (CB2 + CB3)) - (2 \cdot debBout \cdot CB1) + (debCBdown \cdot CM1) - (debCBup \cdot CB1) \right]$$

Compartiment 8:

$$\frac{dCB2}{dt} = \frac{1}{VB2} \cdot \left[ (-debBin \cdot CB2) + (debBout \cdot CB1) + (debBR \cdot (CB3 - CB2)) + (debPBdown \cdot CM2) - (debPBup \cdot CB2) \right]$$

Compartiment 9 :

$$\frac{dCB3}{dt} = \frac{1}{VB3} \cdot \left[ (-debBin \cdot CB3) + (debBout \cdot CB1) + (debBR \cdot (-CB3 + CB2)) + (debPBdown \cdot CM3) - (debPBup \cdot CB3) \right]$$

A ces équations différentielles sont ajoutées des conditions initiales qui simulent l'injection de 5 ml d'une solution aqueuse de Rhodamine 6G de concentration 8 mg/L dans la zone 1 ou la zone 6 suivant le point d'injection choisi.



### 2.3 Résultats

La figure 7 illustre un exemple d'évolution au cours du temps de la concentration en Rhodamine 6G obtenue par le modèle dans les différents compartiments. La figure 8 représente l'évolution obtenue dans les mêmes conditions à partir des images P.L.I.F où la valeur de la concentration est la moyenne des concentrations des pixels compris dans un compartiment. Les autres résultats obtenus sont repris dans le cd-rom joint à ce travail.

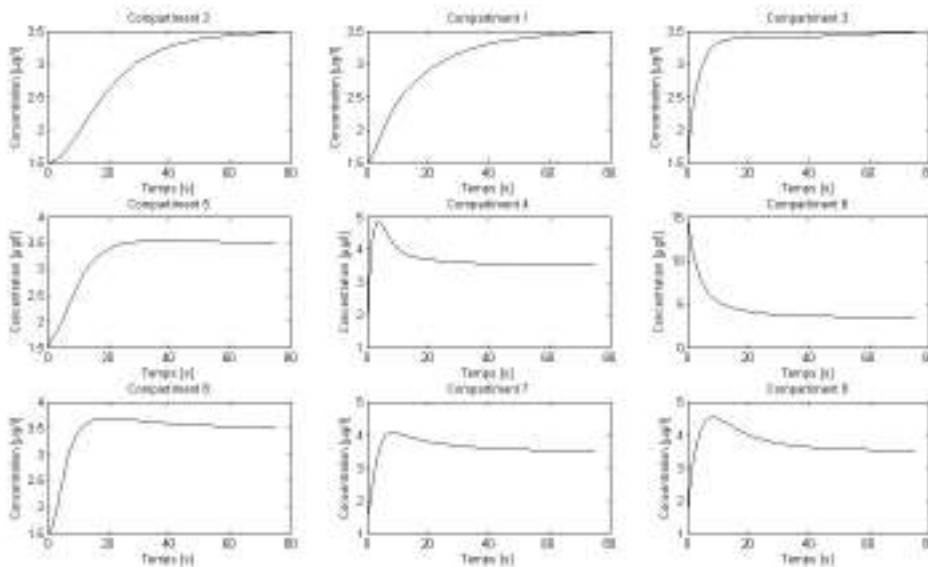


Figure IV-7: Evolution de la concentration dans chaque compartiment obtenu à partir du modèle Conditions opératoires : hélice TT125 tournant à 50 rpm dans une solution eau-glycérine d'une viscosité de 3.15 cp. L'injection de 5 ml d'une solution de Rhodamine 6G 8mg/L est réalisée dans le compartiment 6.

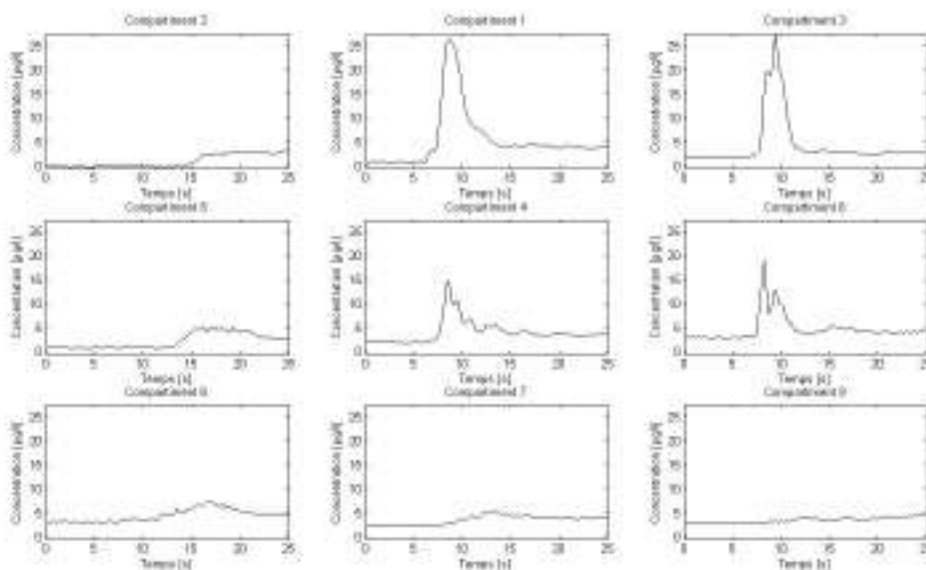


Figure IV-8: Evolution de la concentration dans chaque compartiment obtenu à partir des mesures P.L.I.F. Les conditions opératoires sont identiques à celle de la figure 7

Notons que échelle de temps ne sont pas les mêmes dans les deux séries de résultats. Dans la figure 7, l'injection se produit au temps zéro tandis que dans la figure 8 l'injection a lieu au temps  $t=8$  secondes.

Nous constatons que le modèle donne une évolution similaire aux résultats expérimentaux pour les compartiments 2, 5, 7, 8 et 9. Pour le compartiment 6, dans lequel a lieu l'injection, la décroissance annoncée par le modèle n'est observée sur les résultats expérimentaux qu'à partir du temps  $t=10$  secondes. Enfin le modèle ne rend pas compte des résultats expérimentaux pour les compartiments 2, 3 et 4.

Ces constatations sont expliquées si nous imaginons les scénarios suivant :

**Les résultats expérimentaux** montre que les particules de traceurs se déplacent en paquets après les secondes qui suivent l'injection. Ce paquet quitte le compartiment 6, atteint le compartiment 3 et puis le compartiment 1 et puis le compartiment 4. Dans ce compartiment, il est dispersé dans les compartiments 7, 8 et 9 sous l'action du mobile d'agitation.

Par contre, **le modèle** dans sa conception suppose que l'injection de traceurs dans le compartiment 6 se répartit de manière uniforme et instantanée dans ce compartiment après l'injection. Cette concentration en traceurs uniforme mais supérieure à celle du reste de la cuve se répartit progressivement selon les débits d'échange entre les compartiments. Dès lors, la différence de scénarios dans le compartiment 6, 1, 3 et 4 explique pourquoi les évolutions de la concentration sont différentes. Pour les compartiments 2, 5, 7, 8, 9, le paquet de traceurs ayant été dispersés par le mobile d'agitation, le scénarios proposé par le modèle et celui obtenu par les résultats expérimentaux sont les mêmes. Les évolutions de la concentration obtenues sont dès lors semblables.

## 2.4 Conclusions

Comme nous venons de l'expliquer, ce modèle ne permet pas de rendre compte complètement du mélange dans la cuve observé par P.L.I.F.

De plus, les modèles compartimentés présentent certaines limitations qu'il convient d'avoir en mémoire.

Premièrement, plusieurs modèles fondamentalement différents dans leur conception (cuves parfaitement mélangées en réseau ou écoulement piston dispersif) peuvent donner lieu au même résultat. Il est dès lors très difficile de faire une discrimination entre les modèles. Au mieux, un choix est fait sur base du type d'écoulement auquel nous sommes confrontés. Ici, ce choix nous a conduit à créer un modèle constitué d'un réseau de cuves en série puisque l'écoulement est caractérisé par des boucles de circulation dans lesquelles le mélange est plus ou moins intense.

Deuxièmement, il est extrêmement difficile de prouver qu'un modèle représente mieux la réalité qu'un autre dans une même famille de modèles (ici réseau de cuves en série). En conséquence, les modèles compartimentés et leurs paramètres ne peuvent pas être extrapolés d'une échelle à l'autre car ils ne sont pas suffisamment liés à l'écoulement pour que l'extrapolation ait un sens.

Le modèle présenté dans ce travail n'est qu'une première approche de la modélisation du mélange dans le bioréacteur. Un modèle nettement plus complexe, basé sur les phénomènes hydrodynamiques sera développé dans le cadre d'un doctorat. Il sera basé sur le suivi lagrangien d'une particule de fluide en résolvant le bilan de forces qui s'applique sur celle-ci. Il sera dès lors extrapolable à d'autres échelles et donnera des réponses sur le temps de séjour moyen qu'une particule de fluide et dès lors par extension qu'une cellule passe en un point du réacteur, sur l'« histoire » des contraintes et des gradients de concentration qu'elle subit, etc.

## **Chapitre V**

---

### **Maintien en suspension des microporteurs**

## 1 Introduction

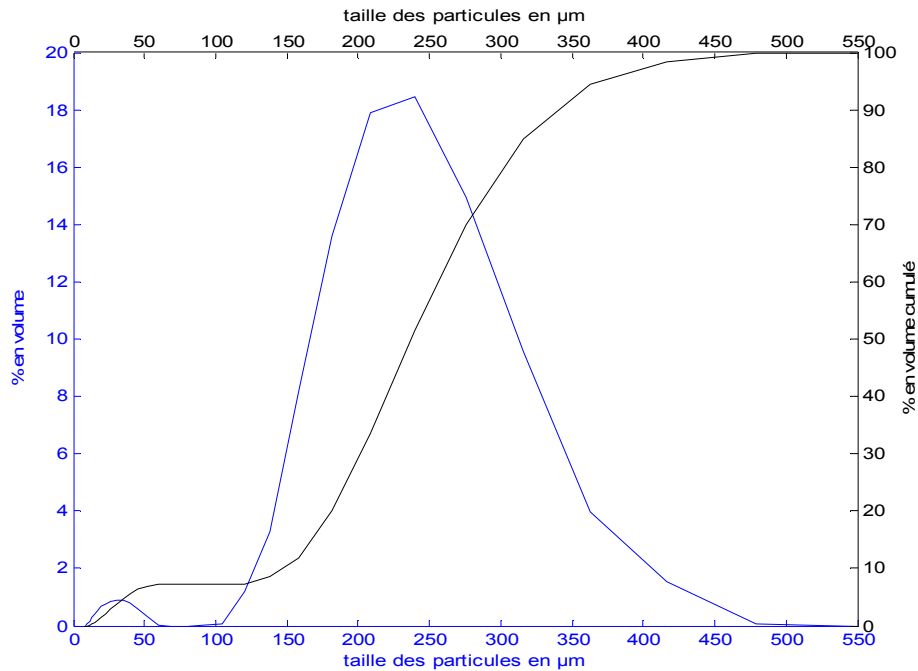
Les cellules cultivées sont adhérentes c'est-à-dire qu'elles ne peuvent grandir et se multiplier que si elles se fixent à une surface solide. Le choix de la surface solide s'est porté sur des microbilles de Cytodex1<sup>TM</sup> afin de maximiser le rapport de la surface disponible vis-à-vis du volume du réacteur. Dès lors, un des buts de l'opération de mélange est le maintien en suspension de ces billes de Cytodex1<sup>TM</sup> afin de rendre la totalité de la surface disponible à la multiplication cellulaire. Comme indiqué dans le rappel théorique, il existe trois types de suspension: partielle, complète et uniforme. Dans le cas présent, une suspension complète sera recherchée car elle permet d'accéder à la totalité de la surface disponible tout en minimisant la puissance consommée. La vitesse de rotation de l'agitateur qui permet de maintenir cette suspension complète dépend de la vitesse de sédimentation des plus grosses particules. Celle-ci est influencée par la différence de densité entre le solide et le liquide, par la viscosité du fluide et par la taille des particules. Cette dernière est fortement influencée par la préparation des billes de Cytodex1<sup>TM</sup> comme expliqué dans la partie « appareils et méthodes ». La distribution de la taille devra donc être mesurée expérimentalement.

## 2 Détermination de la distribution de la taille des microporteurs

Comme indiqué dans la partie « appareils et méthodes », différentes méthodes ont été testées jusqu'à obtenir une méthode qui donne des résultats plausibles.

Disposant d'un accès aisé à l'appareillage, la première méthode testée est la granulométrie laser basée sur l'analyse par la théorie de Mie de la taille de l'image de diffraction créée par l'interaction du faisceau laser avec la particule. Cette méthode donne des résultats douteux car, comme il est possible d'observer sur la figure 1 suivante, un pic correspondant à des petites particules de taille inférieure à 70  $\mu\text{m}$  apparaît ; ces particules n'étant pas observées au microscope. Ce phénomène a été également observé par Ulrich Teipel [TEI02] qui a étudié la caractérisation de particules transparentes par granulométrie laser. Les particules de Cytodex1<sup>TM</sup> étant translucides, les deux situations sont analogues. Dans son étude, Teipel a montré que ces particules étaient fictives en comparant les résultats obtenus par granulométrie laser avec ceux obtenus par sédimentation et compteur cloutier. De plus, il démontre que ce

phénomène apparaît lorsqu'il y a une imprécision sur la valeur réelle de l'indice de réfraction du matériau transparent. Dans la littérature, l'indice de réfraction du dextrane varie entre 1.34 et 1.51. Lors des mesures, les différentes valeurs d'indice de réfraction ont été testées mais donnent toutes lieu à la même distribution et à la présence du pic correspondant aux particules fictives.



**Figure V-1: Distribution en volume de la taille des microporteurs obtenue par granulométrie laser**

D'après les données du fournisseur, la distribution de la taille des billes de Cytodex1<sup>TM</sup> est caractérisée par :

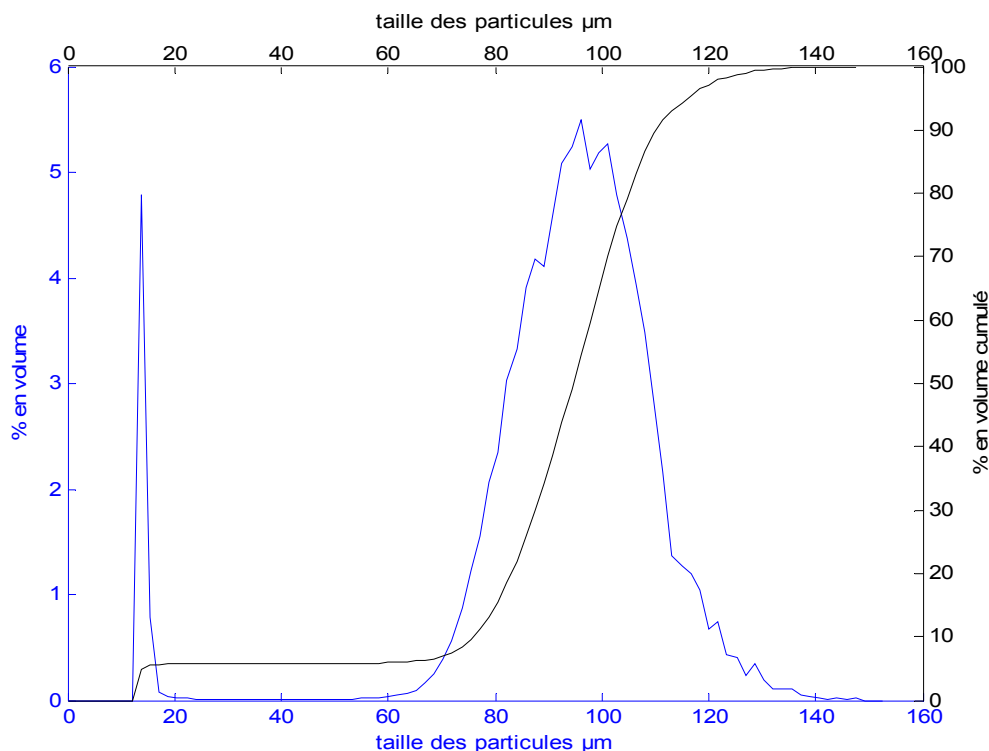
**Tableau V-1: Distribution en volume de la taille des billes de Cytodex1<sup>TM</sup> fournie par le fabricant**

pourcentage	Diamètre
5 %	147 µm
50 %	190 µm
95 %	248 µm

Où la colonne de gauche indique le pourcentage de particules dont la taille est inférieure au diamètre donné dans la colonne de droite.

Ces valeurs ne concordant pas avec les résultats expérimentaux obtenus par granulométrie laser et la publication de Teipel ayant été repérée à posteriori, il a été supposé que la méthode n'était pas adaptée vu la transparence des billes de Cytodex1<sup>TM</sup>. Une méthode non optique a donc été recherchée.

L'analyse granulométrique par compteur cloutier paraissait prometteuse car elle est basée sur les propriétés électriques du milieu. Le lien entre les propriétés électriques et la taille des particules est obtenu par une calibration avec des particules étalons. Malheureusement, la méthode ne donne pas de résultat exploitable car les particules de Cytodex1<sup>TM</sup> sont chargées positivement contrairement aux particules étalons qui sont non chargées; la relation taille-propriétés électriques n'est dès lors pas la même.



**Figure V-2: Distribution de la taille des particules de Cytodex1<sup>TM</sup> par granulométrie par compteur Cloutier**

En dernier recours, l'analyse granulométrique par analyse d'images s'est dès lors imposée. Cette méthode a été envisagée en dernier lieu car elle paraissait plus fastidieuse. Par contre, elle présente l'assurance d'obtenir une distribution de taille de particules de Cytodex1<sup>TM</sup> exacte si le nombre de particules est suffisant et représentatif de la population. Environ 800 particules ont été enregistrées et mesurées. Les résultats sont présentés à la figure 3. La distribution en volume de la taille des particules de Cytodex1<sup>TM</sup> est caractérisée par :

**Tableau V-2: Distribution de la taille des billes de Cytodex1<sup>TM</sup> obtenue par analyse d'images**

pourcentage	Diamètre
5 %	196 µm
10 %	208 µm
50 %	248 µm
90 %	308 µm
95 %	319 µm
99 %	377 µm

Ces valeurs (par exemple :  $d_{50\%}=248\mu\text{m}$ ) sont plus élevées que celles annoncées par le fabricant (par exemple :  $d_{50\%}=190\mu\text{m}$ ) ce qui démontre l'influence de la préparation des billes Cytodex1<sup>TM</sup> sur leur taille. Par contre, l'étalement des valeurs par rapport à la valeur moyenne ( $d_{95\%}-d_{5\%}=123\mu\text{m}$ ) est proche de celui annoncé par le fabricant ( $d_{95\%}-d_{5\%}=101\mu\text{m}$ ).

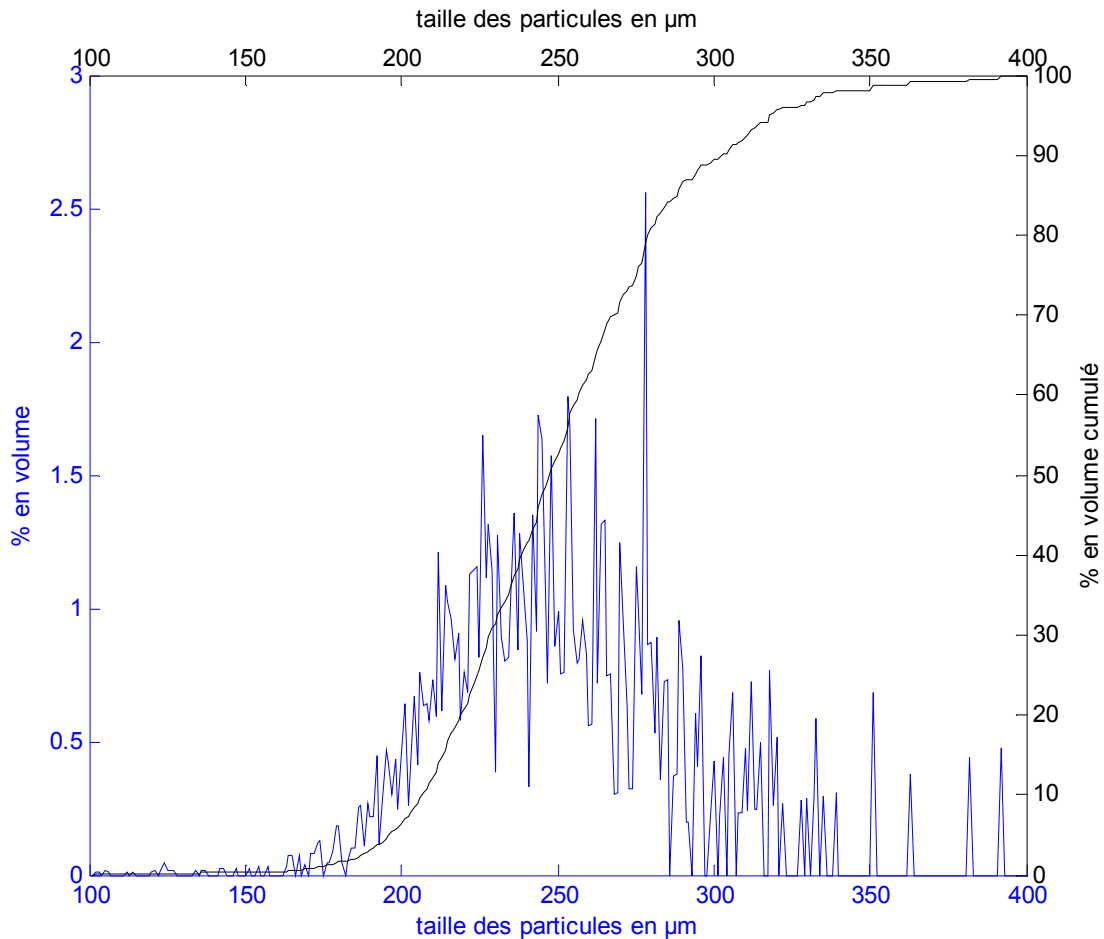


Figure V-3: Distribution en volume de la taille des particules de Cytodex1<sup>TM</sup> par analyse d'image

### 3 Détermination de la vitesse de rotation minimale de maintien en suspension

La vitesse de chute des particules a été calculée par la loi de Stokes améliorée par la relation empirique de Zaki [EKA91],[BLA] :

$$V_{\text{limite}} = \frac{d_p^2 \cdot (\rho_s - \rho_l) \cdot g}{18 \cdot \mu}$$



$$V_{ss} = v_{limite} (1 - C_v)^m ]$$

$$\text{Où } m = 4,375 \cdot Re_p^{-0,0875}$$

$C_v$  est le pourcentage en volume de solide

Lors de culture cellulaire, une cellule peut s'accrocher à plusieurs billes de Cytodex1™. Ce cas sera également pris en compte. Les résultats suivants sont obtenus en prenant comme données :  $\rho_l=1000$ ,  $\rho_s=1030$ ,  $g=9.81m/s^2$ ,  $\mu=0.000891$ ,  $C_v=0.87\%$

**Tableau V-3: Vitesse de chute des billes de Cytodex1™ suivant leur taille**

Diamètre de la particule (µm)	Vitesse limite de chute m/s
231	0.00094
321	0.00182
400	0.00283
Grappe de deux billes de taille moyenne $d_p$ équivalent = 333	0.00196
Grappe de 3 billes de taille moyenne $d_p$ équivalent = 441	0.00345
Grappe de 4 billes de taille moyenne $d_p$ équivalent= 500	0.00443

Dans une large gamme de vitesses de rotation, l'écoulement dans la cuve est caractérisé par deux boucles de recirculation. La vitesse ascensionnelle moyenne dans chaque boucle a été calculée sur base des résultats obtenus par P.I.V. pour la vitesse de rotation de 50 rpm pour chaque agitateur et pour une viscosité de 3.15 et 31.06 centipoises.

**Tableau V-4: Débits (l/s) passant dans les boucles haute et basse suivant la viscosité**

	3.15 cP		31.06 cP	
	Boucle basse	Boucle haute	Boucle basse	Boucle haute
TT125	0.0113	0.0323	0.0103	0.0335
TT150	0.0145	0.0522	0.0157	0.0456

Ces valeurs sont deux à dix fois supérieures aux vitesses de chute. 50 rpm étant la vitesse de rotation la plus faible testée par P.I.V., la vitesse de rotation minimale permettant d'égaliser la vitesse ascensionnelle et la vitesse de chute des plus grosses particules a été déterminée par extrapolation. Premièrement, le débit de circulation totale dans la cuve est calculé pour n'importe quelle vitesse de rotation par  $Q_p=N_{Qc} \cdot N \cdot d^3$  où le nombre de circulation  $N_{Qc}$  par définition ne dépend pas de la vitesse de rotation. Les débits de recirculation dans chacune des deux boucles de recirculation ont été mesurés pour les 5 vitesses de rotation testées par P.I.V. afin de définir le pourcentage moyen de fluide qui passe dans la boucle basse et dans la boucle haute. Enfin, ces deux débits moyens divisés par la surface transversale correspondant au

fluide ascendant dans chacune des boucles donnent les vitesses ascensionnelles moyennes respectives. Les valeurs reprises dans le tableau 4 montrent que la boucle basse est caractérisée par des vitesses ascensionnelles plus faibles que la boucle haute ; c'est donc elle qui imposera la vitesse de rotation minimale de l'agitateur pour maintenir en suspension complète les billes de Cytodex1<sup>TM</sup>.

**Tableau V-5: Vitesse de rotation minimale assurant une suspension complète**

	3.15 cP		31.06 cP	
	Si une seule bille de $d_p=400\mu\text{m}$	Si grappes de 4 billes moyennes $d_p=500\mu\text{m}$	Si une seule bille de $d_p=400\mu\text{m}$	Si grappes de 4 billes moyennes $d_p=500\mu\text{m}$
TT125	13 rpm	20 rpm	14 rpm	22 rpm
TT150	12 rpm	19 rpm	13 rpm	21 rpm

Le tableau 5 montre que l'influence de la viscosité et l'influence de la taille de l'hélice sont très faibles.

Afin de valider la méthodologie, 20 litres d'une solution de Cytodex1<sup>TM</sup> ont été placés dans la cuve. Une gamme de vitesses allant de 12 rpm à 50 rpm par pas de 3 rpm a été testée et le comportement de la suspension a été filmé. L'intérêt étant porté sur le maintien en suspension et non la mise en suspension, le point de départ des enregistrements est une suspension uniforme. Plusieurs exemples de ces films sont placés sur le cd-rom fourni avec ce travail. Pour de faibles vitesses de rotation, l'ensemble des particules sédimente selon un écoulement piston ; les grosses particules entraînant probablement dans leur sillage les plus petites. Dès que l'épaisseur de la couche stagnante de grosses particules se stabilise, les petites particules se remettent en suspension dans l'ensemble de la cuve. Le phénomène de sédimentation en écoulement piston est de moins en moins marqué lorsque la vitesse de rotation augmente jusqu'à atteindre la vitesse de maintien en suspension complète. L'expérience montre que celles-ci valent respectivement **35 rpm** pour l'hélice TT150 et **40 rpm** pour l'hélice TT125.

Ces résultats sont très éloignés de ceux calculés précédemment. Ceci provient des hypothèses faites. Premièrement, la théorie de Stokes s'applique normalement pour un fluide stagnant, ce qui n'est pas le cas présent. Les particules sont chargées positivement et leurs interactions ne sont pas prises en compte dans le modèle. Enfin, les valeurs des vitesses ascensionnelles calculées ont du être extrapolées des mesures P.I.V. et rien ne garantit que l'écoulement soit semblable à celui mesuré par P.I.V. pour des vitesses aussi faibles que 12 rpm.

Une autre méthodologie a du être trouvée. Celle-ci repose sur l'étude paramétrique réalisée par Corpstein & al. [COR94]. Celui-ci a mis au point, sur base d'une étude expérimentale avec une hélice similaire à l'hélice TT, une relation empirique reliant la vitesse de rotation qui

maintient une suspension complète aux propriétés de la phase solide et liquide, à la concentration de solide et à la géométrie de la cuve et de l'agitateur selon :

$$N_{\text{maintien en suspension complète}} = k \cdot \left[ \left( \frac{\rho_s - \rho_l}{\rho_l} \right) \cdot v_{\text{lim}} \right]^{0.28} \cdot f(X) \cdot f\left(\frac{D}{T}\right)$$

Où k dépend du type d'agitateur et vaut 23 pour des agitateurs du type hélice TT ;

$v_{\text{lim}}$  est la vitesse de chute des particules de **taille moyenne** ici pris égale à 0.00098 m/s ;

$f(X)$  est un coefficient qui tient compte de la concentration en particules et vaut 0.62 pour la concentration en Cytodex1™ de cette étude;

$f\left(\frac{D}{T}\right)$  est un coefficient qui tient compte du rapport de la taille de l'hélice et du diamètre de la cuve, il vaut respectivement 0,87 et 0,75 pour l'hélice TT125 et TT150.

Cette corrélation donne comme résultats les valeurs de **34.5 rpm** et **40.3 rpm** pour l'hélice TT150 et l'hélice TT125 respectivement. Ces valeurs sont très proches de celles obtenues expérimentalement ; ce qui valide l'utilisation de ce modèle dans les études futures. En effet, le passage d'une échelle à l'autre est réalisé aisément par l'ajout d'un facteur supplémentaire

dans la corrélation  $\left(\frac{T}{T_0}\right)^{-n}$  où  $\frac{T}{T_0}$  est le rapport des diamètres des cuves et n est un coefficient qui varie entre 0.5 et 1 selon la valeur moyenne de la vitesse limite de chute des particules.

Lors de la culture cellulaire, les cellules peuvent croître sur plusieurs billes de Cytodex1™ et former des grappes de billes. En imaginant qu'en moyenne l'ensemble de la suspension est formé de grappes de deux billes et en prenant dès lors une vitesse limite de 0.002 m/s, les vitesses de rotation minimales qui maintiennent une suspension complète deviennent, d'après le modèle, 42.2 rpm et 49.2 rpm. Ainsi, une majoration de 10 rpm par rapport aux vitesses mesurées expérimentalement devra être prise en compte afin d'assurer au cours de la culture cellulaire une suspension complète et une surface disponible maximale.

## **Conclusions**

---

## 1 Synthèse des résultats obtenus

Le travail réalisé dans ce mémoire est l'étude de l'hydrodynamique et du mélange dans un bioréacteur de 20 litres utilisé pour la culture de cellules animales sur microporteurs. Les résultats obtenus serviront aux chercheurs de G.S.K. BIO. qui procèdent actuellement à la montée en échelle à partir d'un bioréacteur de 20 litres pour atteindre une échelle industrielle de plusieurs mètres cubes. Dès lors, un grand nombre de paramètres sont imposés par ceux-ci tels que le type de mobile d'agitation (hélice TT), le diamètre des mobiles ( $\frac{d}{D} = 0.4$  et  $\frac{d}{D} = 0.5$ ), la géométrie de la cuve ( $\frac{H}{D} = 1$  et  $\frac{Y}{D} = \frac{1}{3}$ ), la vitesse de rotation (50 à 120 rpm), le nombre de contre-pales et leur largeur ( $2$  et  $\frac{b}{D} = 0.1$ ). Les méthodes expérimentales utilisées pour étudier l'hydrodynamique et le mélange sont les méthodes P.I.V. et P.L.I.F. Elles permettent d'accéder respectivement au champ de vitesses et au champ de concentrations dans un plan vertical de la cuve éclairé par un laser. Ces méthodes étant optiques, la cuve et le fluide qu'elle contient doivent être transparents. Le milieu de culture n'étant pas transparent en raison notamment de la présence de microporteurs en suspension, les mesures ne peuvent pas être directement réalisées sur celui-ci. Dès lors, un fluide transparent au même comportement rhéologique que le milieu de culture en présence des microporteurs doit être trouvé. Cependant, la détermination de la courbe de viscosité du milieu en fonction du cisaillement nécessite un appareillage spécifique capable de maintenir les microporteurs en suspension pendant toute la durée de la mesure. Cet appareillage n'étant disponible ni à l'Université de Liège, ni chez G.S.K BIO., nous ne disposons d'aucune information fiable relative au comportement rhéologique du milieu de culture. Nous avons donc décidé d'adopter une approche pragmatique qui consiste à réaliser une étude paramétrique au cours de laquelle les mesures P.I.V. et P.L.I.F. sont réalisées dans une solutions Newtoniennes composées d'eau et de glycérine et donc la viscosité varie entre 3 cP et 31 cP.

Notons que le but de ce travail n'est pas de suggérer une stratégie globale de scale-up. En effet, nous n'avons qu'une vue fractionnée du problème ; nous n'avons aucune information sur l'aération du bioréacteur et sur les propriétés physiologiques des cellules (contraintes maximales tolérées, laps de temps maximal au cours duquel les cellules supportent une

concentration non optimale en une substance sans changer de métabolisme...). Dès lors, le but de ce travail est de réaliser une étude paramétrique au cours de laquelle nous avons fait varier les différents paramètres intervenant dans le nombre de Reynolds :

- Cinq viscosités ont été testées : 3.15 cP, 9.96 cP, 15.26 cP, 24.60 cP et 31.06 cP ;
- Cinq vitesses de rotation ont été testées : 50rpm, 67.5rpm, 85rpm, 102.5rpm, 120rpm;
- Deux diamètres de mobiles ont été testés : 125 mm ( $\frac{d}{D} = 0.4$ ) et 150 mm ( $\frac{d}{D} = 0.5$ ).

Ces deux diamètres ont été comparés à même vitesse de rotation, à même vitesse en bout de pales et à même puissance dissipée. Ces deux dernières comparaisons permettent respectivement d'être dans des situations à même niveau de cisaillement maximum et à même niveau de microcisaillement.

L'influence de la position de la contre-pale par rapport au plan éclairé par le laser a également été étudiée.

Les résultats de cette étude sont **l'évolution des grandeurs globales et des grandeurs locales en fonction des paramètres** cités ci-dessus. Ces résultats donnent des informations clés qui aideront les chercheurs de G.S.K. BIO. à affiner leur stratégie de scale-up.

Grâce aux mesures P.I.V., nous avons accédé **au champ de vitesses** dans le plan éclairé par le laser. Nous avons constaté qu'il existait une structure d'écoulement commune dans toutes les conditions testées. Elle est constituée d'une zone d'éjection à l'extrémité de la pale du mobile et de deux boucles de recirculation située de part et d'autre de cette zone. Les principales différences sont :

- La diminution de l'angle d'éjection, formé par la direction du flux à la sortie de la pale avec la verticale, lorsque la viscosité diminue et la vitesse de rotation augmente ;
- La formation d'une boucle de circulation tournant dans le sens contraire des aiguilles d'une montre dans la partie supérieure de la cuve lorsque la vitesse de rotation diminue et lorsque la viscosité augmente ;
- L'augmentation des normes des vitesses dans l'ensemble du plan éclairé par le laser lorsque la viscosité diminue, la vitesse de rotation augmente et le diamètre du mobile augmente.

L'ensemble de ces phénomènes s'explique sur base de considérations énergétiques lorsque nous mettons en balance l'énergie cinétique fournie par le mobile au fluide et les forces de

frottement s'exerçant entre particules de fluide voisines et se déplaçant à des vitesses différentes.

Nous avons également constaté que la position de la contre-pale vis-à-vis du plan éclairé par le laser avait une très légère influence sur la structure de l'écoulement mais suffisamment faible pour que l'hypothèse d'un écoulement symétrique autour de l'axe de l'agitateur et identique dans tous les plans passant par cet axe soit valable.

A partir de ce champ de vitesses, nous avons calculé **les grandeurs globales** qui sont généralement utilisées pour caractériser une opération de mélange :

- Le débit et le nombre de pompage ;
- Le débit et le nombre de circulation ;
- La puissance globale dissipée et le nombre de puissance ;
- Le temps de mélange.

**Le débit et le nombre de pompage et le débit et le nombre de circulation** sont **les grandeurs globales** qui caractérisent la circulation du fluide dans la cuve. Nous avons constaté que les débits de pompage et de circulation augmentent avec la vitesse de rotation, diminuent légèrement avec la viscosité, augmentent avec le diamètre du mobile à même vitesse de rotation et à même vitesse en bout de pale. Par contre, à même puissance dissipée, soit ils augmentent soit ils diminuent. Dans chaque cas, les évolutions observées sont expliquées sur base du champ de vitesses et de la taille de la section sur laquelle ces vitesses sont intégrées.

Afin d'avoir une vue complète, il était plus judicieux de regarder l'évolution des nombres de pompage et de circulation en fonction du Reynolds que d'en étudier l'effet séparé de ses différentes composantes. Ils augmentent progressivement avec le nombre de Reynolds jusqu'à atteindre une valeur constante en régime turbulent. Les valeurs constantes obtenues ont été comparées à celles trouvées dans la littérature [MAV96] [BAUD97] [AUB01] [ROUa]. Nous obtenons des valeurs légèrement inférieures ce qui montre que la géométrie et en particulier le nombre de contre-pales a un effet sur les valeurs des nombres de pompage et de circulation. De plus, nous avons découvert que les valeurs transmises par le fabricant (Mixel) ne sont valables que pour des hélices de tailles conséquentes. Pour des hélices de taille inférieure à 200 mm de diamètre, il faut considérer les nombres de pompage et de circulation de l'hélice TTP.

**La puissance globale dissipée** a été calculée à partir du couple mécanique fourni par le moteur. La puissance dissipée augmente avec la viscosité, la vitesse de rotation et la taille du mobile. Comme pour les nombres de pompage et de circulation, **le nombre de puissance**, obtenu à partir de la puissance globale dissipée, est étudié en fonction du nombre de Reynolds. Nous avons observé une décroissance du nombre de puissance en fonction du nombre de Reynolds jusqu'à l'obtention d'une valeur constante en régime turbulent. La valeur constante du nombre de puissance a été comparée à celle obtenue dans la littérature et les mêmes conclusions que celles des nombres de pompage et de circulation ont été tirées. Grâce au concept de Metzner et Otto, nous avons déterminé que la suspension de microporteurs avait une viscosité apparente légèrement inférieure à 3.15 cP. Enfin connaissant les débits de pompage et les puissances globales dissipées, nous avons pu déterminer la hauteur théorique équivalente des mobiles et caractériser leur action de pompage par rapport à leur action de turbulence dans les différentes conditions testées.

**Le temps de mélange** a été calculé à partir des mesures P.L.I.F. Il est défini comme le temps nécessaire pour atteindre une concentration uniforme dans la cuve suite à une injection de traceur. Différentes méthodes numériques ont été testées afin de déterminer le temps de mélange mais aucune de celles-ci ne donnait de résultats satisfaisants. Une méthode visuelle avec un critère strict a donc été choisie. Deux points d'injection ont été étudiés : le premier est situé juste sous la surface du liquide, le second au niveau de l'agitateur sur la paroi latérale du bioréacteur. Comme attendu au vu des mesures P.I.V. qui montrent des vitesses plus élevées et plus dispersantes (gradients de vitesses plus marqués) dans la zone basse, les temps de mélange obtenus pour le point bas sont 1.2 fois à 2.5 fois plus faibles que ceux obtenus pour le point haut. De même, le temps de mélange diminue avec la vitesse de rotation et le diamètre du mobile et augmente avec la viscosité. Dans la littérature [ROUb], le temps de mélange est relié au nombre de Reynolds et à la vitesse de rotation par la relation :  $N \cdot t_M = k' \cdot Re^x$ . Les paramètres  $x$  et  $k'$  ont été déterminés par ajustement sur nos expériences. Cette relation étant valable pour des systèmes géométriquement semblables, elle pourra dès lors être utilisée lors du scale-up pour estimer les temps de mélange.



De par l'échelle à laquelle elles sont réalisées, les mesures P.I.V. et P.L.I.F. nous ont également permis d'accéder à des **grandeurs locales**, ainsi qu'à leur distribution spatio-temporelle au sein de la cuve :

- La répartition du cisaillement dans le plan éclairé par le laser ;
- La répartition de la dissipation de l'énergie dans le plan éclairé par le laser.

**Le cisaillement** a été obtenu à partir des mesures P.I.V. et du calcul du gradient de la composante  $U_x$  de la vitesse dans la direction  $y$  ( $dudy$ ) et de la composante  $U_y$  de la vitesse dans la direction  $x$  ( $dvdx$ ). Une grandeur appelée « supercis » a été définie comme la somme des valeurs absolues de  $dudy$  et  $dvdx$ . Ce paramètre a été utilisé comme un indicateur du cisaillement résultant des composantes dans les deux directions. Comme attendu, les valeurs de cisaillement sont importantes à la périphérie de la zone d'éjection de la pale et au niveau de la paroi. Nous avons observé que l'augmentation de la viscosité diminuait les valeurs maximales de  $dudy$ , augmentait les valeurs maximales de  $dvdx$  et ne modifiait pas la gamme de valeurs obtenues pour « supercis ». Par contre elle augmente les contraintes puisque celles-ci sont définies comme le produit de la valeur de « supercis » et de la viscosité. L'augmentation de la vitesse de rotation élargit la gamme de valeurs de  $dudy$ ,  $dvdx$  et « supercis ». A même vitesse en bout de pale, les deux mobiles donnent les mêmes cisaillements maxima ce qui démontre expérimentalement que la vitesse en bout de pale est effectivement reliée au cisaillement maximum.

L'étude de la **répartition de la dissipation de l'énergie** a montré que celle-ci est importante dans la zone d'éjection. Etant donné que la dissipation de l'énergie est définie comme la vitesse à laquelle l'énergie cinétique du fluide est transformée irréversiblement en chaleur par les frottements visqueux, il est logique que sa gamme de valeurs dans le plan éclairé par le laser s'élargisse avec l'augmentation de la viscosité et de la vitesse de rotation du mobile. A même puissance dissipée, une même gamme de valeurs de dissipation d'énergie est observée pour les deux hélices. Or la dissipation de l'énergie étant reliée au microcisaillement, ce résultat expérimental confirme que la puissance dissipée globalement est reliée au microcisaillement.

De même, de ces deux études nous avons observé, qu'à même microcisaillement, l'hélice TT150 produit un cisaillement maximum plus élevé que l'hélice TT125. Par contre, pour un

même cisaillement maximum, l'hélice TT125 crée un microcisaillement plus intense que l'hélice TT150.

Sur base des mesures P.I.V. et P.L.I.F., un **modèle compartimenté** décrivant l'état de macromélange au sein du bioréacteur a été proposé. La cuve agitée est représentée par un réseau de 9 cuves parfaitement mélangées disposées en série. La structure du modèle ainsi que ses paramètres (les débits d'échange entre les zones) ont été déduits de la structure de l'écoulement obtenu par P.I.V. Les courbes de l'évolution de la concentration en traceurs en fonction du temps pour chaque compartiment obtenu par le modèle ont été comparées avec celles obtenues expérimentalement. La correspondance n'est pas parfaite car certains paramètres du modèle tels que les débits dus au mouvement de rotation du fluide autour de l'axe du mobile ne sont pas mesurés par P.I.V., ils sont dès lors estimés. De toutes manières, les modèles compartimentés, bien que séduisants, sont intimement liés à la structure globale de l'écoulement et donc à une échelle géométrique donnée. Ils ne sont pas suffisamment reliés aux paramètres qui régissent l'écoulement à l'échelle locale que pour pouvoir être extrapolés d'une échelle à l'autre lors du scale-up.

Enfin, un des points cruciaux de l'opération de mélange est **le maintien en suspension complète des microporteurs** afin que l'entièreté de la surface soit disponible pour la culture cellulaire. La première approche qui a été envisagée était de déterminer la vitesse de rotation du mobile qui permet l'égalisation de la vitesse de chute des particules à la vitesse ascensionnelle du fluide. Pour calculer la vitesse de chute, la distribution de la taille des microporteurs a dû être déterminée. Celle-ci a été mesurée par diverses méthodes. Parmi les techniques testées seule une a conduit à des résultats exploitables. Il s'agit de l'analyse d'images qui a permis de montrer que la distribution de taille a une valeur moyenne en volume (248  $\mu\text{m}$ ) supérieure à celle annoncée par le fabricant (190  $\mu\text{m}$ ). Les vitesses de chute ont été déterminées par le modèle de Stokes amélioré par l'équation de Zaki qui tient compte de l'interaction des particules durant leur chute. Les vitesses ascensionnelles ont été extrapolées à partir des mesures P.I.V. Afin de valider les résultats obtenus, 20 L de la suspension de microporteurs ont été placés dans la cuve. Une gamme de vitesses allant de 12 rpm à 50 rpm a été testée et le comportement de la suspension a été filmé. Les vitesses de rotation obtenues expérimentalement et qui permettent de maintenir une suspension complète ne correspondent pas à celles obtenues par le modèle de Stokes. Cette divergence provient des hypothèses faites. Par contre, les valeurs obtenues à partir de la corrélation résultant de

l'étude paramétrique réalisée par Corpstein & al. [COR94] correspondent à celles obtenues expérimentalement. Cette corrélation pourra dès lors être utilisée lors du scale-up.

## **2 Retombées positives des résultats obtenus dans cette étude sur le processus de scale-up**

Comme indiqué dans l'introduction, la première étape d'un processus de scale-up est la détermination du but de l'opération de mélange et la mise en évidence des grandeurs caractéristiques importantes telles que les débits de pompage, la puissance dissipée, le cisaillement maximum et le microcisaillement. Ces grandeurs sont généralement déterminées à partir de corrélations empiriques dans lesquelles apparaissent les caractéristiques du système telle que le diamètre du mobile et sa vitesse de rotation et des nombres adimensionnels, tels que le nombre de pompage, le nombre de circulation et le nombre de puissance. Ces nombres ne sont donnés dans la littérature que pour un régime turbulent établi dans lequel ils sont constants. Ils peuvent également être influencés par la géométrie du système comme par exemple le nombre de contre-pale (2 dans cette étude, 3 ou 4 dans la littérature).

Nous nous affranchissons de ces deux problèmes dans cette étude puisque les nombres de pompage, de circulation et de puissance sont déterminés pour la géométrie spécifique du bioréacteur. Ils sont également calculés dans la zone transitoire où ils varient avec le nombre de Reynolds. Cet ensemble de résultats permet de partir sur des bases fiables au niveau du processus de scale-up.

Par ailleurs, l'hydrodynamique et le mélange ne sont pas complètement caractérisés par des grandeurs globales telles que le débit de pompage, le débit de circulation, la puissance globalement dissipée et le temps de mélange ; ils doivent être complétés par les grandeurs locales tels que la répartition du cisaillement et de la dissipation de l'énergie dans la cuve. L'étude réalisée dans ce travail permet de caractériser ces répartitions de manière qualitative et d'observer comment celles-ci évoluent avec la vitesse de rotation, la viscosité et le diamètre du mobile. Que ce soit pour les grandeurs globales ou pour les grandeurs locales, les diamètres des mobiles ont été comparés à même niveau de cisaillement maximum (même vitesse en bout de pale) et à même niveau de microcisaillement (même puissance dissipée). Lorsque les chercheurs de chez G.S.K. BIO. auront déterminés lequel de ces cisaillements est le plus critique pour la culture cellulaire, les résultats tirés de cette étude paramétrique les

aideront à faire un choix entre un rapport  $\frac{d}{D} = 0.4$  (TT125) et  $\frac{d}{D} = 0.5$  (TT150) lors du processus de scale-up.

Un troisième point auquel cette étude apporte une réponse est le temps de mélange obtenu par l'injection d'un traceur fluorescent. Cette mesure intéresse les chercheurs de G.S.K. BIO. car ils sont confrontés à une situation similaire lorsqu'ils régulent, par exemple, le pH par injection d'acide ou de base lors de leurs cultures cellulaires. D'une part, il est utile de savoir si l'injection se répartit dans la cuve ou si elle reste confinée à l'endroit où elle est injectée. D'autre part, la valeur du temps de mélange pourra être comparée à la durée durant laquelle les cellules supportent un pH différent du pH optimal sans changer de métabolisme. Sur base des résultats obtenus, les paramètres  $x$  et  $k'$  de l'équation suivante, qui est classiquement trouvée dans la littérature,  $N \cdot t_M = k' \cdot Re^x$  ont été ajustés. Cette équation est valable pour des systèmes géométriquement semblables et pourra dès lors être utilisée lors du scale-up.

Enfin, cette étude donne également des résultats intéressants au niveau de la caractérisation de la vitesse de rotation minimale qui maintient les microporteurs en suspension complète. En effet, le modèle empirique établi par Corpstein & al rend très bien compte des résultats expérimentaux obtenus. De plus ce modèle comprend un facteur qui permet de réaliser des extrapolations d'une échelle à l'autre. Dès lors les vitesses de rotation minimales lors du processus de scale-up peuvent être calculées aisément.

### **3 Limitations des résultats obtenus et perspectives futures**

Les objectifs qui ont été présentés dans l'introduction ont été globalement atteints malgré une grosse panne de l'installation qui a retardé le début des mesures P.I.V. et P.L.I.F de près d'un mois. Néanmoins, le sujet étudié dans ce travail est un domaine très vaste dans lequel de nombreuses études peuvent encore être réalisées et faire l'objet d'une thèse. Certains résultats pourraient également être affinés moyennant le matériel nécessaire. Passons en revue ces différents points.

Premièrement, le concept de Metzner et Otto ainsi que la courbe de la viscosité de la suspension des microporteurs en fonction du cisaillement ont montré que cette suspension a une viscosité de 0.83 cP. En présence de cellules dans le milieu de culture, cette viscosité monte à 1.15 cP. Il serait dès lors intéressant de réaliser les mesures P.I.V. et P.L.I.F. pour cette dernière viscosité et d'en tirer les grandeurs globales et locales comme cela a été fait dans ce travail.

Deuxièmement, nous avons attribué la différence entre les nombres de pompage, de circulation et de puissance, que nous obtenons par rapport à ceux de la littérature, à une géométrie de la cuve différente et en particulier au nombre différent de contre-pales. Il serait intéressant de vérifier cette hypothèse en réalisant une série de mesures P.I.V. et du couple dans une cuve comprenant 3 ou 4 contre-pales.

Le principal problème des mesures P.I.V. est que cette méthode ne donne accès aux composantes de la vitesse que dans le plan éclairé par le laser. Or pour un calcul complet du cisaillement appliqué à une particule de fluide, la troisième composante de la vitesse doit être connue ainsi que les gradients situés hors du plan éclairé par le laser. Dès lors les résultats que nous avons obtenus, ne permettent que de caractériser le cisaillement de manière qualitative en repérant les zones à haut cisaillement. La 3-D P.I.V. permettrait de lever ce problème et dès lors de donner une réponse plus quantitative sur le niveau de cisaillement appliqué à une particule de fluide et par extension à une cellule de la culture. Cela ne sera possible que lorsque l'installation actuelle sera complétée pour faire de la 3-D P.I.V.

De même, l'hypothèse d'une turbulence isotrope réalisée lors du calcul de la dissipation de l'énergie pourra être levée lorsque nous aurons accès à la troisième composante de la vitesse et des gradients situés hors du plan du laser. Un deuxième problème est lié à l'échelle à laquelle la dissipation de l'énergie est calculée. La résolution de la caméra (2.66 mm dans cette étude) est nettement supérieure à l'échelle de Kolmogorov au niveau de laquelle prend part la dissipation de l'énergie. L'échelle de Kolmogorov dépend du point dans le plan où nous nous plaçons. Elle sera très petite dans la zone proche de l'agitateur (50  $\mu\text{m}$ ), un peu plus importante dans le reste de la cuve (1 mm). Suivant le rapport de la résolution de la caméra sur l'échelle de Kolmogorov, la valeur de la dissipation de l'énergie calculée représentera un pourcentage de la valeur réelle. Ce pourcentage n'est pas connu précisément néanmoins il diminue lorsque le rapport de la résolution de la caméra sur l'échelle de

Kolmogorov augmente. Une méthode pour augmenter la résolution des mesures P.I.V. et se rapprocher de l'échelle de Kolmogorov est de réduire la taille de la zone observée par la caméra. Ainsi les mesures seraient réalisées dans une série de petites zones. La répartition de la dissipation de l'énergie dans l'entièreté de la cuve serait obtenue en remettant bout à bout ces différentes zones. Néanmoins cette méthodologie nécessiterait énormément de temps et ne serait intéressante que si le microcisaillement s'avère être un élément clé du processus de scale-up.

Lors de la détermination du temps de mélange, faute de méthodes numériques qui fonctionnent et faute de temps disponible pour en mettre au point de nouvelles, nous avons optés par défaut pour une méthode visuelle basée sur un critère stricte. Les résultats obtenus semblent corrects mais ils dépendent néanmoins de la subjectivité de l'observateur. Le principal facteur qui explique la difficulté de trouver une méthode numérique adéquate est le bruit qui affecte les mesures. En effet, lorsqu'on s'approche d'une concentration uniforme au sein de la cuve, la variance introduite par la variation de l'énergie du laser d'un pulse à l'autre est du même ordre de grandeur que celle correspondant à de faibles variations de concentration entre filets de fluide voisins. Un « energy pulse meter » qui est une cellule photoélectrique mesurant à chaque pulse l'énergie du laser permettrait de corriger chaque image et dès lors d'éliminer les variations de variance introduites par les variations de l'énergie du laser. Cela ne sera possible que lorsque l'installation actuelle sera complétée par cette cellule photoélectrique.

Le modèle compartimenté développé dans ce travail, comme tout modèle compartimenté, présente la limitation de ne pas être extrapolable d'une échelle à l'autre lors du processus de scale-up car ceux-ci ne sont pas suffisamment relié à l'écoulement pour que cette extrapolation ait un sens. En fait, ce modèle n'est qu'une première approche de la modélisation du mélange dans le bioréacteur. Un modèle nettement plus complexe, basé sur les phénomènes hydrodynamiques sera développé dans le cadre d'un doctorat. Il sera basé sur le suivi lagrangien d'une particule de fluide en résolvant le bilan de forces qui s'appliquent sur celle-ci. Ce modèle sera extrapolable à d'autres échelles et donnera des réponses sur le temps qu'une particule de fluide et, par extension, qu'une cellule passe en un point du réacteur, sur l'« histoire » des contraintes et des gradients de concentration qu'elle subit, etc.

Enfin, puisque les outils ont été développés dans le cadre de ce travail, il est tout à fait envisageable de recommencer la même étude pour d'autres mobiles mais pour la viscosité unique de 1.15 cP citée ci-dessus. Les différents mobiles pourraient être comparés sur base des grandeurs globales et des grandeurs locales qu'ils induisent. Un choix pourra alors être réalisé, non plus sur base de corrélations empiriques comme cela a été fait pour l'hélice TT, mais plutôt sur les grandeurs mesurées pour la géométrie spécifique du système étudié.

## **Bibliographie**

---



**ARTICLES**

[BAUD97] BAUDOU C., 1997. *Agitation par des Systèmes Axiaux Simples ou Multi-Etages. Obtention de L'Hydrdinamique par Vélocimétrie Laser à Effet Doppler*, Ph.D. Thesis, INP, Toulouse, France

[COR94] CORPSTEIN R.R., FASANO J.B. & MYERS K.J., 1994. *The high-efficiency road to liquid-solid agitation*, Chemical Engineering, vol. 101, pp. 139-145.

[HAU03] HAUT B., BEN AMOR H., COULON L., JACQUET A & HALLOIN V., 2003. *Hydrodynamics and mass transfer in a Couette-Taylor bioreactor for the culture of animal cells*, Chemical Engineering Science, vol. 58, pp. 777-784.

[HOL64] HOLMES D. B., VONCKEN R. M. & DEKKER J.A., 1964. *Fluid flow in turbine-stirred, baffled tanks-I. Circulation time*, Chemical Engineering Science, vol.19, pp.201-208.

[MAV96] MAVROS P. & BERTRAND J., 1996. *Determination of 3-D Flow Fields in Agitated Vessels by Laser Doppler Velocimetry : Effect of Impeller Type and Liquid Viscosity on Liquid Flow Patterns*, Trabs IChemE, vol. 74A, pp.658-668

[PII00] PIIRTO M., ELORANTA H & SAARENINNE P., 2000. *Interactive Software For Turbulence Analysis From PIV Vector Data*, 10<sup>th</sup> International Symposium on Applications of Laser Techniques to Fluid Mechanics, Lisbon.

[TEI02] TEIPEL U., 2002. *Problems in Characterizing Transparent Particles by Laser Light Diffraction Spectrometry*, Chemical Engineering Technology vol. 25, pp.13-21.

**OUVRAGES**

[EKA91] EKATO, 1991. *Handbook of Mixing Technology: General Theory, Selection Criteria, Application*, EKATO, 85 pp.

[LEV62] LEVENSPIEL O.,1962. *Chemical reaction engineering*, edition John Wiley and Sons, inc, second edition, pp.253-325.

[RAO99] RAO A. M., 1999. *Rheology of fluid and semi-solid foods : Principles and applications*, Chapman & Hall Food Science Book, Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland, 433 p.

**OUVRAGES NON PUBLIÉS**

[MAR07] MARCHOT P., 2007. *Cours d'Aspects énergétiques des opérations physiques unitaires – partie mélange*. Notes de cours, Université de Liège, Faculté des Sciences appliquées, Département de Chimie Appliquée, inédit.

[PEE06] PEETERS L., 2006. *Caractérisation du mélange et proposition de critères de montée en échelle pour une application de culture cellulaire sur microporteurs en cuve agitée*. Mémoire de fin d'étude, Université de Liège, Inédit.

[VER05] VERDIN E., 2005. *Etude de l'influence des propriétés rhéologiques de la phase liquide sur le mélange dans une cuve agitée par « Particle Image Velocimetry »*. Mémoire de fin d'étude, Université de Liège, Inédit.

## MODE D'EMPLOI

[PIVGuide] DANTEC DYNAMICS A/S, 2002. *Flowmanager software and introduction to P.I.V. instrumentation*, 308 pp.

[PLIFGuide] DANTEC DYNAMICS A/S, 2002. *Planar LIF software- Liquid Application*, 54 pp.

## SITES INTERNET

[ALL] ALLEN T. s.d., *Études de structure – Granulométrie*. ([http://www.techniques-ingenieur.fr/dossier/granulometrie/P1040\\_10\\_1988](http://www.techniques-ingenieur.fr/dossier/granulometrie/P1040_10_1988)), consulté le 10 mars 2007

[AUB01] AUBIN J., MAVROS P., FLETCHER D. F., XUERE B. C. & BERTRAND J., 2001. *Effect of axial agitator configuration (up-pumping, down-pumping, reverse rotation) on flow patterns generated in stirred vessels*, (<http://www.atypon-link.com/ICE/doi/abs/10.1205/02638760152721046>), consulté le 15 février 2007.

[BAL] BALDI S., HANN D. & YIANNESKIS M. s.d. *On the measurement of turbulence energy dissipation in stirred vessels with PIV techniques*, ([http://in3.dem.ist.utl.pt/lxaser2002/papers/paper\\_11\\_2.pdf](http://in3.dem.ist.utl.pt/lxaser2002/papers/paper_11_2.pdf)), consulté le 25 février 2007.

[BLA] BLAZY P., JDID E. & BERSILLON J.-L. *Decantation - Aspects théoriques*, ([http://www.techniques-ingenieur.fr/dossier/decantation\\_aspects\\_theoriques/J3450](http://www.techniques-ingenieur.fr/dossier/decantation_aspects_theoriques/J3450)), consulté le 20 avril 2007.

[DEL] DELAPLACE G. & GUERIN R. s.d. *Mélange des produits pâteux – Caractéristiques d'un système agité*, ([http://www.techniques-ingenieur.fr/dossier/melange\\_des\\_produits\\_p\\_acire\\_teux\\_caracteristiques\\_d\\_un\\_systeme\\_agite/F3350](http://www.techniques-ingenieur.fr/dossier/melange_des_produits_p_acire_teux_caracteristiques_d_un_systeme_agite/F3350)), consulté le 1 août 2006.

[KLI03] KLING K. & MEWES D. 2003. *Quantitative Measurement of Micro- and Macromixing in Stirred Vessels using Planar Laser Induced Fluorescence*, (<http://portal.acm.org/citation.cfm?id=1235788>), consulté le 7 octobre 2006.

[ROUa] ROUSTAN M., s.d. *Agitation. Mélange - Caractéristiques des mobiles d'agitation*. ([http://www.techniques-ingenieur.fr/dossier/agitation\\_melange\\_caracteristiques\\_des\\_mobiles\\_d\\_agitation/J3802](http://www.techniques-ingenieur.fr/dossier/agitation_melange_caracteristiques_des_mobiles_d_agitation/J3802)), consulté le 10 septembre 2006.

[ROUb] ROUSTAN M., PHARAMOND J.-C. & LINE A. s.d. *Agitation, Mélange – Concepts théoriques de base*. (<http://www.techniques-ingenieur.fr/affichage/DispIntro.asp?nGcmID =J3800>), consulté le 1 août 2006.

[SCH] SCHER J. s.d. *Rhéologie, texture et texturation des produits alimentaires*, ([http://www.techniques-ingenieur.fr/dossier/rheologie\\_texture\\_et\\_texturation\\_des\\_produits\\_alimentaires/F3300](http://www.techniques-ingenieur.fr/dossier/rheologie_texture_et_texturation_des_produits_alimentaires/F3300)), consulté le 1 août 2006.

## **Annexes**

---

---

## Annexe 1 : Signification des paramètres utilisés dans le traitement des images P.I.V.

Le traitement suivant a été appliqué dans chaque configuration :

1. Cross-corrélation : Fenêtre d'interrogation de **32X32** pixels  
**Window function : Gaussian : k=1.19**  
**Overlapping : 50%** horizontalement et verticalement  
**Filtre : Low-Pass Gaussian : k=5**
2. Application d'un masque qui élimine du traitement la zone située hors de la cuve ainsi que la zone où se trouve l'agitateur.
3. Validation des vecteurs obtenus par la méthode :  
**Moving average validation** : Taille de la fenêtre **3X3** pixels  
 Nombre d'itérations : **3**  
 Facteur d'acceptance : **0.06**
4. Calcul du champ de vitesses moyen **en ne tenant compte que des vecteurs validés.**

### La Cross-corrélation

La fenêtre d'interrogation contient  $a \times b$  pixels où  $a$  et  $b$  peuvent être différents. Dans le cas étudié, l'écoulement n'étant pas prédominant dans une direction particulière,  $a$  et  $b$  sont pris égaux et valent 32 pixels. Le choix de 32 pixels parmi différentes possibilités (16X16, 64X64, 128X128) est dicté par le souhait d'avoir un nombre de vecteurs par image important (1280) tout en limitant les temps de calculs.

La Window function élimine les particules fantômes et les corrélations fantômes créées aux frontières de la fenêtre d'interrogation par le traitement dans le domaine de Fourier. Le niveau de gris des pixels compris dans la fenêtre d'interrogation est multiplié par le coefficient

$$W(m,n) : \quad W(m,n) = \exp \left[ - \left[ \frac{1}{k} \right]^2 \left( \left( \frac{2m}{M} \right)^2 + \left( \frac{2n}{N} \right)^2 \right) \right]$$

Où  $M$  et  $N$  sont la largeur et la hauteur de la fenêtre d'interrogation,

$(m,n)$  est la position du pixel dans la fenêtre d'interrogation,  $(0,0)$  étant situé au centre,

$k$  est le coefficient sur lequel un choix est possible. La valeur 1.19 a été ajustée expérimentalement en testant différentes valeurs. Cette valeur permet de tenir compte de 85% de la fenêtre d'interrogation en largeur et hauteur.

Puisqu'une partie de la fenêtre d'interrogation n'est pas prise en compte, un overlapping de 50% horizontalement et verticalement est imposé. Cela permet de quadrupler le nombre de vecteurs car l'espacement entre deux vecteurs passe de 32 pixels à 16 pixels. Néanmoins la résolution est inchangée car les vecteurs supplémentaires doivent être vus comme une interpolation sur base des images brutes.

Un filtre est appliqué afin d'éliminer le bruit provenant de la réflexion de la lumière sur les parois environnantes. Ce filtre, comme présenté dans la figure 10 de la partie « appareils et méthodes », fonctionne dans le domaine de Fourier. Il multiplie les coefficients de Fourier par  $W(u,v)$  suivant la valeur de  $u$  et de  $v$  qui sont les coordonnées dans le domaine de Fourier.

$$W(u,v) = 0 \text{ pour } (u,v)=(0,0)$$

$$W(u,v) = \exp\left(-k^2 \frac{u^2 + v^2}{UV}\right) \text{ dans les autres cas}$$

Où  $U, V$  représente la taille d'une fenêtre d'interrogation dans le domaine des fréquences de Fourier. Le choix de  $k=5$  parmi les valeurs  $k=3, k=4$  et  $k=5$  est celui qui donne les meilleurs résultats expérimentaux au niveau du faible nombre de vecteurs aberrants.

### La moving average validation

Cette méthode est basée sur le fait que le champ de vitesses évolue doucement et que dès lors un vecteur sera accepté ou rejeté sur base d'une comparaison de sa direction et de sa norme avec ses voisins directs. Dans un premier temps, un vecteur  $\bar{v}(x,y)$  représentant la moyenne des vecteurs voisins est tout d'abord calculé. Il est ensuite comparé au vecteur  $v(x,y)$ . Un vecteur est accepté si la relation suivante est vérifiée.

$$\sqrt{(v(x,y)_x - \bar{v}(x,y)_x)^2 + (v(x,y)_y - \bar{v}(x,y)_y)^2} < k$$

$$\text{où } k = \alpha * \max \sqrt{(v(x,y)_x - \bar{v}(x,y)_x)^2 + (v(x,y)_y - \bar{v}(x,y)_y)^2}$$

$\alpha$  est le facteur d'acceptance. Dès lors la différence entre le vecteur  $v(x,y)$  et le vecteur moyen  $\bar{v}(x,y)$  est premièrement calculée en chaque point  $(x,y)$ . La valeur maximale est trouvée et multipliée par le facteur  $\alpha$  ici ajusté expérimentalement à 0,06. Ensuite la validation est appliquée en chaque point selon le critère cité ci-dessus. Pour une meilleure élimination des vecteurs aberrants le processus est répété. Dans le cas étudié, trois itérations sont suffisantes.

## Annexe 2 : Routine Matlab : représentation des champs de vitesses.

```

% fichier contenant la norme des vecteurs vitesses à partir de flowmanager
clear all
close all
nlig=79;
load
C:\MATLAB701\work\glycerinepivTT125\normeTT125glycerine25pc2cpzb850000.txt
A=normeTT125glycerine25pc2cpzb850000;

X=A(:,1);
Y=A(:,2);
Vprime=A(:,3);
XX=X(1:nlig); % on balaie tous les X pour un Y donné
YY=Y(1:nlig:end);

VVprime=(reshape(Vprime,[max(size(XX)),max(size(YY))]))'; % on fabrique
une matrice XX x YY et puis on tilde pour que les XX aient une
signification normale

figure
contourf(XX,YY,VVprime,100),caxis ([0 2000*1e-4]),colorbar, shading flat;
title('solution de glycérine viscosité 3.15 cp helice TT 125 85 rpm')
xlabel('X (mm)')
ylabel('Z (mm)')
hold on

% fichier contenant les vecteurs vitesses à partir de flowmanager

nlig=79;
load
C:\MATLAB701\work\glycerinepivTT125\moyTT125glycerine25pc2cpzb850000.txt

B=moyTT125glycerine25pc2cpzb850000;

X=B(:,1);
Y=B(:,2);
U=B(:,3);
V=B(:,4);
XX=X(1:nlig); % on balaie tous les X pour un Y donné
YY=Y(1:nlig:end);

UU=(reshape(U,[max(size(XX)),max(size(YY))]))';
VV=(reshape(V,[max(size(XX)),max(size(YY))]))';

quiver(XX(1:2:end),YY(1:2:end),UU(1:2:end,1:2:end),VV(1:2:end,1:2:end),3,'m')
hold on

saveas(gcf,'D:\effet de la viscoTT125\TT125glycerine25pc2cpzb85','tif')

```

### Annexe 3 : Routine Matlab : Calcul des débits de pompage et de circulation.

```

clear all

% Débit de Pompage :
load C:\MATLAB701\work\glycerinepivTT125\moyTT125eauzb500000.txt
B =moyTT125eauzb500000 ;
ml=2880;
th=2902;
as=2868;
vv=2800;
dn=3117;
r0p=160.95*1e-3;
r0c=160.95*1e-3;

mlth=th-ml+1;
asth=th-as+1;
nlig=79;

xp = B(ml:1:th,1)*1e-3;           % m
yp = B(ml:1:th,4);              % m/s

rpg = abs(xp(1:1:mlth,1)-r0p);
rpgflipped = flipud(rpg);
ypg = yp(1:1:mlth,1);           % m/s
zpg = ypg.*rpg;
zpgflipped = flipud(zpg);
Qpg = pi*trapz(rpgflipped,zpgflipped)*3600; % m³/h

Qp = 2*Qpg

% débit de circulation :
B =moyTT125eauzb500000 ;
xc1 = B(as:1:th,1)*1e-3;        % m
yc1 = B(as:1:th,4);             % m/s
rc1g = abs(xc1(1:1:asth,1)-r0c);
rc1gflipped = flipud(rc1g);
yc1g = yc1(1:1:asth,1);         % m/s
zc1g = yc1g.*rc1g;
zc1gflipped = flipud(zc1g);
Qc1g = pi*trapz(rc1gflipped,zc1gflipped)*3600; % m³/h
Qc1 = 2*Qc1g

```

## Annexe 4 : Routine Matlab : Répartition des cisaillement dans le plan éclairé par le laser.

```

clear all
close all
format long
% fichier contenant les composantes des vecteurs vitesses à partir de
flowmanager

nlig=79;

load
C:\MATLAB701\work\glycerinepivTT125\moyTT125glycerine25pc2cpzb850000.txt

Au=moyTT125glycerine25pc2cpzb850000;

Xu=Au(:,1);
Yu=Au(:,2);
Vu=Au(:,3);
Vv=Au(:,4);
XXu=Xu(1:nlig); % on balaie tous les X pour un Y donné
YYu=Yu(1:nlig:end);
h=(Xu(2)-Xu(1))*1e-3;
VVu=(reshape(Vu,[max(size(XXu)),max(size(YYu))]))'; % on fabrique une
matrice XX x YY et puis on tilde pour que les XX aient une signif. normale
VVv=(reshape(Vv,[max(size(XXu)),max(size(YYu))]))'; % on fabrique une
matrice XX x YY et puis on tilde pour que les XX aient une signif. normale

% Calcul des dérivées du/dx et du/dy,

[dudx,dudy]=gradient(VVu,h);

% Calcul des dérivées dv/dx et dv/dy,

[dvdx,dvdy]=gradient(VVv,h);
dudy=abs(dudy);
dvdx=abs(dvdx);

% Correction des dérivées dans la zone à la périphérie et dans le masque

i=1; %numéro de la ligne
j=1; %numéro de la colonne
[n_lin,n_col]=size(VVu);
while i <= n_lin
    while j <= n_col

        if j>1 & j<n_col & VVv(i,j-1)== 0
            dvdx(i,j)=abs((VVv(i,j+1)-VVv(i,j))/h);
        elseif j<n_col & j>1 & VVv(i,j+1)==0
            dvdx(i,j)=abs((VVv(i,j-1)-VVv(i,j))/h);
        elseif i>1 & i<n_lin & VVu(i-1,j)==0
            dudy(i,j)=abs((VVu(i+1,j)-VVu(i,j))/h);
        elseif i>1 & i<n_lin & VVu(i+1,j)==0
            dudy(i,j)=abs((VVu(i-1,j)-VVu(i,j))/h);
        end
        if VVu(i,j) == 0

```



```

                dudy(i,j)=0;
                dvdx(i,j)=0;
            else
            end
        j=j+1;
    end
    i=i+1;
    j=1;
end

vis=0.00315;
supercis=dudy+dvdx;
tosuper=vis*supercis;

clear VVu VVv Xu Yu Vu Vv XXu XXv Au

load
C:\MATLAB701\work\glycerinepivTT125\moyTT125glycerine25pc2cpzh850000.txt

Au=moyTT125glycerine25pc2cpzh850000;

Xu=Au(:,1);
Yu=Au(:,2);
Vu=Au(:,3);
Vv=Au(:,4);
XXu=Xu(1:nlig);
YYu=Yu(1:nlig:end);
h=(Xu(2)-Xu(1))*1e-3;
VVu=(reshape(Vu,[max(size(XXu)),max(size(YYu))]))';
VVv=(reshape(Vv,[max(size(XXu)),max(size(YYu))]))';

% Calcul des dérivées du/dx et du/dy,

[dudx2,dudy2]=gradient(VVu,h);

% Calcul des dérivées dv/dx et dv/dy,

[dvdx2,dvdy2]=gradient(VVv,h);
dudy2=abs(dudy2);
dvdx2=abs(dvdx2);

% Corrections des dérivées dans la zone à la périphérie et dans le masque

i=1;
j=1;
[n_lin,n_col]=size(VVu);
while i <= n_lin
    while j <= n_col

        if j>1 & j<n_col & VVv(i,j-1)== 0
            dvdx2(i,j)=abs((VVv(i,j+1)-VVv(i,j))/h);
        elseif j<n_col & j>1 & VVv(i,j+1)==0
            dvdx2(i,j)=abs((VVv(i,j-1)-VVv(i,j))/h);
        elseif i>1 & i<n_lin & VVu(i-1,j)==0
            dudy2(i,j)=abs((VVu(i+1,j)-VVu(i,j))/h);
        elseif i>1 & i<n_lin & VVu(i+1,j)==0
            dudy2(i,j)=abs((VVu(i-1,j)-VVu(i,j))/h);
        end
        if VVu(i,j) == 0

```

```

                dudy2(i,j)=0;
                dvdx2(i,j)=0;
            else
            end
        j=j+1;
    end
i=i+1;
j=1;
end

supercis2=dudy2+dvdx2;
tosuper2=vis*supercis2;

figure
contourf(XXu,YYu,dudy,30),caxis ([0 8]), colorbar, shading flat;
title('du/dy:Cisaillement de la composante u selon la direction y, solution
de glycerine de 24.60cp, TT125, 85rpm')
xlabel('X (mm)')
ylabel('Z (mm)')
hold on
quiver(XXu(1:2:end),YYu(1:2:end),VVu(1:2:end,1:2:end),VVv(1:2:end,1:2:end),
2,'m')
hold on
saveas(gcf,'C:\MATLAB701\work\cisaillement TT125\effet
visco\dudyvecteurcomplet\TT125glycerine25pc2cpzh85dudy','tif')

figure
contourf(XXu,YYu,dvdx,30), caxis ([0 10]),colorbar, shading flat;
title('dv/dx:Cisaillement de la composante v selon la direction x, solution
de glycerine de 24.60cp, TT125, 85rpm')
xlabel('X (mm)')
ylabel('Z (mm)')
hold on
quiver(XXu(1:2:end),YYu(1:2:end),VVu(1:2:end,1:2:end),VVv(1:2:end,1:2:end),
2,'m')
hold on
saveas(gcf,'C:\MATLAB701\work\cisaillement TT125\effet
visco\dvdxvecteurcomplet\TT125glycerine25pc2cpzh85dudy','tif')

figure
contourf(XXu,YYu,supercis,30),caxis ([0 165*1e-1]), colorbar, shading flat;
title('du/dy+dv/dx: somme des cisaillement, solution de glycerine de
24.60cp, TT125, 85rpm')
xlabel('X (mm)')
ylabel('Z (mm)')
hold on
quiver(XXu(1:2:end),YYu(1:2:end),VVu(1:2:end,1:2:end),VVv(1:2:end,1:2:end),
2,'m')
saveas(gcf,'C:\MATLAB701\work\cisaillement TT125\effet
visco\supercis\TT125glycerine25pc2cpzh85supercis','tif')

figure
contourf(XXu,YYu,tosuper,30),caxis ([0 50*1e-2]), colorbar, shading flat;
title(' somme des contraintes, solution de glycerine de 3.15cp, TT125,
85rpm')
xlabel('X (mm)')
ylabel('Z (mm)')
hold on

```

```

quiver(XXu(1:2:end),YYu(1:2:end),VVu(1:2:end,1:2:end),VVv(1:2:end,1:2:end),
2,'m')
saveas(gcf,'C:\MATLAB701\work\cisaillement TT125\effet
visco\t0super\TT125glycerine25pc2cpzh85tosuper','tif')
clear VVu VVv Xu Yu Vu Vv XXu XXv Au

```

```

figure
contourf(XXu,YYu,dudy2,30),caxis ([0 8]), colorbar, shading flat;
title('du/dy:Cisaillement de la composante u selon la direction y, solution
de glycerine de 24.60cp, TT125, 85rpm')
xlabel('X (mm)')
ylabel('Z (mm)')
hold on
quiver(XXu(1:2:end),YYu(1:2:end),VVu(1:2:end,1:2:end),VVv(1:2:end,1:2:end),
2,'m')
hold on
saveas(gcf,'C:\MATLAB701\work\cisaillement TT125\effet
visco\dudyvecteurcomplet\TT125glycerine25pc2cpzh85dudy','tif')

```

```

figure
contourf(XXu,YYu,dvdx2,30), caxis ([0 10]),colorbar, shading flat;
title('dv/dx:Cisaillement de la composante v selon la direction x, solution
de glycerine de 24.60cp, TT125, 85rpm')
xlabel('X (mm)')
ylabel('Z (mm)')
hold on
quiver(XXu(1:2:end),YYu(1:2:end),VVu(1:2:end,1:2:end),VVv(1:2:end,1:2:end),
2,'m')
hold on
saveas(gcf,'C:\MATLAB701\work\cisaillement TT125\effet
visco\dvdxvecteurcomplet\TT125glycerine25pc2cpzh85dudy','tif')

```

```

figure
contourf(XXu,YYu,super2,30),caxis ([0 165*1e-1]), colorbar, shading
flat;
title('du/dy+dv/dx: somme des cisaillement, solution de glycerine de
24.60cp, TT125, 85rpm')
xlabel('X (mm)')
ylabel('Z (mm)')
hold on
quiver(XXu(1:2:end),YYu(1:2:end),VVu(1:2:end,1:2:end),VVv(1:2:end,1:2:end),
2,'m')
saveas(gcf,'C:\MATLAB701\work\cisaillement TT125\effet
visco\super2\TT125glycerine25pc2cpzh85super2','tif')

```

```

figure
contourf(XXu,YYu,tosuper2,30),caxis ([0 50*1e-2]), colorbar, shading flat;
title(' somme des contraintes, solution de glycerine de 3.15cp, TT125,
85rpm')
xlabel('X (mm)')
ylabel('Z (mm)')
hold on
quiver(XXu(1:2:end),YYu(1:2:end),VVu(1:2:end,1:2:end),VVv(1:2:end,1:2:end),
2,'m')
saveas(gcf,'C:\MATLAB701\work\cisaillement TT125\effet
visco\t0super\TT125glycerine25pc2cpzh85tosuper','tif')

```

**% Calcul des distributions**

```
dudy2=dudy2(19:63,1:79);
dudy2=reshape(dudy2,1,3555);
dudy=reshape(dudy,1,4977);
dudy3=[dudy,dudy2];
dudy3=nonzeros(dudy3);

dvdx2=dvdx2(19:63,1:79);
dvdx2=reshape(dvdx2,1,3555);
dvdx=reshape(dvdx,1,4977);
dvdx3=[dvdx,dvdx2];
dvdx3=nonzeros(dvdx3);

supercis2=supercis2(19:63,1:79);
supercis2=reshape(supercis2,1,3555);
supercis=reshape(supercis,1,4977);
supercis3=[supercis,supercis2];
supercis3=nonzeros(supercis3);

int1=(0.1:0.2:10);
int2=(0.1:0.2:12);
int3=(0.25:0.5:20);

figure
hist(dudy3,int1)
title('répartition de dudy, solution de glycerine de 3.15 cp, TT125, 85 rpm')
xlabel('dudy (s-1)')
ylabel('nombre de zones d interrogation')
saveas(gcf,'D:\cisaillementTT125\effetvisco\histogramme\TT125glycerine25pc2 cpzh85dudy','tif')

figure
hist(dvdx3,int2)
title('répartition de dvdx, solution de glycerine de 3.15 cp, TT125, 85 rpm')
xlabel('dvdx (s-1)')
ylabel('nombre de zones d interrogation')
saveas(gcf,'D:\cisaillementTT125\effetvisco\histogramme\TT125glycerine25pc2 cpzh85dvdx','tif')

figure
hist(supercis3,int3)
title('répartition du cisaillement totale dudy+dvdx, solution de glycerine de 3.15 cp, TT125, 85 rpm')
xlabel('dudy+dvdx (s-1)')
ylabel('nombre de zones d interrogation')
saveas(gcf,'D:\cisaillementTT125\effetvisco\histogramme\TT125glycerine25pc2 cpzh85supercis','tif')
```

## Annexe 5 : Routine Matlab : Répartition de la dissipation de l'énergie dans le plan éclairé par le laser

```

% fichier permettant de calculer la dissipation de l'energie :

% chargement des fichiers contenant les fluctuations de vitesse de
% flowmanager:

clear all
close all
format long

'creation des matrices'

adresse=['C:\MATLAB701\work\dissipationnrjTT150\'];
nlig=79;
nombredimage=133;
colonne=79;
ligne=63;
rho=1200;
mu=0.03106;
nu=mu/rho;
VVub(1:ligne,1:colonne,1:nombredimage)=0;
VVut(1:ligne,1:colonne,1:nombredimage)=0;
VVvb(1:ligne,1:colonne,1:nombredimage)=0;
VVvt(1:ligne,1:colonne,1:nombredimage)=0;
dudyb(1:ligne,1:colonne,1:nombredimage)=0;
dudyt(1:ligne,1:colonne,1:nombredimage)=0;
dudxb(1:ligne,1:colonne,1:nombredimage)=0;
dudxt(1:ligne,1:colonne,1:nombredimage)=0;
dvdx(1:ligne,1:colonne,1:nombredimage)=0;
dvdy(1:ligne,1:colonne,1:nombredimage)=0;
dvdyb(1:ligne,1:colonne,1:nombredimage)=0;
dvdyt(1:ligne,1:colonne,1:nombredimage)=0;

%ouverture des fichiers

for k=1:1:nombredimage
    if k<10
        fichierb=['instTT150glycerine72pc29cpzb85000' num2str(k) '.txt'];
        fichiert=['instTT150glycerine72pc29cpzh85000' num2str(k) '.txt'];
        fileb=[adresse fichierb];
        filet=[adresse fichiert];
        Aub=dlmread(fileb);
        Aut=dlmread(filet);
        Xub=Aub(:,1);
        Xut=Aut(:,1);
        Yub=Aub(:,2);
        Yut=Aut(:,2);
        Vub=Aub(:,3);
        Vut=Aut(:,3);
        Vvb=Aub(:,4);
        Vvt=Aut(:,4);
        XXub=Xub(1:nlig);
        XXut=Xut(1:nlig);
        YYub=Yub(1:nlig:end);
        YYut=Yut(1:nlig:end);
    end
end

```

```
VVub(1:ligne,1:colonne,k)=(reshape(Vub,[max(size(XXub)),max(size(YYub))]))'
VVut(1:ligne,1:colonne,k)=(reshape(Vut,[max(size(XXut)),max(size(YYut))]))'
VVvb(1:ligne,1:colonne,k)=(reshape(Vvb,[max(size(XXub)),max(size(YYub))]))'
VVvt(1:ligne,1:colonne,k)=(reshape(Vvt,[max(size(XXut)),max(size(YYut))]))'
```

```
clear Aub Aut Xub Xut Yub Yut Vub Vut Vvb Vvt XXub XXut YYub YYut fichierb
fichierb fichierb fileb fileb
```

```
elseif k<100
    fichierb=['instTT150glycerine72pc29cpzb8500' num2str(k) '.txt'];
    fichierb=['instTT150glycerine72pc29cpzh8500' num2str(k) '.txt'];
    fichierb=[adresse fichierb];
    fileb=[adresse fichierb];
    Aub=dlmread(fileb);
    Aut=dlmread(fileb);
    Xub=Aub(:,1);
    Xut=Aut(:,1);
    Yub=Aub(:,2);
    Yut=Aut(:,2);
    Vub=Aub(:,3);
    Vut=Aut(:,3);
    Vvb=Aub(:,4);
    Vvt=Aut(:,4);
    XXub=Xub(1:nlig);
    XXut=Xut(1:nlig);
    YYub=Yub(1:nlig:end);
    YYut=Yut(1:nlig:end);
```

```
VVub(1:ligne,1:colonne,k)=(reshape(Vub,[max(size(XXub)),max(size(YYub))]))'
VVut(1:ligne,1:colonne,k)=(reshape(Vut,[max(size(XXut)),max(size(YYut))]))'
VVvb(1:ligne,1:colonne,k)=(reshape(Vvb,[max(size(XXub)),max(size(YYub))]))'
VVvt(1:ligne,1:colonne,k)=(reshape(Vvt,[max(size(XXut)),max(size(YYut))]))'
```

```
clear Aub Aut Xub Xut Yub Yut Vub Vut Vvb Vvt XXub XXut YYub YYut fichierb
fichierb fichierb fileb fileb
```

```
else
    fichierb=['instTT150glycerine72pc29cpzb850' num2str(k) '.txt'];
    fichierb=['instTT150glycerine72pc29cpzh850' num2str(k) '.txt'];
    fichierb=[adresse fichierb];
    fileb=[adresse fichierb];
    Aub=dlmread(fileb);
    Aut=dlmread(fileb);
    Xub=Aub(:,1);
    Xut=Aut(:,1);
    Yub=Aub(:,2);
    Yut=Aut(:,2);
    Vub=Aub(:,3);
    Vut=Aut(:,3);
    Vvb=Aub(:,4);
    Vvt=Aut(:,4);
    XXub=Xub(1:nlig);
    XXut=Xut(1:nlig);
    YYub=Yub(1:nlig:end);
    YYut=Yut(1:nlig:end);
```

```
VVub(1:ligne,1:colonne,k)=(reshape(Vub,[max(size(XXub)),max(size(YYub))]))'
VVut(1:ligne,1:colonne,k)=(reshape(Vut,[max(size(XXut)),max(size(YYut))]))'
VVvb(1:ligne,1:colonne,k)=(reshape(Vvb,[max(size(XXub)),max(size(YYub))]))'
VVvt(1:ligne,1:colonne,k)=(reshape(Vvt,[max(size(XXut)),max(size(YYut))]))'
```

---

```

clear Aub Aut Xub Xut Yub Yut Vub Vut Vvb Vvt XXub XXut YYub YYut fichierb
fichierb= ['instTT150glycerine72pc29cpzb850001.txt'];
fichierb= ['instTT150glycerine72pc29cpzh850001.txt'];
fichierb=[adresse fichierb];
fichierb=[adresse fichierb];
Aub=dlmread(fileb);
Aut=dlmread(filet);
Xub=Aub(:,1);
Xut=Aut(:,1);
Yub=Aub(:,2);
Yut=Aut(:,2);
Vub=Aub(:,3);
Vut=Aut(:,3);
Vvb=Aub(:,4);
Vvt=Aut(:,4);
XXub=Xub(1:nlig);
XXut=Xut(1:nlig);
YYub=Yub(1:nlig:end);
YYut=Yut(1:nlig:end);
ht=(Xut(2)-Xut(1))*1e-3;
hb=(Xub(2)-Xub(1))*1e-3;

'calculdesgradients'

% Calcul des dérivées du/dx et du/dy,

[dudxt,dudyt]=gradient(VVut,ht);
[dudxb,dudyb]=gradient(VVub,hb);

% Calcul des dérivées dv/dx et dv/dy,

[dvdxt,dvdyt]=gradient(VVvt,ht);
[dvdxb,dvdyb]=gradient(VVvb,hb);

load
C:\MATLAB701\work\glycerinepivTT150\moyTT150glycerine72pc29cpzb850000.txt
Bub=moyTT150glycerine72pc29cpzb850000;
Bubv=Bub(:,3);
BBubv=(reshape(Bubv,[max(size(XXub)),max(size(YYub))]))';

load
C:\MATLAB701\work\glycerinepivTT150\moyTT150glycerine72pc29cpzh850000.txt
But=moyTT150glycerine72pc29cpzh850000;
Buvt=But(:,3);
BBuvt=(reshape(Buvt,[max(size(XXut)),max(size(YYut))]))';

%correction des gradients

for k=1:1:nombredimage
i=1; %numéro de la ligne
j=1;
while i <= ligne
    while j <= colonne
        if j>1 & j<colonne & BBubv(i,j-1)== 0
            dvdxb(i,j,k)=(VVvb(i,j+1,k)-VVvb(i,j,k))/hb);

```

```

        dudxb(i,j,k)=(VVub(i,j+1,k)-VVub(i,j,k))/hb);
elseif j<colonne & j>1 & BBuvb(i,j+1)==0
        dvdx(i,j,k)=(VVvb(i,j-1,k)-VVvb(i,j,k))/hb);
        dudxb(i,j,k)=(VVub(i,j-1,k)-VVub(i,j,k))/hb);
elseif i>1 & i<ligne & BBuvb(i-1,j)==0
        dudyb(i,j,k)=(VVub(i+1,j,k)-VVub(i,j,k))/hb);
        dvdyb(i,j,k)=(VVvb(i+1,j,k)-VVvb(i,j,k))/hb);
elseif i>1 & i<ligne & BBuvb(i+1,j)==0
        dudyb(i,j,k)=(VVub(i-1,j,k)-VVub(i,j,k))/hb);
        dvdyb(i,j,k)=(VVvb(i-1,j,k)-VVvb(i,j,k))/hb);
end

if j>1 & j<colonne & BBuvt(i,j-1)== 0
        dvdxt(i,j,k)=(VVvt(i,j+1,k)-VVvt(i,j,k))/ht);
        dudxt(i,j,k)=(VVut(i,j+1,k)-VVut(i,j,k))/ht);
elseif j<colonne & j>1 & BBuvt(i,j+1)==0
        dvdxt(i,j,k)=(VVvt(i,j-1,k)-VVvt(i,j,k))/ht);
        dudxt(i,j,k)=(VVut(i,j-1,k)-VVut(i,j,k))/ht);
elseif i>1 & i<ligne & BBuvt(i-1,j)==0
        dudyt(i,j,k)=(VVut(i+1,j,k)-VVut(i,j,k))/ht);
        dvdyt(i,j,k)=(VVvt(i+1,j,k)-VVvt(i,j,k))/ht);
elseif i>1 & i<ligne & BBuvt(i+1,j)==0
        dudyt(i,j,k)=(VVut(i-1,j,k)-VVut(i,j,k))/ht);
        dvdyt(i,j,k)=(VVvt(i-1,j,k)-VVvt(i,j,k))/ht);
end

if BBuvb(i,j) == 0
        dudyb(i,j,k)=0;
        dudxb(i,j,k)=0;
        dvdx(i,j,k)=0;
        dvdyb(i,j,k)=0;
else
end

if BBuvt(i,j) == 0
        dudyt(i,j,k)=0;
        dudxt(i,j,k)=0;
        dvdxt(i,j,k)=0;
        dvdyt(i,j,k)=0;
else
end

        j=j+1;
end
i=i+1;
j=1;
end
end
clear VVub VVvb VVut VVub

```

### ' calcul des moyennes '

```

moyennecarredudyb=sum(dudyb.*dudyb,3)/nombredimage;
moyennecarredvdxib=sum(dvdxib.*dvdxib,3)/nombredimage;
moyennecarredudxbib=sum(dudxbib.*dudxbib,3)/nombredimage;
moyennecarredvdybib=sum(dvdybib.*dvdybib,3)/nombredimage;
moyennecarrevuvvbiib=sum(dudyb.*dvdxib,3)/nombredimage;

```



---

```

moyennecarredudyt=sum(dudyt.*dudyt,3)/nombredimage;
moyennecarredvdxt=sum(dvdxt.*dvdxt,3)/nombredimage;
moyennecarredudxt=sum(dudxt.*dudxt,3)/nombredimage;
moyennecarredvdyt=sum(dvdyt.*dvdyt,3)/nombredimage;
moyennecarrevuvvt=sum(dudyt.*dvdxt,3)/nombredimage;

clear dudyb dudyt dudxt dudxb dvdxb dvdxt dvdyb dvdyt

' calcul de epsilon'

epsilon=nu*((2*moyennecarredudxb)+(2*moyennecarredvdyb)+(3*moyennecarredudyb)+(3*moyennecarredvdxb)+(2*moyennecarrevuvvb));
epsilon=nu*((2*moyennecarredudxt)+(2*moyennecarredvdyt)+(3*moyennecarredudyt)+(3*moyennecarredvdxt)+(2*moyennecarrevuvvt));

clear moyennecarredudyb moyennecarredvdxb moyennecarredudxb
moyennecarredvdyb moyennecarrevuvvb moyennecarredudyt moyennecarredvdxt
moyennecarredudxt moyennecarredvdyt moyennecarrevuvvt

%affichage des figures

figure
contourf(XXub,YYub,epsilon,510), caxis ([0 0.025]), colorbar, shading
flat;
title('taux de dissipation de l énergie turbulente solution de glycerine
de 31.06 cp, TT150, 85rpm')
xlabel('X (mm)')
ylabel('Z (mm)')
hold on

saveas(gcf,'C:\MATLAB701\work\graphdissipationnrjTT150\effetvisco\figure\TT
150glycerine72pc29cpzb85','tif')

figure
contourf(XXut,YYut,epsilon,510), caxis ([0 0.025]), colorbar, shading
flat;
title('taux de dissipation de l énergie turbulente solution de glycerine
de 31.06 cp, TT150, 85rpm')
xlabel('X (mm)')
ylabel('Z (mm)')
hold on

saveas(gcf,'C:\MATLAB701\work\graphdissipationnrjTT150\effetvisco\figure\TT
150glycerine72pc29cpzh85','tif')

%calcul de la repartition

epsilon2=epsilon(19:63,1:79);
epsilon3=reshape(epsilon2,1,3555);
epsilonb2=reshape(epsilonb,1,4977);
epsilon2=[epsilon3,epsilonb2];
epsilon3=nonzeros(epsilon2);
x=(0.00005:0.0001:0.025);
figure
hist(epsilon3,x);
title('repartition de la dissipation de l énergie turbulente solution de
glycerine de 31.06 cp, TT150, 85rpm')

```

---

```
xlabel('valeur de la dissipation de l'énergie turbulente')
ylabel('nombre de zone d'interrogation')
saveas(gcf, 'C:\MATLAB701\work\graphdissipationnrjTT150\effetvisco\histogramme\TT150glycerine72pc29cp85', 'tif')
```

## **Annexe 6 : Routine Matlab : Calcul des coefficients de la courbe de calibration en chaque point pour les mesures P.L.I.F. et calcul de l'évolution de la variance au cours du temps**

```
clear all;
format long;
nconc=26; % Nombre de concentration.
nref=8;% Nombre d'images pour chaque concentration.
nimage=200; % Nombre d'image à analyser.
X=1024;
Y=1280;
r=1; % Coefficient de réduction des images;
adresse='C:\Program Files\MATLAB\R2006b\work\PLIFglycerine25pc2cpimage\';

% Masque 1 : Choix de 5 zones masquées
M=masque (adresse, 'calibrationglycerine25pc2cp515000.tif', r);
figure, imshow(M);
saveas(gcf, 'masque.tif');
M=reshape(M, (1024/r)*(1280/r), 1) ;
a=find(M==0);
Em=size(a, 1);

%Création des champs moyens de calibration'

T(1:X/r, 1:Y/r)=0; % T contiendra les images moyennes pour chaque
concentration.
TT(1:Em, 1:nconc)=0;
R(1:X, 1:Y)=0; % R permettra de stocker temporairement les images de
référence.
RR(1:X/r, 1:Y/r, 1:nref)=0;
conc(1:nconc)=0;

for j=1:nconc
    RR(1:X/r, 1:Y/r, 1:nref)=0; % RR permettra d'additionner les niveaux de
gris des images de référence (R).
    if j==1
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp15000' int2str(i) '.tif'];
        conc(j)=1.5;
        concstr='_1_5';
    elseif j==2
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp35000' int2str(i) '.tif'];
        conc(j)=3.5;
        concstr='_3_5';
    elseif j==3
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp55000' int2str(i) '.tif'];
        conc(j)=5.5;
        concstr='_5_5';
    elseif j==4
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp75000' int2str(i) '.tif'];
        conc(j)=7.5;
```

```
        concstr='_7_5';
    elseif j==5
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp95000' int2str(i) '.tif'];
        conc(j)=9.5;
        concstr='_9_5';
    elseif j==6
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp115000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=11.5;
        concstr='_11_5';
    elseif j==7
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp135000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=13.5;
        concstr='_13_5';
    elseif j==8
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp155000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=15.5;
        concstr='_15_5';
    elseif j==9
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp175000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=17.5;
        concstr='_17_5';
    elseif j==10
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp195000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=19.5;
        concstr='_19_5';
    elseif j==11
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp215000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=21.5;
        concstr='_21_5';
    elseif j==12
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp235000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=23.5;
        concstr='_23_5';
    elseif j==13
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp255000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=25.5;
        concstr='_25_5';
    elseif j==14
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp275000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=27.5;
        concstr='_27_5';
    elseif j==15
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp295000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=29.5;
        concstr='_29_5';
    elseif j==16
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp315000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=31.5;
        concstr='_31_5';
    elseif j==17
```

---

```

        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp335000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=33.5;
        concstr='_33_5';
    elseif j==18
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp355000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=35.5;
        concstr='_35_5';
    elseif j==19
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp375000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=37.5;
        concstr='_37_5';
    elseif j==20
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp395000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=39.5;
        concstr='_39_5';
    elseif j==21
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp415000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=41.5;
        concstr='_41_5';
    elseif j==22
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp435000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=43.5;
        concstr='_43_5';
    elseif j==23
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp455000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=45.5;
        concstr='_45_5';
    elseif j==24
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp475000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=47.5;
        concstr='_47_5';
    elseif j==25
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp495000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=49.5;
        concstr='_49_5';
    elseif j==26
        fichier=['calibrationglycerine25pc2cp515000' int2str(i)
'.tif'];
        conc(j)=51.5;
        concstr='_51_5';
    end

    for i=1:nref
        file=[adresse fichier];
        R=imread(file);
        R=double(R); % pour convertir en matlab
        red = @(x) mean(mean(x)); % apparemment commande qui sert pour la
réduction
        if r>1, R=blkproc(R,[r r],red); end % pour augmenter la taille
d'un pixel
        RR(:, :, i)=R;
        clear R

```

---

```

        end
        T=sum(RR,3)/nref;
        T=reshape(T,(1280:r)*(1024/r),1);
        TT(:,j)=T(a);
%       TTT=uint16(T(:, :, j)); % uint16(S) converts T to a matrix of unsigned
16-bit integers
%       file=[adresse 'ref' num2str(concstr) '.tif'];
%       imwrite(TTT,file); % Les images moyennes sont stockées.
        clear RR TTT T;
end

% Calibration

P(1:Em,1:2)=0;
MO=mean(mean(TT));
SD=std(std(TT,1),1);

TT=(TT-MO)./SD; % La normalisation des niveaux de gris est nécessaire au
bon fonctionnement de polyfit.
concbis=repmat(conc,Em,1);
% P(1:Em, :)=calibration(TT(1:Em, :),nconc,conc,a); % A VERIFIER QUE CA
MARCHE

for k=1:Em
P(k, :)=polyfit(TT(k, :),concbis(k, :),1);
end

save P P

La matrice P (size(a,1) x 2) contient donc les coefficients A [P(:,1)] et B
[P(:,2)]
des droites de calibration pour chaque pixel, tel que :
Concentration = A * niveau de gris + B

load P

s=125;
t=50;
u=2;
if u==1, uu='eh'; end
if u==2, uu='eb'; end
v=1;
name=['TT' num2str(s) 'glycerine25pc2cp' num2str(t) uu num2str(v)]

% Calcul de l'écart type

CC(1:Em)=0;
VAR(nimage)=0;

for j=1:nimage
    if j<10
        fichier=[name '000' num2str(j) '.tif'];
    elseif j<100
        fichier=[name '00' num2str(j) '.tif'];
    else
        fichier=[name '0' num2str(j) '.tif'];
    end
    file=[adresse fichier];
    C=imread(file);

```

```

C=double(C);

if r>1, C=blkproc(C,[r r],red); end
C=reshape(C,(1280/r)*(1024/r),1);
CC=C(a);
CC(:)=P(:,1).*((CC(:)-MO)./SD)+P(:,2);
VAR(j)=var(CC,1);
ECART(j)=sqrt(VAR(j));
clear C CC;
end

% % Graphique
%
figure;
x(1:nimage)=(1*0.25:0.25:nimage*0.25);
plot(x,VAR);
title(['Variance - Nombre d''image = ' num2str(nimage)]);
xlabel('Temps [s]');
ylabel('Variance');
saveas(gcf,['var_' name '.tif']);

figure;
x(1:nimage)=(1*0.25:0.25:nimage*0.25);
plot(x,ECART);
title(['Ecart type - Nombre d''image = ' num2str(nimage)]);
xlabel('Temps [s]');
ylabel('Ecart type [µg/l]');
saveas(gcf,['ecart_' name '.tif']);

```

## Annexe 7 : Routine Matlab : Modèle de mélange compartimenté

```

% La routine qui appelle la fonction
clear all
C0=[41;7.5;7.5 ;7.5 ;7.5 ;7.5 ;7.5 ;7.5 ;7.5]
t0=0
tf=75
[t,c]=ode23('cuves_eq',[t0:1:tf],C0);

for x=1:9

    if x==1 || x==4 || x==7
        subplot(3,3,x+1);
    elseif x==2 || x==5 || x==8
        subplot(3,3,x-1);
    else
        subplot(3,3,x);
    end
    plot(t,c(:,x),'k');

    xlabel('Temps [s]');
    ylabel('Concentration [µg/l]');
    title(['Compartiment ' num2str(x)]);
end

% la fonction:

function dCB=cuves_eq(t,C)

```

```

global Y
CT1=C(1);
CT2=C(2);
CT3=C(3);
CM1=C(4);
CM2=C(5);
CM3=C(6);
CB1=C(7);
CB2=C(8);
CB3=C(9);

X=[0.1307 ;0.1256 ;2.9237 ;1.3214 ;0.5603 ;0 ;2.0914 ;0 ;0.5693 ;3.221 ;1
.1206 ;0 ;5.3034 ;0.15 ;0.23 ;0.09];

% volume des cuves
% contrainte= somme des volumes = volume total

H=0.128; % hauteur calotte sphérique
R=0.1548; % rayon de courbure de la calotte sphérique
d=0.305; % diamètre de la cuve
Vcalotte=pi/3*H^2*(3*R-H);

Vtot=20e-3; % volume total de liquide
hliq_cyl=(Vtot-Vcalotte)*4/(pi*d^2);

d_centr=0.125; % diamètre zone centrale
h_top=hliq_cyl/2; % hauteur zone haute
h_med=hliq_cyl-h_top; % hauteur zone milieu

h_bot_cyl=(R^2-(d_centr/2)^2)^(1/2)-(R-H);
h_bot_cal=H-h_bot_cyl;

VT1=pi*d_centr^2/4*h_top;
VT2=(pi*d^2/4*h_top-VT1)/2;
VT3=VT2;

VM1=pi*d_centr^2/4*h_med;
VM2=(pi*d^2/4*h_med-VM1)/2;
VM3=VM2;

VB1=pi*d_centr^2/4*h_bot_cyl+pi/3*h_bot_cal^2*(3*R-h_bot_cal);
VB2=(Vcalotte-VB1)/2;
VB3=VB2;

debTR=X(15)/3600; %débit dû à la
rotation zone haute %
debMR=X(16)/3600; %
zone milieu %
debBR=X(17)/3600; %
zone basse

debPTdown= (X(1)+X(4)+X(7)-X(3))/3600;
%débit axial périphérique descendant zone haute %
debPTup= X(1)/3600; %
montant

debPBdown=X(4)/3600; %débit axial
périphérique descendant zone basse

```

---

```

debPBup=X(3)/3600; %
montant

debTin=X(5)/3600; %débit radial entrant
zone haute
debTout=(X(5)-X(1)+X(1)+X(4)+X(7)-X(3))/3600; %
sortant

debBout=X(10)/3600; % sortant
debBin=(X(10)+X(4)-X(3))/3600; %débit radial entrant
zone basse

debCTdown=(2*X(5)-2*(X(5)-X(1)+X(1)+X(4)+X(7)-X(3)))/3600;
%débit axial central descendant zone haute
debCTup= 0 ; %
montant

debCBdown=(2*X(10)-2*(X(10)+X(4)-X(3)))/3600; %débit
axial central descendant zone basse
debCBup= 0 ; %
montant

debMin=((2*X(10)-2*(X(10)+X(4)-X(3)))-(2*X(5)-2*(X(5)-
X(1)+X(1)+X(4)+X(7)-X(3))))/2)/3600; %débit radial
entrant zone milieu
debMout=0 ; % sortant

dCT1=1/VT1*( debTin *( CT2+CT3) -2*debTout*CT1 ...
-debCTdown* CT1 + debCTup*CM1);

dCT2=1/VT2*(-debTin * CT2 + debTout*CT1 ...
+debTR *( CT3-CT2) ...
-debPTdown* CT2 + debPTup*CM2);

dCT3=1/VT3*(-debTin * CT3 + debTout*CT1 ...
+debTR *(-CT3+CT2) ...
-debPTdown* CT3 + debPTup*CM3);

dCM1=1/VM1*( debMin *( CM2+CM3) -2*debMout*CM1 ...
+debCTdown* CT1 - debCTup*CM1 ...
-debCBdown* CM1 + debCBup*CB1);

dCM2=1/VM2*(-debMin * CM2 + debMout*CM1 ...
+debMR *( CM3-CM2) ...
+debPTdown* CT2 - debPTup*CM2 ...
-debPBdown* CM2 + debPBup*CB2);

dCM3=1/VM3*(-debMin * CM3 + debMout*CM1 ...
+debMR *(-CM3+CM2) ...
+debPTdown* CT3 - debPTup*CM3 ...
-debPBdown* CM3 + debPBup*CB3);

dCB1=1/VB1*( debBin *( CB2+CB3) -2*debBout*CB1 ...

```

---



---

$$\begin{aligned} & +\text{debCBdown}^* \text{ CM1} & - & \text{debCBup}^*\text{CB1} ; \\ \text{dCB2} & = 1/\text{VB2}^* (-\text{debBin}^* \text{ CB2} & + & \text{debBout}^*\text{CB1} \dots \\ & +\text{debBR}^* (\text{CB3}-\text{CB2}) & & \dots \\ & +\text{debPBdown}^* \text{ CM2} & - & \text{debPBup}^*\text{CB2} ; \\ \text{dCB3} & = 1/\text{VB3}^* (-\text{debBin}^* \text{ CB3} & + & \text{debBout}^*\text{CB1} \dots \\ & +\text{debBR}^* (-\text{CB3}+\text{CB2}) & & \dots \\ & +\text{debPBdown}^* \text{ CM3} & - & \text{debPBup}^*\text{CB3} ; \\ \text{dCB} & = [\text{dCT1}; \text{dCT2}; \text{dCT3}; \text{dCM1}; \text{dCM2}; \text{dCM3}; \text{dCB1}; \text{dCB2}; \text{dCB3}] ; \end{aligned}$$