

# Mélanger efficacement sans nuire : dynamique des fluides et répartition du taux de dissipation dans les bioréacteurs AppliFlex

Gallego-Murillo, J.<sup>1,2</sup>, Cohen, J.<sup>1</sup>, Bernal, C.<sup>3</sup>, van Arragon, T.<sup>3</sup>, von Lindern, M.<sup>2</sup>, Picioreanu, C.<sup>2</sup>, Wahl, A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Université technologique de Delft, Département de Biotechnologie, Van der Maasweg 9, 2629 HZ Delft, Pays-Bas;

<sup>2</sup>St. Sanquin Bloedvoorziening, Plesmanlaan 125, 1066 CX Amsterdam, Pays-Bas; <sup>3</sup>Getinge Applikon, Heertjeslaan 2, 2629 JG, Delft, Pays-Bas

## RÉSUMÉ

Il est connu que des taux de cisaillement élevés et de forts niveaux de turbulence ont une influence sur la viabilité des cellules mammifères, conduisant souvent à des rendements plus faibles dans les cultures en bioréacteur [1].

La vitesse de pointe des pales et une puissance constante par volume (P/V) sont des paramètres souvent utilisés pour augmenter ou réduire l'échelle des cultures en bioréacteur sensibles au cisaillement [2]. La vitesse de pointe des pales ( $m.s^{-1}$ ) est couramment utilisée pour quantifier les forces de cisaillement maximales dans les bioréacteurs à cuve agitée. Cependant, cela ne permet pas de prendre en compte les conditions de mélange dans le réacteur. De plus, cela ne tient pas compte du temps de résidence des cellules dans lequel elles seront exposées à ce cisaillement local élevé. En revanche, la puissance volumétrique ( $W.m^{-3}$ ) ne reflète que l'énergie moyenne totale dissipée à l'intérieur du réacteur, mais pas la distribution locale.

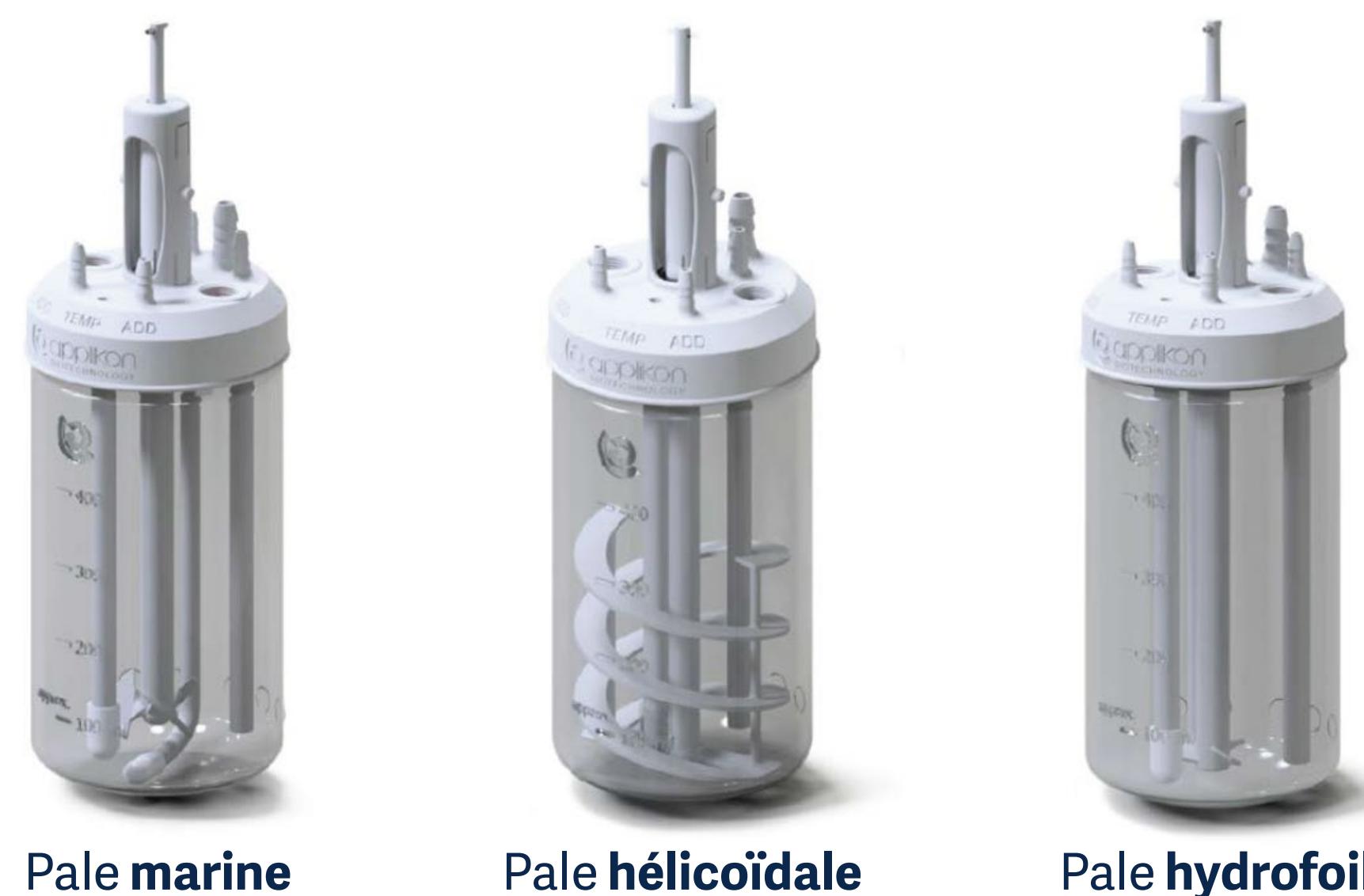
Le taux de dissipation d'énergie turbulente (EDR ;  $W.m^{-3}$ ) local offre plusieurs avantages par rapport au P/V et à la vitesse périphérique : (i) il dépend uniquement des propriétés du fluide et de l'écoulement, (ii) il tient compte à la fois de l'écoulement de cisaillement et de l'écoulement d'extension dans un bioréacteur, et (iii) il fournit des informations locales qui peuvent aider à déterminer la distribution spatiale de la turbulence dans le réacteur [3].

Dans ce travail, l'EDR a été utilisé pour évaluer quantitativement trois modèles de pales disponibles pour les bioréacteurs AppliFlex ST (Getinge Applikon, Pays-Bas). Une approche de dynamique des fluides computationnelle (CFD) a été suivie pour déterminer les schémas de circulation dans ces bioréacteurs et pour calculer l'EDR total et local. Les résultats montrent que la pale hélicoïdale présente un EDR maximal local (EDRmax) inférieur à celui des pales marine et hydrofoil pour un même rapport P/V global. Cela suggère que cette pale est plus adaptée à la culture de lignées cellulaires mammifères sensibles au cisaillement.

.....

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

- 1 Les géométries des pales marine, hydrofoil et hélicoïdale disponibles dans les bioréacteurs AppliFlex ST (Getinge Applikon, Pays-Bas) ont été utilisées, avec un volume de travail liquide de 400 mL (Figure 1).
- 2 Aucune phase gazeuse dispersée n'a été prise en compte, car il a été supposé que l'aération se faisait uniquement en surface et non par le sparger. Cette stratégie est appropriée pour les cultures à faible concentration cellulaire ou les cultures de lignées cellulaires à faible besoin en oxygène.
- 3 COMSOL 5.4 a été utilisé pour toutes les simulations CFD, en utilisant une approche de domaine rotatif et un modèle turbulent k- $\epsilon$  réalisable pour la phase liquide.
- 4 L'indépendance du maillage a été évaluée pour la contrainte de cisaillement et la puissance totale absorbée en faisant varier la taille maximale des éléments du maillage de 0,1 à 1,0 cm.
- 5 Les propriétés rhéologiques de l'eau ont été choisies à 37 °C afin de refléter la température à laquelle les cultures de cellules mammifères sont réalisées.
- 6 Le post-traitement des résultats CFD a été effectué dans MATLAB afin d'interpoler les taux de cisaillement, les vitesses des liquides et la composante turbulente de l'EDR<sub>extur</sub> sur une grille de 0,1 mm  $\times$  0,1 mm  $\times$  0,1 mm. L'EDR total local<sub>(c)</sub> a été calculé pour chaque élément (Figure 2).
- 7 La puissance totale absorbée a été calculée à l'aide du couple de l'hélice et validée en intégrant l'EDR local sur le volume complet du réacteur.



Pale marine      Pale hélicoïdale      Pale hydrofoil

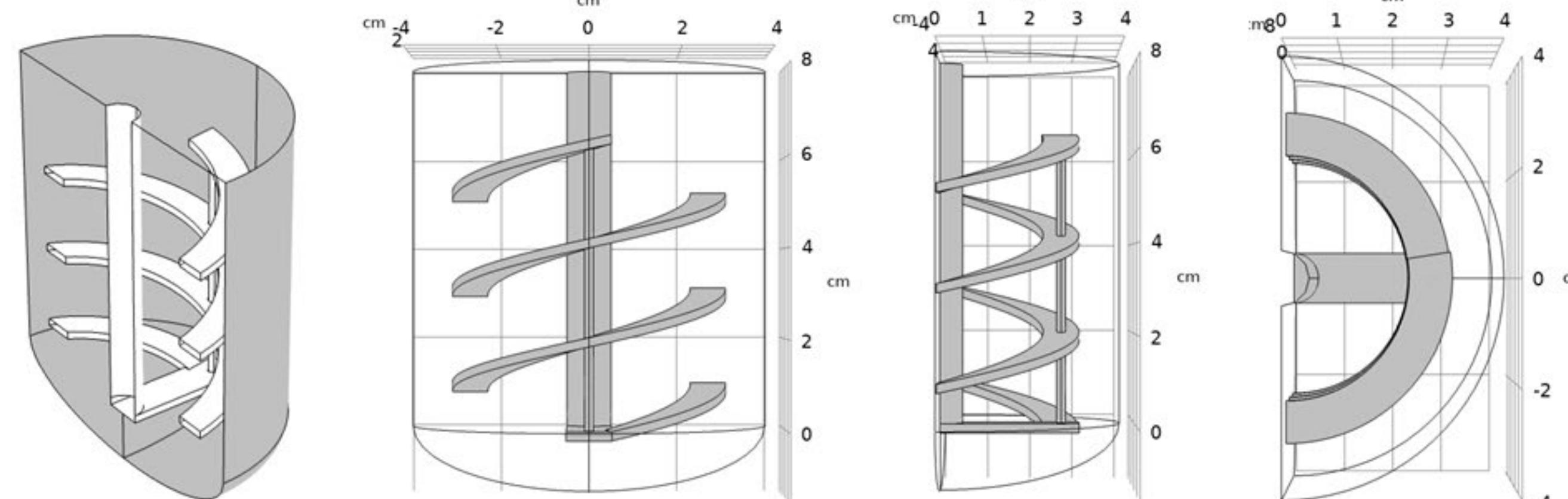


Figure 1 | (En haut) Bioréacteurs AppliFlex imprimés en 3D avec les trois types de pales étudiés. (En bas) Exemple de géométrie mise en œuvre dans COMSOL pour la simulation CFD. Dans le cas d'une pale hélicoïdale, une symétrie de demi-rotation a été utilisée, tandis qu'une symétrie de rotation d'un tiers a été utilisée pour les pales marine et hydrofoil.

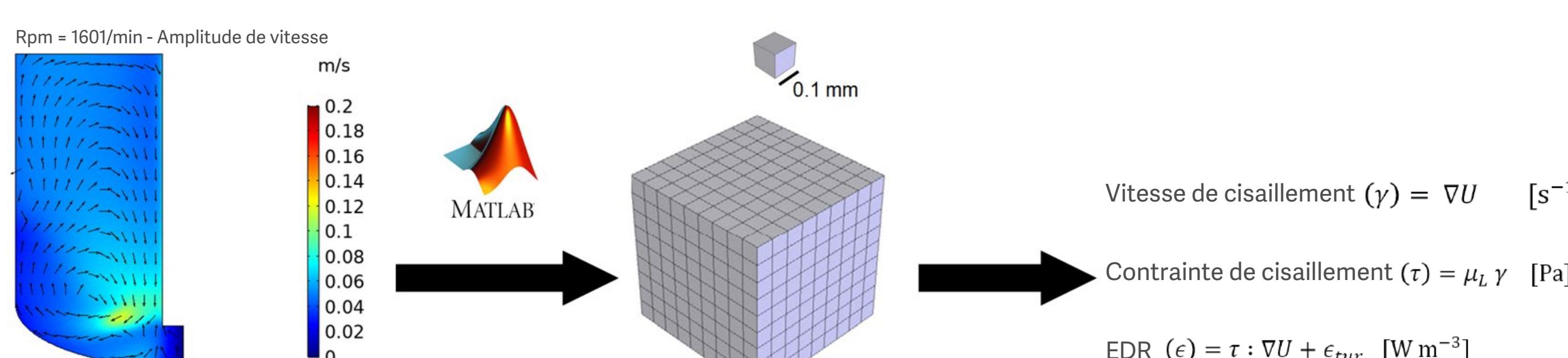


Figure 2 | Approche pour le calcul de l'EDR local. Les résultats des simulations CFD sont interpolés à l'aide de MATLAB sur une grille 3D d'éléments de 0,1  $\times$  0,1  $\times$  0,1 mm, puis utilisés pour calculer le cisaillement local et l'EDR.

## Références

- [1] Chisti, Y. *Process Biochem.* 28, 511–517 (1993).
- [2] Varley, J. & Birch, J. *Cytotechnology* 29, 177–205 (1999).
- [3] Chalmers, J. J. *Curr. Opin. Chem. Eng.* 10, 94–102 (2015).

Getinge France, société par actions simplifiée au capital de 8.793.677,00 euros, dont le siège social est situé à MASSY (91300) Carnot Plaza, 14/16 Avenue Carnot - immatriculée sous le numéro 562 096 297 RCS EVRY - 02 38 25 88 88 - operation-ventes.projet.fr@getinge.com

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

La géométrie des pales influence les conditions hydrodynamiques dans le réacteur, ce qui aurait un effet sur la distribution de l'EDR. Pour évaluer cela, nous avons calculé des histogrammes de la distribution de l'EDR pour les trois pales en utilisant la même vitesse en bout de pale (figure 3).

Ces résultats suggèrent que les pales hydrofoil et marine ont un taux de dissipation d'énergie turbulente moins homogène que la pale hélicoïdale, avec quelques éléments de volume contribuant autant à l'EDR moyen qu'un grand nombre d'éléments de volume à faible EDR.

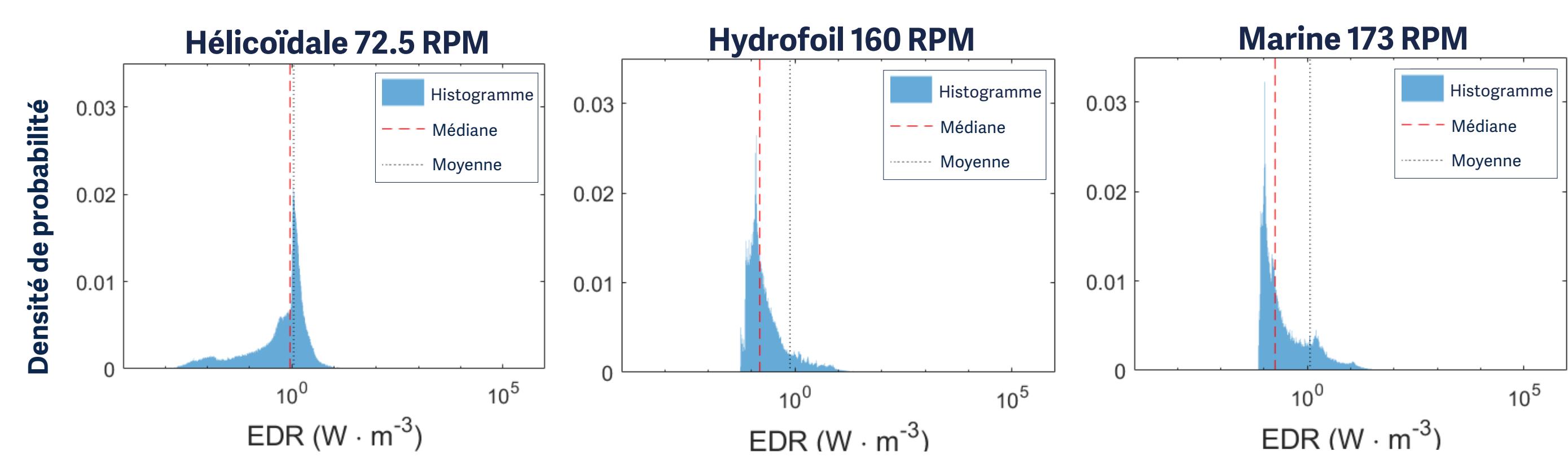


Figure 3 | Pour une même vitesse en bout de pale (23 cm.s<sup>-1</sup>), la pale hélicoïdale (à gauche) présente une distribution EDR asymétrique positive, tandis que les pales hydrofoil (au milieu) et marine (à droite) présentent une distribution asymétrique négative.

## EFFET DE LA VITESSE D'EXTRÉMITÉ SUR L'EDR LOCAL

Afin d'évaluer l'effet de la vitesse d'extrémité sur l'EDR (moyenne et maximale), plusieurs simulations CFD ont été réalisées pour les trois géométries de pale (Figure 4). Les résultats montrent que, pour toutes les vitesses d'extrémité, la pale hélicoïdale présente des valeurs de taux de dissipation d'énergie maximal local (EDRmax) inférieures à celles des deux autres géométries.

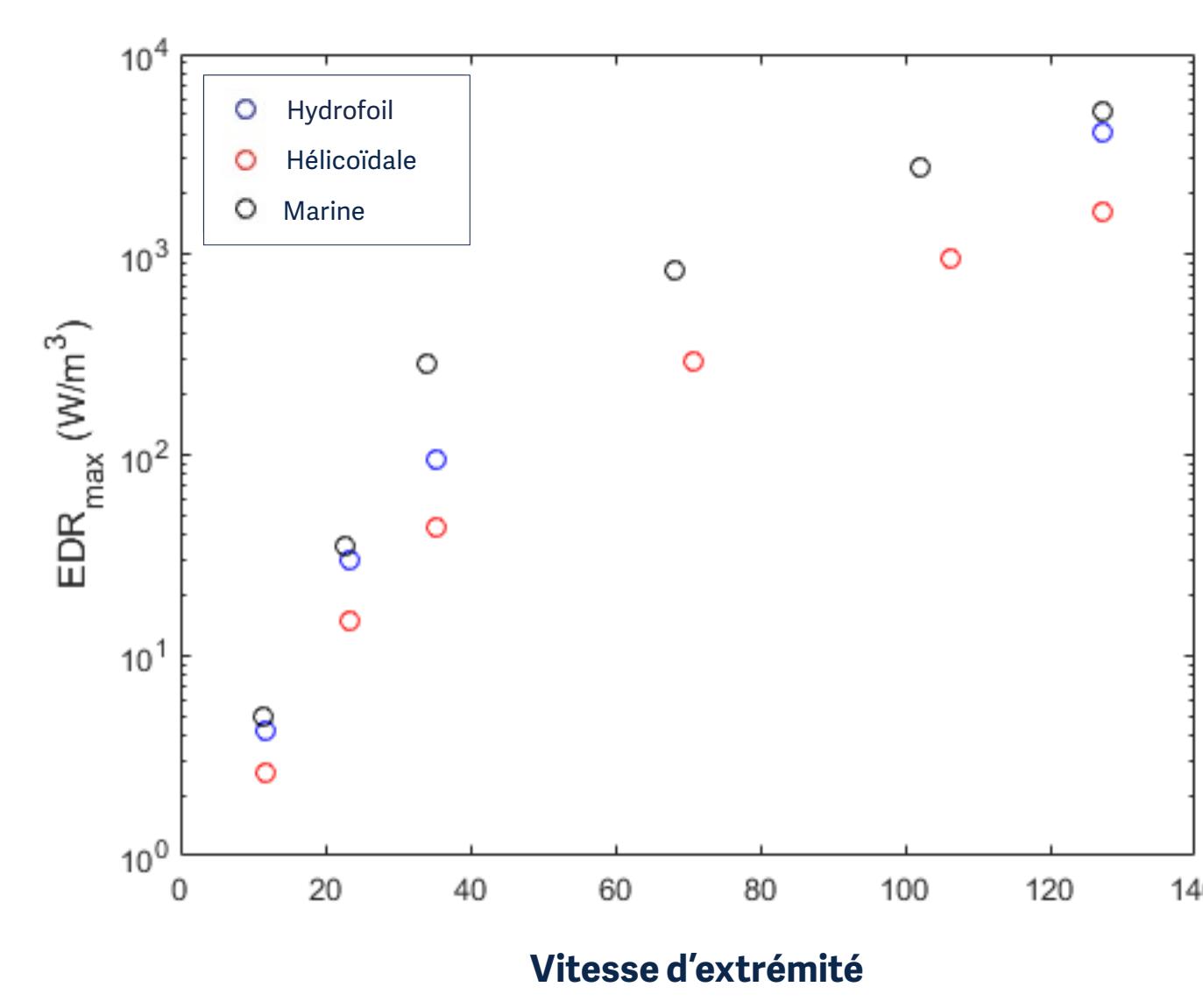


Figure 4 | La corrélation entre la vitesse d'extrémité et l'EDRmax est spécifique à chaque pale. Les pales hydrofoil et marine se comportent de manière similaire, tandis que la pale hélicoïdale présente un taux de dissipation d'énergie maximal local plus faible pour toute la gamme de vitesses d'extrémité étudiée.

## CORRÉLATION ENTRE L'EDR LOCAL MAXIMAL ET L'ÉNERGIE TOTALE DISSIPÉE DANS LE RÉACTEUR

Un EDRmax plus faible pourrait protéger les cellules cultivées d'une turbulence excessive. Une façon d'y parvenir consiste à réduire la vitesse en bout de pale. Cependant, cela entraînerait également un mauvais mélange dans le réacteur. La puissance totale par volume est un indicateur courant de la qualité du mélange dans une cuve agitée. La figure 5 montre que pour un EDR moyen identique (analogique au P/V total), la pale hélicoïdale présente un EDRmax plus faible. Cela suggère que pour un niveau de mélange identique, la pale hélicoïdale entraîne une réduction des zones locales de forte turbulence.

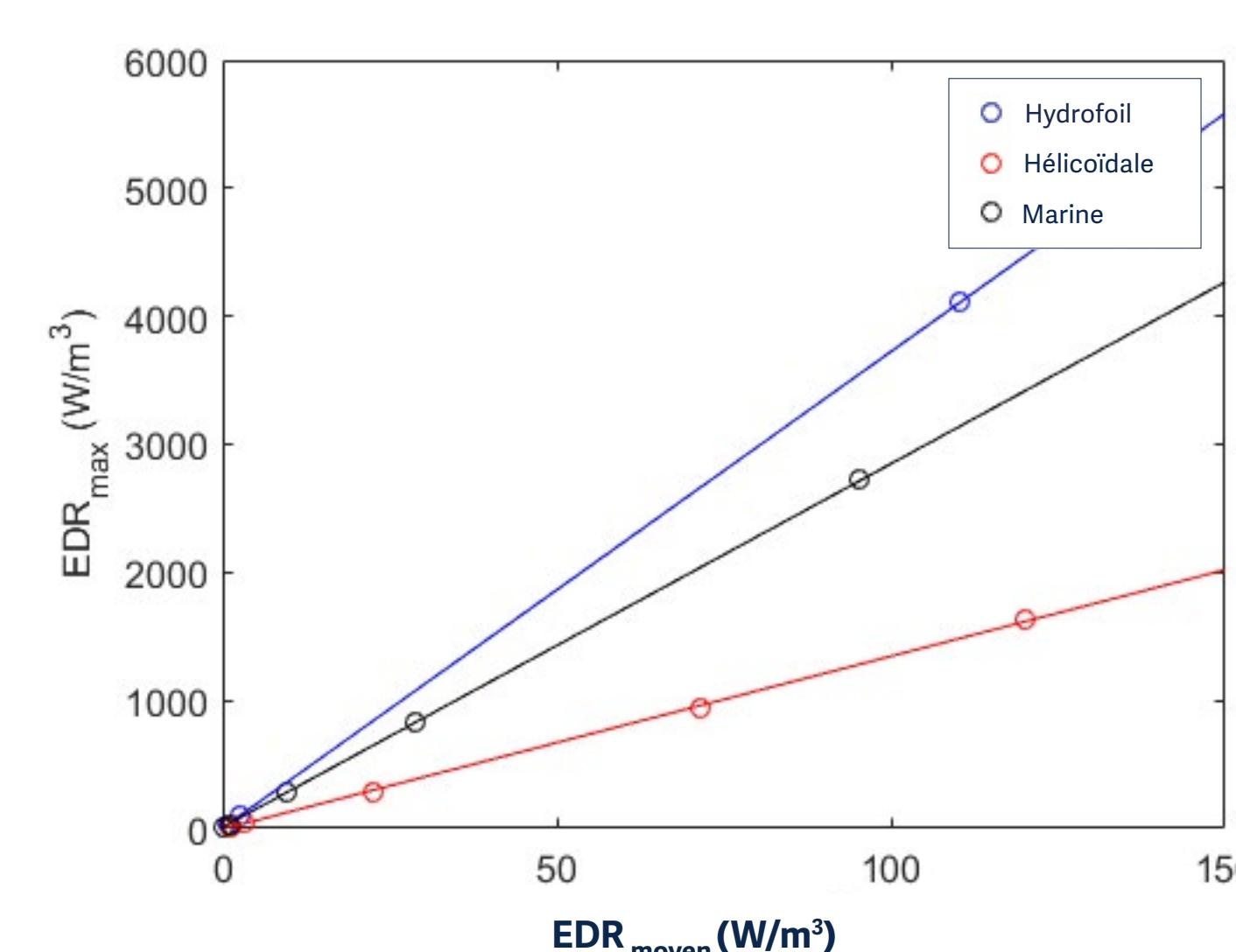


Figure 5 | La corrélation entre le rapport P/V total (EDRmoyen) et l'EDRmax est également spécifique à la pale. Avec la même puissance de mélange, des EDR maximaux locaux plus faibles seront obtenus en utilisant la pale hélicoïdale.

## CONCLUSION

- Les simulations CFD peuvent être utilisées pour étudier la distribution locale de l'énergie turbulente dissipée dans les réacteurs à cuve agitée.
- La pale hélicoïdale génère les valeurs EDRmax les plus faibles pour une même entrée P/V, par rapport aux pales marine et hydrofoil. Cela reste vrai si l'on compare les trois pales à vitesse d'extrémité identique.
- La géométrie de la pale hélicoïdale évaluée est une meilleure conception pour les processus sensibles au cisaillement, car elle présente la distribution EDR la plus homogène dans le bioréacteur.