

**CALORIMETRIE DE SYSTEMES
A FORTE DEMANDE D'OXYGENE**

THESE No 751 (1988)

PRESENTEE AU DEPARTEMENT DE CHIMIE

ECOLE POLYTECHNIQUE FEDERALE DE LAUSANNE

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES TECHNIQUES

PAR

JEAN-LUC MOSSIER

**Ingénieur chimiste diplômé EPF
originaire de Châtel-Saint-Denis (FR)**

acceptée sur proposition du jury:

**Prof. U. von Stockar, rapporteur
Prof. J.R. Bourne, corapporteur
Prof. A. Renken, corapporteur**

**Lausanne, EPFL
1988**



Ce travail de thèse a été réalisé à l'Institut de Génie Chimique de l'Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, d'avril 1984 à juillet 1988. Je tiens par ces quelques lignes à remercier les personnes qui m'ont aidé à mener à bien cette tâche.

Ma reconnaissance va tout d'abord à M. le Professeur Urs von Stockar pour la confiance et la liberté qu'il m'a accordées durant les quatre années passées à l'Institut de Génie Chimique.

Un merci particulier à l'atelier de l'IGC et à son service d'électronique pour les miracles qui leur sont coutumiers, et à mes collègues de la chaire II pour la bonne ambiance que chacun s'est efforcé de maintenir.

Ce travail, enfin, est dédié à mon coin du canton de Fribourg, où se trouvent mes racines et mes amis, et qui a été pour moi durant ce travail une source inépuisable d'amitiés et d'optimisme.

*Puisque tous ces mystères nous dépassent,
feignons d'en être les organisateurs.*

Jean Cocteau



Résumé.

La mise en oeuvre à l'échelle du laboratoire, dans le calorimètre à flux de chaleur BSC-81, de réactions limitées en oxygène a permis d'étudier le transfert instantané d'oxygène au cours de la réaction, par la puissance calorifique qui lui est associée.

Cette technique donne accès à la valeur du transfert instantané d'oxygène avec une précision de l'ordre de $5 \cdot 10^{-4}$ mol $m^{-3}s^{-1}$. Cette précision n'est en aucun cas atteinte par un bilan gazeux, sur la base de la composition du gaz de sortie du réacteur.

Associé au signal d'une sonde à oxygène, le transfert instantané d'oxygène permet de calculer un coefficient de transfert volumique $k_L a$ qui se rapporte, lui aussi, à un instant donné durant la réaction.

On a mis en évidence, à l'aide de cette méthode, les limitations de deux méthodes chimiques couramment utilisées pour la caractérisation de la capacité d'aération des réacteurs, l'oxydation du sulfite et l'oxydation du glucose en acide gluconique par la glucose-oxydase, ainsi que de cultures d'*Aspergillus niger*, champignon filamenteux, par ailleurs fort producteur de glucose-oxydase.

Dans le cas de l'oxydation du sulfite, des variations de la cinétique ont été observées au cours de la réaction, qui hypothèquent fortement l'utilisation de la méthode du sulfite pour la mesure de l'aire interfaciale.

Dans le cas de l'oxydation du glucose, catalysée par la glucose-oxydase, un effet d'accélération du transfert de matière de l'ordre de 1.1 à 1.6 a été observé, probablement dû à l'effet tensioactif de la protéine.

Une mesure physique du coefficient $k_L a$ est nécessaire comme valeur de référence. Un certain intérêt a donc été porté aux méthodes permettant la mesure du $k_L a$ à l'aide d'une sonde à oxygène. Une méthode de mesure originale a été développée, appelée "méthode de la pente". Dans les conditions de ce travail, cette méthode fournit une valeur précise, rapide et fiable du coefficient $k_L a$.

Un modèle a été formalisé, basé sur la cinétique des systèmes étudiés, la connaissance de paramètres du transfert et de leur évolution au cours de la réaction. Ce modèle permet une meilleure compréhension de l'effet des différents paramètres et de leur évolution sur l'avancement de la réaction.

Par ailleurs, un intérêt particulier a été porté au cours de ce travail sur le rendement de chaleur par rapport à la quantité d'oxygène consommée Y_{Q/O_2} , et sur le lien de ce rendement avec la stoechiométrie de la réaction d'oxydation.

TABLE DES MATIERES

	<u>Page</u>
Résumé	1
Table des matières	3
1. INTRODUCTION	9
1.1. Position du problème	9
1.2. Buts du travail	10
1.3. Structure	12
I. PARTIE THEORIQUE	
2. TRANSFERT DE MATIERE	15
2.1. Description du système	15
2.2. Solubilité	16
2.3. Théories fondamentales	19
2.3.1. Modèles hydrodynamiques	19
2.3.2. Aire interfaciale	21
2.3.3. Résultats empiriques	25
2.4. Transfert de matière avec réaction	26
2.5. Transfert de matière avec diffusion dans un solide	29
3. MESURE DU $k_L a$	31
3.1. Méthodes physiques (dynamiques)	31
3.1.1. Etage de premier ordre	31
3.1.2. Méthodes des moments	38
3.1.3. Méthode statique	50
3.1.4. Autres méthodes	55
3.2. Méthodes chimiques (pseudo-stationnaires)	57
3.2.1. Oxydation du sulfite	57
3.2.2. Oxydation enzymatique du glucose	63
3.3. Méthodes applicables en cours de réaction	68
3.3.1. Méthode dynamique	68
3.3.2. Bilans gazeux	71

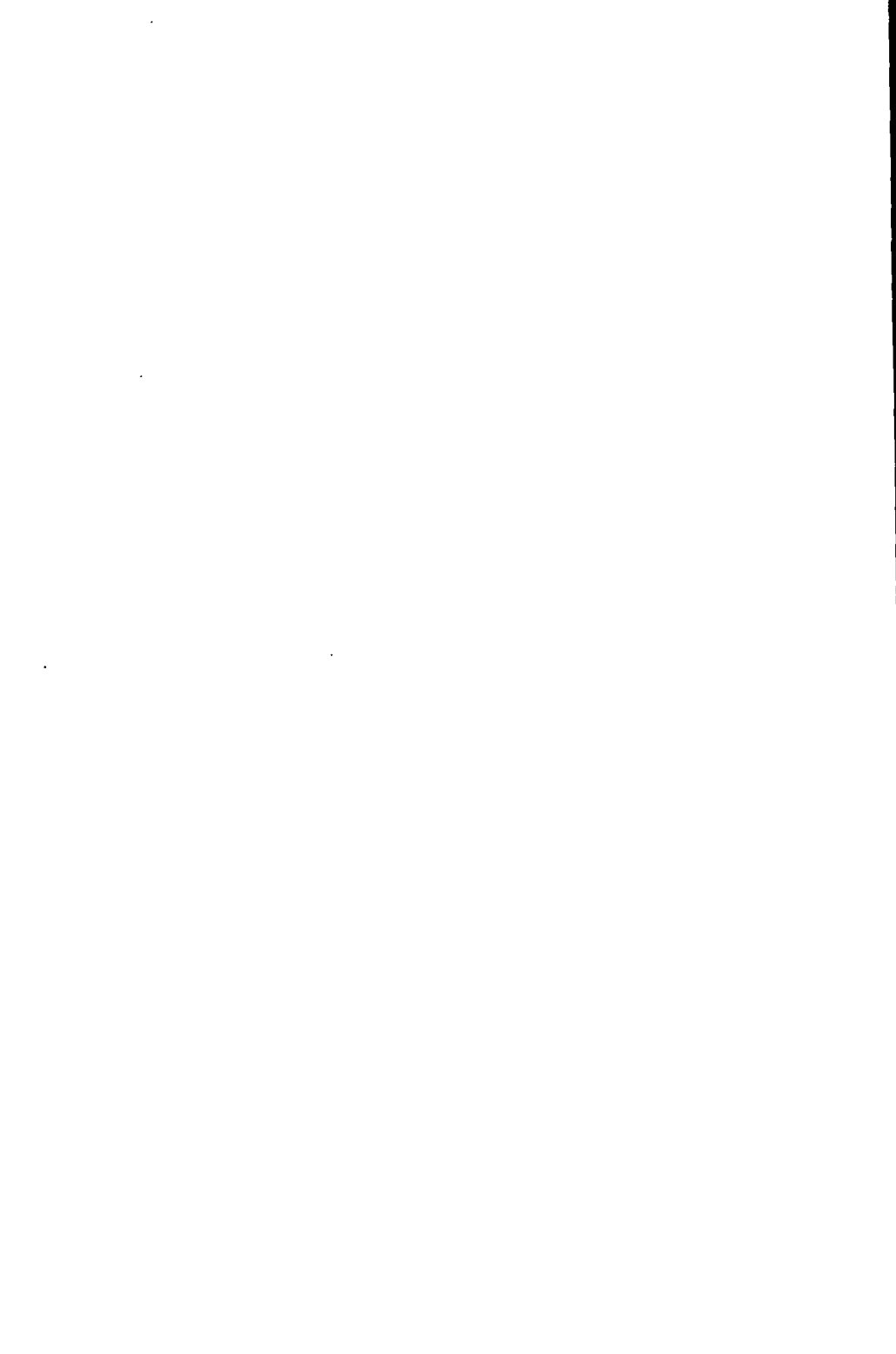
4. DEVELOPPEMENT D'UNE METHODE PHYSIQUE ALTERNATIVE : METHODE DE LA PENTE	77
4.1. Principes de base	77
4.1.1. Développement pour deux étages unitaires	77
4.1.2. Généralisation à n étages unitaires	81
4.1.3. Domaine de pente constante	84
4.2. Application à la mesure de $k_L a$	89
4.3. Influence de la dynamique de la phase gazeuse	91
4.3.1. Résolution matricielle	91
4.3.2. Exploitation de la méthode de la pente	96
5. DEVELOPPEMENT D'UN MODELE PSEUDO-STATIONNAIRE	103
5.1. Formulation du modèle	103
5.2. Application à l'oxydation enzymatique du glucose	109
5.2.1. Modèle instationnaire	109
5.2.2. Modèle pseudo-stationnaire	112
5.2.3. Représentation graphique	114
5.2.4. Simulations numériques	117
5.2.5. Accélération chimique du transfert	121
5.3. Application à l'oxydation du sulfite	127
5.3.1. Equilibre pseudo-stationnaire	127
5.3.2. Accélération chimique du transfert	129
5.4. Influence de la concentration en phase gazeuse sur le transfert	134
5.4.1. Composition de la phase gazeuse	134
5.4.2. Bilan pseudo-stationnaire en phase gazeuse	134
5.4.3. Modèle graphique	136
6. THERMOCHIMIE	143
6.1. Bilans de masse	143
6.2. Bilans énergétique	146
6.2.1. Chaleur de combustion	146
6.3.1. Chaleur de réaction de la réaction du sulfite	147
6.3. Application	151
6.3.1. Chaleur de réaction de la réaction du sulfite	151
6.3.2. Chaleur de réaction de l'oxydation du glucose	152

II PARTIE EXPERIMENTALE

7. LE BSC-81	155
7.1. Principe	155
7.1.1. Calorimétrie à flux de chaleur	155
7.1.2. Fonctionnement isotherme	156
7.1.3. Thermogrammes	159
7.1.4. Calibration	160
7.1.5. Evaluation des thermogrammes	162
7.1.6. Application aux réactions aérobies	163
7.2. Appareillage	165
7.2.1. Description technique	165
7.2.2. Modifications	167
7.2.3. Aération du calorimètre	172
8. METHODES EXPERIMENTALES	179
8.1. La sonde à oxygène	179
8.2. Mesure de la solubilité	185
8.2.1. Méthodes traditionnelles	185
8.2.2. Méthode enzymatique	185
8.2.3. Résultats	186
8.3. Cinétique enzymatique	188
8.3.1. Moniteur d'oxygène	188
8.3.2. Mise en oeuvre	189
8.3.3. Traitement des résultats	190
8.3.4. Résultats	191
8.4. Techniques Analytiques	194
8.4.1. Glucose	194
8.4.2. Acide gluconique	194
8.4.3. Biomasse	195
8.4.4. Dosage de la glucose-oxydase	195
8.4.5. Titrage du sulfite	196
8.4.6. Analyse de l'oxygène en phase gazeuse	196
8.5. La calorimétrie de combustion	197
8.5.1. Principe	197
8.5.2. Aspect thermodynamique	197
9. MESURE PHYSIQUE DE $k_L a$	199
9.1. Mesures dans le BSC-81	199
9.1.1. Comparaison de la méthode statique et de la méthode des moments	199
9.1.2. Comparaison de la méthode des moments et de la méthode de la pente	203

9.1.3.	$k_L a$ dans un milieu non-coalescent : Na ₂ SO ₄ 0.8 M	205
9.1.4.	Mesure du $k_L a$ dans différents milieux par la méthode de la pente	206
9.2.	Scale-up des méthodes de mesure	209
9.3.	Conclusions concernant la mesure de $k_L a$	212
10. OXYDATION DU SULFITE		215
10.1.	Mise en oeuvre	215
10.1.1.	Produits	
10.1.2.	Conditions opératoires	215
10.1.3.	Préparation de l'expérience	215
10.1.4.	Traitement des thermogrammes	216
10.1.5.	Analyse du gaz de sortie du réacteur	216
10.2.	Régime physique	217
10.2.1.	Choix de la concentration de catalyseur	217
10.2.2.	Description des thermogrammes	217
10.2.3.	Rendements de chaleur	220
10.2.4.	Calcul de OTR	222
10.2.5.	Evaluation du $k_L a$	223
10.2.6.	Comparaison avec les valeurs physiques	226
10.2.7.	Discussion des résultats : régime physique	228
10.3.	Régime accéléré	231
10.3.1.	Concentration de cobalt : 10 ⁻⁵ M	231
10.3.2.	Concentration de cobalt : 10 ⁻⁴ M	234
10.3.3.	Concentration de cobalt : 10 ⁻³ M	234
10.3.4.	Influence de la concentration en sulfite	236
10.3.5.	Rendement de chaleur en cours de réaction	238
10.3.6.	Discussion des résultats : régime accéléré	240
10.4.	Evaluation de la méthode du sulfite	242
11. OXYDATION ENZYMATIQUE DU GLUCOSE		245
11.1.	Mise en oeuvre	245
11.1.1.	Produits	
11.1.2.	Conditions opératoires	245
11.1.3.	Préparation de l'expérience	246
11.1.4.	Traitement des thermogrammes	246
11.1.5.	Effet de chaleur lié à l'adjonction de NaOH	247
11.2.	Essais à différentes concentrations d'enzyme	250
11.2.1.	Description des thermogrammes	250
11.2.2.	Rendements de chaleur	252
11.2.3.	Calcul de OTR	258
11.2.4.	Evaluation du $k_L a$	259

11.2.5.	Comparaison avec les valeurs physiques	260
11.3.	Expériences complémentaires	264
11.3.1.	Basses concentrations de glucose-oxydase	264
11.3.2.	Effet du pH	266
11.4.	Discussion des résultats	268
11.4.1.	Facteur d'accélération	268
11.4.2.	Evaluation de la méthode de la glucose-oxydase	270
12.	CULTURES D'<i>Aspergillus niger</i>	271
12.1	Mise en oeuvre de la souche	272
12.1.1.	Milieux de croissance	272
12.1.2.	Conditions opératoires	272
12.1.3.	Préparation de la culture	273
12.1.4.	Traitement des thermogrammes	274
12.1.5.	Essais préliminaires	274
12.2.	Calorimétrie de cultures limitées en azote	276
12.2.1.	Description des thermogrammes	276
12.2.2.	Rendements de produit	280
12.2.3.	Rendements de chaleur	286
12.2.4.	Bilan d'oxygène	288
12.3.	Calorimétrie d'une culture sans limitation d'azote	290
12.3.1.	Formation d'acide oxalique	290
12.3.2.	Bilan d'oxygène	292
12.4.	Conclusions concernant l'utilisation d'<i>A.niger</i>	292
13.	CONCLUSIONS	295
13.1.	Les systèmes consommateurs d'oxygène	295
13.1.1.	Oxydation du sulfite	295
13.1.2.	Oxydation enzymatique du glucose	296
13.1.3.	Cultures d' <i>A.niger</i>	296
13.2.	Modélisation théorique du phénomène	297
13.3.	Thermochimie des réactions d'oxydation	298
13.4.	Mesure physique du $k_L a$	298
13.5.	Perspectives	299
Bibliographie		301
Liste des symboles		307
Annexe A		315
Annexe B		317
Annexe C		319



1. Introduction.

1.1. Position du problème.

Le développement récent des biotechnologies a offert au génie chimique un champ d'application nouveau. Parmi les divers domaines exploités, le transfert de matière et de manière plus aigüe encore, le transfert d'oxygène, ont suscité un grand intérêt durant la dernière décennie.

En effet, nombre de systèmes biologiques sont de type aérobies, que ce soit de manière obligatoire ou facultative. Dans les deux cas, l'oxygène disponible est un facteur d'exploitation important, soit parce qu'il est vital pour le micro-organisme, soit parce qu'il peut modifier son métabolisme de manière radicale.

Dans le cadre de la mise en oeuvre d'un processus biologique dans un réacteur, la capacité d'aération du réacteur fait donc partie des paramètres de dimensionnement nécessaires à l'évaluation du procédé.

Un certain nombre de méthodes ont été développées dans la littérature pour estimer la capacité d'aération d'un réacteur. Parmi ces méthodes, des systèmes chimiques et biologiques tests ont été proposés. Ces systèmes sont généralement de forts consommateurs d'oxygène, dont l'activité est limitée par la capacité d'aération. Dans le cadre de ce travail seront notamment utilisées l'oxydation catalytique du sulfite, l'oxydation enzymatique du glucose par la glucose-oxydase et encore la croissance d'*Aspergillus niger*.

La détermination de la capacité de transfert à l'aide de ces diverses méthodes se base généralement sur l'estimation de la disparition d'un substrat ou l'apparition d'un produit et la connaissance d'une stoechiométrie de la réaction qui lie ce substrat ou ce produit à l'oxygène consommé. On peut donc qualifier cette mesure "d'intégrale", puisqu'elle estime l'état du système au cours du temps, donc la quantité totale d'oxygène transférée jusqu'à un temps donné.

Pourtant, le transfert d'oxygène est intrinsèquement une grandeur "différentielle". Toute valeur du transfert se rapporte à un instant donné et est susceptible d'évoluer rapidement au cours du temps. La connaissance du transfert instantané est donc une information de

plus haute valeur que le transfert intégral décrit plus haut. Ce dernier peut d'ailleurs aisément être obtenu par intégration du signal différentiel. Le passage inverse n'est pas possible, à moins d'avoir un grand nombre de points de mesure qui, de plus, doivent être particulièrement précis.

L'analyse du flux de gaz sortant du réacteur permet en principe, grâce à un bilan d'oxygène sur la phase gazeuse, une estimation instantanée du transfert d'oxygène. Néanmoins, en raison des taux d'aération généralement élevés des bioréacteurs, c'est-à-dire d'importants débits de gaz par unité de volume liquide, la détermination du transfert d'oxygène par ce moyen est sujette à des imprécisions importantes, en raison de la sensibilité insuffisante des analyseurs d'oxygène courants (balances paramagnétiques). De plus, la stabilité de ces analyseurs ne permet pas une mesure fiable sur une période de plusieurs jours sans devoir procéder à des calibrations périodiques de l'appareil.

Ce travail présente une alternative originale pour la mise en évidence du transfert instantané d'oxygène. La calorimétrie, et plus particulièrement la calorimétrie à flux de chaleur, telle qu'elle est mise en oeuvre dans le BSC-81 (Ciba-Geigy SA, Bâle CH), permet une estimation précise et instantanée de l'oxygène consommé par la réaction, étant donnée la stricte proportionnalité entre la chaleur dégagée et l'oxygène consommé. Par ailleurs, le rapport de proportionnalité, ou rendement de chaleur par oxygène consommé, est approximativement constant pour un grand nombre de systèmes consommateurs d'oxygène.

La calorimétrie permet donc une investigation nouvelle des phénomènes de transfert d'oxygène dans les réacteurs et une évaluation critique des systèmes tests choisis dans la littérature. De façon plus générale, elle permet une approche performante de la cinétique hétérogène des réactions gaz-liquide exothermiques.

1.2. Buts du travail.

L'application de la calorimétrie à flux de chaleur à l'étude de systèmes à forte consommation en oxygène s'articule autour de plusieurs centres d'intérêt.

Tout d'abord, un des pôles importants de ce travail est la relation entre la chaleur produite et la stoechiométrie de la réaction d'oxydation, notamment le lien entre l'oxygène consommé et la chaleur produite. Cette dernière relation dépend de la nature du consommateur d'oxygène et de sa thermochimie. Dans le cas d'une réaction chimique ou enzymatique, dont la stoechiométrie est connue, cette chaleur peut être estimée à priori, à partir des valeurs thermodynamiques tabulées. La cohérence de la méthode calorimétrique peut ainsi être expérimentalement vérifiée. Dans le cas de systèmes biologiques, dont la stoechiométrie est inconnue ou peut évoluer rapidement, la calorimétrie est alors un moyen direct pour l'évaluation du dégagement de chaleur, notamment lors de la consommation d'oxygène.

Il a été montré depuis longtemps que la combustion de composés organiques manifeste expérimentalement une proportionnalité approximative entre la consommation d'oxygène et le dégagement de chaleur, pour un grand nombre de composés. De manière plus générale, un grand nombre de systèmes consommateurs d'oxygène semblent suivre la même règle empirique, et notamment la croissance microbienne aérobie des organismes hétérotrophes. L'un des buts de ce travail est de montrer la cohérence du concept de la règle de proportionnalité et l'effet de ses déviations, dans les cas choisis de l'oxydation du sulfite et de l'oxydation enzymatique du glucose par la glucose-oxydase.

Dans une deuxième direction, ce travail va s'attacher à lier l'oxygène consommé aux paramètres caractéristiques du transfert d'oxygène. Dans ce but, un modèle mathématique sera développé, qui permet de comprendre l'effet de ces paramètres et de leur évolution sur l'oxygène consommé. Ce modèle se base sur les connaissances fondamentales concernant le transfert de matière et la cinétique des systèmes étudiés, dans le cadre de bilans de matière.

Cette connaissance théorique approfondie permettra, dans un troisième temps, l'interprétation des résultats expérimentaux obtenus par la calorimétrie, dans le cadre de la mise en oeuvre des systèmes tests choisis. A partir de la consommation d'oxygène, mise en évidence de manière instantanée par la calorimétrie, le $k_L a$, coefficient volumique de transfert d'oxygène, caractéristique de la capacité d'aération, peut être estimé à chaque instant. Cette analyse particulièrement fine permet la mise en évidence d'effets

particuliers à un système ou limités dans le temps, qui conduisent à une évaluation nouvelle des divers systèmes tests.

La mise en évidence d'effets spécifiques sur la capacité de transfert, liés à la nature du consommateur, nécessitent une mesure indépendante et fiable du coefficient $k_L a$, qui soit en quelque sorte une mesure de référence. L'intérêt pour les mesures physiques de $k_L a$, à l'aide de sondes pO_2 , constitue par conséquent le quatrième pôle d'intérêt de ce travail.

Dans ce contexte, un certain nombre de mesures traditionnelles seront passées en revue et testées à but comparatif, pour conduire finalement au développement d'une méthode originale, appelée "méthode de la pente". Cette méthode permet, dans les conditions de ce travail, une mesure précise et rapide du coefficient $k_L a$. Elle fait l'objet d'un développement théorique et d'un certain nombre de tests qui montrent ses avantages par rapport aux méthodes traditionnelles.

L'étude des réactions d'oxydation gaz-liquide, réalisée dans ce travail, amène une meilleure compréhension du phénomène d'aération, de la nature des paramètres le caractérisant, ainsi que des méthodes permettant de déterminer ces paramètres, en s'appuyant sur les quatre directions mentionnées ci-dessus :

- Thermochimie
- Bilans d'oxygène
- Mise en évidence des particularités grâce à la calorimétrie
- Référence aux mesures physiques de $k_L a$

1.3. Structure.

La structure adoptée pour la présentation de ces quatre pôles est quelque peu différente de la structure logique dans laquelle ils s'inscrivent, telle qu'elle est décrite au chapitre précédent. Cette structure est schématisée sur la figure 1.1, montrant les interactions des différents chapitres. Les chapitres dans un cadre gras constituent les applications nouvelles de ce travail, et les chiffres renvoient aux chapitres correspondant.

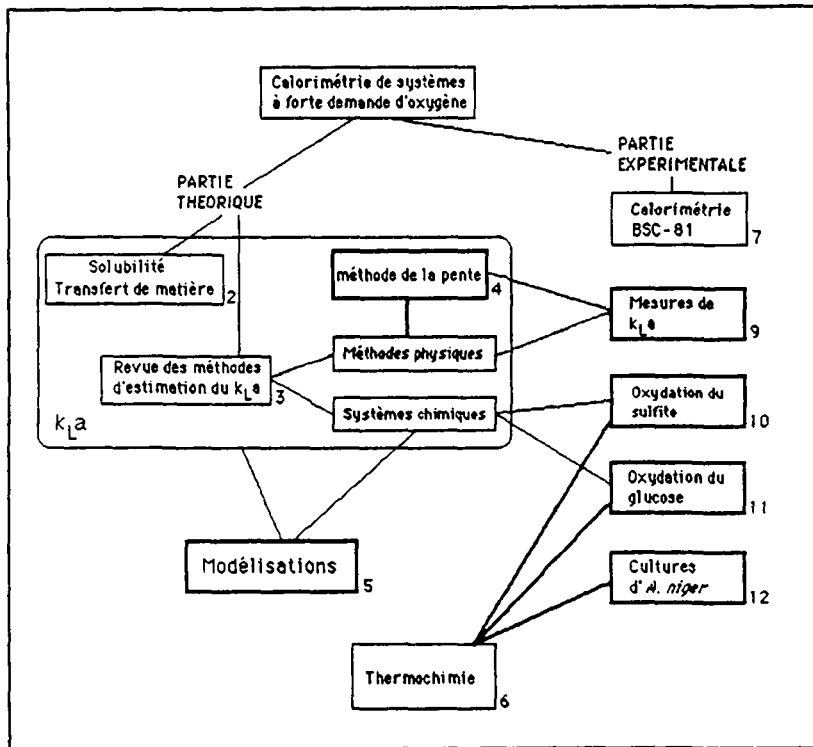


figure 1.1 : Structure du travail

Les théories de transfert de matière, fondements de ce travail, seront brièvement passées en revue. Les méthodes de mesure de $k_L a$ seront ensuite décrites, permettant la description d'une part des méthodes physiques de mesure de $k_L a$ et, d'autre part, la description des consommateurs d'oxygène utilisés dans la suite du travail. Le développement de la "méthode de la pente" s'inscrit naturellement dans cette partie du travail, en tant que méthode physique alternative.

Sur la base des concepts de transfert de matière et connaissant la cinétique de chaque consommateur, il est alors possible de développer le modèle mathématique décrit au chapitre 5, lequel réalise l'objectif "bilan d'oxygène".

Le chapitre 6 est ensuite consacré au premier objectif logique : la thermochimie. La formalisation des stoechiométries d'oxydation et des chaleurs s'y rapportant y est traitée, ainsi que leur application aux systèmes tests étudiés.

La formalisation théorique des notions de chaleur des réactions d'oxydation amène naturellement au développement de la calorimétrie en tant que méthode expérimentale et à son application aux systèmes tests dans le cadre des résultats expérimentaux.

On retrouvera, dans le traitement de ces résultats et leur analyse, une démarche qui s'oriente selon les quatre axes principaux développés au cours de cette introduction.

2. Transfert de matière.

2.1. Description du système.

De manière générale, on appellera dans le cadre de ce travail "consommateur" une réaction chimique, enzymatique ou biologique consommant l'oxygène dissous dans la phase liquide d'un réacteur. Ce consommateur utilise l'oxygène dissous à une vitesse qui dépend de sa propre nature, de son importance, de l'environnement et de la quantité d'oxygène disponible. L'ensemble de ces conditions définit une cinétique d'utilisation de l'oxygène qui est propre à chaque consommateur.

La solubilité de l'oxygène constitue une réserve pour le consommateur. Cependant, la solubilité de l'oxygène étant extrêmement restreinte, cette réserve doit constamment être renouvelée, faute de quoi le consommateur va très rapidement l'épuiser.

Le contact de la phase liquide avec une phase gazeuse contenant de l'oxygène (généralement de l'air), permet un transfert d'oxygène, tendant à reconstituer la réserve d'oxygène dissous. Un débit de gaz renouvelle en permanence la phase gazeuse afin d'éviter son appauvrissement et une agitation efficace permet une surface de contact accrue, donc un transfert optimal entre les deux phases.

De plus, de par sa nature même, le consommateur peut influencer le transfert, d'une part par sa cinétique, mais encore par des facteurs géométriques, par exemple sa localisation en un endroit préférentiel à l'intérieur du volume réactionnel.

La description du contexte théorique impose donc la connaissance dans un premier temps des paramètres modifiant la solubilité de l'oxygène, puis deuxièmement des mécanismes de transfert. Finalement, la prise en compte de la nature du consommateur, du point de vue de sa cinétique et de ses particularités, doit permettre une approche théorique globale du système.

2.2. Solubilité.

La solubilité de l'oxygène dans l'eau dépend principalement de trois facteurs : la pression partielle d'oxygène ambiante, la température et la présence d'autres solutés en phase liquide.

Pression partielle.

La solubilité d'un gaz est donnée, à une température constante, par la loi de Henry, qui dit que la fugacité d'un soluté en solution diluée est proportionnelle à sa fraction molaire :

$$f_{O_2} = k_H \cdot X_{O_2}$$

Pour une solution très diluée, la fraction molaire est proportionnelle à la concentration et, d'autre part, la fugacité de l'oxygène est égale à sa pression de vapeur pour des pressions partielles allant jusqu'à 1 at ou plus [8]. La loi de Henry s'écrit donc dans le cas de l'oxygène :

$$p_{O_2} = H \cdot c_{O_2}$$

Le coefficient de Henry est le seul paramètre caractérisant la solubilité de l'oxygène dans un milieu donné et à une température donnée. Cette précision a son importance; il est en effet fréquent dans la littérature de voir apparaître la solubilité de l'oxygène sous forme d'une concentration de saturation, sans que soient précisées les conditions ambiantes (composition de l'air, température et pression).

La pression partielle d'oxygène dans l'air ambiant est proportionnelle à sa fraction molaire y_{O_2} (loi de Dalton). Cette fraction molaire est en moyenne de 0.2095 [67], pour de l'air sec. Dans le cadre de ce travail, une valeur légèrement inférieure de 0.2091 a été mesurée à l'aide d'un analyseur d'oxygène de type paramagnétique (Servomex). La pression partielle en eau dans l'air ambiant augmente avec la température [67]. Elle est de 31 mm Hg à 30°C.

Température.

La solubilité de l'oxygène diminue avec la température. Le coefficient de Henry augmente donc avec la température. Pour la solubilité de l'oxygène dans l'eau, le coefficient de Henry est donné par [57]:

$$\frac{1}{H} = 1.385 \cdot 10^{-3} - 2.635 \cdot 10^{-5} (T-20) + 4.288 \cdot 10^{-7} (T-20)^2$$

où H est le coefficient de Henry [l-at/mol], et T est la température en °C.

Autres solutés.

Sels.

La présence de sels dissous diminue la solubilité de l'oxygène dans l'eau. Hoftijzer et van Krevelen [32] ont proposé de relier la solubilité dans une solution saline à la solubilité dans l'eau par :

$$\log \frac{C^*}{C_{\text{sel}}^*} = hI$$

où I [ion-g /l] est la force ionique de la solution

h est un coefficient de sel : $h = h_+ + h_- + h_G$

h_+ , h_- et h_G représentent les influences respectives du cation, de l'anion et du gaz. Seul h_G dépend de la température.

Dans le cas d'un milieu comportant plusieurs espèces ioniques, les effets des différents sels i sont additifs selon :

$$hI = \sum h_i I_i$$

Cette méthode, décrite par Danckwerts [17], présente néanmoins certaines failles au niveau de son fondement physique, notamment sur les points suivants.

- L'influence du gaz h_G est prise en compte dans le calcul de chaque h_i , correspondant à l'influence du sel i .
- La solubilité d'un gaz dans une solution 1M K_2SO_4 , 2M NaCl ne serait pas la même que dans une solution 1M Na_2SO_4 , 2M KCl, alors que les deux solutions sont évidemment identiques.

Différents tableaux de valeurs sont néanmoins publiés dans la littérature [17], [14] pour les valeurs des coefficients de sel. Ces valeurs sont passablement différentes d'un auteur à l'autre, mais le résultat numérique obtenu pour la solubilité dans un même milieu est très voisin.

Schumpe, Adler et Deckwer [60] ont proposé une variante de l'équation de Danckwerts :

$$\log \frac{c^*}{c_{\text{sel}}} = \sum (h_+)_i I_i + \sum (h_-)_i I_i + \sum (h_G)_i I_i$$

où l'espèce i est l'ion i et où I_i est la contribution de l'ion i à la force ionique :

$$I_i = \frac{1}{2} c_i z_i^2$$

Ces auteurs publient également une table de coefficients ioniques. La valeur de la solubilité obtenue par la méthode de Schumpe peut être passablement différente de celle obtenue par la méthode de Hoftijzer et van Krevelen. Elle est par exemple de 30 % inférieure dans le cas d'une solution de sulfite 0.8 M.

Sucres.

L'effet de la présences de sucres sur la solubilité de l'oxygène a été étudié en détail par Popovic et al. [49]. Selon ce travail, la solubilité diminue linéairement d'environ 25 % pour une concentration de 200 g/l de divers sucres.

Linek [41] présente une corrélation pour la solubilité de l'oxygène en fonction de la concentration de glucose et de la température. Cette corrélation surestime fortement la solubilité, par rapport à d'autres travaux expérimentaux, notamment [34].

2.3. Théories fondamentales.

Le transfert d'oxygène de la phase gazeuse vers la phase liquide d'un réacteur est limité. En effet, près de l'interface, et du fait même de sa proximité, les forces intermoléculaires sont telles que l'agitation imposée au milieu, qui contribue normalement de manière importante au transport de l'oxygène, devient inefficace, tant du côté gaz que du côté liquide. Dans le cas de l'oxygène, étant donné sa faible solubilité, le transfert est essentiellement limité par le transfert à l'interface du côté liquide. Le transfert à cet endroit limite alors le processus global.

La modélisation du transfert de matière exige donc un modèle de l'hydrodynamique près de l'interface. Un certain nombre de modèles plus ou moins sophistiqués ont été proposés dans la littérature. Trois d'entre eux sont généralement cités [4], [17] : le modèle du film, le modèle de Higbie et le modèle de Danckwerts.

2.3.1. Modèles hydrodynamiques.

1. Théorie du film.

Le modèle le plus simpliste est le modèle du film. Il suppose l'existence à l'interface d'une couche d'épaisseur δ , appelée "film", à l'intérieur de laquelle le milieu est stagnant et où seule la diffusion assure le transport de matière. Au delà de la distance δ , la convection est efficace et assure un mélange parfait du milieu.

Ce modèle a l'avantage de permettre un traitement mathématique simple, le transfert étant aisément obtenu dans toute situation par intégration de la loi de Fick.

Le flux en régime stationnaire est donné par :

$$N_A = k_G (c_G - c_G^i) = k_L (c_L^i - c_L)$$

où N_A [mol m⁻²s⁻¹] est le flux de matière par unité de surface d'échange.

k_L et k_G [ms⁻¹] sont respectivement les coefficients de transfert de matière dans la phase gazeuse et dans la phase liquide.

où c_L^i et c_G^i [mol m⁻³] sont respectivement les concentrations à l'interface du côté gazeux et du côté liquide et sont en équilibre par la loi de Henry.

Dans le cas où le transfert est essentiellement limité par le film liquide, c_L^i peut être assimilé à la concentration c^* , qui est en équilibre avec la concentration au sein de la phase gazeuse c_G . Le transfert s'exprime alors :

$$N_A = k_L (c^* - c_L) \quad 2.1$$

Le coefficient de transfert de matière k_L est donné par :

$$k_L = \frac{D}{\delta}$$

Il faut remarquer que cette dépendance proportionnelle du coefficient de transfert k_L par rapport au coefficient de diffusion D est en désaccord avec les corrélations empiriques qui donnent généralement une relation du type :

$$k_L \propto D^{0.5}$$

Le modèle du film est néanmoins couramment utilisé, en raison de son formalisme mathématique simple, qui conduit néanmoins à d'excellents résultats théoriques lors de l'estimation du facteur d'accélération [4]. Il sera utilisé à plusieurs reprises dans ce but, au cours de ce travail.

2. Théorie de pénétration de Higbie.

Higbie (1935) a proposé un modèle plus sophistiqué, supposant l'existence de petits paquets de liquide, amenés par la convection près de l'interface, pour un temps égal au temps de passage t d'une bulle d'air, et retournant ensuite au sein du liquide. Chaque paquet contient, au moment de son arrivée au contact de la bulle d'air, la même concentration qu'au sein de la solution.

L'intégration de la loi de Fick en régime transitoire conduit dans ce cas à :

$$k_L = 2 \sqrt{\frac{D}{\pi t}}$$

La dépendance expérimentale est alors confirmée. Par contre, le temps t est en général mal connu.

3. Théorie de pénétration de Danckwerts.

Contrairement à Higbie, qui a supposé un temps de passage égal pour chaque paquet de liquide, Danckwert introduit une distribution de temps de séjour $\Psi(t)$. Le flux N_A est alors donné par :

$$N_A = \int_0^{\infty} \sqrt{\frac{D}{\pi t}} (c^* - c_L) \Psi(t) dt$$

Danckwerts a proposé une expression analytique pour $\Psi(t)$ [17], qui conduit à une expression pour k_L du type :

$$k_L = \sqrt{Ds_D}$$

ou le coefficient s_D est un taux de renouvellement de surface. ($1/s_D$ est l'équivalent d'un temps de séjour moyen).

2.3.2. Coefficient de transfert volumique.

Le coefficient de transfert k_L caractérise la qualité du transfert à l'interface, de manière locale. Le transfert global observable dépend également de l'aire interfaciale a [m^{-1}], soit de la surface d'échange disponible par unité de volume.

Le transfert d'oxygène par unité de volume ϕ [mol m⁻³s⁻¹] prend alors la forme :

$$\phi = N_A \cdot a = k_L a (c^* - c_L)$$

Le groupe de coefficients $k_L a$ est appelé "coefficient de transfert de matière volumique". Il caractérise la capacité de transfert d'oxygène d'un réacteur, pour un milieu donné et dans des conditions précises d'agitation et d'aération.

Dimension du $k_L a$.

La dimension du coefficient $k_L a$ est à l'évidence des s⁻¹. Néanmoins, une certaine confusion règne dans la littérature quant à l'interprétation de cette unité.

Le flux de matière à l'interface N_A [mol m⁻²s⁻¹] en milieu gaz-liquide est donné par la relation 2.1 :

$$N_A = k_L (c^* - c_L)$$

L'analyse dimensionnelle rigoureuse s'écrit :

$$\frac{\text{mol}}{\text{s} \cdot \text{m}^2 \text{ de surface}} = \frac{\text{m}^3 \text{ de liquide}}{\text{s} \cdot \text{m}^2 \text{ de surface}} \frac{\text{mol}}{\text{m}^3 \text{ de liquide}}$$

L'unité du coefficient k_L , couramment exprimée comme étant m/s, apparaît ici, de manière formellement identique, comme :

$$\frac{\text{m}^3 \text{ de liquide}}{\text{s} \cdot \text{m}^2 \text{ de surface}}$$

Néanmoins, si l'on multiplie ce coefficient k_L par l'aire interfaciale a , dont la dimension est :

$$\frac{\text{m}^2 \text{ de surface}}{\text{m}^3 \text{ de volume réacteur}}$$

L'unité du coefficient $k_L a$ devient alors :

$$[k_L a] = \frac{\text{m}^3 \text{ de liquide}}{\text{s} \cdot \text{m}^3 \text{ de volume réacteur}}$$

Le volume réacteur est conçu comme le volume réactionnel total, à savoir la somme du volume liquide et du volume gazeux du réacteur.

Le taux de transfert d'oxygène par unité de volume réactionnel ϕ a alors comme unité ($\phi = k_L a (c^* - c_L)$) :

$$[\phi] = \frac{\text{moles}}{\text{s} \cdot \text{m}^3 \text{ de volume réacteur}}$$

Le transfert instantané d'oxygène sur la totalité du volume réactionnel OTR ("oxygen transfer rate") [mol s^{-1}] devrait s'exprimer de manière rigoureuse :

$$\text{OTR} = k_L a (c^* - c_L) (V_L + V_G)$$

Pratiquement, le transfert instantané d'oxygène a été généralement utilisé dans la littérature, notamment [18] et [23], comme :

$$\text{OTR} = k_L a (c^* - c_L) V_L$$

Cette formulation est celle qui sera utilisée ultérieurement dans le cadre de la méthode des moments (chapitre 3.1.2). La méthode de la pente (chapitre 4) se base également sur les mêmes bilans.

Cette approche est rigoureuse, pour autant que l'on admette une aire interfaciale a qui s'exprime comme :

$$[a] = \frac{\text{m}^2 \text{ de surface}}{\text{m}^3 \text{ liquide}}$$

La dimension du coefficient de transfert $k_L a$ est alors :

$$[k_L a] = \frac{\text{m}^3 \text{ de liquide}}{\text{s} \cdot \text{m}^3 \text{ de liquide}} = \text{s}^{-1}$$

Et celle du taux de transfert d'oxygène ϕ :

$$[\phi] = \frac{\text{mol}}{\text{s} \cdot \text{m}^3 \text{ de liquide}}$$

Le transfert instantané d'oxygène s'exprime bien :

$$\text{OTR} = k_L a (c^* - c_L) V_L$$

Le coefficient de transfert $k_L a$, bien que son unité soit exprimée comme $[\text{s}^{-1}]$, se rapporte donc à un volume liquide ou à un volume réactionnel, suivant la méthode de mesure.

Par exemple, les méthodes de mesure de a par ultrasons ou par transmission lumineuse mesurent une aire interfaciale par volume réactionnel. Toutes les méthodes décrites dans ce travail se basent implicitement sur une aire interfaciale par volume liquide. Les deux grandeurs sont d'ailleurs liées de manière simple par le hold-up gazeux.

Facteurs influençant l'aire interfaciale.

L'aire interfaciale a est directement liée à un certain diamètre des bulles de gaz d_b . Dans le cas de bulles d'air sphériques et avec un taux de rétention de gaz (hold-up) ϵ_G , la surface a définie par rapport au volume liquide est donnée par :

$$a = \frac{6}{d_b} \frac{\epsilon_G}{1 - \epsilon_G} \quad \text{avec : } \epsilon_G = \frac{V_G}{V_L + V_G}$$

Il existe un diamètre critique des bulles de gaz correspondant à un équilibre entre les forces dispersante et stabilisante. En effet, les forces de cisaillement τ_c engendrées par l'agitation du milieu tendent à déchirer la bulle, alors que les forces de tension superficielle σ/d_b la stabilisent.

Le rapport de ces deux forces est appelé nombre de Weber, égal à :

$$We = \frac{\tau_c}{\sigma/d_b}$$

Tant que le nombre We est inférieur à une valeur critique We_{crit} , la bulle de gaz est stable; au-delà la bulle se déchire pour former des bulles de taille plus faible qui elles sont stables.

La diminution de la tension superficielle par adjonction de surfactant, par exemple, conduit donc à une diminution du diamètre des bulles, donc une augmentation de l'aire interfaciale. (La présence de surfactant peut parallèlement conduire à une diminution du coefficient k_L).

Indépendamment de ce principe d'équilibre des forces, la **coalescence** représente la tendance des bulles de gaz à se réunir pour en former de plus grandes. Il est connu que la présence de sels dissous diminue fortement la coalescence naturelle de l'eau. Le nombre de Weber critique peut alors ne pas être atteint et la taille des bulles reste inférieure au diamètre critique. Les petites bulles formées dans les zones de haute turbulence survivent alors lorsqu'elles se déplacent dans le reste du volume réactionnel.

2.3.3. Résultats empiriques.

Il est généralement admis que les coefficients de transfert de matière observés dans les réacteurs de type cuve agitée peuvent être corrélés par une relation du type :

$$k_L a = B \cdot \left[\frac{P}{V_L} \right]^m \cdot v_{SG}^n$$

- où B est une constante de proportionnalité
 P [W] est la puissance dissipée par l'agitateur
 v_{SG} [ms^{-1}] est la vitesse superficielle du gaz

Un premier groupe d'auteurs, parmi lesquels Calderbank [13] ont trouvé une valeur de 0.4 pour la puissance m dans des milieux coalescents, alors que d'autres travaux, notamment Robinson et Wilke [54] ont trouvé dans un milieu salin non-coalescent comme celui de la méthode du sulfite (chapitre 3.2.1) des puissances m proches de 1.

Les travaux de Calderbank [12] ont également montré que le coefficient k_L est relativement indépendant de la taille des bulles. Selon les mêmes auteurs, les bulles d'air peuvent être classées, d'après leur taille, en deux catégories :

- Les "petites bulles" (typiquement $d_b < 0.6\text{mm}$) se comportent comme des sphères rigides à la surface de laquelle un régime permanent peut s'établir.
- Les "grandes bulles" (typiquement $d_b > 2.5\text{mm}$) suivent la théorie de Higbie. L'air montre une recirculation interne qui permet une diffusion instationnaire comme le préconise Higbie.

A l'intérieur de chacune de ces classes, le coefficient k_L est relativement indépendant de la taille des bulles. Il est environ de $1 \cdot 10^{-4} \text{ ms}^{-1}$ pour les petites bulles et $5 \cdot 10^{-4} \text{ ms}^{-1}$ pour les grandes bulles, dans l'eau. L'influence de fortes concentrations de glucose sur ces valeurs n'est pas connue. Il est probable que la présence de glucose a tendance à diminuer le coefficient k_L , en augmentant la viscosité.

2.4. Transfert de matière avec réaction.

Dans le cas d'un consommateur d'oxygène réparti uniformément dans le volume liquide, l'effet de la réaction sur le transfert de masse est bien connu et a été décrit abondamment, notamment par [4] et [17].

En résumé, et dans le cas de l'oxygène, le modèle du film permet les réflexions suivantes.

Le profil de concentration d'oxygène dans le film liquide est donné en régime stationnaire par l'intégration du bilan différentiel d'oxygène :

$$D \left(\frac{d^2c}{dx^2} \right) = r_{O_2}(c) \quad 2.2$$

où x est la coordonnée de distance à l'intérieur du film liquide d'épaisseur δ , à partir de l'interface.

r_{O_2} [mol l⁻¹s⁻¹] est la vitesse de réaction par rapport à l'oxygène.

avec les conditions aux limites :

$$\begin{aligned} x = 0 & ; c = c^* \\ x = \delta & ; c = c_L \end{aligned}$$

Le profil de concentration obtenu fait apparaître un gradient à l'interface qui peut être supérieur au gradient obtenu en régime stationnaire sans réaction, en raison de la réaction dans le film liquide. Le transfert à l'interface est donc accéléré par la réaction et s'écrit maintenant :

$$\phi = E k_L a (c^* - c_L)$$

où E est un facteur d'accélération, supérieur à 1.

E est donné par le rapport des gradients de concentration à l'interface, en présence de réaction et sans réaction.

Dans le cas d'une cinétique de premier ordre, ou de pseudo-premier ordre (les autres substrats de la réaction sont en excès), la solution analytique pour le profil de concentration dans le film liquide fait apparaître un groupement adimensionnel Ha appelé nombre de Hatta, qui représente les grandeurs respectives de la réaction et de la diffusion.

$$Ha = \frac{\sqrt{k_1 D}}{k_L}$$

Où k_1 [s⁻¹] est la constante de vitesse de premier ordre.

Le facteur d'accélération est lié à Ha par :

$$E = \frac{Ha}{\tanh Ha} \quad 2.3$$

On distingue trois domaines :

$Ha < 0.3$: la réaction est lente par rapport au transfert dans le film. La réaction n'a donc pas lieu dans le film, mais principalement au sein de la solution et le facteur E est égal à 1. Le régime est dit "physique".

$0.3 < Ha < 3$: la vitesse de réaction est comparable à la vitesse de transfert. Une partie de l'oxygène est consommé dans le film liquide déjà, et commence à accélérer le transfert.

$Ha > 3$: la vitesse de réaction est rapide par rapport au transfert. La réaction a lieu entièrement à l'intérieur du film liquide. $E = Ha$. Le régime est dit "accélééré".

A titre de comparaison, le **modèle de Danckwerts** aboutit de manière similaire à un facteur d'accélération qui dépend de Ha selon :

$$E = \sqrt{1 + Ha^2}$$

L'expression mathématique est différente. Néanmoins, le résultat numérique est très voisin. Le modèle du film, malgré sa simplicité, donne donc une vision très réaliste de l'accélération du transfert par la réaction.

Pour une réaction d'ordre n, Hikita et Asai [30] ont vérifié la relation 2.3, avec un nombre de Ha qui s'exprime alors de manière générale :

$$Ha = \frac{1}{k_L} \sqrt{\frac{2}{n+1} k_n D (c^*)^{n-1}}$$

2.5. Transfert de matière avec diffusion dans un solide.

Dans le cas où le consommateur d'oxygène n'est pas réparti de manière uniforme dans le volume réactionnel, mais est localisé à l'intérieur d'amas solides, comme c'est par exemple le cas avec une culture mycélienne, le transfert d'oxygène doit de plus vaincre une résistance due à la diffusion à l'intérieur du solide.

Ce type de situation est décrite par différents auteurs, notamment Aiba et al. [2].

En assimilant les amas de mycélium à des sphères de rayon R_m et de densité uniforme ρ_m , le bilan différentiel d'oxygène, en régime stationnaire, sur un volume de contrôle limité par deux sphères de diamètre r et $r+dr$ s'écrit, de manière analogue à 2.2 :

$$D \left[\frac{d^2c}{dr^2} + \frac{2}{r} \frac{dc}{dr} \right] = \rho_m q_{O_2} = r'_{O_2} \quad 2.4$$

où $q_{O_2}(c)$ est la demande spécifique en oxygène [$\text{mol g}^{-1}\text{s}^{-1}$].

r'_{O_2} [$\text{mol l}^{-1}\text{s}^{-1}$] représente une cinétique locale d'utilisation de l'oxygène, à l'intérieur du solide, et se rapporte à un volume de mycélium.

Les conditions aux limites sont les suivantes :

$$\begin{aligned} r=0 & ; \quad \frac{dc}{dr} = 0 \\ r=R_m & ; \quad c=c_L \end{aligned}$$

On définit un facteur d'efficacité η , rapport de la vitesse moyenne de réaction \bar{r}_{O_2} observée sur le volume du solide à la vitesse hypothétique $r'_{O_2}(c_L)$ que l'on observerait si le volume de l'amas de mycélium travaillait à la concentration de surface c_L .

Ce facteur d'efficacité est donné dans le cas d'un solide sphérique, pour une cinétique d'ordre n , par :

$$\eta = \frac{3}{\Psi} \left[\frac{1}{\tanh \Psi} \cdot \frac{1}{\Psi} \right]$$

Ψ est appelé **module de Thiele** et vaut :

$$\Psi = R_m \sqrt{\frac{r_{O_2}(c_L)}{D_m c_L}}$$

Le module de Thiele est le reflet des grandeurs respectives de la vitesse de réaction et de la diffusion à l'intérieur du solide. Il définit deux domaines limites :

$\Psi \ll 1$: La vitesse de réaction est lente par rapport à la diffusion. $c = c_L$ partout dans le solide. $\eta = 1$.

$\Psi \gg 1$: La vitesse de réaction est beaucoup plus rapide que la diffusion. $\eta = \frac{1}{\Psi}$

Plusieurs solutions de l'équation 2.4 ont été proposées dans le cadre de son application à des agrégats de mycélium. Yano et al. [71] ont admis dans un premier temps une cinétique en oxygène d'ordre 0. Des solutions plus complexes ont été publiées ([1], [72] et plus récemment par Reuss et al. [52]) dans le cas de cinétiques de type Michaelis-Menten.

La consommation d'oxygène sur l'ensemble du réacteur s'exprime par r_{O_2} [mol l⁻¹s⁻¹], qui se rapporte à un volume liquide de suspension. r_{O_2} est lié à \bar{r}_{O_2} par la fraction du volume liquide ϵ_m occupée par le mycélium :

$$\begin{aligned} r_{O_2} &= \bar{r}_{O_2} \cdot \epsilon_m = r_{O_2}'(c_L) \cdot \eta \cdot \epsilon_m \\ &= q_{O_2}(c_L) \cdot \rho_m \cdot \eta \cdot \epsilon_m \end{aligned}$$

D'autre part, $(\rho_m \cdot \epsilon_m)$ est égal à la concentration de biomasse X [g/l], d'où :

$$r_{O_2} = q_{O_2}(c_L) \cdot X \cdot \eta$$

3. MESURE DU $k_L a$.

3.1. Méthodes physiques.

Les méthodes physiques dynamiques de mesure de $k_L a$ sont basées sur l'utilisation de la sonde à oxygène. Le principe commun de ces méthodes est d'analyser l'évolution du signal de la sonde lorsque le système est soumis à une perturbation des conditions ambiantes. Cette analyse fait appel de façon plus ou moins directe à la décomposition d'un système complexe en un certain nombre de systèmes élémentaires, où système de premier ordre. Il s'avère nécessaire, avant de parler des méthodes, de cerner la structure et les propriétés de ces systèmes élémentaires de premier ordre.

3.1.1. Système de premier ordre : définition

Soit un système physique exposé à une grandeur y_0 et émettant un signal y_1 (figure 3.1). y_1 (signal de sortie) dépend de y_0 (signal d'entrée), par la nature du système. Ces deux variables sont toutes deux des fonctions du temps, mais n'ont pas nécessairement la même dimension.



figure 3.1 : Schéma de principe d'un étage exponentiel

Supposons tout d'abord que le système est dans un premier état stationnaire, où le signal d'entrée est y_0^0 , et le signal de sortie y_1^0 . Si le système subit maintenant une perturbation du signal d'entrée, qui prend une nouvelle valeur y_0^{∞} , le signal de sortie va évoluer vers une nouvelle valeur stationnaire y_1^{∞} .

On appelle système physique de **premier ordre**, ou, dans le cadre de ce travail, **étage exponentiel**, ou encore **étage unitaire**, un système dont le signal de sortie y_1 va tendre de manière exponentielle, en fonction du temps, vers une valeur limite y_1^∞ .

L'appellation "premier ordre" doit être prise avec certaines réserves. La littérature parle souvent de systèmes de premier ordre, comme défini ci-dessus, pour des systèmes dont la réponse à un saut indiciel est exponentielle. Un système de premier ordre est, mathématiquement, un système dont l'équation différentielle est du premier ordre. Or, la plupart des équations différentielles du premier ordre n'ont pas une solution de type exponentiel. On préférera donc l'appellation "système exponentiel" ou "système unitaire" pour un système dont la réponse est une fonction exponentielle.

Une forme simple d'équation différentielle décrivant ce type de systèmes s'écrit :

$$\frac{dy_1}{dt} = a_1 (y_1^\infty - y_1)$$

où a_1 est un coefficient caractéristique du comportement dynamique du système [s^{-1}].

La solution $y_1(t)$ s'écrit, avec la condition initiale : $t = 0 ; y_1 = y_1^0$:

$$y_1 = y_1^0 + (y_1^\infty - y_1^0) (1 - e^{-a_1 t})$$

On définit : $\tau = \frac{1}{a_1}$

τ est appelé **constante de temps** du système et s'exprime en [s].

Normalisation.

Le but de la normalisation est d'homogénéiser la nature des différents signaux, dont la dimension et la valeur stationnaire peuvent être différentes. On définit des valeurs adimensionnelles en exprimant le rapport de chaque variable par la valeur vers laquelle elle tend à l'état stationnaire. Ainsi :

$$Y_0 = \frac{y_0}{y_0^\infty} \quad ; \quad Y_1 = \frac{y_1}{y_1^\infty} \quad 3.1$$

La valeur à l'état stationnaire de Y_0 et Y_1 est 1.

L'équation différentielle exprimant l'évolution de Y_1 est alors :

$$\frac{dY_1}{dt} = a_1 (1 - Y_1) \quad 3.2$$

Avec la condition initiale : $t = 0$; $Y_1 = Y_1^0$

La solution $Y_1(t)$ de l'équation 3.2 s'exprime :

$$Y_1(t) = Y_1^0 + (1 - Y_1^0) (1 - e^{-a_1 t}) \quad 3.3$$

Généralisation.

Si le signal d'entrée y_0 n'est pas constant, par exemple parce qu'il est lui-même le signal de sortie d'un étage précédent, Y_1 est alors décrit par :

$$\frac{dY_1}{dt} = a_1 (Y_0 - Y_1)$$

Dans l'espace de Laplace, cette équation devient :

$$s Y_1(s) = a_1 (Y_0(s) - Y_1(s))$$

D'où il découle l'expression :

$$\frac{Y_1(s)}{Y_0(s)} = \frac{a_1}{a_1 - s} = Z(s)$$

Où $Z(s)$ est la fonction de transfert du système.

Premier moment.

On définit mathématiquement le premier moment M_{Y_1} de la fonction $Y_1(t)$ par :

$$M_{Y_1} = \int_0^{\infty} (1 - Y_1(t)) dt$$

La valeur de M_{Y_1} est égale à la surface ombrée sur la figure 3.2.

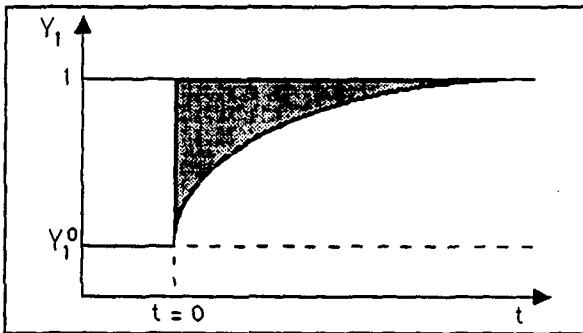


figure 3.2 : Premier moment de Y_1

En introduisant, dans le calcul de cette intégrale, la solution pour $Y_1(t)$ tirée de l'équation 3.3, on trouve :

$$M_{Y_1} = \int_0^{\infty} (1 - Y_1^0) e^{-a_1 t} dt$$

$$M_{Y_1} = (1 - Y_1^0) \frac{1}{a_1} = (1 - Y_1^0) \tau$$

Dans le cas où $Y_1^0 = 0$ (saut indiciel pour Y_0 de 0 à 1) :

$$M_{Y_1} = \tau \quad 3.4$$

Mise en série de deux étages.

Dans le cas où le signal de sortie y_1 est lui-même signal d'entrée d'un nouvel étage de premier ordre, dont la sortie est y_2 , les deux étages sont décrits respectivement, sous forme adimensionnelle, par :

$$\frac{dY_1}{dt} = a_1 (1 - Y_1)$$

$$\frac{dY_2}{dt} = a_2 (Y_1 - Y_2)$$

avec les conditions initiales : $t = 0$; $Y_1 = 0$; $Y_2 = 0$

Y_2 est le rapport de y_2 sur sa valeur à $t = \infty$, de manière analogue aux relations 3.1.

Une manière élégante dans ce cas de résoudre le système et de calculer le premier moment de Y_2 , est d'exprimer le système d'équations différentielles dans l'espace de Laplace :

$$s Y_1(s) = a_1 \left(\frac{1}{s} - Y_1(s) \right)$$

$$s Y_2(s) = a_2 (Y_1(s) - Y_2(s))$$

Par remplacement :

$$Y_2(s) = \frac{1}{s} \frac{a_1}{a_1 + s} \frac{a_2}{a_2 + s}$$

Décomposition en facteurs premiers :

$$Y_2(s) = \frac{1}{s} + \frac{a_2}{a_1 - a_2} \frac{1}{a_1 + s} + \frac{a_1}{a_2 - a_1} \frac{1}{a_2 + s} \quad 3.5$$

La solution dans l'espace temporel s'écrit :

$$Y_2(t) = 1 + \frac{a_2}{a_1 - a_2} e^{-a_1 t} + \frac{a_1}{a_2 - a_1} e^{-a_2 t}$$

Si a_2 tend vers l'infini (réponse instantanée du second étage), on retrouve bien :

$$Y_2(t) = 1 - e^{-a_1 t}$$

qui est manifestement analogue à la solution pour un étage (équation 3.3).

Le premier moment de Y_2 est par définition :

$$M_{Y_2} = \int_0^{\infty} (1 - Y_2(t)) dt \quad 3.6$$

M_{Y_2} peut être calculé en utilisant une propriété des transformées de Laplace [3], qui dit que :

La limite d'une fonction $f(t)$, lorsque le temps tend vers l'infini, est égale numériquement à la limite, lorsque la variable de Laplace s tend vers 0, de la fonction $(s F(s))$.

$$\lim_{t \rightarrow \infty} f(t) = \lim_{s \rightarrow 0} [s F(s)]$$

où $F(s)$ est la transformée de Laplace de $f(t)$; $F(s) = \mathcal{L}\{f(t)\}$

Or, le premier moment défini par l'équation 3.6 peut s'écrire comme une limite :

$$M_{Y_2} = \lim_{t \rightarrow \infty} \int_0^t (1 - Y_2(t)) dt$$

$$\text{et vaut donc : } M_{Y_2} = \lim_{s \rightarrow 0} \left[s \mathcal{L} \left\{ \int_0^t (1 - Y_2(t)) dt \right\} \right].$$

$$= \lim_{s \rightarrow 0} \left[s \frac{1}{s} \mathcal{L} \{ 1 - Y_2(t) \} \right]$$

$$= \lim_{s \rightarrow 0} \left[\frac{1}{s} - Y_2(s) \right]$$

3.7

En introduisant la solution $Y_2(s)$ tirée de l'équation 3.5 :

$$\begin{aligned} M_{Y_2} &= \lim_{s \rightarrow 0} \left[\frac{a_2}{a_2 - a_1} \frac{1}{a_1 + s} + \frac{a_1}{a_1 - a_2} \frac{1}{a_2 + s} \right] \\ &= \frac{a_2}{a_1(a_2 - a_1)} + \frac{a_1}{a_2(a_1 - a_2)} = \frac{a_1 + a_2}{a_1 a_2} \end{aligned}$$

Avec les constantes de temps $\tau_1 = \frac{1}{a_1}$ et $\tau_2 = \frac{1}{a_2}$:

$$M_{Y_2} = \tau_1 + \tau_2$$

Le premier moment de la fonction $Y_2(t)$ est donc égal à la somme des constantes de temps des deux étages élémentaires. On peut montrer de la même manière que cette propriété est conservée dans le cas de n étages exponentiels successifs.

Le principe de l'additivité des systèmes de premier ordre est ainsi mis en évidence.

3.1.2. Méthode des moments.

Le développement de la méthode des moments a été publié dans les années 1975 à 1977 par Dang [18], ainsi que par Dang, Karrer et Dunn [19].

Il s'agit d'une méthode dynamique basée sur l'analyse de la réponse indicielle d'une sonde pO_2 , lors d'un saut de la concentration d'oxygène dans l'alimentation en air du réacteur. L'allure de la réponse de la sonde Γ est représentée sur la figure 3.3, normalisée par rapport à sa valeur finale.

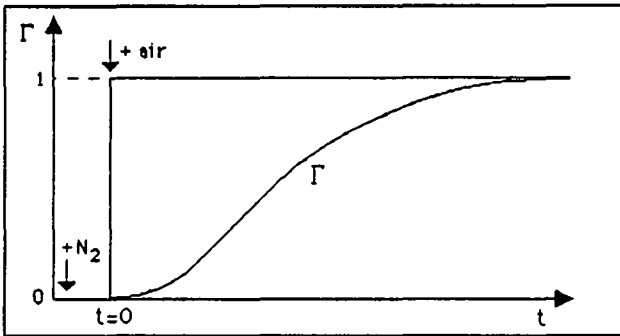


figure 3.3 : Réponse de la sonde pO_2 lors de l'aération

Le saut indiciel est réalisé en désorbant au préalable tout l'oxygène du réacteur par un courant d'azote, puis en rétablissant l'air dans le circuit d'alimentation de gaz, au temps $t=0$.

Analyse en termes d'étages de premier ordre.

Le volume réactionnel, composé d'une phase liquide V_L , dans lequel est dispersée une phase gazeuse de volume V_G , est schématisé sur la figure 3.4.

Lors de l'expérience de réponse indicielle, le signal de concentration d'oxygène à l'entrée du réacteur subit un certain nombre de retards, avant d'être perçu par l'électrode de la sonde à oxygène.

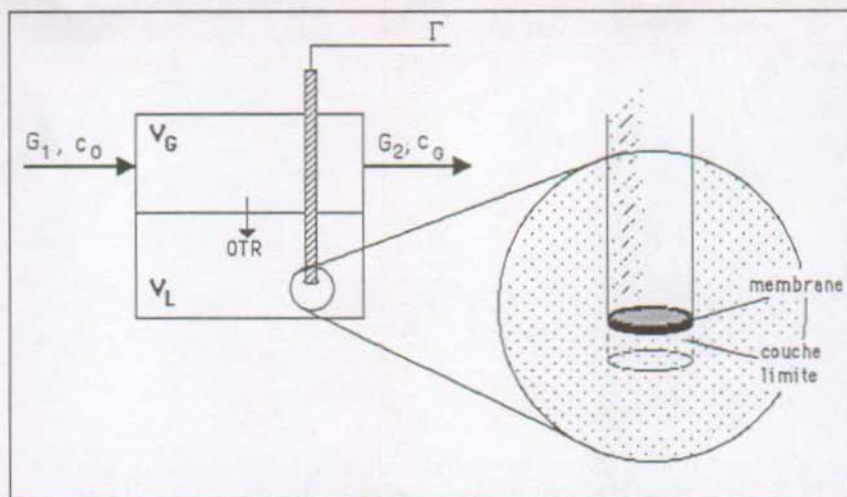


figure 3.4 : Schéma du volume réactionnel

En admettant l'hypothèse que la phase gazeuse et la phase liquide sont parfaitement mélangées, le système peut être décrit avantageusement par quatre étages unitaires en série, comme décrits au chapitre 3.1.1 (figure 3.5).

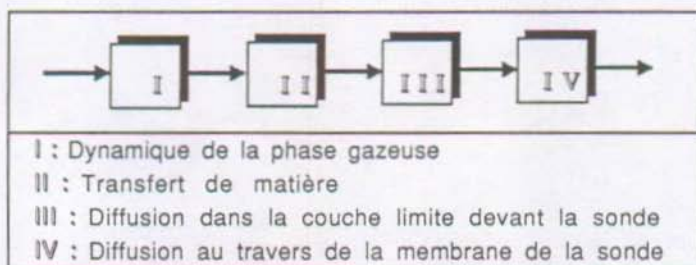


figure 3.5 : Décomposition du système en quatre étages élémentaires

I. Dynamique de la phase gazeuse.

On appelle **dynamique de la phase gazeuse** le remplacement progressif de la phase gazeuse, composée initialement d'azote, par de l'air.

La dynamique de la phase gazeuse et les différents modèles applicables, suivant les hypothèses faites quant à la qualité du mélange, ont été décrites en détail par Dunn et Einsele [23]. Dans la majorité des cas, ce phénomène est décrit par le bilan différentiel d'oxygène suivant :

$$V_G \frac{dc_G}{dt} = G_0 c_0 - G_1 c_G - OTR$$

où G_0 et G_1 [l/s] sont respectivement les débits de gaz à l'entrée et à la sortie de la phase gazeuse. OTR ("Oxygen Transfer Rate") est le transfert instantané d'oxygène [mol/s] et vaut :

$$OTR = k_L a (c^* - c_L) V_L$$

En supposant le terme de transfert OTR relativement faible par rapport aux débits de gaz, $G_0 = G_1 = G$ et le bilan d'oxygène devient [23] :

$$\frac{dc_G}{dt} = \frac{G}{V_G} (c_0 - c_G) - k_L a (c^* - c_L) \frac{V_L}{V_G} \quad 3.8$$

Par ailleurs :

$$\frac{G}{V_G} = \frac{1}{\tau_G}$$

où τ_G [s] est le **temps de passage** du gaz.

La loi de Henry à l'interface s'exprime par : $p_{O_2} = H c^*$

et la loi des gaz parfaits donne : $p_{O_2} = c_G RT$

La concentration de saturation en phase liquide c^* est donc liée à chaque instant à la concentration en phase gazeuse c_G [M] par :

$$c^* = c_G \frac{RT}{H} \quad 3.9$$

c^* est fonction du temps et atteint une valeur stationnaire $c^{*\infty}$ pour un temps infini :

$$c^{*\infty} = c_0 \frac{RT}{H} \quad 3.10$$

c_G est normalisée par rapport à sa valeur finale c_0 , et c_L par rapport à $c^{*\infty}$.

$$C_G = \frac{c_G}{c_0} \quad ; \quad C_L = \frac{c_L}{c^{*\infty}} \quad 3.11$$

Les relations 3.9, 3.10 et 3.11 permettent d'exprimer le bilan 3.8 sous forme adimensionnelle :

$$\frac{dC_G}{dt} = \frac{1}{\tau_G} (1 - C_G) - k_L a \frac{V_L}{V_G} \frac{RT}{H} (C_G - C_L) \quad 3.12$$

La réponse $C_G(t)$ n'est pas une fonction exponentielle (sa forme exacte sera développée ultérieurement), en raison de la présence du terme de transfert dans le membre de droite. Si ce terme est négligé, l'équation 3.12 devient :

$$\frac{dC_G}{dt} = \frac{1}{\tau_G} (1 - C_G)$$

et la réponse est alors une exponentielle de constante de temps τ_G . Le terme de transfert représente l'influence du transfert de matière durant le processus de mélange des gaz. Il est en général relativement faible, mais n'est certainement pas négligeable.

II. Transfert de matière.

Le transfert de matière entre le gaz et le liquide peut être décrit par :

$$\frac{dc_L}{dt} = k_L a (c^* - c_L)$$

Sous forme adimensionnelle, en utilisant 3.9, 3.10 et 3.11 :

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a (C_G - C_L) \quad 3.13$$

On voit apparaître le coefficient global de transfert de matière $k_L a$ comme l'inverse d'une constante de temps. L'équation différentielle ci-dessus représente manifestement un étage exponentiel. Le premier moment de la fonction C_L lors d'un hypothétique saut unité de C_G vaudrait donc $1/k_L a$.

III. / IV. Diffusion vers l'électrode.

Le retard du signal de la sonde par rapport à la concentration en phase liquide c_L a été modélisé de diverses manières dans la littérature.

A priori, deux phénomènes interviennent dans la réponse de la sonde, à savoir d'une part la diffusion dans la couche limite au voisinage de la membrane et, d'autre part, la diffusion dans la membrane elle-même (figure 3.4).

La méthode des moments suppose donc que le retard de la sonde est correctement décrit par deux étages de premier ordre en série, correspondant respectivement aux deux phénomènes de diffusion mentionnés plus haut.

La diffusion dans la couche limite est décrite par :

$$\frac{dc_L^i}{dt} = \frac{1}{\tau_F} (c_L - c_L^i)$$

où c_L^i [M] est la concentration en phase liquide à l'interface liquide/membrane ;

τ_F [s] est la constante de temps de la diffusion dans le film liquide et caractérise le temps nécessaire à l'établissement d'un profil de concentration stationnaire.

Sous forme adimensionnelle, avec : $C_L^i = \frac{c_L^i}{c^{*\infty}}$

$$\frac{dC_L^i}{dt} = \frac{1}{\tau_F} (C_L - C_L^i) \quad 3.14$$

A l'interface liquide/membrane, un équilibre de phase est établi instantanément entre C_L^i et une concentration c_M^i , qui est la concentration à l'interface dans la membrane. Ces deux concentrations sont liées par un coefficient de partage K_M :

$$c_M^i = K_M \cdot c_L^i$$

On normalise c_M^i par rapport à $c_M^{i\infty}$: $C_M^i = \frac{c_M^i}{c_M^{i\infty}}$

$c_M^{i\infty}$ est lié à $c^{*\infty}$ par le même coefficient de partage K_M :

$$c_M^{i\infty} = K_M \cdot c^{*\infty}$$

De telle sorte que les variables adimensionnelles C_L^i et C_M^i sont numériquement égales à chaque instant.

A l'aide de ces variables, la diffusion dans la membrane est alors décrite sous forme adimensionnelle par :

$$\frac{d\Gamma}{dt} = \frac{1}{\tau_M} (C_M^i - \Gamma) = \frac{1}{\tau_M} (C_L^i - \Gamma) \quad 3.15$$

où τ_M [s] est la constante de temps du phénomène de diffusion dans la membrane et caractérise le temps nécessaire à l'établissement d'un profil de concentration stationnaire et linéaire.

La calibration du signal de la sonde Γ est supposée telle que celui-ci soit normalisé de 0 à 1.

Réponse réelle.

La modélisation de la réponse de la sonde adoptée dans le cadre de la méthode des moments est une approximation. D'un point de vue critique, cette vue simpliste est discutable sur plusieurs points.

Premièrement, en ce qui concerne la couche limite liquide, c_L^i est normalisé de 0 à $c^{*\infty}$. En réalité, la valeur de c_L^i pour un temps tendant vers l'infini n'approche pas $c^{*\infty}$, de manière rigoureuse, mais une concentration légèrement inférieure, qui dépend des grandeurs relatives du coefficient de transfert dans la couche limite k_m et du coefficient de diffusion dans la membrane D_M (c.f. chapitre 8.1). Cette concentration, en régime stationnaire, est calculée au chapitre 8.1. Elle n'est égale à $c^{*\infty}$ que si :

$$k_m \gg \frac{D_M H}{\delta RT}$$

c'est à dire que la résistance au transfert dans la membrane est beaucoup plus grande que dans le film liquide.

Deuxièmement, en ce qui concerne la diffusion dans la membrane, on suppose que la réponse du signal de la sonde Γ subit un retard de premier ordre par rapport à la consigne C_M^i . Ceci suppose que, soumis à un saut unitaire de C_M^i , le signal de la sonde répond de manière exponentielle. Ceci n'est certainement par vrai.

En effet, le signal de la sonde est proportionnel (c.f. chapitre 8.1) au courant électrique à l'électrode, donc au gradient de concentration dans la membrane près de l'électrode. En première approche, les profils de concentration instationnaires à l'intérieur de la membrane sont donnés par l'intégration de la deuxième loi de Fick, dans le cas d'un volume de contrôle à deux faces parallèles planes. La solution analytique est de la forme :

$$C_M = C_M^i \left[1 - \frac{x}{\delta} \right] \frac{2}{\pi} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{C_M^i}{n} \sin \frac{n\pi x}{\delta} e^{-D_M n^2 \pi^2 t / \delta^2}$$

où x est la coordonnée et δ l'épaisseur de la membrane.

La dérivée du profil de concentration en $x = \delta$ évolue donc dans le temps de manière bien plus complexe qu'une fonction exponentielle.

Troisièmement, on néglige une troisième étape de diffusion dans la couche d'électrolyte se trouvant entre la membrane et l'électrode. Sobotka et al. [62] rapportent de la littérature des valeurs de $1.1 \cdot 10^{-11}$ et de $1.2 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ pour le coefficient de diffusion de l'oxygène respectivement dans la membrane de téflon et dans l'électrolyte. On peut donc admettre, tenant compte également de l'épaisseur relative de la membrane et de la couche d'électrolyte, que le transfert au travers de la couche d'électrolyte est beaucoup plus rapide qu'au travers de la membrane, et que par conséquent son effet est faible.

Quatrièmement, la disposition géométrique relative de l'électrode et de la membrane impose des profils de concentration plus complexes encore à l'intérieur des différents volumes (membrane, couche limite, électrolyte).

Tenant compte de certaines de ces limitations, un certain nombre de méthodes de mesure de $k_L a$ sont basées sur une modélisation plus complexe que l'approximation de deuxième ordre, admise par la méthode des moments. Elles seront décrits ultérieurement.

Calcul du premier moment de Γ .

Le premier moment de la fonction Γ peut être calculé de manière analogue à ce qui a été fait au chapitre 3.1.1. dans le cas de la réponse de deux étages exponentiels en série. Le système d'équations différentielles 3.12, 3.13, 3.14 et 3.15 peut être écrit dans l'espace de Laplace.

$$I. \quad s C_G(s) = \frac{1}{\tau_G} \left(\frac{1}{s} - C_G(s) \right) - k_L a \frac{V_L}{V_G} \frac{RT}{H} (C_G(s) - C_L(s)) \quad 3.16$$

$$II. \quad s C_L(s) = k_L a (C_G(s) - C_L(s)) \quad 3.17$$

$$III. \quad s C_L^i(s) = \frac{1}{\tau_F} (C_L(s) - C_L^i(s)) \quad 3.18$$

$$IV. \quad s \Gamma(s) = \frac{1}{\tau_M} (C_L^i(s) - \Gamma(s)) \quad 3.19$$

Avec les conditions initiales :

$$t = 0 \quad ; \quad C_G(t) = C_L(t) = C_L^i(t) = \Gamma(t) = 0$$

Il est évident que les étages II, III, et IV sont des étages exponentiels analogues à ceux qui ont été présentés au chapitre 3.1.1. Leurs constantes de temps valent respectivement $1/k_L a$, τ_F et τ_M . Par contre, il est peu probable que l'étage I produise une réponse exponentielle. Son allure exacte sera développée ultérieurement. On se contentera pour l'instant de calculer les premiers moments des fonctions C_G et C_L .

Le premier moment de $C_G(t)$ peut être calculé en remplaçant $C_L(s)$ tiré de 3.17 dans 3.16, d'où :

$$s C_G(s) = \frac{1}{\tau_G} \left(\frac{1}{s} - C_G(s) \right) - k_L a \frac{V_L}{V_G} \frac{RT}{H} \left(C_G(s) - \frac{k_L a}{s + k_L a} C_G(s) \right)$$

$$C_G(s) = \frac{1}{s} \frac{s + k_L a}{\tau_G s^2 + ks + k_L a} \quad \text{où : } \kappa = k_L a \frac{V_L}{V_G} \frac{RT}{H}$$

Par décomposition en facteurs premiers :

$$C_G(s) = \frac{1}{s} + \frac{1 - \kappa - \tau_G s}{\tau_G s^2 + ks + k_L a}$$

Le premier moment peut être exprimé de manière analogue à 3.7 :

$$M_{CG} = \lim_{s \rightarrow 0} \left[- \frac{1 - \kappa - \tau_G s}{\tau_G s^2 + \kappa s + k_L a} \right] = \frac{\kappa - 1}{k_L a}$$

$$M_{CG} = \tau_G + \tau_G \frac{V_L}{V_G} \frac{RT}{H}$$

D'où, comme $\tau_G = \frac{V_G}{G}$:

$$M_{CG} = \tau_G + \frac{V_L}{G} \frac{RT}{H}$$

Le premier moment de $C_L(t)$ peut être calculé de manière semblable en remplaçant $C_G(s)$ tiré de 3.16 dans 3.17. Le même type de développement conduit à :

$$M_{CL} = \tau_G + \frac{V_L}{G} \frac{RT}{H} + \frac{1}{k_L a}$$

Le principe d'additivité des constantes de temps est vérifié, malgré la nature quelque peu particulière de l'étage I.

Appliquant ce principe, le premier moment de la fonction $\Gamma(t)$ vaut donc quant à lui :

$$M_{\Gamma} = \tau_G + \frac{V_L}{G} \frac{RT}{H} + \frac{1}{k_L a} + \tau_F + \tau_M \quad 3.20$$

Réponse intrinsèque de la sonde.

La somme des deux termes τ_F et τ_M peut être estimée par une expérience complémentaire, qui est réalisée en plongeant la sonde dans le réacteur saturé en oxygène, après l'avoir au préalable mise à zéro dans un volume d'azote externe. On obtient alors la réponse intrinsèque de la sonde à oxygène, par opposition à la réponse globale développée précédemment.

Ce saut indiciel de C_L est décrit par les deux seules équations 3.18 et 3.19, avec $C_L=1$ pour $t > 0$. Le premier moment de Γ est alors $\tau_F + \tau_M$.

Au cas où l'on envisage un modèle d'ordre supérieur (n étages de premier ordre en série), le premier moment de la réponse intrinsèque de la sonde serait toujours égal à la somme des constantes de temps élémentaires. Etant donné que la même somme intervient dans le premier moment de la réponse globale (équation 3.20), le principe de la méthode est intégralement conservé. Le premier moment de la réponse globale devrait seulement être réécrit de manière rigoureuse :

$$M_{\Gamma} = \tau_G + \frac{V_L}{G} \frac{RT}{H} + \frac{1}{k_L a} + \sum_{i=1}^n \tau_i$$

Néanmoins, le fait que la réponse intrinsèque de la sonde puisse être représentée par un modèle d'ordre supérieur à 2, sans remettre en cause le principe fondamental de la méthode des moments, ne permet en aucun cas une généralisation. La réponse réelle de la sonde, tenant compte des phénomènes développés au chapitre précédent, ne saurait être représentée de manière exacte par une suite d'étages exponentiels, quel que soit le nombre de ces étages.

Principe de la méthode.

La mesure se déroule en deux temps :

1. Acquisition de la réponse globale lors d'un saut unité de la concentration en oxygène de l'air entrant.
Calcul du premier moment M_{Γ} par intégration numérique de $\Gamma(t)$.
2. Acquisition de la réponse intrinsèque de la sonde par un saut unité de C_L .
Calcul du premier moment, égal à $\sum_{i=1}^n \tau_i$, par intégration numérique.

La valeur du $k_L a$ est ensuite calculée à partir de la différence des premiers moments M_T et $\sum_{i=1}^n \tau_i$, en estimant numériquement la contribution de la dynamique de la phase gazeuse ($\tau_G + \frac{V_L}{G} \frac{RT}{H}$).

Limitations de la méthode des moments.

Si le terme $\frac{V_L}{G} \frac{RT}{H}$ est numériquement bien connu, il est en revanche d'une importance relativement faible par rapport à τ_G , dont la connaissance implique la mesure du hold-up gazeux V_G .

Le hold-up gazeux est un paramètre particulièrement délicat à estimer de manière exacte, spécialement dans des réacteurs de faible volume. En effet, la surface est constamment agitée, ce qui rend difficiles à appliquer les méthodes manométriques basées sur la densité du liquide ou encore l'estimation du hold-up par augmentation du niveau.

Or, la précision du hold-up conditionne fortement la précision de la mesure du $k_L a$, particulièrement pour les hautes valeurs de $k_L a$. Dans un réacteur de laboratoire, par exemple, la méthode des moments ne fournit des estimations de $k_L a$ fiables que jusqu'à des valeurs de $150 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ environ. Cette limitation sera encore discutée lors de l'évaluation relative des différentes méthodes.

3.1.3. Méthode statique.

La méthode statique est due à Linek [39]. Il s'agit en quelque sorte d'une simplification de la méthode des moments. Elle a l'avantage de découpler de la réponse de la sonde Γ la composante $(\tau_F + \tau_M)$, liée à la réponse intrinsèque de la sonde. Elle nécessite par contre un travail expérimental plus conséquent et introduit d'autres incertitudes.

Principe.

La méthode statique supprime l'influence des étages III et IV, comme décrits au chapitre précédent, et correspondant à la réponse intrinsèque de la sonde à oxygène. Elle donne ainsi accès au signal $C_L(t)$. Le principe en est simple : après un certain temps d'aération t_1 , l'agitation et l'aération sont stoppées et l'on attend une réponse stable de la sonde. Le retard dû à la sonde est ainsi comblé.

Pratiquement, l'expérience est réalisée de la manière suivante : le système considéré est le même que dans le cas de la méthode des moments. Le réacteur est tout d'abord désorbé à l'azote, jusqu'à obtenir un signal nul de la sonde pO_2 . L'agitation et le flux d'azote sont alors coupés. Au temps $t=0$, l'agitation et l'aération sont activées pendant un temps t_1 , puis l'aération est coupée, alors qu'une agitation minimale est conservée, suffisante pour homogénéiser le milieu, mais assez faible pour ne pas provoquer d'aération de surface (typiquement 50 mn^{-1} pour un réacteur de 2l). On attend alors que le signal de la sonde à oxygène atteigne une valeur stationnaire. L'expérience doit être répétée pour différents temps t_1 .

Formulation mathématique.

La dynamique de la phase gazeuse est essentiellement différente de celle développée dans le cadre de la méthode des moments. Dans ce dernier cas, la dynamique est due au remplacement d'une phase gazeuse d'azote par une phase gazeuse composée d'air. En ce qui concerne la méthode statique, il n'existe aucune phase gazeuse au début de l'expérience, et la dynamique correspond au temps nécessaire à l'augmentation de volume de la

phase gazeuse, qui est alors uniquement composée d'air. L'influence de cette dynamique gazeuse sera prise en compte ultérieurement.

Dans un premier temps, le système est décrit par un seul étage, identique à l'étage "transfert de matière" de la méthode des moments, décrit adimensionnellement par l'équation 3.12, avec $C_G=1$:

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a (1 - C_L) \quad 3.21$$

Etant donné que l'on attend d'obtenir une valeur stationnaire pour la sonde à oxygène, on mesure alors un signal $\Gamma = C_L(t_1)$, où t_1 est la borne supérieure d'intégration de l'équation 3.21.

La solution $C_L(t_1)$ est donnée par :

$$C_L = 1 - e^{-k_L a t_1} \quad 3.22$$

qui peut être linéarisée sous la forme :

$$-\ln(1 - C_L) = k_L a t_1$$

En reportant $-\ln(1 - \Gamma)$ en fonction de t_1 ($\Gamma = C_L$), on obtient une droite de pente $k_L a$ (figure 3.6, courbe a).

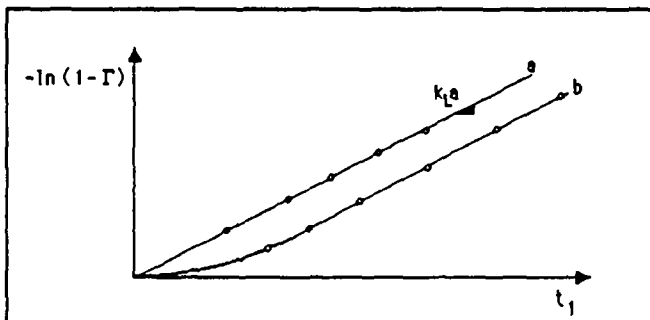


figure 3.6 : Réponse de la sonde pO_2 en fonction du temps d'aération

Deux phénomènes peuvent notamment induire des déviations à ce modèle : la création de la phase gazeuse au début de la période d'aération, et son élimination à la fin de la même période.

a) Création de la phase gazeuse.

Au début de l'expérience, on peut considérer que le volume réactionnel ne contient pas de phase gazeuse, puisque le système n'est pas agité. Le modèle décrit par l'équation 3.22 suppose qu'au début de la période d'aération, au moment où l'agitation est enclenchée, il s'établit de manière instantanée une phase gazeuse accompagnée d'une aire interfaciale a , ce qui n'est probablement pas le cas. La phase gazeuse met certainement un temps non négligeable à se développer.

Pour développer un nouveau modèle tenant compte de ce phénomène, il faut introduire dans l'équation 3.22 une aire interfaciale $a(t)$ qui est fonction du temps. On peut admettre que cette fonction atteint rapidement une valeur stationnaire.

L'intégration de 3.22 donne maintenant :

$$-\ln (1-C_L) = k_L \int_0^{t_1} a(t) dt$$

La pente de cette fonction $-\ln (1-C_L)$ vaut :

$$\frac{d [-\ln (1-C_L)]}{dt_1} = k_L a(t_1) t_1$$

Donc la fonction $-\ln (1-C_L)$ tend encore, après un certain temps, vers une droite de pente $k_L a$ (figure 3.6, courbe b) où $k_L a$ est la valeur stationnaire que l'on désire mesurer.

b) Elimination de la phase gazeuse.

Lorsque l'aération est stoppée, au temps $t=t_1$, il faut attendre que la sonde atteigne une valeur stationnaire. Parallèlement, la phase gazeuse ne disparaît pas instantanément du volume réactionnel,

mais est éliminée progressivement à la surface du liquide, et ceci d'autant plus qu'une légère agitation du milieu est maintenue après l'arrêt de l'aération. Cette phase gazeuse résiduelle peut encore donner lieu à un transfert et peut donc conduire à une surestimation de la valeur stationnaire de C_L .

Si l'on admet que la phase gazeuse résiduelle diminue simplement de volume, mais que l'on néglige son appauvrissement en oxygène, on peut à nouveau modéliser cet effet par une aire interfaciale qui diminue d'une valeur stationnaire (durant l'aération) jusqu'à 0.

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a(t) (1 - C_L)$$

qui s'intègre :

$$-\ln \left[\frac{1 - C_L^{app}}{1 - C_L^{réel}} \right] = k_L \int_{t_1}^{\infty} a(t) dt$$

où $C_L^{réel}$ est la concentration réelle après une période d'aération t_1 et C_L^{app} la concentration apparente que l'on mesure après aération par la phase gazeuse résiduelle. On obtient finalement :

$$C_L^{réel} = 1 - (1 - C_L^{app}) e^{-k_L \int_{t_1}^{\infty} a(t) dt}$$

Si l'on suppose que $a(t)$ est une exponentielle décroissante de

constante de temps τ_a , alors : $\int_{t_1}^{\infty} a(t) dt = a(t_1) \tau_a$ et :

$$C_L^{réel} = 1 - (1 - C_L^{app}) e^{-k_L a \tau_a}$$

La correction sur la valeur apparente donnée par cette équation est probablement surestimée. En réalité, la phase gazeuse résiduelle s'appauvrit en oxygène, puisqu'elle n'est plus renouvelée, et d'autre

part le coefficient k_L est probablement plus faible lorsque le réacteur est peu agité.

Limitations.

Pratiquement, la méthode statique est limitée par la précision du temps d'aération. En effet, dans le cas de fortes agitations, le réacteur est rapidement saturé. Il est donc nécessaire d'aérer le réacteur durant des temps très courts, et l'incertitude sur ces temps devient importante, en raisons des conditions de départ mal définies et difficilement reproductibles.

L'utilisation de la méthode statique est limitée à la mesure de $k_L a$ inférieurs à 0.2 s^{-1} .

3.1.4. Autres méthodes physiques.

Une revue très complète des différentes méthodes existantes pour la mesure du $k_L a$ a été donnée par Sobotka et al [62]. Différentes méthodes physiques à l'aide de sondes à oxygène y sont notamment développées en détail.

La figure 3.7 montre le développement chronologique de différentes méthodes. Les phénomènes intervenant sont schématisés par des blocs, dont le contenu symbolise la manière dont l'auteur a traité le phénomène.

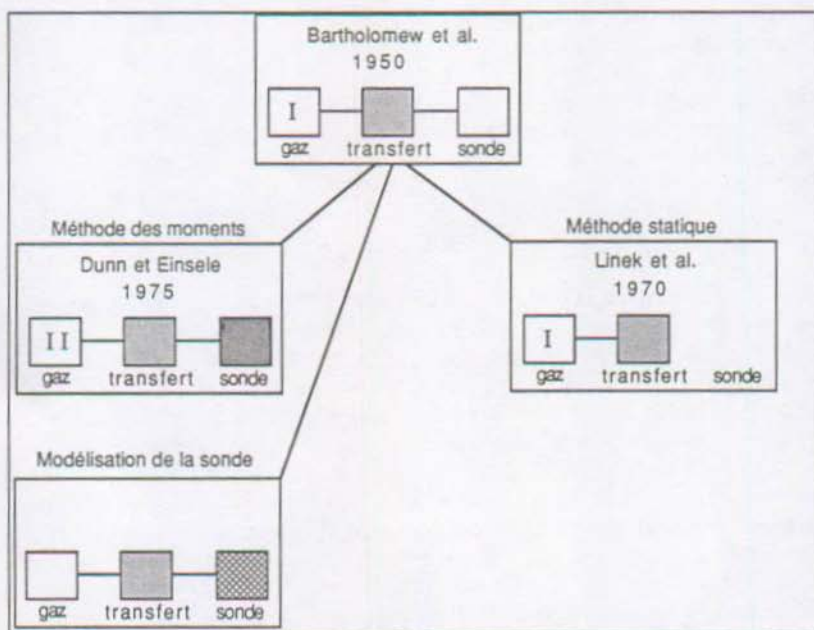


figure 3.7 : Développement chronologique des méthodes de mesure de $K_L a$ à l'aide de sondes pO_2 .

La première méthode de mesure du $k_L a$ à l'aide d'une sonde à oxygène a été publiée en 1950 par Bartholomew et al. [7]. Ces auteurs ont considéré une approche simpliste, négligeant notamment le retard dû à la sonde. L'aération et l'agitation ne sont

activées qu'au début de l'expérience. L'influence de la dynamique gazeuse est donc la même que celle décrite au chapitre 3.1.3 dans le cadre de la méthode statique ; ce type de dynamique gazeuse est appelée type I sur la figure 3.7.

La méthode statique de Linek s'inscrit comme une extension de la méthode de Bartholomew et al., dans le cas où la réponse de la sonde n'intervient plus dans l'expérience.

D'un autre côté, la méthode des moments fait intervenir par rapport à la méthode originale de Bartholomew un nouveau type (II) de dynamique de la phase gazeuse, et un modèle simpliste comprenant un certain nombre d'étages de premier ordre en cascade, pour la réponse de la sonde.

Dans la même direction, un certain nombre de méthodes tentent une modélisation plus correcte de la réponse de la sonde, en quantifiant les phénomènes instationnaires de diffusion dans la membrane, à l'aide de la seconde loi de Fick. Ce sont notamment les travaux de Heineken [29], Robinson et Wilke [54], Linek et al. [39], Wernau et Wilke [69].

Ces travaux prennent en considération l'étage de transfert de matière et un modèle de diffusion plus ou moins sophistiqué pour le retard de la sonde. La solution ainsi obtenue est comparée aux résultats expérimentaux, de manière à mettre en évidence une estimation quantitative de l'étage de transfert. Ces méthodes ont le désavantage de ne pas tenir compte en général de la dynamique de la phase gazeuse et sont de plus lourdes à utiliser du point de vue mathématique. D'un point de vue critique, la modélisation exacte de la réponse de la sonde perd de son intérêt, dans la mesure où des sondes à oxygène très rapides, avec des constantes de temps de 3 à 4 secondes, sont disponibles sur le marché. (Yellow Springs Instruments, entre autre).

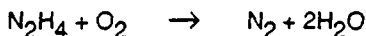
Citons encore, pour son originalité, la méthode de Vardar et Lilly [65] qui estime le $k_L a$ à partir de la réponse de la sonde, lorsque le réacteur est soumis à une variation périodique de la pression ambiante, de forme sinusoïdale.

3.2. Méthodes chimiques.

Les méthodes chimiques de mesure du $k_L a$ se basent sur la mesure de la consommation d'oxygène par une réaction chimique ou enzymatique. Elles ont d'emblée le désavantage de mettre en oeuvre le transfert d'oxygène dans un milieu qui est spécifique, notamment du point de vue de sa force ionique. Ce milieu peut être relativement différent des milieux que l'on rencontre dans des systèmes biologiques, particulièrement dans le cas de l'oxydation du sulfite de sodium. Par contre, elles ont l'avantage de ne pas mesurer un coefficient de transfert local, mais une valeur moyenne sur le volume du réacteur.

Il ne sera question ici que des méthodes testées dans le cadre de ce travail, à savoir l'oxydation du sulfite de sodium et l'oxydation enzymatique du glucose par la glucose-oxydase.

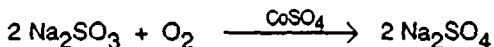
Il en existe d'autres, notamment l'oxydation de l'hydrazine [61], [73] :



Contrairement à l'oxydation du sulfite, cette réaction a l'avantage de mettre en oeuvre un milieu coalescent. Elle a néanmoins connu un impact beaucoup plus faible, probablement en partie à cause de la nature hétérogène du catalyseur - $\text{Cu}(\text{OH})_2$ -, qui nécessite un temps de stabilisation élevé avant d'atteindre des conditions catalytiques stables .

3.2.1. Oxydation du sulfite de sodium.

L'oxydation du sulfite de sodium, communément appelée "méthode du sulfite", met en oeuvre la réaction suivante :



Le principal avantage de cette méthode est de permettre théoriquement l'accès aux deux paramètres a et $k_L a$. Elle a été utilisée par de nombreux auteurs, avec des conditions expérimentales plus ou moins rigoureuses.

Une revue très complète des différents travaux réalisés sur le sujet a été publiée en 1981 par Linek et Vacek [38].

Principe.

Le réacteur contient au début de l'expérience une quantité connue de sulfite de sodium en solution dans la phase liquide. Cette concentration peut être en tout temps déterminée par titration iodométrique (chapitre 8.4.5).

La réaction est supposée suffisamment rapide comparée au transfert de matière pour que la concentration en oxygène dans la phase liquide soit en tout temps égale à 0. Chaque molécule d'oxygène transférée réagit stoechiométriquement avec le sulfite.

Le nombre de moles d'oxygène transférées durant une certaine période est donné, à un facteur stoechiométrique près, par le nombre de moles de sulfite qui ont réagi. Ce dernier est déterminé par le titrage iodométrique d'un échantillon de la phase liquide.

Le transfert d'oxygène est mesuré à différentes concentrations de catalyseur. Connaissant la cinétique de la réaction, il est possible d'exprimer les deux paramètres a et $k_L a$.

Cinétique.

La réaction est catalysée par différents oxydes métalliques bivalents ; le plus couramment utilisé est le sulfate de cobalt. La cinétique homogène de la réaction a été étudiée par de nombreux auteurs, sans vraiment toutefois qu'il se dégage un consensus.

Les travaux de Dankwerts (1970) [17], Reith (1973) [51] et de Charpentier (1981) [14], ont tous trois été réalisés dans des conditions rigoureuses, notamment du point de vue de la valeur du pH, et s'accordent à reconnaître une même cinétique pour les conditions reportées dans le tableau 3.1.

Cette cinétique est d'ordre 0 en sulfite si celui-ci est présent en excès ($c_S > 0.3$ M), de premier ordre en cobalt, et de deuxième ordre en oxygène.

La vitesse de réaction r_{O_2} [mol l⁻¹s⁻¹] est donc donnée par :

$$r_{O_2} = k_2 c_{O_2}^2 \quad \text{et} \quad k_2 = k_r c_{Co}$$

Pression partielle d'oxygène	de $2 \cdot 10^4$ à 10^5 Pa
Température :	de 15 à 60 °C
pH :	de 7.5 à 8.5
Concentration de Co^{++} :	de 10^{-7} à 10^{-3} M
Concentration de SO_3^{--} :	de 0.3 à 0.8 M
Concentration totale de soufre :	constante

tableau 3.1 : conditions de mise en oeuvre de la méthode du sulfite

Régimes de fonctionnement.

Il est possible de jouer sur la concentration du catalyseur c_{Co} , afin de modifier la constante de vitesse de deuxième ordre k_2 . Le nombre de Hatta est donné par Hikita et Asai [30] :

$$Ha = \frac{1}{k_L} \sqrt{\frac{2}{3} k_r c_{Co} D c^*} \quad 3.23$$

Le nombre de Hatta peut donc être modifié à volonté de 0.2 à 7 [51], pour la gamme de concentrations de catalyseur donnée dans le tableau 3.1. Il est donc possible de travailler aussi bien dans le régime "physique" que dans le régime "accélééré".

En régime "physique" ($Ha < 0.3$), le taux de transfert d'oxygène par unité de volume ϕ [mol l⁻¹s⁻¹] est donné, avec l'hypothèse que la concentration au sein de la solution est nulle, par :

$$\phi = k_L a c^*$$

Il est donc nécessaire de connaître la solubilité c^* , afin de déduire la valeur du $k_L a$ du taux de transfert mesuré ϕ .

Pour des valeurs supérieures du nombre de Hatta, il apparaît un facteur d'accélération $E > 1$, donné, selon le modèle du film, par :

$$E = \frac{Ha}{\tanh Ha}$$

et tel que :

$$\phi = E k_L a c^*$$

En régime "accélééré" ($Ha > 3$), le facteur d'accélération E tend vers Ha et :

$$\phi = Ha k_L a c^*$$

En remplaçant Ha par sa valeur tirée de 3.23 :

$$\phi^2 = \frac{2}{3} k_r c_{Co} D c^{*3} a^2$$

qui peut se linéariser sous forme logarithmique :

$$\ln \phi = \frac{1}{2} \ln c_{Co} + \frac{1}{2} \ln \left[\frac{2}{3} k_r D c^{*3} a^2 \right] \quad 3.24$$

La droite obtenue en reportant $\ln \phi$ en fonction de $\ln c_{Co}$ est une droite de pente 0.5 et dont l'ordonnée à l'origine est fonction de l'aire interfaciale a . Le coefficient $k_L a$ a disparu par simplification algébrique et reflète bien la réalité physique suivante : la capacité de transfert du réacteur ne dépend plus de la capacité de diffusion dans la couche limite k_L , mais uniquement de la surface de contact disponible a .

Le régime intermédiaire entre les régimes "physique" et "accélééré" permet de manière alternative la détermination de a et $k_L a$, en utilisant le modèle hydrodynamique de Danckwerts, qui donne (chapitre 2.4) une dépendance de E en fonction de Ha de la forme :

$$E = \sqrt{1 + Ha^2}$$

En remplaçant E par cette valeur, on obtient la forme générale du transfert :

$$\phi = \sqrt{1 + Ha^2} k_L a c^*$$

qui conduit à l'expression suivante :

$$\phi^2 = (k_L a c^*)^2 + \frac{2}{3} k_r D a^2 (c^*)^3 c_{Co}$$

En reportant ϕ^2 en fonction de c_{Co} ("Danckwerts plot"), on obtient une droite de pente proportionnelle à a^2 et dont l'ordonnée à l'origine donne accès au transfert physique $k_L a c^*$.

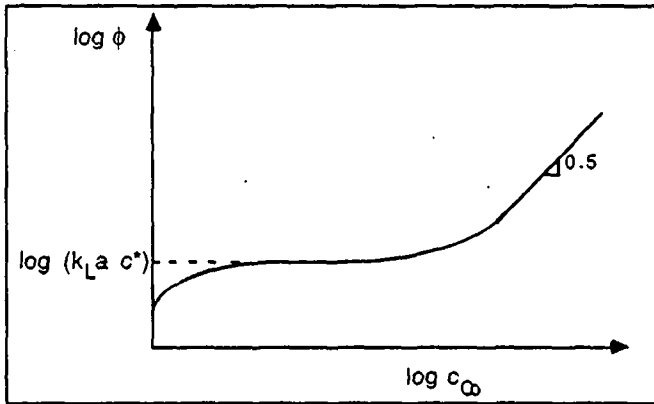


figure 3.8 : Dépendance du transfert ϕ en fonction de la concentration de catalyseur

Mise en évidence de a et $k_L a$.

La dépendance attendue pour $\ln \phi$ en fonction de $\ln c_{Co}$ est donnée sur la figure 3.8. Pour des faibles concentrations de catalyseur, le transfert est en régime **physique** et est indépendant de la concentration de cobalt. Pour des concentrations de catalyseur plus élevées, le transfert commence à augmenter (régime **intermédiaire**).

Enfin, pour des concentrations de catalyseur élevées, on obtient une droite de pente 0.5 correspondant au régime accéléré (équation 3.24).

On obtient les coefficients, soit à partir des régimes physique et accéléré, qui fournissent respectivement $k_L a$ et a , soit à partir du régime intermédiaire, qui fournit simultanément a et $k_L a$ à l'aide d'un "Danckwerts plot".

Limitations

Il est nécessaire de connaître numériquement les paramètres physiques k_r , D et c^* , qui sont tous difficiles à estimer de manière précise. La littérature s'accorde à reconnaître que la valeur de k_r est sujette à de grandes variations, qu'elle attribue en général à la qualité du milieu et notamment à la présence d'impuretés qui influencent les propriétés catalytiques.

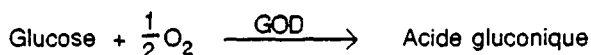
Delaloye [20] a tenté d'étalonner des solutions de milieu réactionnel, destinées à la mesure de a dans des colonnes à garnissage, en mesurant le groupe de paramètres $k_r D$ dans un réacteur d'aire interfaciale connue, en l'occurrence une colonne à film tombant.

Malgré un contrôle particulièrement strict des conditions expérimentales, en utilisant notamment de l'eau bidistillée, il ne semble pas possible d'obtenir une valeur reproductible du groupe de coefficients $k_r D$. Même des essais répétés à l'aide d'un milieu provenant d'une même solution, préparée au préalable en grande quantité, donnent des dispersions de $k_r D$ de l'ordre de 20 %.

La mesure de l'aire interfaciale à l'aide de la méthode du sulfite est par conséquent fortement sujette à controverse. L'étude de la méthode du sulfite par la calorimétrie n'en est que plus justifiée.

3.2.2. Oxydation enzymatique du glucose.

L'oxydation enzymatique du glucose par la glucose-oxydase (GOD) est représentée par la réaction globale :



Cette réaction présente plusieurs aspects intéressants dans le contexte de cette étude. Non seulement elle est une méthode chimique préconisée pour la mesure du $k_L a$, mais elle constitue la réaction principale du métabolisme de la souche d'*Aspergillus niger* utilisée dans ce travail.

Le principe de son utilisation pour la mesure du $k_L a$ est très semblable à celui de la réaction du sulfite : l'oxygène réagit stoechiométriquement avec le glucose, et le transfert d'oxygène durant une certaine période est donné par l'analyse du glucose résiduel. Connaissant la force agissante ($C^* - C_L$), le $k_L a$ est estimé.

La réaction d'oxydation du glucose par la glucose-oxydase a en principe l'avantage sur la méthode du sulfite de mesurer le transfert d'oxygène dans un milieu coalescent, et de plus typique des milieux de fermentation.

Son application est toutefois limitée, contrairement à la réaction du sulfite, à la mesure de $k_L a$. La mesure de a , en régime accéléré, n'est jamais envisagée dans la littérature, sans doute en raison du prix exorbitant des quantités d'enzyme nécessaires. De plus, les limites de concentration d'enzyme nécessaire pour l'obtention d'un régime physique non accéléré n'ont jamais été définies clairement.

La glucose-oxydase.

La glucose-oxydase est une flavoprotéine. Son poids moléculaire est d'environ 160'000 g/mol. Chaque molécule d'enzyme contient deux groupes FAD (flavine adénine dinucléotide), qui sont essentiels à son activité. Son pH optimal est d'environ 6.5.

Son utilisation principale du point de vue industriel est la suppression du glucose dans des mélanges de saccharides. Elle sert également à stabiliser des préparations alimentaires, par

désoxygénation. Sur le plan expérimental, sa principale utilisation est son application à l'analyse du glucose (notamment du glucose sanguin) et dans le domaine des biosenseurs.

L'utilisation de la glucose-oxydase pour la mesure du $k_L a$ a été proposée par Hsieh et al [33]. Le principe a été adopté par Linek et al. [40] [41], qui ont notamment réalisé une étude cinétique approfondie de l'enzyme de qualité commerciale [40]. Cette dernière est en général extraite d'*Aspergillus niger*. Son prix est d'environ 300 francs/gramme, ce qui rend d'emblée son application chère dans le cas de grands réacteurs.

Mécanisme réactionnel.

Un équilibre existe en solution entre les anomères α -glucose et β -glucose, appelé mutarotation (figure 3.9)

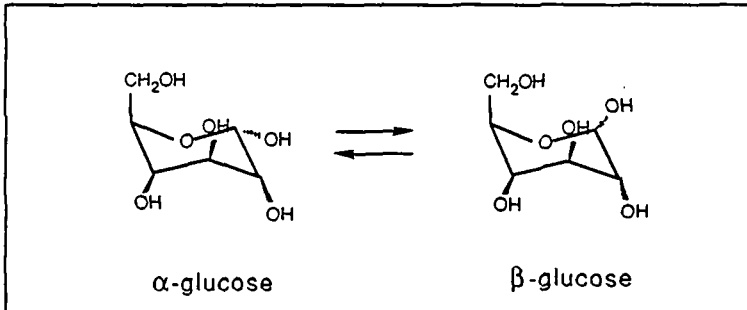


figure 3.9 : Mutarotation du glucose

Seule la forme β est oxydée par la glucose-oxydase. La constante d'équilibre à 30 °C est de 1.608 et la vitesse de la mutarotation peut être donnée par la relation suivante [28] :

$$\frac{dc_{\beta}}{dt} = k_{mut} (c_{\beta^+} - c_{\beta})$$

où c_{β^+} , c_{β} sont respectivement la concentration à l'équilibre et la concentration actuelle de la forme β . k_{mut} vaut $3.48 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ à 30°C [40].

Le schéma réactionnel de l'oxydation de la forme β est le suivant (figure 3.10) :

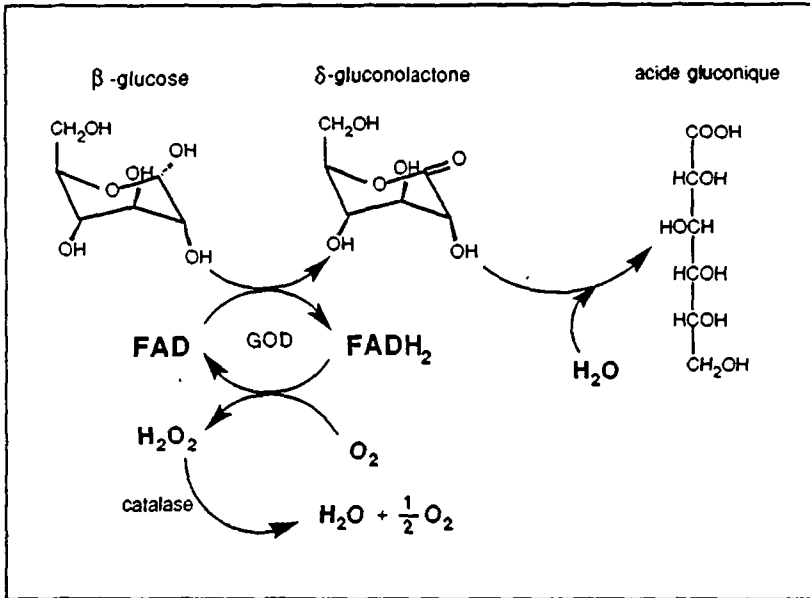


figure 3.10 : Mécanisme réactionnel de l'oxydation du glucose par la GOD

L'action de la glucose-oxydase, et plus précisément de ses groupes actifs FAD, est un mécanisme cyclique - "mécanisme ping-pong" - [26] [46]. Le glucose est oxydé en gluconolactone lors de la réaction réductive (du point de vue de l'enzyme). Chaque groupe FAD stabilise alors 2 protons et deux électrons, qui sont ensuite transmis à l'oxygène dans une seconde réaction, dite oxydative. En milieu acide, la réaction réductive est limitante [68]. L'oxygène est l'accepteur privilégié, mais il n'est pas le seul envisageable .

La présence de catalase est nécessaire afin de maintenir la concentration d'eau oxygénée aussi faible que possible. En effet, l'eau oxygénée désactive de manière irréversible le complexe enzyme-substrat de la réaction réductive [42].

Cinétique.

La majorité des mécanismes réactionnels proposés conduisent à une loi cinétique de la forme [40] :

$$r_{O_2} = \frac{1}{2} \frac{c_E k_{cat}}{1 + \frac{K_O}{c_O} + \frac{K_S}{c_S}}$$

où K_O et K_S [M] sont les coefficients de Michaelis-Menten pour l'oxygène et pour le substrat, respectivement.

La concentration d'enzyme c_E est exprimée en termes de concentration de groupes FAD actifs. La concentration de FAD peut être aisément mesurée par spectrophotométrie, la forme oxydée présentant un pic d'absorption caractéristique à 450 nm.

Un résumé des différents travaux concernant les valeurs des paramètres cinétiques a été publié par Linek [40] et est repris ici (tableau 3.2). Seuls les travaux de Fukushima et al. [24] et Linek [40] ont été réalisés en utilisant une enzyme de qualité commerciale, avec une grande différence quant à la valeur du coefficient K_O .

Si les travaux de Linek semblent avoir une meilleure concordance avec les résultats des autres auteurs, il nous est difficile néanmoins d'adopter ses résultats. En effet, la corrélation donnée par Linek [40] pour l'estimation de la solubilité n'est pas en accord avec d'autres travaux, notamment [49] et les résultats de ce travail (chapitre 8.2). Pour cette raison, l'étude cinétique de Linek sera vérifiée pour la glucose-oxydase utilisée dans ce travail.

réf	source	pH	T[°C]	k_{cat} [s ⁻¹]	K_O [10 ⁻⁴ M]	K_S [M]
[26]	A. niger	5.60	27	1'150	4.8	0.11
[42]	A. niger	5.55	25	1'440	8.2	0.11
[22]	A. niger	5.60	30	1'433	5.37	0.0602
[68]	A. niger	4.95	25	977	5.01	0.108
[11]	P. notatum	5.60	25	1'146	4.81	0.114
[24]	A. niger	5.20	30	1'309	114.8	0.0217
[40]	A. niger	5.55	25	1'152	5.63	0.0823

tableau 3.2 : Constantes cinétiques de la littérature

3.3 Méthodes applicables en cours de culture.

3.3.1. Mesure physique en cours de culture.

Cette méthode est due à Bandyopadhyay et al. [6]. Elle se base, comme les méthodes physique développées au chapitre 3.1, sur l'utilisation d'une sonde pO_2 . Elle se distingue néanmoins de ces méthodes par le fait qu'elle nécessite, contrairement à ces dernières, la présence d'un consommateur d'oxygène en phase liquide. Son principe est le suivant :

Au cours d'une culture, l'aération est coupée ; la concentration d'oxygène dissous, mise en évidence à l'aide de la sonde pO_2 , commence alors à chuter (figure 3.11). Lorsque la concentration a suffisamment baissé, l'aération du réacteur est remise en fonction. La concentration d'oxygène reprend alors progressivement sa valeur initiale. La forme du signal de concentration (figure 3.11), lors de ce retour à la valeur initiale, est caractéristique de la valeur du $k_L a$.

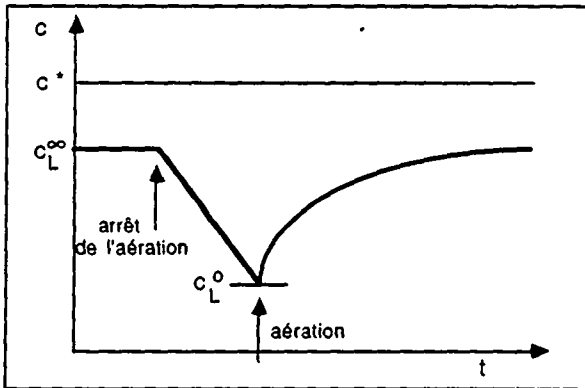


figure 3.11 : Signal de la sonde pO_2 , lors de l'arrêt, puis la remise en fonction de l'aération

Formulation mathématique.

Le bilan d'oxygène en phase liquide s'écrit, en présence d'un consommateur quelconque :

$$\frac{dc_L}{dt} = k_L a (c^* - c_L) - r_{O_2} \quad 3.25$$

Avant le début de la mesure, le système est dans un état pseudo-stationnaire (c.f. chapitre 5), caractérisé par :

$$\frac{dc_L}{dt} = 0$$

La concentration d'oxygène dissous c_L prend alors une valeur c_L^∞ , donnée par :

$$k_L a (c^* - c_L^\infty) = r_{O_2}$$

D'où :

$$c_L^\infty = c^* - \frac{r_{O_2}}{k_L a}$$

Durant la phase où l'aération est coupée, le $k_L a$ peut être considéré comme nul et le bilan d'oxygène devient :

$$\frac{dc_L}{dt} = -r_{O_2}$$

qui s'intègre avec la condition initiale :

$$t = 0 : c_L = c_L^\infty$$

Dans le cas d'une cinétique d'ordre 0 (la demande en oxygène ne dépend pas de la concentration d'oxygène dissous), comme c'est généralement le cas pour les micro-organismes au-dessus d'une concentration critique, la décroissance est alors linéaire et donnée par :

$$c_L = c_L^\infty - r_{O_2} t$$

La pente de $c_L(t)$ fournit alors la valeur de r_{O_2} .

Durant la phase où l'aération est rétablie, Bandyopadhyay et al. proposent de reporter graphiquement la relation différentielle 3.25 sous la forme :

$$c_L = c^* - \frac{1}{k_L a} \left(\frac{dc_L}{dt} + r_{O_2} \right)$$

On utilise la valeur de r_{O_2} mesurée dans la phase de décroissance. Cette manière de faire est toutefois peu précise, notamment en raison de la nécessité d'estimer dc_L/dt .

Il existe une manière alternative d'estimer le $k_L a$ dans le cadre de cette méthode. Cette manière de faire n'a, semble-t-il, jamais été publiée.

Durant la phase où l'aération est rétablie, l'équation 3.25 s'intègre avec la condition initiale :

$$t = 0 : c_L = c_L^0$$

et l'on obtient, pour une cinétique d'ordre 0 :

$$c_L(t) = c_L^\infty - (c_L^\infty - c_L^0) e^{-k_L a t} \quad 3.26$$

qui peut également s'écrire :

$$\ln \left[\frac{c_L^\infty - c_L}{c_L^\infty - c_L^0} \right] = -k_L a t$$

Connaissant les niveaux initial et final du signal de concentration, il est donc possible de déduire la valeur de $k_L a$ sans qu'il soit nécessaire d'estimer r_{O_2} durant la période de décroissance et sans estimer la dérivée dc_L/dt .

Limitations de la méthode.

Une première limitation intervient dans le cas où la cinétique n'est pas d'ordre 0. Les relations ci-dessus ne sont alors plus vérifiées.

Par exemple, pour une cinétique d'ordre 1, le signal de concentration est donné par :

$$c_L(t) = c_L^\infty - (c_L^\infty - c_L^0) e^{-(k_L a + k_1)t} \quad 3.27$$

où k_1 [s^{-1}] est la constante de vitesse de premier ordre et c_L^∞ est donné par :

$$c_L^\infty = c^* \frac{k_1 a}{k_L a + k_1}$$

L'équation 3.27 peut s'écrire sous forme logarithmique :

$$\ln \left[\frac{c_L^\infty - c_L}{c_L^\infty - c_L^0} \right] = - (k_L a + k_1) t$$

La détermination du $k_L a$ reste en principe possible pour autant que k_1 soit connu. Néanmoins, si k_1 est supérieur à $k_L a$, la précision devient mauvaise et ceci d'autant plus si k_1 n'est pas connu de manière précise.

Pour des cinétiques de type Michaelis-Menten, il n'est plus possible de mettre facilement en évidence le paramètre $k_L a$.

Une deuxième limitation concerne la vitesse de réaction r_{O_2} . Cette dernière doit être limitée, faute de quoi la valeur c_L^∞ , au début de la mesure, est déjà très faible. Il n'est plus possible alors d'enregistrer une décroissance du signal de la sonde dans une gamme suffisante. De plus, dans le cas d'une croissance microbienne, on atteint alors des concentrations inférieures à la concentration critique et l'oxygène peut devenir limitant.

3.3.2. Bilans de gaz.

Le transfert d'oxygène peut être estimé de manière simple par un bilan des différents gaz entre l'alimentation en air du réacteur et le gaz de sortie. Toutefois, ce bilan doit être posé avec certaines précautions. En effet, le flux d'air total au travers du réacteur peut être modifié par suite de l'absorption ou de l'entraînement de plusieurs composés.

Le bilan de gaz ne donne accès qu'au paramètre OTR [mol s^{-1}]. L'expression du facteur $k_L a$ nécessite la connaissance du volume liquide et de la force agissante ($c^* - c_L$). Une sonde pO_2 est donc malgré tout nécessaire.

Principes.

Le flux d'air au travers du réacteur se compose de trois flux élémentaires. Premièrement, un flux d'oxygène, qui est en partie absorbé par le volume liquide. Deuxièmement, un flux de gaz inerte qui n'est ni absorbé, ni entraîné, dans des conditions de fonctionnement stationnaires. Et troisièmement, un flux de produits volatils comprenant d'une part le gaz carbonique, qui est éventuellement produit par la croissance microbienne, et d'autre part des produits volatils comme l'éthanol, par exemple. Les différents flux en présence sont schématisés sur la figure 3.12.

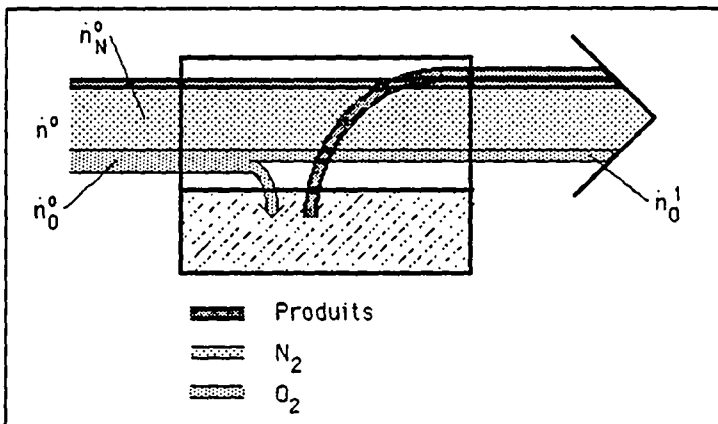


figure 3.12 : Schéma des flux de gaz dans le réacteur

Dans le cas où le CO_2 est le seul produit volatil entraîné par le flux d'air, le bilan a été décrit en détail par Birou [9]. Les mêmes principes sont appliqués ici au cas simplifié d'une réaction sans produit volatil et sans production de CO_2 .

Soit \dot{n}_O^0 et \dot{n}_O^1 les débits molaires d'oxygène respectivement à l'entrée et à la sortie du réacteur.

\dot{n}_N^0 et \dot{n}_N^1 les débits molaires de gaz inerte.

Soit G le débit volumique d'air [Nl s^{-1}] à l'entrée du réacteur dans des conditions normales (0°C , 1 at).

Le flux molaire de gaz inerte est égal à l'entrée et à la sortie du réacteur, et vaut :

$$\dot{n}_N^0 = \dot{n}_N^1 = \dot{n}_N = (1 - y_{O^0}) G \frac{P^0}{RT^0}$$

où P^0 et T^0 sont pris aux conditions normales.

Dans des conditions stationnaires, le flux d'oxygène absorbé OTR [mol s^{-1}] est égal au flux d'oxygène entrant, moins le flux sortant du réacteur, qui peuvent chacun être écrit par rapport au flux de gaz inerte en faisant intervenir les rapports molaires des deux constituants :

$$\text{OTR} = \dot{n}_O^0 - \dot{n}_O^1 = \dot{n}_N \left[\frac{y_{O^0}}{1 - y_{O^0}} - \frac{y_{O^1}}{1 - y_{O^1}} \right]$$

$$\text{OTR} = G \frac{P^0}{RT^0} \left[y_{O^0} - (1 - y_{O^0}) \frac{y_{O^1}}{1 - y_{O^1}} \right] \quad 3.28$$

Dans le cas où du CO_2 est produit, la consommation d'oxygène OTR s'exprime de manière plus générale [9] :

$$\text{OTR} = G \frac{P^0}{RT^0} \left[y_{O^0} - y_{O^1} \frac{y_{N^0}}{y_{N^1}} \right] ;$$

avec $y_N = 1 - y_O - y_C$; où y_C est la fraction molaire de CO_2 .

Précision sur la mesure de OTR.

La précision des analyseurs d'oxygène existant actuellement sur le marché limite fortement l'utilisation des bilans de gaz pour une estimation précise du transfert d'oxygène, dans le cas de réacteurs à l'échelle du laboratoire.

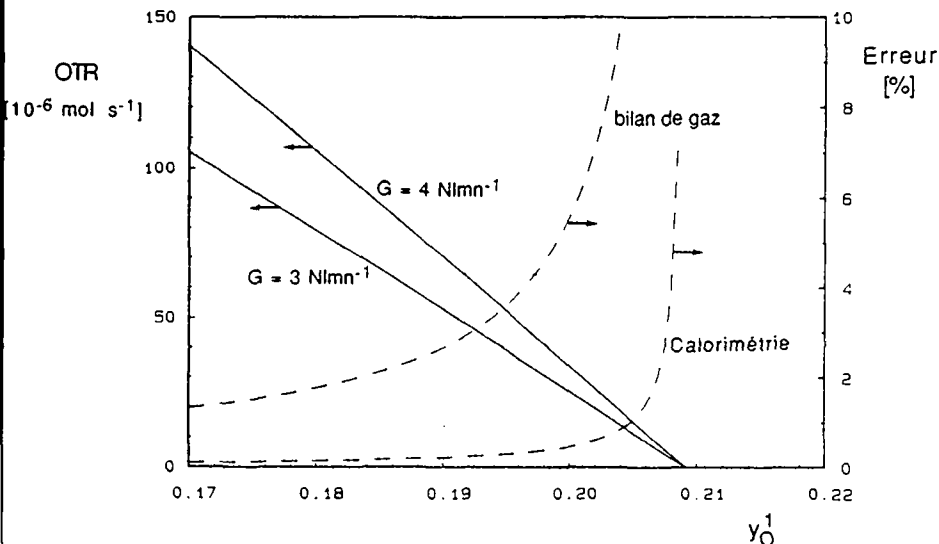


figure 3.13 : Transfert OTR en fonction de la composition du gaz de sortie; précision des méthodes de mesure

L'appareil le plus sensible pour l'analyse de l'oxygène dans l'air est la balance paramagnétique (type Servomex, Taylor Instruments, Crowborough GB). Dans le meilleur des cas, sa précision atteint 1% de la gamme de mesure calibrée. La précision sur la valeur de y_{O^1} est, dans les meilleures conditions, de ± 0.0005 .

La figure 3.13 montre le transfert OTR en fonction de la fraction molaire en oxygène dans le gaz de sortie y_{O^1} , calculé par l'équation 3.28, pour deux débits de gaz utilisés au cours de ce travail.

Sur la même figure est reportée l'erreur relative sur OTR, en %. On a admis, pour le calcul de cette erreur, la précision déjà mentionnée de ± 0.0005 sur la valeur de y_{O_2} .

A but comparatif, la précision avec laquelle la calorimétrie est capable de mettre en évidence les mêmes transferts peut être calculée, connaissant le rendement de chaleur de la réaction consommant l'oxygène et la précision du signal de chaleur. Cette précision est reportée sur la figure 3.13, pour une erreur sur le signal de chaleur de ± 0.1 W et un rendement de chaleur typique de 615 kJ/mol.

On voit que la calorimétrie permet sans conteste une estimation plus précise du transfert d'oxygène que le bilan de gaz.



4. Développement d'une méthode physique alternative : Méthode de la pente.

4.1. Principes de base.

4.1.1. Développement pour 2 étages unitaires.

Soit un système composé de deux étages exponentiels, en série. On analyse la réponse à un saut indiciel du signal d'entrée.

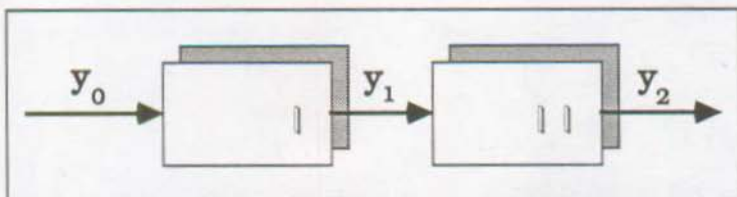


figure 4.1: Schéma de principe d'un système composé de deux étages en série

Ce type de système a déjà été traité au chapitre 3.1.1. Il est décrit de manière adimensionnelle par les deux équations différentielles :

$$\frac{dY_1}{dt} = a_1 (1 - Y_1)$$

$$\frac{dY_2}{dt} = a_2 (Y_1 - Y_2)$$

avec les conditions initiales : $t = 0 ; Y_1 = Y_2 = 0$

Les solutions $Y_1(t)$ et $Y_2(t)$ sont :

$$Y_1(t) = 1 - e^{-a_1 t}$$

$$Y_2(t) = 1 + \frac{a_2}{a_1 - a_2} e^{-a_1 t} + \frac{a_1}{a_2 - a_1} e^{-a_2 t}$$

Dans le cas particulier où $a_1 \rightarrow a_2$, un calcul de limite montre que:

$$Y_2(t) \rightarrow 1 - e^{-a_1 t} = Y_1(t)$$

La réponse $Y_2(t)$ est une fonction de type sigmoïde. Elle évolue de 0 à 1 pour $0 < t < \infty$, avec un point d'inflexion pour $a_1 e^{-a_1 t} = a_2 e^{-a_2 t}$, condition qui correspond à l'annulation de la deuxième dérivée.

Cette réponse peut être avantageusement représentée sous la forme suivante :

$$1 - Y_2(t) = \frac{a_2}{a_2 - a_1} e^{-a_1 t} + \frac{a_1}{a_1 - a_2} e^{-a_2 t}$$

D'où :

$$\ln [1 - Y_2(t)] = \ln \left[\frac{a_2}{a_2 - a_1} e^{-a_1 t} + \frac{a_1}{a_1 - a_2} e^{-a_2 t} \right] \quad 4.1$$

Dans le but de décrire cette fonction $\ln [1 - Y_2(t)]$, calculons sa première dérivée.

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} [\ln [1 - Y_2(t)]] &= \frac{1}{1 - Y_2(t)} \frac{d}{dt} [1 - Y_2(t)] \\ &= \frac{-\frac{a_1 a_2}{a_2 - a_1} e^{-a_1 t} - \frac{a_1 a_2}{a_1 - a_2} e^{-a_2 t}}{\frac{a_2}{a_2 - a_1} e^{-a_1 t} + \frac{a_1}{a_1 - a_2} e^{-a_2 t}} \\ &= -\frac{e^{-a_1 t} - e^{-a_2 t}}{\frac{1}{a_1} e^{-a_1 t} - \frac{1}{a_2} e^{-a_2 t}} \quad 4.2 \end{aligned}$$

Supposons que $a_1 > a_2$ (le raisonnement est parfaitement applicable au cas inverse) ; alors $e^{-a_1 t}$ décroît plus rapidement que $e^{-a_2 t}$, comme le montre la figure 4.2.

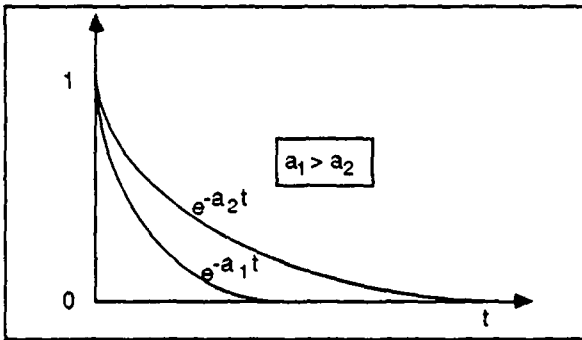


figure 4.2 : Rapport de deux exponentielles décroissantes

$$\text{A } t=0 : e^{-a_1 t} = e^{-a_2 t} = 1 ; \quad \frac{e^{-a_1 t}}{e^{-a_2 t}} = 1$$

$$\text{A } t>0 : e^{-a_1 t} < e^{-a_2 t} \quad ; \quad \frac{e^{-a_1 t}}{e^{-a_2 t}} = e^{-(a_1 - a_2)t}$$

Le rapport des deux exponentielles est lui-même une fonction exponentielle décroissante et tend vers 0.

On en déduit donc que :

Si $a_1 > a_2$, il existe un temps minimal à partir duquel $e^{-a_1 t}$ est négligeable vis-à-vis de $e^{-a_2 t}$.

Au niveau de la pente de la fonction $\ln [1 - Y_2(t)]$, la propriété qui vient d'être mise en évidence se traduit de la manière suivante :

Si $a_1 > a_2$, il existe un temps minimal à partir duquel, dans 4.2 :

$$\frac{e^{-a_1 t} - e^{-a_2 t}}{\frac{1}{a_1} e^{-a_1 t} - \frac{1}{a_2} e^{-a_2 t}} = \frac{e^{-a_2 t}}{\frac{1}{a_2} e^{-a_2 t}} = -a_2$$

La fonction $\ln [1 - Y_2(t)]$ (équation 4.1) devient alors une droite :

$$\begin{aligned} \ln [1 - Y_2(t)] &= \ln \left[\frac{a_1}{a_1 - a_2} e^{-a_2 t} \right] \\ &= -a_2 t + \ln \frac{a_1}{a_1 - a_2} \end{aligned} \quad 4.3$$

Le raisonnement est encore une fois parfaitement applicable au cas inverse $a_2 > a_1$. La pente de $\ln [1 - Y_2(t)]$ tend alors vers $-a_1$.

Conclusion : La valeur absolue de la pente de $\ln [1 - Y_2(t)]$ tend, après un certain temps, vers le coefficient a_i de l'étage qui a la réponse la plus lente.

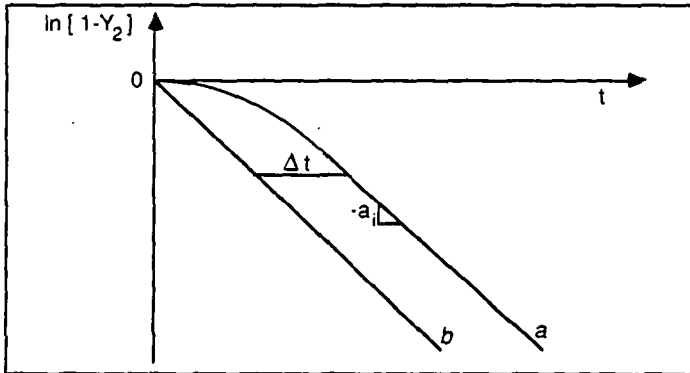


figure 4.3 : Fonctions $\ln (1 - Y_2(t))$ pour un système de deux étages exponentiel en série.

Retard dû à l'étage rapide.

La figure 4.3 présente l'allure de la fonction $\ln [1 - Y_2(t)]$ (courbe a). La courbe b est la courbe obtenue pour une fonction exponentielle de type : $Y_2(t) = 1 - e^{-a_1 t}$. L'effet de l'étage ayant la réponse la plus rapide se manifeste par un retard Δt . Δt peut être calculé en égalant les fonctions représentant la partie droite de la

courbe a (équation 4.3) et la courbe b pour des temps respectifs t_1 et t_2 , avec $\Delta t = t_2 - t_1$. Toujours dans le cas où l'étage limitant est le deuxième étage ($a_1 > a_2$) :

$$\ln [e^{-a_2 t_1}] = \ln \left[\frac{a_1}{a_1 - a_2} e^{-a_2 t_2} \right]$$

D'où :

$$\Delta t = \frac{1}{a_2} \ln \frac{a_1}{a_1 - a_2} \quad 4.4$$

4.1.2. Généralisation à n étages unitaires.

Dans le cas où l'on considère non plus un système composé de deux étages exponentiels, mais une suite de 3 étages, la réponse Y_3 vaut :

$$Y_3(t) = 1 + \frac{a_2 a_3 e^{-a_1 t}}{(a_1 - a_2)(a_3 - a_1)} + \frac{a_1 a_3 e^{-a_2 t}}{(a_2 - a_1)(a_3 - a_2)} + \frac{a_1 a_2 e^{-a_3 t}}{(a_3 - a_1)(a_2 - a_3)} \quad 4.5$$

On peut à nouveau montrer par un calcul de limite que, si deux termes a_i sont égaux, la solution $Y_3(t)$ tend vers la solution développée précédemment pour deux étages.

La dérivée de $\ln [1 - Y_3(t)]$ vaut :

$$\frac{d}{dt} [\ln [1 - Y_3(t)]] = \frac{\frac{e^{-a_1 t}}{(a_1 - a_2)(a_3 - a_1)} + \frac{e^{-a_2 t}}{(a_2 - a_1)(a_3 - a_2)} + \frac{e^{-a_3 t}}{(a_3 - a_1)(a_2 - a_3)}}{\frac{e^{-a_1 t}}{a_1(a_1 - a_2)(a_3 - a_1)} + \frac{e^{-a_2 t}}{a_2(a_2 - a_1)(a_3 - a_2)} + \frac{e^{-a_3 t}}{a_3(a_3 - a_1)(a_2 - a_3)}} \quad 4.6$$

Supposons par exemple que $a_2 < a_3$ et $a_2 < a_1$ (le deuxième étage a la réponse la plus lente). La pente peut également s'écrire :

$$\frac{d}{dt} [\ln [1 - Y_3(t)]] = - \frac{\frac{(a_3 - a_2)e^{-a_1 t}}{(a_3 - a_1)e^{-a_2 t}} + 1 - \frac{(a_1 - a_2)e^{-a_3 t}}{(a_1 - a_3)e^{-a_2 t}}}{\frac{(a_3 - a_2)e^{-a_1 t}}{a_1(a_3 - a_1)e^{-a_2 t}} + \frac{1}{a_2} - \frac{(a_1 - a_2)e^{-a_3 t}}{a_3(a_1 - a_3)e^{-a_2 t}}}$$

A nouveau, pour un temps suffisamment long :

$$\frac{e^{-a_1 t}}{e^{-a_2 t}} \rightarrow 0 \quad \text{et} \quad \frac{e^{-a_3 t}}{e^{-a_2 t}} \rightarrow 0$$

D'où :

$$\frac{d}{dt} [\ln [1 - Y_3(t)]] \rightarrow -a_2$$

La fonction $\ln [1 - Y_3(t)]$ ($Y_3(t)$ est donné par l'équation 4.5) devient alors une droite :

$$\begin{aligned} \ln [1 - Y_3(t)] &= \ln \left[\frac{a_1 a_3}{(a_2 - a_1)(a_3 - a_2)} e^{-a_2 t} \right] \\ &= -a_2 t + \ln \frac{a_1 a_3}{(a_2 - a_1)(a_3 - a_2)} \end{aligned}$$

Retard dû aux étages rapides.

Le retard introduit par les deux étages les plus rapides par rapport à la réponse de l'étage le plus lent seul s'exprime, de manière analogue au cas de deux étages en cascade, en égalant les deux réponses pour des temps respectifs t_1 et t_2 :

$$\ln [e^{-a_2 t_1}] = \ln \left[\frac{a_1 a_3}{(a_2 - a_1)(a_3 - a_2)} e^{-a_2 t} \right]$$

D'où :

$$\Delta t = t_2 - t_1 = \frac{1}{a_2} \ln \frac{a_1 a_3}{(a_2 - a_1)(a_3 - a_2)}$$

Solution générale.

Dans le cas général de n étages de premier ordre en cascade, la solution $Y_n(t)$ a la forme :

$$Y_n(t) = 1 - \sum_{j=1}^n \left\{ e^{-a_j t} \cdot \prod_{\substack{i=1 \\ i \neq j}}^n \left(\frac{a_i}{a_i - a_j} \right) \right\}$$

On peut montrer, de manière analogue à ce qui a été fait dans le cas de trois étages exponentiels en cascade, que dans le cas, par exemple, où le deuxième étage est l'étage le plus lent, la pente tend après un certain temps vers $-a_2$ et la fonction $\ln [1 - Y_n(t)]$ tend vers une droite. Son équation est :

$$\begin{aligned} \ln [1 - Y_n(t)] &= \ln \left[\prod_{\substack{i=1 \\ i \neq 2}}^n \left(\frac{a_i}{a_i - a_2} \right) e^{-a_2 t} \right] \\ &= -a_2 t + \ln \left[\prod_{\substack{i=1 \\ i \neq 2}}^n \left(\frac{a_i}{a_i - a_2} \right) \right] \end{aligned}$$

Le retard introduit par les étages les plus rapides est alors :

$$\Delta t = \frac{1}{a_2} \ln \left[\prod_{\substack{i=1 \\ i \neq 2}}^n \left(\frac{a_i}{a_i - a_2} \right) \right]$$

La solution $Y_n(t)$ étant parfaitement symétrique par rapport aux différents étages, le développement ci-dessus reste vrai dans le cas où un autre étage est le plus lent.

Pour un système composé de n étages exponentiels en série, la pente de la fonction $\ln [1 - Y_n(t)]$ tend toujours, en valeur absolue, vers l'inverse de la constante de temps de l'étage dont la réponse est la plus lente.

4.1.3. Domaine de pente constante.

Lors de l'exploitation de courbes du type de celles de la figure 4.3, il n'est pas évident de décider visuellement à partir de quel instant la fonction $\ln [1-Y]$ devient linéaire. Essayons de cerner quelque peu ce temps minimal à partir duquel les termes contenant une exponentielle à décroissance rapide deviennent négligeables .

Le cas le plus simple de deux étages exponentiels en série sera tout d'abord développé, puis l'on tentera de l'extrapoler à un nombre d'étages plus élevé.

Cas de deux étages.

Soit $r_e(t)$ le rapport des exponentielles. On suppose à nouveau que $a_1 > a_2$:

$$r_e(t) = \frac{e^{-a_1 t}}{e^{-a_2 t}} = e^{-(a_1 - a_2)t}$$

La solution $(1 - Y_2(t))$ (équation 4.1) peut être réécrite en fonction de $r_e(t)$:

$$1 - Y_2(t) = e^{-a_1 t} \left[\frac{a_2}{a_2 - a_1} + \frac{a_1}{a_1 - a_2} \frac{1}{r_e} \right] \quad 4.7$$

D'autre part, tant que r_e n'est pas rigoureusement égal à 0, on fait une certaine erreur relative ε , lorsque l'on suppose que la pente de la fonction $\ln [1-Y_2]$ est égale à $-a_2$. Cette erreur tend vers 0 lorsque la fonction devient réellement linéaire. De manière générale, ε est donné par :

$$\varepsilon = \frac{-a_2 - \frac{d}{dt} [\ln [1 - Y_2(t)]]}{-a_2} \quad 4.8$$

Dans cette dernière relation, $\frac{d}{dt} [\ln [1 - Y_2(t)]]$, tiré de 4.2, peut également s'écrire en fonction de r_e :

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} [\ln [1 - Y_2(t)]] &= - \frac{\frac{e^{-a_1 t}}{e^{-a_2 t}} - 1}{\frac{1}{a_1} \frac{e^{-a_1 t}}{e^{-a_2 t}} - \frac{1}{a_2}} \\ &= - \frac{r_e - 1}{\frac{1}{a_1} r_e - \frac{1}{a_2}} \end{aligned}$$

En remplaçant dans 4.8 :

$$\varepsilon = 1 - \frac{r_e - 1}{\frac{a_2}{a_1} r_e - 1} \quad \text{ou : } r_e = - \frac{\varepsilon}{\frac{a_2}{a_1} (1 - \varepsilon) - 1}$$

Et en introduisant $r_e(\varepsilon)$ dans 4.7 :

$$1 - Y_2(t) = e^{-a_1 t} \left[\frac{a_2}{a_2 - a_1} - \frac{a_1}{a_1 - a_2} \frac{\frac{a_2}{a_1} (1 - \varepsilon) - 1}{\varepsilon} \right]$$

qui se simplifie :

$$1 - Y_2(t) = e^{-a_1 t} \frac{1}{\varepsilon}$$

sous forme logarithmique :

$$\ln [1 - Y_2(t)] = - \ln \varepsilon - a_1 t \quad 4.9$$

L'équation 4.9 représente le lieu géométrique des points pour lesquels on fait une erreur ε lorsque l'on suppose que la pente de $\ln [1-Y_2(t)]$ vaut $-a_2$. Chose surprenante et à priori non-prévisible, ce lieu géométrique est une droite dont l'ordonnée à l'origine est $-\ln \varepsilon$, et dont la pente est égale en valeur absolue au coefficient a_1 , qui est celui de l'étage dont la réponse est la plus rapide. L'allure de cette droite est représentée sur la figure 4.4 pour différentes valeurs de ε , ainsi que la fonction $\ln [1-Y_2(t)]$ pour différentes valeurs de a_2 .

On voit que chaque droite est en quelque sorte une "limite de confiance", qui sépare le plan en deux parties : dans la partie de gauche, la pente en chaque point a une erreur relative par rapport à a_2 supérieure à ε , alors que dans la partie droite, l'erreur est inférieure à ε .

De plus, étant donné que $-a_2$ est estimé pratiquement par une régression linéaire, l'erreur sur la pente sera encore notablement plus faible que l'erreur sur le point le plus à gauche du domaine considéré pour la régression.

Cas à trois étages.

A nouveau, une extension à un système de trois étages est nécessaire dans un premier temps, de laquelle une extrapolation au cas général de n étages est éventuellement possible.

Supposons à nouveau que le deuxième étage possède la constante de temps la plus élevée, donc le coefficient a_i le plus faible.

La solution pour $Y_3(t)$ (équation 4.5) peut être réécrite :

$$1 - Y_3(t) = e^{-a_1 t} \left[- \frac{a_2 a_3}{(a_1 - a_2)(a_3 - a_1)} - \frac{a_1 a_3}{(a_2 - a_1)(a_3 - a_2)} \frac{1}{r_e} - \frac{a_1 a_2}{(a_3 - a_1)(a_2 - a_3)} \frac{e^{-a_3 t}}{e^{-a_1 t}} \right] \quad 4.10$$

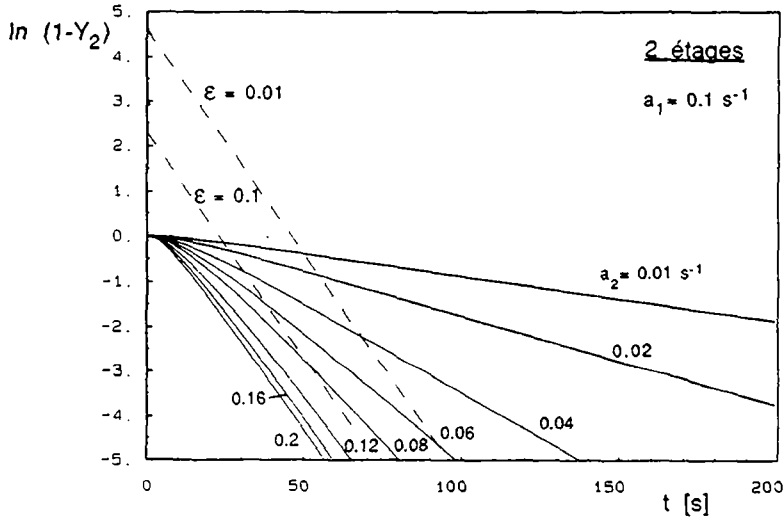


figure 4.4 : Calcul de $\ln(1-Y_2(t))$ pour différentes valeurs de a_2 ; $a_1 = 0.1 \text{ s}^{-1}$;
mise en évidence des points d'erreur ϵ par rapport à la pente finale

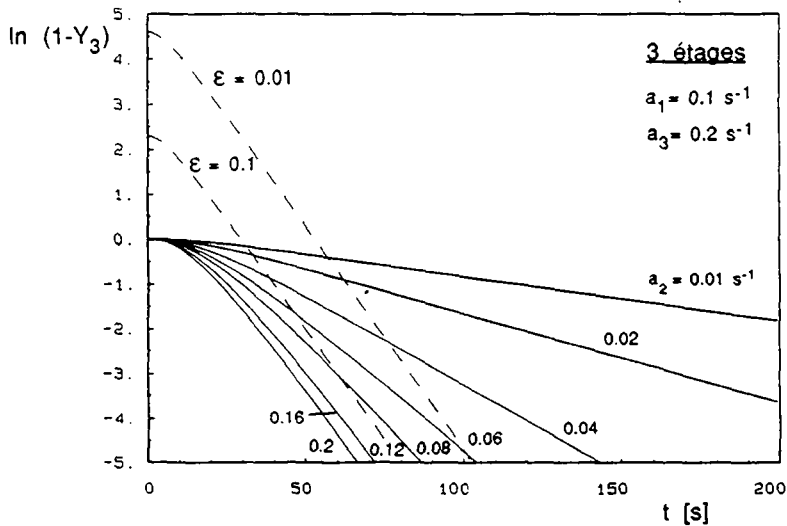


figure 4.5 : Calcul de $\ln(1-Y_3(t))$ pour différentes valeurs de a_2 ; $a_1 = 0.1 \text{ s}^{-1}$;
 $a_3 = 0.2 \text{ s}^{-1}$; mise en évidence des points d'erreur ϵ par rapport à la pente finale

La pente $\frac{d}{dt} [\ln [1 - Y_3(t)]]$, tirée de l'équation 4.6, est remplacée dans l'équation 4.8, en faisant apparaître le rapport r_e de la même manière que dans 4.10, de telle sorte que l'on obtient une fonction $r_e(\mathcal{E})$.

$$\frac{1}{r_e} = \frac{1}{\mathcal{E}} \frac{a_3 - a_2}{a_3 - a_1} \left[1 - \frac{a_2}{a_1} (1 - \mathcal{E}) - \frac{e^{-a_3 t}}{e^{-a_1 t}} \frac{a_2 - a_1}{a_2 - a_3} \left[1 - \frac{a_2}{a_3} (1 - \mathcal{E}) \right] \right]$$

$1/r_e$ peut être remplacé dans 4.10, pour obtenir enfin :

$$1 - Y_3(t) = \frac{1}{\mathcal{E}} \left[\frac{a_3}{a_3 - a_1} e^{-a_1 t} + \frac{a_1}{a_1 - a_3} e^{-a_3 t} \right]$$

qui s'écrit sous forme logarithmique :

$$\ln [1 - Y_3(t)] = -\ln \mathcal{E} + \ln \left[\frac{a_3}{a_3 - a_1} e^{-a_1 t} + \frac{a_1}{a_1 - a_3} e^{-a_3 t} \right]$$

La droite de confiance que l'on avait dans le cas de deux étages exponentiels devient une courbe, qui coupe toujours l'axe vertical en $-\ln \mathcal{E}$ (figure 4.5). En ce qui concerne la forme de la courbe, on connaît parfaitement bien la forme de ce type de fonction, qui est tout-à-fait semblable à la réponse que l'on obtient pour un système de deux étages exponentiels de coefficients respectifs $a_i = \{a_1, a_3\}$.

Si on suppose que $a_3 > a_1$, la pente de cette fonction va être après un certain temps $-a_1$. Le retard, comme défini au chapitre 4.1 (équation 4.3), par rapport à la droite représentant $Y = 1 - e^{-a_1 t}$ est donné par :

$$\Delta t = \frac{1}{a_1} \ln \frac{a_3}{\mathcal{E}(a_3 - a_1)}$$

De façon générale, pour un système composé de n étages exponentiels en série, on peut montrer de la même manière que la "courbe de confiance" peut être exprimée en supprimant la contribution de l'étage le plus lent que l'on cherche à mesurer, puis en décalant la réponse ainsi obtenue vers le haut d'une valeur $-\ln \varepsilon$.

4.2. Application à la mesure de $k_L a$.

Supposons que le réacteur aéré décrit dans le cadre de la méthode des moments puisse être considéré comme une suite d'étages exponentiels, lorsqu'il est soumis à une expérience de type **réponse globale** comme décrit au chapitre 3.1.2. Des quatre étages exponentiels en présence, le plus lent est en général le transfert de matière.

En effet, le $k_L a$ prend des valeurs typiques de l'ordre de 0.1 s^{-1} , donc $1/k_L a$ est de l'ordre de 10 s. Le mélange des gaz est en général plus rapide. En ce qui concerne le temps de réponse de la sonde, il existe sur le marché des sondes à oxygène ayant une constante de temps de quelques secondes. Dans bon nombre de cas, en reportant la réponse de la sonde Γ sous la forme $\ln [1-\Gamma]$, on doit obtenir après un certain temps une pente égale à $-k_L a$.

La mesure de $k_L a$ par cette méthode a l'avantage de ne nécessiter qu'un travail expérimental minimum. La seule information nécessaire est la réponse globale du système. La dynamique de la phase gazeuse, ainsi que la réponse intrinsèque de la sonde, qui étaient toutes deux d'importantes sources d'erreurs dans le cadre de la méthode des moments, n'interviennent plus que dans la forme initiale des courbes $\ln [1-\Gamma]$, et ne jouent plus aucun rôle dans l'estimation de $k_L a$.

Néanmoins, il faut se souvenir que le système réel n'est pas rigoureusement une suite d'étages exponentiels, en raison de la nature quelque peu particulière de l'étage de dynamique de la phase gazeuse, comme cela a été mentionné au chapitre 3.1.2. Il conviendra donc de vérifier quel est l'effet de cet étage particulier sur la pente finale.

Discussion.

L'utilisation de la pente de la fonction $\ln [1-\Gamma]$ pour la mesure de $k_L a$ a déjà été proposée par un certain nombre d'auteurs, sans que les bases théoriques et les limites de validité aient été définies clairement. La publication originale de Bartholomew est en effet basée sur ce principe, mais la dynamique de la phase gazeuse est mal définie et est négligée.

Plus tard, Ruchti, Dunn et Bourne [58] ont reporté les réponses globales sous la forme $\ln [1-\Gamma]$ et proposent ensuite de déplacer empiriquement les courbes obtenues, de manière à ce que l'ordonnée à l'origine de la partie linéaire soit nulle. Ils ont implicitement utilisé la pente finale de la fonction, sans le formuler de manière explicite.

Deux publications de Nakanoh [47] [48] utilisent vraisemblablement la méthode de la pente pour la mesure de $k_L a$. Les bases théoriques de cette mesure n'y sont pas développées et ne l'ont, semble-t-il, jamais été sur le plan international.

Dans une autre direction, les auteurs qui ont travaillé sur la modélisation de la réponse de la sonde à l'aide de la loi de Fick ont également remarqué que lorsque la réponse de la sonde est rapide, le $k_L a$ peut être tiré de la pente de $\ln [1-\Gamma]$. C'est le cas de Linek et al. [39], notamment. Mais ces auteurs négligent la dynamique de la phase gazeuse, donc leur analyse n'est pas complète.

Malgré l'appellation "méthode de la pente" utilisée au cours de ce travail, cette méthode est à distinguer de la méthode dite "slope method" publiée par Wernau et Wilke [69], qui fait partie des méthodes basées sur la modélisation de la sonde, et qui tient d'ailleurs compte du retard dû à la dynamique gazeuse, en estimant la pente au point d'inflexion de la courbe $\Gamma(t)$.

Ce travail va s'attacher à démontrer que, si la réponse de la sonde, dans le cadre d'une sonde rapide, est négligeable, comme l'a montré Linek, en revanche la dynamique de la phase gazeuse peut entraîner des déviations importantes, dans le cadre de toutes les méthodes basées plus ou moins directement sur l'estimation de la pente de $\ln [1-\Gamma]$.

4.3. Influence de la dynamique de la phase gazeuse.

Le développement de la méthode de la pente s'est borné jusqu'ici à considérer une suite en série de systèmes exponentiels. Or, il a été vu au chapitre 3.1.2 que la dynamique de la phase gazeuse n'est pas, de manière rigoureuse, un phénomène de type exponentiel, en raison de l'influence du terme lié au transfert de matière. Il convient donc d'examiner maintenant l'effet de la nature particulière de l'étage "dynamique de la phase gazeuse".

Le premier moment de $C_G(t)$ a été calculé au chapitre 3.1.2, mais pas sa solution analytique exacte. Pour ce faire, il est nécessaire de résoudre le système d'équations différentielles donné par les équations 3.11 et 3.12.

4.3.1. Résolution matricielle.

La méthode de transformation dans l'espace de Laplace a l'avantage de mettre aisément en évidence les premiers moments des différentes fonctions C_i , ce qui est suffisant pour la compréhension de la méthode des moments. En revanche, il est plus difficile d'en tirer des solutions analytiques pour ces différents signaux.

La méthode de résolution matricielle des systèmes d'équations différentielles linéaires permet non seulement cette résolution, mais a l'avantage de mettre en évidence les constantes de temps sous un jour quelque peu nouveau. Cette méthode découle de notions fondamentales d'algèbre linéaire. Elle est notamment décrite dans [21].

Le système à résoudre est du type :

$$\frac{dC_G}{dt} = a_1 (1 - C_G) + a_1' (C_G - C_L)$$

$$\frac{dC_L}{dt} = a_2 (C_G - C_L)$$

$$\text{où : } a_1 = \frac{1}{\tau_G} ; a_2 = k_L a ; a_1' = -k_L a \frac{V_L RT}{V_G H}$$

Le système peut s'écrire sous forme matricielle :

$$\begin{bmatrix} C'_G \\ C'_L \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} a'_1 - a_1 & -a'_1 \\ a_2 & -a_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} C_G \\ C_L \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} a_1 \\ 0 \end{bmatrix}$$

ou : $C' = A \cdot C + B$

La matrice A possède deux valeurs propres λ_1 et λ_2 définies par :

$$\det [A - \lambda_i I] = 0 \quad 4.11$$

Où I est la matrice identité. L'équation 4.11 donne :

$$\lambda_i^2 + \lambda_i(a_1 + a_2 - a'_1) + a_1 a_2 = 0 \quad 4.12$$

A ces valeurs propres λ_i sont associés des vecteurs propres $\begin{bmatrix} x_{1i} \\ x_{2i} \end{bmatrix}$, tels que :

$$[A - \lambda_i I] \begin{bmatrix} x_{1i} \\ x_{2i} \end{bmatrix} = 0$$

En remplaçant A , on trouve un vecteur propre associé à la valeur propre λ_i . L'équation ci-dessus étant à l'évidence indéterminée, il existe une infinité de vecteurs propres pour chaque valeur λ_i . L'un d'entre eux est par exemple :

$$\begin{bmatrix} 1 \\ \frac{a_2}{a_2 + \lambda_i} \end{bmatrix}$$

L'ensemble des vecteurs propres associés aux différentes valeurs propres λ_i constitue une base propre du système et définit une matrice de passage P composée des coordonnées des vecteurs propres, et son inverse P^{-1} .

$$P = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ \frac{a_2}{a_2 + \lambda_1} & \frac{a_2}{a_2 + \lambda_2} \end{bmatrix}$$

$$P^{-1} = \begin{bmatrix} \frac{a_2 + \lambda_1}{\lambda_1 - \lambda_2} & - \frac{[a_2 + \lambda_1][a_2 + \lambda_2]}{a_2 [\lambda_1 - \lambda_2]} \\ - \frac{a_2 + \lambda_2}{\lambda_1 - \lambda_2} & \frac{[a_2 + \lambda_1][a_2 + \lambda_2]}{a_2 [\lambda_1 - \lambda_2]} \end{bmatrix}$$

Tout vecteur C de la base de départ peut être exprimé par un vecteur X dans la base propre, et inversement, par les relations :

$$X = P^{-1} C \quad \text{ou} \quad C = P X \quad 4.13$$

Le système à résoudre : $C' = A C + B$; peut s'écrire :

$$P X' = A P X + B$$

et enfin : $X' = P^{-1} A P X + P^{-1} B$

On peut montrer que $P^{-1} A P$ est une matrice diagonale composée des éléments λ_j . Donc :

$$\begin{bmatrix} X_1' \\ X_2' \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \lambda_1 & 0 \\ 0 & \lambda_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X_1 \\ X_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} C_1 \\ C_2 \end{bmatrix} \quad \text{avec} \quad \begin{bmatrix} C_1 \\ C_2 \end{bmatrix} = P^{-1} B$$

Il s'agit donc maintenant de résoudre deux équations en X_j de type:

$$\frac{dX_j}{dt} = \lambda_j X_j + b_j$$

dont les solutions sont :

$$X_i = -\frac{b_i}{\lambda_i} (1 - e^{\lambda_i t})$$

Connaissant les solutions X_i dans la base propre, on peut calculer les solutions C_i dans la base de départ, par la relation 4.13.

$$\begin{bmatrix} C_G \\ C_L \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ \frac{a_2}{a_2 + \lambda_1} & \frac{a_2}{a_2 + \lambda_2} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X_1 \\ X_2 \end{bmatrix}$$

Et la solution pour C_G s'exprime :

$$C_G = -\frac{b_1}{\lambda_1} (1 - e^{\lambda_1 t}) - \frac{b_2}{\lambda_2} (1 - e^{\lambda_2 t})$$

On peut montrer que : $-\frac{b_1}{\lambda_1} - \frac{b_2}{\lambda_2} = 1$

Et la solution devient :

$$C_G = 1 + \alpha e^{\lambda_1 t} - (1 + \alpha) e^{\lambda_2 t} \quad \text{où : } \alpha = \frac{a_1(a_2 + \lambda_1)}{\lambda_1(\lambda_1 - \lambda_2)} \quad 4.14$$

De manière analogue, la solution pour C_L est :

$$C_L = 1 + \beta e^{\lambda_1 t} - (1 + \beta) e^{\lambda_2 t} \quad \text{où : } \beta = \frac{a_1 a_2}{\lambda_1(\lambda_1 - \lambda_2)} \quad 4.15$$

Cas particulier : $a_1' \rightarrow 0$.

Le cas où $a_1' \rightarrow 0$ correspond en fait au cas de deux étages de premier ordre en série. Le calcul des valeurs propres du système (équation 4.12) donne alors :

$$\lambda_1^2 + \lambda_1(a_1 + a_2) + a_1 a_2 = 0$$

qui a pour solution : $\lambda_1 = -a_1 = -\frac{1}{\tau_G}$; $\lambda_2 = -a_2 = -k_L a$

On voit alors apparaître les constantes de temps des différents étages comme les inverses en valeur absolue des valeurs propres du système, et $k_L a$ devient notamment l'une de ces valeurs propres.

Les solutions 4.14 et 4.15 prennent alors la forme :

$$C_G = 1 - e^{-t/\tau_G}$$

$$C_L = 1 + \frac{1}{k_L a \tau_G - 1} e^{-k_L a t} - \frac{k_L a \tau_G}{k_L a \tau_G - 1} e^{-t/\tau_G}$$

et l'on retrouve bien la forme générale d'un étage de premier ordre pour C_G et de deux étages de premier ordre en série pour C_L .

Description de la solution générale : $a_1' \neq 0$

Si $a_1' \neq 0$, la fonction C_G n'est pas une fonction exponentielle, mais une somme de deux termes exponentiels. $C_G(t)$ ne présente pourtant pas, contrairement à $C_L(t)$, de point d'inflexion, mais a plutôt l'allure d'une exponentielle "amortie" dans sa partie supérieure par l'effet du terme de transfert OTR.

Son premier moment est égal rigoureusement à $\tau_G + \frac{V_L RT}{G H}$, comme montré au chapitre 3.1.2. Pratiquement, la fonction C_G est très proche d'une exponentielle de constante de temps $\tau = \tau_G + \frac{V_L RT}{G H}$.

Les constantes de temps respectives des termes exponentiels sont égales aux valeurs propres du système. Ces valeurs propres sont en général différentes des constantes de temps de premier ordre que l'on obtient en assimilant l'étage de dynamique des gaz à un étage exponentiel.

Valeurs propres.

Les valeurs propres sont données analytiquement par les solutions de l'équation 4.12 :

$$\lambda_i^2 + \lambda_i(a_1 + a_2 - a_1') + a_1 a_2 = 0$$

$$\lambda_i = \frac{-(a_1 + a_2 - a_1') \pm \sqrt{(a_1 + a_2 - a_1')^2 - 4 a_1 a_2}}{2}$$

Les figures 4.6 et 4.7 montrent l'évolution des valeurs propres λ_1 et λ_2 en fonction de ces paramètres. La plage de valeurs représentée pour a_1 correspond à des temps de passage du gaz inférieurs à 20 s ($a_1 = 1/\tau_G$). Le coefficient a_2 , qui est égal à $k_L a$, vaut 0.2 s⁻¹ sur la figure 4.6, et 0.1 s⁻¹ sur la figure 4.7. La valeur de a_1' dépend de a_2 et de V_L/V_G , mais est au maximum, dans des conditions réalistes, la moitié en valeur absolue de a_2 .

4.3.2. Exploitation de la méthode de la pente

Dans le cas où $a_1' = 0$ (deux étages exponentiels en série), on voit sur les mêmes figures 4.6 et 4.7 que les valeurs propres sont bien égales respectivement, en valeur absolue, au coefficient a_i de chaque étage.

La méthode de la pente va mettre en évidence la valeur propre la plus faible a_2 , qui est également le $k_L a$, pour autant que a_2 soit inférieur à a_1 .

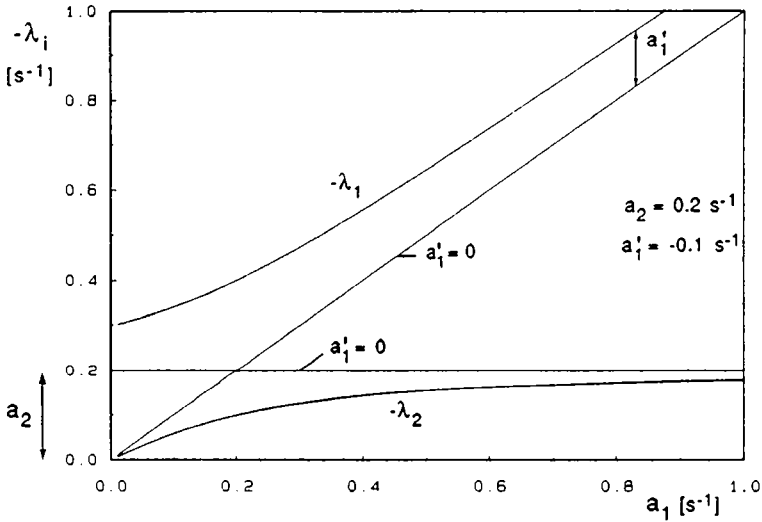


figure 4.6 : Valeurs propres λ_i en fonction de a_1 , pour $a_2 = 0.2 \text{ s}^{-1}$
 Les droites $\lambda_1 = a_1$ et $\lambda_2 = a_2$ présentent le cas particulier où $a'_1 = 0$

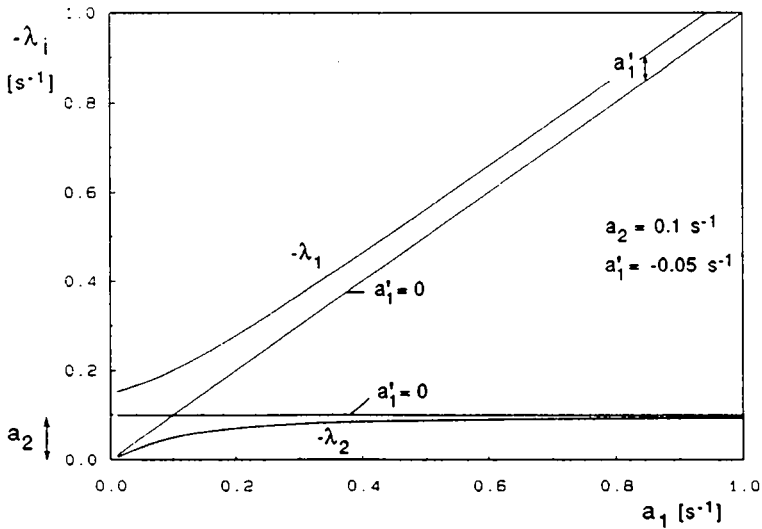


figure 4.7: Valeurs propres λ_i en fonction de a_1 , pour $a_2 = 0.1 \text{ s}^{-1}$
 Les droites $\lambda_1 = a_1$ et $\lambda_2 = a_2$ présentent le cas particulier où $a'_1 = 0$

Si l'effet du transfert de matière sur la dynamique de la phase gazeuse n'est pas négligeable ($a_1' \neq 0$), la méthode de la pente va encore mettre en évidence la valeur propre la plus faible λ_2 . En effet, la solution générale donnée par l'équation 4.15 donne :

$$\begin{aligned} \ln [1 - C_L] &= \ln \left[-\beta e^{\lambda_1 t} + (1 + \beta) e^{\lambda_2 t} \right] \\ &= \ln \left[\beta (e^{\lambda_2 t} \cdot e^{-\lambda_1 t}) + e^{\lambda_2 t} \right] \end{aligned}$$

Après un temps suffisant, $e^{\lambda_1 t}$ est négligeable vis à vis de $e^{\lambda_2 t}$, et l'on a alors :

$$\begin{aligned} \ln [1 - C_L] &= \ln \left[(1 + \beta) e^{\lambda_2 t} \right] \\ &= \lambda_2 t + \ln (1 + \beta) \end{aligned}$$

La valeur propre λ_2 est différente de a_2 . Pour des systèmes fortement aérés, pour lesquels a_1 est nettement supérieur à a_2 , λ_2 tend néanmoins, en valeur absolue, vers a_2 (figure 4.7). Pour des valeurs faibles de a_1 , λ_2 s'approche en valeur absolue de a_1 .

Facteur de correction.

Le développement précédent met en évidence les valeurs propres du système en fonction des divers paramètres. Le stade suivant est de formaliser, en fonction de la valeur propre mesurée et des paramètres connus, l'évolution du paramètre inconnu a_2 .

La valeur propre mise en évidence par la méthode de la pente est :

$$\lambda_2 = \frac{-(a_1 + a_2 - a_1') + \sqrt{(a_1 + a_2 - a_1')^2 - 4 a_1 a_2}}{2}$$

A partir de cette relation, en remplaçant a_1' par : $-a_2 \frac{RT}{H} \frac{V_L}{V_G}$, a_2 s'exprime comme :

$$a_2 = \frac{-\lambda_2 (a_1 + \lambda_2)}{a_1 + \lambda_2 \left[1 + \frac{RT}{H} \frac{V_L}{V_G} \right]}$$

Connaissant expérimentalement λ_2 , il est donc possible de calculer le coefficient a_2 . Le facteur de correction F_G vaut :

$$F_G = \frac{a_2}{-\lambda_2} = \frac{a_1 + \lambda_2}{a_1 + \lambda_2 \left[1 + \frac{RT}{H} \frac{V_L}{V_G} \right]} \quad 4.16$$

F_G est reporté sur les figures 4.8 et 4.9 en fonction de λ_2 , paramètre mesuré expérimentalement, ainsi que des deux paramètres a_1 et $\frac{V_L}{V_G}$. Ces deux paramètres caractérisent l'importance relative des différents volumes et flux intervenant dans le bilan de matière.

Sur les mêmes figures 4.8 et 4.9 est reporté en traitillé le rapport F'_G , défini comme :

$$F'_G = \frac{a_1}{-\lambda_2}$$

F_G et F'_G sont tous deux fonctions de a_1 et de λ_2 . Pour une valeur donnée de a_1 , le facteur de correction F_G augmente avec la valeur absolue de λ_2 . Au point d'intersection avec $F'_G(a_1)$, a_1 est égal à a_2 et l'écart de λ_2 par rapport à l'un ou l'autre de a_1 et a_2 est maximal. Cet écart maximal ne dépend pas de a_1 , mais uniquement du rapport V_L/V_G .

A droite du point d'intersection, a_2 est supérieur à a_1 . La valeur absolue de λ_2 dévie très vite de a_2 , mais par contre s'approche de a_1 , qui est alors le coefficient a_i le plus faible.

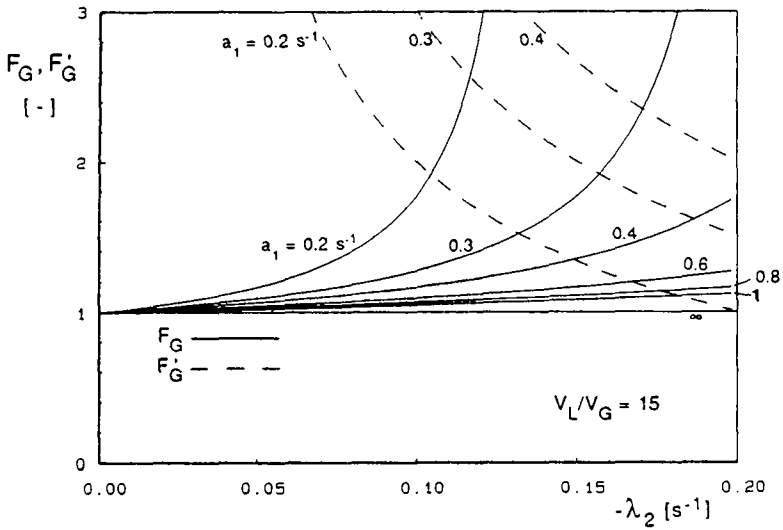


figure 4.8 : Facteurs de correction en fonction de la valeur observée $-\lambda_2$, pour différentes valeurs de a_1 , à un rapport $V_L/V_G = 15$

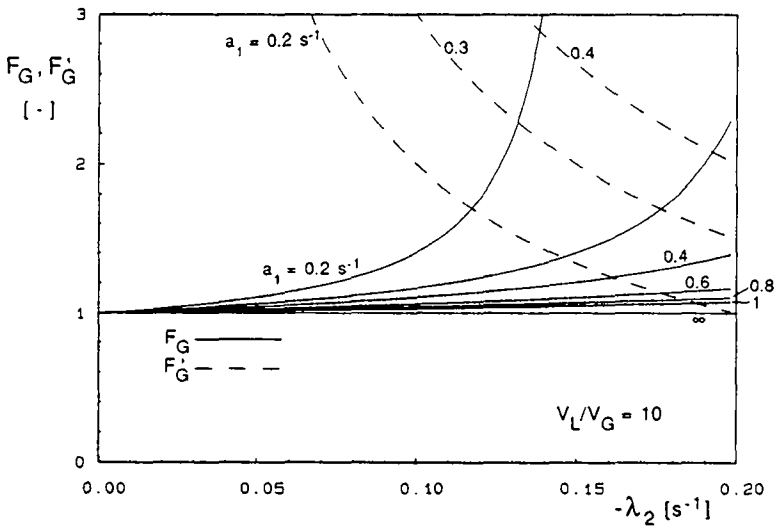


figure 4.9 : Facteurs de correction en fonction de la valeur observée $-\lambda_2$, pour différentes valeurs de a_1 , à un rapport $V_L/V_G = 10$

A gauche du point d'intersection, a_2 est inférieur à a_1 . Ce domaine est en principe celui pour lequel la méthode de la pente a été développée et pour lequel on souhaite obtenir une correction pour l'effet de dynamique du gaz. On voit que, théoriquement du moins, la prise en compte de la dynamique réelle de la phase gazeuse permet l'extension de la méthode au domaine où a_2 n'est plus le coefficient le plus faible. Pratiquement, la mesure du $k_L a$ dans cette nouvelle zone est sujette à de grandes erreurs, en raison de la forme asymptotique des courbes F_G .

Il faut remarquer que l'estimation de a_1 fait intervenir l'estimation du hold-up gazeux V_G . La méthode de la pente perd là une partie de son avantage sur la méthode des moments. Néanmoins, pour un système raisonnablement aéré, la dépendance du facteur de correction en fonction du hold-up (ou de a_1) est peu marquée. Une mauvaise estimation du hold-up gazeux a donc moins de conséquences sur la valeur finale du $k_L a$ que dans le cadre de la méthode des moments .

Le paramètre V_L/V_G , quant à lui, varie relativement peu. Il est typiquement de l'ordre de 10 à 15 pour des réacteurs moyennement agités.



5. Développement d'un modèle pseudo-stationnaire.

Les chapitres précédents ont été essentiellement consacrés à la capacité de transfert du réacteur, représentée par le coefficient $k_L a$, et aux méthodes permettant de mesurer ce paramètre.

Ce chapitre va maintenant être consacré à la formulation d'un modèle mathématique, qui décrive de manière satisfaisante le comportement du système au cours du temps, lorsqu'un "consommateur d'oxygène", comme il a été défini au chapitre premier, est mis en oeuvre dans le réacteur.

Dans ce modèle, le $k_L a$ est un paramètre essentiel; c'est pourquoi on s'est attaché à le déterminer avec précision. Il n'est néanmoins pas le seul; la solubilité de l'oxygène, la cinétique du consommateur sont d'autres paramètres importants. De plus, ces différents paramètres sont susceptibles de varier de manière plus ou moins marquée au cours du temps.

L'utilité de ce modèle est de prévoir ou de comprendre l'effet des différents paramètres et de leur évolution sur les variables que l'on peut observer expérimentalement, à savoir le transfert instantané d'oxygène OTR [mol s^{-1}] et le signal de la sonde à oxygène.

La formulation du modèle implique la mise en équation d'un certain nombre de lois physico-chimiques, qui constituent ensemble un modèle mathématique du système.

5.1. Formulation du modèle.

Composition de la phase gazeuse.

Le bilan d'oxygène sur la phase gazeuse donne :

$$\frac{d(c_G V_G)}{dt} = G_0 c_0 - G_1 c_G - \text{OTR} \quad \text{où : } \text{OTR} = k_L a (c^* - c_L) V_L$$

En régime pseudo-stationnaire, ce bilan devient :

$$G_0 c_0 - G_1 c_G = \text{OTR}$$

Si le terme de transfert OTR est faible comparé aux flux $G_0 c_0$ et $G_1 c_G$, ce qui est généralement le cas si le $k_L a$ est modéré et que le réacteur est bien aéré, on a :

$$G_0 c_0 = G_1 c_G \quad \text{et} \quad G_0 = G_1 = G$$

ce qui conduit à :

$$c_G = c_0 \tag{5.1}$$

Dans le cas où le transfert n'est pas suffisamment faible, il y aura lieu de réévaluer l'influence du bilan gazeux.

Equilibre gaz-liquide.

La relation d'équilibre est donnée par la loi de Henry :

$$p_{O_2} = H c^*$$

ou, en faisant intervenir la loi des gaz parfaits, par :

$$c^* = \frac{RT}{H} c_G \tag{5.2}$$

Cinétique de la réaction.

La cinétique homogène, en phase liquide, est propre à la réaction mise en oeuvre. Elle est donnée par la vitesse de réaction r_{O_2} [mol O_2 $l^{-1}s^{-1}$].

Les allures de quelques cinétiques types sont données sur la figure 5.1, notamment pour une réaction d'ordre 2 (a), comme par exemple l'oxydation du sulfite. Dans le cas d'une réaction enzymatique (b), comme l'oxydation du glucose par la glucose-oxydase, la cinétique est de type Michaelis-Menten, voire de pseudo-premier ordre suivant la valeur des paramètres cinétiques.

Dans le cas d'une culture de micro-organismes, par exemple une culture de levures (c), la cinétique correspond à la demande

spécifique en oxygène q_{O_2} [mol s⁻¹g⁻¹], multipliée par la concentration actuelle de biomasse X [g l⁻¹] :

$$r_{O_2} = q_{O_2} X$$

Pour une biomasse constante, la cinétique a donc la même allure que la demande en oxygène. Elle est généralement d'ordre 0 au-dessus d'une concentration d'oxygène critique, qui correspond à la saturation de l'activité métabolique en oxygène, et diminue pour des concentrations d'oxygène inférieures.

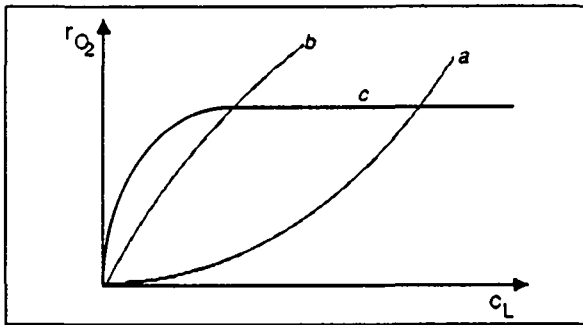


figure 5.1 : Allures de quelques cinétiques typiques;
a: cinétique de deuxième ordre; b: cinétique de type Michaelis-Menten fortement limitée ou pseudo-premier ordre; c: croissance microbienne

Signal de la sonde à oxygène.

La concentration actuelle d'oxygène dissous est suivie à l'aide d'une sonde à oxygène. En accord avec l'équation 8.4 (chapitre 8.1), si la pression partielle ambiante d'oxygène est constante et que l'on calibre de manière adéquate la sonde, le signal obtenu est :

$$\Gamma = \frac{c_L}{c^*}$$

Composition de la phase liquide.

Le bilan d'oxygène sur la phase liquide s'écrit :

$$\frac{d(c_L V_L)}{dt} = k_L a (c^* - c_L) V_L - r_{O_2} V_L$$

En remplaçant c_L tiré de 5.3 :

$$V_L \frac{dc^* \Gamma}{dt} + c^* \Gamma \frac{dV_L}{dt} = k_L a c^* (1 - \Gamma) V_L - r_{O_2} V_L$$

En admettant l'hypothèse de l'équation 5.1 :

$$\frac{d\Gamma}{dt} + \Gamma \frac{d \ln V_L}{dt} = k_L a (1 - \Gamma) - \frac{r_{O_2}}{c^*} \quad 5.4$$

Dans certains cas, le volume peut être assumé comme étant constant. Le terme $d \ln V_L / dt$ est alors nul.

Variation de volume.

Dans la plupart des cas, le volume V_L varie au cours de la réaction, pour deux raisons.

Premièrement, la réaction peut s'accompagner d'une variation de pH. Afin de maintenir la cinétique de la réaction constante, le pH doit être maintenu à une valeur de consigne par l'adjonction d'un composé neutralisant, ce qui entraîne une variation du volume réactionnel.

Deuxièmement, il est parfois nécessaire de prélever en cours de réaction des échantillons de volume non négligeable, particulièrement lors de cultures microbiennes. Le prélèvement d'échantillons a notamment pour effet de fausser le calcul des rendements sur une fermentation, comme cela sera montré ultérieurement.

La variation du volume n'est pas à négliger dans le cadre de systèmes aérés, car elle influence directement le transfert de matière. La capacité globale de transfert d'oxygène OTR augmente donc avec le volume réactionnel.

La variation de volume due au contrôle de pH peut en général être exprimée en fonction du degré d'avancement de la réaction, concrétisé par la concentration résiduelle du substrat, et ceci moyennant une connaissance de la stoechiométrie de la réaction. Par exemple, dans le cas d'une production de H^+ , avec un volume initial V_L^0 , une concentration initiale de substrat c_S^0 et une concentration de soude c_{OH} , le bilan de neutralisation donne :

$$(V_L - V_L^0) c_{OH} = (V_L^0 c_S^0 - V_L c_S) Y_{H/S}$$

où $Y_{H/S}$ [mol/mol] est le rendement molaire des H^+ produits par rapport au substrat consommé. Le volume actuel est ainsi exprimé comme :

$$V_L = V_L^0 \frac{c_S^0 Y_{H/S} + c_{OH}}{c_S Y_{H/S} + c_{OH}} \quad 5.5$$

Variation du substrat.

La vitesse de disparition du substrat est liée à la vitesse de réaction par la stoechiométrie, et plus précisément par le rendement $Y_{O/S}$ [mol/mol], qui représente l'oxygène consommé par mole de substrat. Le bilan de substrat s'exprime :

$$\frac{d(V_L c_S)}{dt} = - \frac{1}{Y_{O/S}} r_{O_2} V_L$$

ou encore :

$$\frac{dc_S}{dt} + c_S \frac{d \ln V_L}{dt} = - \frac{1}{Y_{O/S}} r_{O_2} \quad 5.6$$

Application.

La synthèse des différentes relations décrites dans ce chapitre nécessite des hypothèses spécifiques à la réaction mise en oeuvre. Le modèle peut donc difficilement être développé plus avant de manière générale.

Il sera tout d'abord discuté de manière détaillée dans le cas de son application à la réaction d'oxydation du glucose par la glucose-oxydase. Son application à la réaction du sulfite sera également envisagée, débouchant sur l'extension du modèle aux problèmes de mélange de la phase gazeuse. Son application aux cultures d'*A.niger* sera exclusivement discutée dans le cadre des résultats expérimentaux.

5.2. Application à l'oxydation enzymatique du glucose.

5.2.1. Modèle instationnaire.

Augmentation de volume.

La réaction d'oxydation du glucose en acide gluconique produit stoechiométriquement une mole d'acide par mole de glucose consommée, acide qui doit être neutralisé par adjonction de soude caustique. Le rendement $Y_{H/S}$ vaut donc 1 dans ce cas.

Le volume est donné à chaque instant à partir de l'équation 5.5 :

$$V_L = V_L^0 \frac{c_{S^0} + c_{OH}}{c_S + c_{OH}} \quad 5.7$$

Cinétique.

La cinétique a la forme suivante (chapitre 3.2.2) :

$$r_{O_2} = \frac{1}{2} \frac{k_{cat} c_E}{1 + \frac{K_O}{c_L} + \frac{K_S}{c_S}}$$

La concentration d'enzyme c_E subit au cours de la réaction une dilution due à l'augmentation du volume liquide. En supposant que l'enzyme ne subit pas de désactivation durant la réaction, seul le nombre de moles total d'enzyme n_E est conservé et :

$$c_E = \frac{n_E}{V_L} = \frac{n_E}{V_L^0} \frac{c_S + c_{OH}}{c_{S^0} + c_{OH}} = c_E^0 \frac{c_S + c_{OH}}{c_{S^0} + c_{OH}}$$

En remplaçant de plus c_L par le signal de la sonde (équation 5.3), la cinétique devient :

$$r_{O_2} = \frac{1}{2} \frac{k_{cat} c_E^0}{1 + \frac{K_O}{c^0 \Gamma} + \frac{K_S}{c_S}} \frac{c_S + c_{OH}}{c_{S^0} + c_{OH}} \quad 5.8$$

Bilan de glucose.

Le terme de variation de volume du bilan 5.6 devient d'après 5.7 :

$$\frac{d \ln V_L}{dt} = - \frac{1}{c_S + c_{OH}} \frac{dc_S}{dt}$$

D'autre part, le rendement $Y_{O/S}$ est égal à 0.5, puisqu'une seule mole d'oxygène suffit à oxyder deux moles de glucose. Le bilan de glucose s'exprime dès lors :

$$\frac{dc_S}{dt} = - 2 r_{O_2} \frac{c_S + c_{OH}}{c_{OH}} \quad 5.9$$

Bilan d'oxygène.

Tenant compte de la variation de volume, le bilan d'oxygène est :

$$\frac{d\Gamma}{dt} = \frac{dc_S}{dt} \frac{\Gamma}{c_S + c_{OH}} + k_L a (1 - \Gamma) - \frac{r_{O_2}}{c^*}$$

en remplaçant dc_S/dt par sa valeur tirée de 5.9 :

$$\frac{d\Gamma}{dt} = - 2 r_{O_2} \frac{\Gamma}{c_{OH}} + k_L a (1 - \Gamma) - \frac{r_{O_2}}{c^*} \quad 5.10$$

Modèle global.

Le modèle global est donné par les deux équations différentielles 5.9 et 5.10 (bilans de glucose et d'oxygène) et l'expression 5.8 (cinétique), dans lesquelles la solubilité c^* est exprimée par 5.2.

bilan de glucose	$\frac{dc_S}{dt} = -2 r_{O_2} \frac{c_S + c_{OH}}{c_{OH}}$
bilan d'oxygène	$\frac{d\Gamma}{dt} = -2 r_{O_2} \frac{\Gamma}{c_{OH}} + k_L a (1 - \Gamma) - \frac{r_{O_2}}{c^*}$
expression cinétique	$r_{O_2} = \frac{1}{2} \frac{k_{cat} c_E^0}{1 + \frac{K_O}{c^* \Gamma} + \frac{K_S}{c_S}} \cdot \frac{c_S + c_{OH}}{c_S^0 + c_{OH}}$

Les conditions initiales sont les suivantes:

$$t = 0 : \Gamma = 1 ; c_S = c_S^0$$

A titre d'exemple, ce système différentiel est intégré numériquement par la méthode de Runge-Kutta (4^e ordre), avec les paramètres donnés dans le tableau 5.1. k_{cat} et K_O ont été déterminés expérimentalement (chapitre 8.3) ; K_S est par contre tiré de la littérature [40].

cinétique	physique
$k_{cat} : 1040 \text{ s}^{-1}$	$k_L a : 33 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$
$K_O : 3.0210^{-4} \text{ M}$	$c_{OH} : 14.2 \text{ M (40 \%)}$
$K_S : 0.083 \text{ M}$	$P_{amb} : 730 \text{ mm Hg}$
$c_E^0 : 3 \cdot 10^{-7} \text{ M}$	$H : 1026 \text{ l at mol}^{-1}$

tableau 5.1 : Constantes physico-chimiques utilisées pour l'intégration du modèle instationnaire

Les solutions $r_{O_2}(t)$ et $\Gamma(t)$ sont reportées sur la figure 5.2 durant les premières secondes de réaction. On voit sur cette figure que le signal de la sonde pO_2 , donc la concentration d'oxygène dissous, évolue rapidement vers une valeur pseudo-stationnaire, de même que la vitesse de réaction r_{O_2} .

Le temps nécessaire pour atteindre cet état est de l'ordre d'une dizaine de secondes, alors que la consommation totale du glucose

va prendre environ 20 heures. Durant la quasi-totalité du temps de réaction, le bilan d'oxygène sur la phase liquide est donc parfaitement bien décrit par un modèle pseudo-stationnaire, caractérisé par :

$$\frac{d\Gamma}{dt} = 0$$

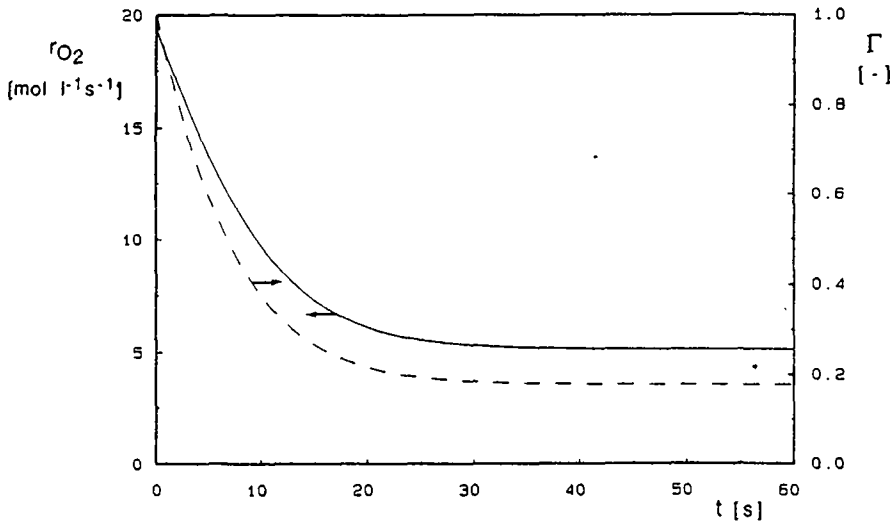


figure 5.2 : Simulation de la vitesse de réaction et du signal de la sonde à l'aide du modèle instationnaire

5.2.2. Modèle pseudo-stationnaire.

En introduisant dans le bilan d'oxygène (équation 5.10) l'hypothèse de pseudo-stationnarité, on obtient la relation suivante :

$$0 = -2 r_{O_2} \frac{\Gamma}{c_{OH}} + k_L a (1 - \Gamma) - \frac{r_{O_2}}{c^*}$$

De plus, le terme $-2 r_{O_2} \frac{\Gamma}{c_{OH}}$ est égal à $\frac{dc_S}{dt} \frac{\Gamma}{c_S + c_{OH}}$ et représente la quantité d'oxygène accumulée par l'accroissement de volume du réacteur. Dans les conditions de ce travail, ce terme représente moins de 0.1% de la valeur des deux autres termes du bilan d'oxygène. Il est donc parfaitement négligeable.

Finalement, le modèle pseudo-stationnaire est donné par le système suivant :

bilan de glucose	$\frac{dc_S}{dt} = -2 r_{O_2} \frac{c_S + c_{OH}}{c_{OH}}$
bilan d'oxygène	$k_L a c^* (1 - \Gamma) = r_{O_2}$
expression cinétique	$r_{O_2} = \frac{1}{2} \frac{k_{cat} c_E^0}{1 + \frac{K_O}{c^* \Gamma} + \frac{K_S}{c_S}} \frac{c_S + c_{OH}}{c_S^0 + c_{OH}}$

Les conditions initiales sont les mêmes que précédemment :

$$t = 0 \quad : \quad \Gamma = 1 ; c_S = c_S^0$$

Il ne subsiste dans ce modèle qu'une seule équation différentielle, le bilan de glucose, qui peut être intégrée numériquement, selon la méthode de Runge-Kutta (4e ordre). A chaque instant, le signal de la sonde Γ doit être calculé à partir de la valeur actuelle de c_S en remplaçant r_{O_2} tiré de l'expression cinétique dans le bilan d'oxygène. On obtient alors un polynôme du second degré en Γ :

$$p_2 \Gamma^2 + p_1 \Gamma - p_0 = 0 \tag{5.11}$$

où :
$$p_0 = \frac{K_O}{c^*} ;$$

$$p_1 = \frac{K_O}{c^*} - \frac{K_S}{c_S} + \frac{c_S + c_{OH}}{c_S^0 + c_{OH}} \frac{k_{cat} c_E^0}{2 \cdot k_L a \cdot c^*} - 1 ;$$

$$p_2 = 1 + \frac{K_S}{c_S} ;$$

Une des racines de l'équation 5.11 donne la valeur de Γ . La deuxième racine est négative.

5.2.3. Représentation graphique du bilan d'oxygène.

Le but de la représentation graphique développée dans ce chapitre est de formaliser de manière visuelle l'influence des divers paramètres, et de leur évolution respective au cours de la réaction, sur les valeurs pseudo-stationnaires des deux variables Γ et r_{O_2} .

Les deux termes du bilan d'oxygène $k_L a \cdot c^* \cdot (1 - \Gamma)$ et r_{O_2} représentent respectivement l'oxygène transféré et l'oxygène consommé [mol l⁻¹ s⁻¹] à chaque instant par unité de volume liquide. Ces deux termes dépendent de la concentration d'oxygène en solution et peuvent être représentés dans un plan en fonction de c_L (figure 5.3).

L'oxygène transféré par unité de volume $\dot{\phi} = k_L a \cdot c^* \cdot (1 - \Gamma)$ est équivalent à $k_L a \cdot (c^* - c_L)$, et est donc représenté par une droite dont l'ordonnée à l'origine est $k_L a \cdot c^*$ et la pente $-k_L a$. Cette droite coupe par ailleurs l'abscisse en $c_L = c^*$.

L'oxygène consommé par la réaction est donné par la fonction $r_{O_2}(c_L)$. Dans le cas de l'oxydation du glucose, l'allure de cette courbe est proche d'une fonction linéaire. En effet, les concentrations d'oxygène considérées sont passablement inférieures au coefficient de Michaelis-Menten K_O ($K_O \approx 2 \cdot c^*$).

L'intersection des deux fonctions constitue un point d'équilibre stable et unique, qui réalise le bilan d'oxygène. Ce point d'intersection a pour ordonnée $\phi^{stat} = r_{O_2}^{stat}$ [mol l⁻¹ s⁻¹], qui sont les valeurs respectives de ϕ et r_{O_2} en régime pseudo-stationnaire, et qui correspondent à l'oxygène transféré, puis consommé, par litre de réacteur et par unité de temps.

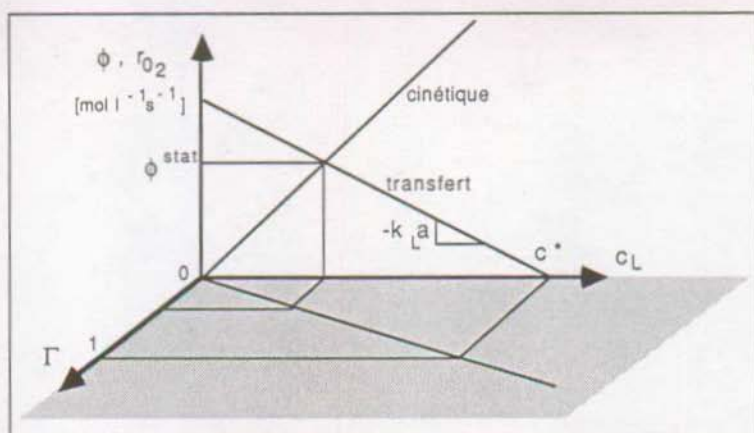


figure 5.3 : Représentation graphique du bilan pseudo-stationnaire d'oxygène en phase liquide

Le signal de la sonde à oxygène Γ dépend linéairement de c_L , dans des conditions de calibration et de pression partielle constantes. Cette fonction $\Gamma(c_L)$ peut être représentée dans un deuxième plan, que l'on a choisi perpendiculaire au précédent, l'axe c_L étant commun. La pente de la droite $\Gamma(c_L)$ est proportionnelle au coefficient de Henry (chapitre 8.1), et celle-ci passe par l'origine.

Cette formalisation graphique permet de prévoir l'évolution de la valeur pseudo-stationnaire de Γ et de ϕ^{stat} lors de changements des paramètres physiques ou cinétiques en cours de réaction.

La figure 5.4 montre, de cette manière, l'effet d'une **diminution de la fonction r_{O_2}** , par suite soit d'une désactivation partielle de l'enzyme, soit de l'appauvrissement du glucose. Si l'on passe d'une situation *a* à une situation *b*, sans que les constantes physiques changent, on voit aisément que ϕ^{stat} va lui aussi diminuer, mais que par contre le signal de la sonde à oxygène va augmenter.

Si le coefficient de transfert $k_L a$ **diminue** (figure 5.5), la droite représentant le transfert ϕ évolue de *a* vers *b*. La valeur ϕ^{stat} va encore diminuer, accompagnée cette fois d'une diminution du signal de la sonde à oxygène.

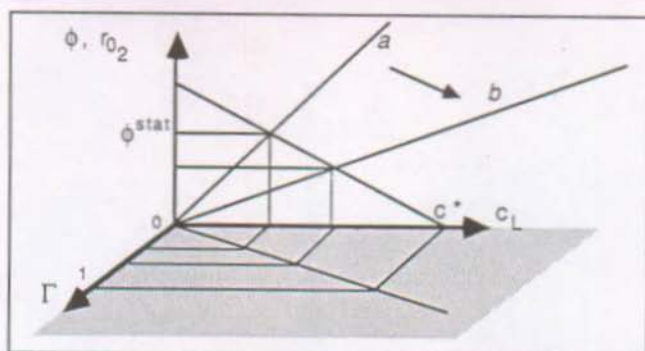


figure 5.4 : Effet d'une diminution de la vitesse de réaction sur le bilan d'oxygène

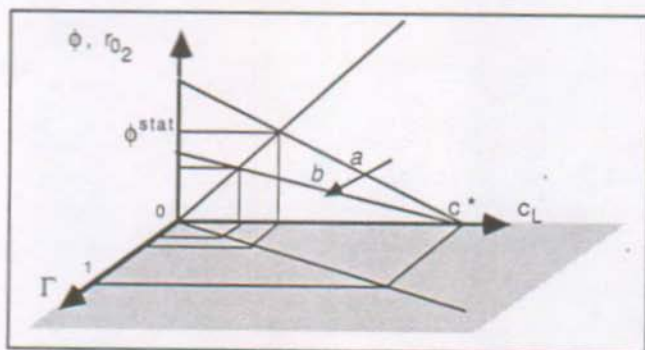


figure 5.5 : Effet d'une diminution de k_L sur le bilan d'oxygène

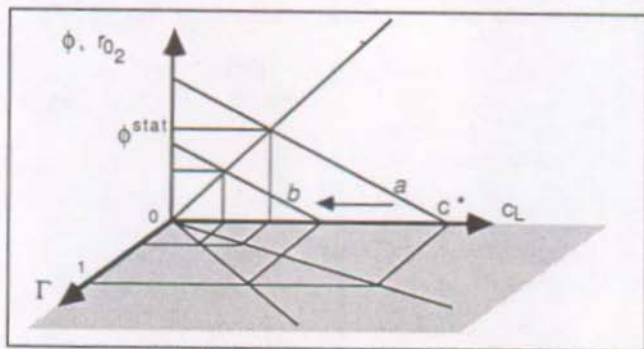


figure 5.6 : Effet d'une augmentation du facteur de Henry sur le bilan d'oxygène

Dans le cas d'une augmentation du coefficient de Henry, accompagné d'une diminution de la solubilité (figure 5.6), la fonction ϕ évolue de a vers b , entraînant encore une fois une diminution de ϕ^{stat} . Le comportement de la sonde à oxygène est quelque peu particulier, puisque malgré une diminution de la concentration d'oxygène en phase liquide c_L , le signal de la sonde ne va quasiment pas changer. Dans le cas d'une cinétique de premier ordre comme celle qui est présentée sur la figure 5.6, on peut même montrer géométriquement que le signal de la sonde reste rigoureusement constant, ceci en raison même du principe de fonctionnement de la sonde à oxygène (chapitre 8.2). Dans le cas d'une cinétique réelle de Michaelis-Menten, il faut s'attendre à une légère diminution du signal de la sonde; par contre, une cinétique du deuxième ordre, comme dans le cas de l'oxydation du sulfite, doit conduire à une légère augmentation du même signal.

5.2.4. Simulations numériques.

Les simulations présentées ont été réalisées dans le cas d'une concentration initiale de glucose de 200 g/l.

Les paramètres physiques $k_L a$ et c^* sont susceptibles de changer au cours de la réaction. Ces deux paramètres peuvent être évalués au début ou en fin de réaction, mais leur évolution durant l'expérience n'est pas aisément accessible. Au vu de la grandeur relative des différences observées, il semble raisonnable d'admettre une évolution proportionnelle de ces paramètres par rapport à la concentration résiduelle de glucose.

Les valeurs utilisées sont les suivantes, tenant compte d'une pression ambiante de 730 mm Hg, une composition de l'air de 0.2091 % en oxygène et une pression partielle en eau de 31 mm Hg, à 30 °C :

Début de réaction : $k_L a = 33 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$
 $H = 1027 \text{ at l mol}^{-1}$; $c^* = 1.88 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

Fin de réaction : $k_L a = 29 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$
 $H = 1326 \text{ at l mol}^{-1}$; $c^* = 1.45 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

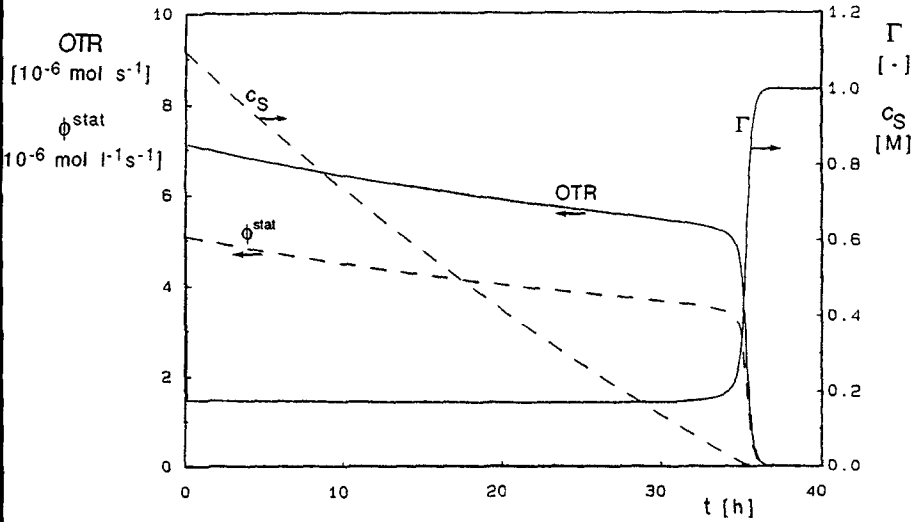


figure 5.7 : Simulation à l'aide du modèle pseudo-stationnaire
 $c_E = 10^{-7} \text{ M}$; $c_S^0 = 1.1 \text{ M}$

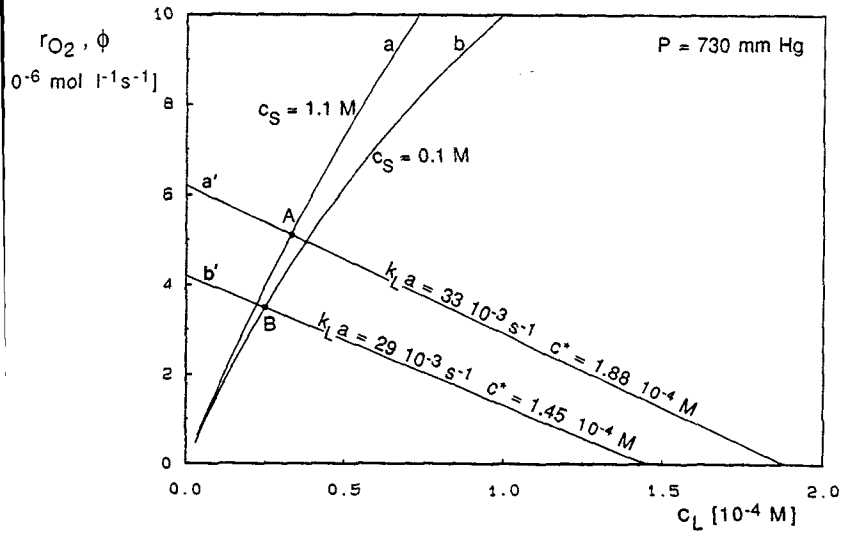


figure 5.8 : Evolution au cours du temps du bilan d'oxygène en phase liquide, appliqué à la simulation de la figure 5.7

Ces valeurs de H et $k_L a$ sont des valeurs expérimentales. Les conditions de leur détermination sont données au chapitre 8.2 pour H et au chapitre 11.2.4 pour $k_L a$.

Les paramètres cinétiques k_{cat} , K_O et K_S sont donnés dans le tableau 5.1.

Deux signaux sont calculés en fonction du temps. D'une part ϕ^{stat} , qui correspond au transfert par unité de volume, et d'autre part $\phi^{stat} \cdot V_L$, qui est égal à OTR, le transfert global sur le volume du réacteur. La distinction a son importance, le volume n'étant pas constant au cours de la réaction. Par ailleurs, c'est le transfert OTR qui sera mis ultérieurement en évidence par la calorimétrie.

La figure 5.7 présente le résultat de la simulation dans le cas d'une concentration d'enzyme $c_E = 10^{-7}$ M. Le signal ϕ^{stat} décroît en raison de la diminution conjuguée de la solubilité et du $k_L a$. Le signal OTR décroît quant à lui de manière moins marquée, en raison de l'accroissement du volume réactionnel.

La limitation en glucose ne se manifeste quasiment pas durant la réaction; elle est en effet fortement masquée par la limitation en oxygène. Son seul effet est d'arrondir quelque peu la chute du signal ϕ^{stat} en fin de réaction. Il n'est pas certain par ailleurs que dans les cas où la chute finale du signal est très rapide, celle-ci soit parfaitement décrite par le modèle pseudo-stationnaire, mais cette partie du signal n'est pas d'un très grand intérêt.

Le signal ϕ^{stat} est le résultat à chaque instant du bilan pseudo-stationnaire d'oxygène qui est représenté graphiquement sur la figure 5.8. Lorsque la limitation par le glucose se fait sentir (fin du plateau sur le signal ϕ^{stat}), la concentration de glucose résiduelle est de l'ordre de 0.1 M. Les courbes a et b représentent précisément l'évolution de la fonction r_{O_2} lorsque la concentration de glucose passe de 1.1 M à 0.1 M. Durant la même période, la capacité de transfert $k_L a (c^* - c_L)$ évolue de a' à b'. L'intersection évolue donc du point A au début de l'expérience, jusqu'au point B à la fin du plateau pseudo-stationnaire.

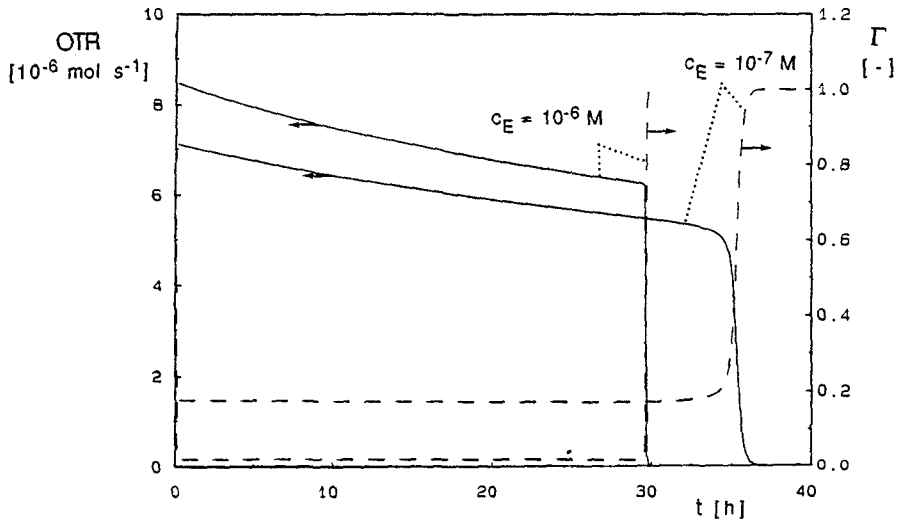


figure 5.9 : Simulation de la réaction pour $c_E = 10^{-7} \text{ M}$ et $c_E = 10^{-6} \text{ M}$

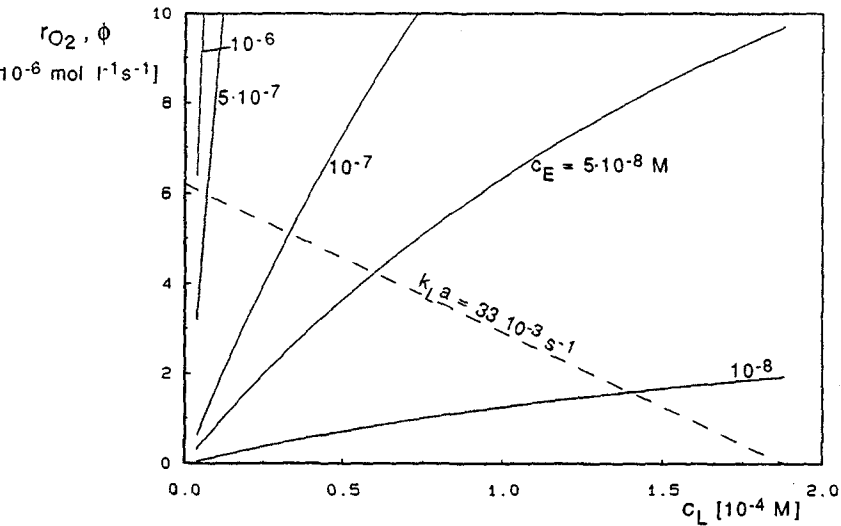


figure 5.10 : Bilan d'oxygène à différentes concentrations d'enzyme

La simulation peut être réalisée de la même manière pour d'autres concentrations d'enzyme. Pour une concentration de 10^{-6} M, le signal OTR attendu, ainsi que le signal de la sonde à oxygène, sont reportés sur la figure 5.9. On remarque notamment que la chute finale du signal est encore plus brutale, ce qui signifie que la limitation en glucose se manifeste plus tard encore pour des concentrations d'enzyme supérieures. Une autre différence notable est le niveau de la sonde à oxygène, beaucoup plus bas cette fois.

La figure 5.10 présente la fonction r_{O_2} pour diverses concentrations d'enzyme. On remarque que le point de fonctionnement pseudo-stationnaire varie très peu pour des concentrations d'enzyme supérieures à $5 \cdot 10^{-7}$ M, puis commence à chuter de plus en plus rapidement lorsque la concentration d'enzyme diminue plus bas que 10^{-7} M. Cette chute s'accompagne d'une augmentation de la concentration d'oxygène en solution, qui est représentée par l'abscisse du point de fonctionnement.

Si l'on représente la concentration d'oxygène dissous en régime pseudo-stationnaire, ainsi que la valeur de ϕ^{stat} (c'est-à-dire l'abscisse et l'ordonnée du point d'intersection) en fonction du logarithme de la concentration d'enzyme (figure 5.11), on constate effectivement que pour des faibles concentrations d'enzyme, la valeur de ϕ^{stat} diminue rapidement. Parallèlement, la concentration d'oxygène en solution augmente fortement.

Au-dessous d'une concentration d'enzyme limite, située suivant la valeur du $k_L a$ de 10^{-6} M à 10^{-5} M, la réaction d'oxydation du glucose doit être considérée comme une réaction lente, au sens où l'ont définie des travaux fondamentaux comme ceux de Dankwerts [17], par exemple. Au-dessus de cette concentration limite, la réaction est une réaction rapide.

5.2.5. Accélération chimique du transfert.

Il est clair que le modèle pseudo-stationnaire, tel qu'il a été présenté ci-dessus, ne s'applique que dans le cas où la réaction est en régime physique, et que la réaction prend place uniquement au sein de la solution. Le but de ce chapitre est d'estimer à partir de quelle concentration d'enzyme le transfert est activé par la réaction.

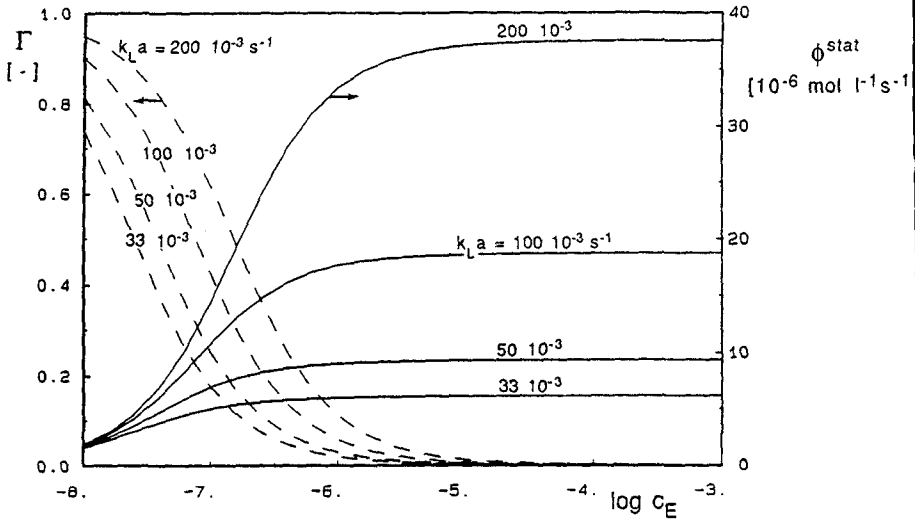


figure 5.11 : Transfert ϕ^{stat} et pourcentage d'oxygène dissous en fonction de la concentration de GOD

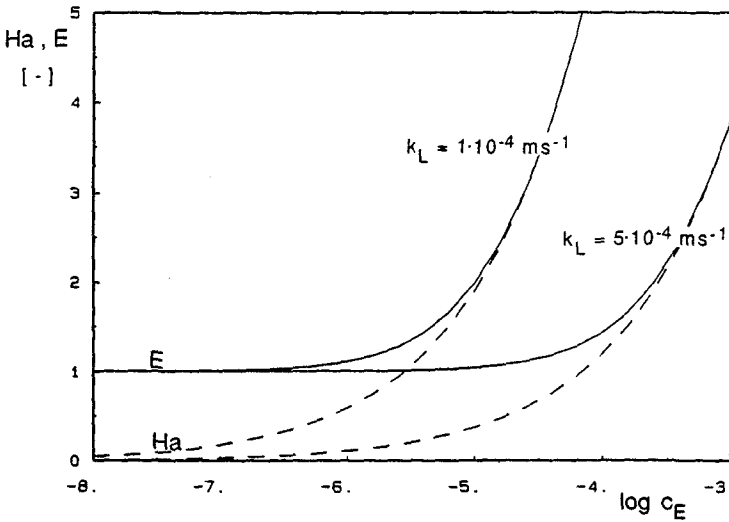


figure 5.12 : Nombre de Hatta et facteur d'accélération en fonction de la concentration de GOD, pour une cinétique de premier ordre

Cette limite est caractérisée par une valeur du nombre de Hatta de 0.3 [17]. Au dessus d'un nombre de Hatta de 3, le transfert est accéléré (chapitre 2.4).

Le calcul rigoureux du facteur d'accélération E par le modèle du film implique le calcul du profil de concentration dans la couche limite en présence de réaction, par intégration du bilan différentiel:

$$D \left(\frac{d^2 c_L}{dx^2} \right) = r_{O_2}(c_L) \quad 5.12$$

avec les conditions aux limites données au chapitre 2.4.. x est la coordonnée de distance à l'intérieur du film liquide d'épaisseur δ , à partir de l'interface.

L'intégration analytique de l'équation 5.12 n'est pas possible, de manière simple, dans le cas où $r_{O_2}(c_L)$ est une cinétique de type enzymatique.

Néanmoins, une bonne approximation du facteur d'accélération E peut être obtenue en assimilant la fonction r_{O_2} à une cinétique du premier ordre. La cinétique devient alors :

$$r_{O_2} = \frac{k_{cat} c_E^0}{2 K_O} c_L \quad ; \quad \text{avec } \frac{K_O}{c_L} \gg 1$$

En intégrant l'équation 5.12 avec cette cinétique approchée de premier ordre, on extrapole la cinétique de premier ordre valable seulement, de manière rigoureuse, pour de très faibles concentrations d'oxygène, à toute la plage de concentration présente dans le film liquide. On surestime donc légèrement la vitesse de réaction à l'intérieur de ce film liquide, notamment près de l'interface, où la concentration d'oxygène est proche de la saturation. Il faut savoir que le facteur d'accélération que l'on obtient de cette manière est donc légèrement surestimé.

Le nombre de Hatta Ha s'exprime pour une cinétique de premier ordre :

$$Ha = \frac{1}{k_L} \sqrt{\frac{k_{cat} C_E^0}{2 K_O} \cdot D}$$

Le coefficient de diffusion D est donné par Danckwerts [17] pour la diffusion de l'oxygène dans l'eau et vaut :

$$D = 2.1 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$$

Le facteur d'accélération E est donné, avec $c_L = 0$ au sein de la solution, par :

$$E = \frac{Ha}{\tanh Ha} \quad 5.13$$

Il a été montré que la concentration d'oxygène au sein de la solution n'est pas forcément nulle. Elle est néanmoins suffisamment faible pour que son influence sur le facteur d'accélération soit négligeable et que ce dernier puisse s'exprimer sous la forme de l'équation 5.13.

Le nombre de Hatta, ainsi que le facteur d'accélération, peuvent être calculés en fonction de la concentration d'enzyme, et sont fonction du coefficient de transfert de matière k_L . On sait, d'après les travaux de Calderbank [12], que ce coefficient peut prendre des valeurs passablement différentes suivant la taille des bulles, mais qu'il est relativement indépendant de l'agitation. Deux valeurs limites peuvent être données pour ce coefficient, soit $1 \cdot 10^{-4}$ et $5 \cdot 10^{-4} \text{ ms}^{-1}$, qui correspondent respectivement à la valeur de k_L pour des "petites bulles" et pour des "grandes bulles". Le nombre de Hatta, ainsi que le facteur d'accélération, sont reportés sur la figure 5.12 pour ces deux valeurs limites.

Les figures 5.13 et 5.14 présentent, pour les deux valeurs limites du coefficient de transfert de matière k_L , d'une part la fonction ϕ^{stat} sans accélération (lignes en traitillé), ainsi qu'après correction pour l'effet d'accélération (traits pleins), sur la base du facteur E calculé précédemment.

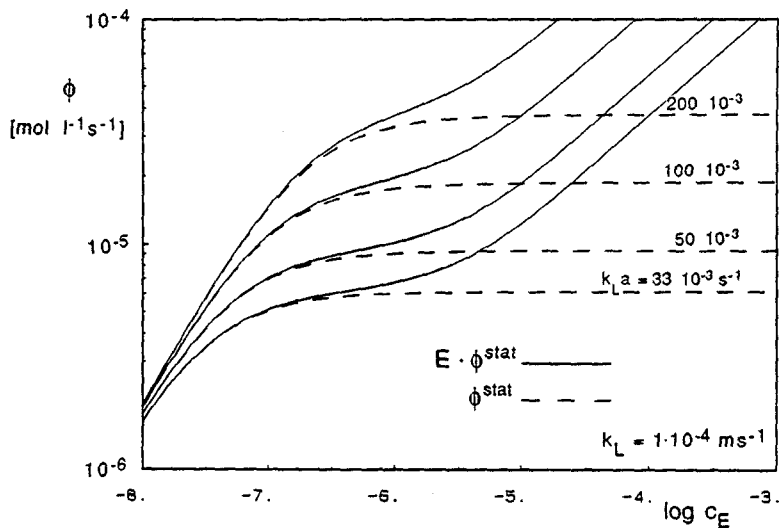


figure 5.13 : Transfert ϕ^{stat} en régimes physique et accéléré en fonction de la concentration de GOD; $k_L = 1 \cdot 10^{-4} \text{ ms}^{-1}$

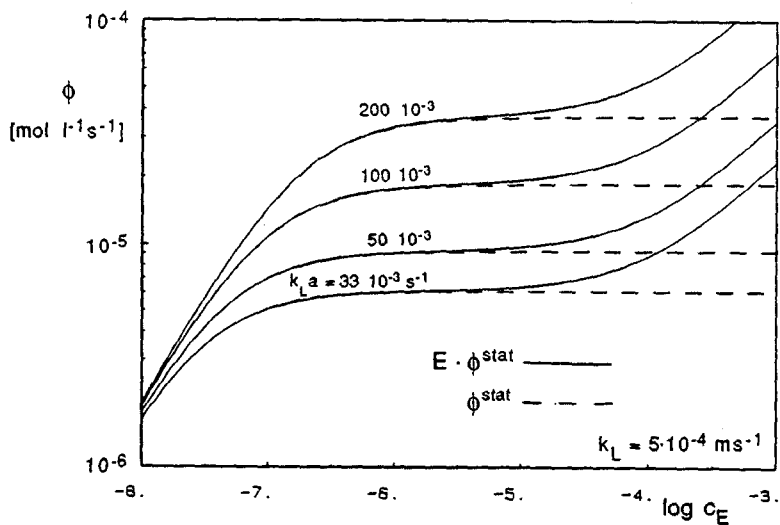


figure 5.14 : Transfert ϕ^{stat} en régimes physique et accéléré en fonction de la concentration de GOD; $k_L = 5 \cdot 10^{-4} \text{ ms}^{-1}$

Pour des concentrations d'enzyme élevées, $E = Ha$ et $\log(\phi^{stat})$ en fonction de $\log(c_{C_0})$ tend vers une droite de pente 0.5.

On voit notamment sur ces graphiques que, pour de faibles valeurs du coefficient k_L , le plateau caractéristique du régime physique, accompagné d'une concentration nulle d'oxygène dissous, est quasiment inexistant. Le transfert est déjà accéléré par la réaction, alors que la concentration d'oxygène dissous est encore loin d'être négligeable. Le plateau est par contre plus marqué dans le cas de valeurs plus importantes de k_L .

Dans le cas où le but final est la mesure du k_{La} , il conviendra de travailler à une concentration d'enzyme telle que l'on soit sûr que le transfert n'est pas accéléré par la réaction, soit aux environs de $5 \cdot 10^{-7}$ M. La figure 5.11 montre qu'il n'est pas possible d'estimer précisément le k_{La} sans connaître la concentration d'oxygène dissous. En assumant cette concentration nulle, l'erreur sur la valeur du k_{La} peut atteindre plusieurs dizaines de pourcents.

5.3. Application à l'oxydation du sulfite.

5.3.1. Equilibre pseudo-stationnaire.

Le modèle pseudo-stationnaire développé au chapitre précédent est applicable de manière similaire à d'autres réactions, et notamment à l'oxydation du sulfite. La cinétique de la réaction considérée doit alors être remplacée dans le modèle et l'évolution des paramètres physiques en cours de réaction doit également être connue, si l'on souhaite réaliser une simulation de l'état pseudo-stationnaire au cours du temps.

La cinétique de deuxième ordre en oxygène pour l'oxydation du sulfite est donnée par (chapitre 3.2.1) :

$$r_{O_2} = k_r c_{Co} c_L^2$$

L'évolution de la fonction r_{O_2} en fonction de la concentration d'oxygène dissout c_L est reportée en traits pleins sur la figure 5.13 pour différentes concentrations de catalyseur, et pour une valeur de $k_r = 2.5 \cdot 10^{10} \text{ l}^2 \text{ mol}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (à pH = 8.00 et T = 303 K, selon [51]). Cette figure constitue l'équivalent pour le cas de l'oxydation du sulfite de la figure 5.11, qui représente la cinétique de l'oxydation du glucose par la GOD.

Sur la même figure 5.15 est représentée en trait-tillé la capacité de transfert pour différentes valeurs du k_{La} , à une pression ambiante de 730 mm Hg. La valeur admise du coefficient de Henry est de $H = 1486 \text{ at l/mol}$, ce qui correspond à la solubilité au début de la réaction (Annexe B).

Comme développé au chapitre précédent, la concentration d'oxygène dissous et le transfert par unité de volume ϕ^{stat} , en régime pseudo-stationnaire, sont donnés par les coordonnées du point d'intersection des fonctions $\phi(c_L)$ et $r_{O_2}(c_L)$.

La figure 5.16 présente ϕ^{stat} , ainsi que le signal de la sonde Γ (égal à c_L/c^*), en fonction du logarithme de la concentration de catalyseur $\log(c_{Co})$.

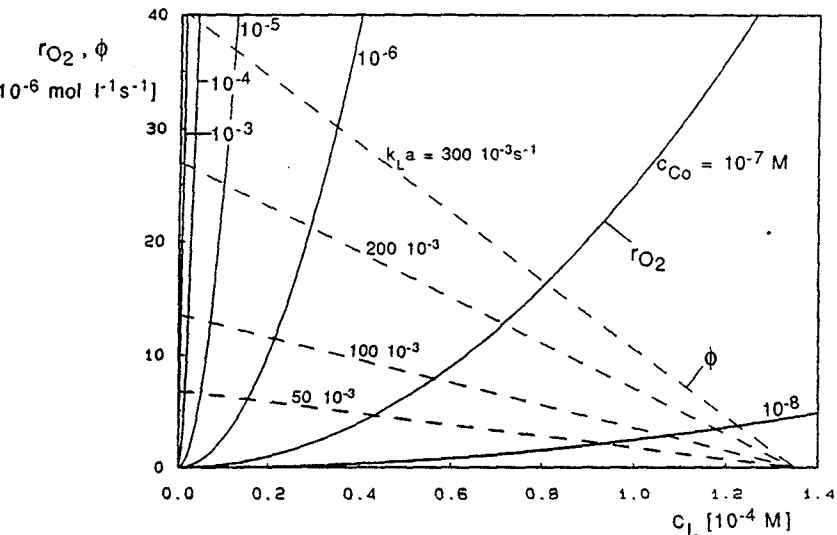


figure 5.15 : Bilan d'oxygène à différentes concentrations de catalyseur et différentes valeurs de $k_L a$

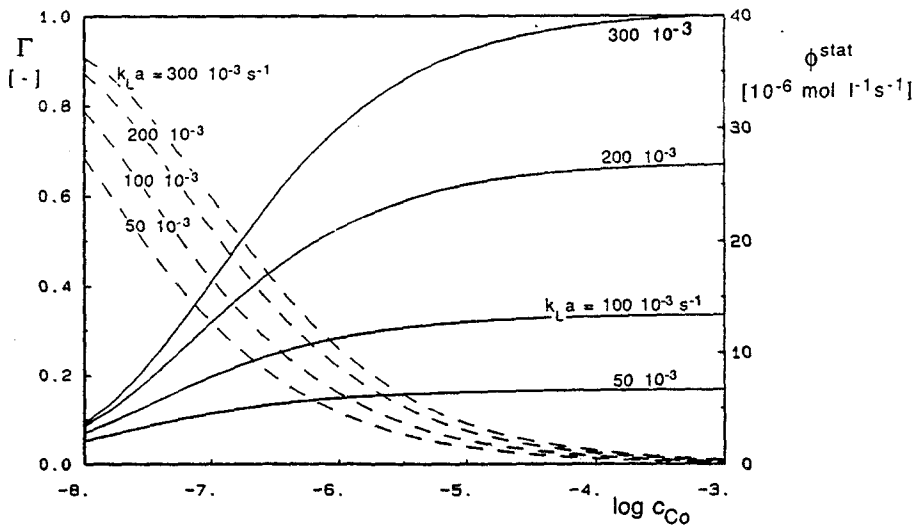


figure 5.16 : Transfert ϕ^{stat} et pourcentage d'oxygène dissous en fonction de la concentration de catalyseur.

On voit que le plateau de la fonction ϕ^{stat} n'est réellement atteint que pour des concentrations de catalyseur relativement importantes, de l'ordre de 10^{-5} à 10^{-4} M. Pour des concentrations de cobalt inférieures, ϕ^{stat} diminue rapidement. En ce qui concerne la concentration d'oxygène dissous, elle n'est négligeable qu'à partir de concentrations de cobalt de l'ordre de 10^{-4} M.

5.3.2. Accélération chimique du transfert.

Lorsqu'elle accélère le transfert de matière, la réaction a lieu dans le film liquide déjà et le modèle pseudo-stationnaire est pris en défaut.

Le système peut être traité de manière similaire au cas de l'oxydation enzymatique du glucose.

Le nombre de Hatta s'exprime (chapitre 3.2.1) :

$$Ha = \frac{1}{k_L} \sqrt{\frac{2}{3} k_r c_{Co} D c^*}$$

et le facteur d'accélération E est donné par :

$$E = \frac{Ha}{\tanh Ha}$$

La valeur de $D = 2.1 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ donnée par Danckwerts [17] a été admise pour le calcul du nombre de Hatta. Cette valeur est sujette à discussion. Reith [51] donne, pour une solution de sulfite à 30°C , une valeur $D = 1.2 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. La précision du coefficient D n'est pas d'une importance primordiale pour le calcul de Ha. En effet, si la valeur de Reith est correcte, les nombres de Hatta calculés sur la base de la valeur de Danckwerts ne sont trop élevés que d'un facteur 1.3.

Le nombre de Hatta dépend du coefficient de transfert de matière k_L . Comme précédemment, deux valeurs limites pour k_L de $1 \cdot 10^{-4}$ et $5 \cdot 10^{-4} \text{ ms}^{-1}$ sont envisagées. Les nombres de Hatta et les facteurs d'accélération correspondants ainsi calculés sont reportés sur la figure 5.17, en fonction de $\log(c_{Co})$.

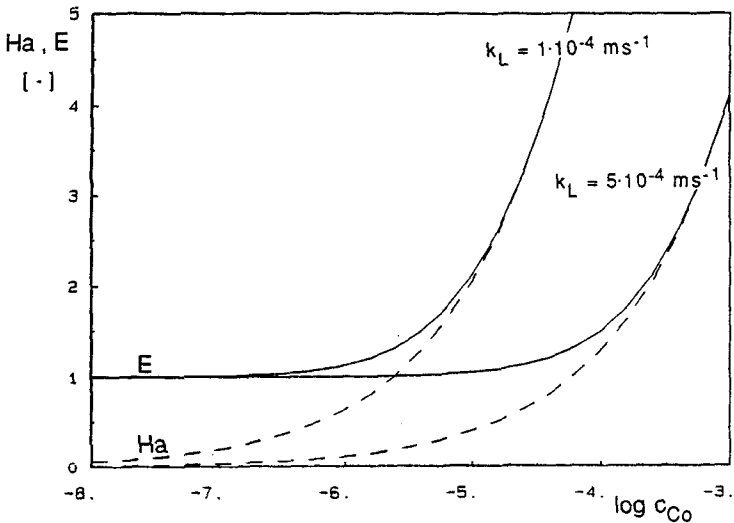


figure 5.17 : Nombre de Hatta et facteur d'accélération en fonction de la concentration de catalyseur

La valeur du nombre de Hatta de 0.3, considérée généralement comme borne supérieure du régime physique, est atteinte pour une concentration de cobalt de $5 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ déjà, dans le cas d'un k_L de $1 \cdot 10^{-4} \text{ ms}^{-1}$, et pour une concentration de 10^{-5} M environ, dans le cas d'un k_L de $5 \cdot 10^{-4} \text{ ms}^{-1}$.

Le facteur d'accélération sert ensuite à corriger les valeurs obtenues précédemment pour ϕ^{stat} , afin d'obtenir le transfert en régime accéléré. Les figures 5.18 et 5.19 présentent le produit $E \cdot \phi^{\text{stat}}$ pour différentes valeurs de $k_L a$, comparé à ϕ^{stat} (en trait-tillé).

Comme dans le cas très comparable de l'oxydation du glucose par la glucose-oxydase, le régime physique n'est rigoureusement jamais atteint, si ce n'est pour de faibles valeurs de $k_L a$ et de hautes valeurs de k_L .

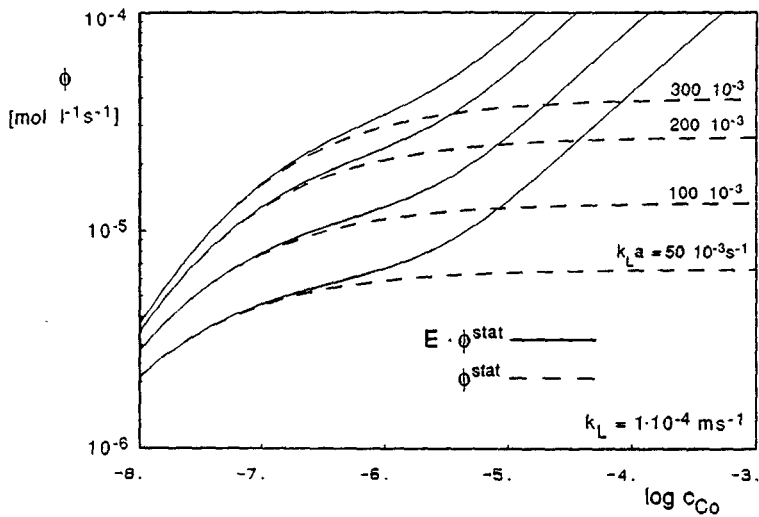


figure 5.18 : Transfert ϕ^{stat} en régimes physique et accéléré en fonction de la concentration de catalyseur; $k_L = 1 \cdot 10^{-4} \text{ ms}^{-1}$

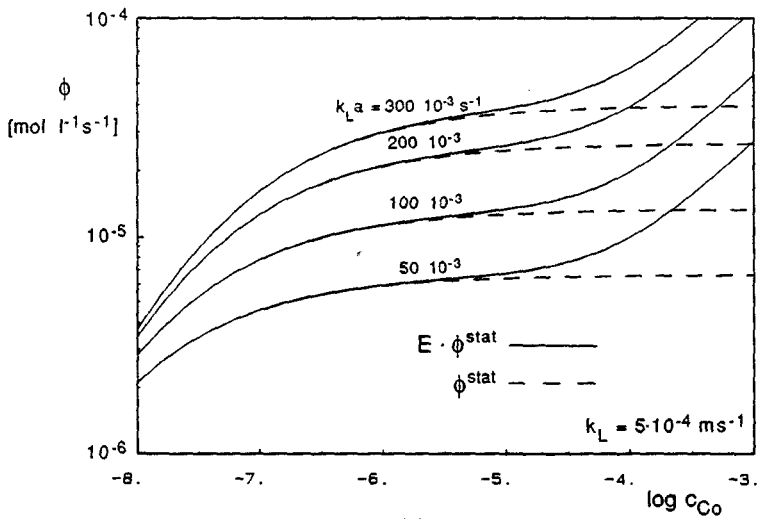


figure 5.19 : Transfert ϕ^{stat} en régimes physique et accéléré en fonction de la concentration de catalyseur; $k_L = 5 \cdot 10^{-4} \text{ ms}^{-1}$

Discussion.

L'analyse ci-dessus permet d'expliquer un certain nombre de résultats expérimentaux obtenus à l'aide de la méthode du sulfite.

Ruchti et al. [59] ont notamment observé que les courbes $\log \phi$ en fonction de $\log(c_{Co})$ ne présentent que rarement le plateau correspondant au régime physique.

Les cas où ce plateau est effectivement atteint correspondent toujours à des $k_L a$ faibles (basses vitesses d'agitation) ou à des coefficients de transfert k_L élevés. En effet, le régime physique semble mieux marqué dans le cas d'essais sur une colonne à bulles, que dans le cas de la mise en oeuvre dans un réacteur agité. Or, dans la colonne, les bulles sont très probablement d'une taille supérieure à celles d'un réacteur agité, admettant par le fait même un k_L supérieur, propre au cas de "grandes bulles", au sens où l'a défini Calderbank.

La limite inférieure de concentration de cobalt à partir de laquelle la concentration d'oxygène en phase liquide est négligeable a été estimée à l'aide d'un critère donné par Reith [51]. Ce critère est le suivant :

$$k_L a \ll k_2 c^*$$

Ce critère est fortement remis en question par le modèle présenté dans ce travail. En effet, le bilan pseudo-stationnaire en phase liquide (figure 5.15) montre que ce critère peut être satisfait dans des conditions où la concentration d'oxygène en phase liquide est fortement différente de 0. Par exemple, pour un $k_L a$ de $50 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ et une concentration de cobalt de 10^{-7} M , la concentration d'oxygène au point de fonctionnement est de l'ordre de 30%; pourtant, le terme $k_L a \cdot c^*$, correspondant à la capacité de transfert maximale (pour $c_L = 0$), est bien inférieur à $k_2 (c^*)^2$, représentant la cinétique pour $c_L = c^*$. Le critère de Reith n'est donc pas assez restrictif, puisqu'il est vérifié alors que c_L n'est pas nul.

En ce qui concerne la mise en oeuvre de la méthode du sulfite pour la mesure du $k_L a$, il est impératif de travailler à une concentration de catalyseur inférieure telle que $Ha < 0.3$, pour éviter que le transfert ne soit accéléré.

Cette limite est reportée dans le tableau 5.2 pour les deux valeurs limites de k_L , ainsi que le pourcentage de saturation Γ à la même concentration de catalyseur, pour les valeurs extrêmes de $k_L a$ considérées dans l'analyse qui précède.

k_L [ms^{-1}]	c_{Co} [M] ($\text{Ha}=0.3$)	Γ [-]	
		($k_L a = 50 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$)	($k_L a = 300 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$)
$1 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-7}$	0.20	0.42
$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-5}$	0.04	0.10

tableau 5.2 : Limites de concentration de catalyseur pour $\text{Ha}=0.3$
et signal correspondant de la sonde à oxygène

On voit que dans la majorité des cas, la concentration d'oxygène dissous n'est pas nulle. Par conséquent, l'estimation du $k_L a$ à partir du transfert mesuré par iodométrie, en assumant $c_L=0$, peut conduire à des sous-estimations du $k_L a$ allant suivant les cas jusqu'à plusieurs dizaines de pourcents.

5.4 Effet de la composition du gaz sur le transfert.

5.4.1. Concentration de l'oxygène en phase gazeuse.

Un paramètre important a été négligé dans les modèles présentés dans les chapitres précédents. On a admis, dans le bilan d'oxygène en phase gazeuse décrit au chapitre 5.1, que la composition de l'air dans la phase gazeuse du réacteur était égale à la composition à l'entrée du réacteur. Ceci est uniquement vrai dans le cas où le transfert OTR est faible. Il sera montré dans ce chapitre que cette approximation est raisonnable dans le cadre des applications développées aux chapitres 5.2 et 5.3.

Ce chapitre a pour but de décrire l'extension des modèles, et notamment de la formalisation graphique proposée aux chapitres précédents, lorsque, le transfert étant important (en régime fortement accéléré notamment), la concentration d'oxygène ne peut plus être considérée comme égale à la concentration d'entrée.

Le comportement du mélange en phase gazeuse prend alors une importance accrue et peut, à priori, se conformer à deux situations limites :

- La phase gazeuse se comporte comme un volume parfaitement agité. La concentration d'oxygène dans ce volume est alors égale à la concentration de sortie.
- La phase gazeuse a un comportement de type "écoulement piston". La concentration d'oxygène caractérisant le transfert sur l'ensemble du réacteur est alors une moyenne logarithmique entre les concentrations d'entrée et de sortie.

5.4.2. Bilan pseudo-stationnaire sur la phase gazeuse.

Le bilan de gaz développé au chapitre 3.3.2 lie la fraction molaire en oxygène dans le gaz de sortie du réacteur $y_{O_2}^1$ au transfert OTR :

$$OTR = G \frac{P^o}{RT^o} \left[y_{O_2}^o - (1 - y_{O_2}^o) \frac{y_{O_2}^1}{1 - y_{O_2}^1} \right]$$

Le transfert par unité de volume ϕ s'écrit donc :

$$\phi = \frac{OTR}{V_L} = \frac{G}{V_L} \frac{P^\circ}{RT^\circ} \left[y_{O_2}^\circ - (1 - y_{O_2}^\circ) \frac{y_{O_2}^1}{1 - y_{O_2}^1} \right]$$

Dans le cas limite où la phase gazeuse est **parfaitement mélangée**, la pression partielle d'oxygène y est donnée par :

$$p_{O_2} = y_{O_2}^1 P$$

et la concentration de saturation en phase liquide par :

$$c^* = \frac{p_{O_2}}{H} = y_{O_2}^1 \frac{P}{H}$$

Le transfert ϕ s'exprime donc en fonction de c^* , à partir du bilan d'oxygène sur la phase gazeuse, comme :

$$\phi (c^*) = \frac{G}{V_L} \frac{P^\circ}{RT^\circ} \left[y_{O_2}^\circ - (1 - y_{O_2}^\circ) \frac{c^* H}{P - c^* H} \right] \quad 5.14$$

D'autre part, le transfert s'écrit de manière générale comme :

$$\phi (c^*) = E k_L a (c^* - c_L) \quad 5.15$$

Le facteur d'accélération E est supérieur à 1 si le transfert est accéléré par la réaction, et peut notamment être fonction de c^* dans le cas d'une réaction d'ordre supérieur à 1 en oxygène, comme c'est le cas par exemple pour la réaction du sulfite.

La fonction OTR (c^*) définie par l'équation 5.14 est décroissante en fonction de c^* , alors que la fonction correspondant à l'équation 5.15 est croissante. Elles définissent donc un point de fonctionnement stable qui réalise le bilan d'oxygène pseudo-stationnaire dans la phase gazeuse.

5.4.3. Représentation graphique.

Deux cas sont à envisager, suivant que le transfert est accéléré ou non par la réaction.

1. Régime physique.

En régime physique, $E = 1$, et le transfert donné par l'équation 5.15 s'écrit :

$$\phi(c^*) = k_L a (c^* - c_L)$$

Graphiquement, la relation précédente est représentée, en fonction de c^* , par une droite (figure 5.20, courbes a) de pente $k_L a$, et d'ordonnée à l'origine $-k_L a \cdot c_L$. Le transfert est nul pour $c^* = c_L$. c_L est donné en réalité par le bilan pseudo-stationnaire en phase liquide, développé précédemment. Il est choisi arbitrairement à 10 % de c^* dans le cas de la figure 5.20.

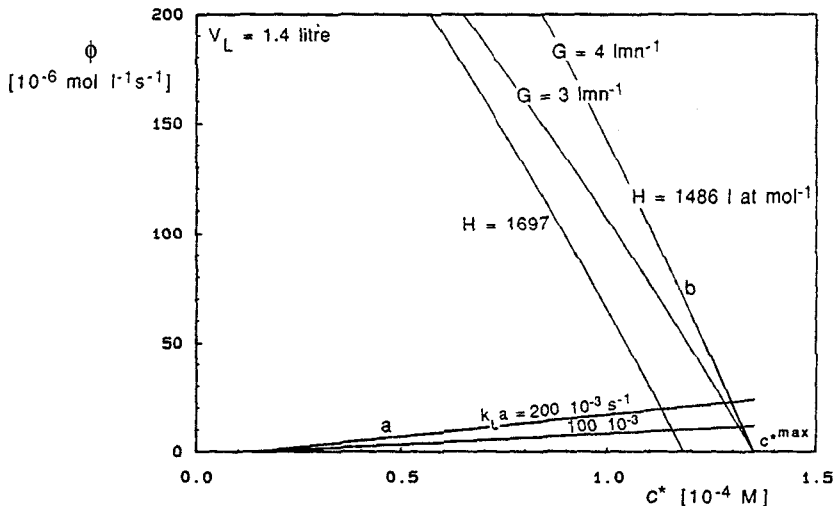


figure 5.20 : Bilan d'oxygène en phase gazeuse; phase gazeuse parfaitement mélangée

La relation 5.14 est représentée par une courbe du type de celles de la figure 5.20 *b*, calculées pour différentes valeurs des paramètres, qui sont le coefficient de Henry, le débit de gaz et le volume liquide. Pour des valeurs usuelles de ces paramètres, elle présente une pente très élevée pour de faibles transferts, ce qui rend d'ailleurs imprécise, dans ces conditions, la détermination du transfert par l'analyse du gaz de sortie.

On voit sur la même figure que pour les valeurs du $k_L a$ atteignables en régime physique, et ceci quelle que soit la valeur de c_L , le point de fonctionnement correspond à une concentration de saturation très proche de c^{*max} , ce dernier étant en équilibre avec l'air entrant. En d'autres termes, la composition de l'air dans la phase gazeuse est très proche de la composition de l'air entrant. Le bilan pseudo-stationnaire sur la phase liquide, avec $c^* = c^{*max}$, suffit alors à définir le niveau du transfert ϕ . C'est ce qui a été réalisé implicitement aux chapitres 5.2 et 5.3. La différence sur la valeur du OTR, suivant que c^* est pris comme c^{*max} ou comme l'abscisse du point de fonctionnement, est encore plus négligeable.

Ceci est montré sur la figure 5.21, qui montre comment tenir compte, de manière rigoureuse, de l'appauvrissement de la phase gazeuse. Les deux bilans pseudo-stationnaires, sur la phase gazeuse et sur la phase liquide, doivent être considérés simultanément. En superposant les deux bilans graphiques des figures 5.3 et 5.20 (figure 5.21), il apparaît qu'il existe un couple de valeurs $\{c^*, c_L\}$ et un seul qui satisfait à la fois les deux bilans.

Le transfert ϕ est donné par le niveau *a*, en supposant que la phase gazeuse est parfaitement mélangée. Les modèles des chapitres 5.2 et 5.3 assument c^* égal à c^{*max} , et obtiennent par conséquent un transfert ϕ donné par le niveau *c*. On peut prévoir qu'une situation de type "plug-flow" donnerait un transfert correspondant au niveau *b*. La situation réelle est intermédiaire entre le régime "écoulement piston" et la situation parfaitement mélangée.

Les effets présentés dans la suite de ce chapitre, dans le cas d'une phase gazeuse parfaitement mélangée, sont donc qualitativement applicables au cas du régime "écoulement piston" et, à plus forte raison, au cas réel.

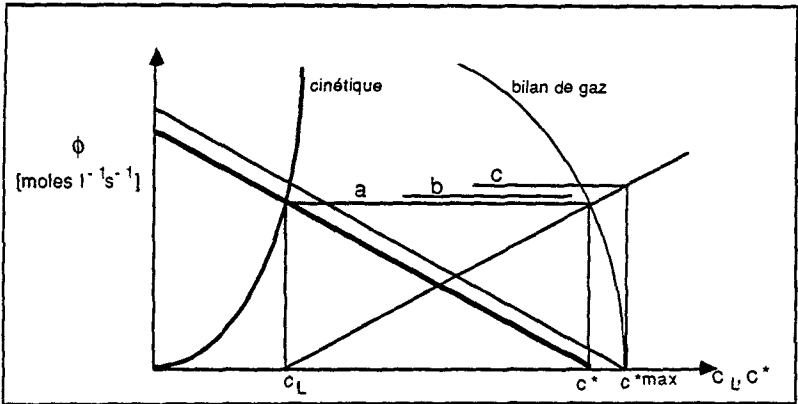


figure 5.21 : Bilans d'oxygène en phase gazeuse et liquide;
influence du type de mélange en phase gazeuse

Signal de la sonde à oxygène.

Le signal de la sonde à oxygène (chapitre 8.1) est indépendant de la pression partielle ambiante en oxygène. S'il a été calibré de manière à fournir un signal de 100% pour $c_L = c^{*max}$, il reste normalisé par rapport à c^{*max} , même si la concentration de saturation change, par suite d'une modification de la composition de l'air ambiant.

2. Régime accéléré.

En régime fortement accéléré, $c_L = 0$ et le transfert s'écrit :

$$\phi(c^*) = E \cdot k_L a c^*$$

Le transfert dépend alors également des paramètres cinétiques, inclus dans le facteur d'accélération E , et le bilan pseudo-stationnaire gazeux suffit alors à lui seul à déterminer le niveau du transfert.

La forme de la fonction $\phi(c^*) = E \cdot k_L a c^*$ est linéaire si la cinétique est de premier ordre en oxygène et que, par conséquent, le facteur

d'accélération ne dépend pas de c^* . Cette fonction n'est plus linéaire si l'ordre est différent.

Exemple : réaction du sulfite.

Dans le cas de l'oxydation du sulfite, le facteur d'accélération est fonction de c^* (chapitre 3.2.1). Le transfert s'écrit alors :

$$\phi(c^*) = k_L a (c^*)^{1.5} \frac{1}{k_L} \sqrt{\frac{2}{3} k_r D c_{Co}}$$

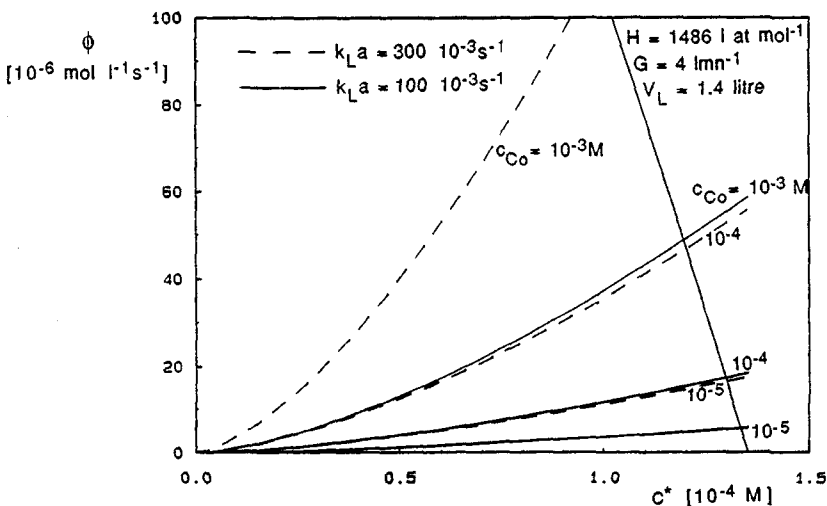


figure 5.22 : Bilan d'oxygène en phase gazeuse pour diverses concentrations de catalyseur et pour deux valeurs de $k_L a$

La figure 5.22 montre l'allure de cette fonction pour différentes concentrations de cobalt et différentes valeurs de $k_L a$. La valeur assumée du coefficient k_L est de $5 \cdot 10^{-4} \text{ ms}^{-1}$, et les valeurs des autres paramètres sont les mêmes que celles utilisées au chapitre 5.3.

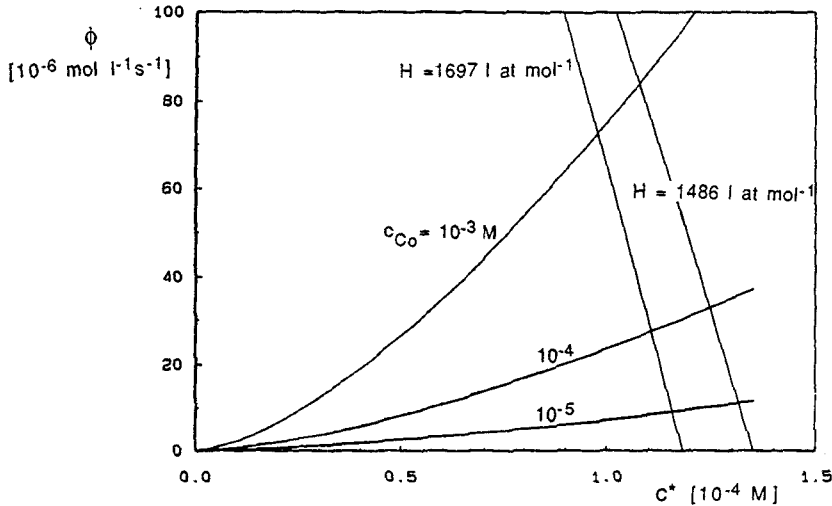


figure 5.23 : Effet d'une augmentation du coefficient de Henry, en régime accéléré; $k_L a = 200 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$; $G = 4 \text{ Nlm}^{-1}$; $V_L = 1.4 \text{ l}$

On voit notamment que, pour une haute concentration de catalyseur, la concentration de saturation c^* correspondant au point de fonctionnement peut être passablement inférieure à $c^{*\text{max}}$.

Cet effet est d'ailleurs d'autant plus marqué que le $k_L a$ est élevé. Ceci a notamment pour conséquence que, pour des $k_L a$ élevés, la pente de la fonction $\log(\phi)$ en fonction de $\log(c_{\text{Co}})$ peut être inférieure à la valeur de 0.5 prévue précédemment.

Sur la figure 5.23 sont reportées les fonctions $\phi(c^*)$ pour différentes concentrations de cobalt, à un $k_L a$ de $200 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, ainsi que le transfert, tiré du bilan gazeux, pour deux valeurs du coefficient de Henry, correspondant aux valeurs mesurées dans le cas de la réaction du sulfite, respectivement en début et en fin de réaction (c.f. Annexe A).

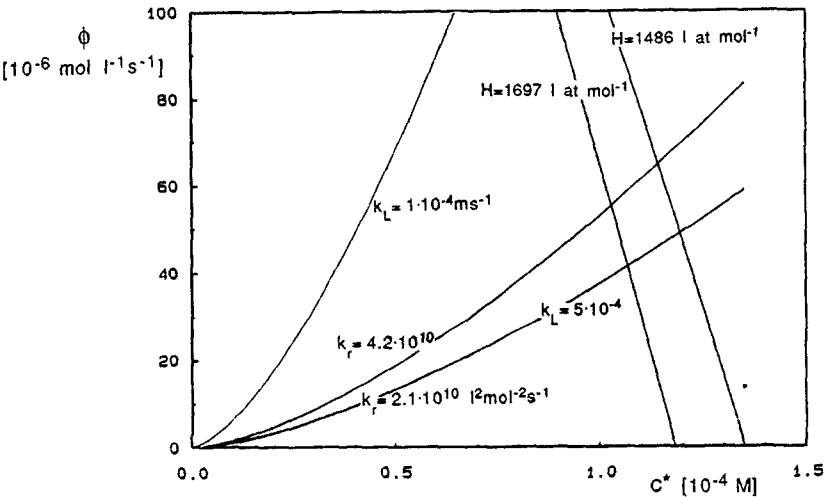


figure 5.24 : Effet de variations de k_r et k_L sur le bilan d'oxygène en phase gazeuse, en régime accéléré ;
 $k_L a = 200 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$; $c_{\text{CO}} = 10^{-3} \text{ M}$; $G = 4 \text{ Nlmm}^{-1}$; $V_L = 1.4 \text{ l}$

Alors que pour des faibles concentrations de catalyseur, le transfert correspondant à l'ordonnée du point de fonctionnement est quasiment identique, on voit qu'en régime fortement accéléré (pour de hautes concentrations de catalyseur), le transfert peut diminuer passablement en cours de réaction à cause de l'augmentation du facteur de Henry.

La figure 5.24 montre l'effet d'une augmentation de 100% de la valeur de k_r , coefficient de vitesse de la réaction. Le transfert augmente.

Combinée avec une augmentation du coefficient de Henry, l'augmentation du coefficient k_r peut mener à une importante évolution du transfert, croissante ou décroissante, selon l'importance des deux effets.

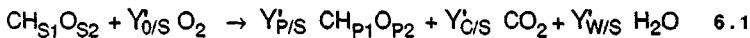
Il est difficile de quantifier les différents phénomènes mis en évidence ci-dessus. En effet, les calculs du facteur d'accélération assument une valeur du coefficient de transfert k_L de $5 \cdot 10^{-4} \text{ ms}^{-1}$, alors que ce paramètre est mal connu dans les conditions réelles. La figure 5.24 montre également l'influence de la valeur de k_L , dans le cas d'un exemple ($C_{O_0} = 10^{-3} \text{ M}$; $k_L a = 100 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$; $k_L = 1 \cdot 10^{-4} \text{ ms}^{-1}$). Tous les effets décrits précédemment sont encore plus marqués dans le cas d'une valeur de k_L inférieure à $5 \cdot 10^{-4} \text{ ms}^{-1}$.

6. Thermochimie des réactions d'oxydation.

6.1. Bilan massique.

La formule élémentaire d'un composé organique contenant les éléments C,H et O peut s'exprimer par atome de carbone (C-mol) sous la forme $\text{CH}_{S_1}\text{O}_{S_2}$, où S_1 et S_2 sont respectivement les nombres d'atomes d'hydrogène et d'oxygène par atome de carbone.

L'oxydation d'un tel composé par réaction avec l'oxygène moléculaire peut conduire théoriquement à la formation de trois produits : un produit organique de formule élémentaire $\text{CH}_{P_1}\text{O}_{P_2}$ (forme partiellement oxydée du carbone), du CO_2 (forme complètement oxydée), et de l'eau. De manière générale, la stoechiométrie d'une telle réaction peut s'écrire :



où $Y'_{O/S}$ est le rendement en moles d'oxygène consommées par C-mole de substrat oxydée.

$Y'_{P/S}$ est le rendement en C-moles de produit organique formées par C-mole de substrat oxydée.

$Y'_{C/S}$ est le rendement en moles de CO_2 produites par C-mole de substrat oxydée.

$Y'_{W/S}$ est le rendement en moles d'eau produites par C-mole de substrat oxydée.

Les 4 rendements ci-dessus définissent une certaine stoechiométrie de la réaction. Il est possible d'écrire, à partir de cette stoechiométrie, 3 équations exprimant la conservation respective des éléments C, H et O .

$$\text{C: } 1 = Y'_{P/S} + Y'_{C/S}$$

$$\text{H: } S_1 = P_1 Y'_{P/S} + 2 Y'_{W/S}$$

$$\text{O: } S_2 + 2 Y'_{O/S} = P_2 Y'_{P/S} + 2 Y'_{C/S} + Y'_{W/S}$$

Ces 3 équations constituent un système à 4 inconnues, qui sont les différents rendements. N'étant pas indéterminé, ce système possède par conséquent un degré de liberté. En d'autres termes, la connaissance d'un rendement permet le calcul des trois autres, et donne donc accès à la stoechiométrie complète de la réaction.

En supposant que le rendement en produit organique $Y'_{P/S}$ est connu, les solutions pour les autres rendements s'expriment en fonction de $Y'_{P/S}$:

$$Y'_{C/S} = 1 - Y'_{P/S} \quad 6.2$$

$$Y'_{W/S} = \frac{1}{2} S_1 - \frac{1}{2} P_1 Y'_{P/S} \quad 6.3$$

$$Y'_{O/S} = \frac{1}{4} (4 + S_1 - 2 S_2) - \frac{1}{4} (4 + P_1 - 2 P_2) Y'_{P/S} \quad 6.4$$

On définit pour une substance $CH_{i1}O_{i2}$ un paramètre $\gamma_i [-]$, appelé **degré de réduction**, donné par :

$$\gamma_i = 4 + i_1 - 2 i_2$$

En introduisant ce paramètre dans la relation 6.4, $Y'_{O/S}$ s'écrit alors sous la forme :

$$Y'_{O/S} = \frac{1}{4} \gamma_S - \frac{1}{4} \gamma_P Y'_{P/S} \quad 6.5$$

Combustion.

Dans le cas où le substrat est entièrement oxydé sous forme de CO_2 , la réaction d'oxydation est alors une **combustion**. Le rendement $Y'_{P/S}$ vaut alors 0 et les autres rendements, donnés par les équations 6.2, 6.3 et 6.5, prennent les valeurs suivantes :

$$Y'_{C/S} = 1$$

$$Y'_{W/S} = \frac{1}{2} S_1$$

$$Y'_{O/S} = \frac{1}{4} \gamma_S$$

On voit alors apparaître le degré de réduction comme une grandeur égale à 4 fois le nombre de moles d'oxygène requises pour la combustion d'une C-mole.

Au cours d'une réaction entre un composé organique et l'oxygène moléculaire, chaque atome d'oxygène accepte formellement 2 électrons provenant du carbone organique. La molécule d'oxygène accepte donc un total de 4 électrons.

Le degré de réduction d'un composé organique apparaît alors comme le nombre d'électrons transférés à l'oxygène par atome de carbone, au cours de la combustion du composé.

Oxydation partielle.

Dans le cas limite opposé où il n'y a aucune production de CO_2 , le carbone est oxydé partiellement, et le produit est un composé organique. Le rendement $Y_{P/S}$ vaut alors 1 et les autres rendements deviennent :

$$Y_{C/S} = 0$$

$$Y_{W/S} = \frac{1}{2} S_1 - \frac{1}{2} P_1$$

$$Y_{O/S} = \frac{1}{4} Y_S - \frac{1}{4} Y_P$$

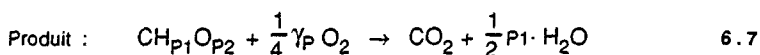
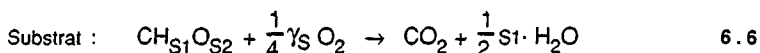
L'oxygène requis pour l'oxydation d'une C-mole de substrat en produit dépend alors des degrés de réduction des deux composés. On voit notamment que, pour qu'une consommation d'oxygène soit possible, il faut que le degré de réduction du produit soit inférieur au degré de réduction du substrat.

L'eau formée durant la réaction d'oxydation dépend des compositions respectives en hydrogène du substrat et du produit, données par S_1 et P_1 . Dans le cas où $S_1 = P_1$, le rendement $Y'_{W/S}$ est nul et il n'y a pas alors de production d'eau par la réaction.

6.2. Bilan énergétique.

6.2.1. Chaleur de combustion

Sur la base des bilans de matière développés précédemment, les réactions de combustion du substrat et du produit peuvent s'écrire comme :



Les enthalpies de ces deux réactions de combustion sont respectivement ΔH_S^i et ΔH_P^i [kJ/C-mol] (à 25°C et 1 at).

L'enthalpie de combustion d'un composé i peut s'écrire de manière générale :

$$\Delta H_i^i = \gamma_i Q_0^i \quad 6.8$$

où Q_0^i [kJ/C-mol] est l'enthalpie de combustion par degré de réduction pour le composé i .

Il a été démontré notamment par Thornton [63], Karash [35], et Giese [27] que le coefficient Q_0^i est très similaire pour de nombreux composés organiques, ou en d'autres termes qu'il existe une proportionalité approximative entre la chaleur dégagée par la combustion d'un composé organique et son degré de réduction. Il existe donc une valeur Q_0 [kJ/C-mol] telle que :

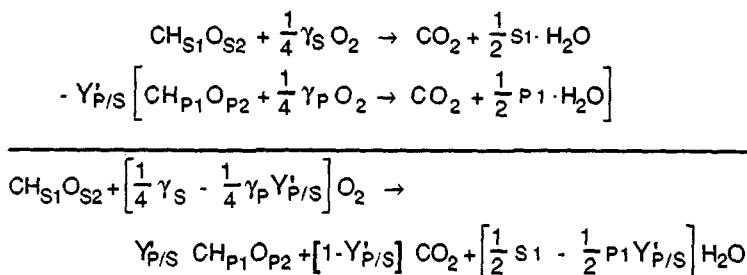
$$\Delta H_i^i \approx \gamma_i Q_0$$

Une valeur moyenne Q_0 de -115.06 kJ/C-mol est donnée par Giese [27] , alors que Cordier et al. [15] et Roels [55] préconisent une valeur de -115 kJ/C-mol.

Toutefois, il peut exister des déviations ponctuelles de cette règle de proportionnalité. La déviation standard des valeurs reportées par Roels [55] pour une cinquantaine de composés organiques est de ± 7 kJ/C-mol.

6.2.2. Chaleur de réaction.

L'équation 6.1 peut être obtenue à partir des deux réactions de combustion du substrat et du produit (équations 6.6 et 6.7) par soustraction de l'équation 6.7, pondérée d'un facteur $Y'_{P/S}$, à l'équation 6.6.



Soit $\Delta H'_r$ [kJ/C-mol] l'enthalpie de la réaction 6.1, ainsi que $\Delta H'_S$ et $\Delta H'_P$ [kJ/C-mol] les enthalpies de combustion respectivement du substrat et du produit. $\Delta H'_r$ peut s'écrire :

$$\Delta H'_r = \Delta H'_S - Y'_{P/S} \Delta H'_P \quad 6.9$$

Dans le cas où le substrat de la réaction 6.1 est entièrement oxydé en CO_2 , $Y'_{P/S} = 0$ et l'on retrouve bien : $\Delta H'_r = \Delta H'_S$.

Si, au contraire, la réaction 6.1 est une oxydation partielle sans production de CO_2 , $Y'_{P/S} = 1$ et alors :

$$\Delta H'_r = \Delta H'_S - \Delta H'_P$$

De manière générale, l'enthalpie de réaction définie par l'équation 6.11 peut s'exprimer en fonction des degrés de réduction du substrat et du produit. Deux cas sont à considérer :

A. Cas idéal : la proportionnalité entre le degré de réduction et l'enthalpie de combustion est vérifiée.

La valeur du coefficient Q_0 est donc la même pour la combustion du substrat que pour la combustion du produit. Les enthalpies de combustion peuvent alors s'écrire :

$$\Delta H'_S = \gamma_S Q_0$$

$$\Delta H'_P = \gamma_P Q_0$$

et l'enthalpie de réaction (équation 6.9) devient :

$$\begin{aligned} \Delta H'_r &= \gamma_S Q_0 - Y'_{P/S} \gamma_P Q_0 \\ &= [\gamma_S - Y'_{P/S} \gamma_P] Q_0 \end{aligned} \quad 6.10$$

Le rendement de chaleur par mole d'oxygène consommée $Y_{Q/O}$ [kJ/mol] est donné de manière générale par :

$$Y_{Q/O} = \frac{-\Delta H'_r}{Y'_{O/S}} \quad 6.11$$

Dans le cas présent, en remplaçant $\Delta H'_r$ par sa valeur tirée de 6.10 et $Y'_{O/S}$ tiré de 6.5, la relation 6.11 devient :

$$Y_{Q/O} = \frac{-[\gamma_S - Y'_{P/S} \gamma_P] \cdot Q_0}{\frac{1}{4} \gamma_S - \frac{1}{4} Y'_{P/S} \gamma_P} = -4 Q_0 \quad 6.12$$

Le rendement de chaleur par mole d'oxygène consommée lors d'une réaction d'oxydation doit donc dans ce cas admettre une valeur constante. Au sens de la relation 6.12, une réaction d'un composé organique qui ne consomme pas d'oxygène doit être athermique, ce qui est manifestement faux.

B. Cas réel : la proportionnalité entre le degré de réduction et l'enthalpie de combustion n'est pas exactement vérifiée.

Le coefficient Q_0^i est alors différent pour chaque composé, et les enthalpies de combustion doivent alors s'écrire :

$$\begin{aligned}\Delta H_S &= \gamma_S Q_0^S = \gamma_S (Q_0 + \varepsilon_S Q_0) = \gamma_S Q_0 (1 + \varepsilon_S) \\ \Delta H_P &= \gamma_P Q_0^P = \gamma_P (Q_0 + \varepsilon_P Q_0) = \gamma_P Q_0 (1 + \varepsilon_P)\end{aligned}$$

où ε_S et ε_P sont les erreurs relatives de Q_0^i par rapport à une valeur moyenne Q_0 .

Le bilan enthalpique défini par la relation 6.9 devient alors :

$$\begin{aligned}\Delta H_r &= \gamma_S Q_0 (1 + \varepsilon_S) - Y_{P/S} \gamma_P Q_0 (1 + \varepsilon_P) \\ &= [\gamma_S (1 + \varepsilon_S) - Y_{P/S} \gamma_P (1 + \varepsilon_P)] Q_0\end{aligned}$$

Le rendement de chaleur par mole d'oxygène $Y_{Q/O}$ défini par l'équation 6.11 devient dans ce cas :

$$\begin{aligned}Y_{Q/O} &= \frac{-[\gamma_S (1 + \varepsilon_S) - Y_{P/S} \gamma_P (1 + \varepsilon_P)] Q_0}{\frac{1}{4} \gamma_S - \frac{1}{4} Y_{P/S} \gamma_P} \\ Y_{Q/O} &= -4 Q_0 \left[1 + \frac{\gamma_S \varepsilon_S - Y_{P/S} \gamma_P \varepsilon_P}{\gamma_S - Y_{P/S} \gamma_P} \right]\end{aligned}$$

Dans le cas où $Y_{P/S} = 1$ (pas de production de CO_2), le rendement $Y_{Q/O}$ devient encore :

$$Y_{Q/O} = 4 Q_0 \left[1 + \frac{\gamma_S \varepsilon_S - \gamma_P \varepsilon_P}{\gamma_S - \gamma_P} \right] \quad 6.13$$

Dans cette dernière expression, $Y_{O/O}$ tend vers l'infini pour $\gamma_S = \gamma_P$. La consommation d'oxygène est alors nulle, mais la réaction n'est pas athermique.

Déviations à la règle de proportionnalité.

Il apparaît que les déviations observées à la règle de proportionnalité sont liées à l'existence de chaleurs de réactions non-nulles pour des réactions ne consommant pas d'oxygène.

La raison profonde de ces déviations est que l'enthalpie de formation d'un composé organique ne dépend pas uniquement de sa stoechiométrie de combustion. En effet, si l'on établit le bilan enthalpique d'une réaction d'oxydation, par exemple 6.6, l'enthalpie de combustion ΔH_S est donnée par :

$$\Delta H_S = \Delta H_f^{\circ}(\text{CO}_2) + \frac{1}{2} S_1 \cdot \Delta H_f^{\circ}(\text{H}_2\text{O}) - \Delta H_f^{\circ} \quad 6.14$$

où $\Delta H_f^{\circ}(i)$ [kJ/mol] est l'enthalpie standard de formation du composé i , et où ΔH_f° est l'enthalpie standard de formation du substrat par C-mole. Les valeurs de $\Delta H_f^{\circ}(\text{CO}_2)$ et $\Delta H_f^{\circ}(\text{H}_2\text{O})$ à 25°C et 1 at sont [67] :

$$\Delta H_f^{\circ}(\text{H}_2\text{O}) = -284 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta H_f^{\circ}(\text{CO}_2) = -389 \text{ kJ/mol}$$

En introduisant dans 6.14 l'enthalpie de combustion en fonction de Q_0^S , tirée de 6.8, on obtient :

$$\Delta H_f^{\circ} = \Delta H_f^{\circ}(\text{CO}_2) + \frac{1}{2} S_1 \cdot \Delta H_f^{\circ}(\text{H}_2\text{O}) - \gamma_S Q_0^S$$

$$\Delta H_f^{\circ} = \Delta H_f^{\circ}(\text{CO}_2) + \frac{1}{2} S_1 \cdot \Delta H_f^{\circ}(\text{H}_2\text{O}) - (4+S_1-2 \cdot S_2) Q_0^S \quad 6.15$$

L'existence d'un facteur Q_0 commun à toutes les substances organiques impliquerait que l'enthalpie de formation ΔH_f° d'un

composé ne dépend que des coefficients S1 et S2, selon l'équation 6.15.

En réalité, l'enthalpie de formation dépend également d'autres facteurs secondaires tels que le type des liaisons, l'encombrement stérique, l'énergie de résonance etc... L'existence de ces facteurs explique les déviations à la règle de proportionnalité.

6.3. Application.

6.3.1. Chaleur de réaction de l'oxydation du glucose par la glucose-oxydase.

La réaction d'oxydation du glucose en acide gluconique est fortement exothermique. Son enthalpie peut être calculée à priori, à partir des chaleurs de combustion des deux composés.

La chaleur de combustion de l'acide gluconique n'étant pas disponible dans la littérature, celle-ci a dû être déterminée par calorimétrie de combustion (chapitre 8.5). Cette étude a donné le résultat suivant :

$$\Delta H_p = -2539 \text{ kJ/mol}$$

(7 échantillons; déviation standard : 20 kJ/mol)

La chaleur de combustion du glucose est par ailleurs bien connue ($\Delta H_S = -2800 \text{ kJ/mol}$). La chaleur de réaction, par mole de substrat, de l'oxydation du glucose en acide gluconique peut être estimée à :

$$\Delta H_r = -2800 + 2539 = -261 \text{ kJ/mol } (\pm 20 \text{ kJ/mol})$$

Le rendement de chaleur par mole d'oxygène transférée $Y_{Q/O}$ est donc égal à :

$$Y_{Q/O} = -2 \cdot \Delta H_r = 522 \pm 40 \text{ kJ/eq.e-}$$

Ce qui est supérieur à la valeur estimée sur la base de la règle de proportionnalité, qui est de $-4 \cdot Q_o$, soit 460 kJ/eq.e- .

Cette déviation est bien décrite par l'équation 6.13. En effet, la chaleur de combustion du glucose par équivalent-électron est :

$$Q_{O^S} = -116.7 \text{ kJ/eq.e-}$$

Celle de l'acide gluconique est de :

$$Q_{O^P} = \frac{-2539 \pm 20}{5.5 \cdot 4} = -115.4 \pm 0.9 \text{ kJ/eq.e-}$$

Le glucose et l'acide gluconique manifestent donc des erreurs ϵ_S et ϵ_P respectivement de 0.0148 et 0.0035 par rapport à la valeur Q_O de -115 kJ/eq.e-.

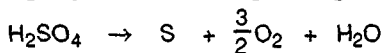
D'autre part, les degrés de réduction respectifs du glucose et de l'acide gluconique sont de 4 et 3.67.

Sur la base de l'équation 6.13, on calcule donc un rendement $Y_{Q/O}$ de -4.56 Q_O , soit 524 kJ/mol, qui est équivalent à la valeur calculée précédemment.

6.3.2. Chaleur de réaction de l'oxydation du sulfite.

L'enthalpie de réaction, selon Rossini [56], est de -570.2 kJ/mol (par rapport à l'oxygène), et donc de -285.1 kJ/mol (par rapport au sulfite).

Selon Roels [55], les "chaleurs de combustion" par équivalent-électron du sulfite et du sulfate sont respectivement de -82.3 et de -100.3 kJ/eq.e-, et correspondent formellement aux équations suivantes :



Les degrés de réduction du soufre dans le sulfite et dans le sulfate sont respectivement de -4 et -6, de telle sorte que les enthalpies des deux réactions précédentes sont fortement positives.

Les erreurs relatives par rapport coefficient Q_0 sont pour le sulfite et le sulfate :

$$\varepsilon_S = -0.284$$

$$\varepsilon_P = -0.128$$

Sur la base de ces valeurs, l'équation 6.13 prévoit, pour la réaction d'oxydation de sulfite en sulfate, un rendement de chaleur $Y_{Q/O}$ valant $-4.74 Q_0$, soit 545 kJ/mol.

Ainsi, les chaleurs de combustion par équivalent-électron sont inférieures à Q_0 , en valeur absolue, tant pour le substrat que pour le produit. Néanmoins, la chaleur de réaction, par équivalent-électron, est nettement supérieure à Q_0 .

La valeur de $Y_{Q/O}$, obtenue par l'équation 6.13 sur la base des données de Roels, est relativement proche (-4%) de la valeur expérimentale de Rossini (570 kJ/mol).

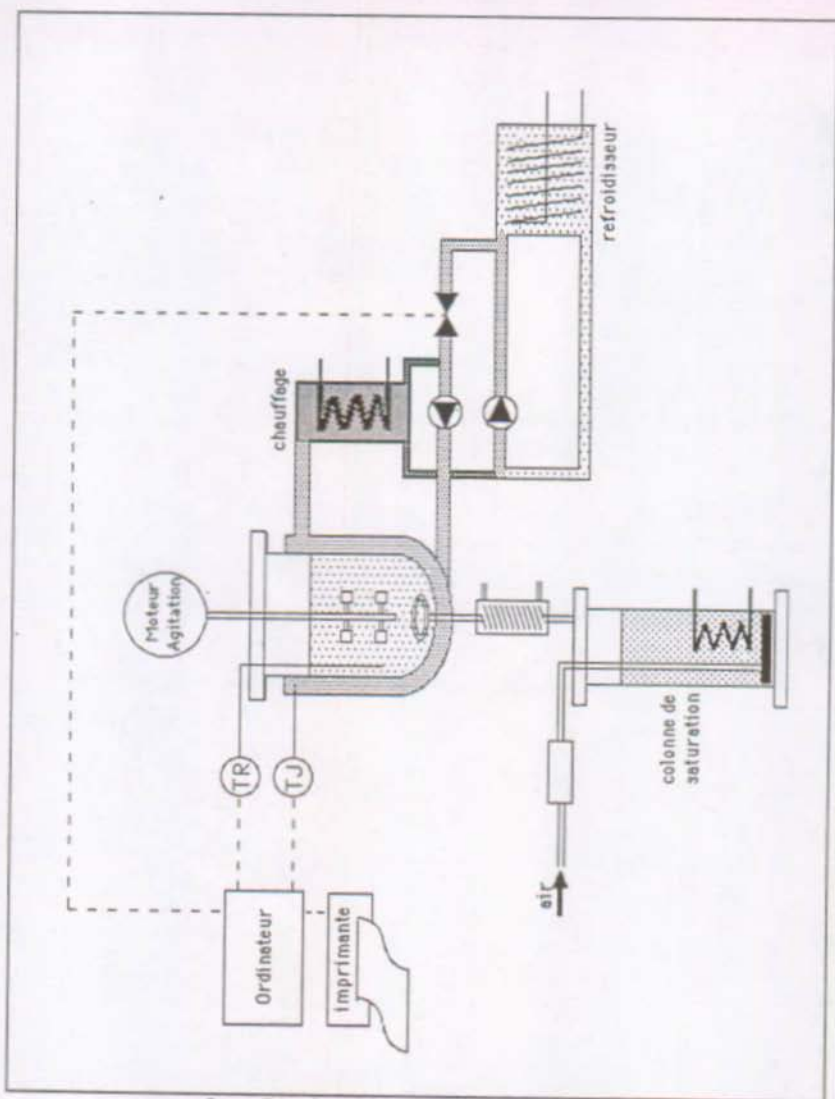


figure 7.1 : Schéma d'appareillage du BSC-81

7. Le BSC-81.

Dès 1965, un nouveau type de calorimètre a été développé par Ciba-Geigy AG (Bâle, CH). Sous la dénomination de WFK (Wärmeflusskalorimeter), plusieurs prototypes ont été développés durant les années 1970, et le BSC-81 (Bench Scale Calorimeter) en est la version la plus récente. Une version commerciale a depuis vu le jour sous le nom de RC1 (Reaction Calorimeter) et est fabriquée par Mettler Instruments (Greifensee, CH).

Conçu à l'origine pour le contrôle de procédé et les tests de sécurité de réactions chimiques fortement exothermiques, le WFK s'avère être, sous sa forme actuelle, un appareil suffisamment sensible pour que puisse être envisagée son application à des réactions faiblement exothermiques comme des processus biologiques.

La faisabilité en a été démontrée par Marison et von Stockar [43] [44], qui ont ainsi mis en évidence la production de chaleur de levures et bactéries diverses. Birou [9] a notamment pu relier la chaleur de croissance au degré de réduction du substrat carboné et au type de métabolisme.

7.1. Principe.

7.1.1. Calorimétrie à flux de chaleur.

Les prototypes de la gamme WFK sont des calorimètres à flux de chaleur. Le réacteur d'un volume de 2 l est entouré d'un double-manteau rempli d'un fluide caloporteur, une huile silicone, qui circule à grand débit (2 l/s), permettant d'obtenir une température uniforme à l'intérieur du double-manteau (figure 7.1).

Au moyen d'un mélange entre deux réservoirs, l'un chaud et l'autre froid, la température de ce double-manteau peut être rapidement réglée, par le jeu d'une vanne de mélange à commande électrique.

Un ordinateur de type Digital LSI-11 pilote l'installation.
Il reçoit l'information suivante :

TR : température du réacteur
TJ : température du double manteau

Il agit sur la vanne de mélange en fonction du mode de fonctionnement choisi par l'utilisateur et de la valeur de consigne, qui est propre à chaque mode de fonctionnement.

Le BSC-81 possède trois modes de fonctionnement :

- Adiabatique** : T_J est maintenu égal à T_R , quel que soit T_R . Aucune chaleur ne s'échappe théoriquement du réacteur ; la température du réacteur peut évoluer librement .
- Mode T_J** : T_J est maintenu égal à une valeur de consigne.
- Isotherme** : T_R est maintenu égal à une valeur de consigne, quelle que soit la production de chaleur à l'intérieur du réacteur.

7.1.2. Fonctionnement isotherme.

Dans le cas de fermentations, il est primordial que la température du réacteur soit maintenue constante en raison de la grande sensibilité des processus biologiques par rapport à ce paramètre. De même, les caractéristiques cinétiques de n'importe quelle réaction chimique dépendent de la température par la loi d'Arrhénius. Le mode de fonctionnement isotherme est donc à priori le seul à permettre des mesures consistantes.

L'ordinateur va donc régler la température du double-manteau T_J de manière à maintenir la température du réacteur T_R à sa valeur de consigne.

A priori, si aucun phénomène thermique ne se déroule dans le réacteur et que l'on néglige les pertes de chaleur vers l'environnement, T_J doit être égal à T_R .

Dans le cas où une source de chaleur de puissance q_R [W] se trouve dans le volume du réacteur, la température T_J va être abaissée par rapport à T_R de manière à créer un gradient de température ($T_R - T_J$) entre le réacteur et son manteau. Ce gradient va donner naissance à un transfert de chaleur q_F [W] du réacteur vers le manteau, permettant ainsi de maintenir T_R à sa valeur de consigne.

Ce flux de chaleur q_F peut s'exprimer par :

$$q_F = U A (T_R - T_J)$$

7.1

où : U est le coefficient de transfert de chaleur [$W K^{-1} m^{-2}$]
 A est la surface d'échange [m^2]

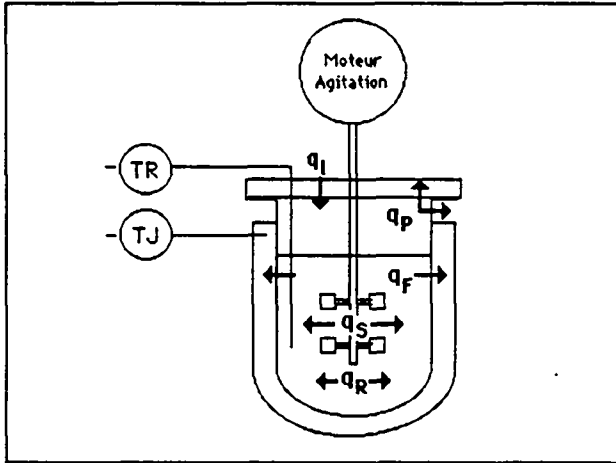


figure 7.2 : Flux intervenant dans le bilan de chaleur du réacteur

Le bilan de chaleur global sur le réacteur s'écrit de manière générale (figure 7.2):

$$\frac{d(K_p T_R)}{dt} = q_S + q_R + q_I - q_P - q_F$$

- où K_p [$J K^{-1}$] est la capacité calorifique totale du réacteur
 q_S [W] est la puissance introduite par l'agitateur
 q_R [W] est la puissance dégagée par une source de chaleur dans le réacteur
 q_I [W] est la puissance liée à l'introduction d'un réactif (par exemple le débit d'air)
 q_P [W] est le flux des pertes de chaleur
 q_F [W] est le flux de chaleur transféré au double-manteau

Il faut remarquer que le transfert de chaleur entre le double-manteau et l'environnement, bien qu'il ne soit certainement pas nul, n'intervient pas dans le bilan de chaleur qui précède. Il est simplement compensé par le chauffage de l'huile du double-manteau.

Dans le cas particulier d'un fonctionnement isotherme, le terme d'accumulation $d(K_p TR)/dt$ est nul et le bilan devient :

$$q_S + q_R + q_I = q_P + q_F$$

$$\text{ou : } q_F = q_S + q_I - q_P + q_R \quad 7.2$$

Connaissant les températures TR et TJ ainsi que le coefficient global de transfert de chaleur UA [W/K], il est possible de calculer q_F par la relation 7.1 Le coefficient UA est déterminé pratiquement par calibration à l'aide d'une résistance chauffante de puissance connue.

Dans le cas où la production de chaleur q_R est nulle, la ligne de base du signal q_F s'exprime :

$$q_F^0 = q_S + q_I - q_P \quad 7.3$$

En remplaçant dans 7.2, on peut alors écrire de manière générale:

$$q_F = q_F^0 + q_R$$

Il faut noter que la puissance liée à l'adjonction d'un réactif q_I peut avoir une composante permanente, qui est comprise dans la ligne de base, comme exprimé par l'équation 7.3, mais peut également intervenir sous forme d'un signal additionnel q_I' , lié à la réaction. C'est le cas, par exemple, de l'adjonction d'un acide ou d'une base pour le contrôle de pH. Le signal q_F est alors :

$$q_F = q_F^0 + q_R + q_I'$$

7.1.3. Thermogrammes.

Le signal q_F en fonction du temps est appelé thermogramme (figure 7.3). Il se compose d'une ligne de base q_F^0 définie par l'équation 7.3 et d'un signal additionnel q_R . q_R est défini comme une source de chaleur interne et peut être, de manière générale, soit une puissance électrique de calibration (q_R est alors égal à q_E), soit la chaleur produite par une réaction chimique ou par une croissance microbienne.

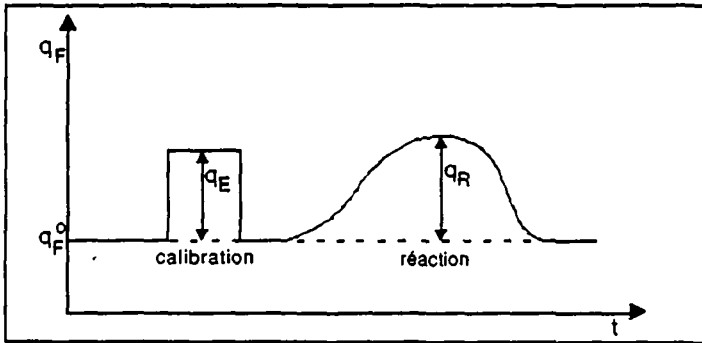


figure 7.3 : Thermogramme

A priori, q_R peut être positif ou négatif (dans le cas d'une réaction endothermique) et s'exprime par :

$$q_R = q_F - q_F^0$$

La relation 7.1 donne : $q_F = UA (TR - TJ)$

et notamment : $q_F^0 = UA (TR - TJ^0)$

D'où : $q_R = UA (TJ - TJ^0)$

L'ordinateur calcule en temps réel une variable q_F d'après l'équation 7.1, basée sur la connaissance de TR et TJ , ainsi que d'une valeur approximative de UA . U est introduit comme paramètre expérimental par l'utilisateur.

A est calculé par l'ordinateur en fonction du volume déclaré par l'utilisateur, sur la base d'une calibration présente d'origine dans le logiciel (cette calibration ne tient pas compte de l'équipement annexe ajouté dans le cadre des modifications du BSC). La valeur exacte de UA doit donc impérativement être déterminée off-line par une procédure de calibration.

La précision annoncée par le fabricant est de 0.1 W/l, en mode isotherme non-aéré. L'influence de l'aération et les améliorations apportées à la sensibilité de l'appareil seront développées ultérieurement (chapitre 7.2).

La qualité des sondes de température et de leur calibration n'est pas limitante. Ceci est expliqué en annexe C.

7.1.4. Calibration.

La valeur du coefficient global de transfert de chaleur UA dépend de nombreux facteurs.

U dépend notamment des conditions hydrodynamiques, des caractéristiques du milieu, d'éventuels facteurs ponctuels comme par exemple la croissance de micro-organismes contre la paroi du réacteur.

A est fonction du volume dans le réacteur et de l'encombrement de l'équipement annexe (sondes diverses, système d'agitation et d'aération).

Il est donc difficile voire impossible d'estimer à priori la valeur du coefficient UA. La valeur de ce paramètre doit donc être obtenue de manière expérimentale par une procédure de calibration. Une puissance d'environ 15 W est dissipée dans le réacteur à l'aide d'une sonde contenant une résistance électrique à son extrémité. La puissance exacte q_E est calculée à partir de la mesure des grandeurs électriques (tension et courant) en appliquant la loi de Joule.

De manière générale, U est fixé, dans le cadre de ce travail, à $200 \text{ W m}^{-2} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ et A est estimé par l'ordinateur sur la base du volume réactionnel. La vraie valeur de q_E est q_E^* (cette notation est limitée

à ce chapitre), qui correspond au vrai coefficient de transfert $(UA)^*$ par :

$$q_F^* = (UA)^* (TR-TJ)$$

alors que l'ordinateur estime :

$$q_F = UA (TR-TJ)$$

D'où :

$$q_F^* = q_F \frac{(UA)^*}{UA} = F_{cal}$$

$F_{cal} = \frac{(UA)^*}{UA}$ est appelé facteur de calibration.

La procédure de calibration consiste pratiquement à activer la résistance thermique de calibration pendant 10 mn, en stockant les signaux q_F et q_E à des intervalles de 10 s. q_E est une valeur électrique, correspondant à la chaleur réellement dégagée dans le calorimètre.

Afin d'obtenir une meilleure précision sur la détermination du facteur de calibration, le signal q_E est intégré numériquement, ainsi que le signal q_F auquel on soustrait sa ligne de base q_F^0 . F_{cal} est donné par :

$$F_{cal} = \frac{\int_0^{\infty} q_E dt}{\int_0^{\infty} (q_F - q_F^0) dt}$$

La procédure peut être réalisée à tout moment, même pendant une réaction, pour autant que le signal dû à la réaction, qui constitue alors la ligne de base de la calibration, soit stable ou au minimum évolue de manière monotone durant les dix minutes que dure la calibration. Cette situation est raisonnable pour des réactions semblables à celles étudiées dans ce travail qui durent souvent plus de 20 heures.

On obtient ainsi une fonction discrète de F_{cal} . Le signal de chaleur brut q_F est calibré en le multipliant par le facteur de calibration, qui est estimé à chaque instant par interpolation linéaire entre deux points de mesure.

Tous les thermogrammes $q_F(t)$ présentés dans ce travail sont implicitement des thermogrammes calibrés, sans que l'écriture soit surchargée en précisant à chaque fois qu'il s'agit de $q_F^*(t)$.

7.1.5. Evaluation des thermogrammes.

L'ordinateur (DEC LSI-11) stocke le signal q_F à une fréquence choisie par l'utilisateur. Le fichier ainsi créé est ensuite traité sur un autre ordinateur de la même famille (DEC LSI-11/23+) dont le microprocesseur beaucoup plus performant permet des calculs rapides.

Le logiciel CALPAC (Fortran IV), développé au cours de ce travail, permet de lire des thermogrammes sous forme de 2500 couples de valeurs $\{t, q_F\}$ et d'effectuer toutes les opérations mathématiques nécessaires à leur évaluation, notamment :

- Reconnaissance des intervalles de temps entre deux points consécutifs, permettant le traitement automatique des pics de calibration et leur soustraction du signal original.
- Opérations mathématiques simultanées sur l'ensemble des points, multiplication par une fonction discrète, permettant par exemple la calibration par un facteur F_{cal} non-constant.
- Intégrations avec des lignes de base non constantes et opérations de moyenne.
- Listage et dessin sur table traçante (HP-7475).

7.1.6. Application aux réactions aérobies.

De manière générale, le signal de chaleur q_R dégagé dans le calorimètre par une réaction chimique qui consomme un substrat S est lié à sa cinétique par l'enthalpie de la réaction ΔH_{r_i} [J/mol de composé i], selon :

$$q_R = - r_i V_L \Delta H_{r_i}$$

où r_i [mol l⁻¹s⁻¹] est la vitesse de réaction par rapport au composé i.

V_L [l] est le volume liquide

Dans le cas d'une réaction d'oxydation, q_R s'exprime par rapport à l'oxygène :

$$q_R = - r_{O_2} V_L \Delta H_{r_{O_2}}$$

$\Delta H_{r_{O_2}}$ est l'enthalpie de réaction par mole d'oxygène consommée, et est égale en valeur absolue au rendement de chaleur $Y_{Q/O}$ défini au chapitre 6.2 :

$$\Delta H_{r_{O_2}} = - Y_{Q/O}$$

Le signal de chaleur devient alors :

$$q_R = r_{O_2} V_L Y_{Q/O}$$

La valeur de $Y_{Q/O}$ sera calculée au chapitre 6.3 pour les réactions étudiées dans ce travail. Le signal de chaleur q_R donne par conséquent directement accès, connaissant le volume réactionnel, à la consommation instantanée d'oxygène par la réaction r_{O_2} .

En régime de fonctionnement **pseudo-stationnaire**, comme défini au chapitre 5.2, la consommation d'oxygène par la réaction est égale au transfert de la phase gazeuse vers la phase liquide, et vaut ϕ^{stat} . Le signal de chaleur est alors :

$$q_R = \phi^{stat} V_L Y_{Q/O}$$

Par ailleurs, le transfert instantané d'oxygène sur l'ensemble du réacteur OTR [mol s⁻¹] vaut :

$$\text{OTR} = \phi^{\text{stat}} V_L$$

Le signal de chaleur s'écrit alors :

$$q_R = \text{OTR} Y_{O/O}$$

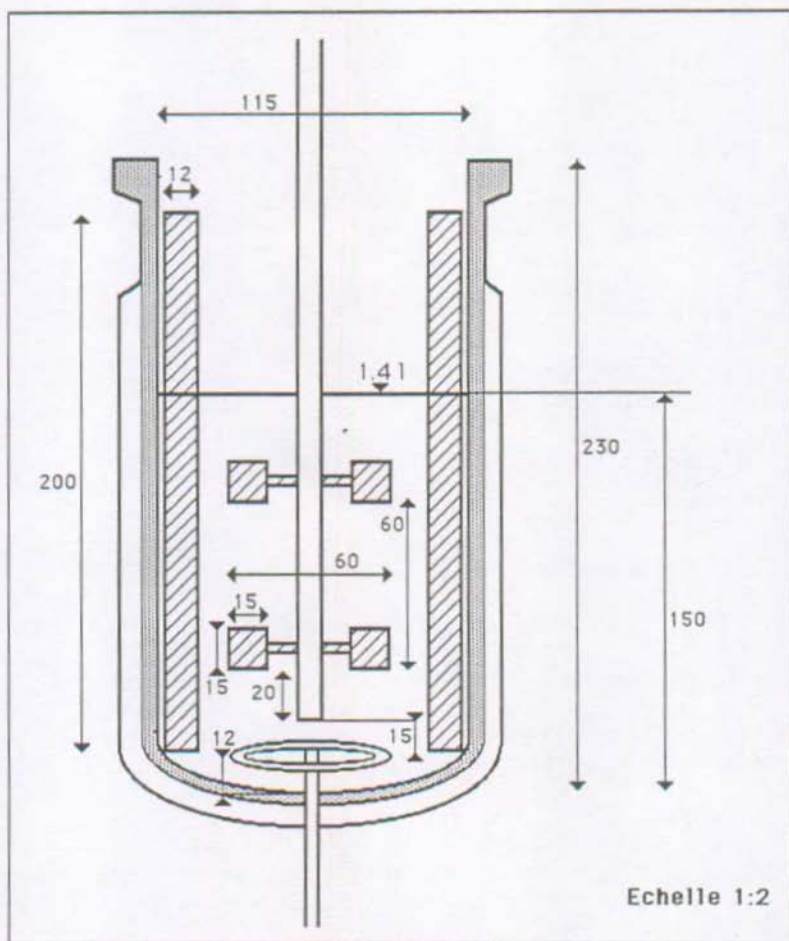
Le signal de chaleur donne donc accès directement à OTR si l'on connaît le rendement de chaleur de la réaction.

L'étude de l'évolution de ϕ^{stat} , en fonction des paramètres physico-chimiques, réalisée au chapitre 5.2, permet donc de prévoir ou d'expliquer l'évolution du signal de chaleur.

7.2. Appareillage.

7.2.1. Description technique.

Géométrie du réacteur.



7.4 : BSC-81; schéma du réacteur

La géométrie du réacteur n'est pas standard au sens où l'ont définie Aiba et al [2]. Les chicanes d'agitation, de même que la forme des turbines à 6 pales, sont conformes à ces normes standards. Ces baffles n'ont pas été installées lors des expériences sur *Aspergillus Niger*, en raison de la forte tendance de ce type de micro-organismes à s'accrocher aux pièces comportant des angles vifs (chapitre 12). Elles n'ont également pas été utilisées lors des expériences sur la glucose-oxydase, afin d'obtenir les mêmes conditions d'agitation que dans le cas des cultures.

Les rapports de dimensions caractéristiques donnés par Aiba et al., comparés aux valeurs pour le BSC, sont les suivants (figure 7.4):

$$\frac{\text{diamètre du réacteur}}{\text{diamètre des turbines}} = 3 \quad \text{Valeur pour le BSC : 1.91}$$

$$\frac{\text{hauteur du liquide}}{\text{diamètre des turbines}} = 3 \quad \text{BSC (remplissage 1.4 l) : 2.5}$$

$$\frac{\text{distance fond-première turbine}}{\text{diamètre des turbines}} = 1 \quad \text{BSC : 0.78}$$

$$\frac{\text{distance entre les turbines}}{\text{diamètre des turbines}} = 1 \quad \text{BSC : 1}$$

Equipement standard du BSC.

Agitation : La vitesse d'agitation est captée à l'aide d'un disque optique. L'ordinateur peut ainsi asservir la vitesse d'agitation à une valeur de consigne de 0 à 3000 mn^{-1} avec une précision de 2 mn^{-1} .

Acquisition de données : En plus des diverses fonctions de régulation, l'ordinateur sert à l'acquisition en ligne d'un certain nombre de paramètres et en calcule d'autres d'après les valeurs mesurées.

L'acquisition se fait à une période 0.2 s pour les températures liées à la mesure du signal de chaleur, et à une fréquence de 2 s pour les autres paramètres.

Dans un premier temps, la majorité des valeurs acquises sont filtrées en temps réel par des filtres numériques, dans le but de

diminuer leur bruit de fond. D'autres paramètres sont ensuite calculés sur la base de ces valeurs filtrées ; un signal de chaleur q_F est par exemple estimé à partir de valeurs filtrées des températures TR et TJ ; q_E , chaleur de calibration, est calculée sur la base de la mesure de la tension et du courant électriques .

Toutes les variables, mesurées ou calculées, sont ensuite disponibles pour l'utilisateur afin d'être soit affichées à l'écran du terminal (Digital VT 100), soit imprimées graphiquement sur une imprimante de type Epson FX-80, à une fréquence maximale de 30 mn^{-1} . Un choix de six variables peut être stocké, avec la même fréquence maximale, sur une unité de disquettes souples 8" (Digital DDS 440) afin d'être ultérieurement traité par le programmes d'évaluation CALPAC.

7.2.2. Modifications.

Les modifications apportées au BSC-81, tel qu'il a été livré par le fabricant, visent deux buts. Premièrement, rendre possible l'utilisation du calorimètre comme fermenteur, avec l'installation d'équipements annexes indispensables et la réalisation de modifications directes à l'appareillage, si nécessaire. Il est vraisemblable que l'utilisation du calorimètre dans de telles conditions conduise à une certaine perte de sensibilité. Le deuxième but visé est donc d'optimiser la sensibilité dans ces conditions particulières.

Couvercle thermostatisé.

Le calorimètre BSC est équipé à l'origine d'un couvercle en verre muni d'ouvertures rodées pour le passage des sondes. Ce type de couvercle ne convient pas pour plusieurs raisons.

Premièrement, l'exploitation du calorimètre en tant que fermenteur nécessite la présence d'un nombre de sondes accru (pH, sonde à oxygène, prise d'échantillon). Deuxièmement, la stérilisation 120 °C est accompagnée d'une surpression que ne saurait garantir mécaniquement le couvercle d'origine.

Il s'est donc avéré nécessaire de construire un couvercle en acier inoxydable. Celui-ci est équipé de six trous filetés permettant l'installation des sondes (pH et pO_2) et connexions de la maison Bioengineering AG (Wald, CH). Les deux autres trous reçoivent des adaptateurs en acier inoxydable supportant les deux sondes de travail du calorimètre (sonde de mesure de TR et sonde thermique de calibration). Ce couvercle est creux et peut être thermostatisé par circulation d'eau.

Dans le cas où la température du couvercle n'est pas contrôlée, l'eau entraînée par l'air passant au travers du réacteur va se condenser contre le couvercle, provoquant des retours de gouttelettes d'eau froide dans le réacteur. Il va s'en suivre une augmentation des pertes thermiques et du bruit de fond du signal de chaleur. Ce phénomène est évidemment moins important avec le couvercle d'origine en verre et il est accentué par l'aération du réacteur. La température du couvercle T_{couv} ayant un fort impact sur le signal de chaleur (figure 7.6), un circuit de thermostatisation indépendant a été prévu pour son contrôle (figure 7.5).

Stérilité.

La stérilité du réacteur et du milieu peut être réalisée in-situ en élevant la température de consigne du réacteur TR à 120 °C, pendant un temps suffisamment long. Dans la version la plus évoluée du logiciel fourni par le fabricant (version 6.0), il est possible de programmer plusieurs rampes de température successives. L'opération de stérilisation peut donc être commandée de manière automatique, avec des temps de chauffage reproductibles. En cas de culture sur des milieux complexes, il peut s'avérer important d'être en mesure d'assurer une qualité relativement constante du milieu après stérilisation.

Agitation.

L'agitation doit elle aussi satisfaire aux exigences de la stérilité. Pour ce faire, le couvercle est équipé d'un support en acier inoxydable (figure 7.5) supportant un système d'accouplement magnétique (Kuster AG, Basel, CH), qui garantit l'étanchéité du réacteur.

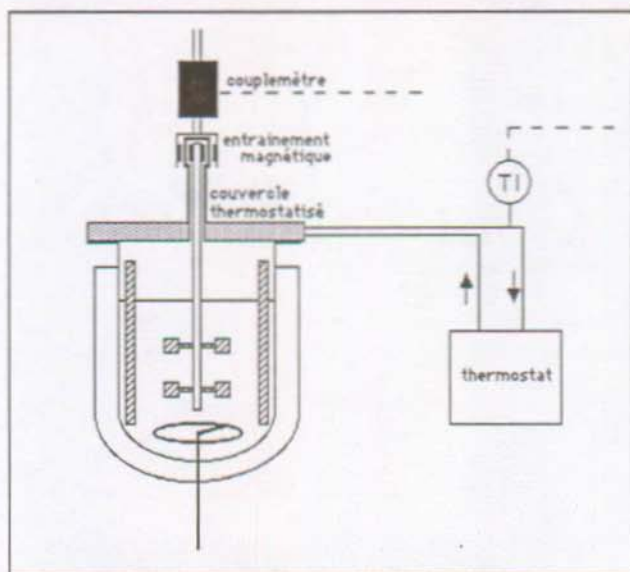


figure 7.5 : Modifications du réacteur

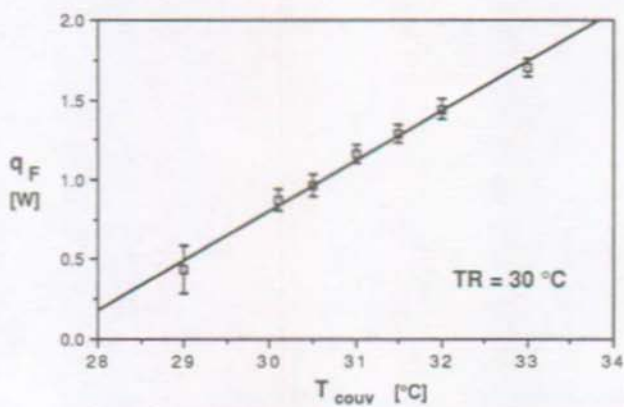


figure 7.6 : Signal de chaleur en fonction de la température du couvercle T_{couv} . Le bruit de fond est indiqué par des barres verticales.

Le volume d'air confiné dans ce système peut être purgé lorsque le réacteur est à haute température, de manière à stériliser le volume dans son intégralité. Il semble néanmoins que, pour des cultures sur milieux complexes particulièrement sensibles à la contamination de micro-organismes étrangers, la stérilisation de cet accouplement magnétique soit insuffisante. La même firme produit depuis peu un nouveau modèle de ce type d'accouplement, beaucoup plus compact, et donc plus aisé à stériliser, qui a été installé avec succès sur d'autres réacteurs de l'IGC.

Le dispositif d'agitation au sein du liquide est constitué de 2 turbines à six pales, de dimensions standards, selon Aiba et al. [2].

Contrôle de pH.

Un contrôleur de pH a été construit à l'IGC. Basé sur le principe de la gamme de contrôleurs de pH de la maison Bioengineering AG, il est muni d'une sonde pH (Ingold AG, Urdorf CH) et commande l'adjonction de NaOH dans le réacteur par une pompe externe. La précision de la régulation dépend de la réaction mise en oeuvre et des conditions de travail.

Il est évident qu'une chaleur q_1 va être associée à la dilution de la soude dans le milieu réactionnel et à la réaction de neutralisation. Il conviendra d'estimer pour les différents systèmes étudiés la contribution de cette chaleur q_1 au signal mesuré.

Capteur de couple.

Un capteur de couple (modèle TG 02, Vibrometer, Fribourg CH) a été installé sur l'axe externe de l'accouplement magnétique. Il s'agit d'un capteur inductif monté en série sur l'axe moteur, qui perçoit la torsion de son axe par le déplacement rotatif de deux bobines concentriques, solidaires chacune d'une extrémité de l'axe de torsion. Le modèle TG 02 est actuellement le modèle le plus sensible de sa gamme.

La puissance d'agitation mécanique P_m fournie par le moteur peut ainsi être estimée par :

$$P_m [W] = 2\pi C_t n \quad 7.4$$

où C_t [Nm] est le couple de torsion indiqué par le capteur
 n [s^{-1}] est la vitesse d'agitation

La puissance P_m comprend la puissance dissipée dans le milieu q_p , ainsi que la puissance dissipée en raison des couples de frottement au contact entre l'axe de l'agitateur et les pièces fixes du couvercle et de l'entraînement magnétique P_f .

$$P_m = q_p + P_f$$

Les ordres de grandeurs de ces deux puissances sont comparables pour une agitation de 500 mn^{-1} . Pour des agitations plus élevées, le terme q_p prend une part plus importante.

Il est donc nécessaire, pour mesurer q_p à l'aide du couplemètre, de connaître la puissance P_f , en la mesurant lorsque le réacteur est vide et que par conséquent $q_p = 0$.

Il faut toutefois se méfier du fait que cette puissance de frottement peut varier à longue échéance avec l'usure mécanique des pièces en frottement et surtout à courte échéance avec leur échauffement.

Le couple de frottement diminue ainsi d'environ 10% durant les premières heures de fonctionnement à agitation constante, pour atteindre une valeur stationnaire. Le temps de stabilisation est évidemment fonction de la vitesse d'agitation.

Pour des mesures précises, il est nécessaire de mesurer la puissance P_f aussi près que possible dans le temps de la mesure de P_m , ce qui limite la précision de la mesure en cours de culture, où il n'est plus possible de vider le calorimètre. La puissance P_f doit alors être supposée stable au cours de la culture et mesurée au début de l'expérience, avant l'introduction du milieu.

La précision du capteur est de 1% de la gamme nominale de 0.2 Nm. Ceci correspond pour une agitation de 500 mn^{-1} à une précision de 0.1 W sur la puissance P_m d'une part, et sur P_f d'autre part. Du fait de la différence qui est effectuée pour calculer q_p , la précision sur cette valeur est alors de 0.2 W. La précision est suffisante à cette agitation, mais devient moins satisfaisante pour des agitations plus élevées.

Néanmoins, en calibrant le capteur à l'aide de poids étalons, pour une plage de mesure plus restreinte que la gamme nominale, il est possible d'obtenir une confiance supérieure à la valeur donnée par le fabricant. On peut estimer alors la précision sur le signal du couplemètre à 0.01 Nm, soit 0.5 % de la gamme nominale. La précision sur la puissance q_p est alors de 0.1 W à 500 mn^{-1} . Conformément à l'équation 7.4, cette incertitude augmente avec l'agitation.

7.2.3. Aération du calorimètre.

Le système d'aération conçu pour le BSC est également une modification de l'appareillage d'origine. Son importance, de même que son effet sur le signal de chaleur, sont tels qu'ils justifient de lui accorder un chapitre particulier.

Effets de chaleur liés à l'aération.

L'aération d'un volume réactionnel dans lequel on tente de contrôler de manière stricte un bilan de chaleur n'est pas une chose évidente. L'introduction d'un flux gazeux dans le calorimètre va se manifester par une chaleur q_1 dans le bilan 7.2 du chapitre 7.1. Cette puissance se compose de plusieurs effets distincts.

Premièrement, l'entrée dans le réacteur d'un flux de gaz à la température T_a nécessite, pour maintenir la température du réacteur à sa valeur de consigne, un apport de chaleur égal à :

$$q_1 = \int_{T_a}^{TR} G \rho C_p dT$$

où G est le débit de gaz [m^3/s].

ρ [kg/m^3], C_p [$Jkg^{-1}C^{-1}$] sont respectivement la densité et la chaleur spécifique du gaz.

Deuxièmement, l'air qui entre dans le réacteur a une certaine pression partielle en eau ($p_{H_2O}^0$), qui est probablement différente de la pression partielle en eau en équilibre avec le milieu à la température TR ($p_{H_2O}^{sat}$).

Suivant l'humidité de l'air entrant, il va se passer dans le réacteur une condensation ou une évaporation d'eau, jusqu'à atteindre éventuellement l'équilibre, ou une valeur $p_{H_2O}^1$ proche de la valeur à l'équilibre.

Ces phénomènes de changement de phase sont liés à des enthalpies considérables. L'apport de chaleur nécessaire, en cas d'évaporation, pour maintenir le réacteur à la température TR, vaut :

$$q_2 = G \frac{\Delta_v H}{R TR} (p_{H_2O}^1 - p_{H_2O}^0)$$

où $\Delta_v H$ [J/mol] est l'enthalpie d'évaporation de l'eau.

Il conviendrait également de classer dans ce type de perturbations l'évaporation éventuelle d'un produit volatil, comme par exemple l'éthanol.

L'effet de chaleur q_1 , qui est définie comme puissance entrant dans le système, liée à l'adjonction d'un réactif, s'exprime alors comme :

$$q_1 = - (q_1 + q_2)$$

Un troisième effet, difficilement quantifiable, peut encore venir perturber le signal de chaleur. Une condensation de l'humidité contenue dans l'air peut se manifester dans le conduit d'alimentation, qui présente avant l'entrée dans le réacteur un certain nombre de raccords divers en acier inoxydable, provoquant ainsi une excellente dissipation de la chaleur.

Un certain nombre de gouttelettes d'eau s'accumulent alors dans le tube, provoquant l'entraînement occasionnel de gouttelettes d'eau dans le réacteur. Ces gouttelettes étant à une température notablement plus basse que la température du réacteur, elles provoquent des perturbations du signal de chaleur, ainsi qu'une augmentation notable du bruit de fond.

Contrairement au troisième effet, qui conduit à des perturbations sporadiques du signal de chaleur et une augmentation du bruit de fond, les deux premiers effets sont en principe compris dans la ligne de base q_F^0 .

Il n'est pas souhaitable toutefois de négliger ces effets, principalement l'évaporation de l'eau, qui conduit après plusieurs heures à des variations non négligeables du volume réactionnel. La saturation en eau de l'air entrant, à la température de réaction, est donc un objectif primordial.

Conditionnement de l'air.

L'air est fourni par le réseau d'air comprimé de l'École. Afin d'éviter des problèmes de corrosion dans le réseau, il est séché avant sa distribution. Il contient également des traces d'huile, destinée à servir de lubrifiant pour les systèmes pneumatiques dans lesquels il est le plus souvent mis en oeuvre.

La première étape est, après détente à une pression de 3 bars, de filtrer soigneusement poussières et huile par le passage au travers d'un filtre à huile (Kühnke 50-610).

Le débit d'air est ensuite régulé par un contrôleur massique (Brooks 5836, Veenendaal NL). De part la nature du détecteur de flux, basé sur la détection thermique d'un certain flux de matière et non sur une mesure de débit volumique, le régulateur n'est pas sensible à la température de l'air et assure, quelle que soit cette température, un débit de consigne en litres-normaux par minute (à 0 °C, 1 at). La plage de débit va de 1 à 10 Nl·min⁻¹.

L'étape suivante est une filtration au travers d'une cartouche de type Acro 50, (Gelman, diamètre des pores : 0.4 μ m). Le flux d'air est ainsi efficacement stérilisé.

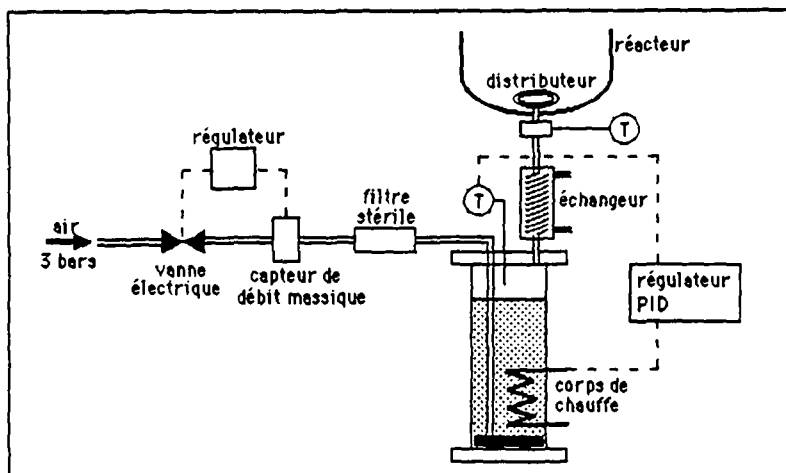


figure 7.7 : Schéma du dispositif d'aération

Saturation et thermostatisation.

De manière à réaliser les opérations de saturation et de thermostatisation du débit d'air, comme décrit précédemment, l'air est dispersé dans une colonne à bulles au moyen d'une frite en acier inoxydable. La taille des bulles est réduite par adjonction d'antimousse dans la colonne (Polypropylène-glycol PP2000, Fluka, Buchs CH), qui abaisse la taille des bulles en diminuant la valeur de la tension superficielle. Le diamètre des bulles d'air ainsi produites est particulièrement faible, permettant un bon transfert de matière et de chaleur.

Le volume de la colonne est de 5 litres et elle contient environ 3 litres d'eau. La colonne, y compris l'eau, est autoclavable avec le filtre d'entrée, permettant une parfaite stérilité du système. En cas de fonctionnement de longue durée (cultures continues), la consommation d'eau peut être telle que le volume d'eau résiduel devient insuffisant pour assurer la saturation du débit d'air. Il est alors possible de prévoir une adjonction d'eau stérile commandée par le signal d'un capteur de niveau.

La consommation d'eau peut être calculée d'après les tables psychrométriques [16], connaissant la charge maximale en eau de l'air à 30 °C qui vaut 0.0275 kg d'eau par kg d'air sec. La consommation d'eau pour quatre jours de fonctionnement, ce qui est approximativement le temps d'une culture d'*Aspergillus niger*, est d'environ 800 g, pour un débit d'air de 4 l/min¹.

La température de l'air en tête de colonne est captée par un régulateur PID (Eurotherm, type 810), qui commande par l'intermédiaire d'un transformateur électrique un corps de chauffe d'une puissance de 100 W construit sur mesure par la firme Lükon AG (Täuffelen, CH). Le corps de chauffe est alimenté par une tension de 44 Volts, permettant ainsi d'autoclaver la colonne sans risque de court-circuit ultérieur.

Sur les premiers prototypes de colonnes de saturation construites pour le BSC, les deux opérations de saturation et de thermostatisation étaient réalisées dans la colonne, en imposant simplement une température en tête de colonne égale à la température de travail du réacteur, de manière à réaliser l'étape de saturation de manière aussi exacte que possible.

Ce but est effectivement atteint. L'humidité relative de l'air en tête de colonne a été mesurée à l'aide d'un hygromètre à cheveu. Elle est supérieure à 98 %, alors que l'air est parfaitement sec à l'entrée de la colonne.

Par contre, dès que l'air sort de la colonne, il est en contact avec les parois du tuyau qui, bien qu'isolées, permettent certaines pertes de chaleur. L'effet de condensation décrit plus haut se manifeste alors, et l'air entre dans le réacteur 4 à 5 degrés au-dessous de la température TR, chargé de gouttelettes d'eau.

La meilleure solution pour résoudre ce problème semble être d'installer dès la sortie de la colonne un échangeur de chaleur qui chauffe l'air de 5 à 6 degrés. L'échangeur se compose d'un tube en acier inoxydable d'une longueur de 4 m et de diamètre interne 4 mm enroulé en forme de serpentín dans un volume cylindrique thermostatisé par une circulation d'eau. Ces dimensions ont été définies par un calcul de scale-up sur la base de tests effectués avec un plus petit échangeur du même type.

La condensation n'est alors plus possible à cette température, l'air n'étant plus saturé en eau. Les pertes de chaleur vont faire redescendre progressivement la température de l'air jusqu'à l'entrée du réacteur. Il suffit ensuite, pour une température TR donnée, de régler une fois pour toutes la température de l'eau circulant dans l'échangeur de manière à ce que l'air arrive effectivement à l'entrée du réacteur à la température TR. La température du flux de gaz est mesurée à l'entrée du réacteur, à l'aide d'une sonde NTC (Modèle JDI-1, Bachofen, Chesaux, CH).

Ce système permet une amélioration spectaculaire de la stabilité du signal de chaleur. Alors qu'il n'était pas rare auparavant d'observer des dérives ou des sauts de la ligne de base q_p° , probablement dus à des changements des conditions ambiantes, ce signal est maintenant stable sur une période beaucoup plus longue. Ceci va permettre de réaliser des cultures ou des réactions de plusieurs jours, avec des dégagements de chaleur faibles, de l'ordre de quelques Watts, et ceci avec une confiance raisonnable dans la ligne de base mesurée au début de l'expérience.



8. Méthodes expérimentales.

8.1. La sonde à oxygène.

Il existe plusieurs types de sondes à oxygène, appelées plus communément sondes pO_2 . Leurs différents principes et détails de construction ont été abondamment discutés par Lee et Tsao [37] et Hitchman [31]. Toutes fonctionnent sur le principe d'une membrane en téflon, non-mouillable, isolant la solution à tester du volume intérieur de la sonde. Ce dernier est rempli d'un électrolyte contenant d'une part une anode de référence et d'autre part la cathode, où l'oxygène se réduit, produisant un signal électrique.

Profils de concentration.

La membrane en téflon n'est perméable qu'aux gaz. Soit c_M la concentration d'oxygène à l'intérieur de la membrane. Il existe un coefficient de partage K_M entre la solution et la membrane tel qu'à l'interface liquide-membrane :

$$c_M^i = K_M c_L^i \quad 8.1$$

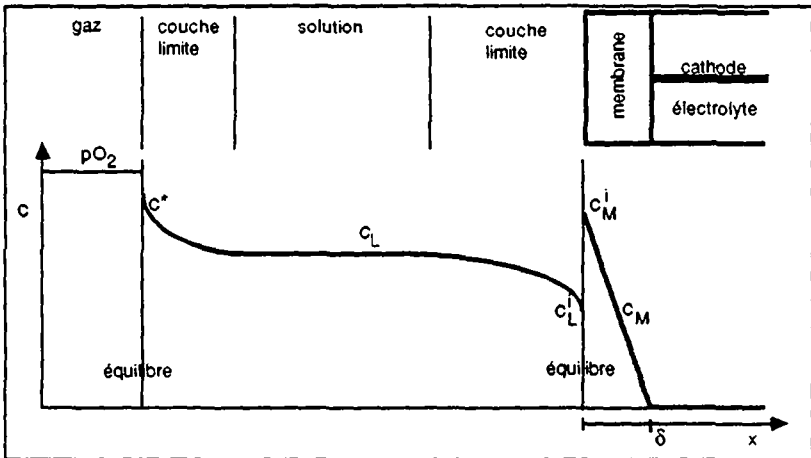


figure 8.1 : Profil de concentration

Signal de la sonde.

Le courant électrique produit par la réduction de l'oxygène est :

$$i = zF A_M D_M \left. \frac{dc_M^i}{dx} \right|_{x=\delta}$$

où A_M [m²] est la surface de la membrane

En assimilant la membrane à un mur plan, et en admettant que la consommation de l'oxygène par l'électrode et la diffusion dans l'électrolyte ne sont pas limitantes, le gradient de concentration dans la membrane devient, en régime stationnaire :

$$\frac{dc_M}{dx} = \frac{c_M^i - 0}{\delta}$$

Le courant i est alors proportionnel à la concentration à l'interface c_M^i .

$$i = zF A_M \frac{D_M}{\delta} c_M^i$$

Le signal produit par la sonde Γ [-] est directement proportionnel au courant i et vaut donc :

$$\Gamma = K_{et} \frac{D_M}{\delta} c_M^i \quad 8.2$$

où K_{et} [m²s mol⁻¹] est une constante d'étalonnage de la sonde.

Mesure.

Le signal de la sonde doit refléter la concentration en solution c_L . On souhaite donc l'exprimer en fonction de cette dernière. Le passage de c_M^i à c_L est réalisé en deux temps :

1. c_M^i est lié à c_L par la relation d'équilibre 8.1.

2. c_L^i est inférieure à c_L , en raison de la présence d'un film liquide devant la membrane. L'égalité des flux d'oxygène dans le film et dans la membrane s'écrit :

$$k_m (c_L - c_L^i) = \frac{D_M}{\delta} (c_M^i - 0) = \frac{D_M}{\delta} K_M c_L^i$$

$$\Rightarrow c_L^i = c_L \frac{k_m}{k_m + K_M D_M / \delta} = c_L K_h \quad 8.3$$

k_m est le coefficient de transfert de matière dans le film, et dépend de l'hydrodynamique. K_h est un coefficient qui dépend principalement de l'hydrodynamique (de manière rigoureuse, K_h dépend également dans une moindre mesure du coefficient de partage K_M).

En substituant 8.3 dans 8.1, puis 8.1 dans 8.2, le signal de la sonde devient alors :

$$\Gamma = K_{et} \frac{D_M}{\delta} K_h K_M c_L$$

Cette expression fait encore apparaître le coefficient de partage K_M , qui dépend de la composition du milieu. Or, le seul paramètre d'équilibre observable caractérisant la composition du milieu est le coefficient de Henry du milieu H .

Sur la base du premier principe de la thermodynamique, K_M et H sont liés par l'intermédiaire d'un troisième paramètre H_M , coefficient de Henry de la membrane, qui est, lui, indépendant du milieu.

Equilibre air-liquide : $p_{O_2} = H c^*$

Equilibre air-membrane : $p_{O_2} = H_M c_M^*$

c_M^* est une concentration hypothétique dans la membrane, en équilibre avec l'air. Le troisième équilibre est alors donné par :

Equilibre membrane-liquide : $c_M^* = \frac{H}{H_M} c^* = K_M c^*$

$$\Rightarrow K_M = \frac{H}{H_M}$$

Le signal de la sonde s'écrit finalement en fonction de l'équilibre gaz-liquide :

$$\Gamma = K_{et} \frac{D_M K_h}{\delta H_M} H c_L$$

ou encore, ce qui est équivalent :

$$\Gamma = K_{et} \frac{D_M K_h}{\delta H_M} p_{O_2} \frac{c_L}{c^*} \quad 8.4$$

Les relations d'équilibre entre c_L , p_{O_2} et Γ sont avantageusement représentées de manière graphique dans un espace tridimensionnel (figures 8.2 et 8.3). Les droites d'équilibre représentent dans leur plan respectif les fonctions suivantes :

$$\begin{aligned} \text{Plan } (c_L, p_{O_2}) : & \quad p_{O_2}^* = H \cdot c_L \\ \text{Plan } (c_L, \Gamma) : & \quad \Gamma = K_{et} \frac{D_M K_h}{\delta H_M} H c_L \\ \text{Plan } (\Gamma, p_{O_2}) : & \quad \Gamma = K_{et} \frac{D_M K_h}{\delta H_M} p_{O_2}^* \end{aligned}$$

où $p_{O_2}^*$ est en équilibre avec c_L .

Cette formalisation permet de visualiser de manière simple l'influence des paramètres sur le signal de la sonde, notamment :

1. A pression partielle d'oxygène et conditions hydrodynamiques constantes, la sonde à oxygène donne un signal proportionnel au rapport c_L/c^* (figures 8.2 et 8.3 droites a).
2. Lors d'un changement de milieu, le signal Γ varie même si la concentration c_L est constante, mais Γ est toujours égal numériquement à c_L/c^* .

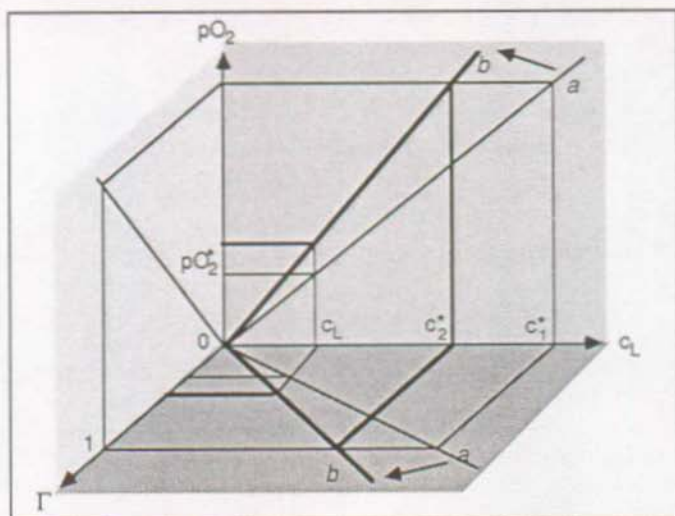


figure 8.2 : Effet d'une augmentation du coefficient de Henry sur le signal de la sonde

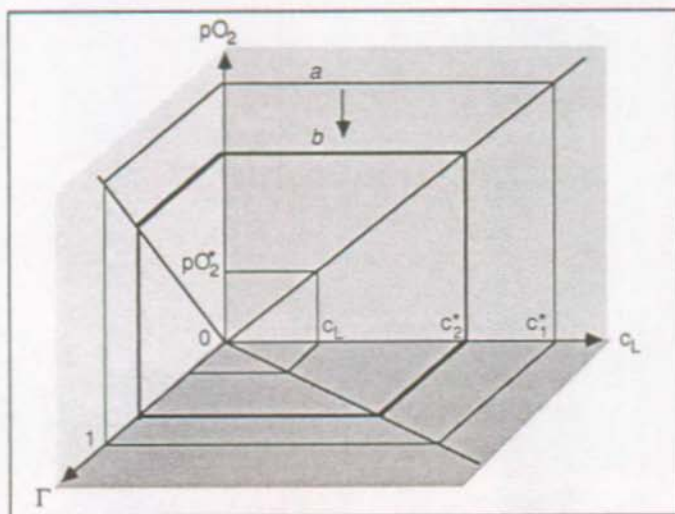


figure 8.3 : Effet d'une diminution de la pression partielle ambiante en oxygène sur le signal de la sonde

La figure 8.2 présente le cas d'une augmentation du coefficient de Henry. Les droites d'équilibre évoluent de a vers b , et la concentration de saturation de c_1^* à c_2^* . Le signal de la sonde produit par une concentration quelconque c_L augmente, mais le signal correspondant à la saturation vaut toujours 1.

3. Lors d'un changement de la pression partielle en oxygène, le signal de la sonde reste constant, mais n'est plus égal numériquement à c_L/c^* .

La figure 8.3 montre l'effet d'une diminution de la pression partielle. Le niveau de cette dernière diminue de a vers b , mais les droites d'équilibre ne sont cette fois pas modifiées, de telle sorte que le signal de la sonde en équilibre avec la nouvelle concentration de saturation c_2^* est inférieur à 1. La calibration de la sonde n'est donc plus correcte.

De manière rigoureuse, le coefficient K_h dépend de la composition du milieu, puisqu'il contient K_M . L'influence de K_M est néanmoins faible, pour autant que la résistance au transfert en phase liquide ne soit pas trop importante vis-à-vis de la résistance de la membrane, ce qui est généralement le cas. L'utilisation de la sonde à oxygène dans des milieux faiblement agités devrait toutefois tenir compte de cette influence.

8.2. Mesure de la solubilité.

Un des paramètres physiques les plus importants dont dépend le transfert de matière est sans doute la solubilité. Il est pourtant l'un des plus difficiles à estimer de manière précise.

8.2.1. Méthodes traditionnelles.

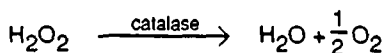
Diverses méthodes ont été utilisées pour la mesure de la solubilité de l'oxygène (Spectrométrie de masse, chromatographie, méthodes chimiques), selon Battino et Clever [8] et Hitchman [31]. La méthode généralement recommandée est la méthode chimique de Winckler [70], utilisée notamment par Schumpe et al. [60].

Une méthode volumétrique a été développée par Krauss et Gestrich [36], basée sur la diminution de volume à pression constante au-dessus d'une solution désorbée à l'azote. Gestrich et Pontow [25] ont notamment utilisé cette méthode pour la détermination des coefficients de sel de solutions de sulfite.

Alors que bon nombre d'auteurs se sont préoccupés de la mesure de la solubilité de l'oxygène dans toutes sortes de solutions salines, l'étude de ce paramètre dans le cas de milieux de fermentation a été peu rapportée dans la littérature. Popovic et al. [49], à l'aide de la méthode de Gestrich, ont mesuré la solubilité de l'oxygène dans différentes solutions typiques des milieux de fermentation.

8.2.2. Méthode enzymatique.

Une méthode originale a été proposée par Käppeli et Fiechter (1983) [34] pour la mesure de ce paramètre. Elle utilise la sonde pO_2 et la décomposition enzymatique de l'eau oxygénée par la catalase :



On ajoute tout d'abord à la solution à tester une quantité suffisante de catalase, puis l'oxygène est complètement désorbé à l'aide d'azote. On introduit alors dans le milieu une quantité connue d'eau oxygénée 1M, au préalable titrée par $KMnO_4$ 0.05 M.

L'oxygène est libéré stoechiométriquement, et la sonde pO_2 détecte une concentration connue d'oxygène c_L (figure 8.4). Le réacteur est ensuite aéré jusqu'à la saturation où le signal de la sonde est à nouveau enregistré; la réponse de la sonde est ainsi calibrée.

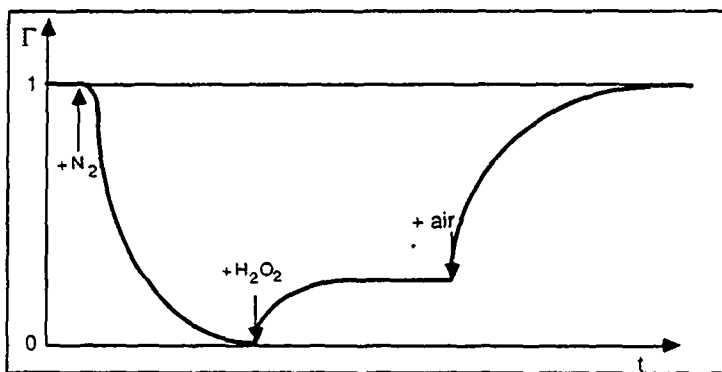


figure 8.4 : Mesure de la solubilité par la méthode enzymatique; signal de la sonde au cours de l'expérience

En répétant l'expérience pour différents volumes d'eau oxygénée ajoutés, on obtient une réponse généralement linéaire du signal de la sonde en fonction du volume ajouté.

Connaissant la concentration de l'eau oxygénée et le volume de la solution, chaque volume d'eau oxygénée correspond à une concentration c_L connue.

La valeur de c^* est extrapolée de la relation linéaire pour un signal de la sonde de 100 %. La solubilité est ensuite exprimée sous forme du coefficient de Henry, connaissant la composition de l'air et la pression ambiante.

8.2.3. Résultats.

La figure 8.5 montre les résultats obtenus dans le cas de quatre milieux dont la solubilité est directement utile dans le cadre de ce travail.

- Milieu 1 : eau bidistillée
 Milieu 2 : glucose 200 g/l
 Milieu 3 : glucose 200 g/l + K_2HPO_4 0.2 g/l
 + $MgSO_4$ 0.2 g/l
 + $(NH_4)_2HPO_4$ 0.4 g/l
 + urée 0.1 g/l
 Milieu 4 : acide gluconique 200 g/l neutralisé à
 pH 5.5 par NaOH 40%

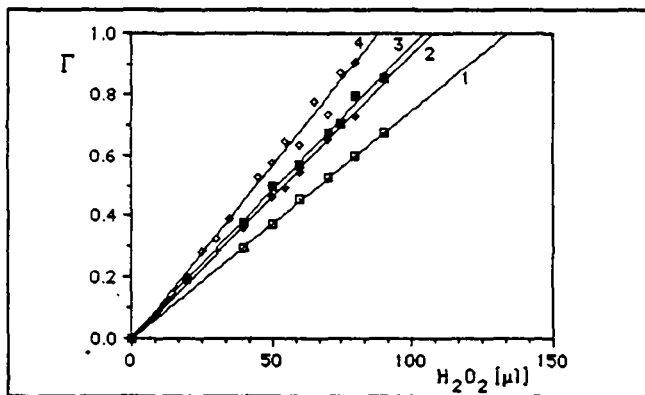


figure 8.5 : Mesure de la solubilité par la méthode enzymatique; résultats expérimentaux

Le tableau 8.1 résume le calcul du coefficient de Henry à partir du volume d'eau oxygénée correspondant à la saturation, obtenu par extrapolation. La pression partielle en oxygène tient compte de la pression ambiante et de la saturation de l'air en eau ($p_{H_2O} = 31$ mmHg à 30 °C).

Milieu	μ l H_2O_2 pour $\Gamma=1$	$c(H_2O_2)$ [M]	V_L [ml]	c^* [10^{-4} M]	pO_2 [at]	H [l-at/mol]
1	133.1	1.030	301	2.28	0.1904	836
2	109.0	1.030	304	1.85	0.1903	1027
3	105.1	1.030	307	1.77	0.1922	1089
4	83.4	1.018	294	1.45	0.1916	1326

tableau 8.1 : Mesure de la solubilité de différents milieux

8.3. Cinétique enzymatique.

8.3.1. Moniteur d'oxygène.

L'étude de la cinétique enzymatique de la glucose-oxydase nécessite un appareillage particulier. Ce type de dispositif est commercialisé ("Oxygen Monitor", YSI, Yellow Springs, USA), mais peut être facilement construit pour un budget plus modeste.

Le principe en est simple. Un volume liquide de quelques millilitres au préalable saturé en oxygène est clos de manière à n'avoir quasiment aucun contact avec l'air ambiant, tout en permettant l'adjonction d'un réactif au moyen d'une seringue. Une sonde pO_2 indique la concentration d'oxygène dissous et met ainsi en évidence la consommation d'oxygène après adjonction d'une quantité connue d'enzyme.

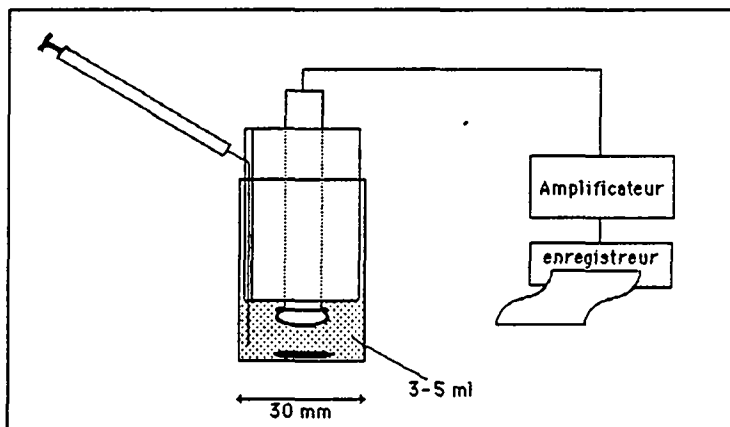


figure 8.6 : Moniteur d'oxygène; schéma de principe

Le volume réactionnel est de 3 à 5 ml. Sa température est contrôlée à sa valeur opératoire de 30 °C en plongeant la cellule de mesure dans un thermostat. L'agitation est assurée au moyen d'un petit barreau magnétique.

La sonde pO_2 (modèle 5331, Yellow Springs Ins, USA), d'un diamètre de 9 mm, possède un temps de réponse de 4 à 5 secondes.

La membrane de téflon est directement installée autour de sa tête de forme arrondie, au moyen d'un anneau de caoutchouc. La sonde est supportée par un cylindre de téflon, qui assure l'étanchéité en coulissant à l'intérieur de la cellule. Cette dernière, construite initialement en verre, a été avantageusement remplacée par une cellule en polyéthylène qui, de part sa nature souple, assure une meilleure étanchéité. Au niveau du transfert de chaleur, la mauvaise conduction du polyéthylène est largement compensée par l'épaisseur plus faible de la paroi.

Une gorge de largeur 0.5 mm a été usinée dans le piston de téflon supportant la sonde pO_2 , afin de permettre le passage d'une aiguille de seringue vers le volume réactionnel. Ce conduit permet également à l'air de s'échapper au moment où la cellule est fermée par le piston.

8.3.2. Mise en oeuvre.

Le volume réactionnel contient initialement un tampon de phosphate ($0.1 \text{ M } H_2PO_4^- / HPO_4^{2-}$; pH 5.5). Ce tampon a été calculé de manière à ce que la consommation totale de l'oxygène dissous contenu dans la cellule ne produise pas de changement notable du pH, et que l'activité de l'enzyme au cours de l'expérience soit ainsi conservée.

Outre le buffer, le volume initial contient également du glucose, dans une concentration suffisamment élevée (100 g/l) pour que la consommation correspondant à l'épuisement de l'oxygène de la cellule soit négligeable.

La catalase est encore ajoutée en excès à ce volume initial (800 IU/ml) [40]. La réaction est initiée par adjonction, au moyen d'une micro-seringue de 10 μl , d'une solution de glucose-oxydase de concentration connue. La glucose-oxydase est dosée selon la procédure développée au chapitre 8.4.4. Les qualités de glucose-oxydase et de catalase sont les mêmes que celles utilisées au chapitre 11.1.

Le signal de la sonde est alors amplifié, puis enregistré. Son allure, dans le cas de quelques exemples représentatifs des essais présentés dans le tableau 8.2 sont reportés sur la figure 8.7.

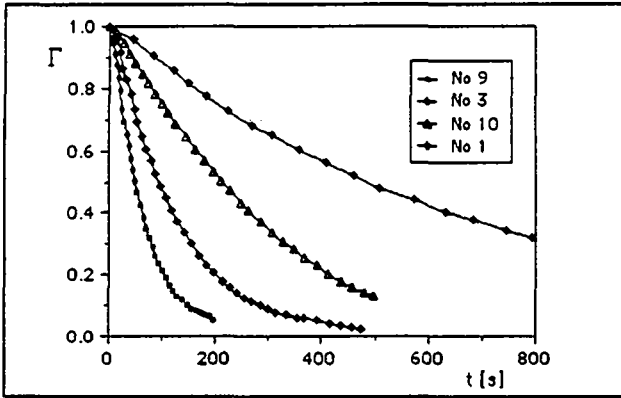


figure 8.7 : Exemples de décroissance du signal de la sonde pO_2 au cours de l'expérience

8.3.3. Traitement des résultats.

A pression partielle d'oxygène constante, et pour une calibration adéquate, la sonde d'oxygène indique :

$$\Gamma = c_L / c^*$$

La vitesse de réaction r_{O_2} [$\text{mol l}^{-1}\text{s}^{-1}$] est alors donnée par [40] :

$$r_{O_2} = - \frac{d\Gamma}{dt} \cdot c^* = \frac{1}{2} \frac{c_E k_{cat}}{1 + \frac{K_O}{\Gamma c^*} + \frac{K_S}{c_S}}$$

et s'intègre :

$$\frac{1}{2} c_E k_{cat} t = c^* \left(1 + \frac{K_S}{c_S} \right) (1 - \Gamma) - K_O \ln \Gamma$$

Le paramètre K_S ne sera pas déterminé expérimentalement, pour deux raisons. Premièrement, les différents auteurs ayant réalisé ce genre de travaux (chapitre 3.2.2) sont plus ou moins d'accord sur sa valeur ($0.0866 \pm 0.03 \text{ M}$). Deuxièmement, si les expériences sont

réalisées avec une concentration suffisante de glucose, la limitation ne se manifeste quasiment pas, et la précision de la constante K_S n'a pas une importance primordiale. Dans ce travail, la valeur admise pour K_S est de **0.082 M**, valeur publiée par Linek [40], dans des conditions semblables.

La détermination des deux autres paramètres k_{cat} et K_O consiste à optimiser ces deux valeurs de manière à ce que le modèle cinétique décrive au mieux les résultats expérimentaux. Ceci a été réalisé à l'aide de l'algorithme de Marquardt. Le modèle intégral n'a pas été utilisé sous sa forme analytique; en effet, cette forme intégrale ne permet pas d'exprimer Γ de manière explicite, mais uniquement le temps t .

Il s'est avéré impossible de mener à bien la procédure d'optimisation, soit en calculant une fonction de mérite par rapport au temps, soit en calculant les valeurs modélisées de Γ par une méthode numérique comme l'algorithme de Newton.

Les valeurs de Γ ont été obtenues par intégration numérique du modèle différentiel, par l'algorithme de Runge-Kutta (4e ordre). Les dérivées partielles par rapport aux paramètres, nécessaires à l'algorithme de Marquardt, ont également été obtenues par intégration numérique, après incrémentation du paramètre considéré.

8.3.4. Résultats.

Un certain nombre de vérifications expérimentales ont tout d'abord été réalisées.

La quantité de catalase ajoutée au buffer (800 IU/ml) est suffisante. Ceci a été vérifié en diminuant cette concentration jusqu'à l'observation d'une évolution différente de la courbe $\Gamma(t)$. Pour une concentration d'enzyme de $6 \cdot 10^{-9}$ M, une concentration de catalase de 80 IU/ml provoque pas encore de modifications.

La gluconolactone formée comme produit intermédiaire est un inhibiteur de la glucose-oxydase à partir d'une concentration de 0.02 M [40]. Cette limite ne doit pas être atteinte lors de nos

essais, la gluconolactone pouvant stoechiométriquement être présente au maximum comme le double de l'oxygène consommé, soit une concentration maximale d'environ $4 \cdot 10^{-4}$ M. Cette dernière concentration a été ajoutée au buffer initial, à titre de test. Aucune modification de la vitesse de réaction initiale n'est apparue.

L'étanchéité imparfaite de la cellule peut en principe permettre une légère aération, notamment lorsque l'oxygène de la cellule est en grande partie consommé. L'étanchéité a été améliorée au moyen de o-rings, de même qu'en abandonnant la cellule en verre pour une cellule en polyéthylène. De graves déviations de la courbe $\Gamma(t)$ dues à des problèmes d'aération peuvent notamment être mises en évidence à l'aide d'un diagramme de Lineweaver-Burk.

Sur la base de la confiance acquise lors de ces expériences préliminaires, un certain nombre de résultats ont été retenus pour l'optimisation des paramètres cinétiques. Les conditions expérimentales ont été résumées dans le tableau 8.2. La température est fixée dans tous les cas à 30 °C.

No	$p_{O_2} [at]$	$c_E [10^{-9} M]$	catalase [IU/ml]
1	0.2091	1.37	800
2	"	"	"
3	"	6.8	1600
4	"	"	"
5	"	"	800
6	"	"	"
7	"	"	"
8	"	"	"
9	"	13.7	"
10	0.96	6.8	"

tableau 8.2 : Conditions opératoires des expériences utilisées pour l'optimisation des paramètres cinétiques

Les résultats de la procédure d'optimisation sont les suivants :

$$k_{cat} = 1040 \text{ s}^{-1} \pm 0.9 \%$$

$$K_O = 3.02 \cdot 10^{-4} \text{ M} \pm 1.8 \%$$

Si l'on compare ces résultats à ceux de la littérature, cités au chapitre 3.2.2, et notamment à ceux de Linek [40], on constate qu'ils soient très semblables. Pour mémoire, ces valeurs sont les suivantes :

$$\begin{aligned}k_{cat} &= 1152 \text{ s}^{-1} \\K_O &= 5.63 \cdot 10^{-4} \text{ M}\end{aligned}$$

Il est toutefois surprenant de constater que Linek a trouvé des constantes cinétiques supérieures avec une valeur, à notre avis sous-estimée, pour la solubilité de l'oxygène .

Il faut noter que les paramètres k_{cat} et K_O sont particulièrement dépendants. Pour une augmentation simultanée et proportionnelle des deux paramètres, le modèle ne varie quasiment pas. Et réciproquement, une légère déviation de la courbe expérimentale peut se traduire par une augmentation simultanée des deux paramètres, qui peut aller jusqu'à plusieurs ordres de grandeur. Ce type de considération peut probablement expliquer les résultats si particuliers de Fukushima et al. [24].

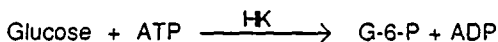
Il faut donc être extrêmement sélectif quant à la qualité des résultats expérimentaux. C'est la raison pour laquelle seules les courbes présentant une allure correcte sur un diagramme Lineweaver-Burk ont été exploitées dans ce travail.

La conclusion de cette étude cinétique est que la glucose-oxydase de qualité commerciale primaire admet le même modèle et les mêmes constantes cinétiques que l'enzyme purifiée utilisée précédemment par d'autres auteurs. La connaissance de la cinétique de cette enzyme de coût modéré permet en principe d'envisager son application à grande échelle pour la caractérisation du transfert d'oxygène.

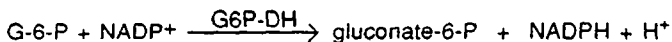
8.4. Méthodes analytiques.

8.4.1. Glucose.

Les concentrations en glucose ont été déterminées selon la méthode enzymatique [45] préconisée par la firme Boehringer-Mannheim (Mannheim, D). Le glucose est phosphorylé en glucose-6-phosphate (G-6-P) en présence d'hexokinase (HK) et d'ATP, selon :



G-6-P est ensuite oxydé par la nicotinamide-adénine dinucléotide phosphate (NADP) en gluconate-6-phosphate, en présence de glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6P-DH) :



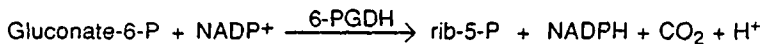
Le NADPH est formé stoechiométriquement à la quantité de glucose et est mesuré par absorbance UV à 365 nm.

8.4.2. Acide gluconique.

L'acide gluconique a été également analysé selon la méthode que propose Boehringer Mannheim [45]. L'acide gluconique (sous forme gluconate) est tout d'abord phosphorylé, en présence d'ATP et de gluconate kinase (GK), pour donner du gluconate-6-P :



Le gluconate-6-P est ensuite oxydé par NADP en ribulose-5-phosphate (rib-5-P), en présence de 6-phosphogluconate déshydrogénase (6-PGDH):



Le NADPH est formé stoechiométriquement à la quantité d'acide gluconique et est mesuré par absorbance UV à 365 nm.

8.4.3. Biomasse

La concentration en mycélium, lors des cultures d'*Aspergillus niger*, a été déterminée par filtration sur une membrane (diamètre des pores 0.4 μm), au préalable mise à poids constant. La biomasse est ensuite lavée, puis séchée. Le séchage a été réalisé dans un premier temps à l'étuve (cultures N° 1 à 4). Lors des cultures suivantes (culture N° 5 et culture à haute concentration de biomasse), la biomasse est séchée par lyophilisation.

Le volume d'échantillon nécessaire est de 5 à 15 ml, suivant la concentration de la biomasse.

8.4.4. Dosage de la glucose-oxydase.

En concentration suffisamment élevée, la glucose-oxydase peut être dosée par l'absorption UV, à 450 nm, des groupes FAD qu'elle contient.

Le mécanisme réactionnel décrit sur la figure 3.10 (chapitre 3.2.2) implique deux réactions, l'une oxydative et l'autre réductive, et le groupe FAD apparaît sous forme oxydée (FAD) ou réduite (FADH₂).

La détermination de la concentration totale en groupes FAD (FAD ou FADH₂) se base sur la différence d'absorption entre la forme oxydée et la forme réduite. En effet, la forme FAD présente un pic d'absorption à 450 nm, alors que la forme réduite FADH₂ n'absorbe quasiment pas. La différence des coefficients d'extinction molaire entre la forme oxydée et la forme réduite est de $1.31 \cdot 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ [68].

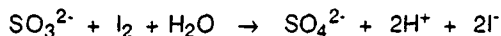
En l'absence de glucose et dans une solution bien aérée, la totalité des groupes FAD se trouvent sous forme oxydée. L'absorbance d'un échantillon est alors mesurée. On ajoute ensuite à l'échantillon 20 μl de glucose 1M, ainsi que 20 μl de nitrate d'argent 0.02 M [68]. Le nitrate d'argent inhibe fortement la réaction oxydative. Les groupes FAD se trouvent alors sous forme réduite et l'absorbance est à nouveau mesurée. La différence d'absorbance conduit à la concentration totale de groupes FAD.

La concentration de glucose-oxydase est généralement exprimée dans la littérature, comme dans ce travail, par la concentration de groupes FAD actifs, alors qu'en réalité, chaque molécule de glucose-oxydase contient deux groupes FAD. Cette concentration est néanmoins représentative de l'activité enzymatique.

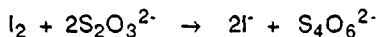
Cette détermination n'est précise que pour de fortes concentrations en glucose-oxydase ($>10^{-5}$ M). La limite de détection est de l'ordre de 10^{-6} M. Les solutions à faible concentration sont obtenues par dilution.

8.4.5. Titrage du sulfite.

Le sulfite en solution est analysé par titrage iodométrique en retour. Le sulfite réagit avec un excès d'iode selon :



L'iode non-réagit est titré par une solution de thiosulfate de sodium. L'amidon sert d'indicateur.



8.4.6. Analyse de l'oxygène en phase gazeuse.

L'oxygène dans le gaz de sortie du réacteur est dosé à l'aide d'un analyseur paramagnétique Servomex 540A (Taylor Instrument, Crowborough, GB). Le gaz doit être séché (par condensation à basse température) avant d'entrer dans l'analyseur. L'appareil est calibré pour une gamme de 5 % d'oxygène à l'aide de gaz étalons.

La sensibilité de l'analyseur est limitée d'une part par la précision des gaz étalons, et d'autre part par la stabilité dans le temps de la calibration. En effet, malgré des circuits électroniques de compensation, la balance paramagnétique reste sensible aux changements de température et de pression ambiante.

La précision sur la valeur de y_{O}^1 obtenue dans ces conditions est de l'ordre de 1% de la plage de calibration, soit ± 0.0005 .

8.5. Calorimétrie de combustion.

8.5.1. Principe de la mesure.

La mesure de l'enthalpie de combustion est réalisée à l'aide d'un calorimètre adiabatique de type calorimètre à bombe (modèle IKA C400, Janke & Kunkel KG, Staufen, D).

Un échantillon de masse connue du composé à étudier, au préalable pressé de manière à former une pastille solide, est suspendu dans une enceinte sous pression contenant de l'oxygène en grand excès (30 at), au moyen d'un fil conducteur qui traverse la pastille. L'enceinte, appelée "bombe", est ensuite plongée dans un volume d'eau de masse connue, se trouvant lui-même à l'intérieur d'une enveloppe adiabatique.

La combustion est initiée par le passage d'un courant électrique dans le fil qui suspend l'échantillon. La chaleur de combustion est dérivée de l'augmentation de température du volume d'eau, connaissant la capacité calorifique totale du système et la chaleur de combustion du fil métallique. La capacité est calibrée à l'aide d'une substance étalon, l'acide benzoïque.

8.5.2. Aspect thermodynamique.

La fonction enthalpie H d'un système est définie à partir de E , l'énergie interne du système, comme :

$$H = E + PV$$

Son accroissement, lors d'une transformation du système, vaut alors :

$$\Delta H = \Delta E + \Delta(PV) = \Delta E + V\Delta P + P\Delta V + \Delta P\Delta V$$

A volume constant, les termes $P\Delta V$ et $\Delta P\Delta V$ sont nuls et la variation d'énergie interne est égale à la chaleur échangée avec l'environnement ΔQ , par le premier principe de la thermodynamique. La variation d'enthalpie devient alors :

$$\Delta H = \Delta Q + V\Delta P$$

La combustion dans le calorimètre à bombe étant réalisée à volume constant, la chaleur mesurée est égale à la variation d'énergie interne. Néanmoins, l'excès d'oxygène sous pression permet de négliger le terme $V\Delta P$ en raison de la faible différence de pression entre le début et la fin de la combustion.

Dans ce cas seulement, la différence d'énergie interne mesurée est égale à la différence d'enthalpie.

D'autre part, pour un gaz parfait, la thermodynamique donne :

$$\left(\frac{dH}{dP}\right)_T = 0$$

La différence d'enthalpie mesurée à haute pression est donc très voisine de la différence d'enthalpie à 1 at.

La chaleur mesurée dans le calorimètre à bombe est donc égale à l'enthalpie standard (25°C, 1 at), pour autant que la combustion soit réalisée à haute pression et que la phase gazeuse puisse être considérée comme un gaz parfait.

9. Mesures physiques de $k_L a$.

9.1. Mesures dans le BSC-81.

L'évaluation critique des méthodes chimiques de mesure du $k_L a$ nécessite une connaissance relativement exacte de la valeur de ce paramètre, déterminée de manière indépendante, qui puisse servir de valeur de référence.

Ce chapitre a pour but d'une part de décrire la capacité d'aération du BSC-81, mesurée par différentes méthodes à l'aide d'une sonde pO_2 , et d'autre part d'évaluer entre elles ces différentes méthodes.

Une partie des mesures utilisées dans ce chapitre ont été réalisées par E. Rallis [50], dans le cadre de son travail de diplôme à l'IGC, travail de diplôme qui s'inscrivait dans le cadre général de ce travail.

Le $k_L a$ du BSC-81 a été mesuré par les méthodes suivantes :

- méthode des moments
- méthode statique
- méthode de la pente

Des mesures ont été effectuées sur différents milieux, correspondant à diverses situations rencontrées au cours de ce travail. Au niveau de l'équipement, la présence ou l'absence de chicanes est également liée aux conditions de mise en oeuvre ultérieures du milieu.

9.1.1. Comparaison de la méthode statique et de la méthode des moments.

Conditions particulières.

Milieu : eau déminéralisée
 Volume : 1.35 litre
 Débit d'air : 4 Nlmin⁻¹
 Equipement : avec chicanes et équipement intérieur complet du calorimètre

Méthode statique : exemple de calcul.

Conformément au principe de la méthode (chapitre 3.1), la fonction $-\ln(1-\Gamma)$ est estimée pour différents temps d'aération. Les points de mesure obtenus sont reportés sur la figure 9.1. Les pentes des droites obtenues donnent les valeurs de $k_L a$ du tableau 9.1.

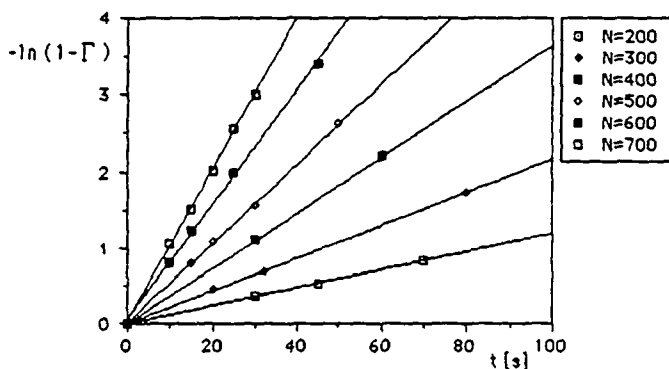


figure 9.1 : Méthode statique; résultats

Méthode des moments : exemple de calcul.

La réponse intrinsèque de la sonde pO_2 , ainsi que la réponse globale du système (comme décrites au chapitre 3.1.2) ont été enregistrées pour différentes agitations. Les courbes expérimentales sont ensuite digitalisées sur une tablette graphique (Hewlett-Packard HP-9111), puis intégrées numériquement par un mini-ordinateur HP-86. Leur premiers moments respectifs sont reportés dans le tableau 9.1. Comme développé au chapitre 3.1, le $k_L a$ est donné par la relation :

$$\frac{1}{k_L a} = M_\Gamma - (\tau_F + \tau_M) - \tau_G - \frac{RT V_L}{H G} \quad 9.1$$

Le hold-up gazeux V_G est déterminé au moyen d'un système de trop-plein, en l'occurrence un tuyau affleurant le liquide et relié à une pompe. Sa hauteur est réglée de manière à ce que l'agitation étant établie, mais sans aération, aucun liquide ne soit plus pompé par le tuyau.

N	M_T	$\tau_F + \tau_M$	V_G	τ_G	$\frac{RT V_L}{H G}$	$\frac{1}{k_{La}}$	k_{La}
[mn ⁻¹]	[s]	[s]	[ml]	[s]	[s]	[s]	[10 ⁻³ s ⁻¹]
200	100.9	11.8	28	0.41	0.59	88.1	11.4
300	52.3	11.2	28.5	0.42	"	40.1	25.0
400	33.0	10.2	38	0.56	"	21.6	46.2
500	28.9	9.4	45	0.67	"	18.2	54.8
600	21.9	8.8	58	0.86	"	11.7	85.2
700	19.0	7.6	96	1.42	"	9.4	106.6
800	16.5	8.0	91	1.35	"	6.6	152.6

tableau 9.1 : Méthode des moments; traitement des résultats

L'aération est ensuite rétablie et le volume de liquide pompé donne une estimation du hold-up. Il ne s'agit là que d'une mauvaise estimation du hold-up gazeux qui ne tient notamment pas compte du volume d'air dispersé dans le volume réactionnel par l'aération de surface. Aucune autre méthode n'est raisonnablement applicable dans un petit réacteur fortement agité.

La figure 9.2 montre l'importance relative des divers termes de l'équation 9.1. On voit que le terme τ_G , dépendant du hold-up, est relativement peu important, ce qui explique que la méthode fournisse des résultats satisfaisants, malgré la mauvaise estimation de ce paramètre.

La précision de la mesure de k_{La} est essentiellement limitée par le temps de réponse de la sonde. L'incertitude sur ce terme est de l'ordre de ± 0.5 s, en raison des conditions de départ lors de l'acquisition de la réponse intrinsèque (chapitre 3.1.2). En effet, lorsque la sonde est sortie brusquement d'une atmosphère d'azote pour être plongée dans le réacteur saturé en oxygène, la sonde est en contact avec l'air durant un court instant. Cette manipulation introduit une erreur qui justifie la précision mentionnée précédemment. La précision sur une valeur de k_{La} de $150 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ est, par exemple, de $\pm 11 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ (7.5%)

La méthode ne peut donc être précise que lorsque le terme $1/k_{La}$ est majoritaire, donc pour de faibles agitations.

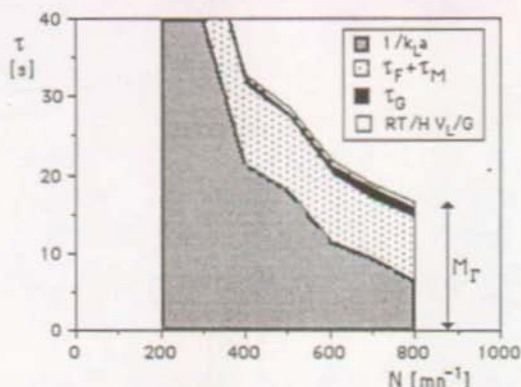


figure 9.2 : Importance relative des diverses constantes de temps, en fonction de l'agitation

Comparaison des deux méthodes.

N [mn ⁻¹]	P/V _L [W/m ⁻³]	k _L a [10 ⁻³ s ⁻¹]	
		statique	moments
200	170.4	12.	11.4
300	422.2	21.6	25
400	777.8	36.6	46.2
500	1393	52.1	54.8
600	2422	75.8	85.2
700	3852	100.4	106.6
800	5770	-	152.6

tableau 9.2 : k_La; résultats par la méthode statique et par la méthode des moments

Le tableau 9.2 donne les mesures effectuées. Celles-ci sont reportées sur la figure 9.3. La puissance est mesurée à l'aide du couplemètre.

Les deux méthodes donnent des valeurs de k_La semblables, qui sont corrélées par une fonction du type :

$$k_L a = B \cdot (P/V_L)^m$$

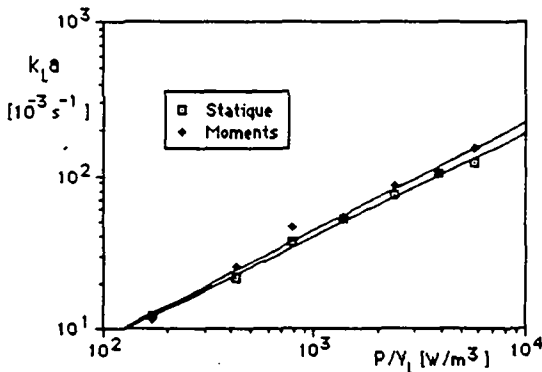


figure 9.3 : $k_L a$ en fonction de la puissance dissipée, mesuré par la méthode statique et par la méthode des moments

On trouve :

$m = 0.67$ pour la méthode statique

$m = 0.70$ pour la méthode des moments

Ces deux valeurs sont relativement élevées pour ce type de milieu en principe coalescent.

9.1.2. Comparaison de la méthode des moments et de la méthode de la pente.

Conditions particulières

Milieu :	eau bidistillée
Volume :	1.4 litre
Débit d'air :	4 $\text{Nm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$
Equipement :	sans chicanes

Méthode de la pente : exemple de calcul.

Seule la réponse globale du système est exploitée. Sa transformée $\ln(1-\Gamma)$ tend après un certain temps vers une droite de pente $-\lambda$. Des exemples de courbes $\ln(1-\Gamma)$ seront donnés plus bas.

Conformément à la théorie développée au chapitre 4, pour les conditions suivantes, un facteur de correction doit être pris en compte, lequel se calcule par (équation 4.16) :

$$F_G = \frac{a_1 + \lambda}{a_1 + \lambda \left[1 + \frac{RT}{H} \frac{V_L}{V_G} \right]}$$

Le tableau 9.3 résume le calcul de F_G pour chaque agitation. ($H = 840$ at l mole⁻¹ et $RT/H = 0.030$).

N	$-\lambda$	V_G	a_1	V_L/V_G	F_G	$k_L a$
[mn ⁻¹]	[10 ⁻³ s ⁻¹]	[ml]	[s ⁻¹]			[s ⁻¹]
300	19.5	28.5	2.34	49	1.01	19.7
400	21.7	38	1.75	37	1.01	21.9
500	28.9	45	1.48	31	1.02	29.5
600	35.4	58	1.15	24	1.02	36.1
700	41.2	96	0.69	15	1.03	42.4
800	53.1	91	0.73	15	1.04	55.2

tableau 9.3 : Méthode de la pente; traitement des résultats

Dans ces conditions, la valeur propre λ déterminée par la méthode de la pente est très proche en valeur absolue du $k_L a$.

Comparaison des méthodes.

Les $k_L a$ obtenus par les méthodes des moments et de la pente sont résumés dans le tableau 9.4, et reportés sur la figure 9.4.

N [mn ⁻¹]	P/V _L [W/m ³]	k _L a [10 ⁻³ s ⁻¹]	
		moments	pente
300	224.3	20.4	19.7
400	478.6	19.6	21.9
500	822.9	28.8	29.5
600	1301.	34.7	36.1
700	2042	42.4	42.4
800	2633	56.1	55.2

tableau 9.4 : résultats de la méthode de la pente et de la méthode des moments

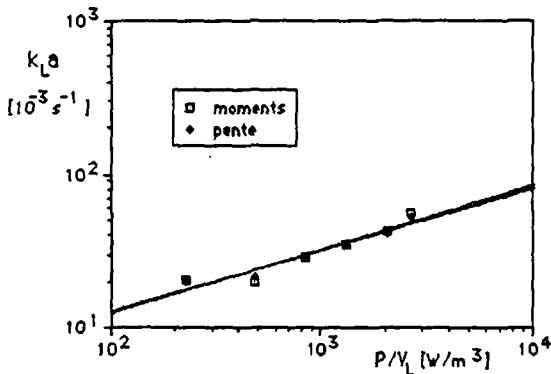


figure 9.4 : $k_L a$ en fonction de la puissance dissipée, mesuré par la méthode de la pente et par la méthode des moments

La puissance m définie par la relation 9.2 prend les valeurs suivantes :

$$m = 0.42 \text{ pour la méthode des moments}$$

$$m = 0.40 \text{ pour la méthode de la pente}$$

Ces valeurs sont parfaitement en accord avec les résultats de Calderbank pour un milieu coalescent.

9.1.3. $k_L a$ dans un milieu non-coalescent : Na_2SO_4 0.8 M.

Conditions particulières

Milieu : eau bidistillée / Na_2SO_4 0.8 M
 Volume : 1.35 litre
 Débit d'air : 3 $\text{Nm}^3\text{min}^{-1}$
 Equipement : avec chicanes
 Méthode : statique

La figure 9.5 donne la valeur du $k_L a$, mesuré par la méthode statique, dans l'eau bidistillée et dans une solution de sulfite. Ces valeurs sont reportées dans le tableau 9.5.

N [mn ⁻¹]	P/V _L [W/m ⁻³]	k _L a [10 ⁻³ s ⁻¹]	
		eau	sulfite
500	1630	52.5	68
600	2607	75	104
700	4237	91	160
800	6207	105	225
900	7749	122	-

tableau 9.5 : k_La; résultats par la méthode statique dans l'eau et dans une solution de Na₂SO₄ 0.8 M

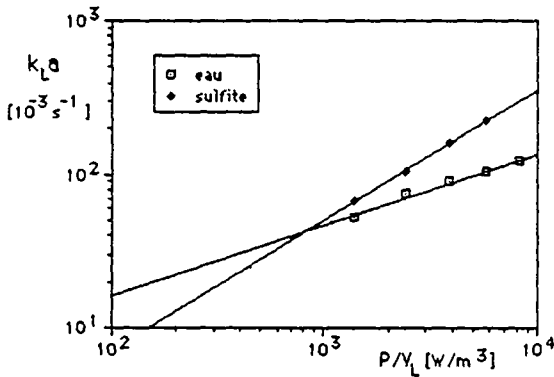


figure 9.5 : k_La en fonction de la puissance dissipée, par la méthode statique, dans l'eau et dans un milieu non-coalescent

Les valeurs de **m** sont :

m = 0.46 pour l'eau bidistillée
 m = 0.85 dans la solution de Na₂SO₄

9.1.4 Mesure du k_La dans différents milieux par la méthode de la pente.

Conditions particulières

Agitation : 500 mn⁻¹
 Volume : 1.4 litre

Débit d'air : 4 $\text{Nm}^3\text{min}^{-1}$
 Equipement : sans chicanes
 Méthode : méthode de la pente

Milieux

milieu 1 :	eau déminéralisée		
milieu 2 :	glucose 200 g/l		
milieu 3 :	glucose 200 g/l + K_2HPO_4	0.2 g/l	
	+ MgSO_4	0.2 g/l	
	+ urée	0.1 g/l	
milieu 4 :	milieu 3	+ 1 ml antimousse PP2000	
milieu 5 :	milieu 4	+ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	0.4 g/l
milieu 6 :	milieu 4	+ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	5 g/l
milieu 7 :	acide gluconique 200 g/l neutralisé à pH 5.5 par NaOH 40%		

Exemple de traitement :

La figure 9.6 montre un exemple de réponse Γ (ici dans le cas du milieu 5), ainsi que la fonction $\ln(1-\Gamma)$ qui lui est associée. La pente de cette dernière donne la valeur du $k_L a$.

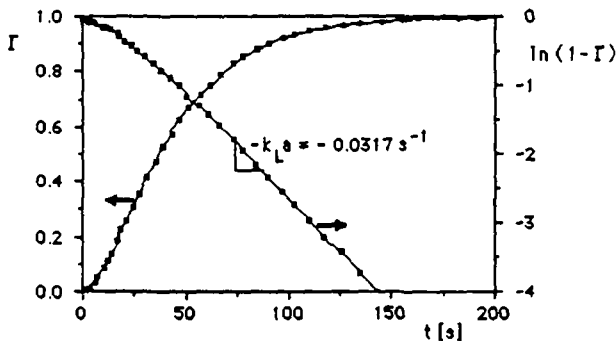


figure 9.6 : Exemple de traitement de la réponse de la sonde, dans le cadre de la méthode de la pente

Résultats.

Le $k_L a$ pour chaque milieu est reporté sur la figure 9.7. Les différences sont significatives. En effet, la reproductibilité est de l'ordre de $0.5 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, soit environ 2 %, ce qui est remarquablement précis.

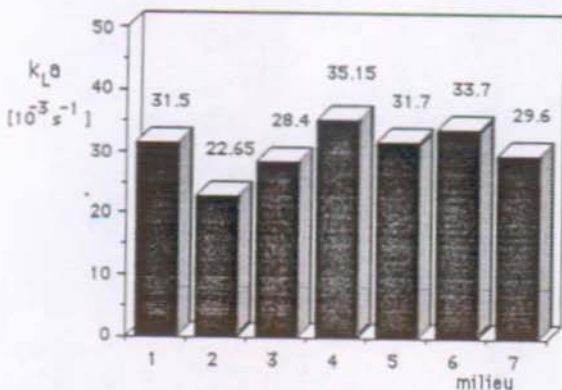


figure 9.7 : $k_L a$ dans divers milieux, à l'aide de la méthode de la pente

La présence de fortes concentrations en glucose conduit donc à une diminution de 28% du $k_L a$ (milieu 2). L'adjonction de sels minéraux (milieu 3), puis d'antimousse (milieu 4), conduit à des augmentations du $k_L a$. L'adjonction supplémentaire de sels (milieux 5 et 6) a tendance à diminuer à nouveau le $k_L a$, probablement en limitant l'effet tensioactif de l'antimousse. Le $k_L a$ dans un milieu concentré en gluconate (milieu 7) est légèrement inférieur.

La méthode de la pente permet donc dans ce cas une analyse rapide, parce que l'information nécessaire est restreinte, et très précise de la capacité d'aération.

9.2. Scale-up des méthodes de mesure.

Rallis [50] a montré que, dans le cas de plus grands réacteurs (30 litres), la méthode de la pente et la méthode des moments ne donnent le même résultat que pour des débits de gaz élevés. Pour de faibles taux d'aération, la méthode des moments donne des résultats supérieurs à ceux de la méthode de la pente.

La figure 9.8 montre notamment les $k_L a$ obtenus par Rallis dans un milieu de NaCl 5% (pour un débit de gaz de 29 lmn^{-1} , à 25°C), mesurés à l'aide de la méthode des moments, de la méthode de la pente et de la méthode statique. Les valeurs suivantes ont été obtenues pour la pente m de la relation $\log(k_L a)$ en fonction de $\log(P/V_L)$:

méthode des moments :	$m = 0.85$
méthode de la pente :	$m = 0.73$
méthode statique :	$m = 0.68$

On observe des valeurs de $k_L a$ supérieures pour la méthode des moments. La méthode statique confirme parfaitement les résultats de la méthode de la pente.

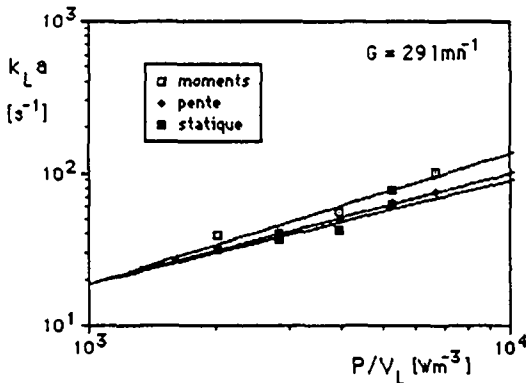


figure 9.8 : $k_L a$ en fonction de la puissance dissipée, par différentes méthodes; $V_L = 27 \text{ l}$; $G = 29 \text{ lmn}^{-1}$

La figure 9.9 montre dans ce cas, de manière analogue à la figure 9.2, l'importance relative des diverses constantes de temps intervenant dans le calcul par la méthode des moments.

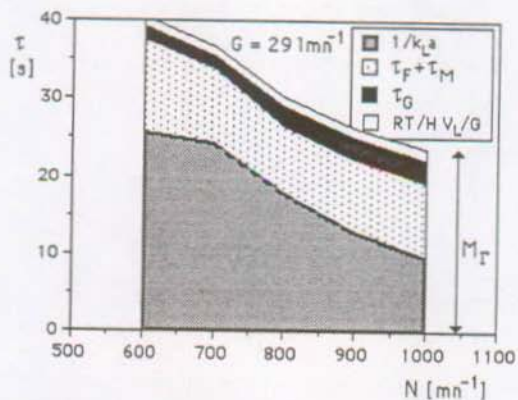


figure 9.9 : Importance relative des diverses constantes de temps, en fonction de l'agitation; $V_L = 27 \text{ l}$; $G = 29 \text{ l mn}^{-1}$

Pour de faibles débits de gaz, la précision de la mesure de $k_L a$ devient mauvaise, car le terme $1/k_L a$ n'est plus majoritaire parmi les différentes constantes de temps. L'effet des corrections pour la dynamique des gaz (τ_G et $RT/H V_L/G$) devient en effet important. La précision sur la connaissance du hold-up devient alors critique.

Les mauvaises précisions conjuguées de la connaissance du hold-up et du temps de réponse de la sonde expliquent les déviations observées pour les résultats de la méthode des moments.

Bien que le facteur de correction F_G dépende lui aussi, dans une moindre mesure, du hold-up gazeux, la méthode de la pente donne des résultats corrects dans ce cas. L'ordre de grandeur des facteurs de correction F_G va de 1.04 (à 600 mn^{-1}) à 1.13 (à 1000 mn^{-1}).

Dans le cas d'un débit de gaz de 19 l mn^{-1} , la distribution des constantes de temps obtenues par Rallis [50] est donnée sur la

figure 9.10. La méthode des moments ne permet plus une mesure précise que pour de faibles agitations.

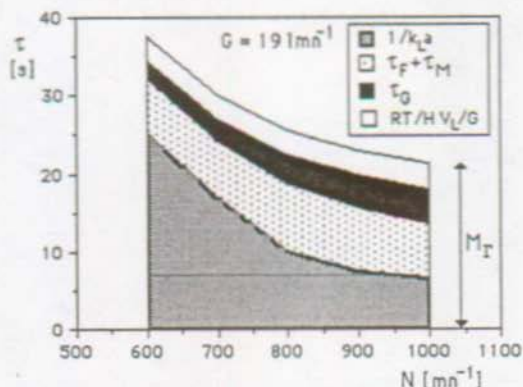


figure 9.10 : Importance relative des diverses constantes de temps, en fonction de l'agitation; $V_L = 27 \text{ l}$; $G = 19 \text{ l mn}^{-1}$

Dans des conditions semblables (à un débit de gaz de 19 l mn^{-1}), le même travail [50] a mesuré le $k_L a$, à l'aide de la méthode des moments et de la méthode de la pente, dans le milieu suivant :

glucose	5 g/l
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	2 g/l
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	0.65 g/l

Dans le même milieu a été ensuite mise en oeuvre une culture de *Saccharomycès cerevisiae*, lors de laquelle le $k_L a$ a été mesuré par la méthode dynamique de Bandyopadhyay et al. [6] (c.f. chapitre 3.3.1). Les résultats sont reportés sur la figure 9.11.

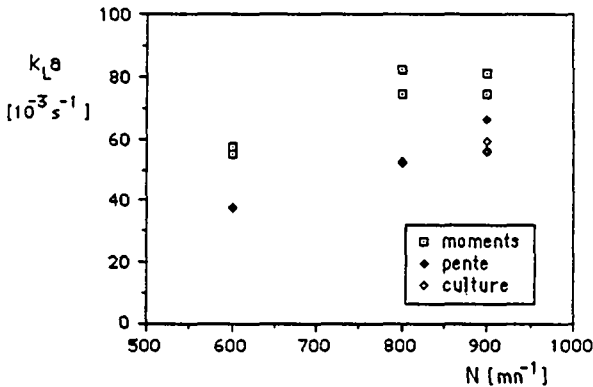


figure 9.11 : $k_L a$ dans un milieu de fermentation;
 $V_L = 27 \text{ l}$; $G = 19 \text{ lmn}^{-1}$

On voit que les résultats obtenus en cours de culture par la méthode de Bandyopadhyay confirment, même à de faibles débit de gaz, la bonne estimation de la méthode de la pente ; contrairement à la méthode des moments, qui semble surestimer le $k_L a$.

9.3. Conclusions concernant la mesure physique du $k_L a$.

Les corrélations obtenues sont en accord avec la littérature. Il faut toutefois remarquer que les essais dans l'eau ont donné des résultats différents, suivant que le réacteur est équipé ou non de chicânes d'agitation ($m = 0.70$ avec chicânes ; $m = 0.42$ sans chicânes). Le diamètre du réacteur étant relativement étroit par rapport au diamètre de l'agitateur, il est probable que la présence de chicânes contribue à propager les tensions de cisaillement, créées par les turbines, à l'ensemble du volume. La coalescence attendue pour un tel milieu étant ainsi limitée, on obtient, lorsque le réacteur est équipé de chicânes, des relations empiriques qui se rapprochent des corrélations attendues pour un milieu non-coalescent.

Les diverses comparaisons montrent que les méthodes statiques, méthodes des moments et méthode de la pente sont équivalentes

pour la détermination du $k_L a$ du BSC-81 lorsque celui-ci est bien aéré.

La méthode de la pente a toutefois l'avantage de sa rapidité et de sa simplicité, l'information requise étant minimale. Elle permet de plus une détermination très précise du $k_L a$ qui sera fortement utile pour la suite du travail.

Les essais sur un réacteur de plus grand volume ont montré que, pour de faibles débits de gaz, la méthode des moments manque de précision, alors que la méthode de la pente permet encore un résultat correct. La méthode statique, laborieuse à mettre en oeuvre, mais moins sensible aux problèmes de dynamique gazeuse, constitue une méthode de référence.



10. Oxydation du sulfite.

10.1. Mise en oeuvre.

10.1.1. Produits.

Sulfite :	Na_2SO_3 anhydre p.a. (Fluka No 79771)
Sulfate :	Na_2SO_4 anhydre p.a. (Merck No 6649)
Catalyseur :	$\text{CoSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ purum (Fluka No 60860)
Acide sulfurique :	p.a. (Merck No 731)
Soude caustique :	p.a. (Merck No 6498)
Eau :	bidistillée

10.1.2. Conditions opératoires.

Température :	$30 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.2$
Volume liquide :	1.35 litre
Sulfite :	environ 0.8 M au début de l'expérience, titré par iodométrie.
Débit d'air :	3.1 NI/mn
pH :	Le pH fortement basique de la solution initiale de sulfite est ajusté à 8.00 ± 0.05 par adjonction de H_2SO_4 conc. Le pH est ensuite régulé en cours de réaction par l'adjonction automatique de NaOH 4 M (c.f. annexe B).

10.1.3. Préparation de l'expérience.

La solution est préparée par dissolution du sulfite dans de l'eau bidistillée dégazée à l'azote. La solution est ensuite introduite dans le calorimètre, thermostatée à la température de consigne sous une légère agitation de 50 mn^{-1} , dans le but d'assurer une certaine homogénéité du milieu, sans toutefois provoquer une aération de surface trop importante.

Le pH est ensuite ajusté et le catalyseur introduit, sous forme de 3 ml de solution dont la concentration est prévue de manière à obtenir la concentration voulue dans le réacteur.

La réaction débute avec la connection du système d'aération, simultanément à la mise en service de l'agitation à sa valeur opératoire.

10.1.4. Traitement des thermogrammes.

La ligne de base du thermogramme avant le début de la réaction n'est pas représentative, à cause de l'agitation réduite d'une part, et d'autre part en raison du fait qu'une faible réaction peut déjà se manifester durant cette période. La ligne de base est donc estimée en fin de réaction et elle est supposée constante tout au long de la réaction. Cette manière de faire est d'autant plus justifiée que les signaux de chaleur observés sont relativement importants et que la précision de la ligne de base n'est, par conséquent, pas limitante.

10.1.5. Analyse du gaz de sortie du réacteur.

Etant donnée l'importance de la consommation d'oxygène dans le cas de vitesses d'agitation élevées, la concentration d'oxygène dans l'air sortant du réacteur peut être passablement différente de la même concentration dans l'air entrant. Cette différence de concentration a deux conséquences principales :

- premièrement, la solubilité de l'oxygène est fonction de la pression partielle d'oxygène dans la phase gazeuse, par la loi de Henry. En admettant que la phase gazeuse est parfaitement mélangée, on peut admettre que la composition de l'air à la sortie est la même que celle régnant dans le volume gazeux du réacteur. La solubilité doit donc être estimée dans chaque cas d'agitation à partir de l'analyse du gaz de sortie.
- deuxièmement, le transfert d'oxygène peut être estimé par bilan de matière entre l'entrée et la sortie du réacteur.

10.2. Régime physique.

10.2.1. Choix de la concentration de catalyseur.

La concentration de catalyseur utilisée est de 10^{-6} M. Les concentrations de cobalt généralement utilisées pour l'obtention d'un régime physique se situent entre 10^{-6} et 10^{-5} M. Il semble néanmoins, selon l'étude théorique réalisée au chapitre 5 et les limites de concentration données dans le tableau 5.2, que le transfert peut déjà être accéléré à ces concentrations. Afin d'obtenir des résultats représentatifs de ce qui est généralement observé lors de l'utilisation de la méthode du sulfite, il a été choisi de travailler au minimum de cette plage, tout en sachant que la possibilité d'une faible accélération n'est pas exclue.

La vitesse d'agitation est, quant à elle, variée sur une gamme de 400 à 1000 mn^{-1} .

10.2.2. Description des thermogrammes.

Les thermogrammes obtenus à ces différentes agitations sont reportés sur la figure 10.1. A 1000, 900 et 800 mn^{-1} , la réaction est complète, alors que pour 700, 600, 500 et 400 mn^{-1} , les niveaux respectifs du signal de chaleur sont déterminés au cours d'une même expérience. La ligne de base varie évidemment d'une agitation à l'autre et est estimée pour chaque agitation après la fin de la réaction.

Les signaux de chaleur montrent à chaque agitation une forme semblable. Avant le début de la réaction, le signal de chaleur est très faible, l'agitation et l'aération ne fonctionnant pas. Ce signal présente un pic au départ de la réaction. Ce pic est régulièrement observé (sauf à 900 mn^{-1} , où le pic est très discret) et sera discuté ultérieurement.

Le thermogramme présente ensuite une première phase plus ou moins longue, durant laquelle le transfert augmente sensiblement, puis une diminution du transfert pour atteindre vers la fin de la réaction une valeur stable. Dans tous les cas où l'épuisement du sulfite est atteint (1000, 900, 800 et 400 mn^{-1}), la fin de la réaction se traduit par une chute brutale du signal de chaleur.

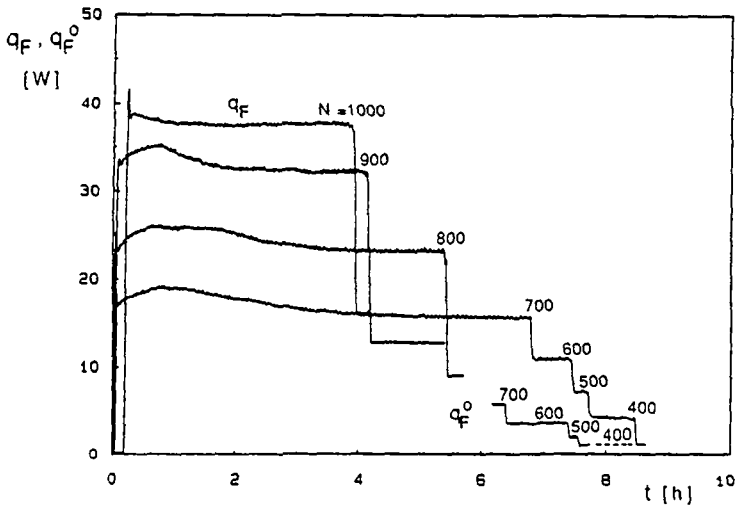


figure 10.1 : Thermogrammes à différentes vitesses d'agitation; $c_{Co} = 10^{-6} M$

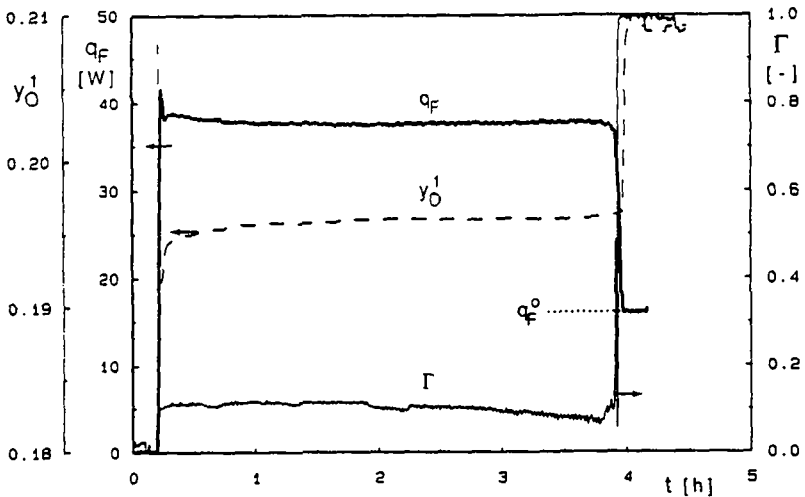


figure 10.2 : Exemple d'acquisition; signaux obtenus à $N = 1000 \text{ mn}^{-1}$; $c_{Co} = 10^{-6} M$

Aucune diminution préalable de ce signal n'indique la présence d'une quelconque limitation en sulfite.

La figure 10.2 montre, dans le cas d'une agitation de 1000 mn^{-1} , le signal de chaleur q_F , simultanément au signal de l'analyseur de gaz y_O^1 , et au signal de la sonde à oxygène Γ .

Reproductibilité.

La figure 10.3 présente 4 thermogrammes, réalisés dans des conditions strictement identiques (800 mn^{-1} ; $c_{CO} = 10^{-6} \text{ M}$). On constate que la forme générale des thermogrammes est similaire. Le pic initial est toujours présent. Par contre, les phases successives d'augmentation, puis de diminution, du signal de chaleur, ne sont pas systématiques. Les différences de niveau du signal sont de l'ordre de 5% d'une expérience à l'autre.

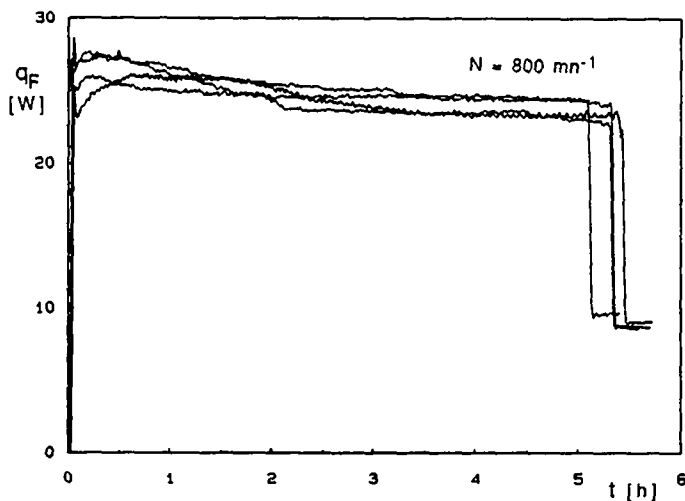


figure 10.3 : Reproductibilité du signal;
 $N=800 \text{ mn}^{-1}$; $c_{CO} = 10^{-6} \text{ M}$

10.2.3. Rendements de chaleur.

Rendement de chaleur global.

On entend par "rendement de chaleur global" les rendements obtenus sur l'ensemble de la durée de l'expérience, par opposition au rendement en cours de réaction qui représente la valeur du rendement global après un certain temps de réaction.

La chaleur totale Q [kJ] dégagée durant la réaction est obtenue par intégration du signal de chaleur q_R , obtenu après soustraction de la ligne de base q_F^0 au signal q_F .

A titre d'exemple, on obtient ainsi dans le cas de $N = 1000 \text{ mn}^{-1}$ (figure 10.2) :

$$Q = \int_0^{\infty} q_R(t) dt = 290.2 \text{ kJ}$$

Le nombre de moles de sulfite consommées par la réaction n_S^0 est donné par :

$$n_S^0 = c_S^0 \cdot V_L^0 = 0.778 \cdot 1.35 = 1.05 \text{ mol}$$

où c_S^0 et V_L^0 sont respectivement la concentration, déterminée par titrage iodométrique (chapitre 8.4.5) et le volume liquide au début de la réaction.

Le rendement de chaleur par rapport au substrat consommé $Y_{Q/S}$ [kJ/mol] vaut alors :

$$Y_{Q/S} = \frac{Q}{n_S^0} = \frac{290.2}{1.05} = 276.4 \text{ kJ/mol}$$

$Y_{Q/O}$, le rendement de chaleur par mole d'oxygène consommée, est lié stoechiométriquement à $Y_{Q/S}$:

$$Y_{Q/O} = 2 \cdot Y_{Q/S} = 552.8 \text{ kJ/mol}$$

Le rendement de chaleur à 1000, 900 et 800 mn⁻¹ est reporté dans le tableau 10.1. Sa valeur moyenne est de 562 kJ/mol ($\pm 1\%$).

Cette valeur est en accord avec les valeurs de Rossini [56] ($Y_{Q/O} = 570$ kJ/mol) et de Roels [55] ($Y_{Q/O} = 545$ kJ/mol), présentées au chapitre 6.3.2 (-1.4% par rapport à Rossini, +3.1% par rapport à Roels).

N [mn ⁻¹]	c_S^0 [M]	V_L^0 [l]	Q [kJ]	$Y_{Q/O}$ [kJ/mol]
800	0.775	1.35	295.8	565
900	0.780	1.35	298.3	567
1000	0.778	1.35	290.2	553

tableau 10.1 : Calcul des rendements de chaleur

Rendement de chaleur en cours de réaction.

Le rendement de chaleur en cours de réaction est obtenu en reportant $Q(t)$, donné par :

$$Q(t) = \int_0^t q_R(t') dt'$$

en fonction du nombre de moles qui a réagit Δn_S :

$$\Delta n_S(t) = n_S^0 - n_S(t)$$

Dans le cas d'une stoechiométrie aussi simple que celle de l'oxydation du sulfite, le rendement de chaleur en cours de réaction n'est pas d'un grand intérêt. Il est en effet constant tout au long de la réaction. Il est par ailleurs moins précis que le bilan global, puisqu'il souffre plus de l'imprécision sur le titrage iodométrique. Un exemple de rendement en cours de réaction sera donné au chapitre 10.3 dans le cas d'un thermogramme obtenu en régime accéléré.

10.2.4. Calcul de OTR.

Le transfert d'oxygène OTR [mol s^{-1}] peut être calculé de deux manières :

- Premièrement, à partir du signal de chaleur (chapitre 7.1.5).

Connaissant le rendement de chaleur par mole d'oxygène consommé, OTR peut être calculé à chaque instant par :

$$\text{OTR}(t) = \frac{q_R(t)}{Y_{\text{O}_2}}$$

- Deuxièmement, sur la base du bilan d'oxygène dans la phase gazeuse (chapitre 3.3.2), par :

$$\text{OTR}(t) = G \frac{P^\circ}{RT^\circ} \left[y_{\text{O}_2}^g - (1 - y_{\text{O}_2}^g) \frac{y_{\text{O}_2}^1(t)}{1 - y_{\text{O}_2}^1(t)} \right]$$

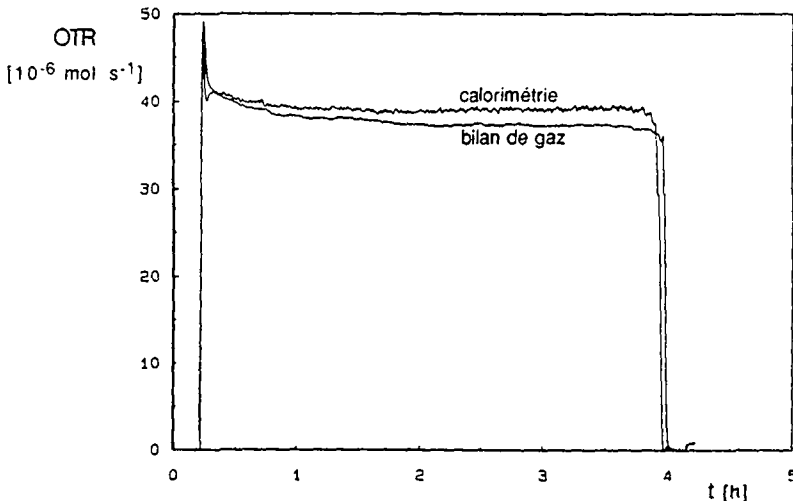


figure 10.4 : OTR instantané; par calorimétrie et par bilan de gaz; $N=1000 \text{ mn}^{-1}$; $c_{\text{CO}} = 10^{-6} \text{ M}$

La figure 10.4 présente $OTR(t)$, calculé d'une part à partir du thermogramme et, d'autre part, à partir de la composition du gaz de sortie. Compte tenu de la précision du calcul de OTR par bilan de gaz (chapitre 3.3.2), la concordance est assez bonne.

Il est intéressant de remarquer que le pic initial observé sur le thermogramme apparaît également sur le signal OTR calculé par bilan de gaz. On assiste donc, durant les premières minutes de réaction, à un transfert et une consommation d'oxygène effectivement plus importants.

10.2.5. Evaluation du $k_L a$.

Le $k_L a$ est estimé à partir du transfert OTR , connaissant le volume réactionnel et la force agissante ($c^* - c_L$), selon :

$$OTR = k_L a V_L (c^* - c_L)$$

Etant donné les faibles volumes de soude nécessaires (annexe B), le volume réactionnel peut être considéré comme constant durant la réaction.

c^* est évalué à chaque instant de la concentration d'oxygène dans le gaz de sortie y_O^1 et du coefficient de Henry, qui évolue au cours de la réaction (Annexe A), et vaut :

$$\begin{aligned} \text{Début de réaction :} & \quad H = 1486 \text{ l at mol}^{-1} \\ \text{Fin de réaction :} & \quad H = 1697 \text{ l at mol}^{-1} \end{aligned}$$

La variation au cours du temps du coefficient de Henry est supposée linéaire. (La forme plus exacte, basée sur les coefficients de sels et calculée en annexe A, est quasiment linéaire en fonction de la concentration de sulfite).

La concentration en phase liquide c_L est calculée sur la base du signal de la sonde, normalisé au début de l'expérience par rapport à la valeur de c^* en équilibre avec l'air ambiant. Les variations ultérieures de la composition de la phase gazeuse sont sans effet sur la valeur numérique qu'indique la sonde (chapitre 8.1).

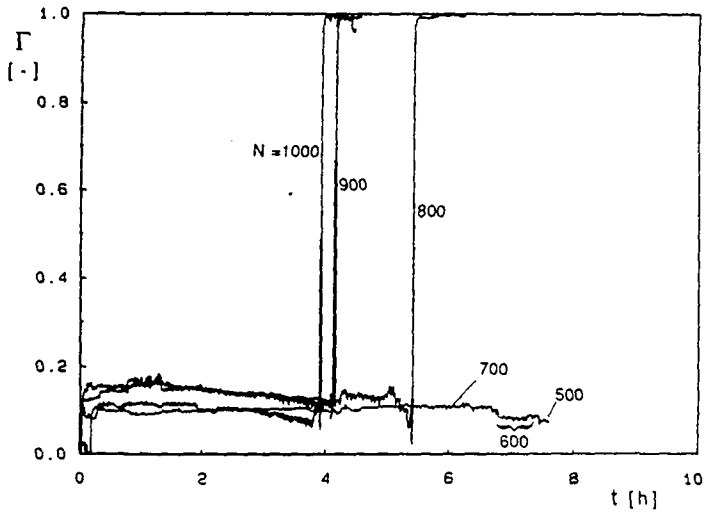


figure 10.5 : Signal de la sonde à oxygène en fonction du temps, pour différentes agitations; $c_{\text{Co}} = 10^{-6} \text{ M}$

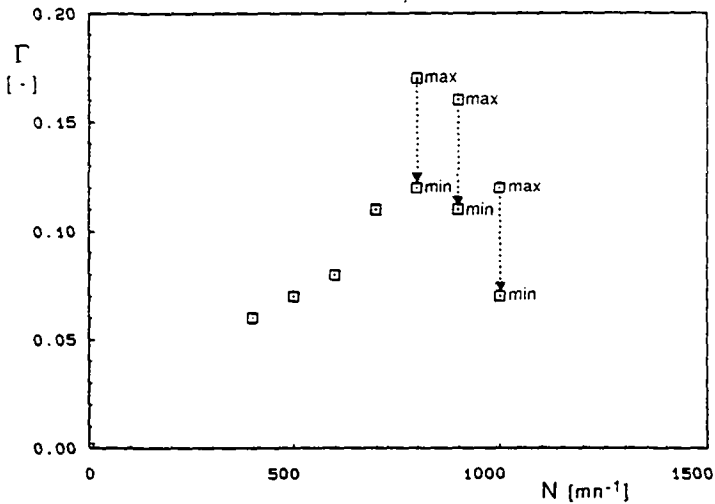


figure 10.6 : Signal de la sonde à oxygène en fonction de l'agitation; $c_{\text{Co}} = 10^{-6} \text{ M}$; les flèches indiquent la décroissance du signal au cours du temps

Les signaux de la sonde à oxygène obtenus pour les différentes agitations sont reportés sur la figure 10.5. On voit que le signal de la sonde est relativement plat à 700 mn^{-1} , alors qu'il diminue au cours de la réaction pour les agitations plus élevées. Le niveau du signal est reporté sur la figure 10.6 en fonction de la vitesse d'agitation, et est donné dans le tableau 10.2. Pour les signaux qui diminuent au cours de la réaction, les valeurs maximale et minimale sont indiquées.

Il est ainsi possible de calculer le $k_L a$ à chaque instant, en principe à partir du OTR donné par la calorimétrie, comme à partir du OTR donné par le bilan gazeux.

Les fonctions $k_L a(t)$ sont données sur la figure 10.7 pour chaque agitation. La première constatation est que la fonction $k_L a(t)$ n'est pas constante au cours du temps. En effet, cette fonction suit les variations du signal de chaleur.

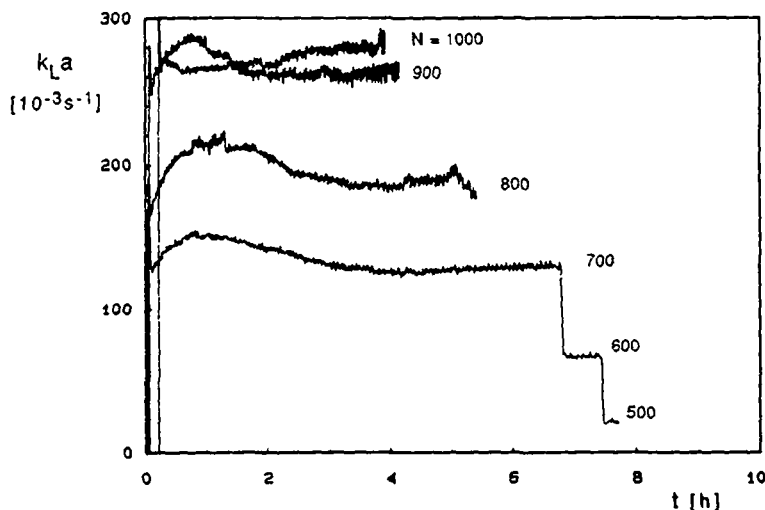


figure 10.7 : $k_L a$ en fonction du temps,
pour différentes agitations; $c_{Co} = 10^{-6} \text{ M}$

10.2.6. Comparaison avec les valeurs physiques.

Les valeurs de $k_L a$ ont été déterminées, par la méthode statique, dans un milieu 0.8 M Na_2SO_4 , correspondant à la composition du milieu en fin de réaction (chapitre 9.3). Le $k_L a$ en début de réaction n'est pas accessible par une méthode physique, le milieu réagissant avec l'oxygène. En conséquence, le seul point de comparaison disponible est la valeur du $k_L a$ en fin de réaction.

Les valeurs fournies par l'analyse du gaz de sortie du réacteur en fin de réaction (domaine où le signal est approximativement constant) sont données dans le tableau 10.2. La solubilité correspondante, en fin de réaction, à 30°C et pour une pression ambiante de 730 mm Hg, est reportée à titre indicatif dans le même tableau. Le calcul détaillé est donné dans l'annexe A.

N [mn ⁻¹]	$y_{\text{O}_2}^j$	$c^* \cdot 10^4$ [M]	Γ [-]
	fin	fin	début → fin
400	0.2072	1.17	0.06
500	0.2061	1.17	0.07
600	0.2049	1.16	0.08
700	0.2032	1.15	0.11
800	0.1990	1.13	0.17 → 0.12
900	0.1965	1.11	0.16 → 0.11
1000	0.1945	1.10	0.12 → 0.07

tableau 10.2 : Solubilité et signal de la sonde, en fin de réaction

Les valeurs $k_L a^{\text{cal}}$ sont estimées pour chaque agitation à la fin de la réaction, soit dans la zone où le $k_L a$ est approximativement constant. Ces valeurs sont reportées dans le tableau 10.3.

Dans le même tableau sont données à titre de comparaison les valeurs $k_L a^{\text{stat}}$, mesurées à l'aide de la méthode statique, ainsi que $k_L a^{\text{gaz}}$, calculé en fin de réaction, à partir du bilan d'oxygène sur la phase gazeuse.

N [mn^{-1}] [10^{-3} s^{-1}]	$k_L a^{\text{cal}}$ [10^{-3} s^{-1}]	$k_L a^{\text{stat}}$ [10^{-3} s^{-1}]	$k_L a^{\text{gaz}}$ [W l^{-1}]	P/V_L
500	59.3	68	59	1.63
600	94.3	104	84	2.60
700	128	159	124	4.24
800	188	225	214	6.21
900	259	-	267	7.75
1000	278	-	300	10.79

tableau 10.3 : Valeurs de $k_L a$ par calorimétrie, par la méthode statique et par bilan de gaz, en fin de réaction

La figure 10.8 présente les valeurs de $k_L a^{\text{stat}}$, $k_L a^{\text{cal}}$ ainsi que de $k_L a^{\text{gaz}}$, en fonction de l'agitation, comparées aux valeurs données par la méthode statique dans l'eau.

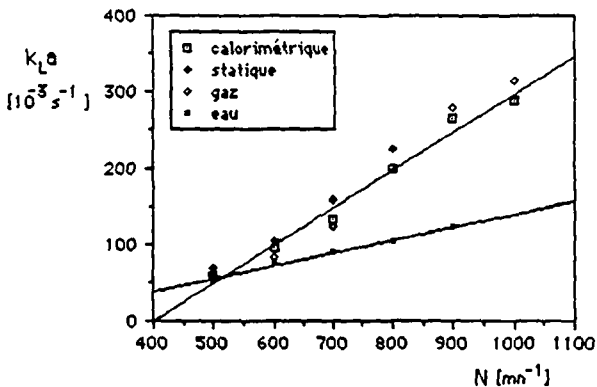


figure 10.8 : $k_L a$ par calorimétrie, par la méthode statique et par bilan de gaz, en fin de réaction

La comparaison entre $k_L a^{\text{stat}}$ et $k_L a^{\text{cal}}$ montre que ces valeurs sont approximativement égales. La précision de la mesure de $k_L a^{\text{stat}}$ vers les hautes valeurs d'agitation est toutefois limitée.

La figure 10.9 montre les $k_L a$ obtenus ($k_L a^{cal}$) en fonction de la puissance dissipée, mesurée par l'intermédiaire du capteur de couple (les valeurs sont reportées dans le tableau 10.3).

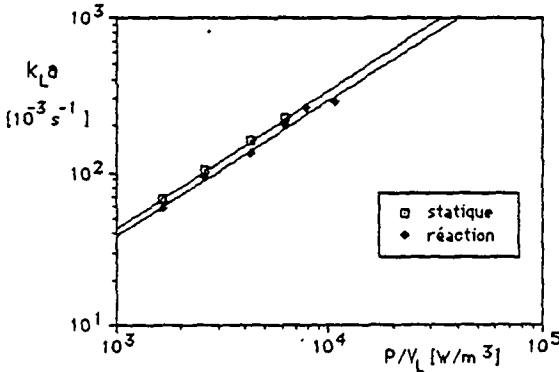


figure 10.9 : Relation entre $k_L a$ et la puissance d'agitation

La dépendance est de la forme :

$$k_L a^{cal} = 0.039 (P/V_L)^{0.88}$$

$$k_L a^{stat} = 0.044 (P/V_L)^{0.89}$$

Ce qui est parfaitement en accord avec les corrélations généralement admises pour un milieu ionique à coalescence faible.

10.2.7. Discussion des résultats ; régime physique.

Pic initial

Le pic initial observé sur les thermogrammes est également mis en évidence par le bilan de gaz. Il correspond donc effectivement à un transfert d'oxygène, et simultanément à une réaction, accrus.

On ne peut pas expliquer cette vitesse initiale de la réaction par le régime initial instationnaire. En effet, on a d'une part montré au chapitre 5.2 que le régime instationnaire est limité à quelques dizaines de secondes, et d'autre part, le régime instationnaire correspond dans le cas présent à un transfert d'oxygène accru, mais une vitesse de réaction initiale nulle, puisque la concentration d'oxygène dissous est nulle avant le début de la réaction. Le thermogramme ne présenterait pas de pic dans ces conditions.

On est donc amené à conclure que la vitesse initiale de la réaction est effectivement supérieure durant une certaine période, probablement liée à une activité supérieure du catalyseur. Ruchti [57] cite les travaux de Vles et Reinders [66], concluant à un mécanisme réactionnel du type :



Le pic initial cautionne cette hypothèse. Le complexe serait alors accumulé avant le début de la réaction. On doit alors en conclure d'une part que l'oxygène réagit avec le complexe, bloquant la deuxième étape lorsqu'il est limitant, et d'autre part que, lorsque l'oxygène est présent en quantité suffisante, la vitesse de formation du complexe limite la réaction globale.

Limitation en sulfite.

La littérature donne généralement une limite inférieure de 0.3 à 0.4 M en sulfite, en-dessous de laquelle la cinétique n'est plus d'ordre 0 par rapport au sulfite. Les thermogrammes contredisent cette affirmation, montrant que la cinétique est maintenue approximativement constante jusqu'à épuisement complet du sulfite.

Forme des thermogrammes.

L'augmentation initiale du signal de chaleur peut s'expliquer, à priori, par une augmentation de la vitesse de réaction. Des phénomènes d'activation du catalyseur ont été notamment observés par Ruchti [57]. Les temps d'induction observés concordent bien avec les périodes d'augmentation du signal de chaleur. Il faut remarquer que cet effet n'est pas observé systématiquement.

Alors que, pour $N = 700, 800$ et 900 mn^{-1} , le phénomène d'activation semble toujours plus présent, le thermogramme obtenu à $N = 1000 \text{ mn}^{-1}$ ne semble pas manifester la même tendance.

La diminution ultérieure est certainement liée à l'augmentation du coefficient de Henry au cours de la réaction.

Bilan d'oxygène.

L'application aux signaux expérimentaux OTR, c^* et Γ , d'un bilan pseudo-stationnaire en phase liquide du type :

$$\text{OTR} = k_L a V_L (c^* - c_L)$$

conduit à des valeurs non-constantes de $k_L a$ au cours du temps. Or, il n'est pas possible, à priori, de justifier une pareille évolution du $k_L a$ au cours de la réaction.

Si l'on admet que le $k_L a$ doit être approximativement constant, les résultats prouvent alors que le bilan d'oxygène ci-dessus ne décrit pas correctement le système. Les variations observées de OTR sont beaucoup trop importantes par rapport aux variations observées de la force agissante ($c^* - c_L$). On doit donc en conclure que le transfert est accéléré par la réaction et que, de plus, le facteur d'accélération n'est pas constant au cours du temps.

La figure 10.6 montre que le signal de la sonde à oxygène augmente avec la vitesse d'aération jusqu'à 800 mn^{-1} , puis diminue pour 900 et 1000 mn^{-1} . L'augmentation du signal de la sonde est prévue par le modèle pseudo-stationnaire décrit au chapitre 5.3, lorsque le $k_L a$ augmente (figure 5.4). Il est possible que cet effet soit lié à une augmentation du facteur d'accélération, en rapport avec la taille des bulles et la valeur du coefficient k_L .

10.3. Régime accéléré.

L'agitation a été fixée à 800 mn⁻¹ pour toutes les expériences en régime accéléré.

Des thermogrammes ont été obtenus à différentes concentrations de catalyseur.

10.3.1. Concentration de cobalt : 10⁻⁵ M.

5 thermogrammes, numérotés chronologiquement de 1 à 5, ont été réalisés à cette concentration de catalyseur et sont donnés sur la figure 10.10.

Trois d'entre eux sont cohérents. Leur forme est, en première approche, similaire à celle du thermogramme obtenu à la même agitation pour une concentration de 10⁻⁶ M de catalyseur (figure 10.3). Leur niveau est en moyenne légèrement supérieur, ce qui est prévu par le modèle pseudo-stationnaire (figure 5.1.4) : pour un $k_L a$ d'environ 100·10⁻³ s⁻¹, le niveau de ϕ^{stat} est quasiment identique à des concentrations de 10⁻⁵ et 10⁻⁶ M de catalyseur. La forme initiale des thermogrammes est néanmoins différente. En effet, à 10⁻⁶ M Co⁺⁺, le thermogramme présente une phase initiale croissante, alors qu'à 10⁻⁵ M Co⁺⁺, la valeur maximale de ϕ^{stat} est atteinte dès le début de la réaction.

Les deux autres thermogrammes réalisés à 10⁻⁵ M Co²⁺ mettent en évidence un comportement totalement différent du système. Leur niveau est plus élevé que pour les trois premiers ; de plus, leur forme n'est plus décroissante, mais augmente au cours du temps, laissant supposer une augmentation de la vitesse de réaction au cours du temps.

Les conditions expérimentales lors de l'obtention de ces différents thermogrammes ont été rigoureusement les mêmes. La présence d'impuretés catalytiques parasites est minimisée en utilisant notamment de l'eau bidistillée. On remarque également que les thermogrammes présentant une forme "croissante" (marqués par une astérisque dans le tableau 10.4 n'ont pas été réalisés consécutivement.

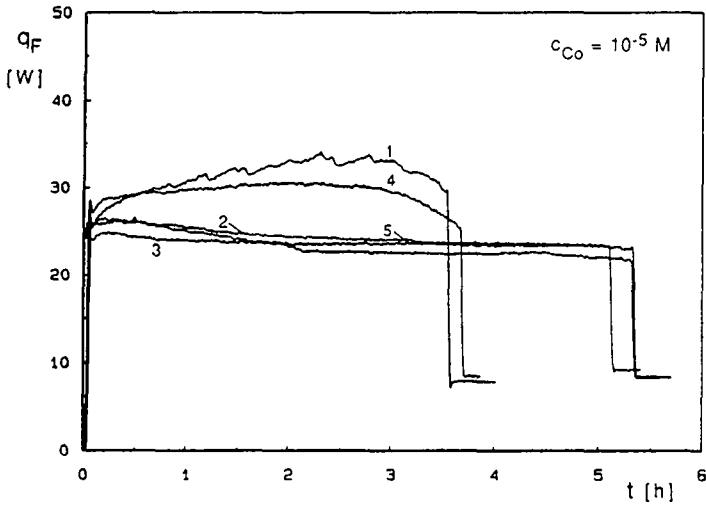


figure 10.10 : thermogrammes à
 $c_{Co} = 10^{-5} M$; $N = 800 \text{ mn}^{-1}$

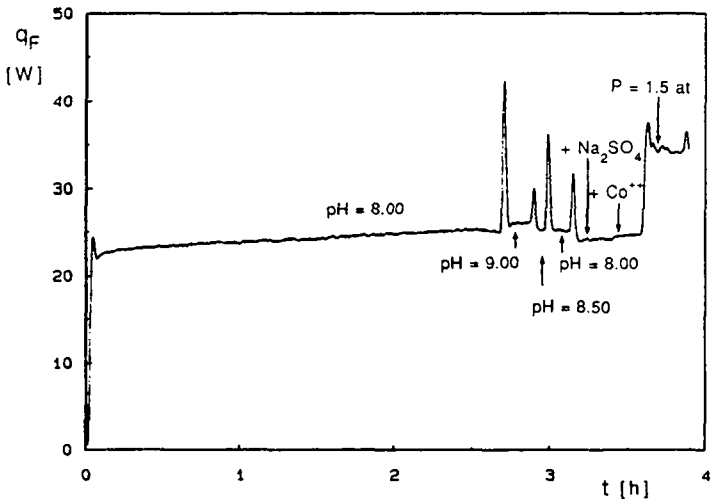


figure 10.11 : Influence des paramètres sur le niveau
 du signal de chaleur; $c_{Co} = 10^{-5} M$; $N = 800 \text{ mn}^{-1}$

Bilan de chaleur.

Le tableau 10.4 montre la chaleur totale Q [kJ] dégagée dans le calorimètre durant la réaction, obtenue par intégration du thermogramme dans le cas de chaque expérience. Cette chaleur Q peut être légèrement différente d'un cas à l'autre, suivant la concentration initiale en sulfite c_S^0 [M]. Par contre, le rendement de chaleur par mole d'oxygène consommée $Y_{Q/O}$ est approximativement constant et vaut en moyenne 566 kJ/mol.

Cette valeur est parfaitement en accord avec les valeurs de la littérature [55], [56] et avec la valeur obtenue en régime physique.

Les formes particulières de certains thermogrammes ne sont, de plus, pas liées à des rendements de chaleur particuliers et ne sont donc pas dues à une contribution de chaleur étrangère à la réaction d'oxydation du sulfite.

Sensibilité aux paramètres d'exploitation.

La figure 10.11 présente un thermogramme réalisé dans des conditions similaires aux expériences précédentes. Les influences respectives de plusieurs paramètres sont testées en changeant brusquement l'un des paramètres. La réponse du signal de chaleur donne une indication sur la sensibilité du système au paramètre considéré.

Après une première période de fonctionnement normal, le pH est augmenté à 9.00, puis diminué à 8.50, et 8.00. A chaque changement, le signal de chaleur montre un pic, dû à l'adjonction de soude ou d'acide sulfurique, puis le signal retrouve sa valeur stationnaire. On voit ainsi que l'état stationnaire est très peu sensible à la valeur du pH.

De même, la valeur du signal est peu sensible à l'adjonction de 0.1 M de Na_2SO_4 et à l'augmentation de la concentration de cobalt de 10%.

Seule une augmentation de la pression ambiante de 0.5 at permet d'obtenir une augmentation significative du signal de chaleur. Néanmoins, cette augmentation de pression ne saurait être atteinte spontanément dans le calorimètre.

10.3.2. Concentration de cobalt : 10^{-4} M.

La figure 10.12 montre 4 thermogrammes (numérotés 6 à 9) réalisés à une concentration de cobalt de 10^{-4} M. Ils présentent tous un signal de chaleur supérieur à celui obtenu dans le cas du transfert physique, conformément au principe de l'accélération du transfert de matière par la réaction.

Il est par contre surprenant de constater que le signal de chaleur augmente au cours de la réaction. Les facteurs d'accélération observés vont de 1.7 à 2.6. De plus, la dispersion est importante.

Trois des quatre thermogrammes présentent une diminution du signal vers la fin de la réaction, qui n'est toutefois pas systématique; le dernier est croissant sur toute la durée de la réaction.

De plus, contrairement aux thermogrammes présentés antérieurement, les thermogrammes 6 à 9 présentent tous un pic en fin de réaction. Ce pic est lié à un effet du contrôle de pH. Il est montré dans l'annexe B que le NaOH ajouté sert essentiellement à neutraliser l'acide sulfurique, ajouté initialement pour fixer le pH à 8.00. A la fin de la réaction, on atteint alors le point d'équivalence et l'adjonction d'une quantité très faible de NaOH suffit à faire augmenter le pH de 1 ou 2 unités, activant la réaction de manière importante durant les dernières minutes.

Les signaux de chaleur intégrés (tableau 10.4) montrent à nouveau des rendements de chaleur constants d'une expérience à l'autre.

10.3.3. Concentration de cobalt : 10^{-3} M.

Les six thermogrammes de la figure 10.13 (expériences N° 10 à 15) ont été obtenus à une concentration de catalyseur de 10^{-3} M.

Le niveau des signaux de chaleur obtenus est supérieur encore. Les facteurs d'accélération vont de 1.8 à 3.7. Quant à leur forme, les thermogrammes présentent tous une première phase où le signal de chaleur est croissant, suivi d'une deuxième phase de décroissance. Le niveau du signal, de même que l'importance des effets de croissance et de décroissance, semble aléatoire, même si certaines similitudes de forme semblent apparaître.

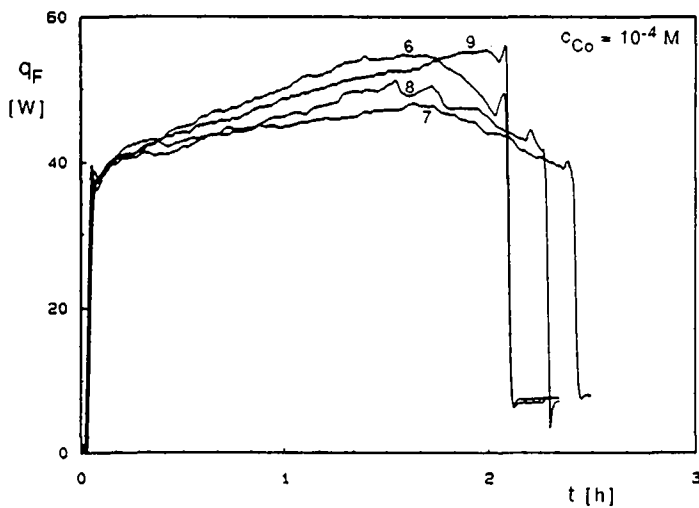


figure 10.12 : thermogrammes à
 $c_{Co} = 10^{-4} M$; $N = 800 \text{ mn}^{-1}$

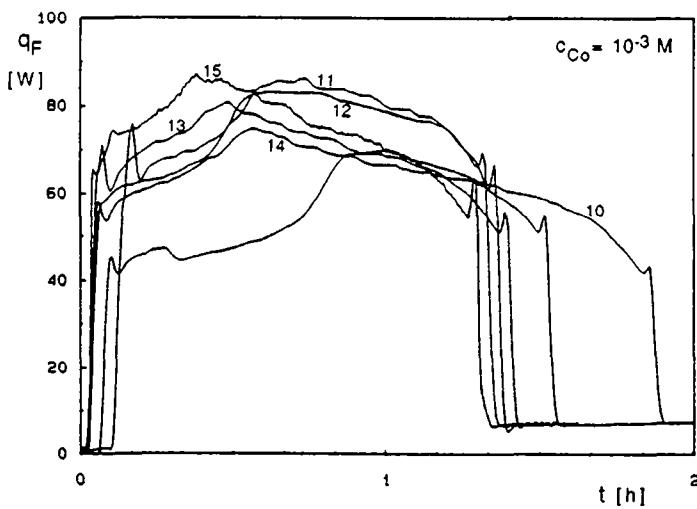


figure 10.13 : thermogrammes à
 $c_{Co} = 10^{-3} M$; $N = 800 \text{ mn}^{-1}$

La chaleur totale dégagée durant la réaction est reportée pour chaque expérience dans le tableau 10.4.

	Exp N°	c_S^0 [M]	Q [kJ]	$Y_{Q/O}$ [kJ/mol]
$c_{Co} : 10^{-5}$ M	1.	0.756	286.5	561
	2.	0.787	304.2	573
	3.	0.772	288.9	554
	4.	0.780	308.2	585
	5.	0.799	300.1	556
moyenne :				566 (± 2.3 %)
$c_{Co} : 10^{-4}$ M	6.	0.772	309.4	594
	7.	0.770	303.7	584
	8.	0.780	307.3	584
	9.	0.775	307.7	588
moyenne :				588 (± 0.7 %)
$c_{Co} : 10^{-3}$ M	10.	0.776	311.3	594
	11.	0.777	310.4	596
	12.	0.782	311.4	590
	13.	0.778	310.4	591
	14.	0.772	307.1	589
	15.	0.792	309.7	579
moyenne :				590 (± 1 %)

tableau 10.4 : Rendements de chaleur en régime accéléré

10.3.4. Influence de la concentration en sulfite.

L'expérience suivante a été réalisée dans le but de déterminer si l'augmentation du signal de chaleur observée au cours du temps est liée à la diminution simultanée de la concentration de sulfite. Ceci signifierait que l'on est en présence d'une réaction d'ordre négatif en sulfite, contrairement à la littérature qui admet un ordre 0 en sulfite pour des concentrations supérieures à 0.3 M.

A une concentration de $5 \cdot 10^{-4}$ M et une agitation de 800 mn^{-1} , deux expériences sont réalisées. Lors de l'expérience 16a, la concentration initiale est de 0.8 M en sulfite, de manière analogue aux expériences précédentes.

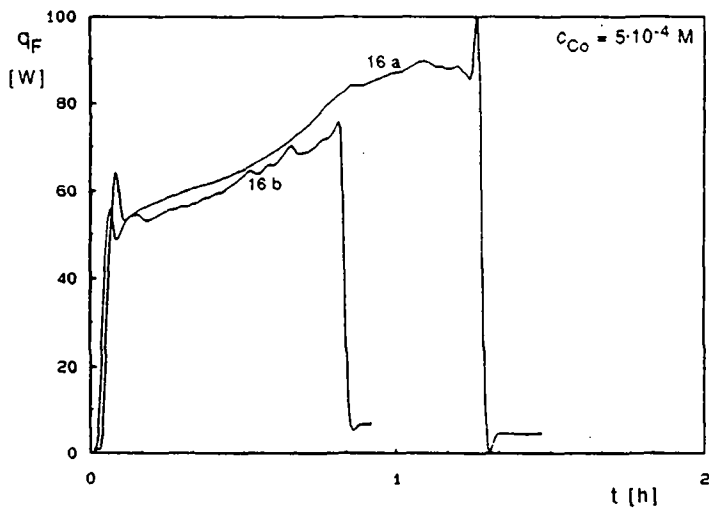


figure 10.14 : thermogrammes à $c_{Co} = 5 \cdot 10^{-4} M$;
 16a : $c_S^0 = 0.8 M$; 16b : $c_S^0 = 0.4 M$; $N = 800 \text{ mn}^{-1}$

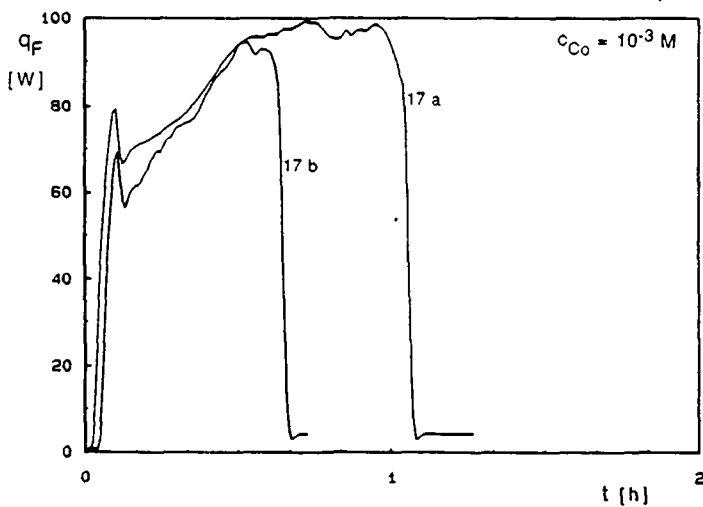


figure 10.15 : thermogrammes à $c_{Co} = 10^{-3} M$;
 17a : $c_S^0 = 0.8 M$; 17b : $c_S^0 = 0.4 M$; $N = 800 \text{ mn}^{-1}$

Lors de la deuxième expérience **16b**, le milieu initial contient 0.4 M de sulfite, et 0.4 M de sulfate, ce qui correspond à la composition du milieu de l'expérience 16a à mi-réaction. Les thermogrammes obtenus sont présentés sur la figure 10.14.

L'expérience est renouvelée à une concentration de catalyseur de 10^{-3} M (Expérience 17a et 17b, figure 10.15).

On remarque que, dans chaque cas, les thermogrammes **a** et **b** sont identiques dans leur phase initiale et augmentent simultanément, prouvant par là que l'augmentation du signal de chaleur n'est pas liée à la concentration de sulfite.

10.3.5. Rendement de chaleur en cours de réaction.

Il est intéressant de montrer, dans le cadre de ce chapitre, un exemple de rendement de chaleur en cours de réaction. Il a été mentionné, dans le cas du régime physique, que le rendement en cours de réaction n'a pas un grand intérêt dans le cas d'une stoechiométrie aussi simple que celle de la réaction du sulfite, puisqu'il est toujours égal au rendement global et moins précis que ce dernier. Dans le cas d'un thermogramme accéléré, le fait que le rendement soit constant en cours de réaction prouve, s'il en était besoin, que les variations du signal de chaleur ne sont pas liées à des changements de stoechiométrie de la réaction.

La figure 10.16 a) montre, dans le cas de l'expérience N° 16, la chaleur dégagée en fonction du nombre de moles de sulfite consommées. De ce rendement $Y_{Q/S}$ de 271 kJ/mol on calcule le rendement $Y_{Q/O}$ de 542 kJ/mol. Ce rendement est constant au cours de la réaction. Il est légèrement inférieur au rendement global qui, pour cette réaction, peut être calculé à $Y_{Q/O} = 578$ kJ/mol. Cette différence peut être attribuée à une erreur systématique sur l'analyse des échantillons de sulfite, due à la réaction dans l'échantillon.

On voit également (figure 10.16 b) que la forme que présente la concentration de sulfite au cours du temps est parfaitement décrite par l'intégration du signal de chaleur.

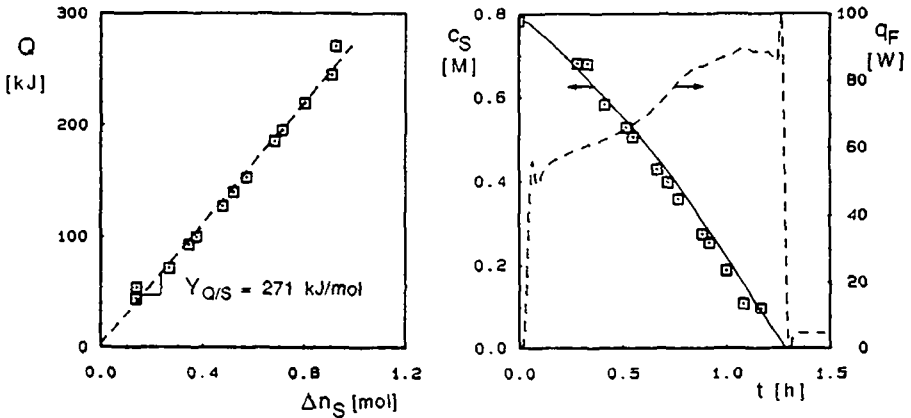


figure 10.16 a : Chaleur intégrée en fonction du substrat consommé
 figure 10.16 b : Calcul de la concentration de substrat
 à partir du signal de chaleur intégré

Le signal de chaleur donne accès à la concentration instantanée de sulfite $c_S(t)$ par :

$$\frac{c_S(t)}{c_S^0(t)} = 1 - \frac{\int_0^t q_R(t') dt'}{\int_0^\infty q_R(t') dt'}$$

La majorité des travaux précédents sur la réaction du sulfite mesurent le transfert d'oxygène par analyse iodométrique du sulfite résiduel. En l'absence du signal de chaleur, la diminution du sulfite peut parfaitement être supposée linéaire. La calorimétrie, de par la nature différentielle du signal qu'elle fournit, est donc un moyen d'investigation beaucoup plus fin pour l'étude de la cinétique des systèmes gaz-liquide que l'analyse du substrat résiduel.

10.3.6. Discussion des résultats : régime accéléré.

La figure 10.17 résume les différents thermogrammes obtenus en régime accéléré. On constate encore une fois que, bien que les thermogrammes obtenus à une même concentration de catalyseur se distinguent clairement des autres, la dispersion entre eux est considérable.

Les rendements de chaleur reportés dans le tableau 10.4 présentent une augmentation en fonction de la concentration de cobalt, ce qui est à priori surprenant. Ces rendements de chaleur supérieurs se justifient par la calibration incorrect du calorimètre, dans le cas de signaux de chaleur importants (Annexe C).

Les fluctuations du transfert au cours de la réaction sont causées essentiellement par deux phénomènes, à savoir :

1. L'augmentation du coefficient de Henry au cours de la réaction. Dans le cas du régime accéléré, il a été démontré au chapitre 5.4 que l'effet d'une diminution du coefficient de Henry peut conduire à des diminutions importantes du signal de chaleur dans le cas de hautes concentrations de catalyseur. On constate effectivement que les thermogrammes réalisés à 10^{-3} M Co^{2+} présentent tous une phase terminale décroissante.
2. Une modification de la cinétique en cours de réaction. Les expériences 16 et 17 ont montré qu'une éventuelle modification de la vitesse de réaction au cours de l'expérience n'est pas liée à l'évolution de la concentration de sulfite. Un changement de la cinétique est donc forcément lié à une différence d'activité du catalyseur.

On a montré au chapitre 5.4 qu'une modification de la vitesse de réaction influençait le bilan pseudo-stationnaire de la phase gazeuse. L'ordre de grandeur de l'augmentation du facteur d'accélération généralement observé en régime accéléré implique une augmentation de l'activité du catalyseur (coefficient k_f) de l'ordre de 100 % !

Une modification de la capacité de transfert ne peut réellement être envisagée dans des proportions suffisantes pour expliquer les résultats expérimentaux.

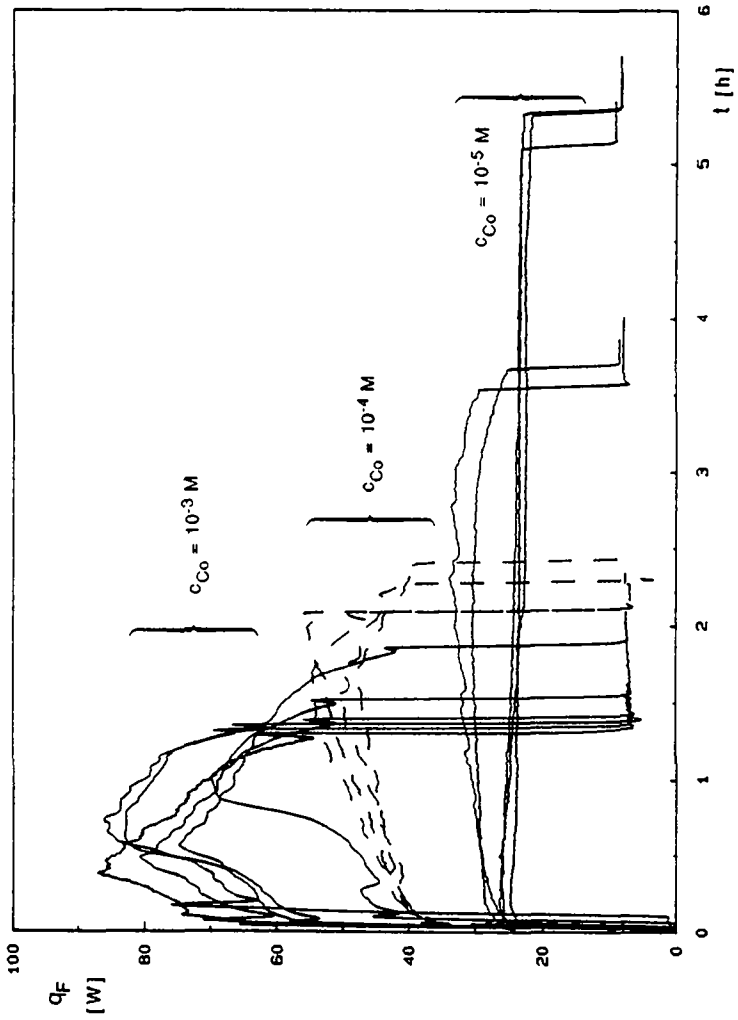


figure 10.17 : Thermogrammes en régime accéléré; $N=800 \text{ mn}^{-1}$

Il n'est pas certain que l'effet de l'augmentation du facteur de Henry, effet par ailleurs difficilement quantifiable, intervienne de manière importante. En effet, les thermogrammes réalisés à une concentration de Co^{2+} de 10^{-4} M ne présentent pas tous une phase décroissante. Par ailleurs, lors des expériences 16 et 17, l'effet de l'augmentation du coefficient de Henry ne se manifeste pas.

L'effet prépondérant est donc l'activité instable du catalyseur. La littérature admet que le coefficient k_r est sujet à de grandes variations, généralement justifiées par la présence d'impuretés agissant comme catalyseurs. Les niveaux relativement dispersés des différents thermogrammes tendent à vérifier cette affirmation. Ce qui par contre est nouveau, est la mise en évidence, grâce à la calorimétrie, de variations de la vitesse de réaction au cours d'une même expérience, dues aux effets conjugués de l'activation du catalyseur et probablement de la diminution de la solubilité.

A de hautes concentrations de catalyseur, la diminution du signal de chaleur en fin de réaction, qui se manifeste à un moment où la concentration en sulfite doit être de l'ordre de 0.3 à 0.4 M, a pu être interprétée par d'autres travaux comme une limitation en sulfite. Les expériences 16 et 17 ne semblent pas confirmer cette hypothèse.

10.4. Evaluation de la méthode du sulfite.

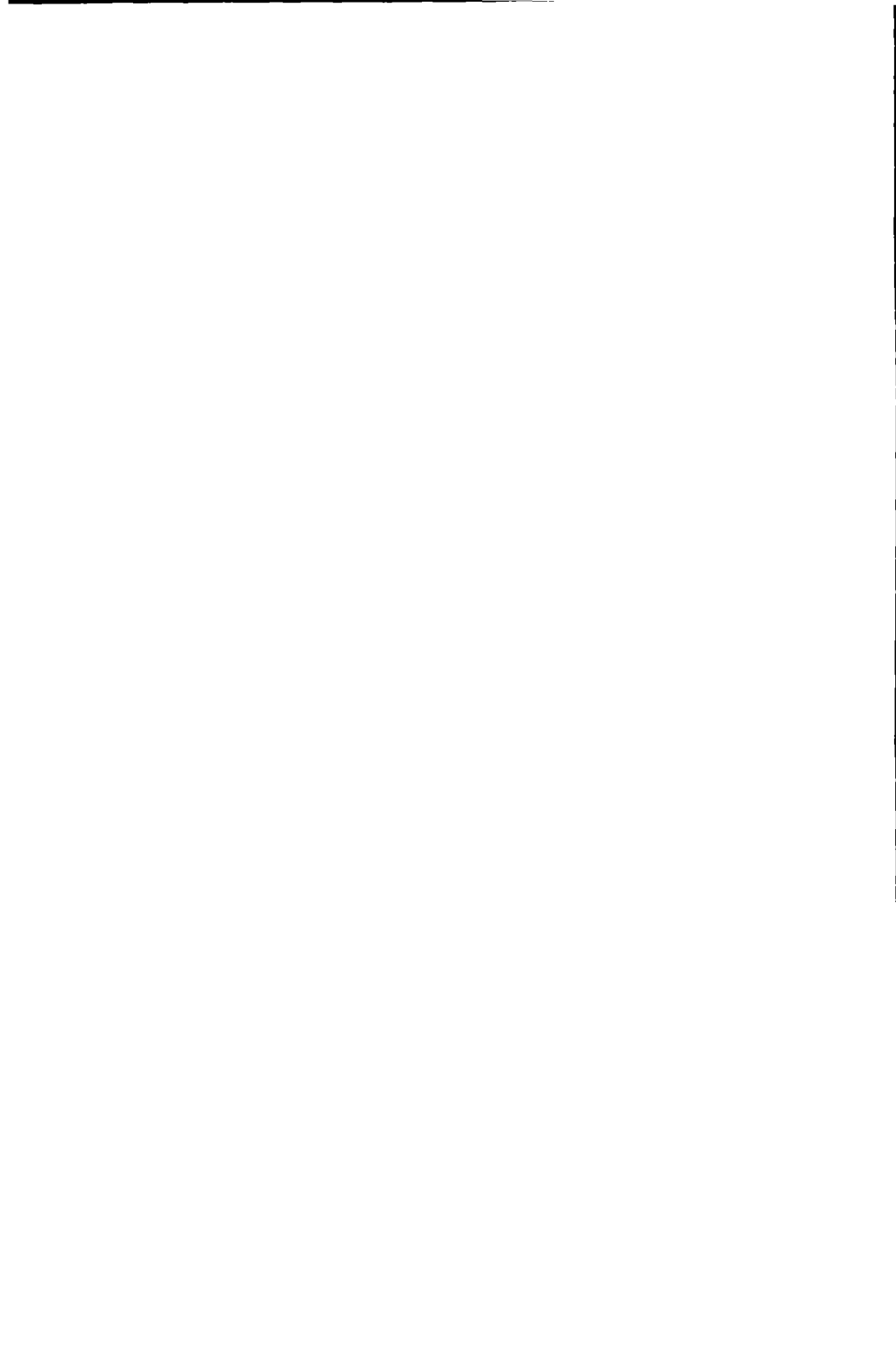
En régime physique ($c_{\text{Co}} = 10^{-6}$ M), la méthode du sulfite permet de mesurer un $k_L a$ légèrement accéléré, mais dont l'ordre de grandeur est correct. L'estimation du $k_L a$ par la pente de la concentration de sulfite au cours du temps évalue, d'ailleurs, un $k_L a$ moyen sur le temps. Néanmoins, le $k_L a$ obtenu est évidemment spécifique d'un milieu non-coalescent.

Une estimation précise doit également tenir compte de la concentration d'oxygène dissous, qui n'est généralement pas nulle.

La détermination de l'aire interfaciale en régime accéléré doit par contre être sérieusement remise en question. Elle ne peut être sérieusement fiable si le transfert n'est pas constant au cours du temps.

Le calcul de a implique déjà, en soi, une erreur relativement importante. Si, de plus, les coefficients cinétiques ne sont pas reproductibles au cours du temps, de même que d'une expérience à l'autre, l'aire interfaciale obtenue est fortement sujette à caution.

L'application de la méthode du sulfite à la détermination de l'aire intrerfaciale doit donc d'abord résoudre les problèmes liés à l'instabilité du catalyseur.



11. Oxydation enzymatique du glucose.

11.1 Mise en oeuvre.

11.1.1. Produits.

Glucose :	pour usage biochimique (Merck No 8342)
Glucose-oxydase :	extraite d' <i>A.niger</i> , type III (Boehringer-Mannheim, Mannheim, D)
Catalase :	qualité C10 (Sigma, St-Louis, USA)
Soude caustique :	p.a. (Merck No 6498)
Antimousse :	polypropylène-glycol PP2000 (Fluka, Buchs, CH)
Eau :	bidistillée

11.1.2. Conditions opératoires.

Dans le but de pouvoir tirer des parallèles entre la réaction d'oxydation in vitro et les cultures d'*Aspergillus niger*, les mêmes conditions opératoires ont autant que possible été utilisées. Ceci justifie des choix peut-être non-optimaux au niveau de ces conditions.

Température :	30 °C ± 0.2
Débit d'air :	4.1 NI/mn, distribué au moyen d'un anneau perforé en acier inoxydable.
Agitation :	La vitesse d'agitation est fixée dans tous les cas à 500 mn ⁻¹ , sans chicanes d'agitation.
pH :	Le pH est maintenu à une valeur de consigne de 5.5 ± 0.05 à l'aide de NaOH 40% (14.2 M) par un contrôleur automatique. Afin de ne pas augmenter de manière importante le bruit de fond du signal de chaleur, le contrôleur de pH doit être réglé de telle manière qu'il injecte dans le réacteur des quantités aussi faibles que possibles de NaOH.
Volume liquide :	de 1.3 à 1.45 litre

- Glucose : environ 200 g/l au début de l'expérience
- Glucose-oxydase : ajoutée sous forme de suspension, en concentration variable de $1 \cdot 10^{-8}$ à $1 \cdot 10^{-6}$ M. L'activité spécifique de chaque emballage livré par le fabricant est déterminée par spectrophotométrie (chapitre 8.4.4). Les quantités de glucose-oxydase sont ensuite simplement pesées lors de l'utilisation.
- Catalase : introduite sous forme de suspension, en concentration de $1 \cdot 10^6$ IU l⁻¹ [40], selon l'activité donnée par le fabricant.
- Antimousse : 1 ml/l

11.1.3. Préparation de l'expérience.

Contrairement au cas de l'oxydation du sulfite, la réaction d'oxydation du glucose n'a pas lieu sans adjonction de catalyseur. L'agitation et l'aération sont donc en service à leur valeur opératoire avant le début de l'expérience. La solution contient alors le glucose, la catalase et l'antimousse. La réaction débute avec l'adjonction de glucose-oxydase, en solution dans un volume de 5 ml environ.

11.1.4. Traitement des thermogrammes.

Contrairement au cas de l'oxydation du sulfite, la ligne de base peut être estimée avant le début de la réaction, ainsi qu'après l'expérience. On constate de très faibles différences de niveau de cette ligne de base entre le début et la fin de la réaction. En conséquence, la ligne de base est supposée évoluer linéairement entre le niveau initial et le niveau final. L'erreur introduite, dans le cas où cette évolution n'est pas rigoureusement linéaire, est faible.

11.1.5. Effet de chaleur lié à l'adjonction de NaOH.

Alors que, dans le cas de l'oxydation du sulfite, la quantité de soude ajoutée était négligeable du point de vue de son effet thermique, elle ne l'est plus dans le cas de l'oxydation du glucose.

En effet, la neutralisation de l'acide gluconique formé par la réaction nécessite l'adjonction de quantités plus importantes de NaOH concentré. (La concentration de la soude utilisée est de 40%, ce qui est proche de la limite de solubilité à température ambiante).

L'établissement de bilans de chaleur corrects doit donc tenir compte de cette chaleur supplémentaire, qui doit être déterminée au cours d'une expérience préliminaire.

Du point de vue thermique, cette adjonction se manifeste par trois effets distincts :

- Premièrement, une chaleur est liée à la capacité calorifique de la solution de NaOH, celle-ci étant introduite dans le calorimètre à température ambiante, alors que la température du réacteur est de 30 °C.
- Deuxièmement, la dilution de la soude est un phénomène fortement exothermique, dont il convient également de tenir compte.
- Troisièmement intervient l'enthalpie de la réaction de neutralisation de l'acide gluconique.

La figure 11.1 montre le thermogramme obtenu lors du titrage d'une solution d'acide gluconique 0.47 M ($V_L=1.4$ litre) à 30 °C par NaOH 40%. Le débit d'adjonction du NaOH est constant au cours du temps. La chute du signal de chaleur après 70 mn correspond à l'épuisement de la réserve de soude. Le nombre de moles de NaOH ajoutées est également reporté en abscisse. Le point d'équivalence correspond à l'adjonction de 0.66 moles de soude.

La chaleur dégagée depuis la 25ème minute environ correspond à la chaleur de dilution, à laquelle se soustrait la capacité calorifique du NaOH ajouté. On voit que la chaleur de dilution diminue logiquement au fur et à mesure que la solution devient fortement basique. Le pic additionnel entre 5 et 20 mn correspond quant à lui à la chaleur de réaction, qui est semble-t-il l'effet majeur.

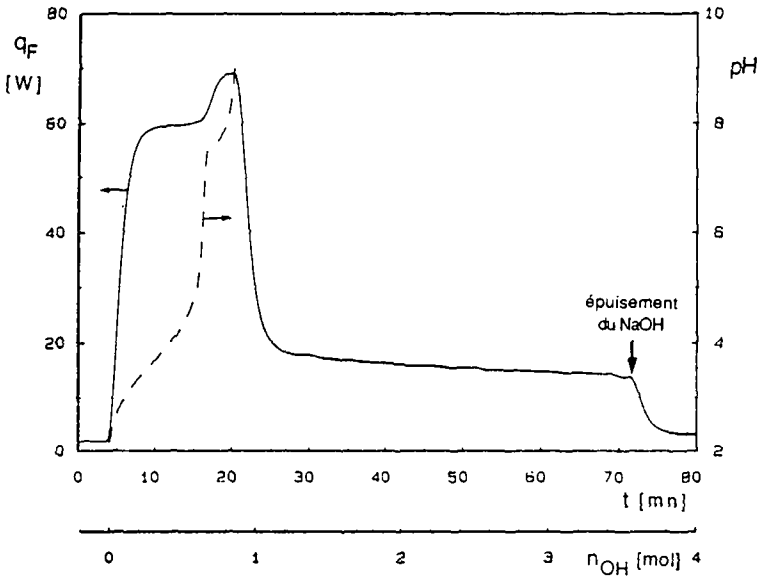


figure 11.1 : Thermogramme du titrage d'une solution d'acide gluconique 0.47 M par NaOH 40%

Il est particulièrement curieux de constater que la chaleur dégagée par la réaction de neutralisation est légèrement supérieure après le point d'équivalence; la courbe de pH semble indiquer la présence d'un deuxième titrage.

Le pH à mi-neutralisation donne la valeur du pK_a de l'acide gluconique, soit :

$$pK_a = 3.7$$

Lors d'un deuxième essai, une quantité connue de NaOH 40% est introduite dans une solution d'acide gluconique 0.47 M ($pH = 2.6$). Le signal de chaleur est intégré et le rapport de la chaleur dégagée à la quantité de solution ajoutée donne la somme des trois effets de chaleur liés à l'adjonction de NaOH.

Sur la base de l'expérience précédente, ce rendement de chaleur est approximativement constant dans le domaine de pH plus acide que le point d'équivalence.

On trouve ainsi expérimentalement un rapport de 446.8 Joules par gramme de solution. Cette valeur est soumise à certaines limites de validité :

a) Elle ne s'applique qu'à une solution de NaOH 40 %. Pour cette raison, il est préférable de l'exprimer par quantité de solution, plutôt que par mole de NaOH, par exemple.

b) Elle est caractéristique, par le terme de capacité calorifique qu'elle contient, d'une certaine température ambiante, en l'occurrence 22°C. Néanmoins, l'effet de chaleur lié à la capacité calorifique de la solution de NaOH est relativement faible et les variations de température du local sont également faibles. Du point de vue de la température ambiante, la valeur expérimentale peut donc être appliquée de manière générale avec une certaine confiance.

c) On suppose qu'elle est indépendante de la concentration d'acide gluconique. Cette supposition est raisonnable, l'enthalpie de réaction étant vraisemblablement le terme principal des trois effets considérés plus haut.

11.2. Essais à différentes concentrations d'enzyme.

11.2.1. Description des thermogrammes.

Le tableau 11.1 présente quatres expériences réalisées à des concentrations différentes de glucose-oxydase. Les thermogrammes correspondants sont reportés sur la figure 11.2.

	V_L^o [l]	c_{GOD} [M]	c_S^o [g/l]
1.	1.32	$1 \cdot 10^{-7}$	185.1
2.	1.31	$1.5 \cdot 10^{-7}$	197.2
3.	1.40	$4 \cdot 10^{-7}$	199.4
4.	1.33	$1 \cdot 10^{-6}$	190.8

tableau 11.1 : Conditions opératoires

Il apparaît que le transfert d'oxygène obtenu dans le cas des expériences à forte concentration en glucose-oxydase est supérieur à celui obtenu lorsque la concentration d'enzyme est faible, et ceci indépendamment des différences de volume réactionnel.

La chute finale du signal correspond pour chaque expérience à l'épuisement du glucose dans le milieu réactionnel.

La ligne de base présente une légère diminution entre le début et la fin de l'expérience. L'augmentation de volume devrait au contraire tendre à augmenter le signal de chaleur, en augmentant la puissance d'agitation. Cet effet n'apparaît pas. Le facteur de calibration, qui évolue comme le coefficient global de transfert de chaleur UA, augmente entre le début et la fin de la réaction. Cette augmentation est due à l'accroissement de volume lié à l'adjonction de soude, qui augmente la surface de contact A.

Dans tous les cas, le signal de chaleur, donc le transfert d'oxygène, diminue au cours du temps. Il restera à déterminer ultérieurement si cette décroissance est explicable par la variation des paramètres physiques $k_L a$ et c^* , ou si l'on doit envisager une désactivation de l'enzyme au cours de l'expérience.

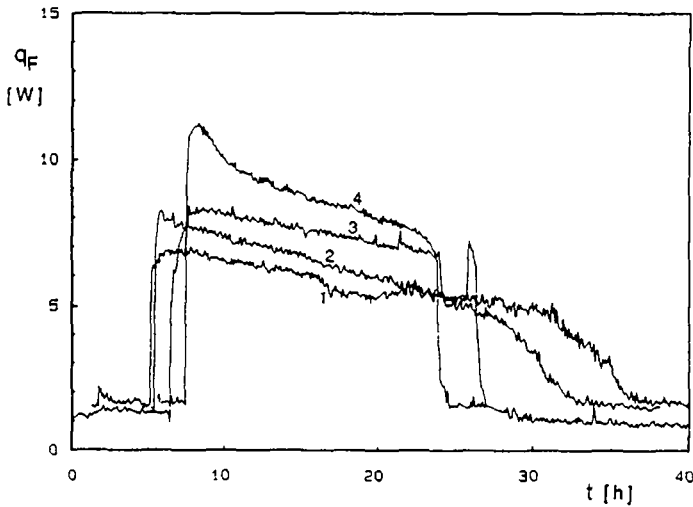


figure 11.2 : Thermogrammes à différentes concentrations d'enzyme

1: $c_E = 1 \cdot 10^{-7}$ M; 2: $c_E = 1.5 \cdot 10^{-7}$ M;

3: $c_E = 4 \cdot 10^{-7}$ M; 4: $c_E = 1 \cdot 10^{-6}$ M

Le thermogramme de l'expérience No 3 présente une chute momentanée du signal de chaleur après environ 25 heures. Cette chute est due à l'arrêt du contrôleur de pH. La diminution brutale de la puissance calorifique dégagée correspond à la contribution des effets de chaleur liés à l'adjonction de soude. Ces effets seront estimés quantitativement dans le cadre du bilan de chaleur global de la réaction. Si l'arrêt du contrôle de pH est maintenu à plus long terme, l'activité de l'enzyme va rapidement décroître, en raison de la baisse du pH. Le signal de chaleur va alors tendre vers 0, sans que le substrat soit entièrement consommé.

Lorsque le contrôleur est remis en fonction, la puissance dégagée augmente à nouveau. Il serait toutefois abusif, dans le cas présent, d'affirmer que le signal retrouve sa valeur antérieure, l'arrêt du contrôleur se trouvant en conflit avec la fin de la réaction.

Il est également à remarquer que le thermogramme de l'expérience **No 4**, qui correspond à une concentration relativement élevée en glucose-oxydase ($1 \cdot 10^{-6}$ M) est quelque peu particulier durant les premières heures de réaction. On remarque en effet une production de chaleur accrue durant cette période.

11.2.2. Rendements de chaleur.

Rendement de chaleur global.

Le bilan de chaleur global, c'est-à-dire entre le début et la fin de la réaction, est établi à titre d'exemple dans le cas de la réaction N°1. Les résultats pour chaque cas sont reportés dans le tableau 11.2.

Le signal de chaleur peut être intégré en supposant une variation linéaire de la ligne de base q_F° entre le début et la fin du thermogramme. On trouve ainsi la chaleur totale dégagée dans le calorimètre Q [kJ] :

$$Q = \int_0^{\infty} q_R(t) dt = 422.5 \text{ kJ}$$

Le rendement de chaleur brut par mole de glucose consommée $Y_{Q/S}$ peut donc être calculé en rapportant cette chaleur au nombre de moles de glucose initialement présentes dans le calorimètre n_S° [mol] :

$$n_S^\circ = \frac{c_S^\circ \cdot V_L^\circ}{180.2} = \frac{190.8 \cdot 1.33}{180.2} = 1.356 \text{ mol}$$

$$\Rightarrow Y_{Q/S} = \frac{Q}{n_S^\circ} = \frac{422.5}{1.356} = 311.6 \text{ kJ/mol}$$

Ce rendement de chaleur est supérieur, en valeur absolue, à l'enthalpie de réaction théorique estimée au chapitre 3.2.2, qui est de -261 kJ/mol, en raison des effets de chaleur liés à l'adjonction de soude concentrée dans le milieu réactionnel. Ces effets ont été quantifiés au chapitre 11.1.5; la chaleur Q_1 introduite, par gramme de solution de NaOH à 40% , est de 0.447 kJ/g.

Sachant que dans ce cas, 139.9 g de soude à 40 % ont été nécessaires, la contribution Q_1 peut être estimée à :

$$Q_1 = 139.9 \cdot 0.447 = 62.5 \text{ kJ}$$

La part Q_R de la chaleur Q due effectivement à la réaction d'oxydation s'exprime donc :

$$Q_R = Q - Q_1 = 422.5 - 62.5 = 360.0 \text{ kJ}$$

Le rendement de chaleur de la réaction $Y_{Q/S}^r$ égal en valeur absolue à l'enthalpie de réaction, vaut maintenant :

$$Y_{Q/S}^r = \frac{360.0}{1.356} = 265.5 \text{ kJ/mol}$$

Le rendement de chaleur par mole d'oxygène consommée peut être calculé stoechiométriquement :

$$Y_{Q/O} = 2 \cdot 311.6 = 623.2 \text{ kJ/mol}$$

$$Y_{Q/O}^r = 2 \cdot 265.5 = 531 \text{ kJ/mol}$$

	Q [kJ]	n_S^o [mol]	$Y_{Q/S}$ [kJ/mol]	NaOH 40 % [g]	$Y_{Q/S}^r$ [kJ/mol]	$Y_{Q/O}^r$ [kJ/mol]
1	422.5	1.356	311.6	139.9	265	531
2	424.5	1.434	296.0	143.3	251	502
3	442.0	1.549	285.3	- -	- -	- -
4	424.3	1.408	301.3	152.5	253	506

tableau 11.2 : Rendements globaux

La valeur moyenne de $Y_{Q/S}$ est de 298 kJ/mol, et correspond stoechiométriquement à une valeur moyenne de $Y_{Q/O}$ de 597 kJ/mol.

La valeur moyenne pour $Y_{Q/O}^r$ est de 513 kJ/mol ($\pm 3\%$). Cette dernière valeur coïncide bien avec la valeur théorique de 522 kJ/mol (-2%), calculée au chapitre 6. Le bilan enthalpique est ainsi bouclé de manière satisfaisante.

Rendement de chaleur $Y_{Q/S}$ en cours de réaction.

Contrairement au cas de l'oxydation du sulfite, l'oxydation enzymatique du glucose en acide gluconique ne se déroule pas au cours d'une réaction unique, dont la stoechiométrie est invariable. Le glucose est tout d'abord oxydé en gluconolactone, qui est ensuite hydrolysée en acide gluconique. Les rendements en cours de réaction ont alors leur importance. Ils ne sont développés ici, à titre d'exemple, que dans le cas de l'expérience No 1.

La chaleur intégrée $Q(t)$ par rapport au nombre de moles de glucose consommées Δn_S donne une droite de pente $Y_{Q/S}$, comme le montre la figure 11.3.

Le rendement $Y_{Q/S}$ obtenu dans le cas de l'expérience No1 est de **316 kJ/mol**, ce qui est légèrement supérieur au rendement global de **312 kJ/mol**, calculé précédemment. Cette déviation semble systématique, puisque la fonction $Q(\Delta n_S)$ (figure 11.3) est bien linéaire, mais présente un léger offset négatif à l'origine. Cet effet est probablement dû à une estimation systématiquement trop faible de la concentration en glucose, en raison de la réaction dans les échantillons durant le temps d'analyse.

Le rendement global est donc plus précis et c'est celui-ci qui sera utilisé ultérieurement pour le calcul du transfert d'oxygène.

Par ailleurs, la fonction Q semble décrire l'avancement de la réaction mieux que ne le fait l'analyse du glucose. Le glucose résiduel peut être calculé à chaque instant à partir du thermogramme $q_F(t)$ par :

$$n_S(t) - n_S^0 = 1 - \frac{\int_0^t q_R(t') dt'}{\int_0^\infty q_R(t') dt'} = 1 - \frac{Q(t)}{Q(t=\infty)}$$

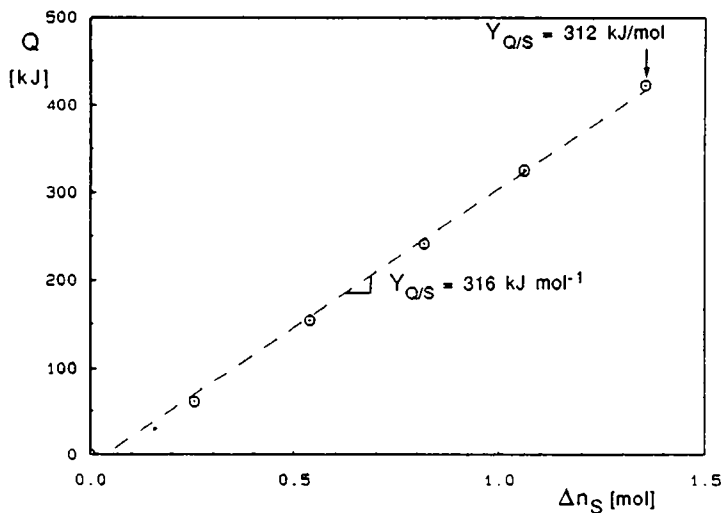


figure 11.3 : Chaleur intégrée par rapport au substrat consommé

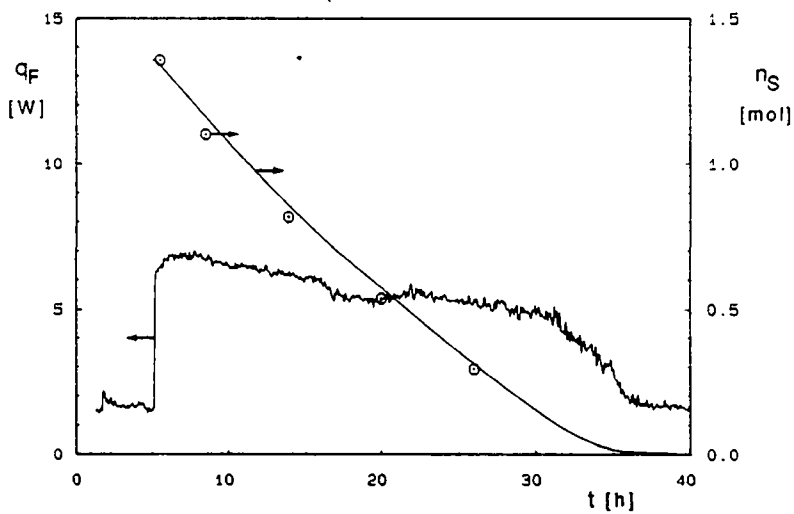


figure 11.4 : Estimation de la concentration de sulfite à partir de la chaleur intégrale; les points représentent les titrages

Le calcul de $n_S(t)$ dans le cas de l'expérience No 1 est reporté sur la figure 11.4, ainsi que le thermogramme correspondant. Les points expérimentaux sont calculés à partir des analyses et tiennent compte de la dilution du milieu par la soude.

Rendement de produit $Y_{P/S}$ en cours de réaction.

Le nombre de moles d'acide gluconique formées est donné par le nombre de moles de NaOH n_{OH} ajoutées au milieu durant la réaction. L'expérience No 1 est à nouveau présentée comme exemple.

n_{OH} est reporté sur la figure 11.5 par rapport aux moles de glucose consommées Δn_S . La relation obtenue est linéaire, mais présente un fort offset négatif à l'origine, d'où un rendement apparent $Y_{P/S}$ de 1.1 mol/mol. Le rendement final de 1.03 mol/mol est par contre cohérent; son écart à l'unité est dû à l'imprécision sur la concentration de NaOH.

L'offset à l'origine peut signifier que la consommation de soude, liée à la production d'acide gluconique par hydrolyse de la gluconolactone, se déroule avec un certain retard sur la formation de cette dernière par oxydation du glucose. Toutefois, il a été mis en évidence plus haut que l'analyse du glucose pouvait être sujette à caution, et ceci dans un sens qui pourrait justifier le phénomène ci-dessus.

Rendement de chaleur $Y_{Q/P}$ en cours de réaction.

Si l'on reporte Q par rapport au nombre de moles de soude ajoutées n_{OH} (figure 11.6), on s'aperçoit que la fonction obtenue est une droite, dont la pente est le rendement $Y_{Q/P}$. Cette droite présente toujours un léger offset à l'origine. La valeur apparente de $Y_{Q/P}$ en cours de réaction est de 295 kJ/mol. Le rendement final est de 302 kJ/mol ; cette dernière valeur dévie également du rendement $Y_{Q/S}$ de 312 kJ/mol en raison de l'imprécision sur la concentration de NaOH.

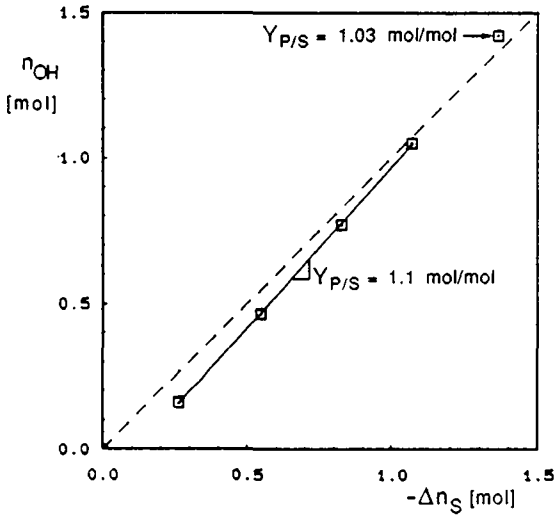


figure 11.5 : Moles de soude ajoutées par rapport au substrat consommé

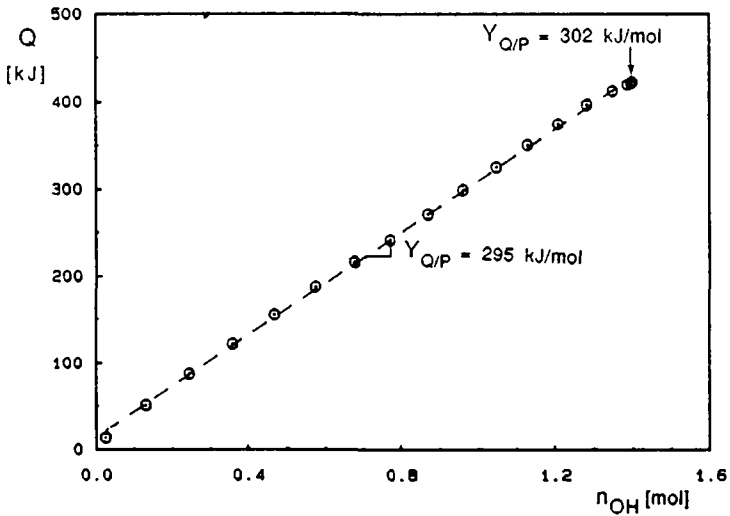


figure 11.6 : Chaleur intégrée par rapport aux moles de soude ajoutées au milieu

Conclusions concernant les rendements.

Les résultats obtenus pour l'expérience No1 prouvent un léger effet de retard de la formation de produit, par rapport à la production de chaleur. La consommation de substrat est, par contre, simultanée au dégagement de chaleur. Cet effet a été observé de manière systématique lors de l'utilisation de la réaction d'oxydation du glucose en glucose-oxydase.

Toutefois, le léger retard de la consommation de soude, vu son importance limitée, relève plus d'une curiosité que d'un véritable problème pour l'exploitation de la réaction, tant que la concentration instantanée de gluconolactone qui en résulte n'atteint pas une valeur suffisante pour inhiber l'activité de la glucose-oxydase [40].

Les rendements en cours de réaction ne sont pas présentés dans le cas des autres expériences. Ils ne sont numériquement pas précis, en raison de la concentration non-exacte de la solution de soude. Ils mettent qualitativement en évidence le même effet de retard de la formation de produit.

De manière générale, le rendement $Y_{Q/S}$ lie mieux la chaleur dégagée à la stoechiométrie de la réaction que le rendement $Y_{Q/P}$. $Y_{Q/S}$ est constant au cours de la réaction et est estimé le plus précisément par bilan global, connaissant la quantité initiale de substrat et la chaleur dégagée. Il donne accès stoechiométriquement au rendement $Y_{Q/O}$, l'oxygène étant consommé simultanément au glucose.

11.2.3. Calcul de OTR.

Le transfert d'oxygène OTR [mol s^{-1}] peut être estimé à chaque instant à partir du thermogramme par la relation :

$$\text{OTR} = \frac{q_R}{Y_{Q/O}}$$

où $Y_{Q/O}$ est le rendement global, comprenant l'effet de chaleur dû à l'adjonction de soude, et est donné par :

$$Y_{O_2/O} = 2 Y_{O_2/S}$$

Contrairement au cas de l'oxydation du sulfite, la détermination de OTR par bilan de gaz, à partir de la concentration d'oxygène dans le gaz de sortie du réacteur, n'est pas possible. Pour les faibles valeurs de OTR mesurées dans ce chapitre, l'erreur sur la détermination de OTR par bilan gazeux est supérieure à 10 % (figure 3.12).

11.2.4. Evaluation du $k_L a$.

De manière similaire à ce qui a été fait dans le cas de l'oxydation du sulfite, le $k_L a$ peut être calculé à partir de la relation :

$$OTR = k_L a V_L (c^* - c_L) \quad 11.1$$

Dans le cas particulier, c^* n'est quasiment pas modifié par les faibles valeurs de OTR mesurées. On peut donc écrire la relation 11.1 comme :

$$OTR = k_L a V_L c^* (1 - \Gamma)$$

Le volume V_L est connu à chaque instant, à partir du volume de soude ajoutée.

La concentration c^* ne dépend plus de la composition du gaz, mais dépend du facteur de Henry. Ce facteur a été déterminé au chapitre 8.2, dans le cas de milieux correspondant à la composition du milieu réactionnel en début et en fin de réaction. Les valeurs suivantes y sont données :

$$\begin{aligned} \text{Début de réaction : } & H = 1027 \text{ l at mole}^{-1} \\ \text{Fin de réaction : } & H = 1326 \text{ l at mole}^{-1} \end{aligned}$$

La variation du coefficient de Henry est supposée linéaire entre le début et la fin de la réaction.

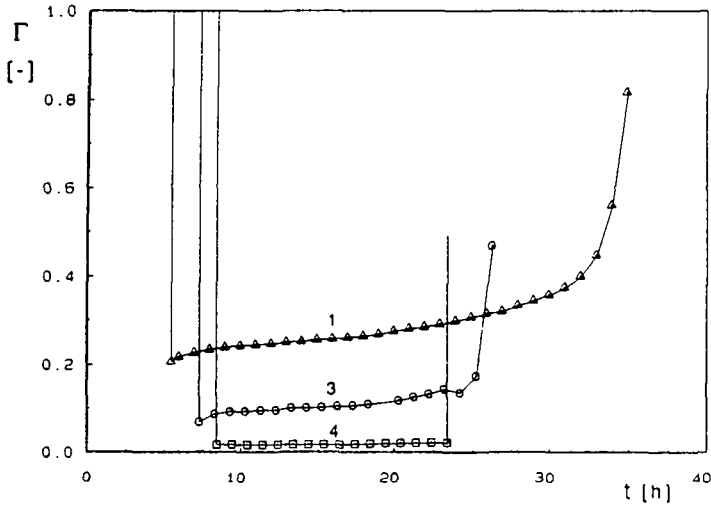


figure 11.7 : Signal de la sonde à oxygène
 1: $c_E = 1 \cdot 10^{-7}$ M; 3: $c_E = 4 \cdot 10^{-7}$ M; 4: $c_E = 1 \cdot 10^{-6}$ M;

Le signal Γ est enregistré tout au long de l'expérience, pour les expériences 1, 3 et 4 et est donné sur la figure 11.7. Cette information manque dans le cas de l'expérience No 2, en raison d'une défectuosité de la sonde à oxygène.

11.2.5. Comparaison avec les valeurs physiques.

Mesure physique du $k_L a$.

La valeur du $k_L a$ a été déterminée par la méthode de la pente, décrite au chapitre 4.

Dans le cadre des conditions opératoires décrites plus haut ($V_L/V_G = 27$; 1.3 s^{-1}), le facteur de correction F_G , pour une valeur propre mesurée d'environ 0.03 s^{-1} , vaut **1.01**

On peut donc admettre, avec une faible erreur, que la valeur propre λ déterminée par la méthode de la pente est égale au $k_L a$.

Les valeurs mesurées du coefficient $k_L a$ sont les suivantes :

Début de la réaction : $k_L a = 33 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$

Fin de la réaction : $k_L a = 29 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$

Ces valeurs sont des valeurs moyennes, sur une dizaine de mesures et pour les différentes expériences. La dispersion des mesures est de l'ordre de $2 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. L'ordre de grandeur a été contrôlé par la méthode statique.

Il n'y a pas d'évolution significative du $k_L a$ d'une expérience à l'autre, ce qui signifie que la concentration de glucose-oxydase n'influence pas le $k_L a$, pour les limites de concentration dans lesquelles elle a été utilisée. De plus, la mesure du $k_L a$ initial, avant et après adjonction de catalase, montre qu'il n'est pas non plus influencé par la présence de cette seconde enzyme.

Comparaison des $k_L a$.

Il s'avère que les $k_L a$ expérimentaux sont systématiquement supérieurs aux $k_L a$ obtenus par la méthode physique. Le $k_L a$ expérimental $k_L a^{\text{exp}}$ contient donc un facteur d'accélération E, dont la nature reste à déterminer et il doit s'écrire comme :

$$k_L a^{\text{exp}} = E \cdot k_L a$$

Ce facteur peut être calculé à chaque instant et est reporté sur la figure 11.8, pour les expériences 1, 3 et 4. On voit que le facteur d'accélération est approximativement constant au cours de l'expérience, sauf dans le cas d'une haute concentration en glucose-oxydase. Les valeurs de départ élevées du facteur E dans ce cas correspondent au pic initial observé sur le thermogramme. Il semble par ailleurs augmenter avec la concentration d'enzyme.

Le transfert OTR donné par l'équation 11.1 doit être réécrit comme :

$$\text{OTR} = E k_L a V_L (c^* - c_L)$$

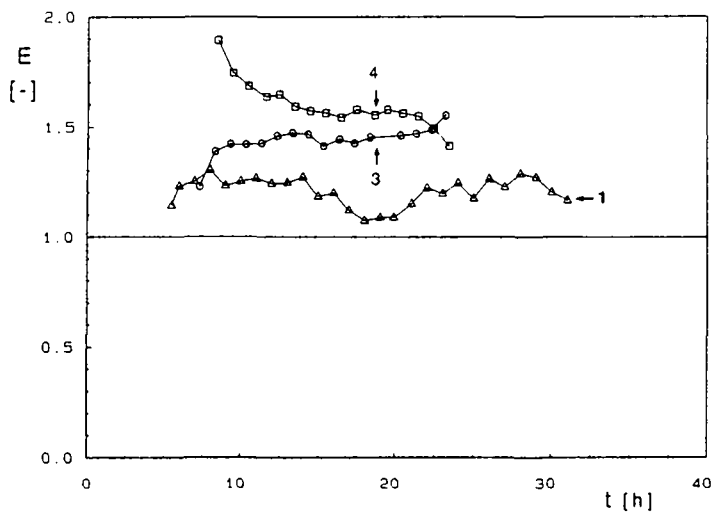


figure 11.8 : Facteur d'accélération E en fonction du temps
 1: $c_E = 1 \cdot 10^{-7}$ M; 3: $c_E = 4 \cdot 10^{-7}$ M; 4: $c_E = 1 \cdot 10^{-6}$ M;

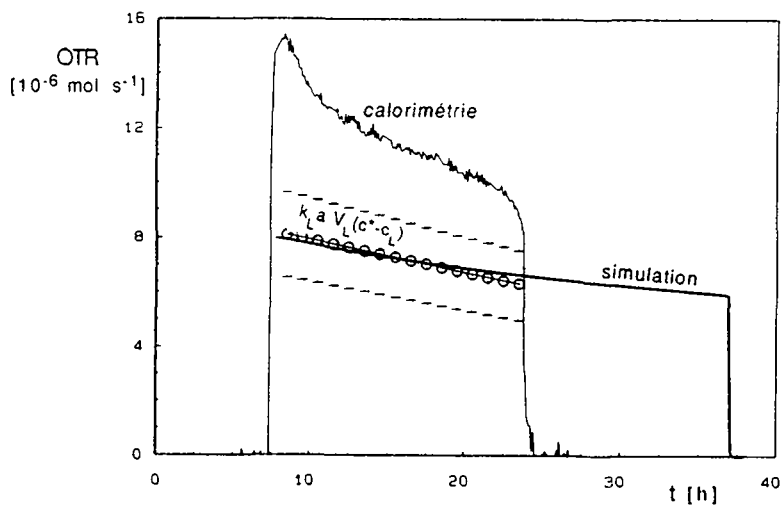


figure 11.9 : Transfert OTR en fonction du temps; par la calorimétrie;
 par $k_L a V_L (c^* - c_L)$ et par simulation avec le modèle du chapitre 5.2

A titre d'exemple sont reportés sur la figure 11.9, dans le cas de l'expérience No 4, les deux termes OTR et $k_L a V_L (c^* - c_L)$, où $k_L a$ est la valeur physique. Les valeurs des paramètres en début et en fin de réaction sont reportées dans le tableau 11.3, ainsi que leur précision.

	$k_L a$ [s ⁻¹]	H [at l mol ⁻¹]	c^* [M]	V_L [l]
Début de réaction	33 10 ⁻³	1027	1.95 10 ⁻⁴	1.33
Fin de réaction	29 10 ⁻³	1326	1.51 10 ⁻⁴	1.48
Précision	3 10 ⁻³	50		0.1

tableau 11.3 : Précisions et valeurs des paramètres, en début et en fin de réaction

La précision des paramètres physiques, donnée dans le tableau 11.3, est fortement pessimiste. L'intervalle de confiance qui en résulte est indiqué sur la figure 11.9. On voit que cette estimation pessimiste ne suffit pas à boucler le bilan d'oxygène. La différence observée est donc bien significative.

Il est également intéressant de comparer le signal OTR obtenu par calorimétrie au signal OTR obtenu par intégration du modèle pseudo-stationnaire développé au chapitre 5.2, à l'aide des paramètres physiques utilisés dans le présent chapitre et des constantes cinétiques déterminées au chapitre 8.3. Le résultat de cette simulation est également reporté sur la figure 11.9 et représente le signal OTR attendu sans phénomène d'accélération.

11.3. Expériences complémentaires.

Afin de cerner la nature du facteur d'accélération mis en évidence, il est nécessaire d'effectuer quelques expériences complémentaires.

Il convient notamment de déterminer quelle est la valeur du facteur d'accélération pour des concentrations en glucose-oxydase plus faibles encore et notamment s'il est possible d'obtenir un facteur E égal à 1 pour une concentration d'enzyme suffisamment faible.

11.3.1. Basses concentrations de glucose-oxydase.

L'expérience No 5 a donc été réalisée, dans les conditions suivantes :

V_L^0 :	1.32 litre	
c_S^0 :	188.2 g/l	
GOD:	$1.5 \cdot 10^{-8}$ M	au début de l'expérience
	$5 \cdot 10^{-8}$ M	après 20 heures

La figure 11.10 montre le signal de chaleur obtenu, ainsi que le signal de la sonde à oxygène, normalisé de 0 à 1. L'adjonction supplémentaire de glucose-oxydase au temps $t=20$ h est nettement visible sur les deux signaux. L'expérience a été interrompue après 40 h.

Deux hypothèses ont été admises pour le calcul du facteur d'accélération, à savoir :

1. Le rendement de chaleur $Y_{Q/S}$ est le même que dans le cas des expériences No 1 à 4. La valeur admise est la valeur moyenne de 298 kJ/mole.
2. La variation des paramètres physiques $k_L a$ et c^* est supposée proportionnelle à la variation de la concentration de glucose en solution. Cette concentration est calculée à chaque instant à partir de la quantité de soude ajoutée au milieu.

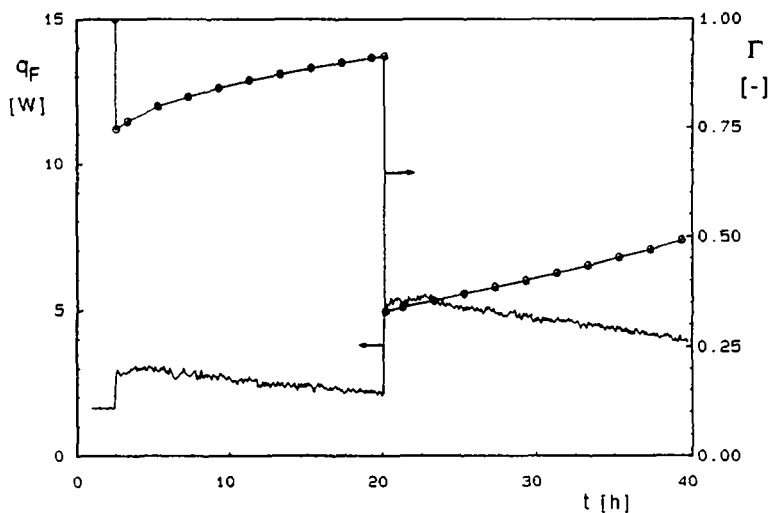


figure 11.10 : Thermogramme et signal de la sonde lors de l'expérience N° 5

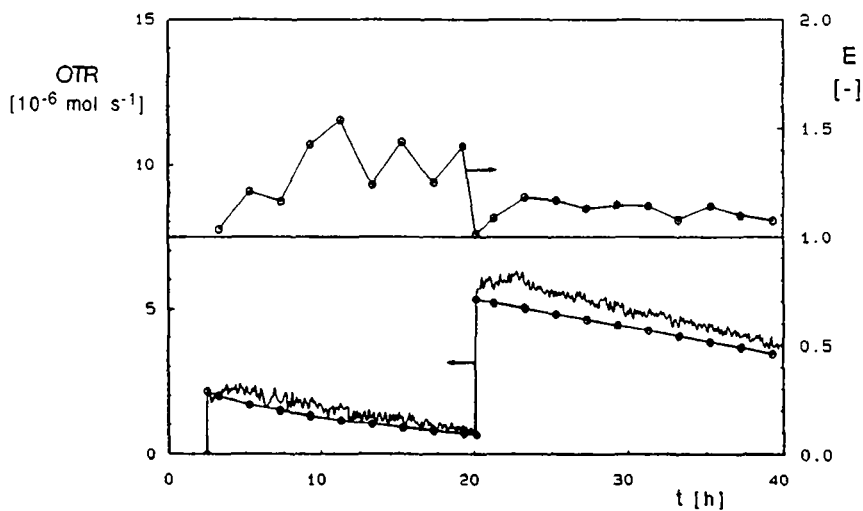


figure 11.11 : OTR et facteur d'accélération dans le cas de l'expérience N° 5

t [h]	m _{OH} [g]	c _S [g/l]	k _L a [s ⁻¹]	H [l at/mole]	c* [M]
0	0	188.2	33·10 ⁻³	1027	1.95·10 ⁻⁴
20	19	161	32·10 ⁻³	1072	1.87·10 ⁻⁴
40	96	54.3	30·10 ⁻³	1239	1.62·10 ⁻⁴

tableau 11.4 : Paramètres physiques utilisés dans le cadre de l'expérience N° 5

La figure 11.11 présente le facteur d'accélération E, ainsi que les deux termes de l'équation 9.30 : OTR et $k_L a c^*(1-\Gamma)$. On voit que, malgré les faibles concentrations de glucose-oxydase mises en oeuvre, le facteur d'accélération est toujours supérieur à l'unité. En ce qui concerne la première partie du thermogramme (t > 20 h), la valeur de E est très imprécise, la différence entre les deux termes de l'équation 9.30 étant de l'ordre de grandeur du bruit de fond causé par le signal de chaleur. La tendance d'une certaine accélération semble toutefois confirmée.

Les valeurs moyennes de E sur le temps sont reportées sur la figure 11.13 en fonction du logarithme de la concentration de glucose-oxydase, ainsi que les facteurs d'accélération obtenus au chapitre précédent. Mis à part le point obtenu pour la concentration d'enzyme la plus faible, pour lequel la valeur de E est sujette à caution, ces valeurs moyennes présentent une dépendance approximativement linéaire. La déviation standard est également reportée pour chaque point. Elle est particulièrement élevée dans le cas de l'expérience No 4 ; la variation du facteur d'accélération au cours du temps n'est d'ailleurs pas aléatoire dans ce cas.

11.3.2. Effet du pH.

Une dernière expérience (N° 6) a été réalisée, dans le but de mettre en évidence une éventuelle dépendance du facteur d'accélération en fonction du pH de travail. Les conditions suivantes ont été utilisées:

V _L ^o :	1.31 litre
c _S ^o :	185.4 g/l
GOD:	5·10 ⁻⁷ M

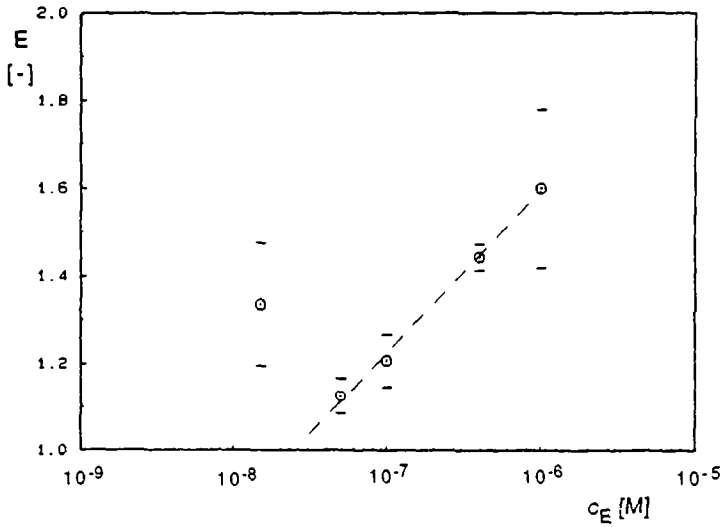


figure 11.12 : Facteur d'accélération en fonction de la concentration de GOD; les traits horizontaux indiquent la dispersion au cours du temps

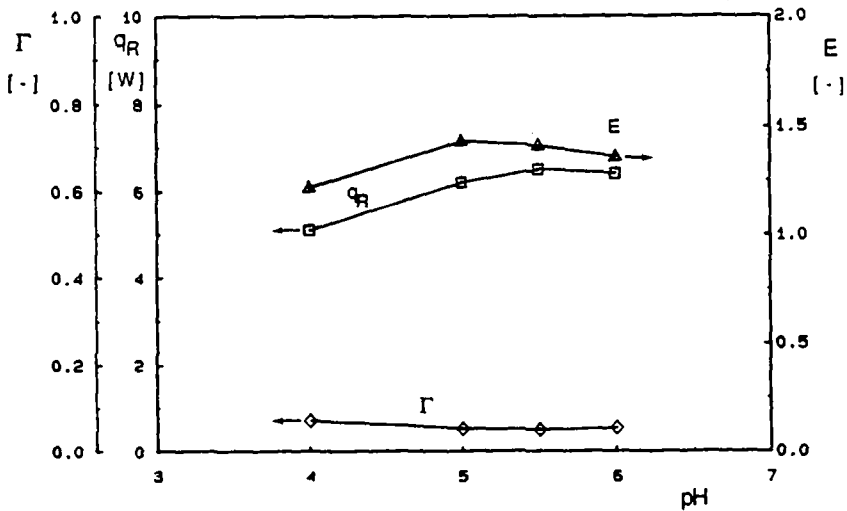


figure 11.13 : Signaux expérimentaux moyens et facteur d'accélération, en fonction du pH

Le pH initial est de 6.00. Après stabilisation des signaux de chaleur et de la sonde pO_2 , une valeur moyenne pour chacun de ces deux signaux est estimée. La consigne du contrôleur de pH est ensuite modifiée.

Les hypothèses faites quant à la variation des constantes physiques au cours de la réaction et le rendement de chaleur brut sont les mêmes que celles développées dans le cadre du traitement de l'expérience No 5.

Les valeurs des paramètres physiques qui en découlent, ainsi que les signaux moyens mesurés pour chaque valeur de pH, sont reportés dans le tableau 11.5.

pH	m_{OH} [g]	H [l at mole ⁻¹]	$k_L a$ [10 ⁻³ s ⁻¹]	V_L [l]	Γ [-]	q_R [W]	E [-]
6.00	0	1026	33	1.31	0.054	6.4	1.35
5.50	10	1056	33	1.32	0.050	6.5	1.40
5.00	20	1086	32	1.32	0.052	6.2	1.42
4.00	30	1116	32	1.33	0.071	5.1	1.21

tableau 11.5 : Facteur d'accélération en fonction du pH

Les valeurs moyennes pour le signal de chaleur q_R et pour le signal de la sonde Γ , ainsi que le facteur d'accélération qui en découle sont reportés sur la figure 11.13.

On voit que le facteur d'accélération est approximativement constant pour des valeurs de pH entre 5 et 6. Il diminue par contre à pH 4. Il n'est pas possible de travailler à un pH inférieur à 4, car l'activité de l'enzyme chute drastiquement.

11.4. Discussion des résultats.

11.4.1. Facteur d'accélération.

Il a été montré qu'il existe un phénomène d'accélération du transfert de matière, par rapport au transfert physique mesuré à l'aide d'une sonde pO_2 , dans le cas de l'oxydation du glucose par la glucose-oxydase.

Le nombre de Hatta a été calculé en détail au chapitre 5.2. Pour la plage de concentration d'enzyme testée dans ce travail, le nombre de Hatta est toujours inférieur à 0,5, de telle sorte qu'une accélération par la réaction, au sens où l'entendent les théories de Danckwerts ou Astarita, semble exclue dans ces conditions.

A titre d'exemple, les facteurs d'accélération calculés pour une concentration de glucose-oxydase de $5 \cdot 10^{-7}$ M (expérience N°6) sont de l'ordre de 1.4. Le nombre de Hatta qui justifierait une pareille accélération du transfert vaut environ 1. La présence de la glucose-oxydase ne saurait, vu son importance quantitativement limitée, justifier une modification suffisante d'un paramètre physique comme le coefficient de diffusion ou le coefficient de transfert k_L .

Dans le cas de l'expérience N°6, la valeur du coefficient k_L devrait être de l'ordre de $0.3 \cdot 10^{-4}$ ms⁻¹ pour justifier un nombre de Hatta suffisant.

De plus, il faut se souvenir que les nombres de Hatta calculés au chapitre 5.2 supposent une cinétique de premier ordre, ce qui a comme conséquence une surestimation du nombre de Hatta. La cinétique réelle de type Michaelis-Menten a tendance à limiter le phénomène d'accélération. La présence d'un tel phénomène est donc encore moins probable qu'elle n'apparaît dans le calcul ci-dessus.

L'hypothèse la plus probable est la présence d'une concentration d'enzyme à l'interface gaz-liquide. Il est connu [5] que les protéines, en raison de leurs divers substituants, certains polaires, certains apolaires, peuvent présenter un effet tensioactif plus ou moins marqué. Un des premiers effets manifestes de la diminution de la tension superficielle est la tendance du liquide au moussage.

Or, dans le cas de la glucose-oxydase, une forte production de mousse est observée au moment de l'adjonction de l'enzyme au milieu qui, pourtant, contient déjà au préalable une concentration de protéines non-négligeable, sous la forme de catalase. On est donc en droit d'attribuer à la glucose-oxydase une forte action tensioactive.

La diminution de l'énergie de surface, dans le cas des protéines, est liée à la localisation des molécules à l'interface gaz-liquide, où les divers substituants polaires et apolaires peuvent être stabilisés de manière optimale. La molécule s'oriente donc de manière à

conserver les groupes polaires en direction du liquide, alors que les groupes apolaires sont orientés vers la phase gazeuse. Cette disposition s'accompagne d'une distorsion de la molécule, qui peut alors perdre une partie de son activité catalytique.

Il est donc raisonnable d'observer une diminution du signal de chaleur plus importante au cours de la réaction que celle prévue par la diminution des paramètres physiques du transfert (figure 11.9)

La présence d'un facteur d'accélération n'est pas liée aux concentrations élevées de glucose utilisées dans le cadre de ce travail. Ceci a été montré à l'IGC par Rallis [50], dans le cadre de son travail de diplôme. Celui-ci a notamment testé la méthode de l'oxydation enzymatique du glucose pour la mesure du $k_L a$ dans un réacteur de 30 litres, à une concentration de glucose de 50 g/l.

Les résultats de Rallis laissent supposer l'existence d'un facteur d'accélération de l'ordre de 2, ce qui est supérieur encore aux valeurs obtenues dans ce travail. La présence d'un effet d'accélération n'est donc pas liée à la concentration de glucose.

11.4.2. Evaluation de la méthode de la glucose-oxydase.

L'utilisation de l'oxydation enzymatique du glucose par la glucose-oxydase pour la détermination du $k_L a$ fournit des résultats surestimés de la capacité d'aération, en raison de la localisation probable de l'enzyme à l'interface gaz-liquide.

Il est vrai que, dans certains cas, des micro-organismes sont connus pour manifester une activité de surface qui accélère le transfert, par leur localisation préférentielle au voisinage de l'interface [5]. On ne peut donc affirmer que la mesure de la capacité de transfert par la méthode de la glucose-oxydase n'est pas représentative de milieux de fermentations.

Toutefois, dans ce type de cultures microbiennes, la nature et l'importance du phénomène d'accélération dépendent certainement du système et des conditions de mise en oeuvre. Une bonne méthode chimique de caractérisation du transfert d'oxygène devrait donc être indépendante de ce genre de phénomène, afin de fournir une valeur de référence fiable.

12. Cultures d'*Aspergillus niger*.

Une souche mutante d'*Aspergillus niger* NRRL 3 (fournie par "Institut für Gärungsgewerbe und Biotechnologie", TU Berlin) a été utilisée dans le cadre de ce travail. Productrice de glucose-oxydase en fortes quantités, cette moisissure est capable de transformer le glucose en acide gluconique avec un rendement élevé.

Son application est intéressante à deux points de vue. Premièrement, l'utilisation de la fermentation gluconique a été proposée comme une méthode alternative pour la détermination du transfert d'oxygène [64]. D'autre part, elle met en oeuvre in vivo la même réaction enzymatique que celle étudiée dans le cadre de ce travail.

Ce chapitre n'a pas la prétention de faire une étude exhaustive des problèmes de transfert d'oxygène liés à la croissance d'*Aspergillus niger*, mais uniquement de présenter une application des principes développés précédemment.

La mise en oeuvre d'*A.niger* dans le calorimètre s'est avérée particulièrement difficile, notamment en raison de la tendance de la biomasse à se concentrer localement dans le réacteur, rendant les phénomènes de transfert particuliers à chaque culture. La concentration de biomasse obtenue par filtration n'est, par exemple, représentative que de la biomasse en suspension et non de la biomasse totale. On ne sait également pas si la biomasse immobilisée contre les parois du réacteur est encore active.

De plus, *A.niger* présente une affinité marquée pour la membrane de la sonde pO_2 , qu'elle couvre rapidement d'une couche de biomasse, rendant la mesure non-représentative du milieu liquide. Sans le signal de la sonde, il n'est plus possible de calculer le $k_L a$ à partir du transfert d'oxygène OTR.

Ces diverses limitations font que les essais sur *A.niger* n'ont pas été poursuivis au-delà des premiers essais présentés ci-dessous.

12.1. Mise en oeuvre de la souche.

12.1.1. Milieux de croissance.

Le milieu de croissance industriel est un milieu complexe à base d'extrait de maïs ("cornsteep liquor"), de son de froment et de farine de maïs. Reuss et al. [53] préconisent un milieu complexe simplifié (milieu I), dont la composition est la suivante :

<u>Milieu I :</u>	
glucose :	200 g/l
"Cornsteep liquor" :	4 g/l
MgSO ₄ ·7H ₂ O :	0.21 g/l
KH ₂ PO ₄ :	0.21 g/l
(NH ₄) ₂ PO ₄ :	0.4 g/l
urée :	0.11 g/l

Le "Cornsteep liquor" (CSL) est une source de protéines et d'oligoéléments; le rôle de l'urée n'est pas connu.

Un deuxième milieu (milieu II) a été utilisé. Il s'agit d'un milieu synthétique, semblable au milieu de Reuss (milieu I), mais sans CSL. Ce milieu a été utilisé par différents auteurs, souvent supplémenté d'une solution de sels métalliques. Le milieu III se compose du milieu II, auquel est ajouté 1 ml d'une solution dont la composition est la suivante :

FeSO ₄	6 g/l
ZnSO ₄	3 g/l
CuSO ₄	6 g/l
MnSO ₄	2 g/l

12.1.2. Conditions opératoires.

Les conditions opératoires ont été en partie déterminées par les expériences préliminaires qui sont présentées ultérieurement, au chapitre 12.1.5.

Température :	30 °C ± 0.2
Débit d'air :	4.1 NI/mn, dans un cas 5.1 NI/mn , distribué au moyen d'un anneau perforé en acier inoxydable.
Agitation :	La vitesse d'agitation est fixée dans tous les cas à 500 mn ⁻¹ .
Equipement :	Les chicanes équipant le réacteur sont supprimées, afin d'éviter une croissance localisée du mycélium qui s'y accroche.
pH :	Le pH est maintenu à une valeur de consigne de 5.5 ± 0.05 à l'aide de NaOH 40% (14.2 M) par un contrôleur automatique.
Volume liquide :	de 1.32 à 1.40 litre
Glucose :	200 g/l au début de l'expérience
Inoculation :	2 ml de suspension contenant 1·10 ⁸ spores/ml

12.1.3. Préparation de la culture.

Stérilisation.

Le milieu, sauf le glucose, est stérilisé in situ. Le glucose, stérilisé séparément afin de limiter la dégradation par la réaction de Maillard, est ensuite ajouté stérilement au milieu.

Régulation de pH.

Le pH de croissance optimal de 5.5 doit être contrôlé en cours de culture par adjonction de NaOH 40%. La régulation du contrôleur de pH est particulièrement délicate. Si le gain du régulateur est trop élevé (les volumes de soude injectés sont importants) le signal de chaleur est fortement perturbé. Si le gain est trop faible, des dérives du pH sont observées.

Inoculation.

Le calorimètre est inoculé par une suspension de spores, de concentration connue par comptage sur une cellule Thomas. Les spores sont récoltées sur une culture en tube incliné et conservées à -20°C , dans une solution de glycérol 30%.

12.1.4. Traitement des thermogrammes.

Les niveaux des lignes de base (q_F^0) des thermogrammes dépendent de la composition du milieu. Seuls les signaux de chaleur q_R , obtenus après soustraction de la ligne de base, sont donnés sur les figures, afin de faciliter les comparaisons.

La ligne de base présente généralement une légère augmentation entre le début et la fin de la culture. Cette évolution est supposée linéaire, ce qui n'introduit pas une grande erreur, son importance étant limitée.

12.1.5. Essais préliminaires.

Des essais préliminaires dans un fermenteur de laboratoire (type KLF 2000, Bioengineering AG, Wald CH) de 1.5 l ont permis de définir les conditions de mise en oeuvre dans le calorimètre, en mettant en évidence plusieurs points :

- L'agitation ne doit pas dépasser certaines limites, sans quoi aucune croissance n'est observée. La souche semble donc être particulièrement sensible aux tensions de cisaillement à l'intérieur du liquide. On souhaite d'autre part assurer une aération aussi élevée que possible du réacteur. La valeur de 500 mn^{-1} paraît être un bon compromis pour cette taille de réacteur. 1 ml d'antimousse (Polypropylène glycol PP2000, Fluka AG, Buchs CH) doit être ajouté.
- Dans le cas où le réacteur est inoculé par une préculture de mycélium à l'état filamentueux de taille macroscopique, il apparaît que celui-ci a rapidement tendance à s'accrocher aux aspérités du réacteur et à croître de manière localisée, sous forme d'un agglomérat. La seule solution pour obtenir une culture homogène à l'échelle du réacteur - durant un certain

temps, du moins - est d'inoculer le fermenteur au moyen de spores. L'inoculum peut de plus être reproductible, en préparant une suspension de spores, dont on prélève un échantillon comme inoculum; le temps de latence est par contre plus long.

- L'aération a été fixée durant les essais préliminaires à 2 vvm. Une alimentation en oxygène pur s'est avérée toxique pour les microorganismes, puisqu'aucune croissance n'a été observée dans ce cas après 20 heures de culture.
- On a observé dans tous les cas une forte tendance de la biomasse à se localiser contre la paroi, au niveau de la surface du liquide, particulièrement en fin de culture, de même que sur toutes les surfaces inertes dans le réacteur (chicanes particulièrement). Les valeurs de la biomasse obtenues par filtration ne sont donc pas significatives de la quantité de biomasse formée dans le réacteur. Elles peuvent difficilement être comparées d'une culture à l'autre et ne peuvent que servir, au cours d'une même culture, à mettre en évidence la localisation de la biomasse.

12.2. Calorimétrie de cultures limitées en azote.

12.2.1. Description des thermogrammes.

Cinq cultures sont tout d'abord présentées, numérotées chronologiquement de 1 à 5. Les thermogrammes obtenus, de même que les concentrations de biomasse, de substrat et de produit obtenues par analyse des échantillons, sont reportés sur les figures 12.1 à 12.5. Les conditions de mise en oeuvre propres à chaque expérience sont les suivantes :

Expérience N° 1

- milieu complexe I
- Le débit d'air est augmenté de $4 \text{ Nm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ à $5 \text{ Nm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, au temps $t = 23$ heures.
- Le pH chute à 3 à $t = 30$ heures, puis rétabli à 5.5

Expérience N° 2

- milieu complexe I, mais sans supplémentation de $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$

Expérience N° 3

- milieu synthétique II, avec $0.4 \text{ g/l } (\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$

Expérience N° 4

- milieu synthétique III, avec $0.4 \text{ g/l } (\text{NH}_4)_2\text{PO}_4 + 0.01 \text{ M NaCl}$

Expérience N° 5

- milieu synthétique III, avec $0.4 \text{ g/l } (\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$

Discussion des thermogrammes.

Si l'on compare les thermogrammes des expériences N° 3 et 5, on constate une certaine similitude de forme. On constate néanmoins une augmentation rapide du signal de chaleur de l'expérience N° 3 aux environs du temps $t = 32$ heures, coïncidant avec une diminution de la biomasse en suspension. Parallèlement, la biomasse est plus stable durant l'expérience N° 5, alors que le signal de chaleur atteint un palier.

Le niveau de la biomasse en suspension n'est pas comparable d'une culture à l'autre. Dans le cas de l'expérience N° 5, les échantillons de milieux sont filtrés, lavés, puis lyophilisés, alors que dans le cas de l'expérience N° 3, ils sont simplement séchés à l'étuve, et la procédure de lavage est plus sommaire. Au cours d'une même culture, la concentration de biomasse met néanmoins en évidence la localisation de cette dernière au cours de la culture.

Il est raisonnable de penser que l'entraînement à la surface de la biomasse est lié à une diminution de viabilité, voire une lyse, qui aurait comme conséquence la libération dans le milieu de glucose-oxydase, jusqu'alors intracellulaire. Il est normal que la réaction extracellulaire augmente le transfert, d'une part en levant la limitation due au transfert dans le mycélium, et d'autre part par la possibilité d'activation du transfert à l'interface par l'enzyme libre, comme décrit au chapitre 11. La seule différence entre les deux expériences 3 et 5 est la supplémentation du milieu en sels métalliques dans le cas de l'expérience N° 5.

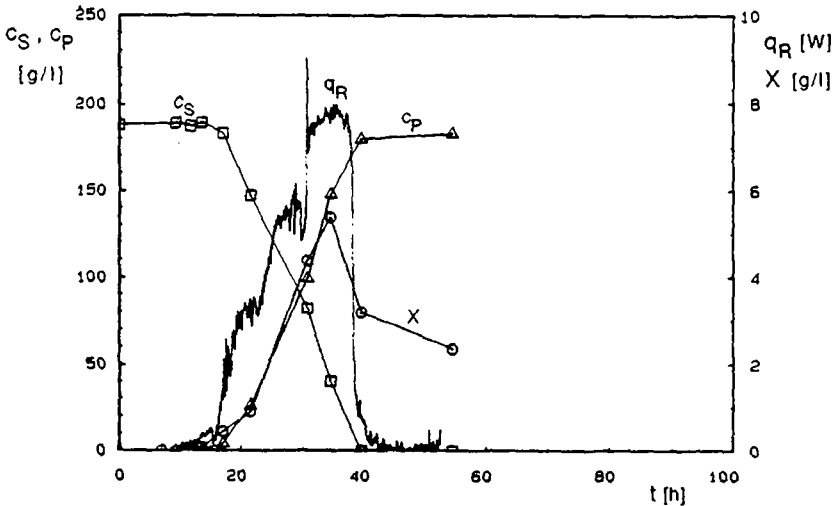


figure 12.1 : Culture No1, thermogramme

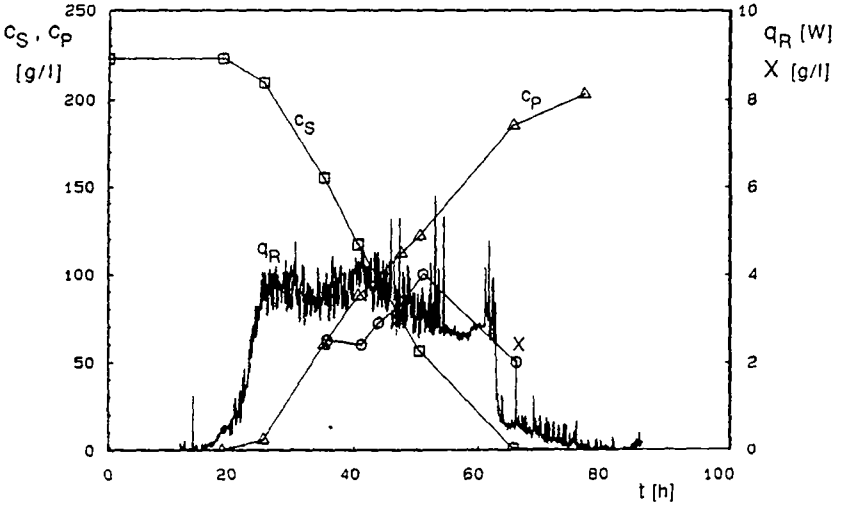


figure 12.2 : Culture No2, thermogramme

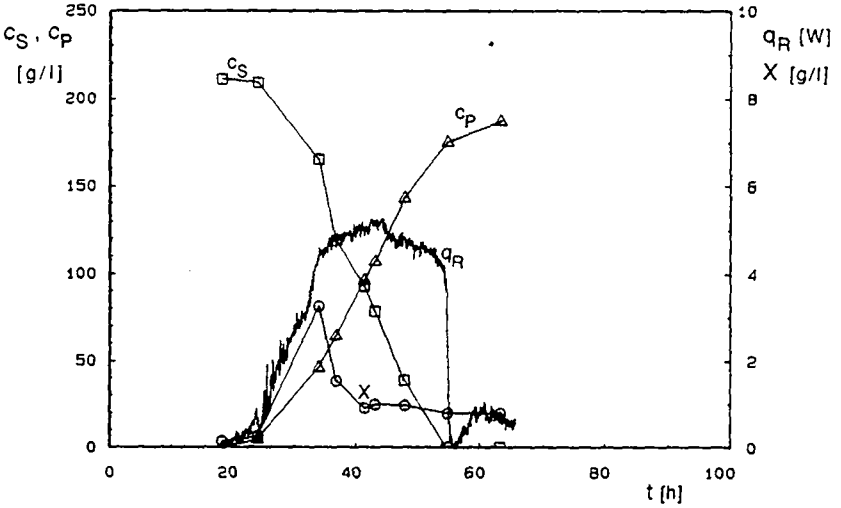


figure 12.3 : Culture No3, thermogramme

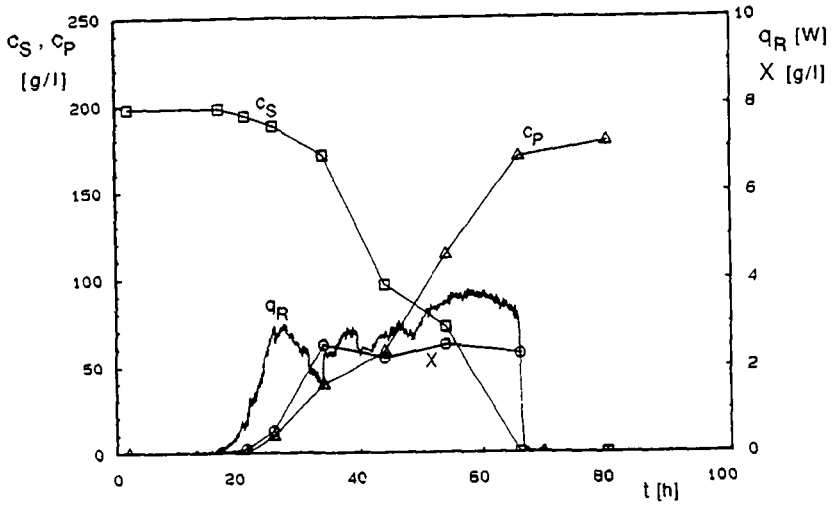


figure 12.4 : Culture No4, thermogramme

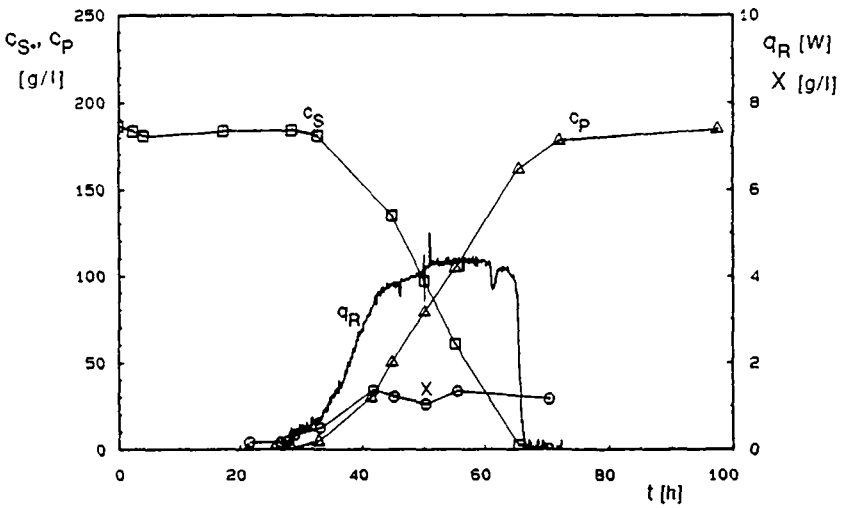


figure 12.5 : Culture No5, thermogramme

Le thermogramme N° 2 (figure 12.2) confirme cette approche. Il ne présente pas de diminution importante de la biomasse en suspension et présente un signal dont le niveau est comparable à celui de l'expérience N° 5 et relativement constant. Le bruit de fond important est dû au mauvais réglage du contrôleur de pH, réglage qui est corrigé vers la fin de la culture.

Le thermogramme N° 4 présente l'effet de la présence de chlorure dans le milieu. Le Cl⁻ est un fort inhibiteur de la glucose oxydase. Le signal obtenu est en effet plus faible. Le creux dans le signal au temps t = 33 heures est dû à une dérive du pH à une valeur de 3.1, suite à un mauvais fonctionnement du contrôleur de pH. Après rétablissement d'un contrôle correct, le signal reprend sa valeur.

Le thermogramme N° 1 débute de manière similaire aux thermogrammes N° 3 et 5. Le débit d'air est augmenté de 1 Nm³.h⁻¹ au temps t = 23 heures, provoquant une augmentation du signal de chaleur. Au temps t = 30 heures, le pH de la culture a diminué de manière accidentelle (problèmes de contrôle) à une valeur de 3.2. La remise en fonctionnement normal du contrôleur provoque une augmentation importante du signal de chaleur, qui coïncide avec une forte diminution de la biomasse en suspension. Il est probable qu'une lyse importante a eu lieu, libérant la glucose-oxydase dans le milieu. Il faut remarquer qu'une baisse de pH s'était avérée sans effet sur un milieu synthétique (expérience N° 4).

12.2.2. Rendement de produit

A priori, le glucose est utilisé à trois fins. Une première partie est utilisée dans le processus d'anabolisme pour la constitution du matériel cellulaire. Deuxièmement, une certaine quantité de glucose peut en principe être utilisée par le micro-organisme lors d'un catabolisme de type respiratoire, ou encore menant à la formation d'un métabolite primaire. Dans le cas de la souche utilisée dans ce travail, une troisième partie du glucose est utilisée par la biotransformation en acide gluconique, au moyen de la glucose-oxydase produite par la biomasse. Cette troisième partie doit être fortement majoritaire, au vu des concentrations respectives de biomasse et d'acide gluconique formés. Le rendement en acide gluconique doit donc tendre vers le rendement de la réaction d'oxydation du glucose par la glucose-oxydase.

Généralement, le rendement d'un produit formé, par rapport au substrat consommé au cours d'une culture, est exprimé en divisant la concentration de produit c_P par la concentration de substrat consommée ($c_S^0 - c_S$).

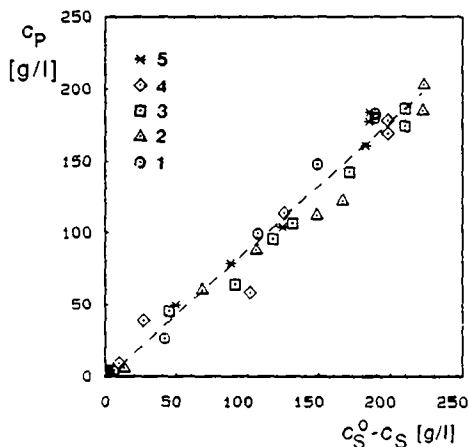


figure 12.6 : Rendement de produit sous forme de rapport de concentrations

Pour les cultures 1 à 5, le rendement $Y_{P/S}$ apparaît sur la figure 12.6 et vaut en moyenne 0.89 g/g, alors que le rendement théorique de la réaction d'oxydation en acide gluconique est de 1.09 g/g. Ni les concentrations de biomasse obtenues, ni le produit secondaire (acide oxalique : de 2 à 3 g/l pour les expériences 1 à 5) ne justifient un rendement aussi faible, qui est essentiellement dû à la dilution du milieu en cours de culture.

Expression d'un rendement corrigé pour les effets de volume.

Le volume de la culture est modifié constamment, pour deux raisons. Premièrement, la prise d'échantillon périodique est relativement importante, pour permettre une estimation de la concentration en biomasse par filtration. Le deuxième effet est la dilution continue de la culture par la solution de NaOH destinée à

contrôler le pH. Dans le cas de la souche étudiée dans ce travail, cet effet est important, en raison de la forte production d'acide gluconique. La dilution finale de la culture est d'environ 10% vol. Dans ces conditions, les deux effets décrits ci-dessus doivent être pris en compte dans l'expression d'un rendement.

La seule manière d'exprimer de manière rigoureuse ce rendement est de calculer à chaque instant le nombre de moles de substrat consommées et de produit formées à l'intérieur du réacteur.

Soit V_L^0 le volume initial de la culture, $V_D(t)$ le volume de soude ajoutée jusqu'au temps t , et V_{Ej} le volume d'échantillon prélevé au temps t_j . Le volume est une fonction discontinue donnée entre t_j et t_{j+1} par :

$$V_L(t) = V_L^0 + V_D(t) - \sum_{j=1}^i V_{Ej} \quad (t_j < t < t_{j+1})$$

L'allure de cette fonction est donnée sur la figure 12.7. Sur la même figure sont esquissés, pour le produit, la concentration c et le nombre de moles n dans le réacteur.

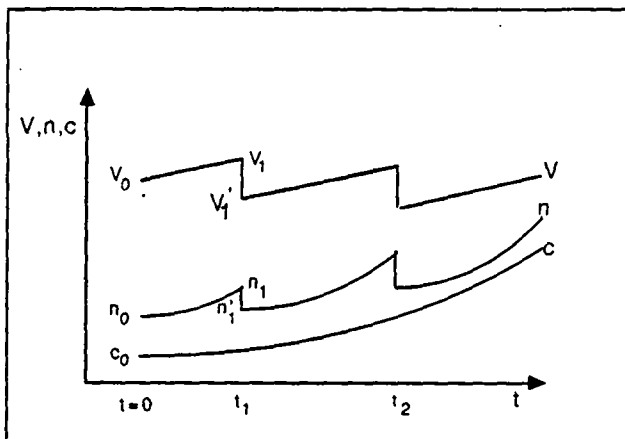


figure 12.7 : Evolution du volume, de la concentration et du nombre de moles de produit dans le réacteur

Le nombre de moles de produit présentes dans le réacteur juste avant la prise d'échantillon i vaut :

$$n_i = c(t_i) \cdot V_L(t_i)$$

Après la prise d'échantillon, ce même nombre de moles vaut :

$$n'_i = c(t_i) \cdot V_{L'}(t_i)$$

Le nombre de moles qui ont quitté le réacteur avec l'échantillon i est donc :

$$\Delta n_{Ei} = n_i - n'_i = c(t_i) (V_L - V_{L'}) = c(t_i) V_{Ei}$$

Le nombre de moles total produit depuis le début de la culture vaut :

$$\Delta n = n'_i - n_0 + \sum_{j=1}^i \Delta n_{Ej}$$

Pratiquement, le volume est estimé à chaque instant par l'acquisition du poids de la solution de soude, et par le volume connu des échantillons.

Le développement est applicable de manière semblable au cas du substrat. Δn_S est alors négatif dans le cadre de cette formalisation.

Le rendement de produit formé par rapport au substrat consommé est alors donné par :

$$Y_{P/S} \text{ [mol/mol]} = - \frac{\Delta n_P}{\Delta n_S}$$

et le rendement pondéral (gramme de produit par gramme de substrat) par :

$$Y_{P/S} \text{ [g/g]} = - \frac{\Delta n_P}{\Delta n_S} \frac{M_P}{M_S}$$

où M_P et M_S [g mol^{-1}] sont respectivement le poids moléculaire du produit et celui du substrat.

Connaissant le volume de la culture à chaque instant, ainsi que les concentrations de substrat et de produit analysées dans les échantillons, il est possible de calculer un rendement $Y_{P/S}$ indépendamment des phénomènes de dilution.

Application.

Rendement global.

Le rendement global brut $Y_{P/S}^{\text{brut}}$, ainsi que le rendement corrigé $Y_{P/S}$ pour les phénomènes de dilution, sont reportés pour chacune des expériences 1 à 5 dans le tableau 12.1. Le rendement $Y_{P/S}$ moyen pour les cultures 1 à 5 est de 1.01 g/g. Le rendement pondéral de la transformation du glucose en acide gluconique vaut, théoriquement, 1.09 g/g. La différence observée par rapport à cette valeur se justifie aisément par la formation de biomasse, de sous-produits comme l'acide oxalique, ainsi que par l'acide gluconique immobilisé dans les amas de biomasse, en fin de culture. Le bilan de carbone est donc bouclé de manière satisfaisante.

	c_S^0 [g/l]	milieu	Q [kJ]	$Y_{P/S}^{\text{brut}}$ [g/g]	$Y_{P/S}$ [g/g]	$Y_{Q/S}$ [kJ/mol]	$Y_{Q/S}^r$ [kJ/mol]
1	189	I	421.8	0.96	1.04	309	270
2	223	I	522.7	0.91	1.00	318	271
3	210	II	446.6	0.89	0.96	287	242
4	198	III + Cl ⁻	426.5	0.90	0.97	295	250
5	184	III	420.8	1.00	1.08	320	270

tableau 12.1 : Rendements globaux

Rendement en cours de culture.

La figure 12.8 a) montre, en cours de culture et à titre d'exemple, la concentration de produit formée par rapport à la concentration de substrat consommée, dans le cas de la culture No 5. La droite représente le rendement théorique de 1.09 g d'acide gluconique par gramme de glucose.

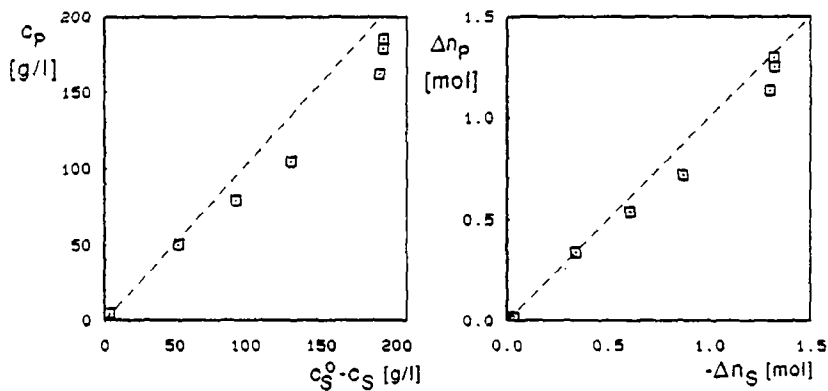


figure 12.8 : Exemple d'application d'un rendement corrigé pour les effets de dilution

a : Rendement sous forme de concentrations
b : Rendement molaire corrigé

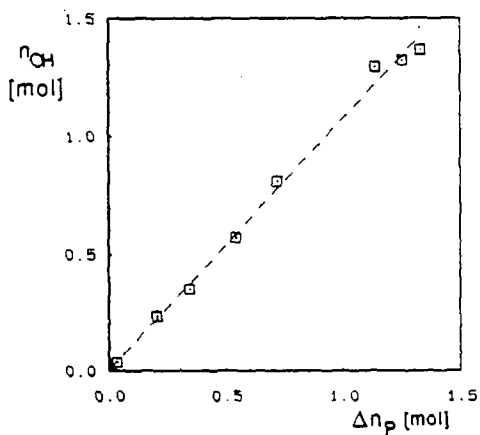


figure 12.9 : Bilan de neutralisation de l'acide gluconique par NaOH

La distribution des points suggère un retard de la production d'acide par rapport à la consommation de glucose, retard qui se comble à l'épuisement du substrat. Le point représentant l'état du système en fin de culture donne un rendement de 1.00 g/g, soit le 92 % du rendement théorique. La figure 12.8 b) montre l'application d'un bilan molaire tenant compte des phénomènes de dilution. La présence d'un retard subsiste, bien qu'atténuée, et le rendement en fin de culture est de 0.99 mol d'acide gluconique par mol de glucose.

On constate par ailleurs sur la figure 12.9 que la quantité de NaOH ajoutée est égale à la quantité d'acide formée; le bilan de neutralisation est donc bien vérifié.

12.2.3. Rendements de chaleur.

Le rendement de chaleur apparent $Y_{Q/S}$ (figure 12.10), obtenu en reportant la chaleur intégrée en fonction de la concentration de glucose consommée, est en moyenne de 2.19 kJ g⁻¹, soit 282 kJ/mol, pour les cultures 1 à 5, et montre une relation linéaire en cours de culture entre la chaleur et la consommation de substrat.

Ce rendement est lui aussi influencé par les phénomènes de dilution, puisque seule une partie du glucose initialement présent dans le réacteur (de l'ordre de 90 %) est effectivement consommée par la réaction. La valeur, corrigée pour les effets de dilution, du rendement $Y'_{Q/S}$ est donné dans le tableau 12.1 pour les cultures 1 à 5. Sa valeur moyenne est de 306 kJ/mol (± 4 %).

Connaissant l'enthalpie de neutralisation de l'acide gluconique à pH 5.5 (déterminée au chapitre 11.1.5), il est possible de déduire, au rendement obtenu, la contribution de la chaleur de neutralisation (0.47 kJ par gramme de solution de NaOH 40%). Le rendement $Y'_{Q/S}$ est ainsi calculé, de manière similaire à ce qui a été réalisé dans le cas de la réaction de l'enzyme libre (chapitre 11.2.2). La valeur moyenne de $Y'_{Q/S}$ de 259 kJ/mol est proche de la valeur obtenue dans le cas de la réaction de l'enzyme libre, montrant que les phénomènes liés à la croissance sont négligeables dans le bilan enthalpique de la culture.

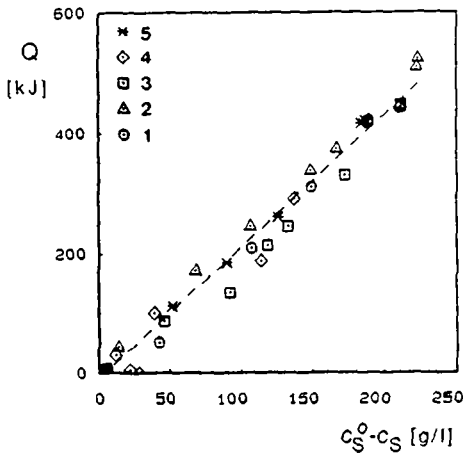


figure 12.10 : Chaleur intégrée par rapport au substrat consommé

Le rendement $Y_{Q/O}^r$ moyen de 517 kJ/mol peut donc être calculé stoechiométriquement. Ce rendement est lui aussi proche des valeurs prévues au chapitre 6 (522 kJ/mol).

Bilan de chaleur en cours de culture.

A titre d'exemple, dans le cas de la culture No 5, la correction pour les effets de dilution fait apparaître (figure 12.11 a) un rendement $Y_{Q/S}$ constant au cours de la réaction, qui vaut 320 kJ/mol.

Le rendement de chaleur par rapport au produit formé $Y_{Q/P}$ met en évidence le retard de la production d'acide gluconique par rapport à la consommation de glucose (figure 12.11 b). La production de chaleur est donc bien liée à la phase de consommation de glucose et non à la production ultérieure d'acide gluconique.

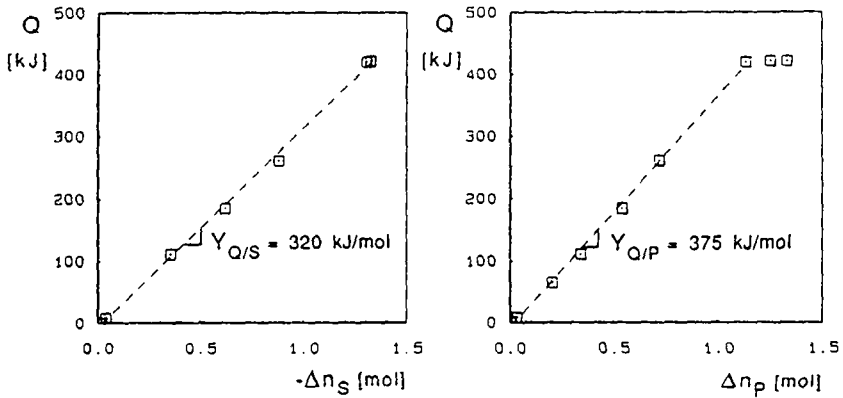


figure 12.11 : Rendements de chaleur corrigés pour les effets de dilution
 a : Chaleur intégrée par rapport au substrat consommé
 b : Chaleur intégrée par rapport au produit formé

12.2.4. Bilan d'oxygène.

La figure 12.12 présente les fonctions OTR, calculées sur la base des thermogrammes des expériences N° 3 et 5. En trait-tillé sont reportés, pour le milieu en début et en fin de culture, la capacité maximale de transfert d'oxygène dans le milieu OTR^{\max} , en début et en fin de culture. OTR^{\max} correspond au transfert OTR maximal, c'est-à-dire lorsque $c_L = 0$, et peut être calculé sur la base des mesures physiques réalisées dans les mêmes milieux (sans biomasse toutefois). Ces valeurs sont données dans le tableau 11.3. OTR^{\max} peut ainsi être estimé par :

$$OTR^{\max} = k_L a c^* V_L$$

On peut ainsi calculer les valeurs suivantes :

début de culture : $OTR^{\max} = 9.04 \cdot 10^{-6} \text{ mol s}^{-1}$
 fin de culture : $OTR^{\max} = 6.25 \cdot 10^{-6} \text{ mol s}^{-1}$

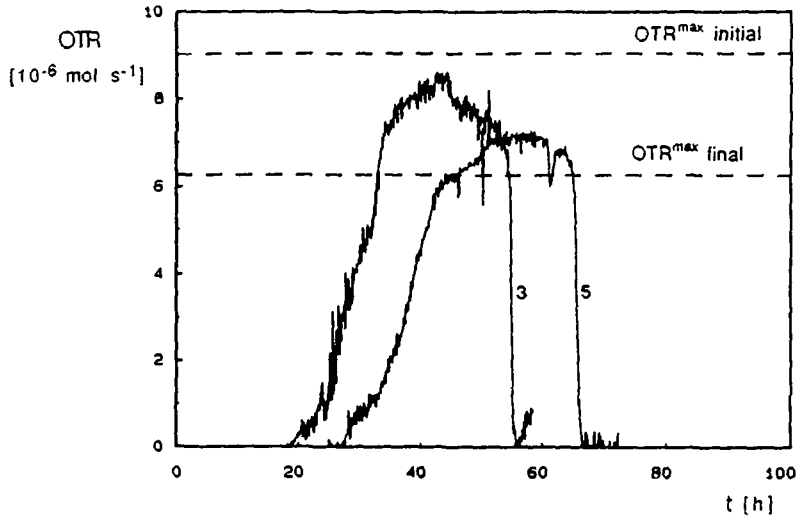


figure 12.12 : OTR(t) pour les cultures N°S 3 et 5

On constate que seule la culture N° 3 semble utiliser cette capacité maximale. C'est une raison de plus de supposer la présence d'enzyme extracellulaire. La culture N° 5 utilise pleinement la capacité maximale en fin de culture seulement, ce qui peut être lié à la sécrétion progressive de glucose-oxydase dans le milieu.

Quant aux cultures N° 2 et 4, leur signal OTR se situe en permanence en-dessous du signal correspondant à la capacité maximale de transfert. Elles ne sont donc pas limitées par l'apport d'oxygène.

12.3. Calorimétrie d'une culture sans limitation d'azote.

Il est possible d'obtenir de plus hautes concentrations de biomasse en levant la limitation du milieu en azote.

Une culture a été réalisée sur milieu complexe III avec 10 g/l de $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$. La figure 12.13 présente les résultats de cette culture. La biomasse en suspension est croissante sur quasiment toute la durée de la culture; la croissance n'est donc pas limitée par la source d'azote.

Le thermogramme présente une diminution du signal de chaleur aux environs de la 55ème heure, due à une dérive du contrôle de pH.

12.3.1. Formation d'acide oxalique.

La concentration finale d'acide gluconique est plus faible que dans les cas précédents. On a par contre détecté par HPLC la présence en fin de culture d'acide oxalique. L'acide oxalique est un produit connu du métabolisme d'*A. niger*, qui apparaît en principe lorsque le rapport carbone/azote est faible dans le milieu de croissance, et qui peut, dans le cas de la souche sauvage, exclure complètement la production d'acide gluconique dans ces conditions. En ce qui concerne la souche mutante utilisée dans ce travail, la suppression totale de la production d'acide gluconique ne semble pas possible, ce qui serait néanmoins un cas de figure intéressant, puisque la transformation de glucose en acide oxalique est thermodynamiquement très différente de sa transformation en acide gluconique.

En effet, le degré de réduction de l'acide oxalique vaut 1. Son coefficient Q_D^P (chapitre 6) est de 123 kJ/eq.-e⁻ [55] ($\epsilon_p=0.0696$). Conformément aux relations du chapitre 6.2.2, avec un rendement $Y_{P/S}$ de 1.54 g/g, les rendements de chaleur deviennent :

$$\begin{aligned} Y_{Q/O} &= 452 \text{ kJ/mol} \\ Y_{Q/S} &= 339 \text{ kJ/C-mol} = 2034 \text{ kJ/mol} \end{aligned}$$

Ceci a essentiellement deux conséquences :

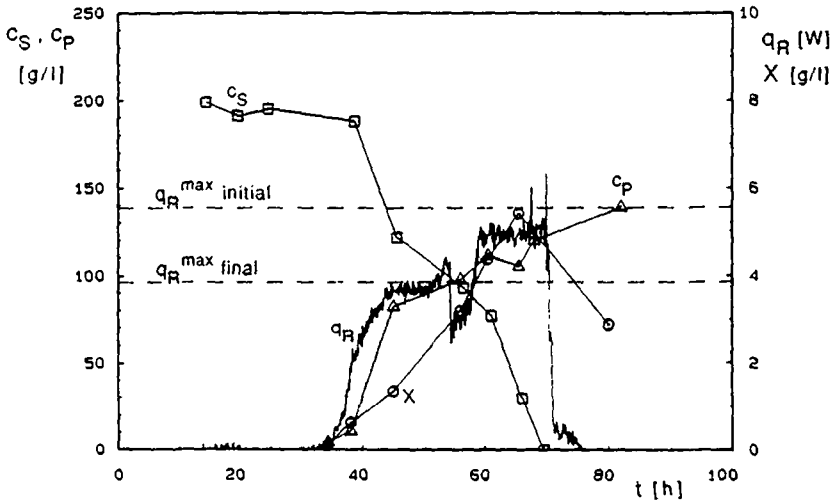


figure 12.13 : Croissance non-limitée en azote; thermogramme

Premièrement, le rendement de chaleur par mole d'oxygène consommée est inférieur si l'oxygène est consommé pour la transformation en acide oxalique, que si l'oxygène est consommé pour la transformation en acide gluconique. Si de l'acide oxalique est produit, la capacité maximale d'aération du réacteur correspond donc à un signal de chaleur plus faible que dans le cas où seul de l'acide gluconique est formé.

Deuxièmement, le rendement de chaleur par mole de glucose consommé est par contre fortement supérieur dans le cas de la transformation en acide oxalique. L'intégration du signal de chaleur de la figure 12.13 donne en effet une chaleur totale dégagée durant la culture de 480 kJ, ce qui correspond à un rendement $Y_{Q/S}$, corrigé pour les effets de dilution, de 347 kJ/mol. Cette valeur est supérieure aux valeurs obtenues précédemment.

12.3.2. Bilan d'oxygène

De manière plus accentuée encore que ce qui a été constaté dans le cas de concentrations en biomasse plus faibles, le signal de chaleur montre que le transfert d'oxygène ne reflète pas la capacité maximale de transfert d'oxygène du réacteur.

Sur la figure 12.13 est reporté le signal q_R^{\max} , correspondant au transfert OTR^{\max} défini précédemment. q_R^{\max} est le signal de chaleur maximum qui peut être dégagé, dans le cas où la capacité de transfert est exploitée pleinement et qui correspond également au cas où $c_L=0$. Cette valeur évolue (comme OTR^{\max}) en cours de culture avec les paramètres caractéristiques du transfert.

Durant la première partie de la culture (entre 40 et 50 heures), le signal de chaleur est inférieure de 30% environ à cette valeur, alors que, vers la fin de la culture (entre 60 et 70 heures), elle est supérieure de 40% environ. La formation d'acide oxalique ne justifie d'ailleurs pas d'obtenir un signal de chaleur plus élevé en fin de culture. Au contraire, si l'oxygène transféré servait exclusivement à la formation d'acide gluconique, ce signal de chaleur serait plus élevé encore .

Il est donc probable que, comme précédemment, le transfert est dans un premier temps limité par la diffusion dans le mycélium, puis la réaction devient progressivement extracellulaire avec l'excrétion de l'enzyme.

12.4 Conclusions concernant l'utilisation d'*A. niger*.

En l'absence du signal mesurant l'oxygène dissous, il n'est pas possible d'exprimer le $k_L a$. On a montré de plus que le transfert d'oxygène peut être passablement variable suivant la qualité du milieu et les événements en cours de culture et que, en tous les cas, il ne reflète en général pas la capacité maximale de transfert du réacteur. En effet, le transfert est soit limité par les problèmes de transfert où la quantité de biomasse insuffisante, soit activé par la présence d'enzyme extracellulaire. Le transfert observé n'est donc en aucun cas représentatif de la capacité de transfert d'oxygène du réacteur.

Il a également été montré que les bilans, aussi bien les bilans de carbone que les bilans enthalpiques établis sur la culture, ne font apparaître que la stoechiométrie et l'enthalpie de la biotransformation du glucose en acide gluconique.

On ne parvient pas non plus à mettre en évidence, à partir de la forme des thermogrammes, un dégagement de chaleur lié à une activité autre que la formation d'acide gluconique. La fermentation de cette souche d'*A.niger* n'est donc pas un bon système pour la mise en évidence calorimétrique de la formation de produit, simultanément à la production de biomasse.



13. Conclusions.

Le travail réalisé amène divers types de conclusions qui se classent selon les quatre directions essentielles du travail, décrites dans l'introduction, au chapitre 1.2, et schématisées sur la figure 1.1.

Une première direction concerne les divers systèmes consommateurs d'oxygène étudiés et les informations nouvelles sur leur comportement en cours de réaction, acquises au cours de ce travail grâce à la calorimétrie.

Le deuxième point concerne les modèles développés au chapitre 5 et d'une manière plus générale, la compréhension théorique du système et des effets des paramètres.

Le troisième point est en rapport avec l'aspect thermochimique, notamment la relation entre la chaleur observée et la stoechiométrie de la réaction.

Le dernier point est constitué par la comparaison des méthodes physiques d'estimation du $k_L a$, dont le point central est le développement de la méthode de la pente.

13.1. Les systèmes consommateurs d'oxygène.

13.1.1. Oxydation du sulfite.

Il a été montré dans ce travail que les problèmes de cinétique mal reproductible, rencontrés par différents auteurs, ne sont pas liés uniquement à la présence de facteurs ponctuels, variables d'une expérience à l'autre, comme la présence d'impuretés catalytiques. La calorimétrie montre que la cinétique varie dans des proportions importantes au cours d'une même réaction.

Ces variations de la vitesse de réaction ont un effet limité à basse concentration de catalyseur, permettant alors la mesure du $k_L a$. La mesure précise de ce paramètre doit tenir compte de la concentration d'oxygène dissous, qui peut être différente de 0.

A haute concentration de catalyseur, la vitesse instable de la réaction peut conduire à des erreurs importantes lors du calcul de l'aire interfaciale, le coefficient cinétique k_f n'étant pas constant au cours du temps.

13.1.2. Oxydation du glucose par la glucose-oxydase.

Les valeurs instantanées de $k_L a$, mesurées par la calorimétrie en cours de réaction, montrent qu'il existe un phénomène d'accélération du transfert d'oxygène, de l'ordre de 20 à 60 % dans les conditions de ce travail. Les facteurs d'accélération observés ne peuvent pas être expliqués, si l'on admet que la glucose-oxydase est répartie de manière uniforme dans le volume liquide.

On suppose donc la présence d'une activité de surface importante de l'enzyme, qui se traduit par une localisation de cette dernière au voisinage de l'interface gaz-liquide. L'importance du phénomène d'accélération dépend de la concentration d'enzyme et du pH et a été observé de manière systématique.

13.1.3. Cultures d'*A.niger*.

On a montré que le rendement de chaleur observé correspond à l'enthalpie de la biotransformation du glucose en acide gluconique. Les chaleurs liées aux phénomènes de croissance ou, de manière générale, liées à une activité métabolique autre que la formation d'acide gluconique sont trop faibles, comparées à l'enthalpie de cette dernière réaction. La croissance d'*A.niger* n'est donc pas un système qui permette de mettre en évidence simultanément la chaleur due à la formation de produit et la chaleur liée à la croissance microbienne.

La mise en oeuvre d'un tel micro-organisme dans le BSC-81 a néanmoins contribué à étendre la palette des micro-organismes testés dans le BSC-81. Les développements apportés à l'appareillage du calorimètre permettent désormais la mesure de signaux de chaleur faibles sur une période de plusieurs jours.

En ce qui concerne la caractérisation du transfert d'oxygène, le $k_L a$ ne peut pas être estimé dans de telles cultures, la concentration c_L n'étant pas connue.

Le transfert OTR n'est pas, lui non-plus, représentatif du réacteur. On observe des différences importantes du transfert d'oxygène en cours de culture, probablement liées à la présence progressive d'enzyme libre dans le milieu. Le niveau du transfert n'est également pas constant d'une culture à l'autre.

Les cultures d'*A.niger* sont donc des systèmes difficiles à mettre en oeuvre, qui n'apportent aucune amélioration par rapport à la réaction enzymatique extracellulaire, pour la caractérisation du transfert d'oxygène.

13.2. Modélisation théorique du phénomène.

Les modèles proposés au chapitre 5 décrivent de manière aussi complète que possible l'évolution du transfert d'oxygène au cours de la réaction, en tenant compte de la cinétique et de l'évolution des paramètres physiques de transfert.

La formulation graphique du bilan d'oxygène en phase liquide permet notamment une meilleure compréhension de l'influence des paramètres sur le niveau du transfert et a grandement contribué, dans la pratique, à la compréhension des résultats expérimentaux.

Appliquée à la méthode du sulfite, la simulation du transfert d'oxygène en régime pseudo-stationnaire, en fonction de la concentration de catalyseur, permet notamment d'expliquer un certain nombre de résultats expérimentaux de la littérature, entre autres l'influence du facteur k_L .

La prise en compte des phénomènes de mélange et d'appauvrissement de la phase gazeuse complète la description théorique du système et permet notamment de prévoir qualitativement une dépendance accrue du transfert d'oxygène en fonction des paramètres physico-chimiques, lorsque le transfert est accéléré par la réaction chimique.

13.3. Thermochimie des réactions d'oxydation.

Le principe de proportionnalité entre la chaleur de combustion d'un composé et sa stoechiométrie de combustion a été formalisé au chapitre 6, notamment l'existence d'un rendement $Y_{Q/O}$ approximativement constant de 460 kJ/mol.

L'effet des déviations à ce rendement constant, lors des combustions respectivement du substrat et du produit, sur le rendement $Y_{Q/O}$ d'une réaction d'oxydation a été décrit dans le même chapitre.

Les chaleurs observées, dans le cas de chaque réaction, sont en accord avec les valeurs calculées au chapitre 6 et confirment les effets prévus des écarts à la règle de proportionnalité.

On met ainsi en évidence, de manière formelle et de manière expérimentale que, malgré que la combustion du substrat et celle du produit suivent la règle de proportionnalité, la réaction d'oxydation du substrat en produit peut conduire à des rendements de chaleur qui dévient notablement de cette règle.

De manière générale, la règle de proportionnalité entre la chaleur dégagée par une réaction d'oxydation et l'oxygène consommé est suivie si le rendement $Y_{O/S}$ est important. Ce rendement est directement lié à la différence entre le degré de réduction du substrat et celui du produit. Cette condition est naturellement satisfaite dans le cas d'une combustion qui implique une forte consommation d'oxygène du point de vue stoechiométrique. Dans le cas d'une oxydation partielle du carbone, comme l'oxydation du glucose en acide gluconique, les déviations sont plus importantes, mais sont prévisibles.

13.4. Mesure physique du $k_L a$.

Des essais effectués à l'aide de différentes méthodes utilisant la sonde pO_2 , il ressort que toutes ces méthodes sont limitées, dans leur application, à la mesure de $k_L a$ modérés, typiquement inférieurs à $150 \cdot 10^{-3} s^{-1}$. La méthode statique offre une plage de mesure qui paraît supérieure (jusqu'à $200 \cdot 10^{-3} s^{-1}$), mais est particulièrement laborieuse.

L'utilité des méthodes chimiques semble donc être indéniable pour l'estimation de hautes capacités de transfert.

La méthode de la pente, développée théoriquement au cours de ce travail, subit les mêmes limitations que les autres méthodes physiques. Elle a néanmoins prouvé qu'elle pouvait mesurer de manière efficace le $k_L a$ dans le cas d'un réacteur de 30 litres, lorsque les incertitudes liées à la dynamique de la phase gazeuse hypothèquent fortement l'utilisation de la méthode des moments.

La méthode de la pente est limitée de manière intrinsèque par le temps de réponse de la sonde pO_2 utilisée. Par contre, étant peu dépendante du hold-up gazeux et la dynamique de la phase gazeuse en général, elle donne des mesures correctes du $k_L a$ dans des situations où la méthode des moments est déjà limitée par ces phénomènes. Dans le cas de $k_L a$ modérés, la méthode de la pente permet une mesure fiable, plus précise et plus rapide que celle obtenue par les autres méthodes pO_2 .

13.5. Perspectives.

En ce qui concerne la caractérisation du transfert d'oxygène, une méthode chimique alternative pour l'estimation du $k_L a$ est encore à proposer. Ce travail a essentiellement contribué à remettre en question les méthodes existantes, il n'en propose pas de nouvelles. Il a par contre mis en place une méthode d'évaluation performante, qui pourrait être utilisée de manière analogue à d'autres réactions.

Il serait par exemple intéressant de tester la méthode de l'oxydation de l'hydrazine, citée au chapitre 3.2, qui devrait selon son auteur fournir des valeurs de $k_L a$ caractéristiques d'un milieu non-coalescent.

D'autres systèmes biologiques forts consommateurs d'oxygène peuvent être envisagés; les souches du genre *Acetobacter* sont un exemple intéressant. Capables d'oxyder le glucose en acide gluconique ou encore l'éthanol en acide acétique, elles présentent en outre des taux de croissance de l'ordre de 0.2 h^{-1} , ce qui devrait de plus en faire un système intéressant pour la mise en évidence, par calorimétrie, de la formation de produit, parallèlement à la croissance microbienne.

Au niveau des systèmes comme les cellules immobilisées dans des billes d'alginate, la mesure du dégagement de chaleur est une mesure instantanée de l'activité métabolique et peut permettre d'étudier les limitations dues au transfert de matière, notamment de l'oxygène, au sein des volumes d'alginate.

D'un point de vue plus large, les applications de la calorimétrie à flux de chaleur réalisées au cours de ce travail préparent d'autres voies intéressantes. Pour la première fois, une réaction enzymatique a été mise en oeuvre dans le BSC-81. La mise en évidence de l'activité enzymatique par calorimétrie est certainement un domaine qui offre des perspectives intéressantes, dans le cadre de l'étude des phénomènes de régulation notamment.

Dans une autre direction, la calorimétrie des cultures mycéliennes, dont le dégagement de chaleur est limité, supposent une qualité du signal calorimétrique et une stabilité à long terme qui ont été acquises au cours de ce travail. La cinétique de production de métabolites secondaires (antibiotiques par exemple), dont l'importance économique est évidente, est également une application à long terme du BSC-81.

Bibliographie.

- [1] Aiba S., Kobayashi K., (1971)
Biotech. & Bioeng., **13**, 583.
- [2] Aiba S., Humphrey A.E., Millis N.F. (1973)
"Biochemical Engineering", 174.
Academic Press London, 2nd Ed.
- [3] Aseltine J. , (1964)
"Les méthodes de transformation dans l'analyse des
systèmes linéaires", 133.
Dunod, Paris.
- [4] Astarita G., (1967)
"Mass transfer with chemical reaction"
Elsevier Publishing Co. , Amsterdam.
- [5] Bailey J.E, Ollis D.F. (1977)
Biochemical Engineering Fundamentals, chap. 8.
Mac Graw-Hill, New-York.
- [6] Bandyopadhyay B., Humphrey A.E., Taguchi H., (1967)
Biotech. & Bioeng. **9**, 533.
- [7] Bartholomew W.H., Karow E.O., Staf M.R. (1950)
Ind. Eng. Chem. **42**, 1801.
- [8] Battino R, Clever WL, (1966)
Chem. Rev. **66**, 395.
- [9] Birou B., (1986)
Thèse de doctorat EPFL No 612.
- [10] Bright H.J., Gibson Q.H., (1967)
J. Biol. Chem. **242**, 994.
- [11] Bright H.J., Appleby M., (1969)
J. Biol. Chem. **244**, 3625.
- [12] Calderbank P.H., (1958)
Trans. Inst. Chem. Eng., **36**, 433.

- [13] Calderbank P.H., (1967)
dans "Biochemical and Biological Engineering Science"
Academic Press, N. Blakebrough (ed.) vol. 1, 102.
- [14] Charpentier J.C., (1981)
Dans "Advances in Chemical Engineering", vol. 11
Academic Press, New-York.
- [15] Cordier J.L., Butsch B., Birou B., von Stockar U., (1987)
Appl. Microbiol. Biotechnol. 25, 305.
- [16] Coulson J.M., Richardson J.F., (1965)
"Chemical Engineering", vol.1, 2ème Ed.
Pergamon Press, Oxford.
- [17] Danckwerts P.V., (1970)
"Gaz-liquid Absorption"
Mc Graw Hill, New-York.
- [18] Dang N.D.P., (1976)
J. Ferment. Technol. 54, 396.
- [19] Dang N.D.P., Karrer D.A., Dunn I.J., (1977)
Biotechnology and Bioengineering 19, 853.
- [20] Delaloye M., (1986)
Thèse EPFL No 657.
- [21] Duff G.D.H., Naylor D., (1966)
"Differential Equations of Applied Mathematics"
Wiley & Sons, New-York.
- [22] Duke F.R., Weibel M., Page D.S., (1969)
J. Am. Chem. Soc. 91, 3904.
- [23] Dunn I.J., Einsele A., (1975)
J. Appl. Chem. Biotechnol. 25, 707.
- [24] Fukushima S., Uzama A., Katayama S., (1978)
J. Chem. Eng. Jpn. 11, 227.
- [25] Gestrich W., Pontow B., (1977)
Chem. Ing. Techn. 49, 564.

- [26] Gibson Q.H., Swoboda B.E., Massey V., (1964)
The J. of Biol. Chem. **239**, 3927.
- [27] Giese A.C., (1961)
dans "Cell Physiology"
W.B. Saunders Co., Philadelphie.
- [28] Gram F., Hveding J.A., Reine A., (1973)
Acta Chem. Scand. **27**, 3616.
- [29] Heineken F.G., (1970)
Biotech. & Bioeng. **12**, 145.
- [30] Hikita H., Asai S., (1964)
Intern. Chem. Eng., **4**, 5.
- [31] Hitchman M.L., (1978)
"Chemical Analysis", vol. 49
Wiley, New-York.
- [32] Hoftijzer P.J., van Krevelen D.W., (1948)
21^e congrès Int. Chim. Ind., Bruxelles, 168.
- [33] Hsieh D.P.H., Siver R.S., Mateles R.I., (1969)
Biotech. & Bioeng. **19**, 1.
- [34] Käppeli O., Fiechter A., (1981)
Biotech. & Bioeng. **23**, 1897.
- [35] Karash M.S., (1929)
Bur. Stand. J. Res. **2**, 359.
- [36] Krauss W., Gestrich W., (1977)
Chem. Tech. **6**, 35.
- [37] Lee Y.H., Tsao G.T., (1979)
dans "Advances in Biochemical Engineering" vol. 13
Ghose et Fiechter Ed., Springer Verlag, Berlin.
- [38] Linek V., Vacek V., (1981)
Chem. Eng. Sci. **36**, 1747-1768.

- [39] Linek V., Sobotka M., Prokop A., (1973)
Biotechnol. Bioeng. Symp. 4, 429.
- [40] Linek V., Benes P., Sinkule J., Holecek O., (1980)
Biotech. & Bioeng. 22, 2515.
- [41] Linek V., Benes P., Hovorka F., Holocek O., (1981)
Biotech. & Bioeng. 23, 1467.
- [42] Malikkides C.O., Weiland R.H., (1982)
Biotech. & Bioeng. 24, 2419.
- [43] Marison I.W., von Stockar U., (1985)
Thermochemica Acta 85, 493.
- [44] Marison I.W., von Stockar U., (1986)
Biotech. & Bioeng. 28, 1780.
- [45] "Methoden der Lebensmittelanalytik" 77/78
Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica, Mannheim.
- [46] Nakamura S., Ogura Y., (1968)
The J. of Biochemistry 63, 308.
- [47] Nakanoh M., Yoshida F., (1980)
Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev. 19, 190.
- [48] Nakanoh M., (1983)
Biotech. & Bioeng. 25, 1653.
- [49] Popovic M., Niebelschutz H., Reuss M., (1979)
Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 8, 1.
- [50] Rallis E., (1987)
Travail de diplôme EPFL.
- [51] Reith T., Beek W.J., (1973)
Chem. Eng. Sci. 28, 1331-1339.
- [52] Reuss M., Bajpai R.K., Berke W., (1982)
J. Chem. Tech. 32, 81.

- [53] Reuss M., Fröhlich S., Kramer B., (1984)
Third European Congress on Biotech. vol. 2
Verlag Chemie, Weinheim.
- [54] Robinson C.W., Wilke C.R., (1973).
Biotech. & Bioeng. **15**, 755.
- [55] Roels J.A., (1983)
dans "Energetics and Kinetics in Biotechnology"
Elsevier Biomedical, Amsterdam.
- [56] Rossini F.D., (1952)
"Selected Values of Chem. Thermodynamics Prop.",
Washington D.C.
- [57] Ruchti G., (1980)
Thèse ETHZ No 6505.
- [58] Ruchti G, Dunn I.J., Bourne J.R., (1981)
Biotech. & Bioeng. **23**, 277.
- [59] Ruchti G, Dunn I.J., Bourne J.R., von Stockar U., (1985)
The Chem. Eng. J. **30**, 29.
- [60] Schumpe A, Adler I, Deckwer WD (1978)
Biotech. & Bioeng. **20**, 145.
- [61] Sick R., Weiland P., Onken U., (1983)
Dans "Mass Transfer with Chemical Reaction in Multiphase
Systems ", vol. 1, 351.
Alper A. (Ed), Nijhoff Publishers , La Hague.
- [62] Sobotka M., Prokop A., Dunn I.J., Einsele A. (1982)
Ann. Report on Ferm. Proc. **5**, 127.
- [63] Thornton W.M., (1917)
Phil. Mag. **33**, 196.
- [64] Tsao G.T., Kempe L.L. (1960)
J. Biochem and Microbiol. Technol. Eng. **2**, 129.
- [65] Vardar F., Lilly M.D., (1982).
Biotech. & Bioeng. **14**, 1711.

- [66] Vles S.I., Reinders W., (1925)
Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, **44**, 249.
- [67] Weast R.C. Ed. , (1982)
"Handbook of Physics and Chemistry " 63e,
CRC Press, Boca Raton.
- [68] Weibel M.K., Bright H.J., (1971)
The J. of Biol. Chem. **246**, 2734.
- [69] Wernau W.C., Wilke C.R., (1973)
Biotech. & Bioeng. **15**, 571.
- [70] Winckler L.W., (1888)
Ber. dt. Chem. Ges. **21**, 2843.
- [71] Yano T., Kodama T., Yamada K., (1961)
Agr. Biol. Chem., **25**, 580.
- [72] Yoshida T., (1967)
J. Ferm. Technol., **45**, 1119.
- [73] Zlokarnik M., (1978)
Adv. Biochem. Eng. **8**, 133.

Liste des symboles.

	<u>unité</u>	<u>définition</u>
a	m^{-1}	Aire interfaciale
a_i, a'_i	s^{-1}	Coefficients caractéristiques de l'étage i
A	m^2	Surface d'échange de chaleur
A_M	m^2	Surface de la membrane de la sonde
A_1, A_2	s^{-1}	Constantes d'intégration
A		Matrice des coefficients du système différentiel
b_i	s^{-1}	Constante d'intégration
B		Constante numérique
B		Vecteur des conditions initiales
c	$mol\ l^{-1}$, $mol\ m^{-3}$	Concentration
c_{O_2}	$mol\ l^{-1}$	Concentration d'oxygène
c_{Co}	$mol\ l^{-1}$	Concentration de Co^{++}
c^*	$mol\ l^{-1}$	Concentration de saturation
c^{*max}	$mol\ l^{-1}$	Concentration de saturation en équilibre avec l'air ambiant
c_M^*	$mol\ l^{-1}$	Concentration de saturation dans la membrane
c_{sol}^*	$mol\ l^{-1}$	Concentration de saturation en présence de sels dissous
c_1^*, c_2^*	$mol\ l^{-1}$	Concentration de saturation aux temps t_1 et t_2
$c_\beta^{(+)}$	$mol\ l^{-1}$	Concentration de β -glucose (à l'équilibre)
C	-	Concentration adimensionnelle
C_p	$Jkg^{-1}oC^{-1}$	Chaleur spécifique
C_t	Nm	Couple mécanique de torsion
C		Vecteur de concentrations
C'	s^{-1}	Dérivée par rapport au temps de la concentration adimensionnelle
C'		Vecteur dérivé des concentrations
d_b	m	Diamètre des bulles de gaz

D	m^2s^{-1}	Coefficient de diffusion en phase liquide
D_M	m^2s^{-1}	Coefficient de diffusion dans la membrane
f_{O_2}	Pa	Fugacité de l'oxygène
E	-	Facteur d'accélération
E	J	Fonction énergie interne (notation limitée au chapitre 8.6)
F	Cb	Constante de Faraday = 96500 Cb
FAD		Flavine adénine dinucléotide
F(s)	-	Transformée de Laplace de la fonction f(t)
F_G, F'_G	-	Facteurs de correction pour la dynamique des gaz
F_{cal}	-	Facteur de calibration thermique
G	$Nls^{-1}, Nlmm^{-1}$ $m^{-3}s^{-1}$	Débit de gaz
GOD		Glucose-oxydase
h		Coefficient de sel
H	$at\ l\ mol^{-1}$	Coefficient de Henry
H	J	Fonction enthalpie (notation limitée au chapitre 8.6)
H_m	$at\ l\ mol^{-1}$	Coefficient de Henry de l'équilibre liquide-membrane
H_a	-	Nombre de Hatta
ΔH	kJ/mol	Enthalpie de combustion par mole
$\Delta H'$	$kJ/C-mol$	Enthalpie de combustion par C-mole
ΔH_f^0	kJ/mol	Enthalpie de formation standard
$\Delta H_f^{0'}$	kJ/mol	Enthalpie de formation standard par C-mole
ΔH_r	$kJ/C-mol$	Enthalpie de réaction par mole
$\Delta H_r'$	$kJ/C-mol$	Enthalpie de réaction par C-mole
$\Delta_v H$	kJ/mol	Enthalpie d'évaporation de l'eau
i	A	Courant électrique
I	ion-g./l	Force ionique
k_m	ms^{-1}	Coefficient de transfert de matière dans la couche limite devant la membrane
k_{mut}	s^{-1}	Constante de vitesse de la mutarotation
k_n	$(mol/l)^{1-n}s^{-1}$	Constante de vitesse de l'ordre n
k_{cat}	s^{-1}	Constante de vitesse de la réaction enzymatique
k_G	ms^{-1}	Coefficient de transfert de matière en phase liquide

k_L	ms^{-1}	Coefficient de transfert de matière en phase gazeuse
k_H	Pa	Coefficient de partage
k_1	s^{-1}	Constante de vitesse de premier ordre
k_2	$\text{l mol}^{-1}\text{s}^{-1}$	Constante de vitesse de deuxième ordre
k_r	$\text{l}^2\text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$	Constante de vitesse
k_{La}	s^{-1}	Coefficient global de transfert de matière
k_{La}^{cal}	s^{-1}	k_{La} par calorimétrie, en fin de réaction
k_{La}^{gaz}	s^{-1}	k_{La} mesuré par bilan gazeux
k_{La}^{stat}	s^{-1}	k_{La} mesuré par la méthode statique
K_{et}	$\text{m}^2\text{s mol}^{-1}$	Constante d'étalonnage de la sonde pO_2
K_h	-	Coefficient hydrodynamique
K_p	J K^{-1}	Capacité calorifique totale du réacteur
K_M	-	Coefficient de partage liquide/membrane
K_O	M	Coefficient de Michaelis-Menten pour l'oxygène
K_S	M	Coefficient de Michaelis-Menten pour le substrat
$\mathcal{L} \{ f(t) \}$		Transformée de Laplace de $f(t)$
m_{OH}	g	Masse de solution de soude
M_f	s	Premier moment du signal $f(t)$
M_P	g mol^{-1}	Masse moléculaire du produit
M_S	g mol^{-1}	Masse moléculaire du substrat
\dot{n}	mol s^{-1}	Débit molaire
n	s^{-1}	Vitesse d'agitation
n_i	mol	Quantité de matière au temps t_i
n'_i	mol	Quantité de matière au temps t_i , après prise d'échantillon
n_E	mol	Quantité d'enzyme
n_S	mol	Quantité de substrat
Δn_P	mol	Quantité de produit formée
Δn_S	mol	Quantité de substrat consommée (cette quantité est négative au chapitre 12)
Δn_{Ei}	mol	Quantité prélevée avec l'échantillon i
N	mn^{-1}	Vitesse d'agitation
N_A	$\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	Flux de matière par unité de surface

OTR	mol s ⁻¹	Oxygène transféré sur le volume entier
OTR ^{max}	mol s ⁻¹	Transfert maximal, pour $c_L=0$
P_0, P_1, P_2	-	Coefficients numériques
P_f	W	Puissance mécanique de frottement
P_m	W	Puissance mécanique
P	at, Pa	Pression ambiante
P/V_L	W m ⁻³	Puissance dissipée dans le réacteur
P_0	at	Pression normale = 1at
$P_{H_2O}^{0(1)}$	at	Pression partielle d'eau dans l'air à l'entrée (à la sortie) du réacteur
$P_{H_2O}^{sat}$	at	Pression partielle d'eau en équilibre
P_{O_2}	at	Pression partielle d'oxygène
P		Matrice de passage
q_E	W	Puissance de calibration
q_F	W	Puissance calorifique transférée
q_F^*	W	Puissance calorifique transférée réelle (chapitre 7.1.3)
q_F^0	W	Ligne de base du signal de chaleur
q_1	W	Puissance liée à l'adjonction d'un réactif
q_1^i	W	Puissance liée à l'adjonction d'un réactif en cours de réaction
q_{O_2}	mol s ⁻¹ g ⁻¹	Demande biologique en oxygène
q_P	W	Pertes de chaleur
q_R	W	Production de chaleur
q_R^{max}	W	Signal de chaleur lorsque le transfert est maximum (OTR = OTR ^{max})
q_1, q_2	W	Puissances liées à l'introduction d'air dans le réacteur
Q	kJ	Chaleur intégrée
ΔQ	J	Chaleur échangée avec l'environnement
Q_1	kJ	Part de la chaleur intégrée due à la neutralisation de l'acide
Q_0	kJ/eq.-e ⁻	Chaleur de combustion par eq.-e ⁻
Q_R	kJ	Part de la chaleur intégrée due à la réaction
Q_0^i	kJ/eq.-e ⁻	Chaleur de combustion, par eq.-e ⁻ , du composé i

r	m	Coordonnée radiale
$r_e(t)$	-	Rapport d'exponentielles
r_{O_2}	mol l ⁻¹ s ⁻¹	Vitesse de réaction par rapport à l'oxygène
r'_{O_2}	mol l ⁻¹ s ⁻¹	Vitesse de réaction exprimée par rapport au volume de mycélium
\bar{r}_{O_2}	mol l ⁻¹ s ⁻¹	Vitesse de réaction moyenne sur le volume du mycélium
R	l at mol ⁻¹ K ⁻¹	Constante des gaz parfaits
R_m	m	Rayon de l'amas de mycélium
s		Variable de Laplace
s_D	s ⁻¹	Taux de renouvellement de surface
t	s	Temps
t_1	s	Temps d'aération
T	K, °C	Température
T_a	°C	Température de l'air entrant
T^0	K	Température normale = 273 K
T_{couv}	°C	Température du couvercle thermostatisé
T_R	°C	Température du réacteur
T_J	°C	Température du double-manteau
T_J^0	°C	Température du double-manteau à $q_R=0$
U	W m ⁻² K ⁻¹	Coefficient de transfert de chaleur
UA	W K ⁻¹	Coefficient de transfert de chaleur global
$(UA)^*$	W K ⁻¹	Coefficient de transfert de chaleur réel (chapitre 7.1.3)
v_{SG}	ms ⁻¹	Vitesse superficielle du gaz
V	m ⁻³	Volume
V_D	l	Volume de soude ajouté
V_{Ei}	l	Volume d'échantillon prélevé au temps t_i
V_L	l	Volume de la phase liquide
V_G	l	Volume de la phase gazeuse
We	-	Nombre de Weber
We_{crit}	-	Nombre de Weber critique
x	m	Coordonnée de distance
x_{1i}, x_{2i}		Éléments du vecteur propre i
X	g l ⁻¹	Concentration de biomasse
X_{O_2}	-	Fraction molaire d'oxygène en phase liquide

X, X'		Vecteur de la base propre, vecteur des dérivées
Y_i		Signal à la sortie de l'étage i
Y_{O_2}, Y_{O_2}	-	Fraction molaire d'oxygène en phase gazeuse
Y_N	-	Fraction molaire de gaz inerte
Y_i	-	Signal adimensionnel à la sortie de l'étage i
$Y'_{I,J}$		Rendement par C-mol de la grandeur I par rapport à la grandeur J
$Y_{I,J}$		Rendement de la grandeur I par rapport à la grandeur J
$Y_{P/S}^{\text{brut}}$		Rendement sans prise en compte des effets de dilution
Y'_{QS}	kJ/mol	Rendement de chaleur dû exclusivement à la réaction
z	-	Charge ionique
Z		Fonction de transfert dans l'espace de Laplace

Alphabet grec.

α, β	-	Coefficients numériques
δ	m	Epaisseur de zones de diffusion
ϵ	-	Erreur relative sur l'estimation de a_2
ϵ_m	-	Fraction de volume occupée par le mycélium
ϵ_G	-	Taux de rétention de gaz
ϵ_p	-	Erreur relative sur Q_0 dans le cas du produit
ϵ_s	-	Erreur relative sur Q_0 dans le cas du substrat
ϕ	mol m ⁻³ s ⁻¹ , mol l ⁻¹ s ⁻¹	Transfert d'oxygène par unité de volume
ϕ^{stat}	mol l ⁻¹ s ⁻¹	Transfert d'oxygène par unité de volume en régime pseudo-stationnaire
γ	-	Degré de réduction
Γ	-	Signal de la sonde à oxygène

I		Matrice identité
κ	s^{-1}	Variable auxiliaire
λ_i	s^{-1}	Valeur propre de la matrice A
η	-	Facteur d'efficacité
ρ	$kg\ m^{-3}$	Densité
ρ_m	$g\ l^{-1}$	Densité du mycélium
σ	Nm^{-1}	Tension superficielle
τ_c	Nm^{-2}	Tension de cisaillement
τ	s	Constante de temps
Ψ	-	Module de Thiele
$\Psi(t)$		Distribution de temps de séjour

Exposants.

o	Se rapporte au temps $t=0$
∞	Se rapporte au temps $t=\infty$
i	Se rapporte à l'interface liquide/membrane
m	Se rapporte à la membrane
r	Se rapporte à la réaction
P	Se rapporte au produit
S	Se rapporte au substrat

Indices.

a	Se rapporte à la surface interfaciale
C	Se rapporte au CO_2
E	Se rapporte à l'enzyme
F	Se rapporte au film liquide
G	Se rapporte à la phase gazeuse
H	Se rapporte aux ions H^+
L	Se rapporte à la phase liquide
M	Se rapporte à la membrane de la sonde à oxygène

O	Se rapporte à l'oxygène
OH	Se rapporte à la soude
P	Se rapporte au produit
Q	Se rapporte à la chaleur
S	Se rapporte au substrat
W	Se rapporte à l'eau
+	Se rapporte au cation
-	Se rapporte à l'anion
0	Se rapporte à l'entrée du réacteur
1	Se rapporte à la sortie du réacteur

Annexe A.Solubilité de l'oxygène dans une solution de sulfite.

La solubilité de l'oxygène est donnée par la loi de Henry. Le coefficient de Henry H vaut $859 \text{ l at mole}^{-1}$ [2.2] à 30°C .

L'influence des différents ions sur la solubilité est décrite par leur coefficient de sel (c.f. chapitre 2.1). Dans le cas du milieu réactionnel de l'oxydation du sulfite, les coefficients nécessaires ont été publiés par Danckwerts [4.7], excepté le coefficient de sel de l'anion SO_3^{--} . Ce dernier a été déterminé par Gestrich et Pontow [8.5], en admettant les valeurs de Danckwerts pour les autres ions. La contribution du gaz à 30°C n'étant pas connue, elle est extrapolée linéairement des deux valeurs publiées à 20 et 25°C . On obtient ainsi une valeur de 0.010 pour h_G à 30°C .

cation	h_+ [l iong ⁻¹]	anion	h_- [l iong ⁻¹]	gaz	h_G [l iong ⁻¹]
H ⁺	0	OH ⁻	0.066	O ₂	
Na ⁺	0.091	SO ₄ ⁻⁻	0.022	20°C	0.034
		SO ₃ ⁻⁻	-0.002	25°C	0.022

La solubilité de l'oxygène évolue au cours de la réaction. La solution contient initialement $0.8 \text{ M Na}_2\text{SO}_3$. Soit x la concentration de sulfate formé après un certain temps de réaction. La solubilité à ce stade de la réaction se calcule de la manière suivante :

Na_2SO_3 : concentration [M] = $(0.8-x)$
force ionique [iong l⁻¹] :

$$I = \frac{1}{2} [4 \cdot (0.8-x) + 2 \cdot (0.8-x)] = 3 \cdot (0.8-x)$$

coefficient de sel [l iong⁻¹] :

$$h = 0.091 - 0.002 + 0.010 = 0.099$$

Na_2SO_4 : concentration [M] = x
force ionique [iong l⁻¹] :

$$I = \frac{1}{2} [4 \cdot x + 2 \cdot x] = 3 \cdot x$$

coefficient de sel [l iong⁻¹] :

$$h = 0.091 + 0.022 + 0.010 = 0.123$$

L'effet global s'exprime :

$$\log \frac{c^*}{c_{\text{sel}}^*} = \sum hI = 0.2376 + 0.072 \cdot x$$

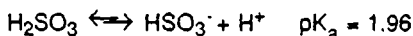
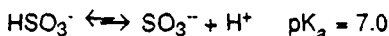
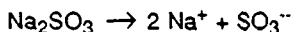
$$\Rightarrow \frac{c^*}{c_{\text{sel}}^*} = 1.73 \cdot 10^{0.072 \cdot x}$$

Et au niveau des coefficients de Henry :

$$\frac{H_{\text{sel}}}{H} = 1.73 \cdot 10^{0.072 \cdot x}$$

Le coefficient de Henry sera donc de 1486 l at mole⁻¹ au début de la réaction, et de 1697 l at mole⁻¹ à la fin de la réaction ; il faut donc s'attendre à une diminution de la solubilité entre le début et la fin de la réaction de 14 %.

Les contributions respectives de l'acide sulfurique (ajouté initialement pour fixer le pH à sa valeur opératoire) et de la soude (ajoutée durant la réaction) sont négligeables, au vu de leur faibles concentrations. Leur prise en compte dans le calcul selon Danckwerts est d'ailleurs fortement discutable. En effet, les concentrations de H⁺ et OH⁻ présentes en solution au cours de la réaction peuvent être fortement différentes des concentrations de H₂SO₄ et NaOH introduites dans le réacteur. Quoi qu'il en soit, leur prise en compte stricte selon Danckwerts ne modifie la solubilité que de l'ordre de 2 % environ.

Annexe B.pH des solutions de sulfite et de sulfate.pH d'une solution de sulfite 0.8 M.

Le pH d'une solution 0.8 M de sulfite peut être calculé, en négligeant la deuxième basicité, par :

$$\text{pH} = \frac{1}{2} (\text{p}K_i + \text{p}K_a + \log c_B)$$

où c_B est la concentration de base faible.

$$\text{D'où : } \text{pH} = \frac{1}{2} (14 + 7.0 - 0.097) = 10.45$$

Réglage du pH initial à 8.00.

Le pH est ajusté à 8.00 à l'aide de H_2SO_4 . La concentration d'acide fort c_A nécessaire est égale à la concentration de HSO_3^- à former, et est donnée par l'équation suivante, relative au pH d'une solution d'une base faible et de son acide conjugué :

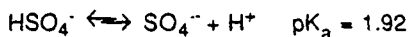
$$\text{pH} = \text{p}K_a - \log \frac{c_A}{c_B - c_A}$$

Pour obtenir un pH de 8.00, il est donc nécessaire d'ajouter une concentration de H_2SO_4 de :

$$c_A = c_B \frac{10^{(\text{p}K_a - \text{pH})}}{1 + 10^{(\text{p}K_a - \text{pH})}} = 0.072 \text{ M}$$

pH après oxydation du sulfite.

La solution en fin de réaction, sans contrôle de pH, est composée de 0.8 M de Na_2SO_4 , ainsi que de 0.072 M H_2SO_4 .



Le pH est à nouveau donné par :

$$\begin{aligned} \text{pH} &= \text{p}K_a - \log \frac{c_A}{c_B - c_A} = 1.92 - \log \frac{0.072}{0.8 - 0.072} \\ &= 2.92 \end{aligned}$$

Contrôle du pH à 8.00.

Le pH d'une solution 0.8 M de Na_2SO_4 sans acide sulfurique est donné par :

$$\text{pH} = \frac{1}{2} (\text{p}K_1 + \text{p}K_a + \log c_B) = \frac{1}{2} (14 + 1.92 - 0.097) = 7.91$$

La quantité totale de NaOH nécessaire au cours de la réaction pour maintenir le pH à 8.00 est donc approximativement égale à la quantité nécessaire à titrer le H_2SO_4 ajouté initialement, soit 0.072 moles par litre de réacteur.

Annexe C - BSC-81.

Qualité des sondes.

Il est important de remarquer (chapitre 7.1.3) que le signal q_R ne résulte que de la différence de température ($T_J - T_J^0$). Il n'est donc pas nécessaire, formellement, que les sondes de températures soient calibrées de manière précise.

En cas de dérive sur la calibration de la sonde qui mesure T_J , la différence ($T_J - T_J^0$) n'est pas affectée.

Dans le cas d'une erreur sur la pente de cette calibration, il est vrai que ($T_J - T_J^0$) sera légèrement faussé. Néanmoins, cette erreur sera corrigée lors de la procédure de calibration. En effet, le coefficient UA estimé lors de cette procédure est calculé sur la base de la même différence ($T_J - T_J^0$), et inclut par conséquent un facteur correctif. De manière rigoureuse, il est vrai que le coefficient UA est alors légèrement inexact. En conclusion, la seule exigence au niveau de la qualité de la sonde de mesure de T_J est une réponse linéaire.

La qualité de la sonde de mesure de T_R n'influence formellement que la température effective de travail du réacteur. Les exigences à son égard dépendent de la sensibilité du phénomène à étudier en fonction d'un éventuel écart par rapport à la consigne de température.

Déviations de la calibration du calorimètre pour des signaux de chaleur importants.

La résistance thermique permettant la calibration dégage une puissance de 15 Watts. Lorsque le calorimètre mesure cette puissance d'étalonnage, pour une température dans le réacteur T_R de 30 °C, la température de l'huile dans le double-manteau T_J est de l'ordre de 28.5 °C, le coefficient de transfert de chaleur UA étant typiquement de l'ordre de grandeur de 10 W/°C.

Lorsque le calorimètre mesure ensuite, en cours de réaction, un dégagement de chaleur de l'ordre de grandeur de 100 W, pour une température TR qui vaut toujours 30 °C, la température de l'huile du double-manteau est d'environ 20 °C.

A cette nouvelle température, l'huile est notablement plus visqueuse et le coefficient de transfert de chaleur à la paroi est alors moins important, modifiant le coefficient de transfert UA. Le calorimètre est conçu de manière à limiter l'effet de cette résistance, notamment en imposant un débit d'huile élevé dans le double-manteau.

Pour un faible flux de chaleur, donc lorsque TR et TJ sont proches de 30 °C, des valeurs typiques pour les différents coefficients de transfert de chaleur intervenant dans le processus sont :

Dans la couche limite du côté du réacteur :	450 Wm ⁻²
Conduction dans le verre :	1500 Wm ⁻²
Dans la couche limite du côté de l'huile :	230 Wm ⁻²

La résistance au transfert de chaleur du côté de l'huile n'est pas totalement négligeable et peut augmenter avec la viscosité de l'huile. Le facteur de calibration est donc légèrement dépendant du flux de chaleur q_F , et le facteur de calibration déterminé à une température du double-manteau de 28 °C est légèrement surestimé lorsque cette température est notablement plus basse.

Pour obtenir des facteurs de calibration exacts lors de dégagements de chaleur importants, il serait donc nécessaire de calibrer le calorimètre à l'aide d'une résistance thermique dégageant approximativement la même puissance que le signal à mesurer. La variation de la puissance de calibration n'est pas prévue dans cette version du calorimètre.

CURRICULUM VITAE

Jean-Luc MOSSIER

Date de naissance	7 août 1962, à Vevey / VD
Origine	Châtel-St-Denis / FR
Etat civil	Marié
Adresse	Les Rochettes 1618 Châtel-St-Denis

Formation

Ecole primaire, Vevey	1968 - 1971
Collège secondaire, Vevey	1971 - 1977
Gymnase de Burier / CESSEV	Certificat d'études, type C 1977 - 1979
EPF - Lausanne	Maturité Fédérale, type C 1979 - 1983
	Diplôme d'ingénieur-chimiste
EPF - Lausanne, Institut de génie chimique	Dès 1984 Travail de thèse, sous la direction du professeur U. von Stockar

Publication

J.-L. Mossier, M. Delaloye, B. Birou, U. von Stockar
"Application de la méthode du sulfite dans une colonne à
film tombant et dans un calorimètre à flux de chaleur"
Swiss Chem. 2a, 51, 1986

