

10ème Congrès Français d'Acoustique

Lyon, 12-16 Avril 2010

Utilisation d'un modèle à bi-échelles pour décrire la dynamique d'un germe de cavitation dans un milieu visco-élastique.

Stéphane Labouret, Jamie R. T. Collin, Constantin C. Coussios

BUBL, Institute of Biomedical Engineering, University of Oxford, Headington, Oxford OX3 7DQ, UK, stephane.labouret@eng.ox.ac.uk

En dépit de plusieurs décennies de recherche sur l'éclosion de la cavitation dans les milieux biologiques, l'environnement exact rencontré par une bulle de cavitation à l'échelle microscopique et pour des fréquences de l'ordre du MHz demeure peu connu. La comparaison entre les prédictions d'un modèle dynamique avec des observations optiques dans des milieux transparents laisse penser que les valeurs des propriétés mécaniques du milieu rencontré par la bulle peuvent varier jusqu'à 2 ordres de grandeur par rapport à leurs valeurs statiques. Récemment, la structure sub-micrométrique de plusieurs milieux visco-élastiques, tels des tissus biologiques et des gels, a été décrite comme un milieu liquide similaire à l'eau jusqu'à une certaine dimension caractéristique au-delà de laquelle le milieu présente des propriétés essentiellement visco-élastiques. Le présent travail étend le modèle proposé par Yang and Church [1] (J. Acoust. Soc. Am. 2005) pour prendre en compte cet effet d'échelle. Les prédictions du modèle sont confrontées à des résultats expérimentaux obtenus par la réponse d'un germe de cavitation à une courte impulsion ultrasonore de forte amplitude produit par un transducteur focalisé de 1,1 MHz; l'émission acoustique de cet événement de cavitation inertielle est mesurée par un transducteur focalisé et calibré fonctionnant en mode passif, qui permet la comparaison des seuils de cavitation et des émissions acoustiques expérimentaux avec ceux prévus par les modèles de milieu mono-échelle et bi-échelle.

1 Introduction

Pour modéliser la dynamique d'une bulle de cavitation ultrasonore, il faut connaître les propriétés mécaniques du milieu qui l'entoure, si possible déterminées à une échelle et avec des vitesses en rapport avec le phénomène. Pour les bulles de cavitation inertielle qui apparaissent dans les tissus biologiques sous l'action d'ultrasons de fréquence 1 MHz, le rayon varie typiquement de quelques nanomètres (germes de cavitation [2]) à quelques micromètres sur une durée de l'ordre d'une microseconde; la vitesse de la paroi de la bulle atteint ou dépasse celle du son sur une courte période.

L'éventail des méthodes de caractérisation mécanique et rhéologique des matières molles couvrent un large éventail d'échelles : à l'échelle d'un organe [3, 4, 5, 6, 7, 8], à l'échelle de cellules biologiques [9], sur [10] ou à l'intérieur de ces cellules [11, 12] et jusqu'à des dimensions de quelques nanomètres [13]. Parmi les méthodes destinées aux échelles sub-micrométriques, celles basées sur la diffusion de nano-sphères mettent en évidence que dans des gels d'agar-agar et dans des cellules, comme des cellules hépatiques, et pour une échelle inférieure à une centaine de nanomètres, le module d'élasticité de cisaillement et la viscosité sont semblables à ceux de l'eau [14, 15]. Dans les cellules, ce constat est fait tant dans le cytoplasme que dans le noyau. Ces études ne confirment pas seulement des conclusions obtenues par ailleurs [2] sur les propriétés du milieu qui entoure les germes de cavitation, elles précisent aussi l'étendu de ce milieu.

Si l'ensemble de ces méthodes donne une réponse satisfaisante relativement à l'échelle de la mesure, les

vitesses de déformation qui leur sont associées sont plus faibles que celles rencontrées autour d'une bulle de cavitation inertielle. En cela elles ne répondent pas totalement aux besoins pour la modélisation d'une telle bulle.

Pour obtenir les conditions rencontrées par une bulle de cavitation, l'idéal est d'en utiliser une comme sonde. Ainsi, Brujan et Vogel [16] créent une bulle de cavitation avec une impulsion laser focalisée dans un gel transparent, filment l'évolution de son rayon dans le temps et s'en servent pour ajuster les paramètres d'un modèle dynamique de bulle dans un milieu elasto-plastique; ils en déduisent les propriétés mécaniques du gel. Entre autres résultats, ils indiquent que ces propriétés présentent des valeurs qui diffèrent jusqu'à de deux ordres de grandeurs de celles mesurées en statique, lors de la formation de la bulle.

Pour les tissus biologiques opaques, la création et la mesure de la bulle doivent être faites par voie acoustique, ce qui est le cas dans cette étude, ou par des méthodes électromagnétiques.

La bulle de cavitation est produite par une courte excitation de forte pression acoustique, une impulsion ou quelques cycles d'ultrasons. L'évolution de son rayon est suivie indirectement en écoutant avec un hydrophone l'onde qu'elle émet. Cette méthode est préférée à une méthode active de type pulse-écho qui pourrait perturber à la fois l'évolution du rayon de la bulle mais aussi les conditions de sa naissance [17].

Une information supplémentaire accessible par l'expérience est la pression acoustique du seuil de cavitation inertielle. Ce seuil est atteint lorsque la pression acoustique est assez grande pour que le rayon de la bulle

dépasse le double de son rayon initial durant son oscillation. Ce seuil correspond aussi à la pression acoustique à partir de laquelle l'amplitude de l'onde qu'émet la bulle augmente fortement et devient détectable ; la paroi de la bulle atteint alors des vitesses de l'ordre de celle du son.

Compte tenu à la fois de la structure du milieu et de la définition de la cavitation ultrasonore, il apparaît donc que les germes de cavitation qui dans les tissus biologiques ont un rayon typiquement inférieur à 25 μm deviennent des bulles de cavitation inertielles dans un milieu qui a les propriétés mécaniques de l'eau. Connaissant ces propriétés, le rayon du germe, qui est aussi le rayon initial de la bulle de cavitation dans l'équation dynamique, peut être déterminé à partir de l'équation dynamique d'une bulle dans de l'eau et ne dépend que de la tension de surface. Pour les gels d'agar-agar utilisés dans cette étude, le rayon initial du germe est déterminé avec la tension de surface de l'eau, $\sigma=0,0725 \text{ N/m}$. La structure du milieu permet donc de fixer la valeur d'un paramètre du modèle.

Par contre, le modèle dynamique de la bulle doit maintenant rendre compte du changement des propriétés du milieu lorsque le rayon de la bulle dépasse une cinquantaine de nanomètres durant son oscillation. Une modification du modèle de Yang & Church [1] aboutit au modèle bi-échelles qui est présenté maintenant. La méthode expérimentale pour rechercher les propriétés du milieu et les premiers résultats pour un gel d'agar sont présentés ensuite.

2 Modèle bi-échelles

L'équation de la dynamique de la bulle proposée par Yang & Church [1] pour un milieu viscoélastique s'écrit :

$$\left(1 - \frac{\dot{R}}{c}\right) R \ddot{R} + \frac{3}{2} \left(1 - \frac{\dot{R}}{3c}\right) \dot{R}^2 = \frac{(p_a - p_l)}{\rho} \left(1 - \frac{\dot{R}}{c}\right) + \frac{R}{\rho c} \frac{d}{dt} (p_a - p_l) \quad (1)$$

où R est le rayon de la bulle, $\dot{R}$ et $\ddot{R}$ ses dérivées par rapport au temps, c la célérité du son dans le milieu, ρ la masse volumique du milieu,

$$p_a - p_l = p_g - \frac{2\sigma}{R} - p_0 + P_{ac}(t) + 3 \int_{R(t)}^{\infty} \frac{\tau_{rr}}{r} dr \quad (2)$$

avec la pression du gaz dans la bulle $P_g = P_{g0} \left(\frac{R_0}{R}\right)^{3\gamma}$, R_0 le rayon initial de la bulle, P_{g0} la pression initiale du gaz dans la bulle, γ le coefficient polytropique pris pour une transformation adiabatique égal à 1,4, r la distance depuis la centre de la bulle, τ_{rr} la contrainte de cisaillement,

$$\tau_{rr} = 2(G\gamma_{rr} + \mu\dot{\gamma}_{rr}) \quad (3)$$

où G est le module d'élasticité en cisaillement et μ la viscosité dynamique du milieu, γ_{rr} la déformation et $\dot{\gamma}_{rr}$ la vitesse de déformation,

$$\gamma_{rr} = -\frac{2(R^3 - R_0^3)}{3r^3}, \quad \dot{\gamma}_{rr} = -\frac{2R^2\dot{R}}{r^3}. \quad (4)$$

La variation du module d'élasticité en cisaillement et de la viscosité selon l'échelle est introduite en transformant les constantes G et μ en fonction de r , $G(r)$ et $\mu(r)$

dans l'expression de τ_{rr} (équation 3). Le dernier terme de l'égalité 2 s'écrit alors :

$$3 \int_{R(t)}^{\infty} \frac{\tau_{rr}}{r} dr = -4(R^3 - R_0^3) I_G - 12 R^2 \dot{R} I_\mu \quad (5)$$

avec

$$I_G = \int_{R(t)}^{\infty} \frac{G(r) dr}{r^4} \quad \text{et} \quad I_\mu = \int_{R(t)}^{\infty} \frac{\mu(r) dr}{r^4} \quad (6)$$

La dérivée par rapport au temps de l'intégrale (5) doit également être recalculée :

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} \left(3 \int_{R(t)}^{\infty} \frac{\tau_{rr}}{r} dr \right) = & -12 R^2 \dot{R} I_G + 4 \frac{(R^3 - R_0^3) \dot{R} G(R)}{R^4} \\ & - 24 R \dot{R}^2 I_\mu - 12 R^2 \ddot{R} I_\mu + 12 \frac{\dot{R}^2}{R^2} \mu(R). \end{aligned} \quad (7)$$

L'équation finale s'écrit :

$$\begin{aligned} \ddot{R} \left\{ \left(1 - \frac{\dot{R}}{c}\right) R \dot{R} - 12 I_\mu R^2 \right\} = & -\frac{3}{2} \left(1 - \frac{\dot{R}}{3c}\right) \dot{R}^2 \\ & + \frac{1}{\rho} \left(1 - \frac{\dot{R}}{c}\right) \left\{ (p_g - \frac{2\sigma}{R} - p_0 + P_{ac}(t)) - (4(R^3 - R_0^3) I_G + 12 R^2 \dot{R} I_\mu) \right\} \\ & + \frac{R}{\rho c} \left\{ \frac{\dot{R}}{R} \left(\frac{2\sigma}{R} - 3\gamma P_g \right) + \frac{dP_{ac}(t)}{dt} - 12 R^2 \dot{R} I_G - 4 \frac{(R^3 - R_0^3) \dot{R} G(R)}{R^4} \right. \\ & \left. + 24 R \dot{R}^2 I_\mu - 12 \frac{\dot{R}^2}{R^2} \mu(R) \right\} \end{aligned} \quad (8)$$

$P_{ac}(t)$ est la pression acoustique de l'onde incidente.

La variation des valeurs de $G(r)$ et $\mu(r)$ est choisie selon l'expression 9 (où α représente soit μ , soit G),

$$\mu(r) = \alpha_1 + (\alpha_2 - \alpha_1) e^{-\left(k \frac{r - r_{crit}}{r_{crit}}\right)^2} \quad (9)$$

qui démarre comme une gaussienne pour les petites échelles, puis prend une valeur constante au-delà d'une distance critique r_{crit} qui correspond au centre de la gaussienne. α_1 et α_2 sont les valeurs de α (μ ou G) pour respectivement l'échelle nanoscopique et l'échelle macroscopique. Le paramètre k de la gaussienne est choisi égal à 5. L'allure des propriétés en fonction de la distance r du centre de la bulle est présentée à la figure 1. Dans cette étude, on prendra $\mu_1 = 0,001 \text{ Pa.s}$ et $G_1 = 1 \text{ Pa}$.

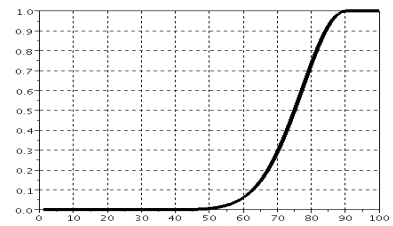


FIG. 1: Evolution en valeur relative de la viscosité et du module de cisaillement en fonction de la distance au centre de la bulle pour une distance critique $r_{crit} = 90 \text{ nm}$ et $k=5$

3 Mesures expérimentales dans un gel d'agar-agar

Le principe de l'expérience est décrit à la figure 2.

Le système acoustique est composé de deux transducteurs focalisés, mécaniquement liés et dont les zones focales sont superposées. Le transducteur extérieur émet

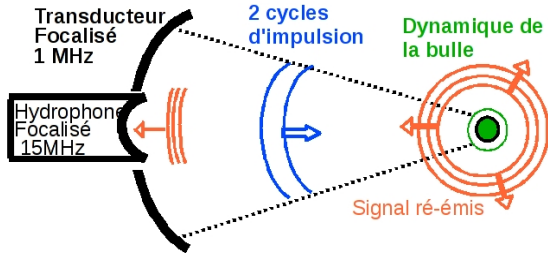


FIG. 2: Schéma du système expérimental et du principe de la mesure

à la fréquence 1,067 MHz les 2 cycles ultrasonores (figure 3) qui produisent les événements de cavitation. Le transducteur intérieur sert d'hydrophone pour recueillir l'onde ré-émise par les bulles de cavitation, signal qui est appelé écho dans la suite. L'écho recueilli est amplifié par un facteur x25 avant d'être visualisé avec un oscilloscope.

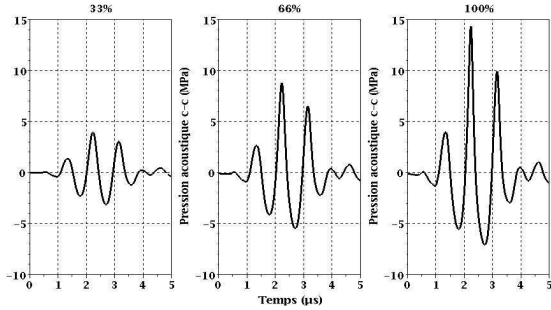


FIG. 3: Ondes ultrasonores mesurée au centre de la zone focale du transducteur émetteur dans de l'eau avec un hydrophone aiguille calibré (diamètre de l'élément actif : 0,4 mm). Les pourcentages se rapportent à la puissance maximale utilisée

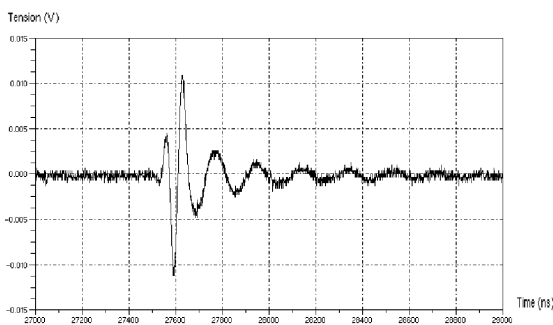


FIG. 4: Exemple d'un écho de cavitation recueilli aux bornes de l'hydrophone

Les deux transducteurs ont été calibrés sur l'axe central de la zone focale. Il en découle que le signal de l'écho ne peut être traité que si le germe de cavitation se trouve sur cet axe (figure 5). Une fois que le germe est détecté, il est centré en déplaçant le gel par rapport aux transducteurs jusqu'à obtenir le maximum d'amplitude de l'écho. La largeur de la zone focale de l'hydrophone est d'environ 1 mm, le positionnement est réalisé avec une précision de 0,1 mm.

Pour qu'un écho puisse être exploité, il faut encore qu'aucun autre événement de cavitation ne se produise avant la zone focale car il modifierait les caractéristiques de l'onde dans cette dernière. Pour diminuer la probabilité d'un tel événement, le centre de la zone focale est placé à seulement 4 mm de profondeur dans gel, car l'eau de la cuve où sont faites les expériences produit beaucoup moins de cavitation que le gel. La profondeur du germe dans le gel est contrôlée par la mesure le temps de vol des ondes acoustique. Enfin, pour réduire le nombre de germes et obtenir des échos isolés, le gel est dégazé dans de l'eau sous une pression d'air de 0,1 bar.

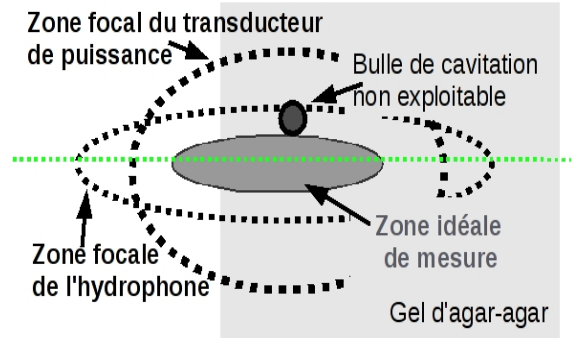


FIG. 5: Illustration du besoin de centrer la bulle.

La mesure complète pour un germe se déroule de la manière suivante : augmentation progressive de la pression acoustique de l'onde incidente jusqu'à sa détection, son positionnement sur l'axe des transducteurs, la détermination de son seuil de cavitation puis l'acquisition des échos en augmentant progressivement la pression acoustique de l'onde incidente de plusieurs MPa. Le seuil de cavitation est alors de nouveau recherché afin de vérifier que le germe a conservé son rayon au cours des mesures.

La figure 6 montre l'évolution expérimentale de l'amplitude des échos d'un germe de cavitation en fonction de la pression acoustique de l'onde ultrasonore incidente. Le rayon initial de ce germe a été déterminé à 7,4 nm.

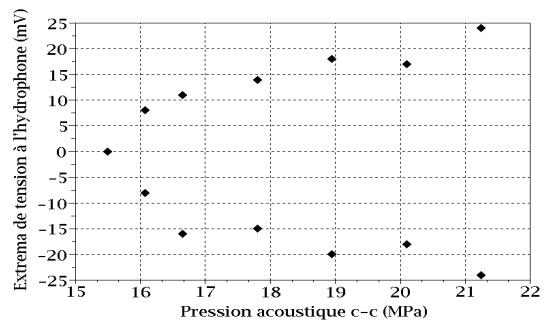


FIG. 6: Evolution expérimentale des extrema de tension produit par les échos aux bornes l'hydrophone en fonction de la pression acoustique de l'onde incidente

Tous les germes trouvés ne permettent pas la réalisation de cette procédure. Certains "disparaissent" à une pression acoustique, et sont retrouvés pour une pression acoustique plus élevée ; cela indique que la bulle a été fragmentée en germes plus petits.

Les expériences présentées sont faites avec un gel

d'agar-agar de concentration massique 6 %. Le module de cisaillement G des gels à cette concentration est estimé à environ $G=400$ kPa, à partir d'une valeur de $G=80$ kPa pour un gel de 3 % [18] et de sa variation selon la puissance 2,31 de sa concentration [19]. Les propriétés mécaniques de ces gels varient selon la durée de refroidissement à l'issue de leur préparation [20] ; cette durée a été choisie à environ 2 h afin d'assurer la reproductibilité des gels.

4 Exploitation des mesures et résultats

A partir de l'équation dynamique de la bulle, l'onde de pression émise par la bulles est calculée par l'expression :

$$p_{ech}(r,t) = \frac{\rho R}{r} (2 \dot{R}^2 + R \ddot{R}) \quad (10)$$

L'atténuation dans l'eau et le gel durant le trajet jusqu'à l'hydrophone sont prises en compte [21], puis le signal électrique est calculé avec la sensibilité de l'hydrophone entre 1 et 20 MHz. La comparaison entre les résultats expérimentaux et ceux du calcul est faite sur l'amplitude des tensions aux bornes de l'hydrophone, et plus particulièrement sur l'évolution de ces amplitudes en fonction de la pression acoustique de l'onde incidente.

Le modèle de Yang & Church utilise le module de cisaillement et la viscosité dynamique pour décrire les propriétés mécaniques du milieu. Cette étude se penche surtout la viscosité comme variable d'ajustement. Le fait est que d'un point de vue pratique, la valeur du module de cisaillement pour les gels est déterminée.

4.1 Comparaison des modèles homogène et bi-échelle.

La figure 7 reprend les mesures expérimentales de la figure 6, et les résultats obtenus avec le modèle de Yang & Church pour un milieu mono-échelle et ceux obtenus avec le modèle de milieu bi-échelles.

Pour le modèle homogène, le rayon initial du germe, 8,2 nm est obtenu avec les propriétés du milieu homogène. Il est un peu plus grand que le rayon initial obtenu pour de l'eau utilisé pour le modèle bi-échelle, 7,4 nm.

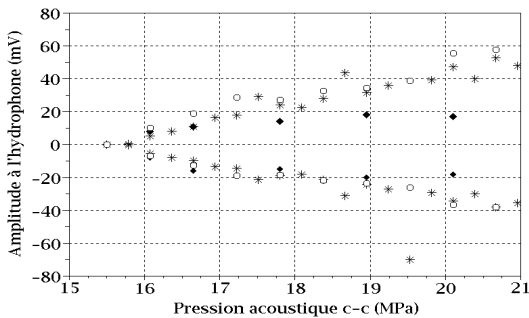


FIG. 7: Comparaison des modèles de Yang & Church (étoiles) et bi-échelle (ronds vides) pour les résultats expérimentaux (losanges pleins) de la figure 6

La première constatation est que les deux modèles parviennent à reproduire l'évolution des amplitudes des échos depuis le seuil de cavitation jusqu'à une pression acoustique de 2 MPa supérieure. La recherche des propriétés se fera sur cet intervalle. Pour des pressions acoustiques supérieures à cet intervalle, les résultats des deux modèles divergent des résultats expérimentaux.

La différence la plus importante entre ces deux modèles est la valeur de la viscosité du milieu à l'échelle macroscopique : $\mu=0,015$ Pa.s pour le milieu homogène et $\mu_2=0,030$ Pa.s pour le milieu bi-échelles, soit du simple au double.

4.2 Résultat du modèle bi-échelle sur l'espace G_2 - μ_2

Toujours à partir des résultats expérimentaux de la figure 6 l'ensemble des solutions (G_2 - μ_2) est recherchée afin d'observer les valeurs du module de cisaillement. Le résultat est présenté figure 8.

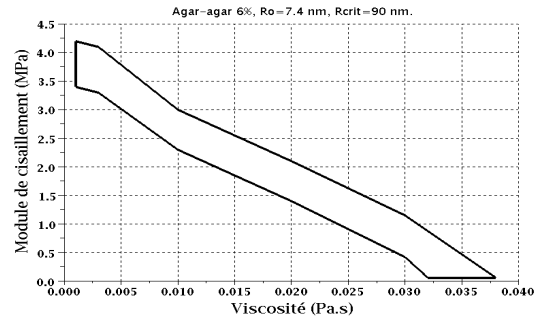


FIG. 8: Ensemble des solutions dans l'espace (G_2 - μ_2) pour les résultats expérimentaux de la figure 6

On constate que le module de cisaillement G_2 augmente d'un ordre de grandeur si la viscosité se rapproche de celle de l'eau.

4.3 Résultat pour deux autres germes

Le traitement de 2 autres germes de rayons estimés à 12 nm et 18 nm fait apparaître une diminution de la viscosité. Cette diminution a probablement pour origine le fait que de manière générale, la vitesse de paroi des bulles de cavitation diminue lorsque leurs rayons augmentent. Il est envisagé que la dépendance de la viscosité avec la vitesse du mouvement de la bulle provoque également la divergence entre expérience et modélisation pour les pressions acoustiques qui sont supérieures à plus de 2 MPa du seuil de cavitation.

Cette dépendance sera recherchée et réintroduite dans le modèle afin de tenter de rapprocher ses prédictions des résultats expérimentaux sur un plus grand intervalle de pression acoustique de l'onde incidente.

5 Conclusion

La recherche des propriétés mécaniques que rencontre une bulle de cavitation inertielle dans des gels est

menée en utilisant de telles bulles comme sonde. Le mouvement de la bulle est caractérisé expérimentalement par l'onde qu'elle émet. Le modèle choisi pour simuler les résultats expérimentaux discerne les propriétés mécaniques de ces milieux pour des échelles nanométriques (≤ 100 nm), où elles sont similaires à celles de l'eau, et celles pour des dimensions supérieures qui sont considérées comme les propriétés macroscopiques du milieu. En dehors d'une meilleure description qualitative de la structure du milieu que rencontre une bulle de cavitation durant son oscillation, ce modèle permet de fixer plus facilement le rayon initial de la bulle, qui est un paramètre des simulations, à partir de la mesure du seuil de cavitation.

Les premiers résultats obtenus dans un gel d'agar montrent que le modèle bi-échelles donne des valeurs de viscosité qui sont supérieures à celles du modèle homogène (le module de cisaillement étant fixé à sa valeur en statique). L'adaptation du modèle à l'aide du module de cisaillement atteint à une valeur de 4 MPa pour ce dernier, si la viscosité est celle de l'eau.

Un nombre plus important de résultats expérimentaux est nécessaire pour préciser la dépendance de la viscosité avec une grandeur cinétique liée au mouvement de la bulle. Un gel avec une autre concentration en agar-agar devra être aussi caractérisé pour évaluer la sensibilité de la méthode. Sa mise en oeuvre sur des tissus biologiques sera alors envisagée.

Références

- [1] Yang X., Church C.C. ; "A model for the dynamics of gas bubbles in soft tissues", *J. Acoust. Soc. Am.* 118 (6), 3595-3606 (2005)
- [2] Church C.C., "Spontaneous homogeneous nucleation, inertial cavitation and the safety of diagnostic ultrasounds", *Ultrasounds in Med. & Biol.* 28 (10), 1349-1364 (2002)
- [3] Kruse S.A., Smith J.A., Lawrence A.J., Manduca A., Ehman R.L. ; *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.* 8 (2000)
- [4] Machida H., Yagi SI, Kondo Y., Murata Y., Akimoto S., *Japanese Journal of Applied Physics* 43 (5B), 3241-3244 (2004)
- [5] Sunagawa K., Kanai H., "Measurement of shear wave propagation and investigation of estimation of shear viscoelasticity for tissue characterization of the arterial wall", *J. Med. Ultrasonics* (32) 39-47 (2005)
- [6] Zimmerlin J., Sanabria-DeLong N., Tew G.N., Crosby A., "Cavitation Rheology of soft material", *Soft Matter* 3, 763-767 (2007)
- [7] Frizzel L., Cartensen E.L. ; *J. Acoust. Soc. Am.* 60, (6), 1409-1411 (1976)
- [8] Madsen E.L., Sathoff, H.J., Zagzebski J.A., *J. Acoust. Soc. Am.* 74 (5), 1346-1355 (1983)
- [9] Desprat N., Richert A., Simeon J., Asnacios A., "Creep function of a Single Living Cell", *Biophysical Journal* 88, 2224-2233 (2005)
- [10] Fabry B., Maksym G.N., Butler J.P., Glogauer M., Navajas B., Fredberg J.J., "Scaling the microrheological of living cells", *Phys. Review. Letters* 87 (14) (2001)
- [11] Bausch A.R., Möller W., Sackmann E., "Measurement of local viscoelasticity and forces in living cells by magnetic tweezers", *Biological Journal* 76, 573-579 (1999)
- [12] Wihlelm C., Gazeau F., Bacri J-C, "Rotational magnetic endosome microrheology : Viscoelastic architecture inside living cells", *Physical Review E* 67, 061906 (2003)
- [13] Haga H., Sasaki S., Morimoto M., Kawabata K., Ito E., Abe K., Sambongi T., "Imaging elastic properties of soft materials immersed in water using force modulation mode atomic force microscopy", *Jpn. J. Appl. Phys.* 37 (I,6), 3860-3863 (1998)
- [14] Fatin-Rouge N., Strachev K., Buffle J., "Size effects on the diffusion process within agarose gels", *Biophysical Journal* 86, 2710-2719, (2004)
- [15] Guigas G., Kalla C., Weiss M., "The degree of macromolecular crowding in the cytoplasm and nucleoplasm of mammalian cells is conserved" ; *FEBS letters* 581, 5094-5098 (2007)
- [16] Brujan E.A, Vogel A. , "Stress wave emission and cavitation bubble dynamics by nanosecond optical breakdown in a tissue phantom", *J. Fluid Mech.* 558, 281-308 (2006)
- [17] Madanshetty S.I., Roy R.A., Apfel R.E., "Acoustic microcavitation : its active and passive acoustic detection", *J. Acoust. Soc. Am.* 90 (3), 1515-1526 (1991).
- [18] Ringleb S.I., Chen Q., Lake D.S., Manduca A. Ehman R. L, An K.-N., "Quantitative shear wave magnetic resonance elastography : comparison to dynamic shear material test", *Magnetic Resonance in Medicine* 53, 1197-1201 (2005)
- [19] Fujii T., Yano T., Kumagai H., Miyawaki O., "Scaling analysis of the concentration dependence on elasticity of agarose gel", *Biosci. Biotechnol. Biochem* 64 (8), 1618-1622 (2000)
- [20] Fujita H., Ninomya K., Homma T., "Mechanical properties of concentrated hydrogels of agar-agar I. Modulus of elasticity in compression", *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 25 (6), 374-378 (1952)
- [21] Bouakkaz A., Cachard C., Gimenez G., "Evaluation de l'agar, matériau solide présentant des caractéristiques acoustiques équivalentes à celles de l'eau", *J. Phys. III* 4 (1994).