



**HAL**  
open science

# Estimation et commande robustes de culture de microalgues pour la valorisation biologique de CO<sub>2</sub>.

Rayen Filali

► **To cite this version:**

Rayen Filali. Estimation et commande robustes de culture de microalgues pour la valorisation biologique de CO<sub>2</sub>.. Autre. Supélec, 2012. Français. NNT : 2012SUPL0007 . tel-00765421

**HAL Id: tel-00765421**

**<https://theses.hal.science/tel-00765421>**

Submitted on 14 Dec 2012

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



N° d'ordre : 2012-07-TH

## THÈSE DE DOCTORAT

DOMAINE : STIC  
SPECIALITE : AUTOMATIQUE

Ecole Doctorale « Sciences et Technologies de l'Information des  
Télécommunications et des Systèmes »

*Présentée par :*

**Rayen FILALI**

Sujet :

**Estimation et commande robustes de culture de  
microalgues pour la valorisation biologique de CO<sub>2</sub>**

Soutenue le 11 Juin 2012 devant les membres du jury :

<b>M. Francis Courtois</b>	AgroPariTech Massy	Rapporteur
<b>M. Sette Diop</b>	LSS-CNRS	Invité
<b>M. Didier Dumur</b>	SUPELEC	Co-encadrant
<b>Mme Claire Joannis-Cassan</b>	ENSIACET	Examinatrice
<b>Mme Filipa Lopes</b>	Ecole Centrale Paris	Co-encadrante
<b>M. Hugues Mounier</b>	LSS-CNRS	Président du jury
<b>M. Eric Ostertag</b>	Université de Starsbourg	Rapporteur
<b>Mme Dominique Pareau</b>	Ecole Centrale Paris	Invitée, co-encadrante
<b>Mme Sihem Tebbani</b>	SUPELEC	Directrice de thèse
<b>Mme Mariana Titica</b>	Université de Nantes	Examinatrice



*A la mémoire de ma grand-mère Liliane*

*A mes parents*

*A mes sœurs*

*A Cristina*



---

# REMERCIEMENTS

Je remercie particulièrement mon directeur de thèse, Sihem Tebbani, pour sa grande disponibilité, son apport scientifique indéniable et la qualité exceptionnelle de son encadrement tout au long de l'élaboration de ma thèse, profitant de son approche rigoureuse, de ses précieux et nombreux conseils dans le domaine des Bioprocédés et celui de l'Automatique. Je lui demeure reconnaissant pour ses qualités humaines qui m'ont accompagné jusqu'à la réussite de cette thèse.

Je remercie sincèrement Didier Dumur pour sa constante disponibilité et son implication tout au long de cette thèse dont il a co-dirigé les travaux et avec lequel j'ai eu le privilège de bénéficier tant de sa rigueur que de sa richesse scientifique qui ont été d'une aide précieuse pour les mener à terme.

Je remercie vivement Arsène Isambert, un de mes encadrants lors de la première année de cette thèse, pour ses qualités humaines, pour avoir cru en mes capacités et en mes possibilités et pour m'avoir initié, de par son expérience exceptionnelle et de sa richesse scientifique, au monde des microalgues. J'ai eu l'immense privilège de bénéficier de son savoir-faire et de ses connaissances dans le domaine des Bioprocédés.

J'adresse ma profonde gratitude à Dominique Pareau pour avoir accepté de co-encadrer ces travaux de recherche et pour ses précieuses et nombreuses discussions et conseils qui ont orienté mes recherches tout au long de cette thèse. Ce fut un vrai plaisir de travailler avec elle pendant ces trois années de thèse. Je la remercie pour son appui, son soutien et sa persévérance.

Je remercie Filipa Lopes, qui a également accepté de co-encadrer ces travaux de thèse. Je lui exprime toute ma reconnaissance pour les conseils enrichissants, aux plans théorique et pratique dans le domaine de la biologie. Son soutien et sa disponibilité m'ont été d'un grand apport dans l'accomplissement de ces travaux.

Je tiens particulièrement à remercier tous les membres du Jury pour avoir accepté d'évaluer mes travaux. Un grand merci à Hugues Mounier d'avoir accepté de présider le Jury. Ma reconnaissance va également à Eric Ostertag et à Francis Courtois en leur qualité de rapporteurs de cette thèse, pour le temps qu'ils ont passé à lire le manuscrit et pour les commentaires constructifs qu'ils m'ont adressé et qui ont permis d'améliorer la qualité du mémoire de thèse. Je tiens à remercier également Mariana Titica, Claire Joannis-Cassan et Sette Diop pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

J'exprime ma gratitude à Patrick Boucher, ancien chef du département d'Automatique de Supélec et à Patrick Perre pour m'avoir accueilli, respectivement, dans le service Automatique et le laboratoire de Génie des Procédés et Matériaux et de m'avoir permis d'exploiter les différentes ressources matérielles mises à ma disposition et de réaliser les différentes campagnes de culture sur le banc d'essai.

---

J'exprime toute ma reconnaissance à Moncef Stambouli pour son soutien et sa constante assistance tout au long de cette thèse. Un très grand merci pour tous ses précieux conseils qui m'ont permis de bien gérer tous les moments tendus vécus durant cette expérience.

Je désire également dire un grand « Gracias » à Guiliana Becerra Barraud pour sa gentillesse, ses conseils et son soutien si précieux tout au long de cette thèse. Elle a été toujours présente pour me faire profiter de son expérience et elle a toujours su trouver les bons mots pour me motiver tout au long de cette expérience. Mille Merci Gugu !! Je souhaite également exprimer ma reconnaissance à Jean-Michel Alexandre pour sa disponibilité, ses qualités humaines et scientifiques et son soutien constant qui ont été essentiels dans le bon déroulement de cette thèse.

J'adresse ma plus profonde gratitude à Cyril Breton pour son apport indéniable à la bonne réalisation de ces travaux. Je me rappellerais toujours de ces frayeurs avec la sonde, à ces journées devant le réacteur. Je ne saurais jamais assez te remercier pour ta joie de vivre, la bonne humeur, la disponibilité et l'aide si précieuse que tu m'as procuré durant toutes les campagnes expérimentales. Je souhaite beaucoup de bonheur au nouveau papa ! Je remercie également Thierry Martin pour sa présence, sa disponibilité constante, ses conseils et échanges très appréciables qui m'ont garanti un environnement de travail très agréable pour la réalisation des campagnes de culture.

J'adresse ma plus profonde gratitude envers les différents membres de l'équipe du laboratoire du Génie des Procédés et Matériaux de l'ECP et celle du département d'Automatique de Supélec pour leur accueil si chaleureux, leur sociabilité et leur disponibilité qui ont permis de créer un environnement très agréable et extrêmement favorable au bon déroulement de cette thèse.

A titre personnel et familial, mes meilleures pensées vont mes parents, ma mère Nadia et mon père Taieb à qui je dois mon avenir et mes succès. Les mots sont peu de choses pour exprimer ma reconnaissance pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour m'assurer un environnement favorable, afin que je puisse atteindre mes objectifs dans ma vie. Je leur dédie cette réussite et ce travail. Mes meilleures pensées s'adressent aussi à mes deux sœurs Rania et Cyrine à qui je dédie ce travail en signe de la profonde et indéfectible affection que je leur porte et leur adresse tous mes vœux de réussite.

Mes pensées vont également à feu ma grand-mère Liliane qui me manque et qui a toujours cru en moi, à feu mes grands parents Slaheddine Bey et Abdelkader Filali et à ma grand-mère Khadija Filali. Je dédie ce travail à la famille Filali et Housseini pour leur soutien et leur présence ainsi qu'à mon oncle Walid qui a été un tremplin pour mon expérience en France.

Cette thèse n'aurait pas été la même sans ma compagne Cristina à qui j'exprime toute ma reconnaissance pour sa présence, son soutien et son réconfort constant tout au long de cette thèse. J'adresse enfin toute ma gratitude à la famille Kasraoui pour leur gentillesse et leur apport indéniable pour cette thèse, à mes amis proches pour leur soutien tout au long de cette expérience et à Faycel Bey qui a été le principal initiateur de mon expérience dans la recherche.

# AVANT-PROPOS

Les travaux de recherche présentés dans cette thèse se sont déroulés au sein du département Automatique de Supélec et du laboratoire de Génie des Procédés et Matériaux de l'Ecole Centrale Paris. Les résultats obtenus ont donné lieu à la publication d'un certain nombre d'articles à l'occasion de différents congrès internationaux avec actes et sans actes et d'une communication nationale sans actes.

## ❖ Conférences internationales avec actes

- Filali R., Tebbani S., Dumur D., Isambert A., Pareau D. et Lopes F., Identification of the growth model parameters for a culture of *Chlorella vulgaris* in a photobioreactor, 11<sup>th</sup> Computer applications in biotechnology, Louvain, Belgique, Juillet, (2010).
- Filali R., Tebbani S., Dumur D., Isambert A., Pareau D. et Lopes F., Growth modeling of the green microalga *Chlorella vulgaris* in an air-lift photobioreactor, 18<sup>th</sup> IFAC World Congress, Milan, Italie, Août, (2011).
- Filali R., Tebbani S., Dumur D., Diop S, Isambert A., Pareau D. et Lopes F., Estimation of *Chlorella vulgaris* growth rate in a continuous photobioreactor, 18<sup>th</sup> IFAC World Congress, Milan, Italie, Août, (2011).
- Filali R., Badea C. A., Tebbani S., Dumur D., Pareau D. et Lopes F., Growth Interval observer for *Chlorella vulgaris* culture in a photobioreactor, IEEE Multi-Conference on Systems and Control, Denver, USA, 28-30 Septembre, (2011).
- Filali R., Badea C.A., Tebbani S., Dumur D., Diop S, Pareau D. et Lopes F., Optimization of the interval approach for *Chlorella vulgaris* biomass estimation, 50<sup>th</sup> IEEE Conference on Decision and Control and European Control Conference, Orlando, Florida, USA, 12-15 Decembre (2011).
- Filali R., Tebbani S., Dumur D., Diop S, Pareau D. et Lopes F., Nonlinear predictive control for continuous *Chlorella vulgaris* culture in a photobioreactor, 20<sup>th</sup> Mediterranean Conference on Control and Automation, Barcelone, Espagne, 3-6 Juillet, (2012).

## ❖ Conférences internationales sans actes

- Filali R., Tebbani S., Dumur D., Isambert A., Pareau D. et Lopes F., Identification of the growth model parameters for a culture of *Chlorella vulgaris* in a photobioreactor, 8<sup>th</sup> European Workshop "Biotechnology of microalgae", Berlin, Allemagne, Juin, (2010).

## ❖ Communications nationales sans actes

- Filali R., Tebbani S., Dumur D., Isambert A., Pareau D. et Lopes F., Modélisation et synthèse d'observateur pour un photobioréacteur de culture de microalgues, journée de travail « *Les biotechnologies au service de l'environnement et de l'énergie: Apport de l'Automatique* », Supélec, Décembre, (2010).





# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>13</b>
CONTEXTE ET MOTIVATIONS .....	13
ORGANISATION DE LA THESE .....	14
<b>1 LES MICROALGUES.....</b>	<b>17</b>
1.1 DEFINITION ET ORIGINE DES MICROALGUES .....	17
1.1.1 Caractéristiques .....	18
1.1.2 Classification.....	19
1.2 APPLICATIONS DES MICROALGUES.....	20
1.2.1 Domaine alimentaire.....	20
1.2.2 Domaine pharmaceutique .....	21
1.2.3 Domaine cosmétique .....	22
1.2.4 Domaine énergétique .....	22
1.2.5 Domaine environnemental .....	25
1.3 OBJECTIFS DE NOTRE ETUDE : STRATEGIE DE BIO-FIXATION DE $CO_2$ .....	28
1.3.1 Sélection de l'espèce de microalgue .....	29
1.3.2 Optimisation de la conception du photobioréacteur pour la stratégie de bio-fixation du $CO_2$ .....	31
1.3.3 Choix de l'espèce algale.....	31
1.4 CONCLUSION .....	33
<b>2 MODELISATION DU BIOPROCEDE.....</b>	<b>35</b>
2.1 INTRODUCTION .....	35
2.2 MODES DE FONCTIONNEMENT DES CULTURES ALGALES .....	35
2.3 MODELE RETENU DANS LE CADRE DE LA THESE.....	39
2.4 CONCLUSION .....	42
<b>3 IDENTIFICATION DES PARAMETRES DU MODELE</b>	
<b>D'EVOLUTION DE <i>CHLORELLA VULGARIS</i>.....</b>	<b>43</b>
3.1 INTRODUCTION .....	43
3.2 MODELISATION DU SYSTEME .....	44
3.2.1 Equation d'état relative à l'évolution de la biomasse.....	44
3.2.2 Equation d'état relative à l'évolution du carbone inorganique total.....	45
3.2.3 Cinétique de croissance de <i>Chlorella vulgaris</i> .....	47
3.3 DETERMINATION EXPERIMENTALE DU COEFFICIENT DE TRANSFERT GAZ-LIQUIDE	
« $K_{LA}$ ».....	48
3.4 IDENTIFICATION EXPERIMENTALE DU RENDEMENT DE CONVERSION « $Y_{X/CIT}$ » .....	52
3.5 IDENTIFICATION DES PARAMETRES DU MODELE.....	54
3.5.1 Procédure d'identification des paramètres du modèle de la lumière.....	54
3.5.2 Identification paramétrique du modèle de croissance .....	56

3.5.3	<i>Validation du modèle de croissance</i> .....	59
3.6	CONCLUSION .....	63
<b>4</b>	<b>ESTIMATION DE LA CONCENTRATION EN BIOMASSE</b> .....	<b>65</b>
4.1	INTRODUCTION .....	65
4.2	ETAT DE L'ART .....	66
4.3	FILTRE DE KALMAN.....	68
4.3.1	<i>Principe</i> .....	68
4.3.2	<i>Application au système étudié</i> .....	70
4.3.3	<i>Mise en œuvre en simulation</i> .....	71
4.4	OBSERVATEUR ASYMPTOTIQUE .....	75
4.4.1	<i>Principe</i> .....	76
4.4.2	<i>Application au système étudié</i> .....	77
4.4.3	<i>Performances en simulation</i> .....	79
4.5	OBSERVATEUR PAR INTERVALLES .....	80
4.5.1	<i>Principe</i> .....	80
4.5.2	<i>Application au système étudié</i> .....	82
4.5.3	<i>Réglage des gains de l'observateur par intervalles</i> .....	88
4.5.4	<i>Performances en simulation</i> .....	90
4.6	VALIDATION EXPERIMENTALE .....	99
4.7	CONCLUSION .....	101
<b>5</b>	<b>MISE EN ŒUVRE D'UNE LOI DE COMMANDE PREDICTIVE NON-LINEAIRE</b> .....	<b>103</b>
5.1	INTRODUCTION .....	103
5.2	ETAT DE L'ART .....	103
5.3	COMMANDE PREDICTIVE.....	105
5.3.1	<i>Bref historique de la commande prédictive</i> .....	105
5.3.2	<i>Principe de la commande prédictive</i> .....	106
5.3.3	<i>Commande prédictive non-linéaire</i> .....	108
5.4	APPLICATION AU SYSTEME ETUDIE .....	110
5.4.1	<i>Objectif de commande</i> .....	111
5.4.2	<i>Formulation mathématique de la commande prédictive non-linéaire</i> .....	111
5.5	PERFORMANCES EN SIMULATION .....	118
5.5.1	<i>Simulation du cas nominal</i> .....	118
5.5.2	<i>Analyse de robustesse</i> .....	122
5.5.3	<i>Conclusion</i> .....	125
5.6	VALIDATION EXPERIMENTALE DE LA COMMANDE PREDICTIVE NON-LINEAIRE .....	126
5.6.1	<i>Commande couplée avec le filtre de Kalman</i> .....	126
5.6.2	<i>Commande couplée avec l'observateur par intervalles</i> .....	130
5.6.3	<i>Validation des performances par rapport à la GMC</i> .....	134
5.7	CONCLUSION .....	139
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONS &amp; PERSPECTIVES</b> .....	<b>141</b>

6.1	CONCLUSIONS .....	141
6.2	PERSPECTIVES .....	144
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>		<b>147</b>
<b>ANNEXES .....</b>		<b>171</b>
ANNEXE A1 .....		173
A1.1 FACTEURS INFLUENÇANT LA CULTURE ALGALE .....		173
A1.1.1 Lumière .....		173
A1.1.2 Température .....		174
A1.1.3 pH .....		174
A1.1.4 Nutriments .....		175
A1.1.5 Salinité du milieu .....		176
A1.1.6 Caractéristiques intrinsèques du réacteur .....		177
A1.2 SYSTEME DE CULTURE .....		177
A1.2.1 Systèmes ouverts .....		177
A1.2.2 Systèmes fermés "photobioréacteurs" .....		179
ANNEXE A2 .....		183
A2.1 DISPOSITIF EXPERIMENTAL : BANC D'ESSAI D'UN PHOTOBIOREACTEUR DE 9,6 L .....		183
A2.1.1 Stérilisation du matériel utilisé .....		183
A2.1.2 Maintenance des précultures .....		184
A2.1.3 Choix du milieu de culture .....		184
A2.1.4 Description du photobioréacteur .....		185
A2.1.5 Méthode d'analyse .....		189
A2.2 DISTRIBUTION DU TEMPS DE SEJOUR « DTS » .....		193
A2.3 ETAT DE L'ART : MODELES DE CROISSANCE APPLIQUES DANS LES BIOPROCEDES .....		195
A2.3.1 Modèle de Monod .....		196
A2.3.2 Modèle de Haldane .....		196
A2.3.3 Modèle de Contois .....		197
A2.3.4 Modèles portant sur l'influence de la lumière .....		197
A2.3.5 Modèles portant sur l'influence du carbone .....		200
A2.3.6 Modèles portant sur l'influence simultanée du carbone et de la lumière .....		200
A2.3.7 Modèles portant sur l'influence d'autres paramètres environnementaux .....		201
ANNEXE A3 .....		209
A3.1 OBSERVABILITE DES SYSTEMES .....		209
A3.2 PRECISION DE L'OBSERVATEUR PAR INTERVALLES .....		210
A3.2.1 Cas d'incertitudes sur les paramètres du modèle de croissance uniquement .....		210
A3.2.2 Cas d'incertitudes sur l'ensemble des paramètres .....		211
ANNEXE A4 .....		215
A4.1 COMMANDABILITE DES SYSTEMES .....		215
A4.2 VALIDATION EXPERIMENTALE DE LA GMC COUPLEE AU FILTRE DE KALMAN .....		215
A4.2.1 Réponse à un échelon de consigne .....		215
A4.2.2 Analyse de la robustesse de la GMC .....		217
ANNEXE A5 - GLOSSAIRE .....		221



---

# Introduction générale

---

## Contexte et motivations

Les microalgues sont des micro-organismes photosynthétiques qui présentent une grande diversité morphologique et des caractéristiques biochimiques intéressantes qui leur confèrent un grand nombre d'applications à l'échelle scientifique et industrielle dans différents domaines à savoir : la production de molécules à hautes valeurs ajoutées exploitées dans le domaine pharmaceutique et cosmétique, l'alimentation humaine et animale et la production d'énergie renouvelable à travers la synthèse biologique d'hydrogène, de méthane et de carburant.

Le développement des technologies environnementales a pris une place de plus en plus importante dans la politique mondiale actuelle. En effet, du fait des conséquences du réchauffement climatique et des émissions importantes de gaz à effet de serre, plusieurs études se sont orientées vers le rôle potentiel des systèmes biologiques, et plus spécialement l'implication de la biotechnologie microalgale, dans la réduction et l'élimination de ces émissions. Une des pistes prometteuses consiste dans la bio-fixation du dioxyde de carbone par les microalgues, celui-ci étant le principal gaz à effet de serre.

Le principe de la séquestration du dioxyde de carbone par les microalgues repose sur la fonction photosynthétique de ces micro-organismes afin de consommer le  $CO_2$ . En présence de lumière, les microalgues sont capables d'assimiler le  $CO_2$  afin de synthétiser l'oxygène, les métabolites secondaires et pour croître. L'application des microalgues à des fins environnementales représente ainsi une solution très prometteuse compte tenu de leurs potentiels et des différents avantages relatifs à leur vitesse de croissance et activité photosynthétique, nettement plus importante que celle des plantes terrestres, de leur forte tolérance vis-à-vis de concentrations élevées en  $CO_2$  et la possibilité de contrôle des conditions de cultures dans des réacteurs instrumentés.

La stratégie de fixation de  $CO_2$  par les microalgues repose sur une démarche spécifique qui s'appuie dans un premier temps sur une phase de sélection de l'espèce algale ayant les propriétés métaboliques et biochimiques adéquates pour la consommation du  $CO_2$  ; et dans un deuxième temps, sur l'optimisation des conditions opératoires du procédé de culture choisi. Plusieurs espèces de microalgues, tels que *Chlorella* et *Spirulina*, sont considérées comme des candidates potentielles pour la bio-fixation du dioxyde de carbone.

A l'heure actuelle, l'exploitation industrielle de la culture de microalgues pour la séquestration du  $CO_2$  est peu présente, du fait essentiellement des difficultés d'instrumentation, de mesures et de modélisation pour ce type d'application. Aussi, une étape importante et incontournable réside dans la culture de microalgues à petite échelle, afin de mettre au point des outils performants et robustes, capables de commander le système de culture de microalgues, pour séquestrer efficacement le  $CO_2$  d'une part, et pouvant être transposé et appliqué sur des systèmes de culture à grande échelle d'autre part.

Dans ce cadre, l'objectif de cette thèse est de développer des stratégies d'estimation et de lois de commande robustes pour la culture de *Chlorella vulgaris* dans un photobioréacteur afin de maximiser la consommation du  $CO_2$  sous des conditions opératoires contrôlées.

Ces travaux de recherche se situent à la jonction de deux grands domaines : les Bioprocédés et l'Automatique. Le travail proposé dans la suite de ce manuscrit combine donc des compétences et connaissances de ces deux domaines, pour aboutir au final à une solution fiable et robuste pour optimiser le mécanisme de consommation du  $CO_2$ .

Dans un premier temps, A partir d'une étude bibliographique sur les diverses espèces appliquées dans la stratégie de bio-fixation du  $CO_2$ , nous avons choisi une microalgue qui présente une tolérance élevée vis à vis des concentrations élevées de  $CO_2$  et une capacité importante de séquestration de  $CO_2$ . Les conditions optimales de culture ont été déterminées. Ensuite, nous avons développé et validé un modèle de croissance de cette algue dans le cas d'une culture en continu par des tests expérimentaux sur un photobioréacteur de laboratoire.

Une deuxième grande partie a consisté à l'élaboration conjointe d'observateurs permettant de reconstituer les grandeurs nécessaires non accessibles en ligne et de stratégies de commande robustes assurant le maintien de la culture dans des conditions optimales de fonctionnement. Pour cela, la démarche suivie a utilisé le modèle de croissance de l'espèce sélectionnée et a développé des observateurs permettant de reconstruire les variables du système non mesurables en temps réel nécessaires à la mise en place de la stratégie de commande. Cette dernière aura pour but de maintenir la culture dans des conditions optimales de fonctionnement.

Cette thèse est issue de la collaboration entre deux équipes. La première équipe est celle du Département Automatique de SUPELEC mettant en avant ses compétences et son savoir-faire en termes d'identification, de synthèse d'observateurs et d'élaboration de lois de commandes applicables à des bioprocédés. La seconde équipe est celle du Laboratoire de Génie des Procédés et Matériaux (LGPM) de l'Ecole Centrale Paris (ECP) mettant en avant ses connaissances en termes de systèmes de mise en culture des microalgues, de sa modélisation mathématique (bilans massiques et de transfert gazeux au sein du photobioréacteur, de cinétiques de croissances).

### Organisation de la thèse

Nos travaux s'orientent vers une des applications de la biotechnologie microalgale, à savoir la séquestration du  $CO_2$  dans un système de culture contrôlé. L'optimisation de ce procédé repose sur trois axes principaux. Un premier axe porte sur la modélisation macroscopique de la cinétique de croissance de l'algue choisie, *Chlorella vulgaris*, et sur l'optimisation des différents paramètres de culture. L'étude de l'hydrodynamique du bioréacteur a été également réalisée. Un second axe aborde l'estimation de la biomasse algale par la mise en place d'observateurs utilisant les différentes mesures disponibles (carbone inorganique total, pH, pression partielle en  $CO_2$ ). Le dernier axe correspond à la partie commande à travers une maximisation de la consommation du  $CO_2$  par *Chlorella vulgaris*.

Ce manuscrit comprend cinq chapitres, les conclusions et perspectives de ces travaux de thèse et des annexes, dont le détail est donné ci-dessous :

✓ *Chapitre I : Les microalgues*

Ce chapitre présente les microalgues et leurs domaines d'exploitation et d'application. A partir de la thématique environnementale servant de fil conducteur

à nos travaux, le choix de l'algue adaptée pour mener à bien nos recherches est justifié.

✓ *Chapitre II : Modélisation du bioprocédé*

Ce chapitre est consacré à une présentation des différents modes de fonctionnement de cultures répertoriés dans le contexte de la biotechnologie algale. Un modèle mathématique sera, par la suite, retenu afin de caractériser la croissance des microalgues dans une culture. Ce modèle choisi servira comme base pour la partie estimation et commande.

✓ *Chapitre III : Identification des paramètres du modèle d'évolution de *Chlorella vulgaris**

Lors du chapitre précédent, un modèle paramétrique de croissance a été choisi permettant de mettre en évidence l'effet simultané de la limitation par la lumière mais également par la source carbonée, deux facteurs très importants au niveau de l'activité photosynthétique et de la croissance cellulaire des microalgues. Ce chapitre propose dès lors une identification expérimentale de tous les paramètres nécessaires à la mise en œuvre de ce modèle. La caractérisation de la cinétique de consommation du carbone inorganique total ainsi que l'identification des paramètres du modèle mathématique de croissance choisi sont enfin effectuées.

✓ *Chapitre IV : Estimation de la concentration en biomasse*

Après un récapitulatif bibliographique des différentes structures d'observateurs appliquées dans le cadre de cultures de microalgues, ce chapitre propose trois stratégies d'estimation de la concentration cellulaire (Filtre de Kalman étendu, observateur asymptotique et observateur par intervalles) utilisant les mesures disponibles de la concentration en carbone inorganique total. Une optimisation de l'approche par intervalles est également considérée au niveau du choix des gains de l'observateur. Ces algorithmes d'estimation sont tout d'abord validés en simulation dans l'environnement Matlab<sup>TM</sup>/Simulink®, avec une analyse de la robustesse vis-à-vis des incertitudes relatives aux paramètres du modèle et à la cinétique de consommation des espèces carbonées. La dernière étape repose sur une validation expérimentale de ces différentes approches d'estimation de la biomasse à travers des données expérimentales issues d'essais en mode continu.

✓ *Chapitre V : Mise en œuvre d'une loi de commande prédictive non-linéaire*

Après un récapitulatif bibliographique des différentes lois de commande appliquées aux cultures de microalgues, ce dernier chapitre propose la mise en œuvre d'une stratégie de commande robuste permettant de réguler la biomasse. La loi de commande prédictive non-linéaire ou « CPNL » a été développée. Une première étape consiste à analyser les performances de cette loi de commande à travers des simulations numériques sous environnement Matlab<sup>TM</sup>/Simulink®. La seconde étape est la validation en temps réel de la loi de commande prédictive couplée aux différentes stratégies d'estimation présentées durant le chapitre précédent. Les performances de cette commande robuste sont analysées à travers une étude comparative avec une seconde loi de commande non-linéaire : la commande par modèle générique ou « GMC ».

✓ *Conclusions et perspectives*

Cette partie permet de tirer un bilan global des différents travaux réalisés durant cette thèse. De même, des perspectives sont proposées dans la continuité de nos



travaux de thèse, en particulier au niveau de l'application des stratégies d'estimation et de lois de commande à des fins environnementales.

✓ *Annexes*

Ce manuscrit comporte cinq annexes. Une première annexe décrit l'influence des différents facteurs environnementaux sur une culture algale et dresse un état de l'art des différents systèmes de production de microalgues. Une deuxième annexe expose une description du dispositif expérimental appliqué durant ces travaux de thèse suivi d'une étude complémentaire pour la détermination de la distribution du temps de séjour afin de pouvoir exploiter les différents bilans massiques. Un état de l'art des modèles de croissance appliqués à la biotechnologie algale est également présenté. Une troisième annexe définit les notions d'observabilité des systèmes et présente la démarche de mise en œuvre de l'observateur par intervalles. La notion de commandabilité des systèmes et les résultats de la validation expérimentale de la *GMC* couplée au filtre de Kalman sont développés dans l'Annexe A4. Enfin, un glossaire, présenté en Annexe A5, récapitule tous les termes issus du domaine biologique nécessaires à la compréhension de ce manuscrit.

---

# 1 Les microalgues

---

Les organismes photosynthétiques suscitent un intérêt grandissant, en raison de leurs propriétés biologiques et métaboliques intéressantes. Le terme « microalgues » s'est progressivement imposé dans les mondes scientifique et industriel. En effet, depuis quelques années, la biotechnologie microalgale est devenue un thème de recherche privilégié permettant d'explorer et d'exploiter l'énorme potentiel de ces microorganismes intervenant au sein de nombreux systèmes et dans de multiples secteurs industriels comme les domaines énergétique, pharmaceutique, alimentaire et plus récemment environnemental.

Le premier chapitre de ce mémoire comporte une initiation, à travers une analyse bibliographique, à la notion de microalgues et aux différentes caractéristiques de ces microorganismes photosynthétiques. Une seconde partie présente les applications industrielles et commerciales de ces microorganismes. En dernier lieu, les objectifs de ce travail sont mis en perspective en liaison avec l'application environnementale des microalgues.

## 1.1 Définition et origine des microalgues

Les algues sont des organismes photosynthétiques qui se développent dans des habitats variés, majoritairement des environnements aquatiques, et qui sont capables de convertir l'énergie lumineuse et une source de carbone, le dioxyde de carbone ou «  $CO_2$  », en un ensemble de matières organiques ou « biomasse ». On distingue deux catégories principales d'algues : les « macroalgues » et les « microalgues ».

Les macroalgues sont des algues multicellulaires de taille proche du centimètre et qui croissent le plus souvent dans des bassins naturels d'eau douce ou d'eau salée. (Wen et Johnson, 2009). Ces organismes sont nécessaires aux écosystèmes côtiers en termes de composition, fonction et productivité (Taylor, 1957; Taylor, 1960; Littler et Littler, 2000; Dawes et Mathiesen, 2008). On distingue principalement trois groupes de macroalgues différenciés selon leur pigmentation : rouge, verte et marron.

Les microalgues ont une taille de l'ordre du micromètre et sont considérées comme des algues unicellulaires qui se développent en suspension principalement dans des solutions aqueuses (Wen et Johnson, 2009).

Ces microorganismes photosynthétiques sont considérés comme les premiers producteurs d'oxygène indispensable à la respiration de la majorité des êtres vivants. Leur existence remonte dans les océans à plus de trois milliards d'années ; ils sont à l'origine de la transformation de la composition atmosphérique (fixation de  $CO_2$  et rejet de  $O_2$ ) et ont permis la vie végétale et animale sur notre planète. Souvent désignées sous la dénomination de "*Phytoplankton*" (Sumi, 2009), les microalgues représentent une source d'alimentation pour les premières étapes larvaires (Coutteau et al., 1997) comme pour les êtres humains de par leur composition biochimique adaptée (Yúfera et Lubián, 1990; Brown et al, 1997).

La première culture unialgale a été réalisée par Beijerinck (1890) avec l'espèce *Chlorella vulgaris*. Ces micro-usines photosynthétiques présentent des caractéristiques similaires aux

plantes terrestres, mais leur structure morphologique, permettant une meilleure accessibilité de l'eau, du dioxyde de carbone et des autres nutriments, leur permet d'avoir une efficacité photosynthétique supérieure (Carlsson et al., 2007). La photosynthèse se fait par le biais de la chlorophylle *a*, principalement, ainsi que d'autres pigments photosynthétiques.

Leurs capacités d'adaptation et de survie sont telles qu'elles sont aptes à coloniser tous types de milieux. On les trouve aussi bien dans les eaux thermales que dans les glaces, dans les eaux acides ou encore hyper salées, dans les grottes, associées sous forme de symbioses avec tout type d'organisme vivant et même parasites, entre autres de l'homme. Elles sont également capables de se développer sur des surfaces rigides, telles que les murs ou les troncs d'arbres et même sur les structures immergées (Becerra Celis, 2009). Certaines espèces peuvent supporter des températures très faibles ou paradoxalement extrêmes (Couté, 1995). Cette faculté d'adaptation est le résultat de leurs propriétés morphologiques ainsi que de leur capacité de synthèse de différentes variétés de métabolites secondaires (Becerra Celis, 2009).

### 1.1.1 Caractéristiques

Ces microorganismes synthétisent, par le biais de la photosynthèse, de l'oxygène et des métabolites organiques primaires tels que les glucides, les lipides et les protéines. Du point de vue structure cellulaire, la microalgue présente un noyau et une membrane plasmique contenant des organites essentiels à son fonctionnement tels que les chloroplastes, les amyloplastes, les oléoplastes et les mitochondries. Elle contient trois principaux types de pigments qui sont les chlorophylles, les caroténoïdes et les phycobiliprotéines.

Les microalgues présentent des formes variables : souvent sphériques (*porphyridium*), en forme de croissant (*clostridium*), de spirale (*Arthrospira*), de gouttelette (*chlamydomonas*) et même d'étoile (*Staurastrum*) (cf. figure 1.1).

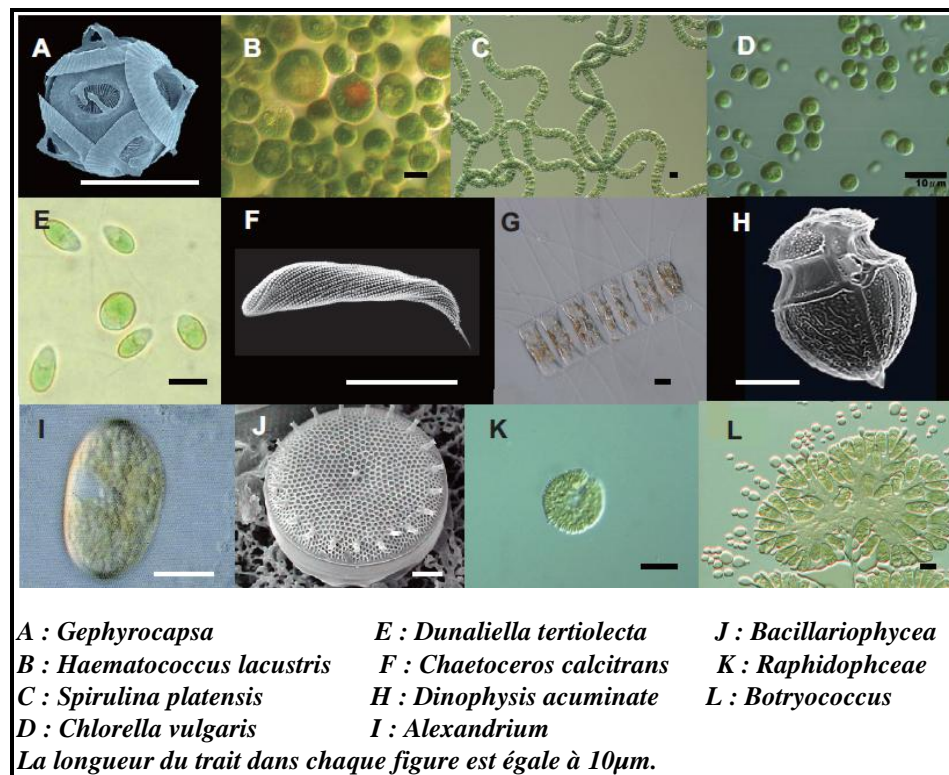


Figure 1.1 : Diversité morphologique des microalgues (Sumi, 2009)

Du point de vue nutrition, les microalgues sont majoritairement « *photoautotrophes* » mais elles peuvent être également « *hétérotrophes* » ou « *mixotrophes* ». Un métabolisme autotrophe se traduit par l'utilisation d'une source de carbone inorganique comme le dioxyde de carbone ou le bicarbonate tandis que le métabolisme hétérotrophe est caractérisé par une consommation de carbone organique comme source de carbone pour leur développement; les mixotrophes utilisent les deux types de source de carbone.

### 1.1.2 Classification

Ces microorganismes sont classés selon leurs propriétés morphologiques (Fogg, 1953), la nature de leur cycle de vie, la nature chimique des produits photosynthétiques de réserve (produit d'accumulation intracellulaire), l'organisation de leurs membranes photosynthétiques (Carlsson et al., 2007) ou leur pigmentation. On dénombre plus de 30 000 espèces différentes de microalgues ; seulement cinquante d'entre elles sont étudiées de manière détaillée dans les laboratoires de recherche et une dizaine d'espèces sont exploitées au niveau industriel et commercial. On distingue principalement deux grands groupes de microalgues.

- ✓ **Les procaryotes :** Ce sont des organismes unicellulaires qui sont dépourvus de noyau et ne présentent que très rarement des organites cellulaires.
  - *Les Cyanophycées :* appelées également cyanobactéries, sont des microalgues procaryotes de coloration bleue-verte qui présentent une forte tolérance vis-à-vis des températures extrêmes (Lechevalier et al., 1977 ; Pulz et al., 2004). Elles sont approximativement 2000 espèces dans ce groupe (Alcaine, 2010) pouvant être divisées en 150 genres. Ces microalgues sont répandues dans toutes les variétés d'habitats aquatiques. Les espèces les plus connues sont *Spirulina (Arthrospira) plantensis*, *Nostoc commune* et *Aphanizomenon flos-aquae* (Pulz et al., 2004). Une seconde classe de cyanobactéries, les "*Prochlorophyta*", présente une spécificité au niveau de la pigmentation avec une absence totale de phycobiliprotéines, mais une présence de chlorophylle *a* et *b* (Pulz et al., 2004).
- ✓ **Les eucaryotes :** Ce sont des organismes uni ou pluricellulaires qui présentent une structure complexe contenant un noyau entouré d'une membrane ainsi que plusieurs organites intracellulaires.
  - *Les Diatomées :* appelées aussi les "*bacillariophycées*". Ce sont des microorganismes unicellulaires photosynthétiques qui constituent le groupe dominant du règne des microalgues avec plus de 100 000 espèces connues. Ces algues sont répandues dans tous les types d'habitats et présentent comme principales réserves (produit d'accumulation intracellulaire) le « *chrysolaminaran* » (type de polysaccharide) et de l'huile.
  - *Les Chlorophycées :* ce sont des microalgues vertes qui colonisent une grande variété d'habitats. Elles sont très abondantes dans les eaux douces. Ces microorganismes présentent des formes filamenteuses (Pulz et al., 2004). On dénombre actuellement 8 000 espèces, dont 1 000 sont des chlorophytes marines (Alcaine, 2010). Les espèces les plus connues sont *Chlorella*, *Chlamydomonas*, *Dunaliella* ainsi que *Haematococcus* (Pulz et al., 2004).
  - *Les Chrysophycées :* ce sont des algues dorées qui se répandent essentiellement dans les eaux douces. On répertorie environ 1 000 espèces avec des caractéristiques similaires à celles des diatomées du point de vue pigmentation et structure biochimique (Alcaine, 2010).

- *Les Euglenophycées* : elles sont répandues dans les eaux saumâtres et douces. On compte plus de 800 espèces qui présentent des réserves constituées essentiellement d'une substance glucidique, le "paramylon", et d'huile.
- *Les Rhodophycées* : ce sont des algues de pigmentation rouge qui sont capables de se développer dans les eaux saumâtres et salées. Cette classe comprend près de 400 espèces présentant dans la majorité des cas un métabolisme photoautotrophe (Lechevalier et al., 1977).

## 1.2 Applications des microalgues

Au vu de leur biodiversité et leurs propriétés biochimiques, les microalgues se révèlent très prometteuses pour de nombreuses applications dans des domaines variés tels que l'industrie pharmaceutique, agro-alimentaire, l'environnement et les énergies renouvelables (cf. figure 1.2).

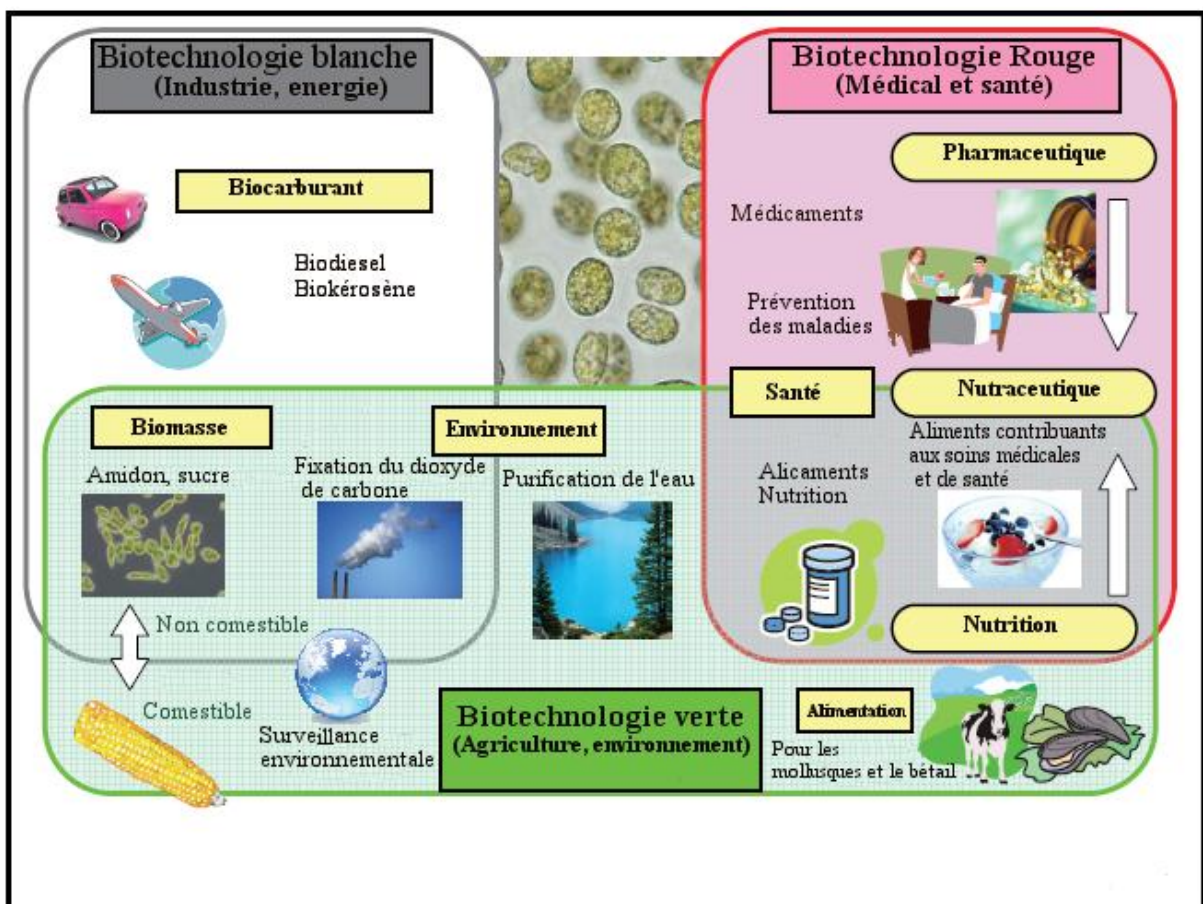


Figure 1.2 : Diversité du champ d'application des microalgues (Sumi, 2009)

### 1.2.1 Domaine alimentaire

Les microalgues constituent un réel apport nutritif. Ces microorganismes sont utilisés dans l'alimentation animale et humaine, et dans l'aquaculture (Pulz et al., 2004). La biomasse peut être produite sous forme de poudre, tablettes, capsules, pastilles....

Au niveau de l'alimentation humaine, deux espèces de microalgues, *Chlorella* et *Spirulina*, dominent le marché mondial. L'apport de la biomasse microalgale peut se traduire par un effet général immuno-modulateur (Belay, 1993 ; Osinga et al., 1999). La biomasse peut également être source d'aliments fonctionnels « alicaments » ; de fait, le marché des aliments

fonctionnels représente un des marchés les plus dynamiques de l'industrie alimentaire. Plusieurs pays, dont l'Allemagne, la France, le Japon, la Chine et la Thaïlande, ont ainsi commencé à orienter leur secteur alimentaire vers le marché des aliments fonctionnels issus des microalgues et des cyanobactéries comme sources de protéines, de vitamines (Pulz et al., 2004). Les microalgues sont considérées comme une source potentielle d'AGPI (Jiang et al., 1999), destinée à l'alimentation humaine et animale. Ces organismes sont susceptibles de synthétiser des AGPI de la série  $\omega 3$  comme l'acide eicosapentaénoïque « EPA », l'acide docosahexaénoïque « DHA » et l'acide  $\alpha$ -linoléique « LNA », et les AGPI de la série  $\omega 6$  comme l'acide arachidonique « AA » et l'acide linoléique « LA ». Ces AGPI sont utilisés en nutrition humaine et animale pour leurs vertus thérapeutiques sur certaines maladies. Les microalgues ont un potentiel intéressant de production de pigments (Lorenz et Cysewski, 2000). Les caroténoïdes sont de plus en plus employés dans l'industrie alimentaire, suite à la pression du consommateur et à l'augmentation des réglementations limitant l'utilisation des colorants artificiels (Gordon et Bouernfeind, 1982). Le  $\beta$ -carotène est un pigment synthétisé par l'algue *Dunaliella* et est utilisé comme colorant en industrie alimentaire. D'autres caroténoïdes, tel que l'astaxanthine synthétisé par l'algue *Haematococcus*, la lutéine, zéaxanthine et canthaxanthine sont des antioxydants utilisés en alimentation humaine, animale et en aquaculture. Les phycobiliprotéines sont des pigments qui peuvent être utilisées comme colorants naturels en industrie alimentaire (comme l'huile de soja (Gouveia et al., 2007)). Les polysaccharides (polymères hydrosolubles) issues des microalgues sont exploités dans l'industrie agroalimentaire en tant que agents gélifiants ou épaississants (De la Noüe et al., 1988). Le glycérol (molécule intervenant dans les systèmes d'osmorégulation des microalgues), est exploité dans l'agroalimentaire comme édulcorant. C'est l'algue *Dunaliella salina* qui en est la plus riche.

### 1.2.2 Domaine pharmaceutique

Au vu de leur grande diversité biochimique, les microalgues représentent une source intéressante de molécules bioactives et de toxines utilisables dans le développement de nouveaux médicaments. Plusieurs études ont permis de mettre en évidence l'implication des microalgues dans le domaine pharmaceutique par l'identification de nouvelles molécules naturelles (Hoppe, 1979). Dans ce sens, la *tubercidine*, une molécule cytotoxique, a été identifiée chez la microalgue *Tolythrixbyssoides* ainsi que chez les cyanobactéries (Patterson et al., 1991). Elle présente une action effective *in vitro* contre un type de leucémie lymphoïde. D'autres démarches ont été entreprises, entre autres par « l'Institut National du Cancer » avec un programme de dépistage visant des activités antivirales et anticancéreuses. Les microalgues peuvent synthétiser des sulfolipides antiviraux (Gustafson et al. 1989). Les cyanobactéries suscitent actuellement un réel intérêt pour le développement de nouvelles molécules ayant une activité antibiotique et pharmacologique (Borowitzka, 1999). Ainsi, des extraits sélectionnés de plus de 900 souches de cyanobactéries ont permis de mettre en évidence une action inhibitrice anti-HIV. Des effets antiparasitaires ont été également détectés chez les microalgues *Spirogyra* et *Oedogonium* (Pulz et al., 2004). Les caroténoïdes ont des propriétés intéressantes en terme de protection par rapport à certaines pathologies (Tapiero et al., 2004). La fucoxanthine est un caroténoïde utilisé à des fins médicales (Moreau et al., 2006). Les phycobiliprotéines sont des chromoprotéines largement utilisées en immunologie, pour les marquages fluorescents (Fluorescence Activated Cell Sorting « FACS »), les immuno-essais, la microscopie en fluorescence et la cytométrie en flux « CMF » (Bermejo Romàn et al. 2002). Les polysaccharides extraites des microalgues trouvent des applications industrielles et commerciales dans le domaine médical (activités antioxydantes, antivirales,

anti-tumorales et anticoagulantes (Mayer et Lehmann, 2001 ; Mayer et Hamann, 2004 ; Smit, 2004)). Plusieurs molécules sont extraites chez des *Cyanobactéries* "*Spirulina platensis*" ainsi que chez certaines espèces appartenant à la classe des *Rhodophycées* "*Porphyridium purpureum*" et des *Chlorophycées* (Pulz et al., 2004).

Les microalgues produisent une large gamme de vitamines. Les vitamines *B12* et *E* ont un intérêt commercial (Borowitzka, 1988). Certaines études se sont focalisées sur la production de la vitamine *E* par des microalgues marines *Dunaliella tertiolecta* et *Tetraselmis suecica* (Carballo-Cárdenas et al., 2003). Toutefois l'utilisation des vitamines algales reste à l'état de la recherche.

Ces organismes photosynthétiques sont capables de synthétiser des antioxydants naturels (Zhang et al., 2003). Ces molécules comprennent les caroténoïdes, les enzymes de la famille des superoxydes dismutases « *SOD* », les enzymes de type catalase et le glutathion peroxydase vis-à-vis du peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ . D'autres composés tels la taurine et d'autres aminoacides soufrés, l'acide urique, pourraient aussi exercer une activité antioxydante (Muller-Feuga, 1996). L'intérêt de ces substances antioxydantes repose sur leur rôle dans diverses pathologies chroniques (athérosclérose, arthrose, cataracte, cancer, maladie de Parkinson etc.) ou aiguës (inflammation, choc septique, etc.). L'utilisation d'extraits de microalgues à forte teneur en antioxydants trouve des applications dans l'industrie pharmaceutique pour des thérapies contre certains types d'inflammation (Pulz et al, 2004). Des études récentes ont porté sur la recherche de nouvelles sources d'antioxydants parmi 23 microalgues (Li et al., 2006).

### 1.2.3 Domaine cosmétique

Plusieurs espèces de microalgues sont exploitées industriellement dans le domaine cosmétique, principalement les deux espèces *Arthrospira* et *Chlorella* (Stolz et Obermayer, 2005). Des extraits d'algues, ayant une activité antioxydante, sont exploités sur le marché dans la fabrication des produits de soin capillaire (Pulz et al., 2004), du visage et de la peau ainsi que dans les crèmes solaires. De même, la synthèse de protéines à partir de la souche *Arthrospira* entraîne une réparation des premiers signes de vieillissement de la peau alors que des extraits de *Chlorella vulgaris* permettent de stimuler la synthèse du collagène dans la peau induisant la réduction des rides (Spolaore et al., 2006). Les pigments issus des microalgues sont également utilisés dans le domaine cosmétique (Del Campo et al., 2000).

### 1.2.4 Domaine énergétique

La valorisation de la biomasse algale peut se traduire par la production de bioénergie sous forme d'électricité et/ou de chaleur par combustion directe, ou sous forme de biométhane après méthanisation ou sous forme de biocarburant ou d'hydrogène. Cependant, cette valorisation ne sera concurrentielle qu'avec une forte productivité de biomasse, une possibilité de récolte mécanique simple et un coût de production plus réduit que les procédés mettant en œuvre d'autres types de biomasse (Carlsson et al., 2007).

#### 1.2.4.1 Production de bio méthane

Plusieurs recherches ont permis de vérifier la faisabilité technique et commerciale de la production de bio méthane à partir de la biomasse marine, avec un potentiel intéressant (Chynoweth, 2002). Cependant, des verrous techniques tels que l'accessibilité des nutriments et les coûts de production élevés sont limitants. Un moyen permettant de réduire les coûts est par exemple le couplage avec la production de métabolites secondaires à haute valeur ajoutée.



Des espèces telles que *Gracilaria sp.* et *Macrocystis* représentent d'excellents organismes producteurs de biométhane.

#### 1.2.4.2 Production de biocarburant

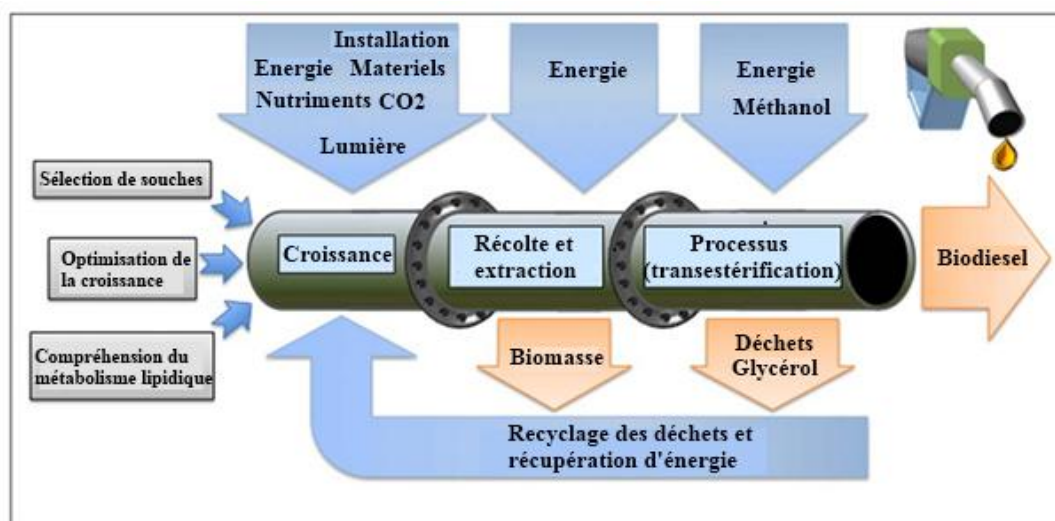
Considérant le contexte mondial actuel (hausse du prix du pétrole, raréfaction des ressources fossiles, production de gaz à effet de serre...), il est intéressant de considérer les microalgues comme source de production de différents types de biocarburant : le bio-oil (Demirbas, 2006 ; Miao et al., 2004a ; Miao et al., 2004b), et le biodiesel (Roessler et al., 1994 ; Sawayama et al., 1995 ; Dunahay et al., 1996 ; Sheehan et al., 1998 ; Banerjee et al., 2002 ; Gavrilesco et Chisti, 2005).

##### 1.2.4.2.1 Production de bio-oil

Le bio-oil représente une alternative intéressante aux biocarburants liquides. Il est produit par conversion thermochimique de la biomasse à haute température et en l'absence d'oxygène (Carlsson et al., 2007). On distingue deux procédés différents : la pyrolyse et la liquéfaction thermochimique (Demirbas, 2000). Plusieurs études se sont intéressées à l'implication des microalgues dans la synthèse du bio-oil (Dote et al., 1994 ; Sawayama et al., 1999 ; Peng et al., 2000 ; Peng et al., 2001a ; Peng et al., 2001b ; Tsukahara and Sawayama, 2005 ; Demirbas, 2006). Les pistes d'amélioration de ce type de procédé concernent bien sûr les coûts de production, l'optimisation du système de culture et des étapes de séparation et de récolte. Au niveau laboratoire, il a été prouvé que la qualité du biocarburant est favorisée par une culture hétérotrophique et un contrôle des paramètres du système de culture (Miao et al., 2004a).

##### 1.2.4.2.2 Production de biodiesel

La voie la plus intéressante concerne les biocarburants de deuxième et troisième générations (production d'éthanol à partir de matières lignocellulosiques et la production de biodiesel à partir des microalgues) (cf. figure 1.3). Cette voie prometteuse permet de remédier aux principaux inconvénients observés pour les biocarburants de 1<sup>ère</sup> génération (concurrence avec la production alimentaire, sur-consommation d'eau, détérioration des sols) (Chisti, 2007). En raison de propriétés intéressantes (productivité importante de biomasse, activité photosynthétique élevée, grand potentiel de stockage lipidique), les microalgues sont efficaces pour la synthèse de biodiesel, 500 à 1000 fois plus efficaces que les espèces terrestres (Doré-Deschênes, 2009), notamment *Chlorella sp.* (Rasoul-Amini, 2011).

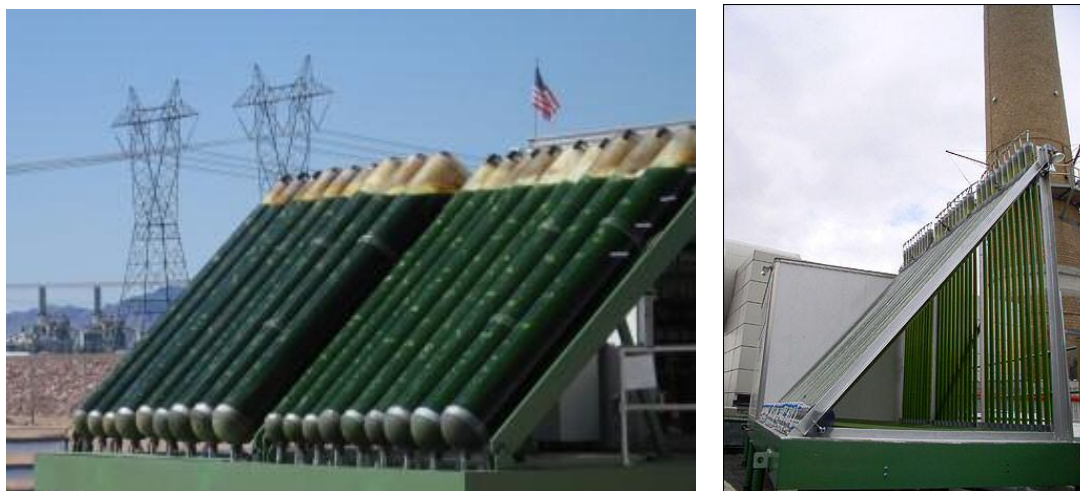


**Figure 1.3 :** Schéma du principe de production du biodiesel à partir des microalgues.

Source : <http://www.researchalgae.com>



Certains pays, dont les USA, ont accentué leur recherche dans cette direction avec la création d'entreprises telles que « *Green fuel* » qui propose des bioréacteurs avec des algues pouvant contenir 80% de leur poids en huile servant par la suite à la fabrication du biodiesel (cf. figure 1.4). De même, ces réacteurs permettent également d'éliminer par temps ensoleillé, plus de 82 % du  $CO_2$  contenu dans les effluents gazeux des centrales thermiques ainsi que 86% des  $NO_x$  (oxydes d'azote impliqués dans le phénomène d'effet de serre).



**Figure 1.4 :** Les bioréacteurs *Green fuel*.

Source : <http://www.econologie.com>

#### 1.2.4.3 Production de bio-hydrogène

Le bio-hydrogène est une source efficace d'énergie renouvelable qui suscite actuellement de nombreuses recherches et applications. Cependant, aucune des techniques actuellement disponibles telles que l'électrolyse de l'eau ou la gazéification ou pyrolyse de la biomasse ne permettent d'assurer des coûts de production raisonnables. Les systèmes biologiques et plus spécialement les microalgues et les bactéries ont été étudiés à cette fin (Benemann, 1996 et 1998). C'est Hans Gaffron qui fut à l'origine en 1939 de cette nouvelle voie de production de l'hydrogène impliquant des microalgues (Melis et Happe, 2006).

Le procédé de synthèse de bio-hydrogène peut revêtir deux formes : la photolyse directe et la photolyse indirecte. La photolyse directe repose sur un transfert des électrons issus de l'eau aux protons, couplé à une réduction de la ferrédoxine (protéine intervenant au niveau du photosystème des algues dans le transport d'électron et des protons) induisant la synthèse de l'hydrogène par l'enzyme hydrogénase (Benemann, 2000). La méthode indirecte repose sur la conversion de l'amidon stocké par les algues sous forme d'hydrogène sous des conditions d'anaérobie et de limitation de soufre (Carlsson et al., 2007).

Plusieurs travaux ont confirmé l'implication des algues au niveau de la production de bio-hydrogène sous certaines conditions spécifiques (Levin et al., 2004 ; Prince et Khesghi, 2005 ; Rupprecht et al., 2006 ; Hankamer et al., 2007). Ces microalgues concernent la classe des *Chlorophycées*, les *Cyanophycées*, des cyanobactéries génétiquement modifiées ainsi que les espèces *Scenedesmus obliquus* (Gaffron et Rubin, 1942), *Chlorococcum littorale* et *Platymonas subcordiformis* (Schnackenberg et al., 1996 ; Guan et al., 2004). L'espèce *Chlamydomonas reinhardtii* reste l'organisme le plus utilisé dans la recherche appliquée au bio-hydrogène (Melis et Happe, 2001). La problématique principale de ces systèmes réside

dans l'inhibition de certaines enzymes de la classe de l'hydrogénase par l'oxygène généré suite au phénomène de dissociation de l'eau (Guan et al., 2004). Une des solutions concerne la privation du milieu en soufre, permettant de réduire l'activité oxygénique durant la photosynthèse et d'induire des modifications métaboliques de la respiration (arrêt de la synthèse des composantes cellulaires tels que des sulfolipides et des protéines empêchant la division cellulaire, le photosystème PSII devient partiellement inactif impliquant une faible production de l'oxygène) dans le but d'éviter tous dommages cellulaires suite aux stress environnementaux (Ghirardi et al., 2009 ; Melis, 2007). Plusieurs espèces de microalgues ont démontré une prédisposition intéressante vis-à-vis des procédés indirects, c'est-à-dire une grande capacité de synthèse de bio-hydrogène sous des conditions de privation de soufre (Skjanes, 2011). En conséquence, la production d'hydrogène à partir des micro-algues représente un créneau prometteur mais ceci nécessite plus de compréhension de l'ingénierie des microalgues (Beer et al., 2009).

### 1.2.5 Domaine environnemental

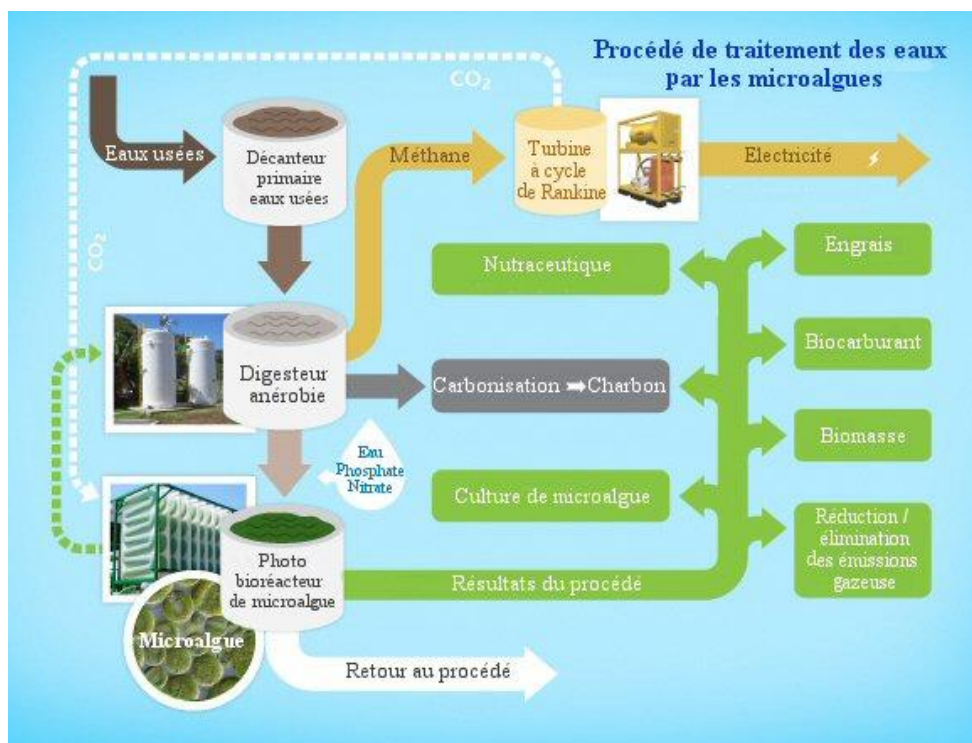
Les principales applications environnementales sont le traitement des eaux usées et bien sûr la consommation de  $CO_2$  comme méthode d'abattement de ce gaz à effet de serre.

#### 1.2.5.1 Traitement des eaux usées

Au vu de leur capacité d'assimilation de nombreux nutriments nécessaires à leur croissance, les microalgues représentent une solution intéressante pour éliminer ces éléments ; elles sont également capables de fixer des métaux lourds. Elles sont ainsi les principaux éléments biologiques de certains systèmes de traitement des eaux municipales et industrielles (essentiellement traitement tertiaire). Grâce à l'absorption de l'azote et du phosphore, elles contribuent à réduire le phénomène d'eutrophisation de certains milieux aquatiques. Une étude ayant porté sur l'implication de *Chlorella vulgaris* dans l'absorption de l'azote et du phosphore des eaux usées (Aslan et Kapdan, 2006), a montré que l'oxygénation du milieu est facilitée par la production in situ de  $O_2$  par la photosynthèse, permettant ainsi de réduire l'aération extérieure et limitant la fuite dans l'air des composés organiques volatils (Olguin, 2003; Muñoz et Guieysse, 2006). Certaines études ont eu recours à des algues vertes, principalement *Chlorella*, *Ankistrodesmus* et *Skeletonema*, pour les traitements des eaux usées issues d'usines de fabrication de pâte à papier ainsi que de production d'huile d'olive (Munoz et Guieysse, 2006).

D'autres travaux ont porté sur l'élimination des métaux lourds des eaux usées (Wilde et Benemann, 1993 ; Perales-Vela et al. 2006 ; Tüzün et al., 2005 ; Bayramoğlu et al., 2006 ; Raul Muñoz et al., 2006), sur la biodégradation de contaminants toxiques tels que le Tributylétain "*TBT*" (Luan et al., 2006).

Afin de réduire les coûts économiques de ces procédés de traitements des eaux, la biomasse générée peut être exploitée pour produire des molécules à haute valeur ajoutée, du biodiesel, du biogaz, de l'hydrogène etc. (Muñoz et Guieysse, 2006) Ces procédés sont généralement couplés à l'élimination de  $CO_2$  dans des effluents gazeux industriels conduisant à des procédés intégrés (cf. figure 1.5).



**Figure 1.5 :** Procédé de traitement des eaux par les microalgues.

Source : <http://www.emcchawaii.com>

#### 1.2.5.2 Agriculture

La biomasse algale peut être valorisée comme engrais, fertilisant (apport de potassium, d'azote et d'éléments essentiels à la croissance végétale) et stabilisateur de sols dans le domaine de l'agriculture (Meeting, 1996), mais également d'accélérateur et protecteur de cultures en limitant la prolifération des épiphytes et des parasites. Les microalgues permettent l'adhésion des particules et le stockage de l'eau dans les sols ainsi que la fixation de l'azote. De même, à partir de la synthèse de molécules bioactives, elles sont susceptibles d'influencer la croissance des plantes terrestres (Borowitzka, 1995 ; Metting, 1996 ; Ördög et al., 1996). L'emploi des microalgues concerne par exemple la production du riz à travers la fixation de l'azote au niveau de l'agriculture tropicale et subtropicale, mais aussi le renforcement des surfaces dans les régions arides permettant de lutter contre le phénomène d'érosion (Pulz et al., 2004). De plus un nouvel intérêt est apparu pour certaines substances régulatrices ou protectrices dérivées des microalgues au niveau de la croissance des plantes.

#### 1.2.5.3 Systèmes de support de vie

Durant les missions spatiales, l'élaboration d'un système de support de vie pour l'équipage est un besoin impératif. Ce système se résume à quatre notions fondamentales : la régénération d'une atmosphère respirable (apport d'oxygène), le recyclage de l'eau, le traitement des déchets et l'apport de la nourriture nécessaire (Tamponnet et al., 1999). Afin de répondre à ces contraintes, des systèmes régénératifs de support de vie en boucle fermée impliquant des systèmes biologiques, tels que les algues (Karel et Nakhost, 1989) et les plantes terrestres (Wheeler et al., 1992 ; Grodzinski et al., 1996).

#### 1.2.5.4 Séquestration du CO<sub>2</sub>

En raison de la situation actuelle alarmante relative au changement climatique, une prise de conscience de différents pays dans le monde a été observée pour y faire face. Par suite des émissions anthropiques, les gaz à effet de serre "GES", connus en anglais sous les initiales

"GHC" ("Greenhouse gas"), sont en concentration croissante dans l'atmosphère, ayant un effet de plus en plus fort sur le changement climatique (Matsumoto et al., 1995). En effet l'absorption naturelle ne permet plus de compenser le taux de production élevé de ces types de gaz, le dioxyde de carbone  $CO_2$  étant le plus impactant avec plus de 68% des émissions totales (Maeda et al., 1995 ; Global Warming, 2010 ; Kondili et Kaldellis, 2007 ; Roman-Leshkov et al., 2007). On observe une augmentation dramatique de la libération de  $CO_2$  dans l'atmosphère, due aux sources anthropiques. On est passé de 7,4 milliards de tonnes de  $CO_2$  libérés en 1997 jusqu'à plus de 26 milliards de tonnes estimés d'ici l'année 2100 (Zame, 2010). Il n'est pas besoin de rappeler les conséquences catastrophiques du réchauffement climatique sur la désertification, l'augmentation des phénomènes météorologiques extrêmes, les perturbations des écosystèmes, la fonte des glaciers non polaires induisant l'augmentation du niveau des océans (Morrissey et Justus, 1997).

Les Nations Unies ont mis en place en 1997 le protocole de Kyoto avec l'accord de plus de 170 pays afin de réduire les niveaux d'émission des gaz à effet de serre de 5,2 % par rapport à 1990 (Gutierrez et al., 2008 ; Wang et al., 2008). Dans le même sens, en 2010, les Nations Unies ont proposé l'introduction du principe « crédit-carbone » avec un prix unitaire estimatif de 270 dollars américain par tonne (Ho et al., 2010). Le crédit carbone correspond à l'émission d'une tonne «d'équivalent carbone» par le biais des gaz à effet de serre. Ce système traduit le droit d'un pays ou d'une entreprise à émettre des gaz à effet de serre, en étant soumis à des taxes calculées sur la base de l'équivalent carbone. Des quotas d'émissions sont fixés par le protocole de Kyoto. Ce système, à travers un marché de négociation et d'échanges de droits d'émission de gaz à effet de serre (marché du carbone), permet à certains pays ou organismes d'acquérir ou de vendre ces crédits carbone en fonction de leurs besoins et de leurs objectifs.

Enfin lors de la convention sur le changement climatique tenue à Copenhague (2009), les nations participantes ont accepté de financer, d'ici 2020, à hauteur de 100 milliards de dollars américain, un programme de réduction des gaz à effet de serre (Kintisch, 2010).

Dans ce sens, de nombreuses recherches se sont focalisées sur le développement de nouvelles techniques d'abattement de  $CO_2$ . On distingue trois principaux groupes de procédés : séquestration géologique, procédés chimiques et bioprocédés

La séquestration géologique repose majoritairement sur le stockage de  $CO_2$  liquide ou gazeux dans des formations géologiques, dans le sol (Herzog, 2001) ou dans le fond des océans (Israelsson et al., 2009). Cependant ces techniques présentent de nombreux inconvénients tels que les possibilités de fuite, la contamination des aquifères potables, l'augmentation de l'acidité de l'eau, la perturbation de l'écosystème marin et un coût important (IEA GHC, 2000).

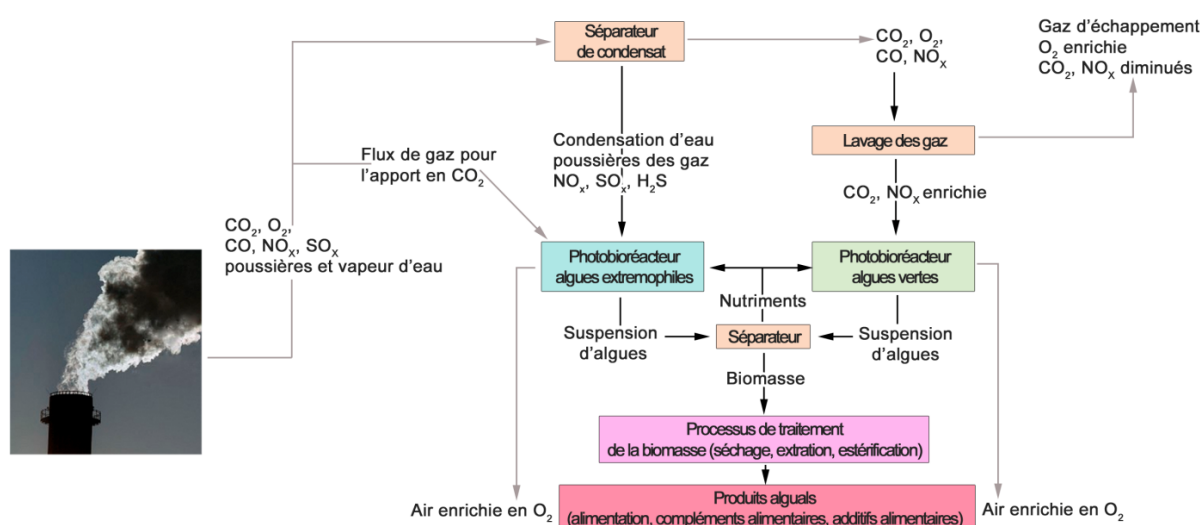
Les procédés chimiques comportent entre autres l'absorption dans des solutions alcalines (Diao et al., 2004), l'utilisation de nanotubes de carbone multi-feuillets (Su et al., 2009), l'adsorption-neutralisation sur charbon actif recouvert d'amine (Plaza et al., 2007). Ces méthodes sont chères et gourmandes en énergie (Wang et al., 2008).

L'emploi de systèmes biologiques représente une solution alternative très prometteuse, relativement efficace, économiquement envisageable et durable. Ces méthodes reposent essentiellement sur la photosynthèse avec transformation de  $CO_2$  en biomasse (Kondili et Kaldellis, 2007 ; Ragauskas et al., 2006 ; de Morais et Costa, 2007a). On distingue deux voies biologiques de séquestration de  $CO_2$  : l'une utilisant les plantes terrestres et la seconde des microorganismes photosynthétiques. Concernant la première voie, les forêts permettent de convertir le  $CO_2$  en structure cellulosique pour les plantes (notamment les arbres) et en humus pour les sols (Zame, 2010). Cependant, en raison d'une efficacité limitée de conversion, d'une faible vitesse de croissance et d'inconvénients économiques et techniques (possibilité de

libération du carbone stocké suite à un incendie de forêt ou par l'endommagement des arbres), de nombreux chercheurs se sont orientés sur la deuxième voie qui est la mise en œuvre d'organismes photosynthétiques tels que les microalgues.

Ainsi, différentes études traitent de la capacité des microalgues à capter le  $CO_2$  à partir de gaz de combustion (de Morais et Costa, 2007a ; Ho et al., 2010) (cf. figure 1.6). Les microorganismes ont une vitesse de croissance nettement supérieure à celle des plantes terrestres (Borowitzka, 1999 ; Chisti, 2007 ; Li et al., 2008) et une activité photosynthétique 10 à 50 fois plus forte (Costa et al., 2000). Par ailleurs, ils sont capables de fixer biologiquement le  $CO_2$  à partir de différentes sources : atmosphérique, gaz industriels et hydrogénocarbonates solubles.

D'autres travaux ont quantifié la production de biomasse (Chae et al., 2006 ; Jacob-Lopes et al., 2008 ; Kajiwara et al., 1997). D'après Bilanovic et al. (2009), les microalgues sont en théorie capables de convertir plus de 9% de l'énergie solaire en 280 tonnes de biomasse sèche par hectare et par an, tout en consommant près de 513 tonnes de  $CO_2$ .



**Figure 1.6 :** Représentation schématique du procédé de fixation de  $CO_2$  par les microalgues à partir de gaz d'échappement industriel (Pulz et al., 2004)

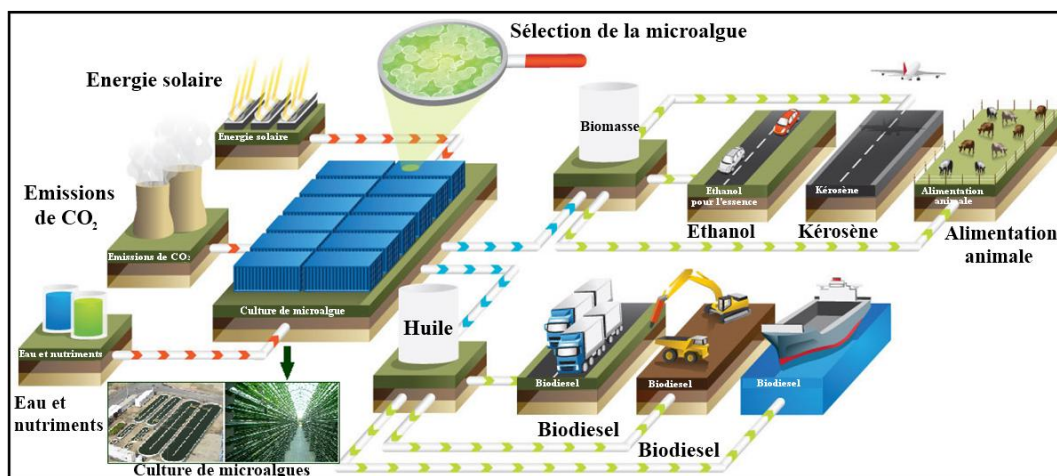
### 1.3 Objectifs de notre étude : stratégie de bio-fixation de $CO_2$

Malgré les nombreuses tentatives des diverses équipes de recherche d'exploiter les capacités de ces microorganismes, le développement de la biotechnologie algale reste, à ce jour, insuffisamment approfondie et très peu applicable à l'échelle industrielle. Cette situation est due principalement aux différentes contraintes technologiques relatives à la mise en culture ainsi que le rapport encore défavorable entre le coût de production et la productivité en biomasse

Le processus de fixation du  $CO_2$  par les microalgues repose sur la mise en culture de ces microorganismes photosynthétiques dans différents systèmes de production, soit ouverts (bassins naturels ou artificiels...) ou fermés (bioréacteurs) (les systèmes de culture sont détaillés dans l'Annexe A1), alimentés en continu par les éléments nutritifs essentiels à la croissance, par une source de  $CO_2$ , ainsi que par une source d'eau pouvant être saumâtre, saline ou hyper saline (cf. figure 1.7). La source de lumière peut être solaire ou artificielle dans le cas des réacteurs. Après l'étape de mise en culture, la seconde étape consiste à récolter la biomasse algale produite. Elle représente une des principales problématiques de ces



nouvelles technologies en raison des coûts élevés des procédés appliqués, liés en partie à la faible concentration cellulaire des cultures.



**Figure 1.7 :** Représentation du procédé de fixation du  $CO_2$  par les microalgues.

Source : <http://www.algaetec.com.au>

La récolte peut se réaliser en deux étapes (Ginzburg, 1993). Une première étape consiste à séparer la biomasse du reste de la suspension, par floculation ou biofloculation et sédimentation, par flottation ou par filtration (van Harmelen et Oonk, 2006). La deuxième étape se résume à l'épaississement de la boue obtenue, par filtration ou centrifugation.

La biomasse algale ainsi produite est ensuite valorisée dans l'alimentation humaine ou animale, comme engrais ou dans la synthèse de biocarburant. Afin de réduire les coûts de production relativement importants, ce procédé doit avoir une ou plusieurs autres fonctions : traitement d'eaux usées, production de molécules (Benemann et al., 1977 ; Oswald, 1973).

L'optimisation de ce procédé repose essentiellement sur l'étape de mise en culture, laquelle dépend :

- ✓ de la sélection d'une souche de microalgues ayant une capacité importante de fixation de  $CO_2$  ;
- ✓ du choix du système de culture favorisant la fixation de  $CO_2$ .

### 1.3.1 Sélection de l'espèce de microalgue

Différents travaux se sont orientés sur l'exploitation de certaines espèces pour la bio-fixation de  $CO_2$  telles que *Botryococcus braunii* (Yoo et al., 2010), *Chlorella vulgaris* (Chen et al., 2010 ; Cheng et al., 2006a), *Chlorella kessleri* (de Morais and Costa, 2007b), *Chlorocuccum littorale* (Ota et al., 2009), *Scenedesmus sp.* (de Morais et Costa, 2007a ; Ho et al., 2010), *Chlamydomonas reinhardtii* (Packer, 2009) et *Spirulina sp.* (de Morais et Costa a, b, c). Une grande capacité de fixation de  $CO_2$  a été mesurée pour certaines espèces comme *Chlorella vulgaris* qui présente un taux de consommation de  $CO_2$  égal à  $6240 \text{ mg. L}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$  sous certaines conditions de culture (Cheng et al., 2006b). Par ailleurs ces microorganismes ont montré leur grande tolérance vis-à-vis de hautes concentrations de  $CO_2$  et de composés toxiques tels que le monoxyde d'azote " $NO_x$ " et le monoxyde de soufre " $SO_x$ " (Matsumoto et al., 1997), rendant leur emploi envisageable pour le traitement de gaz industriels. Différents paramètres sont pris en compte dans la sélection d'espèces d'algue capables de maximiser la bio-fixation de  $CO_2$  à partir des émissions industrielles. Ces paramètres peuvent concerner la

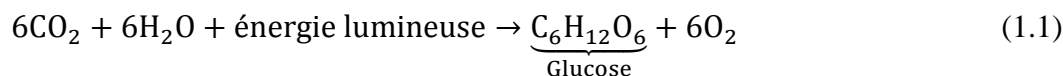
morphologie de l'espèce, la cinétique de croissance ainsi que l'impact des facteurs environnementaux tels que la lumière, le pH, etc. D'après Lee et Park (1995), la sélection de l'espèce algale repose sur les paramètres suivants :

- ✓ Tolérance importante vis-à-vis de concentrations de  $CO_2$  élevée ;
- ✓ Vitesse de croissance importante en présence de forte concentration cellulaire ;
- ✓ Tolérance vis-à-vis des gaz toxiques tels que le monoxyde d'azote et le monoxyde de soufre ;
- ✓ Thermo-tolérance (tolérance vis-à-vis des températures élevées).

Ainsi, cette phase de sélection de l'espèce algale nécessite d'approfondir les connaissances sur les phénomènes biologiques responsables de la bio-fixation de  $CO_2$ , la photosynthèse, mais également le processus métabolique de biotransformation de  $CO_2$ .

### 1.3.1.1 *Activité photosynthétique des microalgues*

La photosynthèse est un processus bioénergétique utilisé par les plantes terrestres ainsi que les microorganismes photosynthétiques (notamment les algues). Elle se compose d'une série de réactions complexes d'oxydoréduction durant laquelle l'énergie lumineuse, sous forme d'énergie électromagnétique, est absorbée par des pigments, principalement la chlorophylle, et est convertie en énergie chimique entraînant la production d'oxygène et des sucres ainsi que d'autres métabolites secondaires. Elle se déroule essentiellement dans les membranes des thylakoïdes chez les plantes, les algues et les cyanobactéries. Ce phénomène est régi par l'équation suivante :



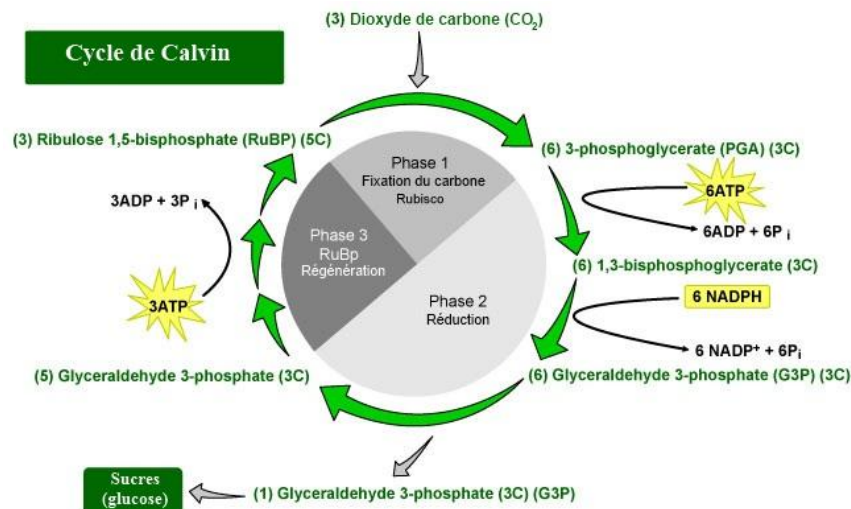
La photosynthèse se décompose essentiellement en deux étapes : une première réaction dite « phase claire » durant laquelle une réaction photochimique d'oxydation par fractionnement de l'eau se produit ; la seconde « la phase sombre », décrite par la fixation du carbone selon le « cycle de Calvin » (figure 1.8).

### 1.3.1.2 *Mécanisme de concentration de $CO_2$ « MCC » chez les microalgues*

Dans le cas d'environnement caractérisé par de faibles concentrations de  $CO_2$ , des mécanismes d'adaptation de la cellule algale sont mises en jeu. Le mécanisme de concentration de  $CO_2$  ou « MCC » représente une série de voies complexes d'accumulation du  $CO_2$  dans la cellule des microalgues. Différentes études se sont intéressées à ce phénomènes biologique propre aux cyanobactéries et aux microalgues (Spalding, 2008 ; Fridlyand et al., 1996 ; Marcus, 1997 ; Tchernov et al., 1997; Badger et Price, 2003 ; Cuaresma et al., 2006). Ce type de mécanisme intervient lorsque le transport passif (diffusion du  $CO_2$  dans la cellule au travers des membranes) n'est pas suffisant pour fournir le  $CO_2$  à une enzyme, « la rubilose 1,5 biphosphate carboxylase/déshydrogénase » ou « *rubisco* ».

Un des mécanismes de la « MCC » repose sur le transport actif du  $HCO_3^-$  permettant d'accumuler la concentration en carbone inorganique intracellulaire et impliquant une seconde enzyme, « l'anhydrase carbonique ». Le  $HCO_3^-$  diffuse par transport actif dans la cellule grâce à l'anhydrase carbonique extracellulaire, située sur la paroi des cellules, et est ensuite déshydraté entraînant une augmentation de la concentration de  $CO_2$  au niveau cellulaire. Le  $CO_2$  accumulé subit une biotransformation par l'enzyme « *rubisco* » en glycéraldéhydes 3-phosphates selon le cycle de Calvin à l'intérieur du chloroplaste (Jacob

Lopes et al., 2010). Ces glyceraldéhydes 3-phosphates seront utilisés par la suite pour la synthèse de matières organiques qui sont essentiellement des glucides (cf. figure 1.8).



**Figure 1.8 :** Représentation schématique du cycle de Calvin  
Source : département de biologie de l'université de Pennsylvanie, USA (2004)

### 1.3.2 Optimisation de la conception du photobioréacteur pour la stratégie de bio-fixation du CO<sub>2</sub>

Le choix d'un système de culture optimal constitue également une étape cruciale dans le processus de fixation de CO<sub>2</sub> par les microalgues. Parmi les facteurs impactant l'assimilation photosynthétique du carbone, nous pouvons citer la lumière utilisée (type/intensité) et l'efficacité du contact entre le gaz et le liquide (Hodaifa et al., 2009 ; Jacob-Lopes et al., 2009 ; Ryu et al., 2009). La maximisation de l'activité photosynthétique repose sur l'augmentation de la surface éclairée par rapport au volume de la culture, sur la diminution du chemin optique afin d'assurer une meilleure disponibilité de la lumière pour les algues (Pulz et al., 2001). La croissance des microalgues est également fortement influencée par l'intensité lumineuse incidente, la surface éclairée, l'angle entre le faisceau lumineux et cette surface, et la concentration des cellules dans la culture. L'optimisation de ces facteurs assure une bonne productivité mais également un rendement photosynthétique satisfaisant (Jacob-Lopes et al., 2009) (détaillée dans l'Annexe A1). Le second paramètre concerne l'efficacité du transfert gaz-liquide qui dépend du débit gazeux, de la teneur du gaz, de la taille des bulles de gaz et du temps de séjour dans le photobioréacteur (Ho et al., 2010). L'augmentation de l'aire interfaciale gaz/liquide (Carvalho et Malcata, 2001) et un temps de mélange faible (meilleure disponibilité des nutriments pour la suspension algale) augmentent l'efficacité du transfert de CO<sub>2</sub> (Ugwu et al., 2008).

### 1.3.3 Choix de l'espèce algale

Il convient de noter, comme vu précédemment, que l'étape de sélection ne se résume pas qu'à des considérations de tolérance de l'espèce vis-à-vis du CO<sub>2</sub>, ni même vis-à-vis des éléments toxiques, mais également par rapport à une vitesse de croissance élevée et à une densité cellulaire maximale (Lee et Lee, 2003). De nombreux travaux ont porté sur la stratégie de fixation du CO<sub>2</sub> par les microalgues (Ho et al., 2010 ; Wang et al., 2008 ; Reddy, 2002 ; Ono et Cuello, 2004). Plusieurs espèces de microalgues sont considérées comme des bonnes



candidates pour la séquestration du  $CO_2$ . On cite par exemple les espèces *Botryococcus Brauni*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella kessleri*, *Scenedesmus sp.*, *Dunaliella tertiolecta*, *Spirulina sp.*, etc. Ho et al. (2010) ont comparé, à partir d'un tableau récapitulatif, des espèces de microalgues selon leur vitesse de croissance et leur capacité de fixation du  $CO_2$ .

Au niveau de la littérature, on a remarqué une grande hétérogénéité au niveau des valeurs optimales du taux de  $CO_2$  assurant une vitesse de croissance élevée, ainsi qu'une capacité maximale de fixation de  $CO_2$ . Cette hétérogénéité est due essentiellement à une diversité au niveau des conditions opératoires appliquées dans chaque étude (intensité lumineuse, température, pH, type de réacteur, etc.). De fait, il nous est difficile de comparer les capacités de fixation d'une espèce d'algue par rapport à une autre, et par conséquent, de choisir l'espèce algale présentant les meilleures capacités de fixation de  $CO_2$ . Cependant, d'autres aspects de sélection dépendants de l'objectif de l'étude peuvent intervenir comme ceux associés à la méthode d'analyse appliquée (difficulté du dénombrement cellulaire de la classe *Spirulina*, par exemple) ou bien par rapport au métabolisme de l'algue (fragilité cellulaire de la classe *Dunaliella* du fait d'un manque de parois cellulaires la rendant ainsi très sensibles au stress mécanique de cisaillement (Kumar et al., 2011), par exemple). Compte-tenu de tout ce qui précède, il a été décidé de choisir pour nos travaux comme algue ayant une grande capacité de fixation du  $CO_2$  la classe *Chlorella* et plus précisément l'espèce *Chlorella vulgaris*.

A travers une analyse bibliographique consacrée à la stratégie de fixation du  $CO_2$  de l'espèce *Chlorella vulgaris*, nous avons opté, durant nos travaux, pour des conditions de culture basées sur un mélange gazeux d'air enrichi en  $CO_2$  de 5%. Le tableau 1.1 permet de récapituler les résultats obtenus dans différentes publications consacrées à la bio-fixation du  $CO_2$  par *Chlorella vulgaris*.

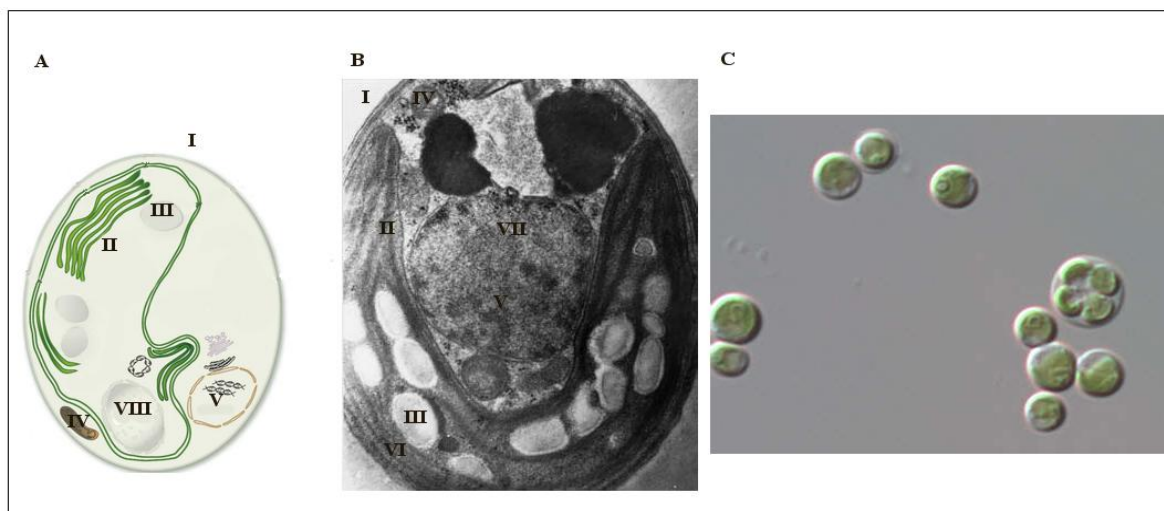
**Tableau 1.1** : Récapitulatif des résultats de publications sur la stratégie de bio-fixation du  $CO_2$  par l'espèce *Chlorella vulgaris*

*PBR* : photobioacteur ; *Erlen* : Erlenmeyer ; *T* : température

Gamme $CO_2$ (%)	[ $CO_2$ ] Optimal (%)	Lumière ( $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$ )	T (°C)	Système de culture	Régulation pH	Références
2-11	2 -11	1150	30	Erlen 300 ml	Oui (6,5-7,5)	Douskova et al. (2009)
0,036-20	6	47		Erlen	-	Chinnasamy et al. (2009)
5 - 15	5	110	27	PBR	-	Yun et al. (1997)
5	5	160	32	PBR	-	Reddy (2002)
5	5	47	-	PBR	-	Sydney et al. (2010)
0,03-15	4	80	25±1	Erlen	non	Bhola et al. (2011)
0,04-12	4	350±10	26±0,5	PBR 1,4L	-	Hulatt et al. (2011)

*Chlorella vulgaris*, une microalgue unicellulaire verte marine, a été isolée et décrite pour la première fois par le professeur Néerlandais M.W. Beijerinck en 1889 à Delft. Appartenant à l'espèce des *Chlorophytes*, cette espèce présente une taille variant de 5 à 10  $\mu m$ . De morphologie sphérique ou ellipsoïde, elle est caractérisée par une fine paroi cellulaire avec une éventuelle présence de pyrénoloïde (structure cellulaire considéré comme le centre de

production de l'amidon chez les algues vertes). Le produit de stockage majeur est l'amidon, localisé à l'intérieur des chloroplastes (cf. figure 1.9).



**Figure 1.9 :** A : structure morphologique de *Chlorella* (Beer et al., 2009) – B : micrographie électronique d'une cellule de *Chlorella vulgaris* en section longitudinale (Richmond, 2004) –C : observation microscopique en DIC "Differential Interference Contrast" de cellule de *Chlorella vulgaris* (I : membrane plasmique; II : chloroplaste; III : graine d'amidon; VI : mitochondrie; V : noyau; VI : thylakoïde; VII : membrane nucléaire; VIII : pyrénoloïde)

#### 1.4 Conclusion

On vient de voir l'importance du choix de l'algue et de la technologie du photobioréacteur. Cependant l'industrialisation d'un tel procédé de captation de  $CO_2$  passe par la mise en place de stratégies de commande performantes permettant une efficacité optimale : mise en œuvre de stratégies d'estimation de la concentration cellulaire, donnée nécessaire à la synthèse de lois de commande ; et mise au point de lois de commandes robustes permettant de maximiser la consommation de  $CO_2$  par les microalgues.

La démarche méthodologique mise en œuvre repose alors sur trois axes principaux.

- **MODELISATION :** cette étape implique tout d'abord la définition d'un modèle de croissance pertinent, capable de reproduire efficacement le comportement cellulaire de l'algue mise en culture dans le photobioréacteur. Elle implique ensuite une phase d'identification expérimentale des différents paramètres de ce modèle de croissance associés notamment à la cinétique de consommation de  $CO_2$ , à l'effet de la lumière et à la vitesse spécifique de croissance, effectuée à partir de campagnes expérimentales de cultures en mode batch et en mode continu (les différents modes de fonctionnement seront détaillés dans le chapitre II).
- **ESTIMATION :** cet axe vise à la mise en place d'observateurs qui combinent le modèle du bioprocédé, précédemment identifié, à des mesures physiques simples et disponibles en-ligne (pH, intensité lumineuse, pression partielle en  $CO_2$ ), afin d'estimer les paramètres du système non accessibles en temps réel, à savoir ici la concentration cellulaire, en raison de l'impossibilité de mesure de ce paramètre en ligne. Ainsi, différentes stratégies d'estimation de la biomasse seront proposées et validées expérimentalement à partir des données de cultures de *Chlorella vulgaris* en mode

continu : le filtre de Kalman étendu, l'observateur asymptotique et l'observateur par intervalles.

- **COMMANDE** : cette dernière étape a pour but la mise en place de stratégies de commande robustes vis-à-vis des incertitudes des paramètres du modèle et des perturbations extérieures (pH, lumière, pression partielle en  $CO_2$ ). La commande prédictive non-linéaire ou « CPNL » sera mise en oeuvre et validée en simulation puis expérimentalement en temps réel couplées aux stratégies d'estimation de la concentration de biomasse mentionnées précédemment. Ses performances seront comparées à celles d'une commande par modèle générique « GMC ».

## 2 Modélisation du bioprocédé

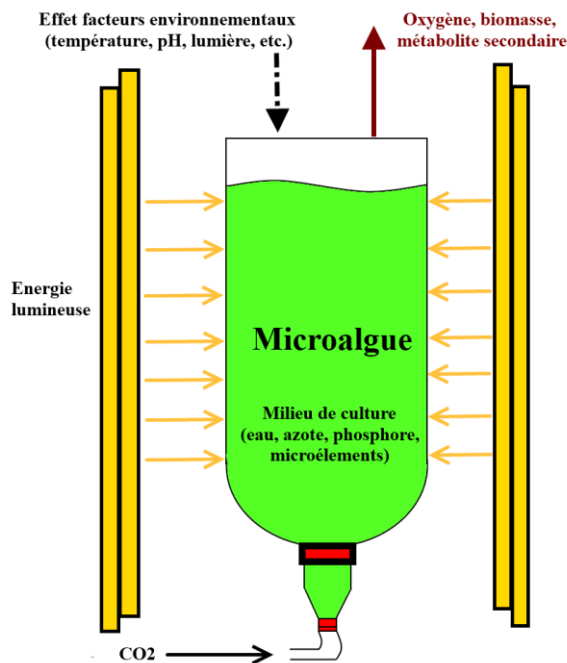
### 2.1 Introduction

Considérant l'impact de plus en plus fort des biotechnologies microalgales, il s'est révélé intéressant de travailler sur la modélisation de ces systèmes, ce qui représente un défi scientifique très complexe. En effet, ce système biologique interagit avec de nombreux facteurs physiques et biologiques. Divers modèles de complexité variable ont été proposés dans la littérature afin de caractériser le comportement cellulaire des microalgues dans les systèmes de culture.

Ce deuxième chapitre est consacré en premier lieu à la présentation des divers modes de fonctionnement des cultures algales. Une seconde partie décrit le modèle de croissance retenu dans le cadre de la présente thèse.

### 2.2 Modes de fonctionnement des cultures algales

La culture des microalgues présente des similitudes certaines avec celle d'autres microorganismes tels que les bactéries. La particularité évidente réside dans l'activité photosynthétique et l'apport nécessaire d'une énergie lumineuse suffisante. Ce type de bioprocédé peut être représenté par le schéma de la Figure 2.1.

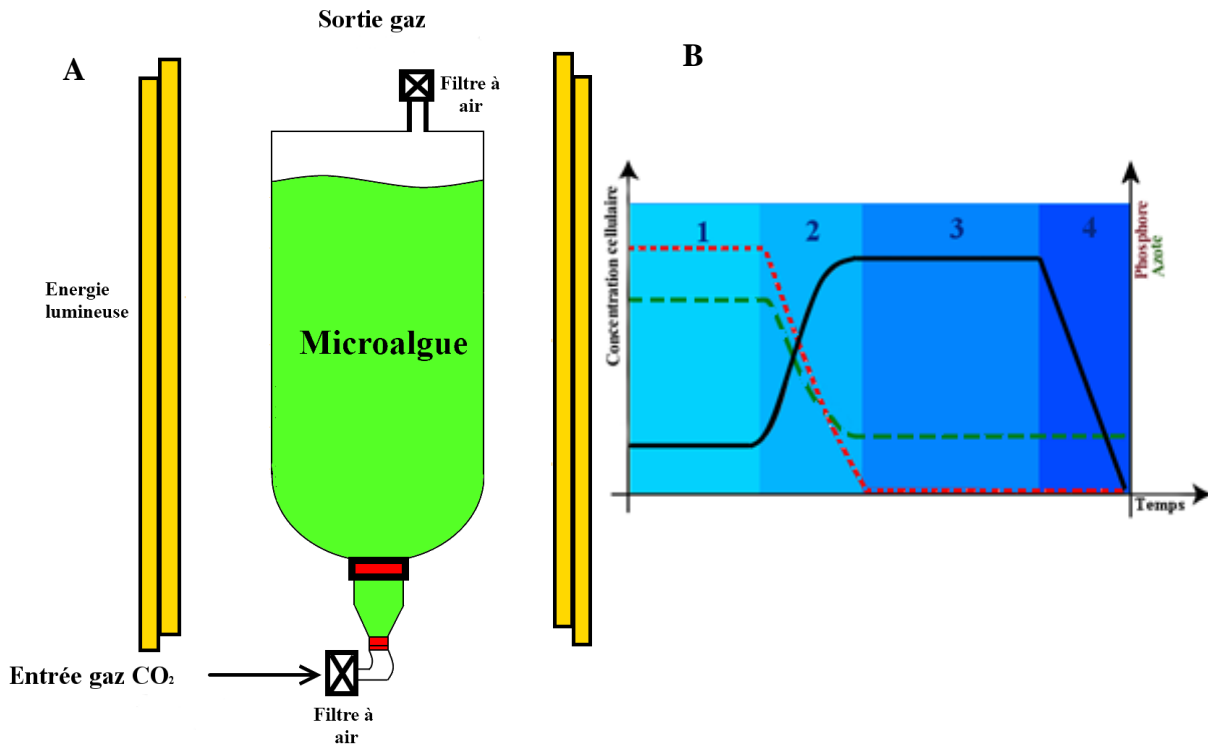


**Figure 2.1 :** Représentation schématique d'un système de culture de microalgue

Il existe trois principaux modes de fonctionnement :

✓ Mode de culture en batch

On se trouve dans le cas d'un système fermé pour lequel on introduit en une seule fois, en début de culture, l'inoculum contenant les cellules algales ainsi que tous les éléments nutritifs nécessaires à la croissance. Ainsi, il n'y a aucune entrée ni sortie et aucun échange d'éléments nutritifs ni de biomasse avec l'environnement extérieur pendant la culture. La concentration cellulaire augmente en fonction du temps jusqu'à épuisement du substrat limitant, essentiels au métabolisme cellulaire. Ce type de culture est généralement adapté aux applications sous des conditions axéniques mais ne permet pas un échantillonnage régulier sous peine d'induire une diminution importante du volume de la culture.



**Figure 2.2 :** A : Représentation schématique d'un système de culture de microalgue en mode batch – B : courbe de croissance d'une culture de microalgue dans un système en batch: 1 : phase de latence; 2 : phase exponentielle; 3 : phase stationnaire; 4 : phase de déclin; courbe en noir (trait plein) : évolution de la concentration cellulaire ; courbe en rouge (pointillé) : évolution de la concentration de phosphore, courbe en vert (trait discontinu) : évolution de la concentration d'azote

Typiquement, pour une culture en mode batch, la croissance des microalgues suit une allure bien définie selon une courbe sigmoïde issue de quatre phases principales (figure 2.2) :

- *Phase de latence*

Elle traduit l'adaptation cellulaire, ou phase de transition, aux nouvelles conditions environnementales. La vitesse de croissance est nulle et la durée de cette phase dépend essentiellement de l'inoculum, du milieu de culture et de la capacité d'acclimatation de l'espèce cultivée face aux nouvelles conditions de culture (Herbland, 2007).

- *Phase exponentielle de croissance*

Avant la phase exponentielle de croissance, une étape dite d'accélération se produit, traduisant le démarrage de la croissance. Elle est suivie d'une seconde étape dite « exponentielle » correspondant à une vitesse de croissance constante et maximale des microalgues. La concentration cellulaire augmente de manière exponentielle avec

une vitesse de croissance " $\mu$ ", paramètre intrinsèque propre à l'espèce d'algue. Cette phase s'achève par une étape dite de « décélération » durant laquelle les nutriments nécessaires à la culture commencent à s'épuiser, particulièrement les substrats limitants. La concentration cellulaire a atteint une valeur limite.

- *Phase stationnaire*

Cette phase intervient lorsque le substrat limitant s'épuise (phosphore, azote, dioxyde de carbone...) L'apport de lumière peut aussi être insuffisant, en raison d'une concentration cellulaire élevée, de la formation de biofilms donnant le phénomène d'auto-ombrage des cellules. La concentration cellulaire est constante et maximale.

- *Phase de déclin*

Toutes les réserves intracellulaires des cellules sont épuisées et les conditions deviennent extrêmement défavorables, provoquant la mort cellulaire. A ce stade, les cellules libèrent des composés intracellulaires et le milieu de culture se transforme en un habitat favorable à la prolifération d'autres organismes, essentiellement des bactéries hétérotrophes (Herbland, 2007).

Considérant que le système est parfaitement agité, un bilan matière permet de traduire l'évolution de la biomasse en fonction du temps  $t$  selon l'équation :

$$V dX = V \mu X dt \quad (2.1)$$

- $V$  : volume de la culture (L) ;
- $X$  : concentration cellulaire, "biomasse", dans la culture (masse.L<sup>-1</sup> ou nombre de cellules.L<sup>-1</sup>) ;
- $\mu$  : vitesse spécifique de croissance (h<sup>-1</sup>).

On peut déterminer la vitesse spécifique de croissance maximale, constante dans la phase exponentielle, à partir de résultats expérimentaux. En effet la forme intégrée de l'équation précédente est dans cette phase :

$$\ln\left(\frac{X}{X_0}\right) = \mu \cdot (t - t_0) \quad (2.2)$$

où  $X_0$  est la concentration cellulaire à l'instant  $t_0$

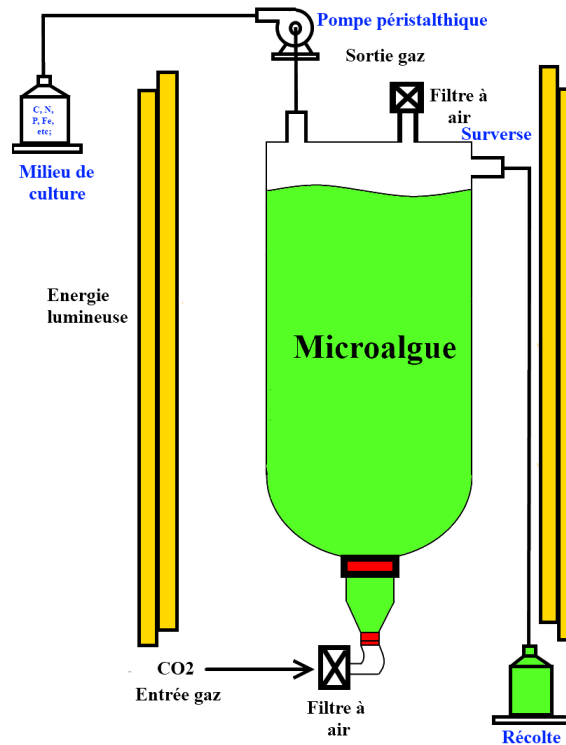
En portant  $\ln\left(\frac{X}{X_0}\right)$  en fonction de  $t$ , on doit trouver une droite de pente  $\mu$ , ce qui permet de confirmer la phase exponentielle et de déterminer  $\mu$ .

✓ Mode de culture en semi-continu ou « fed-batch »

Ce mode de culture se distingue du précédent par l'introduction du milieu de culture, à un instant donné de la culture pendant sa phase transitoire ou la phase exponentielle, jusqu'à atteindre un volume final souhaité. Ce mode de fonctionnement se caractérise par un volume de culture variable. Le mode fed-batch permet d'optimiser la productivité de biomasse et d'éviter les effets de limitation des substrats.

✓ Mode de culture en continu

On se place ici dans le cas d'un système à volume constant pour lequel le phénomène de soutirage de la culture s'effectue avec un débit similaire à celui de l'alimentation en milieu nutritif (cf. figure 2.3). Ce mode de fonctionnement permet de renouveler la culture avec un apport continu en substrats nécessaires à la croissance et un soutirage des produits de réaction qui pourraient inhiber la croissance.



**Figure 2.3 :** Représentation schématique d'un système de culture de microalgue en mode continu

Le taux de dilution de la culture (noté  $D$ ) est défini par :

$$D = \frac{F}{V} \quad (2.3)$$

avec  $F$  le débit d'alimentation en milieu de culture, égal au débit de sortie du milieu réactionnel ( $F_{in} = F_{out} = F$ ) ( $L \cdot h^{-1}$ ) ;

Ainsi, trois cas se présentent durant une culture en mode continu :

- $\mu > D$  : la multiplication cellulaire est supérieure au taux de renouvellement de la culture, entraînant une augmentation de la biomasse jusqu'à atteindre un état stationnaire pour lequel tous les paramètres intrinsèques de la culture sont constants.
- $\mu = D$  : état stationnaire où la perte de cellules induite par le soutirage de la culture est exactement compensée par la croissance.
- $\mu < D$  : diminution cellulaire due à une vitesse de multiplication nettement inférieure au taux de renouvellement de la culture, ce qui entraîne un phénomène de « lessivage ».

A partir d'un bilan matière appliqué sur le système de culture supposé parfaitement agité, on peut obtenir l'équation suivante :

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - D X \quad (2.4)$$

Lorsque l'état stationnaire est atteint, la vitesse de croissance est égale au taux de dilution appliqué à la culture et la concentration cellulaire reste stable autour d'une valeur d'équilibre (Richmond, 2004).

Les différents avantages et inconvénients des modes de fonctionnement sont récapitulés dans le tableau suivant :

**Tableau 2.1** : Caractéristiques des différents modes de fonctionnement appliqués à des cultures de microalgues, d'après (Chen et Johns, 1995)

Mode	Coût	Faisabilité technique	Productivité en biomasse	Effet limitant du substrat	Contamination de la culture
<b>Batch</b>	faible	simple	faible	important	faible
<b>Fed-batch</b>	moyen	moyen	moyen	moyen	moyen
<b>Continu</b>	moyen	moyen	moyen	moyen	moyen

L'optimisation d'un système de culture algale nécessite également la connaissance des caractéristiques de chaque système de production existant et la compréhension de l'influence des facteurs externes au bioréacteur (température, lumière, pH, etc.) sur la cinétique de croissance cellulaire des microalgues. L'étude de l'influence des différents paramètres physico-chimiques et biologiques sur les cultures de microalgues et les systèmes de production proposés dans la littérature sera détaillée en Annexe A1.

### 2.3 Modèle retenu dans le cadre de la thèse

L'objectif principal de la thèse consiste à optimiser les conditions de culture de *Chlorella vulgaris* afin de maximiser l'activité de fixation de  $CO_2$ . La modélisation du bioprocédé est indispensable dans le développement d'observateurs capables d'estimer en temps réel la concentration cellulaire à partir des mesures disponibles ainsi que dans la mise en place d'une stratégie de commande robuste. Plusieurs types de modèles mathématiques décrivant la cinétique de croissance algale ont été proposés dans la littérature faisant intervenir les principaux paramètres de culture (lumière, disponibilité de la source de carbone, de l'azote et du phosphore, oxygène, etc.). Ces modèles se caractérisent par une complexité plus ou moins importante selon le degré de précision de la modélisation souhaitée. L'Annexe A2 dresse un état de l'art des modèles de croissance de microalgues.

Le choix du modèle de croissance doit reproduire le profil d'évolution des mesures expérimentales et caractériser le comportement réel de *Chlorella vulgaris* mise en culture dans un photobioréacteur de type air-lift. Le modèle de Nouals (2000) a été retenu au cours de ces travaux puisqu'il modélise l'influence des deux paramètres sur la croissance de la microalgue que nous avons choisi de prendre en compte, à savoir la lumière et le carbone inorganique total (*CIT*). Ce modèle est de la forme :

$$\mu = \mu_{max} \cdot \left( \frac{E}{K_E + E} \right) \cdot \left( \frac{[CIT]_{cell}}{K_{CL} + [CIT]_{cell}} \right) \cdot \left( \frac{K_{CI}}{K_{CI} + [CIT]_{cell}} \right) \quad (2.5)$$

avec :

- ✓  $\mu_{max}$  : vitesse maximale de croissance ( $h^{-1}$ ) ;
- ✓  $[CIT]_{cell}$  : concentration en carbone inorganique total disponible par cellule ( $mol. 10^9 cell^{-1}$ ) ;
- ✓  $E$  : énergie lumineuse accessible par cellule ( $\mu E. 10^9 cell^{-1}.s^{-1}$ ) ;
- ✓  $K_E$  : constante de demi-saturation par la lumière ( $\mu E. 10^9 cell^{-1}.s^{-1}$ ) ;
- ✓  $K_{CL}$  : constante de demi-saturation par le carbone inorganique total *CIT* ( $mol. 10^9 cell^{-1}$ ) ;
- ✓  $K_{CI}$  : constante d'inhibition par le carbone inorganique total *CIT* ( $mol. 10^9 cell^{-1}$ ).



Ce modèle a une structure mathématique peu complexe, apparentée au modèle de Monod (cf. A2.3.1 de l'Annexe A2). Il permet de modéliser la croissance algale en tenant compte de l'effet de limitation par la lumière et de l'effet de limitation et d'inhibition par le carbone inorganique total *CIT*. On néglige l'effet limitant par les autres nutriments. Ce modèle fait également intervenir la notion d'énergie lumineuse accessible par cellule ou "*E*" qui permet de prendre en considération plusieurs processus relatifs à l'absorption et la diffusion de la lumière à travers le photobioréacteur et de rendre compte de façon moyenne de la quantité d'énergie lumineuse reçue par chaque cellule. Nous avons opté pour l'utilisation de cette variable "*E*", préférentiellement à l'énergie lumineuse totale qui ne prendrait pas en compte la concurrence potentielle des cellules pour la lumière lorsqu'elles sont en forte concentration.

*E* est issue de la relation proposée par Krystallidis (1994) :

$$E = \frac{(I_{in} - I_{out}) \cdot A_r}{V \cdot X} \quad (2.6)$$

- *V*: volume utile du photobioréacteur (m<sup>3</sup>) ;
- *A<sub>r</sub>* : surface éclairée du réacteur (m<sup>2</sup>) ;
- *I<sub>in</sub>* et *I<sub>out</sub>* : intensité lumineuse incidente et sortante, respectivement (μE.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>).

Ce modèle de croissance nous paraît donc présenter un bon compromis entre une bonne représentativité par rapport à deux paramètres fondamentaux, l'énergie lumineuse et le carbone ; et la simplicité mathématique permettant une manipulation aisée des expressions mathématiques par la suite. En effet, dans le cadre de l'application des outils de l'Automatique à ce bioprocédé, il est nécessaire de connaître un modèle du système biologique pour ensuite envisager son intégration au sein d'algorithmes permettant d'estimer un des paramètres du procédé (phase d'identification), d'estimer des variables du système non mesurées en temps réel (observateur) et de développer des stratégies de commande robustes afin de réguler ou d'amener le système à un état bien défini. L'élaboration de ce type d'algorithmes n'est envisageable qu'en présence d'une complexité relativement faible du modèle choisi, particulièrement dans le cas des systèmes biologiques non linéaires. Ainsi, parmi les différentes possibilités de modèles mathématiques de croissance de microalgues, et en vue de mettre au point des estimateurs et lois de commande robustes, nous avons choisi le modèle le plus simple possible, nécessitant un nombre réduit de paramètres à identifier, et donc requérant un minimum d'informations et de mesures.

Le choix de ce type de modèle se justifie également par le fait que la présente étude s'intéresse principalement à la culture de microalgues pour la séquestration de *CO*<sub>2</sub>. La prise en compte de ce dernier se fait via l'étude du carbone inorganique total *CIT* qui permet une meilleure représentativité de la quantité de carbone disponible dans le milieu de culture pour la croissance. En effet, le carbone inorganique total permet, en fonction du pH du milieu, d'illustrer l'influence des différentes formes du carbone (dioxyde de carbone, ions carbonates et bicarbonates) sur la croissance de l'algue. Ceci est d'autant plus important que les microalgues sont susceptibles d'avoir une préférence vis-à-vis de l'une des formes du carbone présentes dans le milieu réactionnel selon des mécanismes physiologiques propres à l'algue, tels que le mécanisme biologique de concentration de *CO*<sub>2</sub> ou « *MCC* ». La lumière, à travers le phénomène de la photosynthèse, présente également un rôle fondamental et un effet significatif sur la croissance des microalgues. La disponibilité de la lumière est généralement limitante suite à un apport insuffisant de l'énergie lumineuse ainsi qu'à travers la formation de biofilm sur la surface du réacteur induisant un phénomène d'auto-ombrage des cellules les unes par rapport aux autres. De ce fait, notre choix s'est porté sur un modèle prenant en

compte la lumière et le carbone comme principaux facteurs vis-à-vis de la croissance de *Chlorella vulgaris*. Les conditions opératoires de culture ont été choisies de façon à éviter l'influence d'autres facteurs susceptibles d'être limitants pour la croissance (détaillés dans l'Annexe A1), puisque le modèle ne tient compte que du carbone et de la lumière :

- Le milieu de culture (Bristol 3 N, détaillé dans l'Annexe A2) est assez riche en éléments nutritifs essentiels à la croissance de l'algue (azote, phosphore, soufre, microélément, etc.). De ce fait, l'apport de ces éléments est suffisamment important pour éviter toute carence pouvant affecter la croissance cellulaire.
- La température à l'intérieur du réacteur est maintenue à une valeur optimale constante de 25° à l'aide d'un système de recirculation d'eau à l'intérieur d'une double enveloppe régulée à l'aide d'un thermostat.
- Le pH de la culture n'est pas régulé durant cette étude mais présente de faibles variations autour d'une valeur fixe voisine de 6,3 (1<sup>er</sup> pK de l'acide carbonique).
- Enfin et surtout les stratégies de commande envisagées au chapitre V se veulent suffisamment robustes pour autoriser l'utilisation de modèles simplifiés, ne capturant que les phénomènes influant de façon prépondérante sur l'évolution des algues.

Par ailleurs, étant donné que la finalité de la culture est de maximiser la consommation du  $CO_2$  par les algues, la concentration de ce dernier dans le milieu de culture, dans les conditions opératoires choisies, sera faible, et donc la culture s'opérera généralement dans la phase de limitation en carbone (et non en inhibition). Ainsi, la disponibilité du dioxyde de carbone dans le milieu réactionnel est limitante vis-à-vis de l'évolution de la concentration cellulaire et de la croissance de l'algue.

En effet, suite à des essais préliminaires sur le photobioréacteur, nous sommes arrivés à la conclusion que du fait des conditions opératoires retenues pour la culture de *Chlorella vulgaris*, les effets d'inhibition par le *CIT* et par l'oxygène produit étaient négligeables et ne présentaient pas d'impact significatif sur la vitesse de croissance de l'algue. La limitation de la croissance cellulaire par la lumière et par la source de carbone est donc prédominante par rapport aux autres phénomènes. Ainsi, le modèle initialement retenu (équation 2.5) peut être simplifié en ne retenant que les termes modélisant les limitations par la lumière et par le *CIT*. La vitesse de croissance de *Chlorella vulgaris* mise en culture dans un photobioréacteur est alors modélisée par l'expression suivante :

$$\mu = \mu_{max} \cdot \left( \frac{E}{K_E + E} \right) \cdot \left( \frac{CIT}{K_{CL} \cdot X + CIT} \right) \quad (2.7)$$

avec :

- ✓  $E$  : énergie lumineuse accessible par cellule ( $\mu E \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1} \cdot s^{-1}$ ) ;
- ✓  $CIT$  : concentration en carbone inorganique total ( $\text{mmol} \cdot L^{-1}$ ) ;
- ✓ Les paramètres du modèle ( $\mu_{max}$ ,  $K_E$  et  $K_{CL}$ ) : vitesse maximale de croissance ( $h^{-1}$ ), constante de demi-saturation par la lumière ( $\mu E \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1} \cdot s^{-1}$ ) et la constante de limitation par le *CIT* ( $\text{mmol} \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1}$ ), respectivement.

Il est à noter que ce modèle utilise :

- Un modèle de type Monod ((A2.5) de l'Annexe 2) pour modéliser la limitation de la croissance par l'énergie lumineuse accessible par cellule (et donc sa limitation par la lumière) ;
- Un modèle de type Contois ((A2.7) de l'Annexe 2) pour modéliser la limitation de la croissance par le carbone inorganique total.

L'énergie lumineuse est définie par le modèle de Krystallidis via les relations (2.6). Krystallidis (1994) a également établi une corrélation empirique entre l'intensité lumineuse sortante du photobioréacteur  $I_{out}$ , l'intensité lumineuse incidente  $I_{in}$  et la biomasse  $X$ . Contrairement à l'intensité lumineuse incidente, l'intensité lumineuse sortante varie avec la concentration cellulaire. La littérature ne fournit pas de modèles permettant de lier les deux énergies lumineuses à la biomasse. Pour cette raison et du fait de l'importance de la connaissance de l'intensité lumineuse sortante en temps réel en vue de son utilisation dans les stratégies de commande envisagées, nous avons opté pour la loi proposée par Krystallidis (1994). Cette relation est définie comme suit :

$$I_{out} = C_1 \cdot I_{in} \cdot X^{C_2} \quad (2.8)$$

avec  $C_1$  et  $C_2$  constantes adimensionnelles. Compte tenu des équations (2.6), (2.7) et (2.8), la mise en œuvre de ce modèle nécessitera l'identification de cinq paramètres,  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $\mu_{max}$ ,  $K_E$  et  $K_{CL}$ .

## 2.4 Conclusion

Grâce à leurs propriétés biochimiques très intéressantes, les microalgues ont donné une variété de systèmes de production qui se répartissent essentiellement en deux catégories principales. Les systèmes ouverts tout d'abord se caractérisent par une simplicité de conception, de faibles coûts d'investissement, mais, en contrepartie, ils ne permettent pas un contrôle des conditions de culture et présentent des risques de contamination. Les systèmes fermés ou « photobioréacteurs » permettent de remédier aux différents inconvénients des systèmes ouverts avec une productivité en biomasse largement supérieure mais avec des coûts et des besoins énergétiques beaucoup plus importants. Le choix du modèle est fondamental au niveau de l'optimisation et l'automatisation des bioprocédés, pour l'élaboration de stratégies d'estimation et de commande robustes afin de maximiser l'activité de fixation de  $CO_2$  par les algues. Le modèle mathématique proposé par Nouals (2000), ayant une structure simplifiée, apparentée à celle d'un modèle de Monod, a été retenu pour nos travaux afin de caractériser le comportement d'une culture de *Chlorella vulgaris* dans un photobioréacteur. Sous l'hypothèse d'un photobioréacteur parfaitement agité, qui a été vérifié (cf. Annexe A2), ce modèle biologique a été simplifié en négligeant l'effet inhibiteur du carbone, car la disponibilité du dioxyde de carbone dans la culture est considérée comme limitante pour la croissance de l'algue dans le cas de l'application environnementale considérée. Ce modèle n'est valide que dans les conditions de limitation de la croissance des microalgues par la lumière et par le carbone. Les autres paramètres environnementaux tels que le pH, la température, l'azote et le phosphore intervenant au niveau de la croissance algale ont été supposés non limitantes, et de ce fait, leur effet n'a pas été pris en compte dans la modélisation de la cinétique de croissance. Durant cette étude, nous avons opté pour un modèle de faible complexité afin de prédire la croissance de *Chlorella vulgaris* dans un photobioréacteur en prenant en compte l'influence de deux paramètres limitants : la lumière par l'énergie lumineuse accessible par cellule «  $E$  » selon une structure mathématique similaire à celle d'un modèle de Monod et le carbone inorganique total «  $CIT$  », selon une structure de type Contois. Ce choix de faible complexité du modèle simplifiera l'étude de ce système (réduction du nombre de paramètres à identifier, simplification de la structure des observateurs pour estimer la concentration cellulaire). Le prochain chapitre va porter sur l'approche utilisée lors de l'identification des paramètres du modèle de la lumière et du modèle de croissance retenu durant cette étude, à partir d'une campagne expérimentale de culture de *Chlorella vulgaris* dans un photobioréacteur, en mode batch et continu.

# 3 Identification des paramètres du modèle d'évolution de *Chlorella* *vulgaris*

---

## 3.1 Introduction

Les modèles de croissance sont des structures mathématiques utilisées comme des outils de représentation et de prédiction de l'évolution des systèmes. Les modèles doivent tenir compte des réactions métaboliques et chimiques, des phénomènes hydrodynamiques, du transfert de matière entre le gaz et le liquide et des interactions des cellules algales avec les paramètres environnementaux. Afin de répondre aux objectifs de commande fixés dans cette étude, la structure du modèle doit pouvoir réaliser le meilleur compromis entre simplicité du modèle et fiabilité de représentation de la dynamique du système. Nous avons pour cela considéré un modèle mathématique de structure simple qui prend en considération l'effet de limitation sur la croissance algale de deux paramètres principaux, la lumière et la concentration du carbone inorganique total.

Ce chapitre propose dans une première partie la structure générale du modèle d'évolution du système, incluant le modèle de croissance des microalgues et les différentes équations de bilan nécessaires. Les parties suivantes sont ensuite dédiées à l'identification de l'ensemble des paramètres intervenant dans les équations du modèle, et à leur validation à partir de données expérimentales obtenues par des campagnes de culture. Ainsi seront successivement identifiés le coefficient de transfert gaz-liquide «  $k_{La}$  » et le rendement de conversion «  $Y_{X/CIT}$  », essentiel à la modélisation de la cinétique de consommation du *CIT*, ainsi que les paramètres du modèle de croissance.

On trouvera par ailleurs en Annexe A2 la description complète du banc d'essai expérimental et des essais préalablement effectués afin de valider le régime d'écoulement du réacteur, nécessaire à l'exploitation des bilans de matière. Ce banc d'essai sera de nouveau utilisé par la suite pour valider le comportement des observateurs mis en œuvre ainsi que les stratégies de commande.

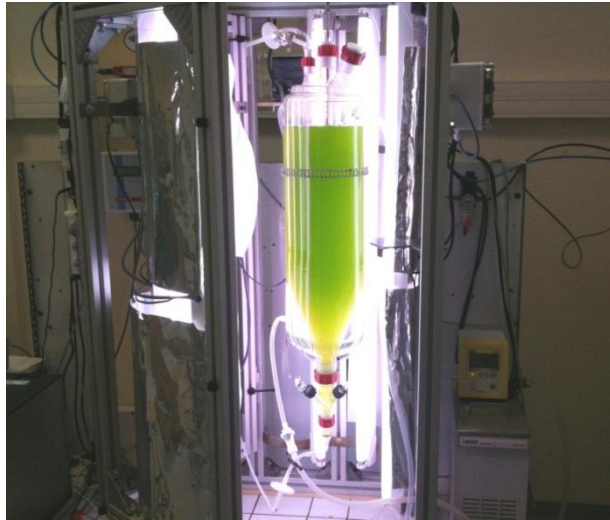


Figure 3.1 : Photo du photobioréacteur de 9,6 L utilisé durant cette étude

### 3.2 Modélisation du système

Au cours de la présente étude, nous avons opté pour un modèle de croissance de type non-structuré et de faible complexité issu des travaux de Nouals (2000). Ce modèle présenté précédemment dans la section 2.3, permet de mettre en évidence l'effet de limitation de deux paramètres : la lumière et la concentration de carbone inorganique total. La modélisation de la culture dans le photobioréacteur fait intervenir des bilans massiques traduisant l'évolution de chaque variable du système en fonction du temps en utilisant la cinétique de croissance de l'algue, un modèle de transfert gaz-liquide de  $CO_2$  et un modèle permettant d'estimer l'énergie lumineuse reçue par la culture.

Suite à la validation de la nature parfaitement agitée de l'écoulement dans le photobioréacteur (validation détaillée en Annexe A1), le comportement global du procédé biologique est défini grâce aux bilans de matière.

#### 3.2.1 Equation d'état relative à l'évolution de la biomasse

L'évolution de la concentration cellulaire, noté  $X$ , dans le cas d'un photobioréacteur parfaitement agité en mode continu, en fonction du temps, est définie par une équation différentielle de la forme suivante :

$$V \underbrace{\frac{dX}{dt}}_{(1)} = \underbrace{F_{in} X_{in}}_{(2)} - \underbrace{F_{out} X}_{(3)} + \underbrace{\mu V X}_{(4)} \quad (3.1)$$

où  $\mu X$  est la vitesse de production des microalgues, exprimée en nombre de cellules produites par unité de temps et unité de volume de culture.

avec :

- $\mu$  : vitesse spécifique de croissance ( $h^{-1}$ ) ;
- $X$  : concentration cellulaire dans le photobioréacteur et à la sortie ( $10^9 \text{ cell. L}^{-1}$ ) ;
- $X_{in}$  : concentration cellulaire apporté durant la culture avec l'alimentation ( $10^9 \text{ cell. L}^{-1}$ ) ;
- $V$  : volume de la culture (L) ;
- $F_{in}$  : débit d'alimentation du milieu de culture ( $L. h^{-1}$ ) ;

- $F_{out}$  : débit de soutirage du milieu réactionnel ( $L \cdot h^{-1}$ ).

Les différents termes représentent :

- (1) Le nombre de cellules accumulées dans le réacteur par unité de temps ;
- (2) Le nombre de cellules entrant dans le réacteur par unité de temps avec l'alimentation ;
- (3) Le nombre de cellules sortant du réacteur par unité de temps avec le soutirage ;
- (4) Le nombre de cellules produites par unité de temps dans le réacteur.

Dans le cas d'une culture en mode continu, le volume de la phase liquide dans le photobioréacteur reste constant, et les réactions existantes dans le réacteur n'induisent pas de changement significatif du milieu de culture, ce qui correspond à un débit d'entrée en milieu de culture  $F_{in}$  égal au débit de soutirage en milieu réactionnel  $F_{out}$ , que l'on notera  $F$  par la suite. D'autre part, au cours de la présente étude, il n'y a pas d'apport supplémentaire de biomasse, d'où  $X_{in} = 0$ . Ainsi, l'équation 3.1 devient :

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - \frac{F}{V} X \quad (3.2)$$

On peut noter que la variation de la concentration cellulaire à l'intérieur du réacteur dépend de deux paramètres : l'un opératoire avec le taux de dilution dans le réacteur, défini par le rapport entre le débit d'alimentation et le volume utile du réacteur (cf (2.3)) et l'autre biologique, dépendant de l'algue mise en culture et défini par la vitesse spécifique de croissance «  $\mu$  ».

Dans le cas d'une culture en mode batch où les débits d'alimentation et de soutirage sont nuls, l'équation 3.2 devient :

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (3.3)$$

### 3.2.2 Equation d'état relative à l'évolution du carbone inorganique total

Les différents termes intervenant dans le bilan matière en carbone inorganique total, *CIT*, sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 3.1** : Termes intervenant dans le bilan matière en *CIT*

Définition	Notation	Expression
Mol de carbone inorganique entrant avec l'alimentation entre t et t+dt	[E]	$F [CIT]_{in} dt$
Mol de carbone inorganique transférées de la phase gazeuse entre t et t+dt	[T]	$k_{1a} V ([CO_2]^* - [CO_2])$
Mol de carbone inorganique sortant avec le soutirage entre t et t+dt	[S]	$F [CIT] dt$
Mol de carbone inorganique consommées par la réaction de croissance entre t et t+dt	[C]	$\mu X V / Y_{X/CIT}$
Mol de carbone inorganique accumulées dans le réacteur entre t et t+dt	[A]	$V d[CIT]$

avec :

- $Y_{X/CIT}$  : rendement de conversion du carbone en biomasse ( $10^9$  cell. mol<sup>-1</sup>) ;
- $[CIT]_{in}$  : concentration du carbone inorganique total dans l'alimentation (mol.L<sup>-1</sup>) ;
- $[CIT]$  : concentration du carbone inorganique total dans le milieu de culture et le soutirage (mol.L<sup>-1</sup>) ;
- $k_L a$  : coefficient volumique de transfert gaz-liquide de  $CO_2$  (h<sup>-1</sup>)
- $[CO_2]^*$  : concentration de dioxyde de carbone qu'aurait le milieu de culture s'il était en équilibre avec la phase gazeuse sortante (mol.L<sup>-1</sup>) ;
- $[CO_2]$  : concentration de dioxyde de carbone dissous dans le milieu de culture (mol.L<sup>-1</sup>).

Dans le cadre de notre étude, on a supposé que le terme lié au taux spécifique de maintenance est négligeable. Le bilan s'écrit donc :

$$[E] + [T] = [S] + [C] + [A] \quad (3.4)$$

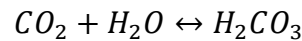
Dans notre cas où  $[CIT]_{in}$  est très faible et le terme  $[E]$  est négligeable, la dynamique de consommation du carbone inorganique total dans le milieu de culture est définie par une équation différentielle de la forme :

$$\frac{d[CIT]}{dt} = -\frac{\mu X}{Y_{X/CIT}} - \frac{F}{V} [CIT] + k_L a \cdot ([CO_2]^* - [CO_2]) \quad (3.5)$$

Dans le cas d'une culture en mode batch où les débits d'alimentation et de soutirage sont nuls, la dynamique de consommation du  $CIT$  est la suivante :

$$\frac{d[CIT]}{dt} = -\frac{\mu X}{Y_{X/CIT}} + k_L a \cdot ([CO_2]^* - [CO_2]) \quad (3.6)$$

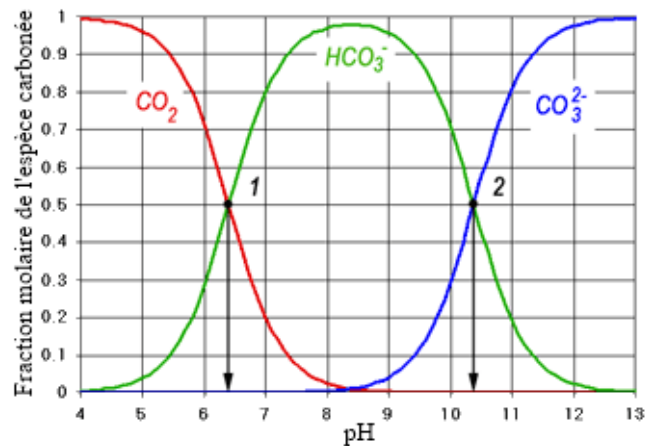
Exprimons maintenant la concentration de  $CIT$  en fonction de la concentration de  $CO_2$  dissous. Le dioxyde de carbone gazeux se dissout dans le milieu et s'hydrate en contact avec la solution aqueuse pour former l'acide carbonique  $H_2CO_3$  selon la réaction suivante :



L'acide carbonique est un diacide et sa dissociation se déroule selon deux équations :



Chacune de ces réactions de dissociation est caractérisée par une constante d'équilibre  $K_1$  ou  $K_2$ , exprimées en considérant que l'activité de chaque élément est égale à sa concentration. Ainsi, dans le milieu de culture, on rencontre les trois espèces carbonées en équilibre  $CO_2$ ,  $HCO_3^-$  et  $CO_3^{2-}$ . L'espèce  $H_2CO_3$  étant négligée. Chacune de ces espèces présente un domaine de prédominance distinct en fonction du pH du milieu (cf. figure 3.2).



**Figure 3.2 :** Fraction molaire des espèces carbonées en fonction du pH à 20°C et à l'équilibre (Thiery, 2005)

La concentration du dioxyde de carbone dissous dépend donc de la concentration du carbone inorganique total  $[CIT]$  et du pH du milieu de culture selon la relation suivante :

$$[CO_2] = \frac{[CIT]}{1 + K_1/[H^+] + K_1K_2/[H^+]^2} \text{ avec } [CIT] = [CO_2] + [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}] \quad (3.7)$$

où  $K_1$  et  $K_2$  représentent les constantes de dissociation de l'acide carbonique caractéristiques des relations entre le pH et les espèces carbonées dissoutes et  $[H^+]$  est la concentration en ions hydrogène dans le milieu, définie comme suit :

$$[H^+] = 10^{-pH}$$

Si la phase liquide est en équilibre avec la phase gazeuse à la pression partielle de  $CO_2$  notée  $P_{CO_2}$ , sa concentration  $[CO_2]^*$  est donnée par la loi de Henry :

$$[CO_2]^* = \frac{P_t \cdot y_{CO_2}}{H} = \frac{P_{CO_2}}{H} \quad (3.8)$$

avec :

- $P_t$  : pression totale de la phase gazeuse, égale à 1 atm ;
- $y_{CO_2}$  : fraction molaire de  $CO_2$  dans la phase gazeuse (sans dimension) ;
- $P_{CO_2}$  : pression partielle de  $CO_2$  dans la phase gazeuse (atm) ;
- $H$  : constante de Henry pour une température de 25°C (atm. L. mol<sup>-1</sup>).

### 3.2.3 Cinétique de croissance de *Chlorella vulgaris*

On a vu au chapitre précédent que la vitesse spécifique de croissance considérée durant cette étude est principalement influencée par l'énergie lumineuse exprimée en énergie accessible par cellule «  $E$  » selon une structure apparentée au modèle de Monod et par la concentration de carbone inorganique total  $[CIT]$  selon un modèle de type Contois. Cette structure, de faible complexité, implique un nombre réduit de paramètres, ce qui constitue un réel avantage au niveau de l'élaboration de la stratégie de commande pour ce système biologique. Le modèle retenu est de la forme :



$$\mu = \mu_{max} \cdot \left( \frac{E}{K_E + E} \right) \cdot \left( \frac{CIT}{K_{CL} \cdot X + CIT} \right) \quad (3.9)$$

avec :

- ✓  $E$  : énergie lumineuse accessible par cellule ( $\mu\text{E} \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ) ;
- ✓  $CIT$  : concentration en carbone inorganique total ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) ;
- ✓  $\mu_{max}$ ,  $K_E$  et  $K_{CL}$  : respectivement vitesse maximale de croissance ( $\text{h}^{-1}$ ), constante de demi-saturation par la lumière ( $\mu\text{E} \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ) et constante de limitation par  $CIT$  ( $\text{mmol} \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1}$ ).

L'énergie lumineuse accessible par cellule «  $E$  » est obtenue selon la relation proposée par Krystallidis (1994), pour rappel sous la forme :

$$E = \frac{(I_{in} - I_{out}) \cdot A_r}{V \cdot X} \quad (3.10)$$

avec :

- $V$  : volume utile du photobioréacteur ( $\text{m}^3$ ) ;
- $A_r$  : surface éclairée du réacteur ( $\text{m}^2$ ) ;
- $I_{in}$  et  $I_{out}$  : respectivement intensités lumineuses incidentes et sortantes ( $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ).

L'intensité lumineuse sortante est une variable du système qui doit être déterminée en temps réel selon une relation proposée par Krystallidis (1994) et définie rappelons-le comme suit :

$$I_{out} = C_1 \cdot I_{in} \cdot X^{C_2} \quad (3.11)$$

où  $C_1$  et  $C_2$  représentent des constantes adimensionnelles qui dépendent de la géométrie du réacteur et de la longueur d'onde du spectre lumineux.

Ces paramètres  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $\mu_{max}$ ,  $K_E$  et  $K_{CL}$  ainsi que ceux intervenant dans les équations de bilan  $k_L a$  et  $Y_{X/CIT}$  doivent être identifiés à partir de données expérimentales, cet aspect constitue l'objet des parties suivantes.

### 3.3 Détermination expérimentale du coefficient de transfert gaz-liquide « $k_L a$ »

$k_L a$  est un paramètre physique intrinsèque au réacteur qui permet de quantifier le transfert de la phase gazeuse vers la phase liquide. Ce transfert dépend de nombreux paramètres : diffusivités de  $CO_2$  dans les deux phases, hydrodynamique jouant sur l'épaisseur des films de diffusion. Sa détermination a été effectuée par des essais sans présence d'algues, à partir de mesures utilisant une sonde présentée en Annexe A2 qui permet de suivre la concentration de  $CO_2$  dissous dans le liquide. Le fonctionnement est discontinu pour la phase liquide, mais continu pour la phase gazeuse (entrée et sortie).

Un bilan matière sur le dioxyde de carbone dans la phase liquide dans le cas d'un fonctionnement batch donne (cf section 3.2.2) :

$$V d[CO_2] = k_L a \cdot ([CO_2]^* - [CO_2]) V dt \quad (3.12)$$

La phase liquide étant parfaitement agitée (démonstré par une étude présentée en Annexe A2), on a procédé à plusieurs hypothèses a priori :

- le transfert de  $CO_2$  est limité par la phase liquide (transfert rapide en phase gazeuse) ;

- la quantité transférée est négligeable devant la quantité entrante avec le gaz. On considère donc que la teneur du gaz à la sortie est la même que celle d'entrée ;
- la phase gazeuse est parfaitement agitée, ce qui est cohérent avec l'hypothèse précédente.

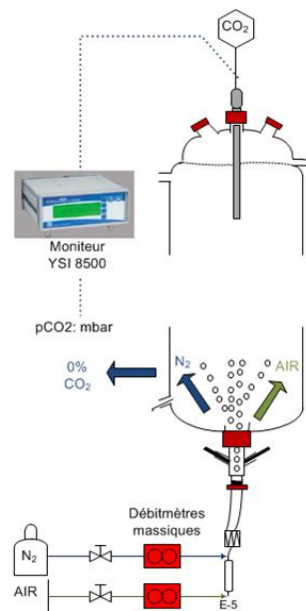
L'intégration de l'équation 3.12 permet d'obtenir la relation suivante :

$$\ln\left(\frac{[CO_2]^* - [CO_2]}{[CO_2]^* - [CO_2]_0}\right) = k_L a \cdot t \quad (3.13)$$

où  $[CO_2]_0$  est la concentration initiale de  $CO_2$  dissous dans la phase liquide (en  $mmol.L^{-1}$ ).

$[CO_2]^*$  ne varie pas avec le temps compte tenu des hypothèses posées.

Le protocole expérimental employé pour la détermination du  $k_L a$  repose sur une méthode dynamique. Elle consiste, dans un premier temps, à dégazer le dioxyde de carbone présent dans le milieu Bristol 3 N (la composition du milieu de culture utilisé pour la croissance de *Chlorella vulgaris*, est détaillée en Annexe A2) grâce à l'injection en continu d'azote gazeux. Lorsque la concentration de  $CO_2$  devient très faible, un mélange gazeux d'air et de 5 % de  $CO_2$  est envoyé dans le réacteur avec un débit d'entrée de 2,5 V.V.H (volume de gaz par volume de liquide et par unité de temps). Ce débit est celui qui sera utilisé dans les essais, il représente un bon compromis entre une bonne efficacité de transfert et une bonne agitation du milieu, compatible avec la survie des cellules. Le principe de ce protocole repose sur le suivi de l'augmentation de la concentration de dioxyde de carbone dissous jusqu'à la saturation du milieu réactionnel, grâce à la sonde à  $CO_2$  dissous YSI Biovision 8500 (cf. figure 3.3).



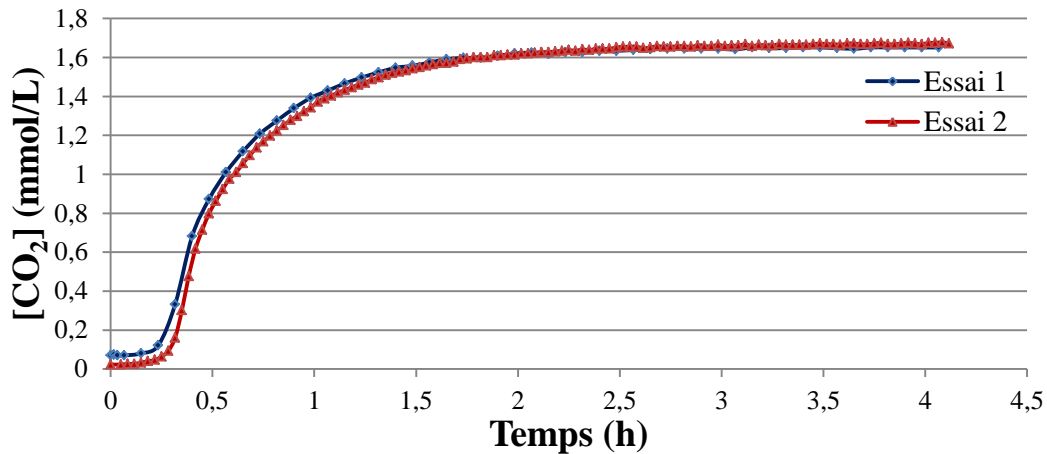
**Figure 3.3 :** Protocole expérimental de détermination du  $k_L a$ .

Rappelons que le résultat affiché par la sonde est la pression partielle de la phase gazeuse qui serait en équilibre avec la solution mesurée. La concentration de dioxyde de carbone dissous est obtenue grâce à la loi de Henry à la température considérée, soit  $25^\circ C$  (température utilisée lors des cultures de *Chlorella vulgaris*) selon la relation suivante :

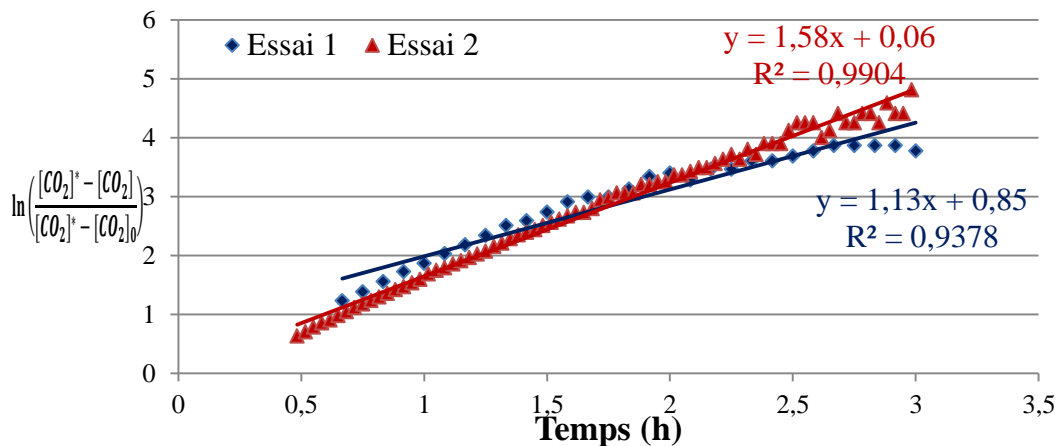
$$[CO_2] = \frac{P_{CO_2}}{H} \quad (3.14)$$

Dans notre cas, la constante de Henry  $H$  est égale à 29,41 atm. L. mol<sup>-1</sup> (Sander, 1999).

Deux séries d'essais ont été réalisées dans le but de déterminer le coefficient de transfert du dioxyde de carbone en présence d'un débit d'aération de 2,5 V.V.H d'un mélange d'air et de 5 % de CO<sub>2</sub>. Les résultats expérimentaux sont illustrés par les figures 3.4 et 3.5.



**Figure 3.4 :** Evolution de la concentration de CO<sub>2</sub> dissous en présence d'un débit gazeux de 2,5 V.V.H d'un mélange d'air et de 5 % de CO<sub>2</sub>

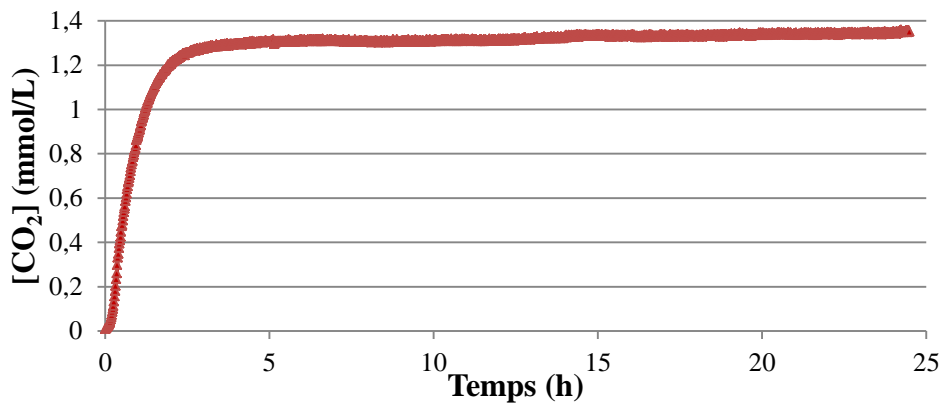


**Figure 3.5 :** Détermination du  $k_{La}$  pour un débit gazeux de 2,5 V.V.H d'un mélange d'air et de 5 % de CO<sub>2</sub>

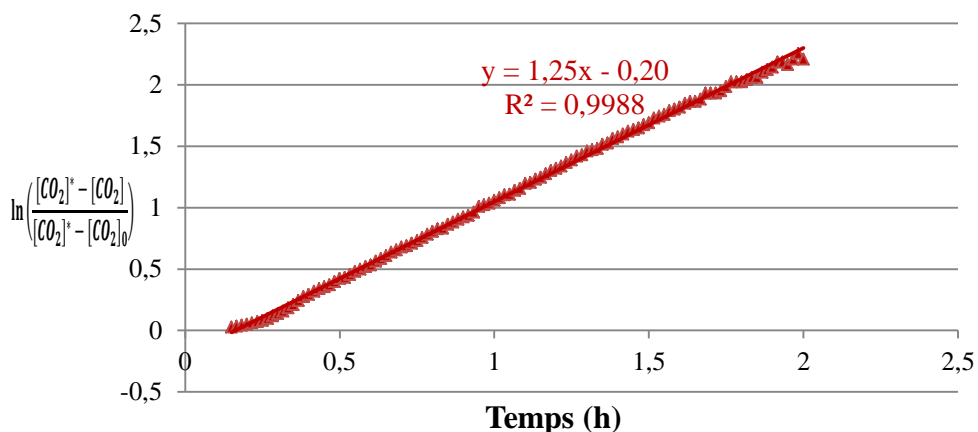
La figure 3.4 met en évidence la reproductibilité des essais. Les mesures expérimentales des coefficients de transfert gaz-liquide sont obtenues à partir des pentes des droites de la figure 3.5. Le premier essai permet d'obtenir un  $k_{La}$  de 1,6 h<sup>-1</sup>, alors que le second essai indique une valeur de 1,2 h<sup>-1</sup>. A partir de la moyenne de ces deux valeurs, nous déterminons le coefficient de transfert gaz-liquide du dioxyde de carbone sous les conditions opératoires retenues durant cette étude, égal à 1,4 h<sup>-1</sup>.

Un deuxième essai a été réalisé en considérant des conditions opératoires proches de celles de nos campagnes de culture, à savoir en présence de cellules algales et en mode continu. Cet essai a pour principal objectif de valider les résultats précédemment obtenus et de vérifier

l'impact de la présence d'algues et des éventuels composés sécrétés par celles-ci dans le milieu sur la valeur du  $k_La$ . La présence des algues (particules en suspension) est en effet susceptible de réduire la turbulence du milieu pour une même énergie d'agitation et donc la taille des bulles, ce qui aurait pour conséquence d'affecter le transfert au sein de la culture. La présence d'éventuels composés extracellulaires dans le milieu pourrait changer la viscosité de celui-ci en influençant le transfert gaz-liquide. Pour ce nouvel essai, les conditions opératoires sont identiques à précédemment, à savoir un débit gazeux de 2,5 V.V.H d'air enrichi à 5 % de  $CO_2$ . Le réacteur, contenant des cellules algales inactivées, est alimenté en continu par le milieu de culture avec un débit de  $0,15 \text{ L.h}^{-1}$  (un des débits d'alimentation testés au cours de nos travaux). L'inactivation des cellules algales, réalisée par un traitement thermique, grâce à l'autoclave à  $121^\circ\text{C}$  pendant 20 minutes, permet d'éviter toute consommation de  $CO_2$  par les cellules vivantes. Comme précédemment, le suivi de la concentration de  $CO_2$  dissous est réalisé par l'intermédiaire de la sonde de  $CO_2$  YSI Biovision 8500 (cf. figure 3.6).



**Figure 3.6 :** Evolution de la concentration en  $CO_2$  dissous en présence d'un débit gazeux de 2,5 V.V.H d'un mélange d'air contenant 5 % de  $CO_2$  et d'algues inactives dans le milieu



**Figure 3.7 :** Détermination du  $k_La$  pour un débit gazeux de 2,5 V.V.H d'un mélange d'air et de 5 % de  $CO_2$  et d'algues inactives dans le milieu

A partir de cet essai, la valeur de  $k_La$  identifiée est égale à  $1,3 \text{ h}^{-1}$ . Cette valeur est assez proche de celle obtenue lors de l'essai précédent. On peut donc en déduire que la présence des cellules algales n'affecte pas le transfert gaz-liquide à l'intérieur du réacteur et, par conséquent,

le coefficient de transfert gaz-liquide du dioxyde de carbone. Pour la suite de l'étude, la valeur du  $k_{La}$  est choisie égale à  $1,4 \text{ h}^{-1}$  avec un intervalle de confiance de  $\pm 0,4 \text{ h}^{-1}$ .

### 3.4 Identification expérimentale du rendement de conversion « $Y_{X/CIT}$ »

Le rendement de conversion intervient dans la cinétique de consommation du carbone inorganique total. C'est un paramètre propre à l'espèce mise en culture, qui traduit l'efficacité de conversion du substrat en cellules algales. Il représente la quantité théorique de produit formé (biomasse) à partir d'une quantité donnée de réactif (ici, carbone inorganique total). Il dépend donc de la nature des composés (substrat, biomasse, etc.) impliqués dans la réaction. Ce paramètre est classiquement déterminé lors d'une culture en batch en suivant la consommation du substrat et la formation de la biomasse en fonction du temps. La valeur expérimentale du rendement de conversion est alors donnée par le rapport entre la quantité de biomasse produite (en nombre de cellules par exemple) et la quantité de *CIT* consommé pour la produire (Bassompierre, 2007).

Le rendement de conversion, exprimé en nombre de cellule par mole de  $CO_2$ , présente la forme générale suivante :

$$Y_{X/CIT} = \frac{X}{\text{nombre de mole de } CO_2} \quad (3.15)$$

Au cours de notre étude, le nombre de cellules est mesuré par granulométrie laser (méthode comptage détaillée en Annexe A2). Pour déterminer le nombre de moles de carbone qui les constituent, on passe par la détermination de la matière sèche, puis avec une mesure de composition élémentaire, *CHNS*, de son pourcentage en carbone.

Durant deux campagnes expérimentales sous des conditions opératoires optimales (la lumière incidente, le pourcentage de  $CO_2$  et le débit du mélange gazeux en entrée), des prélèvements réguliers ont permis de mesurer :

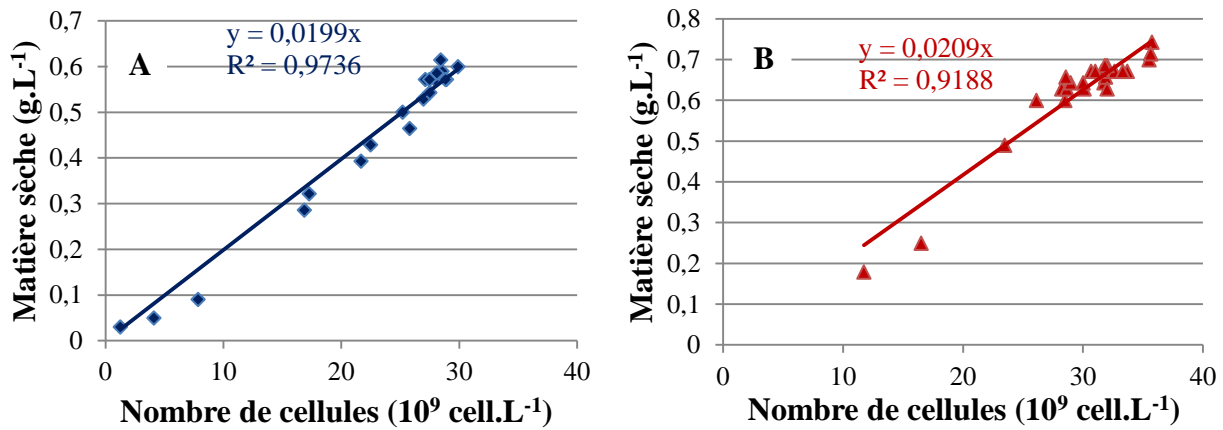
- Le nombre de cellules par granulométrie laser (méthode détaillée en Annexe A2) ;
- La matière sèche.

Le protocole expérimental de mesure de la matière sèche algale comporte les étapes suivantes :

- prélèvement d'un volume d'échantillon assez important (entre 50 à 100 mL suivant la concentration cellulaire) ;
- centrifugation à 4000 tr/min pendant 25 minutes ;
- pesée dans un dessiccateur d'un filtre vierge Whatman de type GF/C (après passage dans un four à  $105^\circ\text{C}$ ) ;
- récupération du culot de centrifugation, mise en suspension dans l'eau distillée et filtration sous vide sur un le filtre précédemment pesé ;
- séchage du filtre dans le four à  $105^\circ\text{C}$  pendant 24 heures ;
- pesée finale du filtre après refroidissement dans un dessiccateur.

La concentration de matière sèche, exprimé en  $\text{g.L}^{-1}$ , est obtenue à partir de la différence entre les deux pesées : filtre avec culot et filtre vierge.

Dans le cadre des deux séries d'essais, on obtient une excellente proportionnalité entre la concentration volumique de matière sèche [MS] et le nombre de cellules par unité de volume de liquide X, comme on peut le constater sur la figure 3.8.



**Figure 3.8 :** Détermination du coefficient de corrélation  $\gamma$  : **A** : culture en continu avec un débit  $F = 0,15 \text{ L.h}^{-1}$  – **B** : culture en continu avec un débit  $F = 0,12 \text{ L.h}^{-1}$

Le coefficient de proportionnalité  $\gamma$  est donné par la pente de la droite obtenue en portant [MS] en fonction de X. La moyenne des valeurs obtenues donne un coefficient égal à 0,02 g de matière sèche par milliard de cellules.

La quantification du pourcentage massique des éléments (carbone, oxygène, azote, soufre et hydrogène) pour un échantillon de microalgue est obtenue grâce à un analyseur élémentaire FLASH 2000 séries CHNS/O analyser (Thermo Scientific). Les résultats de l'analyse élémentaire d'un échantillon de *Chlorella vulgaris* sont indiqués dans le tableau 3.2.

**Tableau 3.2 :** Composition massique en pourcentage sec d'un échantillon de *Chlorella vulgaris*

Eléments	Poids sec (%)
Carbone	49,55
Oxygène	28,83
Hydrogène	6,72
Azote	8,13
Soufre	0,71

On obtient donc un pourcentage de carbone de 49,55%, en parfait accord avec les résultats de Clément-Larosière (2012), qui indique des pourcentages proches de 50%, dans toutes les conditions de culture étudiées. Cette fraction massique sera notée %C.

Le calcul du rendement  $Y_{X/CT}$  repose sur la démarche suivante :

- le pourcentage massique du carbone %C est défini par :

$$C (\%) = \frac{m_c}{[MS]} = \frac{n_c M_C}{[MS]} \quad (3.16)$$

- $M_C$  : masse molaire du carbone, égale à  $12 \text{ g.mol}^{-1}$ ;
- $nc = n_{CO_2}$  : nombre de mole de C.

A partir de (3.16), la relation 3.15 peut se réécrire de la manière suivante :

$$Y_{X/CIT} = \frac{X \cdot M_C}{[MS] \cdot C(\%)} = \frac{M_C}{\gamma \cdot C(\%)} \quad (3.17)$$

On peut déduire, à partir de l'équation (3.17), la valeur expérimentale du rendement de conversion «  $Y_{X/CIT}$  », égale à 1211 milliards de cellules par mol de  $C$ .

### 3.5 Identification des paramètres du modèle

Cette phase concerne l'identification proprement dite des paramètres du modèle de croissance, qui peut être réalisée soit sur la base des valeurs trouvées dans la littérature, soit à partir de mesures expérimentales. Cette phase d'identification paramétrique va se dérouler sur deux jeux de paramètres encore inconnus, sachant que  $Y_{X/CIT}$  et  $k_{La}$  ont été déterminés précédemment :

- paramètres relatifs au modèle de la lumière défini par l'équation (3.11), à savoir les deux constantes adimensionnelles  $C_1$  et  $C_2$  ;
- paramètres du modèle de croissance défini par l'équation (3.9) et comportant trois paramètres inconnus  $\mu_{max}$ ,  $K_E$  et  $K_{CL}$ .

Les données expérimentales qui vont servir à cette phase d'identification sont issues de campagnes de culture de *Chlorella vulgaris* dans le photobioréacteur de 9,6 L, sous des conditions optimale de croissance (les conditions de cultures sont décrites en Annexe A2). L'identification est réalisée sous environnement Matlab<sup>TM</sup>. La démarche entreprise repose sur deux étapes : une phase d'identification sur un jeu de données expérimentales contenant suffisamment d'informations pour pouvoir assurer une bonne identification des paramètres du modèle, suivie d'une phase de validation sur un jeu de données différent de celui utilisé lors de l'identification.

#### 3.5.1 Procédure d'identification des paramètres du modèle de la lumière

Dans le cadre de l'élaboration de la stratégie de commande envisagée, une première phase d'identification des paramètres du modèle relatif à la lumière est nécessaire. Cette modélisation concerne l'intensité lumineuse sortante, laquelle est définie par la relation (3.11) :

$$I_{out} = C_1 \cdot I_{in} \cdot X^{C_2}$$

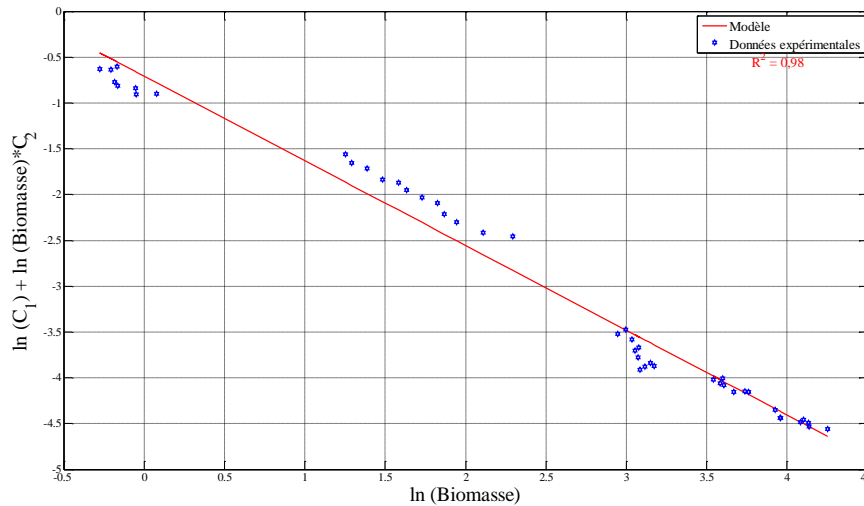
Cette relation peut être réécrite sous forme d'une relation linéaire :

$$\ln\left(\frac{I_{out}}{I_{in}}\right) = \ln(C_1) + C_2 \ln(X) \quad (3.18)$$

La stratégie suivie consiste à récolter les mesures de la biomasse et des intensités lumineuses incidente et sortante d'une culture de *Chlorella vulgaris* en mode batch sous des conditions optimales de culture. L'identification des constantes  $C_1$  et  $C_2$  repose sur une régression linéaire sous environnement Matlab<sup>TM</sup> à partir de l'équation (3.18). Les résultats de cette phase d'identification sont récapitulés dans le tableau 3.3 ci-dessous. On peut constater, d'après la figure 3.9, une qualité satisfaisante de la régression avec un coefficient de corrélation élevé, égal à 0,98. Il est à noter que la constante  $C_2$  est de signe négatif, ce qui était prévisible puisque cela traduit le fait que plus la concentration en biomasse est élevée, moins la lumière traverse le réacteur.

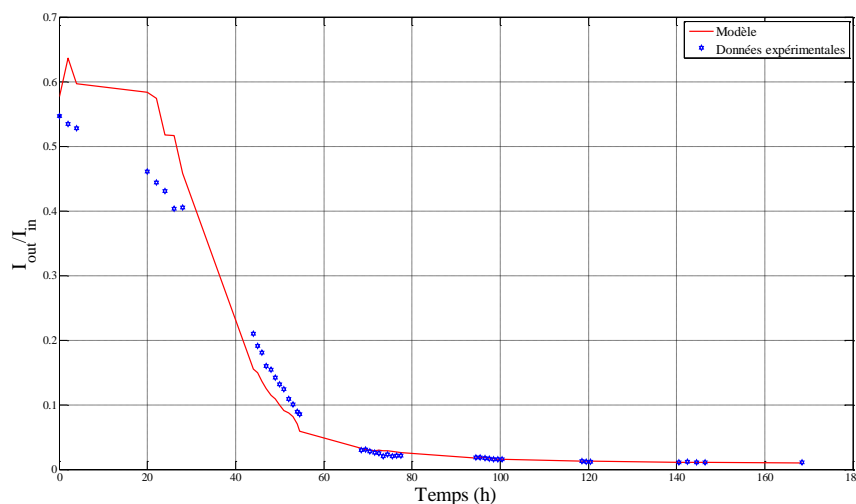
**Tableau 3.3 :** Valeurs identifiées des constantes  $C_1$  et  $C_2$

Paramètres	Valeur	Intervalle de confiance à 95%
$C_1$	0,493	[0,490;0,496]
$C_2$	-0,925	[-0,926;-0,924]



**Figure 3.9 :** Identification des coefficients  $C_1$  et  $C_2$

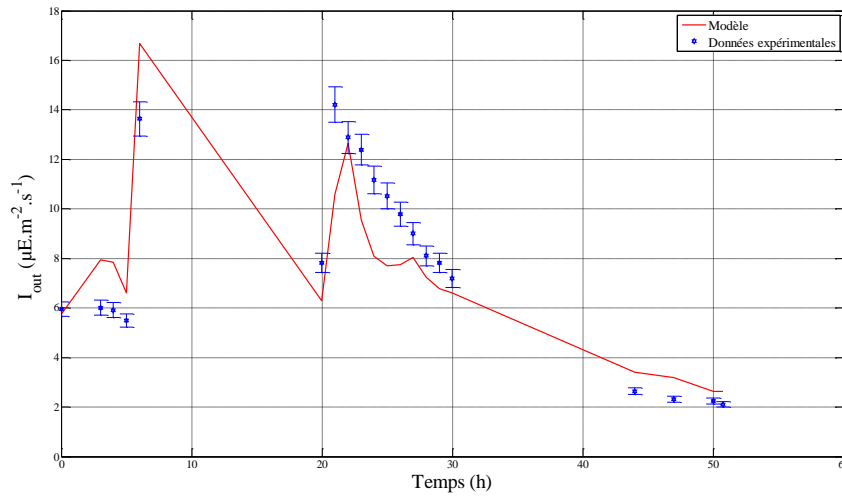
Afin de valider les deux constantes identifiées, la figure 3.10 propose une comparaison entre l'intensité lumineuse sortante simulée à partir des constantes  $C_1$  et  $C_2$  identifiées et celle mesurée par le photomètre. La figure 3.10 montre que l'intensité lumineuse sortante simulée par le modèle, obtenue par l'équation (3.11), reproduit de manière satisfaisante le profil de l'intensité lumineuse sortante réel. Ceci permet de valider les valeurs identifiées des coefficients  $C_1$  et  $C_2$ .



**Figure 3.10 :** Suivi de l'évolution de l'intensité sortante simulée par le modèle et mesurée

Dans un deuxième temps, le modèle donnant l'intensité lumineuse sortante identifiée ci-dessus est validé à partir de données issues d'une nouvelle campagne expérimentale de culture de *Chlorella vulgaris* en mode batch.





**Figure 3.11:** Phase de validation : suivi de l'évolution de l'intensité sortante simulée par le modèle et mesurée pour une culture en mode batch

L'intensité lumineuse sortante calculée à partir de l'équation (3.11) avec les constantes identifiés  $C_1$  et  $C_2$ , suit bien l'évolution de l'intensité lumineuse sortante mesurée pour cette seconde culture en mode batch (cf. figure 3.11). Les paramètres précédemment identifiés  $C_1$  et  $C_2$  sont donc validés. Ces deux paramètres ne dépendant que de la géométrie du bioréacteur, leurs valeurs peuvent être conservées lors de cultures en mode continu.

### 3.5.2 Identification paramétrique du modèle de croissance

La deuxième phase d'identification concerne la cinétique de croissance de *Chlorella vulgaris*. La stratégie suivie consiste à identifier les paramètres du modèle en exploitant les mesures expérimentales d'une campagne de culture de l'algue en mode continu sous des conditions optimales de croissance. Le choix d'une procédure d'identification sur une culture en mode continu est justifié par l'intérêt de modéliser la croissance algale sous des conditions similaires à celles considérées lors de l'implémentation de la stratégie de commande envisagée.

Les conditions de culture et les paramètres choisis durant l'identification sont récapitulés dans le tableau 3.4 ci-dessous.

**Tableau 3.4 :** Conditions opératoires et paramètres d'identification du modèle de croissance

Paramètres	Valeur	Unité
$I_{in}$	90	$\mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$
$P_{CO_2}$	0,05	atm
$V$	9,6	L
$A_r$	0,31	$m^2$
$K_1$	$10^{-6,35}$	sans unité
$K_2$	$10^{-10,3}$	sans unité
$Y_{X/CI}$	1211	$10^9 \text{ cell} \cdot \text{mol}^{-1}$
$k_{La}$	1,4	$h^{-1}$
$H$	29,41	$\text{atm} \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$
$T$	25	$^{\circ}C$

La stratégie d'identification paramétrique du modèle de croissance repose sur une méthode d'optimisation par régression non-linéaire selon un critère de moindres carrés non-linéaires, qui permet de minimiser l'erreur entre la mesure expérimentale de la concentration de biomasse et celle prédite par le modèle selon l'équation (3.2). Dans le cas général, ce critère quadratique de minimisation, noté  $J$ , est défini par la relation suivante :

$$J(\theta) = \sum_{i=1}^N \left( (y_{i,modèle}(\theta) - y_{i,mesuré})^T \cdot Q_i \cdot (y_{i,modèle}(\theta) - y_{i,mesuré}) \right) \quad (3.19)$$

avec :

- $y_{i,mesuré}$  : vecteur des valeurs mesurées de la concentration de biomasse ;
- $y_{i,modèle}$  : vecteur des prédictions issues du modèle ;
- $\theta$  : vecteur des paramètres ;
- $N$  : nombre de points de mesure ;
- $Q_i$  : matrice de pondération.

La mesure de la concentration de biomasse est réalisée par granulométrie (Annexe A2). Cette méthode de comptage donne une erreur de mesure de l'ordre de  $\pm 5\%$  (cf. Annexe A2).

Les intervalles de confiance pour chaque paramètre identifié sont approchés et calculés à partir de la matrice d'information de Fisher (Ljung, 1987), définie par l'expression suivante :

$$F = \sum_{i=1}^N \left[ \frac{\partial y_{i,modèle}}{\partial \theta} \right]^T \cdot Q_i \cdot \left[ \frac{\partial y_{i,modèle}}{\partial \theta} \right] \quad (3.20)$$

Les termes  $\frac{\partial y}{\partial \theta}$  représentent les fonctions de sensibilité des variables de sortie par rapport aux paramètres. Elles quantifient la dépendance des valeurs prédites par le modèle vis-à-vis des paramètres (Dochain, 2001). La matrice de Fisher représente l'inverse de la matrice de covariance des erreurs d'estimation, notée  $V$ . Les écarts-type sont les termes diagonaux de la racine carrée de la matrice de covariance «  $\sqrt{V}$  ».

$$V_{ii} = (\sigma(\theta_i))^2 \text{ avec } V = F^{-1} \quad (3.21)$$

L'intervalle de confiance à 95 % pour chaque paramètre est ainsi approché par  $\pm 2\sigma(\theta_i)$ . Notons enfin que la pondération  $Q_i$  est souvent choisie égale à l'inverse de la matrice de covariance des erreurs de mesure. Dans le cadre de notre étude, les erreurs de mesure ont été évaluées à  $\pm 5\%$  de la valeur moyenne des mesures.

Cette phase d'identification est réalisée sous environnement Matlab<sup>TM</sup>, exploitant les résultats expérimentaux d'une culture en mode continu avec un débit d'alimentation de  $0,15 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ .

Pour rappel, la structure choisie du modèle de croissance de l'algue est de la forme :

$$\mu = \mu_{max} \cdot \left( \frac{E}{K_E + E} \right) \cdot \left( \frac{CIT}{K_{CL} \cdot X + CIT} \right)$$

Notre démarche consiste à identifier les trois paramètres du modèle ( $\mu_{max}$ ,  $K_E$  et  $K_{CL}$ ) à partir de la mesure de la concentration de biomasse, en nous basant sur les bilans massiques d'évolution de la biomasse et du carbone inorganique total selon les équations différentielles suivantes :

$$\begin{cases} \frac{dX}{dt} = \mu X - \frac{F}{V} X \\ \frac{d[CIT]}{dt} = -\frac{\mu X}{Y_{X/CIT}} - \frac{F}{V} [CIT] + k_L a ([CO_2]^* - [CO_2]) \end{cases}$$

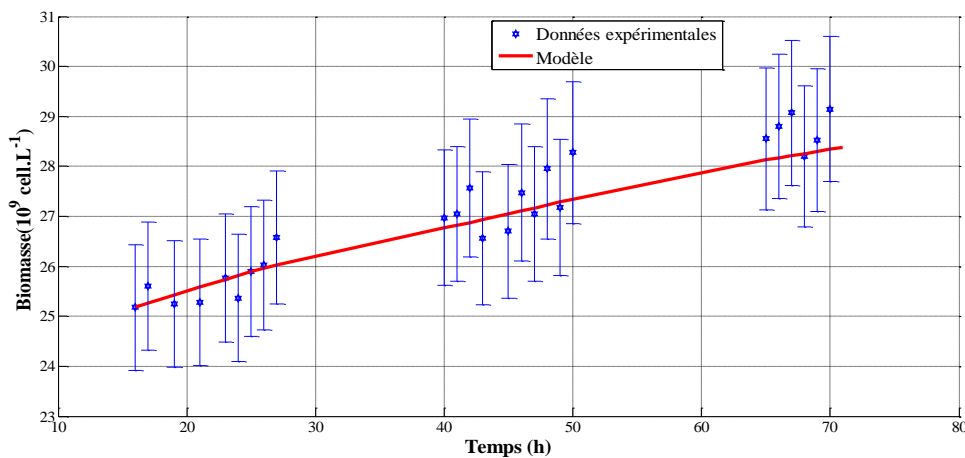
La simulation de l'évolution des concentrations de biomasse et de carbone inorganique total en fonction du temps implique de connaître les différents paramètres du modèle de croissance.

L'efficacité de la phase d'identification est jugée a posteriori à partir d'une comparaison entre les mesures expérimentales des concentrations de biomasse et de *CIT* et celles simulées par le modèle.

Les valeurs des paramètres du modèle de croissance obtenues après identification sont récapitulées dans le tableau 3.5 et les courbes obtenues après identification paramétrique sont présentées sur les figures (3.12 et 3.13). Les écarts-types des mesures de biomasse sont également représentés (écart type à 5%).

**Tableau 3.5 :** Valeurs identifiées des paramètres du modèle

Paramètres	Valeur	Unité	Intervalle de confiance à 95%
$\mu_{\max}$	1,07	$h^{-1}$	[0,89 ; 1,24]
$K_E$	0,08	$\mu E \cdot s^{-1} \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1}$	[0,07 ; 0,09]
$K_{CL}$	3,8	$mmol \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1}$	[3.1 ; 4.5]



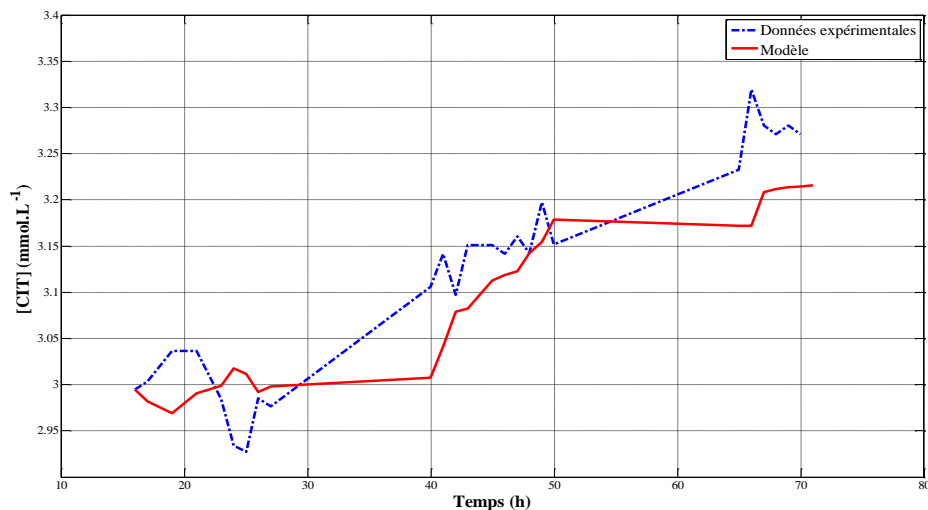
**Figure 3.12 :** Phase d'identification : évolution de la concentration cellulaire simulée et mesurée pour une culture en mode continu

D'après la figure 3.12, les résultats d'identification sont tout à fait pertinents et satisfaisants. La dynamique d'évolution de la concentration cellulaire est bien représentée par le modèle. Le modèle de croissance permet ainsi de reproduire la croissance réelle des microalgues mises en culture dans le photobioréacteur. Ces résultats permettent de valider les valeurs des paramètres identifiés du modèle de croissance. On peut également noter l'efficacité de la méthode de régression non-linéaire appliquée durant cette phase d'identification.

La figure 3.13 permet de comparer les valeurs de la concentration de *CIT* calculées à partir du modèle et celles mesurées expérimentalement. Les résultats obtenus montrent une bonne adéquation entre les allures des deux courbes. Le modèle, à travers les paramètres

précédemment identifiés  $\mu_{\max}$ ,  $K_E$  et  $K_{CL}$ , permet donc également de reproduire de façon satisfaisante l'évolution de la concentration de carbone inorganique total dans le milieu.

Les résultats de cette phase d'identification, utilisant des données de culture de *Chlorella vulgaris* en mode continu nous ont permis d'obtenir des valeurs de paramètres de modèle  $\mu_{\max}$ ,  $K_E$  et  $K_{CL}$  capables de modéliser efficacement la croissance de l'algue dans un photobioréacteur et, par conséquent, de reproduire l'évolution des variables du système.



**Figure 3.13** : Phase d'identification : évolution de la concentration de *CIT* simulée et mesurée pour une culture en mode continu

### 3.5.3 Validation du modèle de croissance

Le paragraphe précédent a permis d'identifier les paramètres du modèle à partir d'un jeu de données spécifiques. Ce modèle doit être désormais validé à partir d'un jeu de données expérimentales différent de celui ayant été utilisé pour l'identification. Cette phase de validation est essentielle, car elle permet de garantir l'efficacité du modèle pour la prédiction de l'évolution des variables du système dans le photobioréacteur, prédiction nécessaire ultérieurement dans le cadre de ce travail.

Le modèle de croissance choisi durant cette étude a été validé sur des jeux de données expérimentales issues de quatre cultures différentes : deux cultures en mode batch et deux cultures en mode continu avec des débits d'alimentation différents. Cette validation repose sur la comparaison entre les résultats simulés à partir du modèle obtenu précédemment et les mesures expérimentales collectées durant les campagnes de culture.

#### 3.5.3.1 Validation avec des cultures en mode batch

Une première phase de validation du modèle de croissance consiste à utiliser des données mesurées à partir de deux campagnes de culture de *Chlorella vulgaris* en mode batch sous les mêmes conditions opératoires que celles considérées lors de la phase d'identification. Seules les données expérimentales issues de la phase exponentielle de cultures sont considérées durant cette phase de validation, car elles permettent de travailler dans des conditions opératoires optimales, ce qui est plus représentatif pour l'identification ou la validation d'un modèle de croissance.

Les figures (3.14 à 3.17) présentent une comparaison entre les résultats (concentration cellulaire et *CIT*) simulés à partir du modèle et les mesures expérimentales de ces variables.

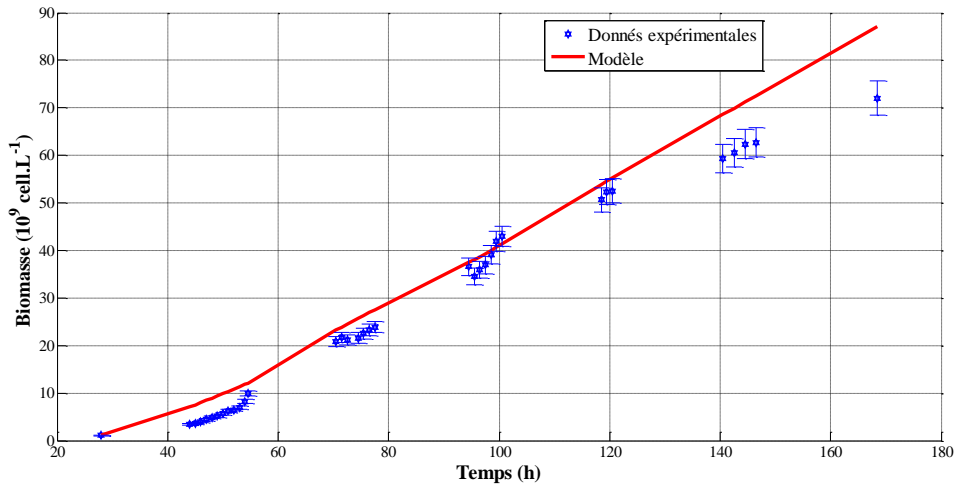


Figure 3.14 : Phase de validation : évolution de la concentration cellulaire simulée et mesurée pour une culture en mode batch (culture 1)

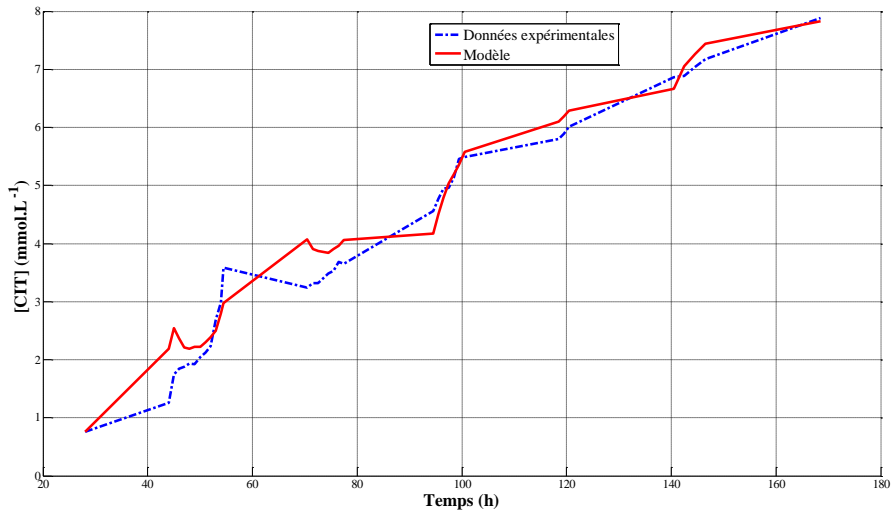


Figure 3.15 : Phase de validation : évolution de la concentration de *CIT* simulée et mesurée pour une culture en mode batch (culture 1)

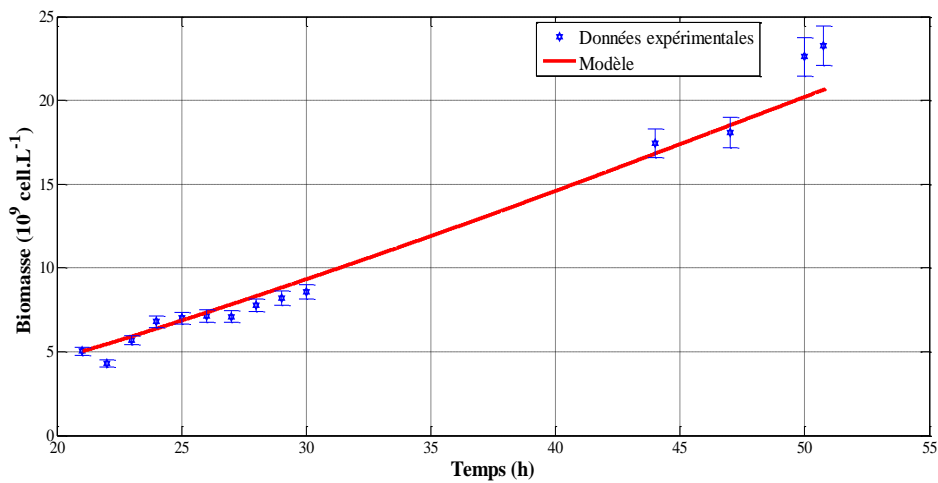
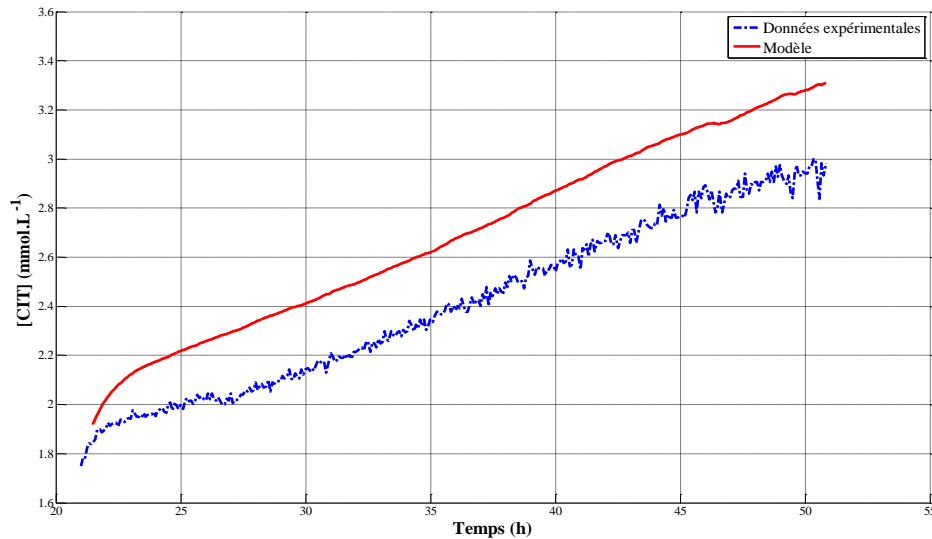


Figure 3.16 : Phase de validation : évolution de la concentration cellulaire simulée et mesurée pour une seconde culture en mode batch (culture 2)



**Figure 3.17** : Phase de validation : évolution de la concentration de *CIT* simulée et mesurée pour une seconde culture en mode batch (culture 2)

L'erreur moyenne de prédiction de la concentration cellulaire est de  $4,11 \cdot 10^9 \text{ cell. L}^{-1}$  pour la culture 1, avec un maximum d'erreur de 20%. Dans le cas de la culture 2, l'erreur est de  $1,48 \cdot 10^9 \text{ cell. L}^{-1}$  avec une erreur maximale de 17%.

Les résultats de validation pour ces deux cultures en mode batch sont satisfaisants. Les dynamiques d'évolution de la biomasse et de la concentration de carbone inorganique total sont en général bien reproduites par le modèle identifié. Cependant, concernant le cas de la figure 3.17, un biais a été constaté pour la concentration du *CIT* entre les valeurs simulées et les mesures. Ce biais peut être dû aux incertitudes liées aux mesures du carbone inorganique total (erreur de mesure de la sonde à  $\text{CO}_2$  ou éventuelle dérive de la mesure durant cette culture).

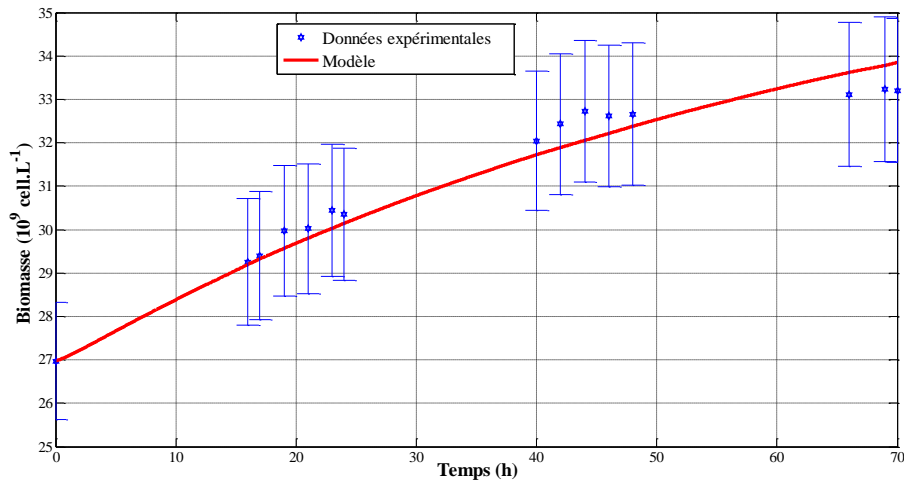
Ainsi, les premiers résultats de validation, sur des cultures batch, permettent d'obtenir une très bonne modélisation de la croissance de l'algue permettant de reproduire efficacement l'évolution des variables d'état du système.

### 3.5.3.2 Validation avec des cultures en mode continu

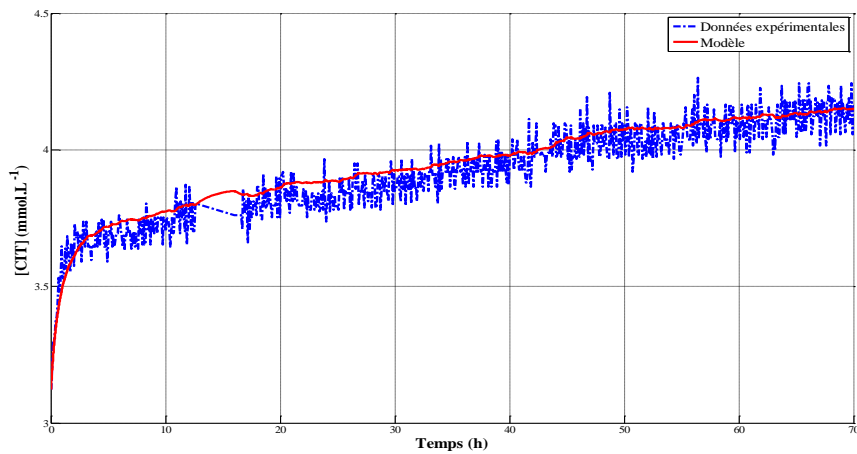
L'efficacité du modèle de croissance a été analysée à partir d'une nouvelle série de données expérimentales, correspondant à deux campagnes de culture en mode continu. Seules les mesures provenant de la phase transitoire des cultures sont considérées, tout en évitant la phase de formation de biofilm.

Les figures (3.18 et 3.19) donnent les résultats pour une culture en mode continu avec un débit d'alimentation de  $0,15 \text{ L.h}^{-1}$ . L'erreur moyenne de prédiction de la concentration cellulaire est de  $0,38 \cdot 10^9 \text{ cell. L}^{-1}$  avec un maximum de 2%.

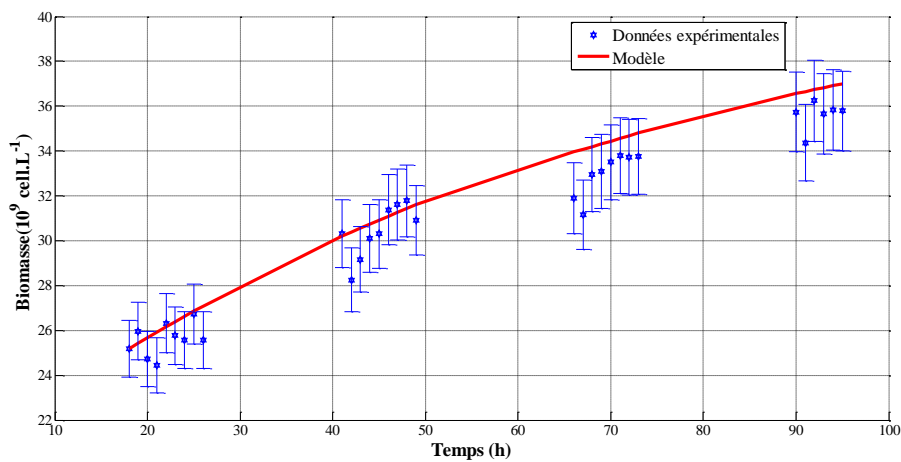
Les figures (3.20 et 3.21) présentent la validation du modèle identifié sur un autre jeu de données, correspondant aux mesures expérimentales d'une campagne de culture de *Chlorella vulgaris* en mode continu avec un débit d'alimentation de  $0,12 \text{ L.h}^{-1}$ . L'erreur moyenne de prédiction de la concentration cellulaire est de  $0,97 \cdot 10^9 \text{ cell. L}^{-1}$  avec un maximum de 9%.



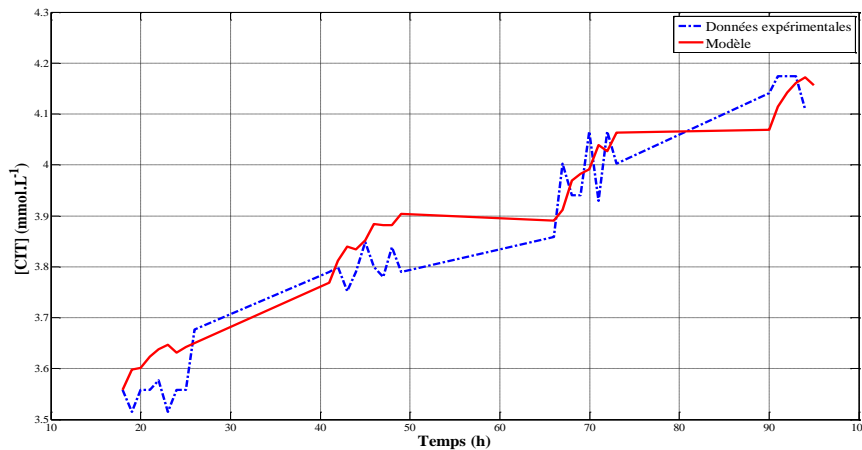
**Figure 3.18 :** Phase de validation : évolution de la concentration cellulaire simulée et mesurée pour une culture en mode continu avec un débit d'alimentation de  $0,15 \text{ L.h}^{-1}$



**Figure 3.19 :** Phase de validation : évolution de la concentration de *CIT* simulée et mesurée pour une culture en mode batch avec un débit d'alimentation de  $0,15 \text{ L.h}^{-1}$



**Figure 3.20 :** Phase de validation : évolution de la concentration cellulaire simulée et mesurée pour une culture en mode continu avec un débit d'alimentation de  $0,12 \text{ L.h}^{-1}$



**Figure 3.21** : phase de validation : évolution de la concentration de *CIT* simulée et mesurée pour une culture en mode continu avec un débit d'alimentation de 0,12 L.h<sup>-1</sup>

Les résultats de validation, dans le cas de cultures en continu, sont très satisfaisants et confirment les résultats précédemment obtenus en mode batch. Le modèle, à partir des paramètres identifiés  $\mu_{\max}$ ,  $K_E$  et  $K_{CL}$ , permet de reproduire efficacement la dynamique réelle de la concentration cellulaire pour une culture de *Chlorella vulgaris* ainsi que celle du carbone inorganique total.

Nous pouvons donc valider les paramètres identifiés  $\mu_{\max}$ ,  $K_E$  et  $K_{CL}$ , d'une part, et confirmer l'adéquation du modèle paramétrique choisi durant cette étude, d'autre part. Ainsi, le modèle obtenu permet de caractériser la croissance de l'algue mise en culture dans le photobioréacteur en mode batch et/ou en mode continu sous des conditions optimales de croissance. De même, cette modélisation de la croissance permet de reproduire l'évolution des variables d'état du système étudié, à savoir la concentration de biomasse et la concentration de carbone inorganique total.

### 3.6 Conclusion

Dans le cadre du développement de la stratégie d'estimation et de loi de commande robuste, un modèle de croissance a été mis au point pour prédire l'évolution des variables d'état au sein du photobioréacteur. Une étude préliminaire détaillée en Annexe A2 a permis de valider l'hypothèse concernant le régime d'écoulement au sein du réacteur utilisé durant nos campagnes expérimentales, permettant d'exploiter simplement les bilans de matières. Il a alors été possible de déterminer expérimentalement le coefficient de transfert gaz-liquide «  $k_L a$  » et le coefficient de rendement de conversion de *CIT* en biomasse «  $Y_{X/CIT}$  », nécessaires à la simulation de la cinétique de consommation de *CIT*.

Des campagnes expérimentales de culture de *Chlorella vulgaris* en mode batch et continu dans le photobioréacteur de 9,6 L, sous des conditions optimales de culture, ont permis de constituer des bases de données servant à identifier et à valider les paramètres du modèle de lumière et du modèle de croissance de l'algue. Le modèle de croissance établi présente l'avantage d'être de faible complexité, impliquant un nombre réduit de paramètres et permettant de décrire l'effet de la limitation de la lumière et du carbone sur la croissance algale. L'identification paramétrique a été menée à partir d'une régression non-linéaire de données issues d'une culture en continu. Les phases d'identification et de validation ont permis



d'aboutir à une modélisation de la dynamique réelle de la culture de *Chlorella vulgaris* qui se révèle satisfaisante. Les paramètres issus de l'identification sont récapitulés dans le tableau 3.6.

**Tableau 3.6 :** Paramètres du modèle de lumière et de croissance de *Chlorella vulgaris* mise en culture dans un photobioréacteur de 9,6 L

Paramètres	Valeur	Unité	Intervalle de confiance à 95%
$C_1$	0,493	sans unité	[0,490;0,496]
$C_1$	-0,925	sans unité	[-0,926;-0,924]
$\mu_{\max}$	1,07	$h^{-1}$	[0,89 ; 1,24]
$K_E$	0,08	$\mu E. s^{-1} \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1}$	[0,07 ; 0,09]
$K_{CL}$	3,8	$mmol. 10^9 \text{ cell}^{-1}$	[3.1 ; 4.5]

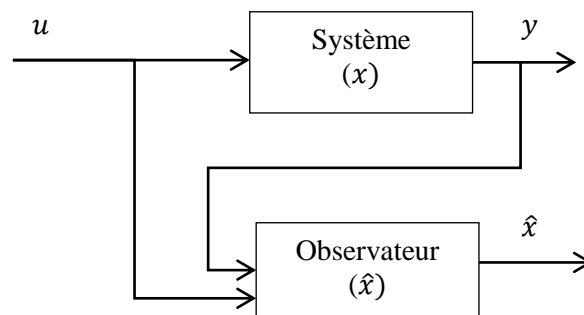
La validation du modèle représente une étape fondamentale pour le développement d'un observateur des états non mesurés et la mise en place d'une stratégie de commande robuste vis-à-vis des incertitudes de modélisation. Le chapitre suivant va permettre d'exploiter ce modèle d'évolution comme outil dans la synthèse d'observateurs pour estimer la concentration de biomasse à partir des mesures disponibles, à savoir la mesure de la concentration de carbone inorganique total et des variables physiques ( $pH$ , lumière,...). En effet, le modèle proposé précédemment ne peut être utilisé directement pour estimer la concentration de biomasse, par simulation simple, car ce modèle n'est valable que pour les campagnes de mesures exposées précédemment. Il s'avère nécessaire de corriger la valeur prédite par ce modèle du fait essentiellement que les microalgues étant des microorganismes vivants, leurs caractéristiques peuvent évoluer dans le temps (mutation, formation de biofilm, stress,...). Aussi, il s'avère nécessaire de concevoir des estimateurs, basés sur le modèle présenté précédemment, pour donner une estimée fiable de la concentration algale.

# 4 Estimation de la concentration en biomasse

## 4.1 Introduction

Après validation du modèle de croissance, la principale difficulté de la commande de procédés biologiques réside dans l'insuffisance de capteurs physiques capables de mesurer, en ligne, les différentes variables décrivant la dynamique du système dans le bioréacteur. Par exemple, la concentration cellulaire, nécessaire pour caractériser le comportement du système de culture, est difficilement mesurable en temps réel, et même hors-ligne. En effet, très peu de capteurs physiques sont capables de suivre, en temps réel, la densité cellulaire à l'intérieur d'un bioréacteur. Ils présentent des limitations d'utilisation relatives à leur coût élevé, à la technique d'analyse (destruction de l'échantillon, fiabilité des mesures en présence de perturbations liées aux conditions hydrodynamiques à l'intérieur du bioréacteur...) et à la maintenance requise pour un suivi en temps réel (étalonnage et procédure de stérilisation). Une solution alternative consiste à estimer l'état non mesuré au travers de la synthèse d'observateurs et à partir des mesures disponibles. Le principe de ce « capteur logiciel » repose sur la combinaison des mesures disponibles en temps réel et du modèle mathématique du système afin d'estimer une partie ou l'ensemble des variables d'état.

Un observateur est un système dynamique qui permet de reconstruire les variables d'état non mesurées à partir des entrées, des mesures et du modèle mathématique choisi (cf. figure 4.1).



**Figure 4.1** : Principe d'un observateur

A partir d'une commande, notée  $u$ , l'observateur permet de corriger l'écart entre les sorties mesurées du système,  $y$ , et les prédictions du modèle  $\hat{y}$ . L'observateur fournit  $\hat{x}$  l'estimation de l'état réel du système  $x$ .

Soit le système décrit par sa représentation d'état :

$$(S) \begin{cases} \dot{x} = f(x, u, t), & x(t_0) = x_0 \\ y = h(x, t) \end{cases} \quad (4.1)$$

Si ce système est observable (le rappel de la notion d'observabilité est donné en Annexe A3), alors il est possible de reconstruire ses états à partir des mesures, de la commande appliquée et de son modèle dynamique. L'observateur a généralement la forme suivante :

$$(\mathcal{O}) \begin{cases} \dot{\hat{x}} = \hat{f}(\hat{x}, u, t) + \mathbb{K}(\hat{z}, y - \hat{y}) \\ \dot{\hat{z}} = g(\hat{z}, u, t) \\ \mathbb{K}(\hat{z}, 0) = 0 \end{cases} \quad (4.2)$$

avec  $\hat{z}$  l'état de l'observateur. Ainsi, une estimée de l'état est obtenue en considérant une dynamique approchant la dynamique réelle, corrigée via un terme qui dépend de l'écart entre la mesure et la prédiction de la sortie. Cette fonction de correction  $\mathbb{K}$  est généralement choisie comme étant un gain multiplié par l'erreur d'estimation :  $\mathbb{K}(\hat{z}, y - \hat{y}) = K \cdot (y - \hat{y})$ . Ce gain  $K$  peut être fixe (observateur de Luenberger) ou variable (filtre de Kalman). Il est choisi idéalement ajustable pour accélérer la convergence de l'observateur.

Ce chapitre est consacré à l'estimation de la concentration de biomasse par l'intermédiaire de différentes stratégies d'observateurs. Une première partie dresse un état de l'art des stratégies d'estimation de la biomasse rencontrées dans le domaine des biotechnologies algales. Trois types d'estimateurs sont ensuite présentés et détaillés : le filtre de Kalman étendu, l'observateur asymptotique et l'observateur par intervalles. A l'aide de simulations, l'efficacité et la robustesse de ces capteurs logiciels sont analysées vis-à-vis de la qualité et des incertitudes sur le modèle et les mesures. La validation de ces observateurs est enfin réalisée à partir de campagnes expérimentales de culture de *Chlorella vulgaris* en mode continu, sous des conditions optimales de croissance.

## 4.2 Etat de l'art

Plusieurs stratégies d'estimation ont été proposées depuis 1960 pour les procédés biologiques (Bernard et Gouzé, 2002 ; Bogaerts et Vande Wouwer, 2003 ; Chéruy, 1997). Elles s'intéressent à la capacité de prendre en compte l'erreur de mesure dans la structure de l'observateur, à la nécessité d'un modèle représentant correctement les différentes cinétiques de réaction dans le bioréacteur, à la nature mathématique de l'observateur (fondé sur une approximation linéaire locale ou sur une théorie non-linéaire) et à la vitesse de convergence (fixée arbitrairement ou imposée par les conditions de culture) (Bogaerts et Vande Wouwer, 2003). On distingue généralement trois classes d'observateurs :

**Observateurs exponentiels** : cette classe d'observateurs permet de reconstruire les variables d'état non mesurées à partir des mesures disponibles et de la connaissance de la cinétique de réaction. La vitesse de convergence est dictée par le réglage des gains de l'observateur. La principale limitation de cette classe réside dans la dépendance de l'efficacité d'estimation vis-à-vis de la qualité du modèle (Bogaerts et Vande Wouwer, 2003). On distingue, parmi les observateurs exponentiels, l'observateur de Luenberger étendu (Bastin et Dochain, 1990), le filtre de Kalman étendu (Bastin et Dochain, 1990), les observateurs à horizon fuyant (Bogaerts et Hanus, 2001) et les observateurs à grand gains (Gauthier et al., 1992).

**Observateurs asymptotiques** : cette classe représente les observateurs en boucle ouverte, qui utilisent une partie de la connaissance du modèle pour l'estimation de l'état non mesuré, remplaçant la partie non connue par les mesures disponibles en temps réel (Bastin et Dochain, 1990 ; Bogaerts et Vande Wouwer, 2003). De ce fait, la structure de l'observateur asymptotique ne présente pas de terme correctif entre l'estimée et la mesure. Cette classe ne présente pas de dépendance vis-à-vis de la qualité du modèle biologique, mais sa vitesse de

convergence est fixée par les conditions opératoires, principalement le taux de dilution (défini par le rapport entre le débit d'alimentation et le volume utile de la culture). Une des études de référence des observateurs asymptotiques appliqués aux bioprocédés est celle de Bastin et Dochain (1990).

**Observateurs hybrides** : cette classe permet de combiner les avantages des observateurs asymptotiques (robustesse vis-à-vis de la connaissance des cinétiques de croissance) et exponentiels (vitesse de convergence ajustable) (Bogaerts et Vande Wouwer, 2003). Le développement de ces observateurs repose sur la définition d'un intervalle de confiance au niveau de la structure du modèle biologique (Hulhoven et al., 2006). Selon cet intervalle, l'observateur hybride va osciller entre deux cas limites : une structure similaire à celle d'un observateur exponentiel dans le cas où le modèle est supposé parfaitement connu et une structure proche d'un observateur asymptotique lorsque le modèle ne permet pas de traduire efficacement les cinétiques de réaction (Bogaerts et Vande Wouwer, 2003).

Très peu d'études sur les stratégies d'estimation de cultures de microalgues ont été répertoriées dans la littérature. Les principales approches utilisées sont les suivantes :

**Observateur à grand gain** : Une étude a permis de valider le modèle biologique de Droop (Droop, 1968) pour une culture de phytoplancton avec mise au point d'un observateur à grand gain pour l'estimation de la concentration de biomasse, de la concentration du substrat et du quota cellulaire en azote (Bernard et al., 1998). Un observateur non-linéaire à grand gain a été testé par Bernard et ses collaborateurs (2001) pour une culture de la souche autotrophique chlorophycée *Dunaliella tertiolecta*. Cet observateur a été développé à partir du modèle de Droop sous des conditions de limitation en azote, afin d'estimer la concentration cellulaire, la concentration d'azote et le quota cellulaire interne d'azote de l'algue.

**Filtre de Kalman** : Un filtre de Kalman étendu a été utilisé dans le cas de cultures en batch et en continu, de la souche *Porphyridium purpureum* pour estimer la concentration de biomasse à partir de la mesure de la concentration de carbone inorganique total (Becerra et al., 2008). Cet observateur a été développé à partir d'un modèle qui prend en compte l'effet de limitation par la lumière et par le carbone inorganique total. Une extension de ces travaux a porté sur une structure alternative du filtre de Kalman « unscented Kalman filter ou *UKF* ». (Marafioti et al., 2009). Li et al. (2003) ont développé un filtre de Kalman étendu pour une culture de *Dunaliella salina* à partir de mesures de l'intensité lumineuse, en considérant un modèle de croissance qui prend en compte les limitations par la lumière et d'inhibition par l'oxygène dissous. Deux structures, une classique et une adaptative, ont été testées pour l'estimation de la concentration de biomasse, de la concentration d'oxygène dissous et de l'intensité lumineuse moyenne absorbée. Une étude similaire a porté sur une stratégie d'estimation basée sur un filtre de Kalman étendu appliquée à la culture de *Dunaliella salina* (Su et al., 2003). Cet observateur a permis d'estimer la concentration de biomasse, la vitesse spécifique de croissance, la concentration d'oxygène dissous et la concentration de phosphate à partir des mesures de l'intensité lumineuse incidente.

**Observateur à horizon fuyant** : cet observateur a été appliqué à une culture en continu de *Dunaliella tertiolecta* (Goffaux et Vande Wouwer, 2008). La robustesse de cet observateur a été analysée au niveau de l'estimation de la concentration de biomasse, de la concentration d'azote et du quota cellulaire interne en azote, en présence d'incertitudes des paramètres du modèle de Droop.

**Observateur par intervalles :** Goffaux et son équipe (2009a) ont implanté une structure continue-discrète de l'observateur par intervalles pour la culture de microalgues. L'optimisation de cette démarche (par transformation non-linéaire de l'état, par la notion de groupe d'intervalles, et par la réinitialisation fréquente avec la meilleure prédiction) a été validée expérimentalement, pour des cultures batch de l'espèce *Isochrysis galbana* sous des conditions de photo-périodicité pour l'estimation de la concentration de biomasse, de la concentration d'azote et du quota cellulaire de l'azote à partir de la mesure de la concentration de carbone organique. Par ailleurs, ils ont également validé cette approche pour des cultures en continu de *Dunaliella tertiolecta*, pour l'estimation de la concentration de biomasse, de la concentration d'azote et du quota cellulaire de l'azote à partir des mesures de la concentration de nitrate (Goffaux et al., 2009b). D'autres auteurs ont exploité cette démarche pour estimer la vitesse de croissance de *Dunaliella tertiolecta* mise en culture dans un bioréacteur en mode continu (Mairet et Bernard, 2009).

**Observateur à entrée quasi inconnue :** Rocha-Cózatl et Vande Wouwer (2011) ont proposé une stratégie d'estimation qui permet de reconstruire la concentration d'azote inorganique et le quota cellulaire interne en azote à partir d'un modèle de Droop et des mesures du biovolume (volume des cellules dans un volume donné de milieu de culture) disponibles en temps réel, en présence de variations inconnues de l'entrée du système (taux de dilution). Cet observateur a été testé pour une culture en continu de *Dunaliella tertiolecta*.

Notre étude sera consacrée à l'analyse de l'efficacité et de la robustesse de trois types d'observateurs : le filtre de Kalman étendu, l'observateur asymptotique et l'observateur par intervalles pour l'estimation de la concentration de biomasse de *Chlorella vulgaris* à partir des mesures de la concentration de carbone inorganique total disponibles en temps réel (via des mesures en temps réel de la concentration en  $CO_2$  dissous). Ainsi, le but est de comparer des structures d'observateurs fréquemment rencontrés dans la littérature (à savoir observateurs exponentiel, asymptotique et hybride), afin de choisir la mieux adaptée pour notre application, en vue du développement d'une loi de commande robuste vis-à-vis des incertitudes sur le modèle.

### 4.3 Filtre de Kalman

#### 4.3.1 Principe

Le filtre de Kalman permet d'estimer l'état du système à partir de ses valeurs passées, des commandes appliquées et des mesures. Cette approche a été initiée par Kalman (1960) dans le cas de système de modèle discret et par Kalman et Bucy (1961) dans le cas de système de modèle continu. Elle consiste à minimiser la variance de l'erreur d'estimation et présente comme avantage l'utilisation d'une structure de rétroaction : une phase de prédiction de l'état du système et une phase de correction de la valeur prédite, à partir des mesures (Lewis et al. 2008, Casasolan et al., 2010).

Il existe différents types de filtre de Kalman, selon la nature de la dynamique du système (continue ou discrète, linéaire ou non), et des mesures (discrètes ou en continu). Dans le cas du système étudié, les mesures sont disponibles à des périodes d'échantillonnage importantes. De ce fait, nous nous sommes orientés vers des filtres de Kalman prenant en compte des mesures discrètes. D'autre part, le bioréacteur étant continu, il faut considérer des filtres de Kalman adaptés pour des dynamiques continues. Cependant, puisque le système évolue lentement, il est possible de discrétiser sa dynamique et de considérer un système discret avec des mesures

discrètes (ce qui simplifie l'implantation expérimentale). Enfin, les équations du filtre de Kalman changent selon que la dynamique est linéaire (sections 4.3.1.1) ou non-linéaire (section 4.3.1.2). Les paragraphes suivants présentent les équations du filtre dans ces deux cas.

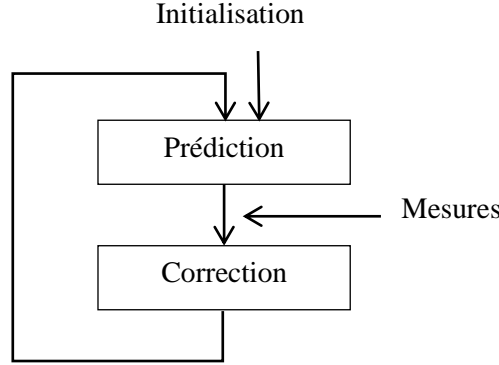


Figure 4.2 : Principe du filtre de Kalman

#### 4.3.1.1 Filtre de Kalman discret

Dans le cas d'un système linéaire discret et observable modélisé par la représentation d'état :

$$\begin{cases} x_{k+1} = A_k x_k + B_k u_k + w_k \\ y_k = C_k x_k + v_k \end{cases} \quad (4.3)$$

où  $k$  est l'indice temporel,  $x$  est l'état,  $u$  la commande,  $y$  la mesure,  $(A, B, C)$  la représentation d'état à l'instant  $k$ .  $w_k$  et  $v_k$  représentent des bruits blancs gaussiens, non corrélés, de matrices de variance respectives  $Q_k$  et  $R_k$ . Ces bruits sont appelés respectivement bruit d'état et bruit de mesure. Ils permettent de modéliser la confiance que l'on a dans le modèle du système pour l'un, et la qualité de la mesure pour l'autre.

Le filtre de Kalman repose sur une démarche de prédiction-corrrection par la mesure (cf. figure 4.2). Ses équations sont alors données par les relations suivantes.

##### - Phase d'initialisation

$$\mathbb{E}[x_0] = \hat{x}_0 \quad \mathbb{E}[(x_0 - \hat{x}_0)(x_0 - \hat{x}_0)^T] = P_0$$

où  $P_0$  représente la matrice de covariance de l'erreur d'estimation,  $\mathbb{E}$  l'espérance mathématique et  $x_0$  l'état à l'instant initial et  $\hat{x}_0$  son estimée.

##### - Phase de prédiction entre les instants $k-1$ et $k$ : prédiction « a priori » de l'état, noté $\hat{x}_k^-$ , en utilisant le modèle, et de la matrice de covariance de l'erreur de prédiction, $P_k^-$ :

$$\hat{x}_k^- = A_{k-1} \hat{x}_{k-1} + B_{k-1} u_{k-1} \quad (4.4)$$

$$P_k^- = A_{k-1} P_{k-1} A_{k-1}^T + Q_{k-1} \quad (4.5)$$

##### - Phase de correction : mise à jour de la prédiction à partir de la mesure $y_k$ afin d'obtenir l'estimation « a posteriori » notée $\hat{x}_k$ et la matrice de variance de l'erreur d'estimation, $P_k$

$$P_k = (I - K_k C_k) P_k^- \quad (4.6)$$

$$K_k = P_k^- C_k^T (C_k P_k^- C_k^T + R_k)^{-1} \quad (4.7)$$

$$\hat{x}_k = \hat{x}_k^- + K_k (y_k - C_k \hat{x}_k^-) \quad (4.8)$$

Il est à noter par ailleurs que ces équations restent valables dans le cas d'un système discret, avec des mesures disponibles à un pas d'échantillonnage plus élevé que celui du système.

#### 4.3.1.2 Filtre de Kalman étendu discret

Soit le système dynamique non linéaire décrit par la relation suivante :

$$\begin{cases} x_k = f(x_{k-1}, u_{k-1}) + w_{k-1} & x(t_0) = x_0 \\ y_k = h(x_k) + v_k \end{cases} \quad (4.9)$$

où les fonctions  $f$  et  $h$  sont non-linéaires en l'état. Les bruits  $w_k$  et  $v_k$  sont supposés blancs gaussiens, non corrélés, de matrices de variance  $Q_k$  et  $R_k$  respectivement.

Le filtre de Kalman étendu discret appliqué à ce système est une extension du filtre de Kalman discret dans le cas linéaire. Il consiste à linéariser les équations autour des trajectoires estimées, et donc à déterminer un système discret linéaire pour lequel un filtre de Kalman discret linéaire est appliqué. Les équations finalement obtenues sont les suivantes.

- **Phase d'initialisation**

$$\mathbb{E}[x_0] = \hat{x}_0 \quad \mathbb{E}[(x_0 - \hat{x}_0)(x_0 - \hat{x}_0)^T] = P_0$$

- **Phase de prédiction (entre  $k-1$  et  $k$ )**

$$\hat{x}_k^- = f(\hat{x}_{k-1}, u_{k-1}) \quad (4.10)$$

$$P_k^- = A_{k-1} P_{k-1} A_{k-1}^T + Q_{k-1} \quad (4.11)$$

où la matrice  $A_{k-1}$  est obtenue en linéarisant la dynamique autour du point d'estimation courant  $\hat{x}_k$ , soit :

$$A_{k-1} = \left. \frac{\partial f}{\partial x} \right|_{x=\hat{x}_{k-1}} \quad (4.12)$$

- **Phase de mise à jour à l'instant  $k$  : correction de la prédiction à partir de la mesure**

$$K_k = P_k^- C_k^T (C_k P_k^- C_k^T + R_k)^{-1} \quad (4.13)$$

$$\hat{x}_k = \hat{x}_k^- + K_k (y_k - C_k \hat{x}_k^-) \quad (4.14)$$

$$P_k = P_k^- - K_k C_k P_k^- \quad (4.15)$$

où la matrice  $C_k$  est donnée par :

$$C_k = \left. \frac{\partial h(x)}{\partial x} \right|_{x=\hat{x}_k^-} \quad (4.16)$$

### 4.3.2 Application au système étudié

Le système étudié présente les caractéristiques suivantes :

- Un modèle d'évolution non-linéaire, de dynamique assez lente,
- Des mesures de concentrations de *CIT* disponibles à des intervalles temporels importants (toutes les 5 minutes).

De ce fait, la version du filtre de Kalman retenue est le filtre de Kalman étendu discret. Le modèle dynamique a été discrétisé avec une méthode approchée de type Euler. Cette approximation est valide étant donné que la dynamique du système est assez lente.

Il est donc possible d'obtenir une représentation discrète du bioprocédé, en discrétisant les états à la période d'échantillonnage  $T_e$  :

$$x_k = [X(kT_e) \ [CIT](kT_e)]^T \triangleq [X_k \ [CIT]_k]^T \quad (4.17)$$

où  $X$  et  $[CIT]$  sont respectivement les concentrations de biomasse et de carbone inorganique total.

Les mesures sont supposées disponibles selon un pas d'échantillonnage  $\tau$ , tel que  $\tau > T_e$ .

$$y_j = [CIT](t = j\tau) \triangleq [CIT]_j \quad (4.18)$$

Le fait de considérer un pas de discrétisation du modèle plus fin que celui des mesures permet d'améliorer la précision de la prédiction des états par le filtre.

Partant du modèle décrit lors du chapitre précédent, la dynamique du système est alors définie par le système discret non-linéaire suivant (par application de la méthode d'Euler à la dynamique continue donnée par (3.2) et (3.5)) :

$$(S_d) \begin{cases} X_{k+1} = X_k + T_e(\mu_k X_k - D_k X_k) \\ [CIT]_{k+1} = [CIT]_k + T_e \left( -\frac{\mu_k X_k}{Y_{X/CIT}} - D_k [CIT]_k + k_L a ([CO_2]^* - [CO_2]_k) \right) \end{cases} \quad (4.19)$$

$D$  désigne le taux de dilution, défini par  $D=F/V$ .

Le filtre de Kalman étendu discret peut donc être appliqué, en ajoutant des bruits additifs fictifs d'état et de mesures à  $(S_d)$ , similairement à l'équation (4.9). La structure du filtre obtenue est résumée par la figure 4.3. Le filtre est constitué des équations (4.10) à (4.16), appliquées au système  $(S_d)$ .

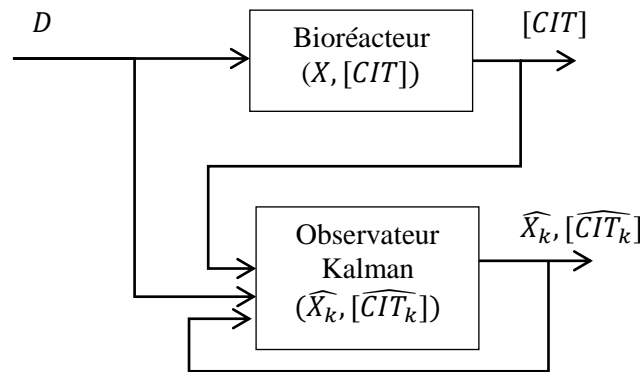


Figure 4.3 : Structure retenue pour le filtre de Kalman

D'autre part, pour simplifier l'étude, les bruits de mesure sont supposés stationnaires, et donc leurs matrices de variance sont constantes :

$$\begin{aligned} Q_k &= Q \quad \forall k \\ R_k &= R \quad \forall k \end{aligned}$$

Le filtre de Kalman étendu peut présenter des problèmes de convergence, selon les valeurs données aux matrices  $Q$  et  $R$ . Elles seront donc choisies empiriquement (par essais/erreurs) pour garantir une vitesse de convergence acceptable, tout en assurant la stabilité du filtre. La matrice de covariance de l'erreur de prédiction est quant à elle initialisée en fonction de la précision sur la concentration initiale de biomasse et de la mesure de  $[CIT]$ .

### 4.3.3 Mise en œuvre en simulation

Les performances du filtre de Kalman étendu sont analysées en simulation, les paramètres et conditions expérimentales sont récapitulés dans le tableau 4.1 ci-dessous. Les temps



d'échantillonnage sont :  $T_e = 1$  min pour la dynamique et  $\tau = 10$  min pour les mesures. La concentration en  $CIT$  est exprimée en  $\text{mmol.L}^{-1}$  et la biomasse en  $10^9 \text{ cell.L}^{-1}$ .

**Tableau 4.1** : Paramètres de simulation

Paramètres	Valeur	Unité
$I_{in}$	90	$\mu\text{E. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
$P_{CO_2}$	0,05	atm
<b>pH</b>	6	sans dimension
$V$	9,6	L
$A_r$	0,31	$\text{m}^2$
$Y_{X/CIT}$	1211	$10^9 \text{ cell. mol}^{-1}$
$k_{La}$	1,4	$\text{h}^{-1}$
$H$	29,41	$\text{atm. L. mol}^{-1}$
$X_0$	20	$10^9 \text{ cell.L}^{-1}$
$[CIT]_0$	2	$\text{mmol.L}^{-1}$

Un bruit blanc gaussien est appliqué à la mesure de la concentration de  $CIT$ , avec un écart type de 1% (valeur donnée par le constructeur de la sonde de  $CO_2$  utilisée sur le banc). Afin d'améliorer la qualité des mesures, il est possible de filtrer la mesure. Nous avons opté pour la technique de filtrage proposée par Choi et al. (2009). Elle consiste à estimer un signal à partir d'un calcul intégral, ce qui présente l'avantage d'une moins grande sensibilité aux bruits :

$$[\widehat{CIT}] = \frac{2}{T^2} \int_0^T (2T - 3t) \cdot [CIT] dt$$

$T$  représente la largeur de la fenêtre temporelle, égale à 25 heures.

Le débit d'alimentation possède le profil suivant :

$$F = \begin{cases} 0,1 \text{ L. h}^{-1} & \text{si } 0 \leq t \leq 160h \\ 0,5 \text{ L. h}^{-1} & \text{si } 160 h \leq t \leq 340h \\ 0,1 \text{ L. h}^{-1} & \text{si } 340 h \leq t \end{cases} \quad (4.20)$$

Le réglage des matrices de variance du bruit du processus  $Q$  et du bruit des mesures  $R$ , est réalisé de manière empirique. Les valeurs, choisies empiriquement pour avoir un bon compromis rapidité/précision/stabilité, sont les suivantes :

$$Q = \begin{bmatrix} 0,01 & 0 \\ 0 & 0,05 \end{bmatrix} \text{ et } R = 0,01$$

La matrice de covariance de l'erreur de prédiction initiale  $P_0$ , qui traduit la confiance dans l'initialisation de l'état (plus la mesure est précise, plus la variance est faible), a été choisie comme une matrice diagonale de la forme :

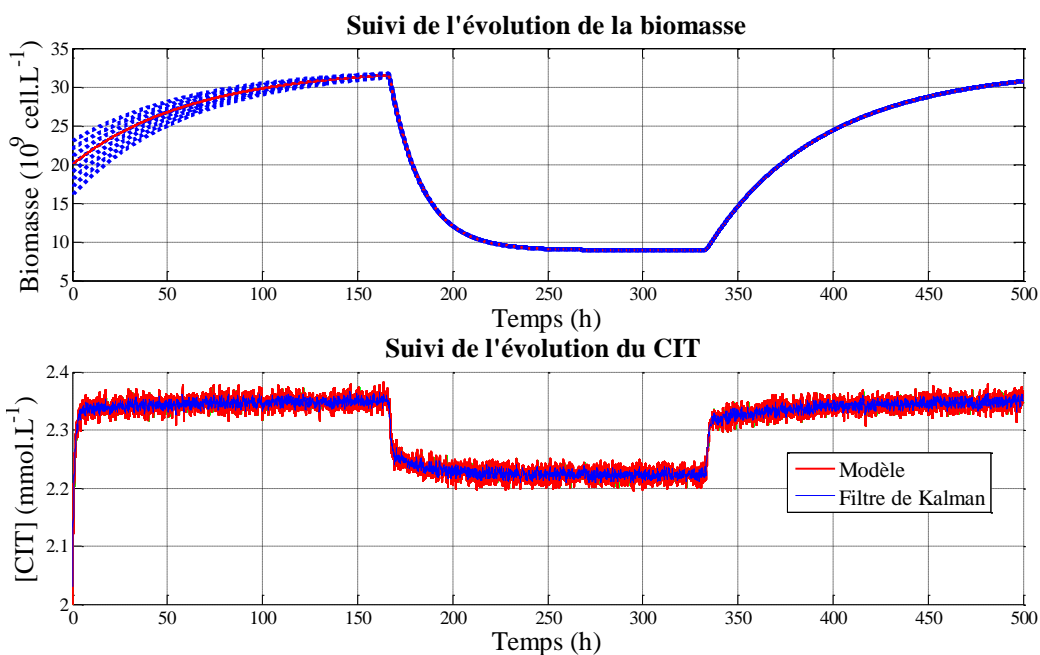
$$P_0 = \begin{bmatrix} 0,01 & 0 \\ 0 & 0,01 \end{bmatrix}$$

Nous allons analyser les performances d'estimation de la concentration de biomasse en deux étapes : dans un premier temps, en considérant uniquement une erreur d'initialisation de l'état non mesuré ; et dans un deuxième temps, une étude de la robustesse de l'estimateur en tenant compte des incertitudes sur les paramètres du modèle de croissance et sur les paramètres de la dynamique de la concentration de  $CIT$ .

4.3.3.1 Analyse de la performance : simulation du cas nominal

Dans un premier temps, la convergence de l'observateur est analysée pour une erreur d'initialisation en concentration de biomasse. Le modèle utilisé par le filtre de Kalman est identique au modèle réel du système (i.e. pas de désadaptation de modèle). La figure 4.4 illustre l'estimation de la concentration de biomasse à partir de la mesure de la concentration de *CIT*, pour différentes valeurs initiales de concentrations de biomasse (erreurs de  $\pm 20\%$  de la valeur nominale).

Le filtre de Kalman permet de reconstruire la concentration de biomasse en 150h approximativement. De plus, l'estimation de la biomasse n'est pas affectée par une modification du taux de dilution *D*. Le temps de convergence du filtre peut être amélioré en augmentant les valeurs des matrices *Q* et *R*, mais au détriment de la stabilité.



**Figure 4.4** : Filtre de Kalman : Estimation de la concentration de biomasse (en trait discontinu) et de la concentration du *CIT* avec une désadaptation de l'initialisation en biomasse dans le cas nominal

4.3.3.2 Analyse de la robustesse

La robustesse du filtre de Kalman est vérifiée par rapport aux incertitudes sur le modèle de croissance ( $\pm 30\%$  d'incertitudes sur les paramètres  $\mu_{max}$ ,  $K_E$  et  $K_{CL}$ ) et sur la dynamique d'évolution de la concentration de *CIT* ( $\pm 20\%$  incertitudes sur les paramètres  $k_{LA}$  et  $Y_{X/CIT}$ ). Les incertitudes considérées ont été choisies en utilisant les intervalles de confiance calculés lors de la phase d'identification (tableau 3.5).

Dans un premier temps, seuls les paramètres  $k_{LA}$  et  $Y_{X/CIT}$  sont désadaptés. Les résultats obtenus sont représentés sur les figures 4.5 et 4.6. On peut constater que la concentration de biomasse estimée converge vers la valeur issue du modèle comme obtenu précédemment dans le cas nominal (figure 4.4), malgré des incertitudes de 10% sur la valeur de  $k_{LA}$  ou de  $Y_{X/CIT}$ . Ceci se justifie par le fait que les termes de la matrice *R* sont faibles, selon le choix fait lors du réglage du filtre. Le filtre fait donc plus confiance aux mesures de la concentration de *CIT* qu'à son modèle d'évolution. Ainsi, une désadaptation de la dynamique d'évolution de cette concentration n'altère pas les performances de convergence de l'estimateur.

Dans un deuxième temps, pour des paramètres  $k_{La}$  et  $Y_{X/CIT}$  nominaux, le filtre est testé dans le cas de désadaptation de la vitesse de croissance (en considérant des incertitudes de 30% sur  $\mu_{max}$ ,  $K_E$  et  $K_{CL}$ ). Comme le montre la figure 4.7, le filtre de Kalman présente une convergence de moins bonne qualité, et semble donc sensible à la qualité du modèle. En effet, le terme de la matrice de covariance  $Q$ , correspondant à la qualité du modèle de l'évolution de la concentration de biomasse, est faible et de ce fait, le filtre a tendance à lui faire confiance. L'amélioration de la performance du filtre est possible en augmentant ce terme de variance. Cependant, cette augmentation s'avère délicate puisqu'elle peut conduire à des estimations transitoires très élevées de la concentration de biomasse (voire négatives dans certains cas), et même conduire à l'instabilité du filtre de Kalman.

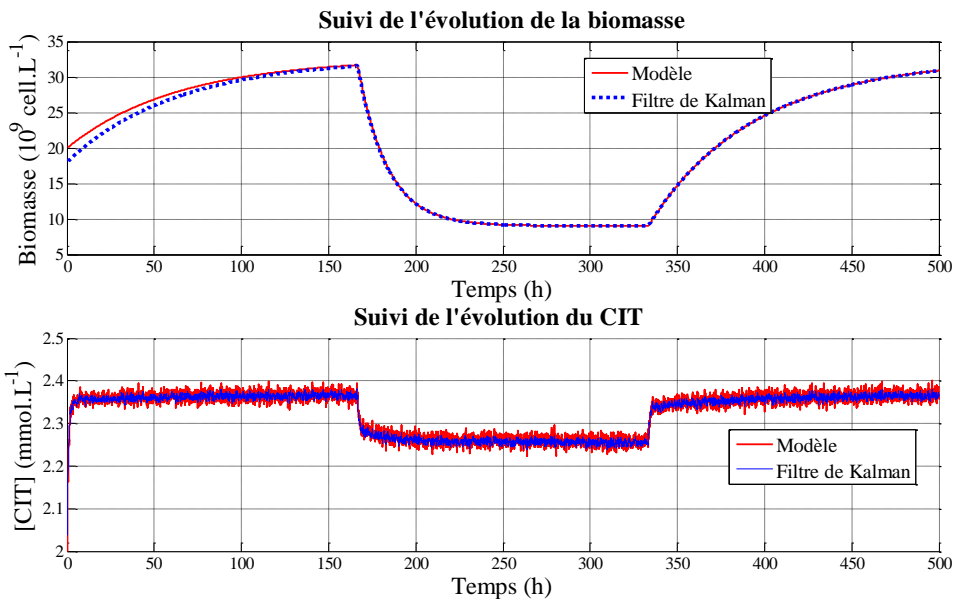


Figure 4.5 : Analyse de la robustesse du filtre de Kalman : estimation des concentrations de biomasse et de  $CIT$  avec une incertitude de 20% sur  $k_{La}$

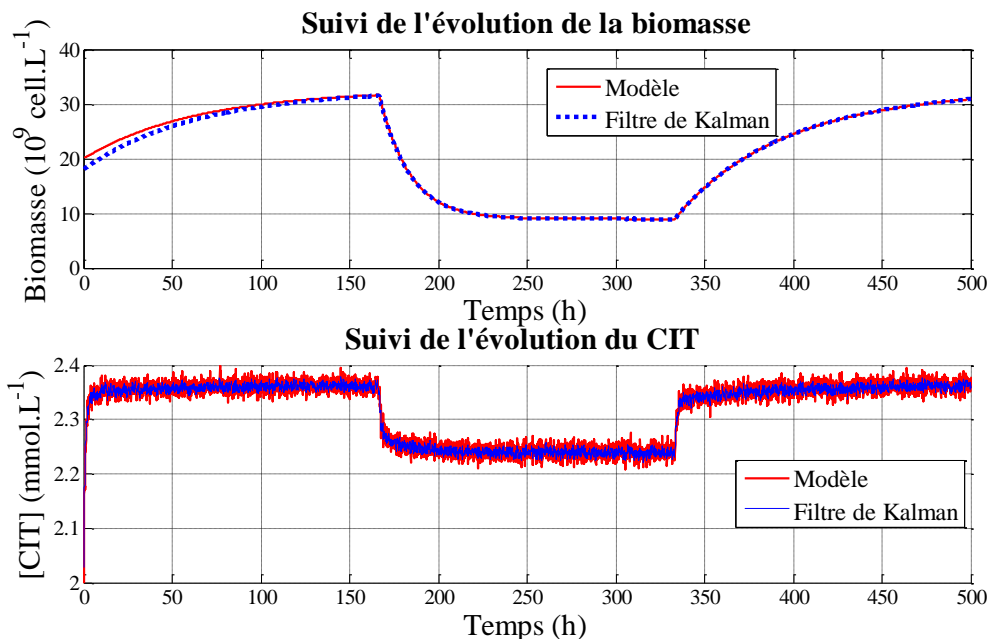
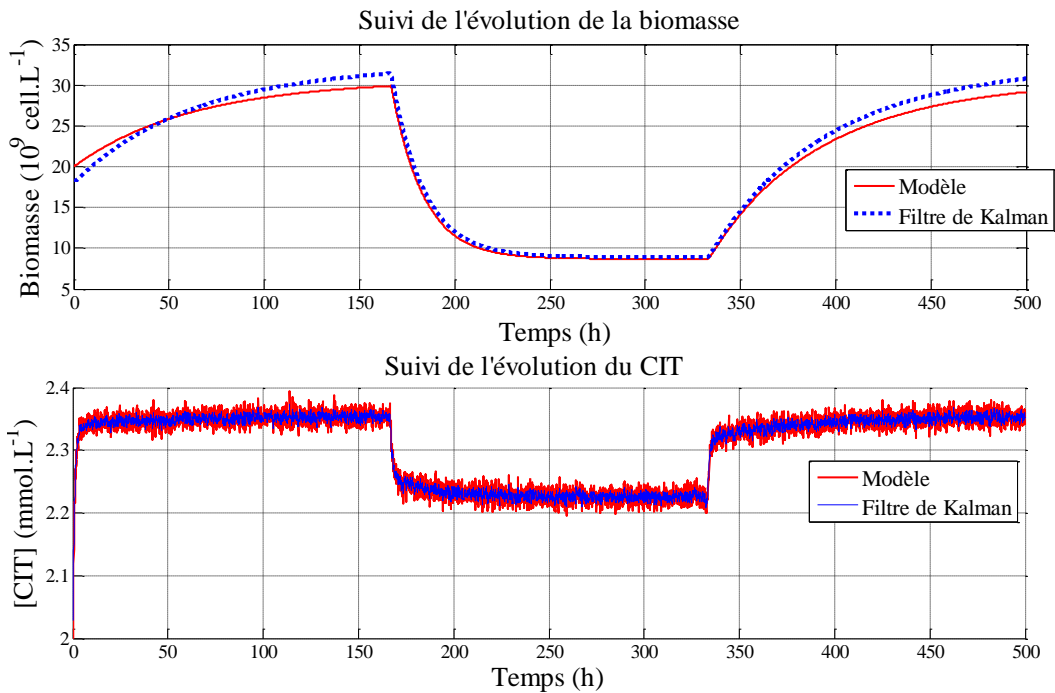


Figure 4.6 : Analyse de la robustesse du filtre de Kalman : estimation des concentrations de biomasse et de  $CIT$  avec une incertitude de 20% sur  $Y_{X/CIT}$



**Figure 4.7 :** Analyse de la robustesse du filtre de Kalman : estimation des concentrations de biomasse et de *CIT* avec une incertitude de 30% sur les paramètres du modèle de croissance.

#### 4.3.3.3 Conclusion

Les résultats obtenus en simulation permettent de confirmer que la qualité de l'estimation dépend fortement de la qualité du modèle de croissance de la biomasse. Cette limitation est le principal inconvénient des observateurs exponentiels, et plus précisément du filtre de Kalman. La qualité du modèle d'évolution de la concentration de *CIT* peut être pondérée par la prise en compte de sa mesure. Ainsi, selon la qualité des mesures et celle du modèle en *CIT*, la matrice de variance de bruit de mesure sera choisie pour privilégier l'utilisation de l'un ou de l'autre modèle pour le *CIT*, pour estimer la concentration algale. Au final, la vitesse de convergence, la stabilité et la qualité d'estimation du filtre dépendent du choix des matrices de variance  $Q$ ,  $R$  et  $P_0$ . Nous les avons déterminées empiriquement sur un cas test et les avons ensuite imposées pour la suite de l'étude. Des tests ont été effectués en simulation pour valider a posteriori la qualité du filtre de Kalman ainsi réglé pour différentes configurations et différents points de fonctionnement, ces tests ont donné des résultats satisfaisants.

## 4.4 Observateur asymptotique

Contrairement aux observateurs exponentiels, les observateurs asymptotiques assurent une convergence asymptotique de l'erreur, sans garantie que l'erreur s'annule en régime permanent.

Dans le cas de bioprocédés, les observateurs asymptotiques développés permettent de reconstruire tout ou partie des états, en assurant une convergence asymptotique de l'erreur. Ils permettent de réécrire une partie de la structure du modèle en une partie indépendante de la cinétique de réaction (Dochain, 2003). C'est une stratégie d'estimation en boucle ouverte qui repose sur les bilans de matière et qui utilise uniquement une partie du modèle en remplaçant les termes incertains par les différentes mesures disponibles (Bogaerts et Vande Wouwer, 2003). Ainsi, la prédiction de ces estimateurs n'est pas directement comparée aux mesures dans le but de corriger l'estimation (Bernard et Gouzé, 2004). L'observateur asymptotique a été

développé par Bastin et Dochain (1990) pour des systèmes partiellement observables ou partiellement connus.

#### 4.4.1 Principe

Le développement d'observateurs asymptotiques, où observateur fonctionnel (Luenberger, 1971), permet de reconstruire les états non mesurés sans avoir besoin de connaître la ou les cinétiques de réaction.

Soit le modèle général d'un bioréacteur (Dochain, 2001) :

$$\begin{cases} \dot{x} = \mathbb{Y} \cdot \varphi(x, t) - Dx(t) + Q \\ y(t) = Cx(t) \end{cases} \quad (4.21)$$

avec :

- $x$  : vecteur d'état  $\in \mathbb{R}^n$  ;
- $\varphi$  : scalaire correspondant à la vitesse de réaction;
- $Q$  : vecteur des transferts gaz-liquide  $\in \mathbb{R}^n$  ;
- $y$  : vecteur des mesures  $\in \mathbb{R}^p$  ;
- $\mathbb{Y}$  : vecteur  $\in \mathbb{R}^n$  contenant les rendements de croissance et/ou de consommation de chaque espèce;
- $C$  : matrice d'observation ;
- $D \in \mathbb{R}^+$  est le taux de dilution, défini par le rapport du débit sur le volume.

Soit  $z = K^t x$  un état auxiliaire (qui est donc une combinaison linéaire des variables d'état mesurées et non mesurées), vérifiant la relation suivante :

$$(S_z) \begin{cases} \dot{z} = -Dz + K^t Q \\ y = Cx \end{cases} \quad (4.22)$$

avec  $K \in \mathbb{R}^n$ , tel que  $K^t \mathbb{Y} = 0$ .

L'observateur asymptotique pour le système (4.22) suit la relation suivante :

$$(O_a) \begin{cases} \dot{\hat{z}} = -D\hat{z} + K^t Q \\ y = Cx \end{cases} \quad (4.23)$$

Soit l'erreur d'estimation, notée  $e$ , définie comme suit :

$$e = \hat{z} - z \quad (4.24)$$

La dynamique de l'erreur suit alors la relation suivante :

$$\dot{e} = -De \quad (4.25)$$

Cette erreur tend asymptotiquement vers zéro en régime permanent s'il existe deux constantes positives  $\tilde{\alpha}$  et  $\tilde{\beta}$  telles que, à chaque instant  $t$  (Bastin et Dochain, 1990) :

$$0 < \tilde{\alpha} < \int_t^{t+\tilde{\beta}} D(\tau) d\tau \quad \forall t \geq 0 \quad (4.26)$$

Ainsi, d'après (4.25), la vitesse de convergence de l'observateur est régie par les conditions opératoires du système, via la variable  $D$ .

La condition de convergence de l'observateur est dans ce cas appelée condition d'excitation persistante (Bastin et Dochain, 1990). La condition (4.26) impose que le taux de dilution  $D$  ne doit pas être nul sur de longues périodes, ce qui implique que cette stratégie d'estimation n'est valide que pour des cultures en mode fed-batch ou en mode continu.

#### 4.4.2 Application au système étudié

Dans le cas du système étudié, le modèle dynamique est pour rappel :

$$(S) \begin{cases} \frac{dX}{dt} = \mu X - DX \\ \frac{d[CIT]}{dt} = -\frac{\mu X}{Y_{X/CIT}} - D [CIT] + k_L a ([CO_2]^* - [CO_2]) \end{cases}$$

Ce système peut être réécrit sous la forme (4.21) avec :

$$x = \begin{bmatrix} X \\ [CIT] \end{bmatrix}, \mathbb{Y} = \begin{bmatrix} 1 \\ -\frac{1}{Y_{X/CIT}} \end{bmatrix}, \varphi = \mu X, \mathcal{Q} = \begin{bmatrix} 0 \\ k_L a ([CO_2]^* - [CO_2]) \end{bmatrix}, C = [0 \quad 1]$$

En considérant  $X$  comme l'état non mesuré et  $[CIT]$  comme l'état mesuré en temps réel, l'état auxiliaire  $z$  est défini comme suit :

$$z = X + Y_{X/CIT} [CIT] \quad (4.27)$$

Dans ce cas, le paramètre  $K$  est choisi tel que  $K^t \mathbb{Y} = 0$ , ce qui donne :  $K = \begin{bmatrix} 1 \\ Y_{X/CIT} \end{bmatrix}$ .

La dynamique de l'état auxiliaire  $z$  est alors donnée par :

$$\dot{z} = -Dz + Y_{X/CIT} k_L a ([CO_2]^* - [CO_2]) \quad (4.28)$$

Avec ce changement de variable, l'observateur asymptotique présente la structure suivante :

$$(\mathcal{O}_z) \begin{cases} \dot{\hat{z}} = -D\hat{z} + Y_{X/CIT} k_L a ([CO_2]^* - [CO_2]) \\ \hat{X} = \hat{z} - Y_{X/CIT} [CIT] \end{cases} \quad (4.29)$$

avec pour rappel  $[CO_2] = [CIT] / (1 + \frac{K_1}{[H^+]} + \frac{K_1 K_2}{[H^+]^2})$

La structure de cet observateur est donnée par la figure 4.8. Il est à noter que cette stratégie d'estimation ne fait pas intervenir les cinétiques de réaction, souvent incertaines. Les mesures de concentration de  $CIT$  sont directement utilisées dans la dynamique d'évolution de la variable auxiliaire  $z$  et de ce fait, l'équation d'évolution de cette variable n'est pas utilisée. Néanmoins, l'efficacité de cet observateur à estimer la concentration de biomasse dépend de la fiabilité des valeurs du rendement de conversion  $Y_{X/CIT}$  et du coefficient de transfert gaz-liquide  $k_L a$ .

Comme mentionné précédemment, la vitesse de convergence de cet estimateur dépend directement du taux de dilution, et ne peut donc pas être améliorée (notamment dans le cas où le taux de dilution est le résultat d'une loi de commande pour le suivi d'une trajectoire de fonctionnement).

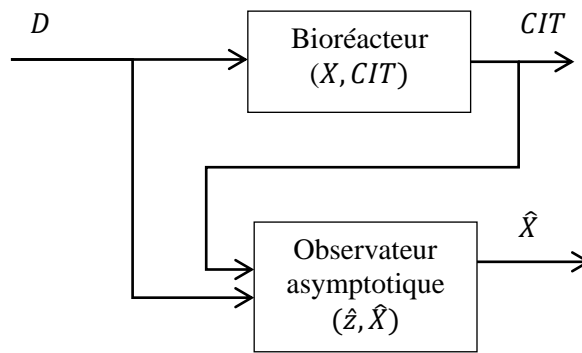


Figure 4.8 : Structure retenue pour l'observateur asymptotique

### 4.4.3 Performances en simulation

Dans ce qui suit, l'observateur asymptotique est testé en simulation, en considérant les mêmes paramètres de simulation que pour le filtre de Kalman (Tableau 4. 1). Comme pour l'étude du filtre de Kalman, la mesure de la concentration de  $CIT$  est supposée entachée d'un bruit blanc gaussien d'écart type 1%. Le débit d'alimentation est variable selon le profil donné en (4.20).

#### 4.4.3.1 Simulation dans le cas nominal

Dans un premier temps, l'observateur est testé pour différentes valeurs initiales de la concentration de biomasse (écart de  $\pm 20\%$  de la valeur initiale nominale), avec utilisation du modèle nominal (sans désadaptation du modèle de croissance, ni de celui d'évolution de la concentration de  $CIT$ ). Les résultats de performances de l'observateur vis-à-vis d'une erreur d'initialisation de la concentration de biomasse sont présentés dans la figure 4.9.

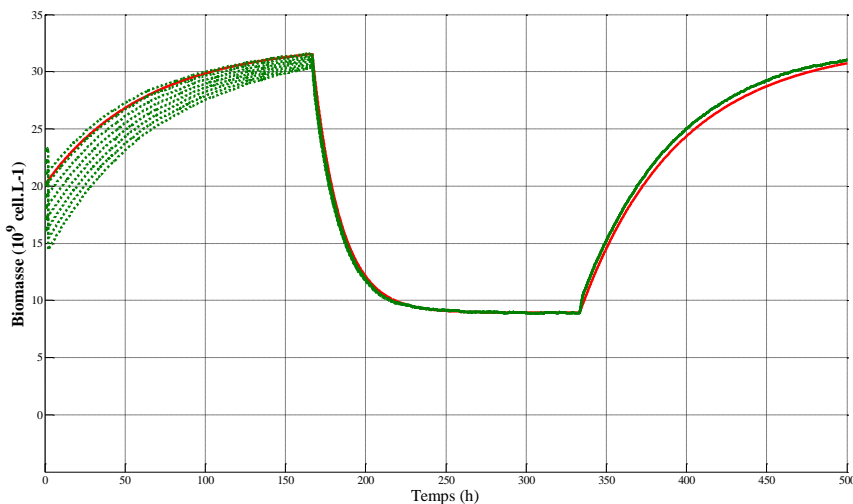


Figure 4.9 : Observateur asymptotique : Estimation de la concentration de biomasse avec une désadaptation de l'initialisation, cas nominal (modèle en trait plein, estimations en trait discontinu)

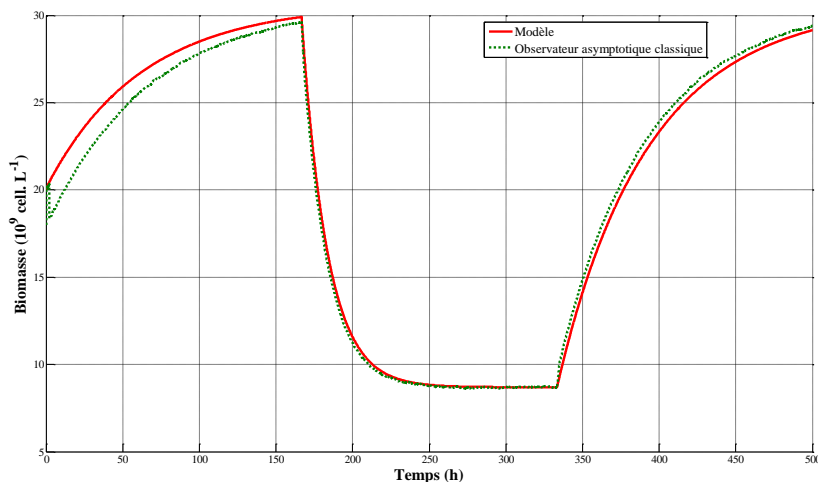
L'observateur parvient donc à estimer la concentration de biomasse malgré les erreurs d'initialisation. La vitesse de convergence dépend directement du taux de dilution. En effet, suite à la modification débit d'alimentation à  $t = 170$  h (passage de  $0,1L.h^{-1}$  à  $0,5L.h^{-1}$ ), l'observateur converge plus rapidement. Par ailleurs, on peut noter un léger biais à partir de l'instant  $t = 340h$ , qui correspond à une discontinuité liée au passage du débit d'alimentation de  $0,5$  à  $0,1 L.h^{-1}$  (cf. (4.20)). Cette erreur d'estimation va s'annuler, selon une dynamique lente

régie par le taux de dilution  $D$ , de temps de réponse de l'ordre de 300h (soit  $3/D$  avec  $D \approx 0,01 \text{ h}^{-1}$ ).

#### 4.4.3.2 Analyse de la robustesse

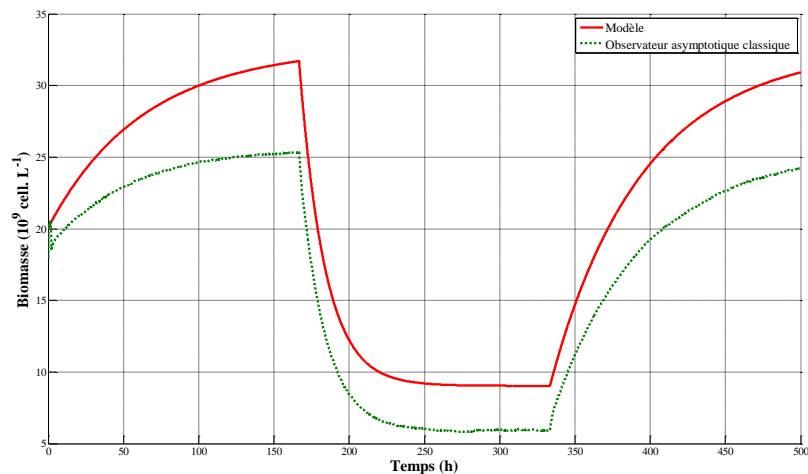
Dans un deuxième temps, la robustesse de l'observateur vis-à-vis des incertitudes des paramètres du modèle est étudiée. Les figures 4.10 à 4.12 comparent la concentration de biomasse estimée et réelle, avec désadaptation successivement des paramètres du modèle de croissance (soient  $\mu_{\max}$ ,  $K_E$  et  $K_{CL}$ ), puis de  $k_{LA}$  et de  $Y_{X/CIT}$  (de 20% par rapport à leurs valeurs nominales). La figure 4.10 permet de confirmer la robustesse de cette stratégie d'estimation vis-à-vis des incertitudes sur les paramètres du modèle de croissance. La concentration de biomasse estimée est similaire à celle obtenue dans le cas nominal (section 4.4.3.1). En effet, l'avantage principal de cet observateur est son indépendance vis-à-vis des cinétiques de croissance (équation (4.29)). La vitesse de convergence est la même que dans le cas nominal, puisqu'elle ne dépend que de la valeur du taux de dilution.

Dans le cas d'incertitudes sur les valeurs des paramètres  $k_{LA}$  et  $Y_{X/CIT}$ , la qualité d'estimation de l'observateur asymptotique dépend fortement de la fiabilité de ces valeurs, comme illustré par les figures 4.11 et 4.12. En effet, on note une dégradation des performances de l'observateur. Ceci s'explique par le fait que cet observateur ne corrige pas sa dynamique en fonction de l'erreur entre la mesure et la prédiction (il possède un fonctionnement de type « boucle ouverte »). Aussi, une erreur sur  $k_{LA}$  et  $Y_{X/CIT}$  se répercute directement dans la dynamique de l'estimateur et donc sur l'équation d'estimation de la concentration de biomasse (équation (4.29)), et induit une évolution des états différente de celle obtenue dans le cas nominal.

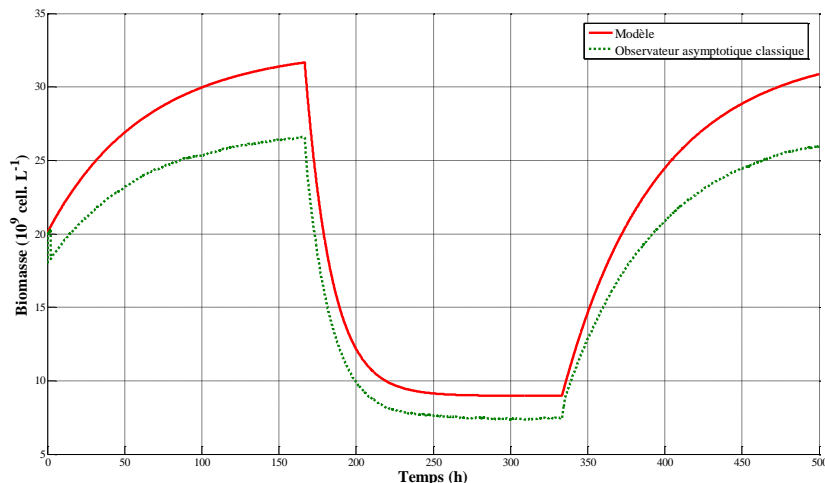


**Figure 4.10 :** Analyse de la robustesse de l'observateur asymptotique : estimation de la concentration de biomasse avec une incertitude de 20% sur les paramètres du modèle de croissance.





**Figure 4.11 :** Analyse de la robustesse de l'observateur asymptotique : estimation de la concentration de biomasse avec une incertitude de 20% sur  $k_{LA}$



**Figure 4.12 :** Analyse de la robustesse de l'observateur asymptotique : estimation de la concentration de biomasse avec une incertitude de 20% sur  $Y_{X/CIT}$ .

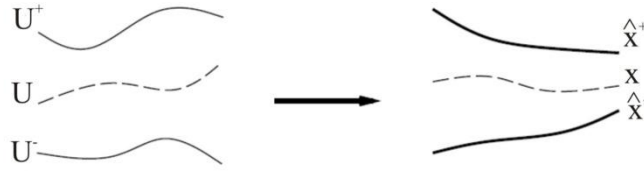
#### 4.4.3.3 Conclusion

En conclusion, il apparaît que l'observateur asymptotique permet d'estimer efficacement la concentration de biomasse si les paramètres  $k_{LA}$  et  $Y_{X/CIT}$  sont bien connus. Son efficacité n'est pas altérée ni par l'erreur d'initialisation sur l'estimée de la concentration en biomasse, ni par des incertitudes sur la vitesse de croissance des microalgues. Cependant, la vitesse de convergence de l'observateur ne peut être réglée et est imposée par le taux de dilution appliqué au système.

## 4.5 Observateur par intervalles

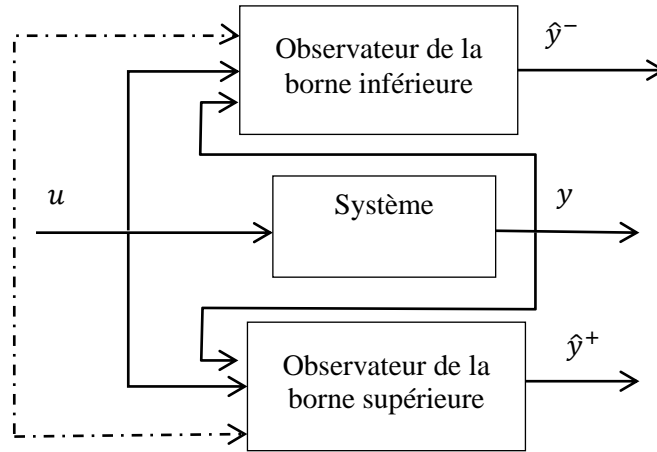
### 4.5.1 Principe

Une stratégie d'estimation alternative, permettant de tenir compte des incertitudes sur le modèle ou sur les mesures, repose sur la détermination d'un intervalle stable encadrant l'état non mesuré (cf. figure 4.13).



**Figure 4.13 :** Principe de l'estimation par approche par intervalles en présence d'incertitudes bornées sur la commande  $U$  pour la reconstruction de l'état non mesuré  $X$  (Dochain, 2001)

Cette stratégie d'estimation prend en compte les incertitudes dans la dynamique du système et permet de reconstituer des limites supérieure et inférieure de l'état non mesuré à partir des mesures disponible en temps réel (cf. figure 4.14). Elle est basée sur le couplage de deux dynamiques auxiliaires, l'une sous-estimant l'état et l'autre le surestimant. Ces deux trajectoires définissent alors un intervalle stable pour la trajectoire de l'état à estimer, dont la largeur dépend de la connaissance des bornes d'appartenance des paramètres du modèle.



**Figure 4.14 :** Principe de l'observateur par intervalles

Le développement de l'observateur par intervalles repose sur la propriété de *coopérativité* (Smith, 1995).

*Définition :* le système dynamique  $\dot{x} = f(x)$  est dit coopératif si les termes non diagonaux de la matrice Jacobienne de  $f$  sont positifs ou nuls, soit :

$$\frac{\partial f_i}{\partial x_j} \geq 0 \quad \forall i \neq j \text{ et } \forall t \geq 0 \quad (4.30)$$

Intéressons-nous au développement d'un observateur par intervalles dans un cadre général. Soit le système dynamique ayant la structure suivante :

$$(S) \begin{cases} \dot{x}(t) = f(x(t), u(t), w(t)), & x(t_0) = x_0 \\ y(t) = h(x(t), v(t)) \end{cases} \quad (4.31)$$

avec :

- $x$  : vecteur d'état  $\in \mathbb{R}^n$  ;
- $u$  : vecteur d'entrée  $\in \mathbb{R}^m$  ;

- $y$  : vecteur de sortie  $\in \mathbb{R}^p$  ;
- $f$  : fonction non-linéaire  $\mathbb{R}^n \times \mathbb{R}^m \times \mathbb{R}^r \rightarrow \mathbb{R}^n$  ;
- $h$  : équation de mesure ou de sortie  $\mathbb{R}^n \times \mathbb{R}^s \rightarrow \mathbb{R}^p$  ;
- $w$  : terme d'incertitude relatif à l'équation d'état  $\in \mathbb{R}^r$  ;
- $v$  : terme d'incertitude relatif à l'équation de sortie  $\in \mathbb{R}^s$ .

Les incertitudes des grandeurs mal connues ainsi que la condition initiale  $x_0$  sont bornées par des limites supérieures et inférieures comme suit :

$$\begin{cases} w^-(t) \leq w(t) \leq w^+(t) \\ v^-(t) \leq v(t) \leq v^+(t) \end{cases} \quad \forall t \geq t_0 \quad (4.32)$$

A partir de la dynamique du système (4.31) et des variables connues et mesurées, une dynamique auxiliaire peut être élaborée selon la structure suivante :

$$(\mathcal{O}_i) \begin{cases} \dot{z}^+ = f^+(z^+, z^-, u, y, w^+, w^-, v^+, v^-) \\ \dot{z}^- = f^-(z^+, z^-, u, y, w^+, w^-, v^+, v^-) \\ x^+ = \phi^+(z^+, z^-, u, y, w^+, w^-, v^+, v^-) \\ x^- = \phi^-(z^+, z^-, u, y, w^+, w^-, v^+, v^-) \\ z^+(t_0) = g^+(x_0^-, x_0^+) \\ z^-(t_0) = g^-(x_0^-, x_0^+) \end{cases} \quad (4.33)$$

avec  $z^+, z^- \in \mathbb{R}^q$  et  $x_0^- \leq x_0 \leq x_0^+$ . Les fonctions  $(f^\pm, \phi^\pm, g^\pm)$  encadrent la dynamique nominale de l'observateur. Cet observateur est donc une extension de l'observateur dans le cas général (4.2), et est constitué de deux dynamiques encadrant la dynamique réelle du système (Dochain, 2001).

L'observateur  $(\mathcal{O}_i)$  est un observateur par intervalles pour le système dynamique (4.31), si pour chaque condition initiale bornée  $x_0^- \leq x_0 \leq x_0^+$ , le système couplé (observateur et système) permet de garantir que l'état non mesuré reste borné par un intervalle stable (Dochain, 2001), tel que :

$$x^-(t) \leq x(t) \leq x^+(t), \quad \forall t \geq t_0 \quad (4.34)$$

Cette condition est notamment garantie dans le cas de système coopératif. Ainsi, si le système d'équations des erreurs d'estimation issues de  $(\mathcal{O}_i)$  est coopératif, alors les estimées des bornes supérieure et inférieure de l'état encadrent sa valeur réelle.

## 4.5.2 Application au système étudié

L'observateur par intervalles est appliqué pour l'estimation de la concentration de biomasse à partir des mesures de la concentration de *CIT* disponibles en temps réel. Les différentes relations mathématiques qui vont être proposées par la suite sont une extension des travaux de Rapaport et Dochain (2005) appliquée à notre système.

### 4.5.2.1 Structure de l'observateur par intervalles dans le cas nominal

Dans cette partie, nous présentons la structure de l'observateur par intervalles en présence uniquement d'incertitudes sur les paramètres du modèle de croissance. De ce fait, les paramètres  $k_L a$  et  $Y_{X/CIT}$  sont supposés parfaitement connus. De même, on considère que les

mesures de la concentration de  $CIT$  ne sont pas bruitées. La présence d'un bruit de mesure pourra être corrigée par application d'un filtrage sur la mesure.

Précédemment, nous avons mis en évidence l'avantage d'un observateur asymptotique en termes de robustesse vis-à-vis d'incertitudes sur la vitesse de croissance de la biomasse. Afin d'exploiter cette propriété, nous optons pour la représentation d'état faisant intervenir l'état auxiliaire  $z$  présenté à la section (4.4.2), avec pour rappel :

$$z = X + Y_{X/CIT}[CIT]$$

La nouvelle représentation d'état du système est la suivante :

$$(S_{z,X}) \begin{cases} \dot{z} = -Dz + Y_{X/CIT} k_L a \cdot ([CO_2]^* - \alpha[CIT]) \\ \dot{X} = \mu([CIT], X) X - DX \\ [CIT] = \frac{z-X}{Y_{X/CIT}} \end{cases} \quad (4.35)$$

$$\text{avec : } \alpha \triangleq \frac{1}{1+K_1/[H^+]+K_1 K_2/[H^+]^2}$$

Contrairement à l'observateur asymptotique présenté précédemment, l'état  $X$  a été gardé dans cette représentation, en utilisant le modèle choisi pour la vitesse de croissance. Nous verrons par la suite l'intérêt d'utiliser cette dynamique.

Un observateur associé à  $(S_{z,X})$  est donné par :

$$(O_{z,X}) \begin{cases} \dot{\hat{z}} = -D\hat{z} + Y_{X/CIT} \cdot k_L a \cdot \left( [CO_2]^* - \alpha \frac{\hat{z}-\hat{X}}{Y_{X/CIT}} \right) \\ \dot{\hat{X}} = \mu(y, \hat{X}) \hat{X} - D\hat{X} \end{cases} \quad (4.36)$$

où  $y$  représente la mesure de la concentration de  $CIT$ .

Dans un premier temps, il faut s'assurer de la coopérativité de ce système. La matrice jacobienne  $(\nabla f, f$  étant la dynamique (4.36)), est donnée par :

$$J_1(e_z, e_X) = \begin{bmatrix} -D - k_L a \cdot \alpha & k_L a \cdot \alpha \\ 0 & X \frac{\partial \mu}{\partial X} + \mu - D \end{bmatrix} \quad (4.37)$$

Ce système est donc coopératif puisque les termes non diagonaux sont positifs ou nuls.

Un observateur par intervalles pour estimer la biomasse est alors défini par :

$$(O_i^\pm) \begin{cases} \dot{\hat{z}}^\pm = -D\hat{z}^\pm + Y_{X/CIT} k_L a \cdot \left( [CO_2]^* - \alpha \frac{\hat{z}^\pm - \hat{X}^\pm}{Y_{X/CIT}} \right) \\ \dot{\hat{X}}^\pm = \mu^\pm(y, \hat{X}^\pm) \hat{X}^\pm - D\hat{X}^\pm \end{cases} \quad (4.38)$$

avec :  $\mu^-(y, X) \leq \mu(y, X) \leq \mu^+(y, X), \forall (y, X)$ . Le symbole  $\pm$  désigne les bornes supérieure et inférieure des grandeurs considérées.

Cependant, en analysant la dynamique d'estimation (équation (4.38)), on peut noter que la vitesse de convergence de cet observateur dépend essentiellement du taux de dilution et ne peut donc pas être réglée. Pour remédier à cet inconvénient, cet observateur est enrichi en ajoutant un terme correctif qui tient compte de l'écart entre la mesure et l'estimation de la concentration

de *CIT*, selon le principe classique des estimateurs exponentiels. Le but de cet ajout est de pouvoir modifier la vitesse de convergence de l'estimateur. Cet ajout de terme correctif justifie la prise en compte de la dynamique de la concentration de biomasse dans ( $S_{z,x}$ ).

Le système (4.36) devient alors :

$$\begin{cases} \dot{\hat{z}} = -D\hat{z} + Y_{X/CIT}k_La \cdot \left( [CO_2]^* - \alpha \frac{\hat{z}-\hat{X}}{Y_{X/CIT}} \right) + g_1 \cdot \left( y - \frac{\hat{z}-\hat{X}}{Y_{X/CIT}} \right) \\ \dot{\hat{X}} = \mu(y, \hat{X}) \cdot \hat{X} - D\hat{X} + g_2 \cdot \left( y - \frac{\hat{z}-\hat{X}}{Y_{X/CIT}} \right) \end{cases} \quad (4.39)$$

où  $g_1$  et  $g_2$  représentent les gains de l'observateur et  $y$  la mesure du *CIT*.

En définissant l'erreur d'estimation du système par :

$$e_z = \hat{z} - z \text{ et } e_x = \hat{X} - X \quad (4.40)$$

la matrice Jacobienne de l'erreur devient alors :

$$J_2(e_z, e_x) = \begin{bmatrix} -D - \frac{g_1}{Y_{X/CIT}} - k_La \alpha & k_La \alpha + \frac{g_1}{Y_{X/CIT}} \\ -\frac{g_2}{Y_{X/CIT}} & \hat{X} \frac{\partial \mu}{\partial X}(y, \hat{X}) + \mu(y, \hat{X}) - D + \frac{g_2}{Y_{X/CIT}} \end{bmatrix} \quad (4.41)$$

Afin de satisfaire les conditions de coopérativité, les termes non diagonaux de la matrice Jacobienne  $J_2(e_z, e_x)$  doivent être positifs, ce qui implique :

$$\begin{cases} g_1 \geq -\alpha \cdot Y_{X/CIT} \cdot k_La \\ g_2 \leq 0 \end{cases} \quad (4.42)$$

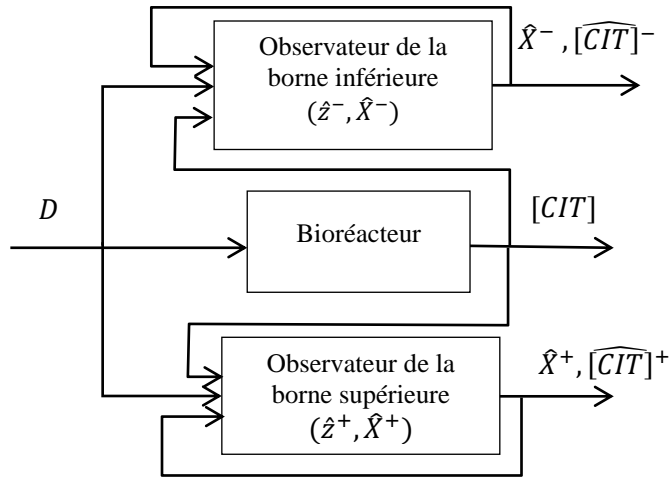
En considérant que la concentration initiale de la biomasse est bornée par des limites supérieure et inférieure  $X_0^- \leq X_0 \leq X_0^+$ , un observateur par intervalles peut donc être élaboré suivant les équations mathématiques suivantes :

$$\begin{cases} \dot{\hat{z}}^+ = -D \cdot \hat{z}^+ + k_La Y_{X/CIT} \left( [CO_2]^* - \alpha \frac{\hat{z}^+ - \hat{X}^+}{Y_{X/CIT}} \right) + g_1^+ \cdot \left( y - \frac{\hat{z}^+ - \hat{X}^+}{Y_{X/CIT}} \right) \\ \dot{\hat{X}}^+ = \mu^+(y, \hat{X}^+) \cdot \hat{X}^+ - D \cdot \hat{X}^+ + g_2^+ \cdot \left( y - \frac{\hat{z}^+ - \hat{X}^+}{Y_{X/CIT}} \right) \\ \dot{\hat{z}}^- = -D \cdot \hat{z}^- + k_La \cdot Y_{X/CIT} \left( [CO_2]^* - \alpha \frac{\hat{z}^- - \hat{X}^-}{Y_{X/CIT}} \right) + g_1^- \cdot \left( y - \frac{\hat{z}^- - \hat{X}^-}{Y_{X/CIT}} \right) \\ \dot{\hat{X}}^- = \mu^-(y, \hat{X}^-) \cdot \hat{X}^- - D \cdot \hat{X}^- + g_2^- \cdot \left( y - \frac{\hat{z}^- - \hat{X}^-}{Y_{X/CIT}} \right) \end{cases} \quad (4.43)$$

où  $g_1^+$ ,  $g_1^-$ ,  $g_2^+$  et  $g_2^-$  représentent les gains de l'observateur par intervalles. Le réglage de ces gains permet d'assurer la stabilité et les performances de l'observateur. L'observateur (4.43) est composé de deux observateurs découplés (les états « + » et les états « - » ne sont utilisés que dans les dynamiques « + » et « - » respectivement).

L'initialisation de l'observateur est la suivante :

$$\begin{cases} X(0)^+ = X_0^+ \text{ et } z^+(0) = X_0^+ + Y_{X/CIT} y(0) \\ X(0)^- = X_0^- \text{ et } z^-(0) = X_0^- + Y_{X/CIT} y(0) \end{cases} \quad (4.44)$$



**Figure 4.15 :** Structure retenue de l'observateur par intervalles

#### 4.5.2.2 Etude de la stabilité de l'observateur

Cette section s'intéresse à la stabilité de l'observateur. La démarche d'analyse de la stabilité est réalisée sur la borne supérieure ( $z^+$ ,  $X^+$ ) mais serait similaire pour la borne inférieure.

En considérant les erreurs d'estimation de ( $z$ ,  $X$ ) données par :

$$e_z^+ = z^+ - z \text{ et } e_X^+ = X^+ - X \quad (4.45)$$

La dynamique de l'erreur d'estimation suit la relation suivante (cf. Annexe A3) :

$$\dot{e}^+ = \begin{pmatrix} \dot{e}_z^+ \\ \dot{e}_X^+ \end{pmatrix} = J^+ \begin{pmatrix} e_z^+ \\ e_X^+ \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 0 \\ (\mu^+ - \mu)X \end{pmatrix} \quad (4.46)$$

avec :

$$J^+ = \begin{bmatrix} -D - \frac{g_1^+}{Y_{X/CIT}} - \alpha k_L a & \alpha k_L a + \frac{g_1^+}{Y_{X/CIT}} \\ -\frac{g_2^+}{Y_{X/CIT}} & \mu^+(y, X^+) - D + \frac{g_2^+}{Y_{X/CIT}} \end{bmatrix} \quad (4.47)$$

Sachant que  $e^+$  reste positive par structure, et que  $\mu^+(y, X^+) < \mu_{max}^+$ , on peut déduire la majoration suivante :

$$J^+(y(t), X^+(t)) \cdot e^+ \leq J^{++} e^+ \quad (4.48)$$

avec :

$$J^{++} = \begin{bmatrix} -D - \frac{g_1^+}{Y_{X/CIT}} - \alpha k_L a & \alpha k_L a + \frac{g_1^+}{Y_{X/CIT}} \\ -\frac{g_2^+}{Y_{X/CIT}} & \mu_{max}^+ - D + \frac{g_2^+}{Y_{X/CIT}} \end{bmatrix} \quad (4.49)$$

A partir des conditions de coopérativité imposées sur les gains de l'observateur (4.42), la dynamique de l'erreur (4.48) est coopérative, et donc l'erreur d'estimation est bornée selon cette relation :

$$0 \leq e^+(t) \leq e^{++}(t), \quad \forall t \quad (4.50)$$

avec :

$$\begin{cases} \dot{e}^{++} = J^{++} e^{++} + \begin{pmatrix} 0 \\ (\mu^+ - \mu)X \end{pmatrix} \\ e^{++}(0) = e^+(0) \end{cases} \quad (4.51)$$

Sachant que le terme  $(\mu^+ - \mu)X$  reste borné selon l'expression suivante :

$$(\mu^+ - \mu)X \leq \mu_{max}^+ \max(z(0), z(\infty)) = \mu_{max}^+ \max(z(0), k_L a \cdot Y_{X/CIT} [CO_2]^* / D) \triangleq \Lambda \quad (4.52)$$

où la borne supérieure sur  $z(\infty)$  est obtenue à partir de (4.36), en se plaçant en régime permanent et en majorant le terme  $([CO_2]^* - \alpha[CIT])$  par  $[CO_2]^*$ .

La stabilité de la dynamique de l'erreur (4.51) est garantie si et seulement si la matrice Jacobienne  $J^{++}$  (4.49) est Hurwitz, c'est-à-dire que ses valeurs propres sont à partie réelle strictement négative. Ceci permet d'aboutir aux conditions suivantes :

$$\begin{cases} Trace(J^{++}) = -2D - \frac{g_1^+}{Y_{X/CIT}} - \alpha \cdot k_L a + \mu_{max}^+ + \frac{g_2^+}{Y_{X/CIT}} < 0 \\ Det(J^{++}) = \left( \left( -D - \frac{g_1^+}{Y_{X/CIT}} - \alpha \cdot k_L a \right) \left( \mu_{max}^+ - D + \frac{g_2^+}{Y_{X/CIT}} \right) \right) - \\ \left( -\frac{g_2^+}{Y_{X/CIT}} \left( \frac{g_1^+}{Y_{X/CIT}} + \alpha \cdot k_L a \right) \right) > 0 \end{cases} \quad (4.53)$$

Ainsi, la stabilité de la dynamique de l'erreur (4.46) est assurée si le réglage des gains de l'observateur vérifie les conditions de coopérativité (4.42) et de stabilité (4.53). Une condition suffisante est ainsi déduite :

$$\begin{cases} g_1^+ \geq -\alpha Y_{X/CIT} k_L a \\ g_2^+ < \min \begin{bmatrix} 0 \\ g_1^+ + Y_{X/CIT} (2D + \alpha k_L a - \mu_{max}^+) \\ (D Y_{X/CIT} + g_1^+ + \alpha k_L a Y_{X/CIT}) \left( 1 - \frac{\mu_{max}^+}{D} \right) \end{bmatrix} \end{cases} \quad (4.54)$$

A partir de cette condition suffisante sur les gains de l'observateur, la stratégie d'estimation utilisant l'approche par intervalles permet de reconstruire des bornes supérieure et inférieure générant un intervalle stable  $[X^-(t), X^+(t)]$ , qui permet de borner la trajectoire de l'état à estimer :

$$\begin{cases} X^-(t) \leq X(t) \leq X^+(t), \forall t \geq 0 \\ e_X(t) = X^+(t) - X^-(t) \text{ stable} \end{cases} \quad (4.55)$$

L'observateur par intervalles converge vers une erreur asymptotique, bornée par  $E^\pm = [E_Z^\pm, E_X^\pm]$ . Pour  $X$  par exemple :

$$X^+(t) - X(t) \xrightarrow{t \rightarrow +\infty} [0, E_X^+], \quad X(t) - X^-(t) \xrightarrow{t \rightarrow +\infty} [0, E_X^-] \quad (4.56)$$

A partir de (4.50), (4.51) et (4.52), on déduit la borne supérieure de l'erreur d'estimation de la concentration de biomasse :

$$E_X^+ = -(0 \quad 1) \cdot (J^{++})^{-1} \begin{pmatrix} 0 \\ \Lambda \end{pmatrix} \quad (4.57)$$

Soit, après développement :

$$E_X^+ = \frac{-\Lambda (g_1^+ + \alpha k_L a Y_{X/CIT} + D Y_{X/CIT})}{D g_2^+ - D (D Y_{X/CIT} + g_1^+ + \alpha k_L a Y_{X/CIT}) + \mu_{max}^+ (g_1^+ + \alpha k_L a Y_{X/CIT} + D Y_{X/CIT})} \quad (4.58)$$

On détermine ainsi un intervalle pour l'estimée asymptotique supérieure de la concentration de biomasse :

$$X^+(t) \rightarrow [X(t), X(t) + E_X^+]$$

L'efficacité de cette stratégie d'estimation repose sur la minimisation de l'intervalle d'estimation  $[X^-(t), X^+(t)]$  et l'augmentation de la vitesse de convergence pour tendre le plus rapidement possible vers un intervalle de largeur minimale. De ce fait, la détermination du meilleur réglage des gains de l'observateur s'impose, tout en respectant les conditions de coopérativité et de stabilité de Hurwitz. Le choix des gains sera discuté à la section 4.5.3.

#### 4.5.2.3 Présence d'incertitudes des cinétiques de consommation du CIT

Dans les sections précédentes, la structure de l'observateur par intervalles a été détaillée uniquement dans le cas d'incertitudes sur les paramètres du modèle de croissance. Cependant, l'efficacité et la convergence de l'estimation de la concentration de biomasse par cet observateur sont susceptibles d'être limitées par les incertitudes sur les valeurs du rendement de conversion  $Y_{X/CIT}$  et du coefficient de transfert gaz-liquide  $k_L a$ . A partir de bornes supérieures et inférieures de ces paramètres, l'élaboration de l'observateur par intervalles repose sur la même démarche que celle appliquée dans le cas nominal.

L'application des bornes supérieures et inférieures permet d'aboutir à la structure suivante pour l'observateur par intervalles dans le cas général :

$$\begin{cases} \dot{\hat{z}}^+ = -D \cdot \hat{z}^+ + k_L a^+ \cdot Y_{X/CIT}^+ \left( [CO_2]^* - \alpha \frac{\hat{z}^+ - \hat{x}^+}{Y_{X/CIT}^+} \right) + g_1^+ \cdot \left( y - \frac{\hat{z}^+ - \hat{x}^+}{Y_{X/CIT}^+} \right) \\ \dot{\hat{x}}^+ = \mu^+(y, \hat{x}^+) \cdot \hat{x}^+ - D \cdot \hat{x}^+ + g_2^+ \cdot \left( y - \frac{\hat{z}^+ - \hat{x}^+}{Y_{X/CIT}^+} \right) \\ \dot{\hat{z}}^- = -D \cdot \hat{z}^- + k_L a^- \cdot Y_{X/CIT}^- \left( [CO_2]^* - \alpha \frac{\hat{z}^- - \hat{x}^-}{Y_{X/CIT}^-} \right) + g_1^- \cdot \left( y - \frac{\hat{z}^- - \hat{x}^-}{Y_{X/CIT}^-} \right) \\ \dot{\hat{x}}^- = \mu^-(y, \hat{x}^-) \cdot \hat{x}^- - D \cdot \hat{x}^- + g_2^- \cdot \left( y - \frac{\hat{z}^- - \hat{x}^-}{Y_{X/CIT}^-} \right) \end{cases} \quad (4.59)$$

A partir de la propriété de coopérativité et l'analyse de stabilité de l'observateur, on aboutit à la condition suffisante suivante :

$$\begin{cases} g_1^+ \geq -Y_{X/CIT}^+ k_L a^+ \alpha \\ g_2^+ < \min \left[ \begin{array}{c} 0 \\ g_1^+ + Y_{X/CIT}^+ (2D + k_L a^+ \alpha - \mu_{max}^+) \\ (D Y_{X/CIT}^+ + g_1^+ + k_L a^+ \alpha Y_{X/CIT}^+) \left( 1 - \frac{\mu_{max}^+}{D} \right) \end{array} \right] \end{cases} \quad (4.60)$$



Ainsi, on obtient une condition similaire au cas nominal, mais avec prise en compte des valeurs supérieures des paramètres. Le détail des calculs est donné en Annexe A3. L'erreur asymptotique de l'estimation de la concentration de biomasse est bornée par une limite supérieure qui dépend des bornes des paramètres. L'équation (4.57) devient :

$$E_X^+ = -(0 \quad 1) \cdot (J^{++})^{-1} \left( \begin{array}{c} (Y^+ k_L a^+ - Y^- k_L a^-) [CO_2]^* + \max \left[ g_1^+ \left( \frac{1}{Y^-} - \frac{1}{Y^+} \right) * \max([CIT]_0, \frac{[CO_2]^*}{\alpha}), 0 \right] \\ \mu_{max}^+ \frac{k_L a^+ Y^+ [CO_2]^*}{D} \end{array} \right) \quad (4.61)$$

avec :

$$J^{++} = \begin{bmatrix} -D - \frac{g_1^+}{Y^+} - \alpha k_L a^+ & \alpha k_L a^+ + \frac{g_1^+}{Y^+} \\ -\frac{g_2^+}{Y^+} & \mu_{max}^+ - D + \frac{g_2^+}{Y^+} \end{bmatrix} \text{ et } Y^\pm = Y_{X/CIT}^\pm$$

Rappelons que cette majoration sur l'erreur est une estimation pessimiste, et que donc l'erreur finale peut être plus faible, mais sans garantie qu'elle soit nulle en régime permanent. En effet, l'erreur finale dépend fortement des incertitudes sur les paramètres  $Y_{X/CIT}$  et  $k_L a$ .

### 4.5.3 Réglage des gains de l'observateur par intervalles

Pour simplifier l'étude, considérons l'observateur dans le cas dit nominal (incertitudes uniquement sur les paramètres du modèle de croissance). Dans cette section, trois techniques pour le choix des gains  $g_1^\pm$  et  $g_2^\pm$  de l'observateur par intervalles seront présentées. La première consiste à fixer les valeurs propres de la matrice  $J^{++}$  (4.49), la deuxième à minimiser l'erreur asymptotique (4.57) pour obtenir une précision souhaitée ; Les gains obtenus par ces deux premières approches sont constants. La troisième approche quant à elle consiste à déterminer des gains variables, pour plus de robustesse et d'efficacité. Nous avons pour cela opté pour l'application d'un filtre de Kalman étendu. Ces trois approches de détermination des gains de l'observateur sont détaillées dans ce qui suit dans le cas nominal (le cas général est obtenu avec une démarche similaire).

#### 4.5.3.1 Choix des valeurs propres de $J^{++}$

Cette approche de réglage repose sur l'hypothèse que la dynamique de l'erreur (4.51) est gouvernée par un système du second ordre de la forme :

$$p^2 + 2\xi\omega_0 p + \omega_0^2 \quad (4.62)$$

avec :  $\omega_0$  la pulsation propre du système,  $\xi$  son coefficient d'amortissement, et  $p$  la variable de Laplace. Par ailleurs, le taux de dilution est supposé constant dans un premier temps, pour les développements théoriques. L'observateur ainsi réglé sera ensuite testé en simulation pour un taux de dilution variable dans le temps.

L'objectif de l'approche proposée réside dans l'amélioration de la convergence exponentielle de la dynamique à travers du choix des valeurs propres de  $J^{++}$ , la matrice Jacobienne de la borne supérieure de l'erreur d'estimation; sachant que les valeurs propres du système sont les racines du polynôme caractéristique :

$$\det(pI - J^{++}) = p^2 + 2\xi\omega_0 p + \omega_0^2 \quad (4.63)$$

A partir de (4.63) et par correspondance terme à terme, on obtient les deux égalités suivantes :

$$\begin{cases} 2\xi\omega_0 = 2D + \frac{g_1^+}{Y_{X/CIT}} + \alpha k_L a - \frac{g_2^+}{Y_{X/CIT}} - \mu_{max}^+ \\ \omega_0^2 = \left[ \left( -D - \frac{g_1^+}{Y_{X/CIT}} - \alpha k_L a \right) (\mu_{max}^+ - D) - D \frac{g_2^+}{Y_{X/CIT}} \right] \end{cases} \quad (4.64)$$

Ainsi, le réglage des gains  $(g_1^+, g_2^+)$  est donné par :

$$\begin{cases} g_1^+ = -Y_{X/CIT} \frac{D^2 + \omega_0^2 - 2\xi D \omega_0}{Y_{X/CIT}} - \alpha Y_{X/CIT} k_L a \\ g_2^+ = Y_{X/CIT} \left( 2D + \frac{g_1^+}{Y_{X/CIT}} - 2\xi\omega_0 + \alpha k_L a - \mu_{max}^+ \right) \end{cases} \quad (4.65)$$

Le réglage des gains de l'observateur par intervalles repose sur le choix des paramètres  $\omega_0$  et  $\xi$  du système du second ordre. En combinant ces expressions aux conditions (4.54), garantissant la coopérativité et la stabilité du système, on obtient :

$$\begin{cases} \xi > 1 \\ \xi D - D\sqrt{\xi^2 - 1} \leq \omega_0 \leq \xi D + D\sqrt{\xi^2 - 1} \end{cases} \quad (4.66)$$

D'après cette relation, on peut constater que la vitesse de convergence, même si elle peut être améliorée par rapport à un observateur asymptotique classique, reste limitée dans une plage de valeur qui dépend du taux de dilution.

#### 4.5.3.2 Minimisation de l'erreur asymptotique $E_x^+$

La seconde approche développée consiste à déterminer les gains de l'observateur qui minimisent l'erreur finale obtenue sur l'estimation de la concentration de biomasse, tout en respectant les conditions de coopérativité et de stabilité du système. Les gains de l'observateur sont donc solution du problème d'optimisation suivant :

$$\min_{g_1^+, g_2^+} \left\| -\begin{pmatrix} 0 & 1 \end{pmatrix} \cdot (J^{++})^{-1} \begin{pmatrix} 0 \\ \Lambda \end{pmatrix} \right\| \quad (4.67)$$

s. c. (4.54)

Cependant, la résolution de cette fonction d'optimisation (4.67), en utilisant l'expression détaillée du critère, donnée par (4.58), permet d'aboutir à une solution mathématique non réalisable physiquement, à savoir un gain  $g_1^+$  égal à  $-\alpha k_L a Y_{X/CIT}$  et un gain  $g_2^+ \rightarrow -\infty$ . Afin d'obtenir une solution finie, il est nécessaire de réaliser un compromis entre la convergence de l'observateur et la valeur d'équilibre de l'erreur d'estimation.

Nous proposons donc de déterminer les gains afin de garantir une précision finale sur l'erreur d'estimation en biomasse, notée  $\varepsilon_x$ . Ainsi, le problème (4.67) devient :

$$\min_{g_1^+, g_2^+} \left\| -\begin{pmatrix} 0 & 1 \end{pmatrix} \cdot (J^{++})^{-1} \begin{pmatrix} 0 \\ \Lambda \end{pmatrix} - \varepsilon_x \right\| \quad (4.68)$$

s. c. (4.54)

Cette approche permet de trouver la meilleure solution garantissant une précision d'estimation imposée a priori.

#### 4.5.3.3 Gains variables par application d'un filtre de Kalman

Les gains déterminés précédemment sont fixes et présentent l'inconvénient d'être peu robustes vis-à-vis d'incertitudes sur le modèle. D'autre part, ils sont déterminés pour un taux de dilution constant, or, notamment en transitoire d'une réponse à une consigne en biomasse, ce taux est variable. Pour remédier à ces inconvénients, nous proposons de les déterminer par application d'un filtre de Kalman étendu, ce qui présente l'avantage de pouvoir modéliser les incertitudes sur le modèle via des bruits additifs fictifs. Pour ce faire, les observateurs des bornes supérieures et inférieures donnés par (4.43) sont réalisés par application de la théorie du filtre de Kalman à (4.38). Ainsi, les gains ( $g_1^\pm, g_2^\pm$ ) sont les gains du filtre de Kalman étendu, obtenus selon l'algorithme décrit à la section 4.3.1.2. L'état à estimer est dans ce cas :

$$x_k = [z(kT_e) \ X(kT_e)]^T \triangleq [z_k \ X_k]^T \quad (4.69)$$

Les mesures sont supposées disponibles selon un pas d'échantillonnage  $\tau$ , tel que  $\tau > T_e$ .

$$y_j = [CIT](j\tau) \triangleq [CIT]_j \quad (4.70)$$

La dynamique de ce système est obtenue par discrétisation de la dynamique (4.43) avec l'approximation d'Euler, de façon similaire à ce qui a été appliqué à la section 4.3.2.

L'efficacité de ce filtre de Kalman dépend essentiellement des matrices de variance  $Q$  et  $R$ , dont le choix consiste à effectuer un compromis entre stabilité et vitesse de convergence.

Par ailleurs, cette approche de choix des gains de l'observateur par intervalles présente l'inconvénient majeur de ne pas prendre en compte la condition de coopérativité (4.42). Aussi, le risque serait que les gains ainsi obtenus conduisent à deux observateurs n'encadrant plus la trajectoire réelle du système. Ce point est donc à prendre en compte lors de la mise en œuvre de l'observateur, pour détecter cette perte de coopérativité. Une étude complémentaire est nécessaire pour analyser ce point et proposer des alternatives pour y remédier.

#### 4.5.4 Performances en simulation

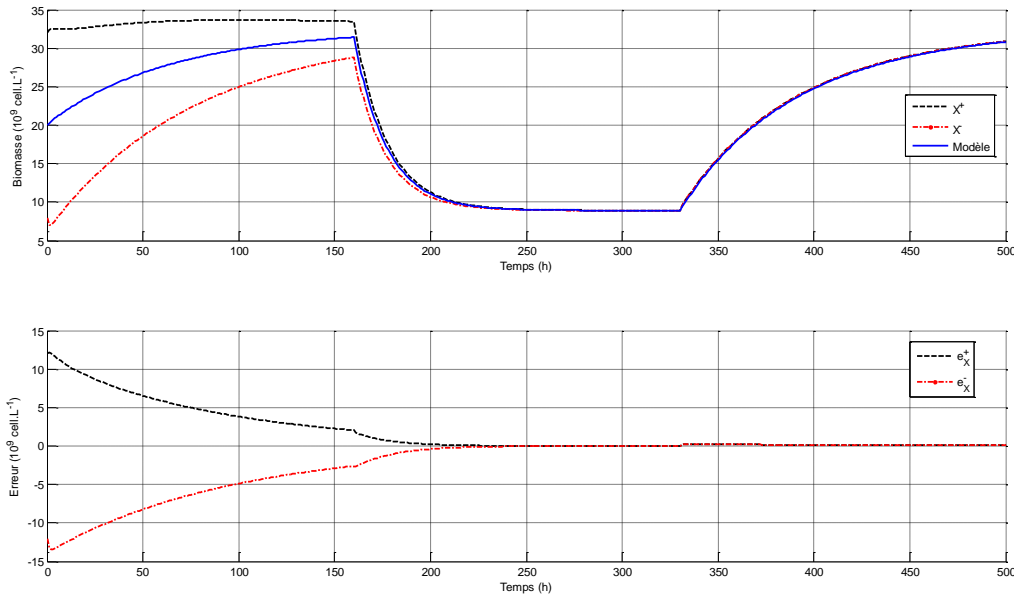
Les conditions opératoires et paramètres de simulation sont les mêmes qu'à la section 4.3.3. Des limites supérieure et inférieure de l'initialisation en concentration de biomasse ont été choisies égales à  $\pm 60\%$  de la valeur nominale. On a opté pour une désadaptation importante de la condition initiale afin de vérifier la convergence de l'observateur, particulièrement sous des conditions d'incertitudes des paramètres du modèle et de la dynamique du système.

Dans un premier temps, les résultats obtenus avec des gains fixes sont donnés afin d'illustrer l'efficacité de l'observateur par intervalles. Ensuite, une analyse des performances de l'observateur en fonction des gains choisis et de la méthode de synthèse sera décrite. Rappelons que le profil du débit d'alimentation est variable et donné par (4.20). La synthèse de l'observateur par placement de pôles est effectuée pour la première valeur du débit (soit  $0,1 \text{ L.h}^{-1}$ ). Les gains ainsi déterminés sont ensuite fixés et appliqués pour le profil variable défini dans (4.20). Elle peut également être réalisée à chaque instant (calcul des gains à chaque instant temporel).

##### 4.5.4.1 Simulation du cas nominal

Les performances de l'observateur par intervalles sont analysées en l'absence d'incertitudes sur les paramètres du modèle. Les résultats obtenus sont donnés par la figure 4.16. Dans ce cas, les gains de l'observateur ont été choisis fixes, obtenus par l'approche avec choix des valeurs

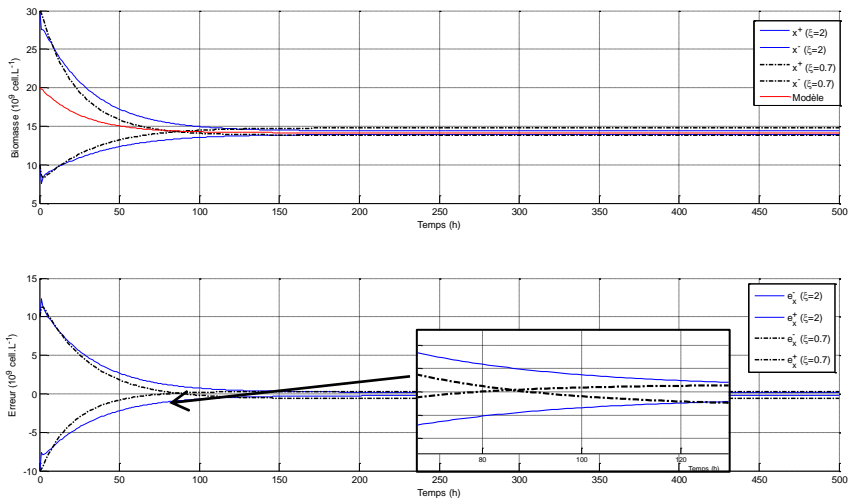
propres de la matrice jacobienne (section 4.5.3.1), avec  $\xi = 2$  et  $\omega_0 = 0,8 * (\xi D + D\sqrt{\xi^2 - 1}) = 0,03 \text{ rad/h}$ .



**Figure 4.16 :** Observateur par intervalles : Estimation de la concentration de biomasse et erreur d'estimation dans le cas nominal

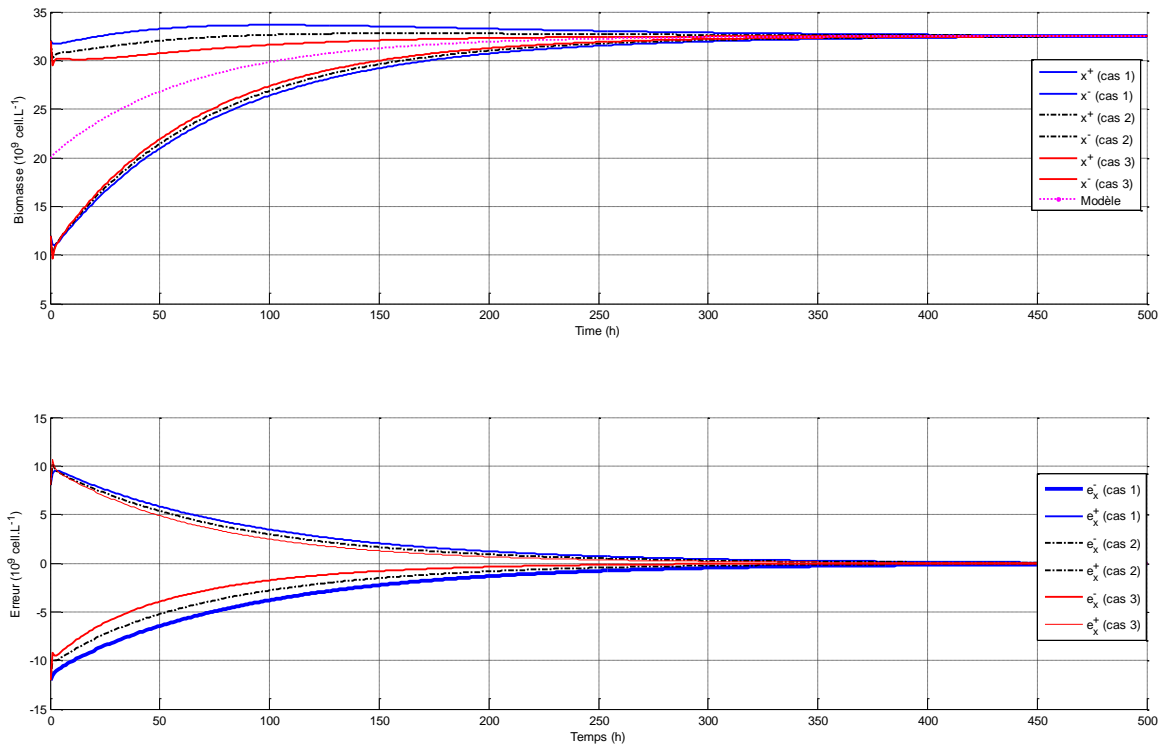
On peut constater que l'observateur par intervalles permet d'encadrer la biomasse réelle par un intervalle décroissant dans le temps. L'erreur d'estimation finale dépend du taux de dilution. On peut noter en effet, que plus le taux de dilution est élevé, plus l'erreur finale d'estimation est faible. D'après (4.58), l'erreur finale est inversement proportionnelle au taux de dilution ce qui explique ce résultat. Aussi, on peut conclure qu'il est préférable pour les besoins de l'estimation, d'imposer un taux de dilution le plus grand possible. Cette solution n'est pas toujours faisable car le taux de dilution est issu d'une loi de commande et donc ne peut être choisi librement d'une part, et d'autre part il faut éviter les problèmes de lessivage de la culture observés lorsque la quantité de biomasse sortante est supérieure à la quantité produite.

Les gains utilisés ici et fixés par placement de pôles satisfont les conditions de stabilité et coopérativité données par (4.65) et (4.66). Nous allons maintenant analyser l'impact du choix de la dynamique de l'erreur d'estimation, via le choix de ses valeurs propres, sur la performance de l'observateur. La figure 4.17 illustre la performance de l'observateur pour deux valeurs du coefficient d'amortissement ( $\xi = 0,7$  et  $\xi = 2$ ), avec  $\omega_0 = 0,03$ . Dans ce cas, le débit d'alimentation a été supposé constant et égal à  $0,3 \text{ L.h}^{-1}$  pour simplifier l'étude et rendre les résultats de simulation plus clairs. Les valeurs de  $\xi$  choisies correspondent aux deux cas de satisfaction ou non de la condition coopérativité ( $\xi > 1$ ). Dans le cas d'un  $\xi$  inférieur à 1, on constate une inversion des bornes supérieure et inférieure de la biomasse estimée, traduisant une perte de coopérativité.



**Figure 4.17 :** Observateur par intervalles : analyse de l’influence de coefficient d’amortissement sur l’erreur dynamique

La figure 4.18 illustre l’impact du choix de la pulsation propre  $\omega_0$  sur la performance de l’observateur. Selon la relation (4.66), le choix de  $\omega_0$  est conditionné par le taux de dilution  $D$  et par l’amortissement  $\xi$ . On peut noter que le choix de la pulsation propre permet en effet d’accélérer la convergence de l’observateur. La vitesse de convergence ne peut pas être améliorée de façon significative. En effet, une vitesse de convergence rapide correspond à des gains élevés, qui peuvent aboutir à des concentrations négatives de biomasse. Aussi faut-il trouver le meilleur compromis entre vitesse de convergence et évolution acceptable sur la biomasse.

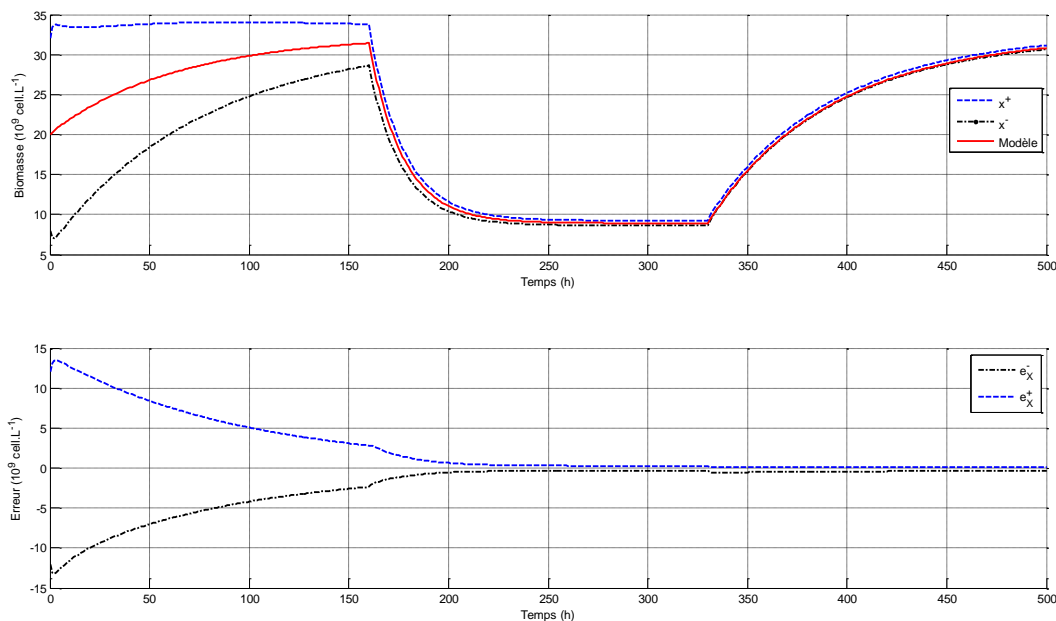


**Figure 4.18 :** Observateur par intervalles : analyse de l’influence de la pulsation propre sur l’erreur dynamique (cas 1 :  $\omega_0 = 2D$ , cas 2 :  $\omega_0 = 10D$  et cas 3 :  $\omega_0 = 50D$ )

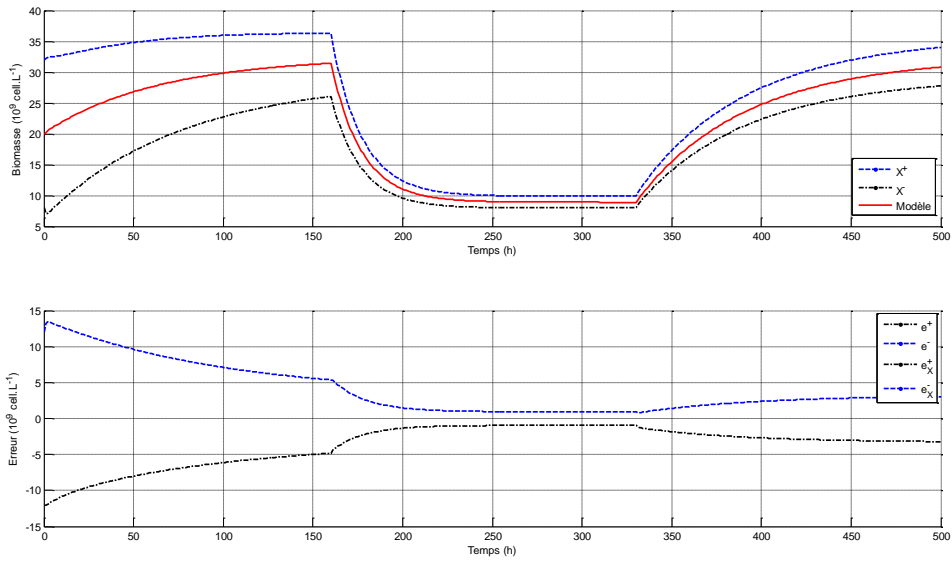
4.5.4.2 Analyse de la robustesse

Dans ce qui précède, les valeurs des paramètres ( $\mu_{\max}$ ,  $K_E$  et  $K_{CL}$ ,  $k_{LA}$  et  $Y_{X/CIT}$ ) ont été supposées parfaitement connues. Dans ce qui suit, l'étude de la robustesse de l'observateur est effectuée, en considérant des incertitudes de 30 % sur les trois premiers et de 20% sur les deux derniers paramètres. Les résultats des essais de simulation sont indiqués figures 4.19 à 4.22. Les gains de l'observateur sont déterminés par placement des valeurs propres de la dynamique de l'erreur.

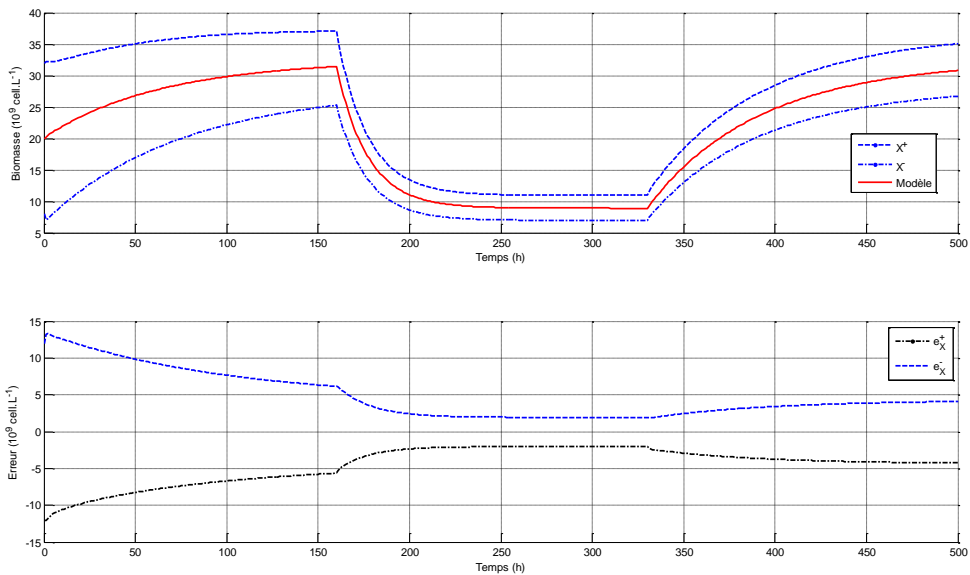
Il ressort de ces tests que l'observateur développé permet d'estimer efficacement la concentration de biomasse, en l'encadrant par un intervalle de faible largeur, dans le cas où seule une désadaptation du modèle de croissance est prise en compte. La vitesse de convergence dans ce cas dépend du taux de dilution, similairement au cas nominal. Dans le cas de prise en compte d'incertitudes sur les paramètres de la dynamique d'évolution de la concentration de  $CIT$ , l'observateur s'avère moins efficace puisqu'il conduit à un intervalle final plus grand. L'erreur finale dépend de l'incertitude supposée sur les paramètres, mais surtout du taux de dilution. En effet, on peut noter que lorsque le taux de dilution est de  $0,05h^{-1}$ , l'erreur finale est plus faible.



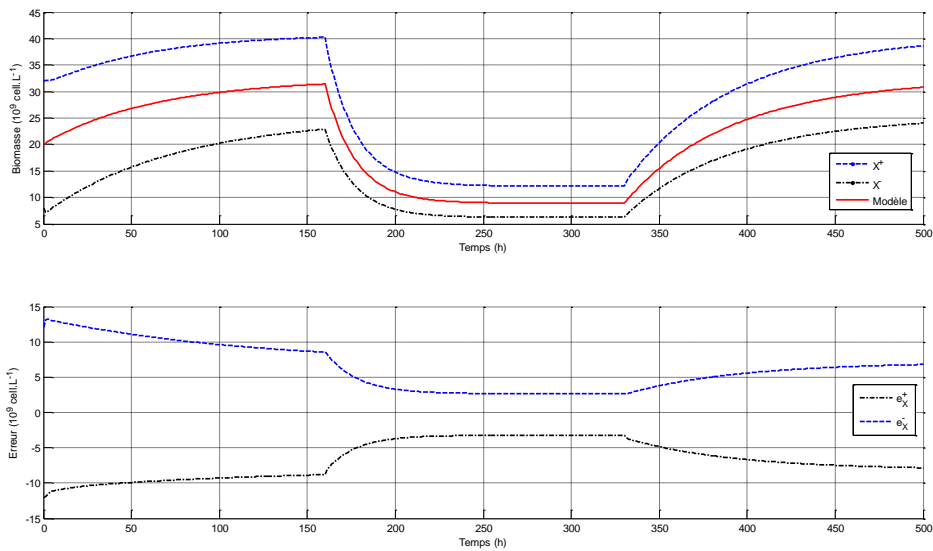
**Figure 4.19 :** Analyse de la robustesse de l'observateur par intervalles : estimation de la concentration de biomasse et suivi de l'erreur d'estimation avec une incertitude de 30% sur les paramètres du modèle de croissance



**Figure 4.20 :** Analyse de la robustesse de l'observateur par intervalles : estimation de la concentration de biomasse et suivi de l'erreur d'estimation avec une incertitude de 20% sur  $Y_{X/CTT}$

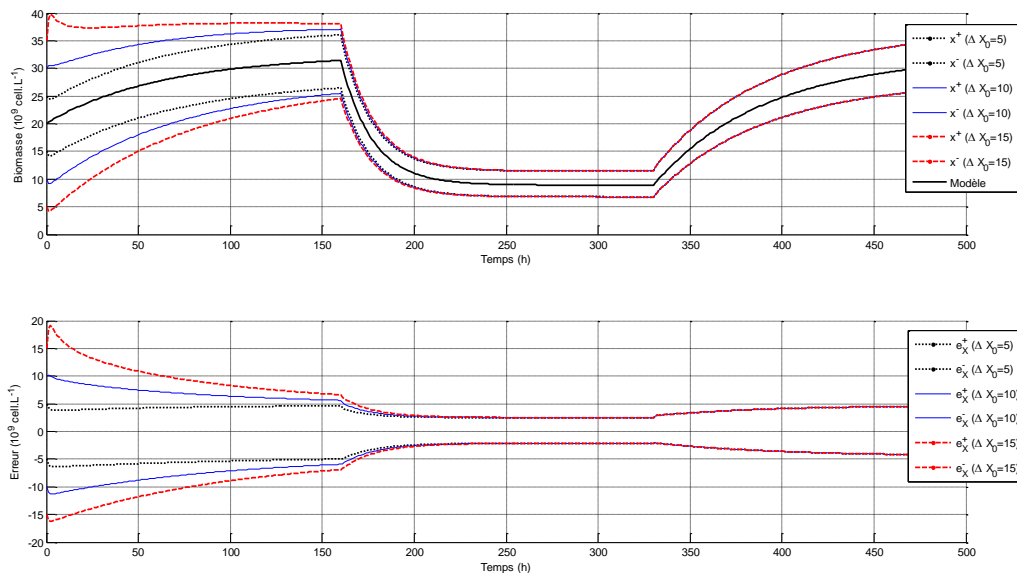


**Figure 4.21 :** Analyse de la robustesse de l'observateur par intervalles : estimation de la concentration de biomasse et erreur d'estimation avec une incertitude de 20% sur  $k_{La}$



**Figure 4.22 :** Analyse de la robustesse de l’observateur par intervalles : estimation de la concentration de biomasse et erreur d’estimation avec des incertitudes de 20% sur  $k_{LA}$  et  $Y_{X/CIT}$

Un dernier test sur la robustesse de l’observateur à gains constants, fixés par placement de pôles, consiste à étudier sa sensibilité à l’initialisation en biomasse, notamment l’impact de la largeur de l’intervalle d’initialisation de la concentration de biomasse sur l’erreur finale. La figure 4.23 permet de constater que l’encadrement final de la concentration de biomasse est quasi identique, quelle que soit la largeur initiale de l’intervalle. Ainsi, la valeur finale de l’erreur ne dépend pas de l’intervalle initial, mais dépend essentiellement du taux de dilution et des écarts sur les paramètres  $k_{LA}$  et  $Y_{X/CIT}$ .

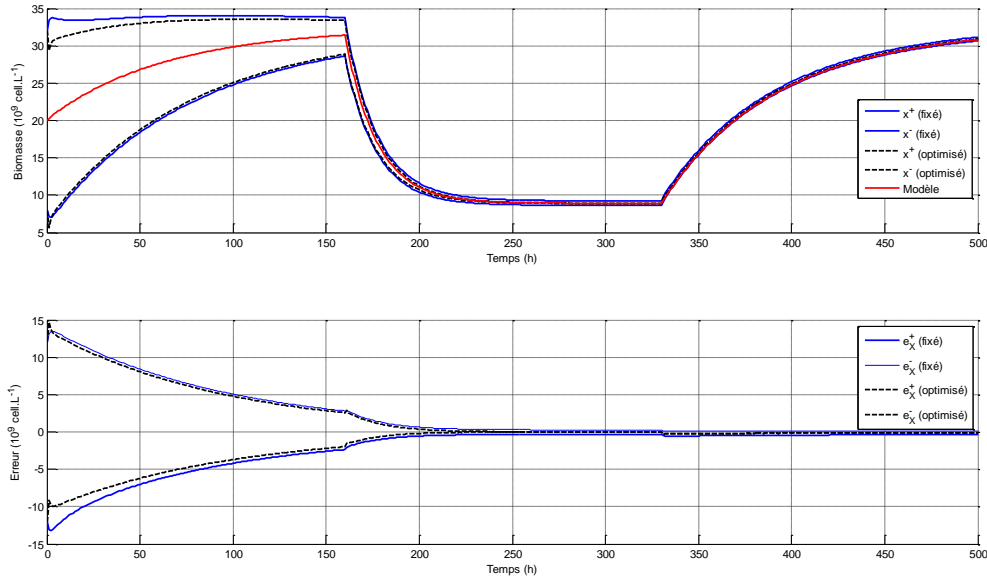


**Figure 4.23 :** Analyse de la robustesse de l’observateur par intervalles : influence de l’erreur d’initialisation sur l’estimation de la concentration de biomasse en présence d’incertitudes de 30% sur les paramètres du modèle et de 20 % sur  $k_{LA}$

Dans ce qui suit, nous allons comparer l’approche fixant les valeurs propres de la dynamique de l’erreur d’estimation (section 4.5.3.1) à la technique d’optimisation de ces gains pour obtenir une précision souhaitée (section 4.5.3.2). Dans ce dernier cas, la résolution du problème (4.68)



est réalisée afin d'obtenir une précision d'estimation de la concentration de biomasse inférieure à  $2 \cdot 10^9 \text{ cell.L}^{-1}$ . Les performances des deux observateurs sont illustrées par la figure (4.24). L'approche par optimisation des gains permet d'obtenir une meilleure estimation, en termes de vitesse de convergence et de précision finale obtenue. Cependant, la vitesse de convergence ne peut pas être accélérée de façon importante, à cause de la condition de coopérativité qui la limite.



**Figure 4.24 :** Observateur par intervalles avec gains constants : fixation des valeurs propres (trait continu) et optimisés (trait discontinu), avec 30% de dispersion sur le modèle de croissance

Afin d'améliorer les performances de l'observateur, notamment dans le cas d'incertitudes sur les paramètres  $k_{LA}$  et  $Y_{X/CT}$ , l'observateur par intervalles avec gains variables, obtenus par application d'un filtre de Kalman, est testé ci-dessous. Comme précédemment, le choix des matrices  $Q$  et  $R$  est effectué empiriquement. Les figures 4.25 et 4.26 donnent les résultats obtenus dans deux cas :

- Cas 1 : le modèle de croissance est supposé parfaitement connu. Dans ce cas, les matrices de variance sur  $(z, X)$  et sur la mesure sont choisies comme suit :

$$Q = \begin{bmatrix} 0,01 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} R = 0,01, P_0 = \begin{bmatrix} 0,01 & 0 \\ 0 & 10 \end{bmatrix}$$

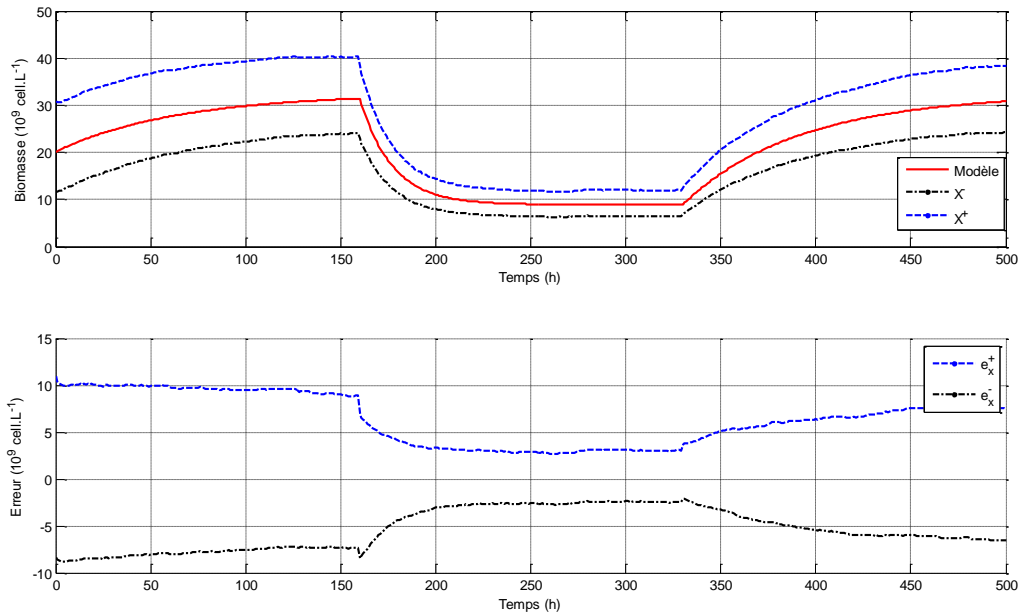
- Cas 2 : le modèle de croissance n'est pas fiable. Les matrices de variance sont :

$$Q = \begin{bmatrix} 0,1 & 0 \\ 0 & 10 \end{bmatrix} R = 0,01, P_0 = \begin{bmatrix} 0,01 & 0 \\ 0 & 10 \end{bmatrix}$$

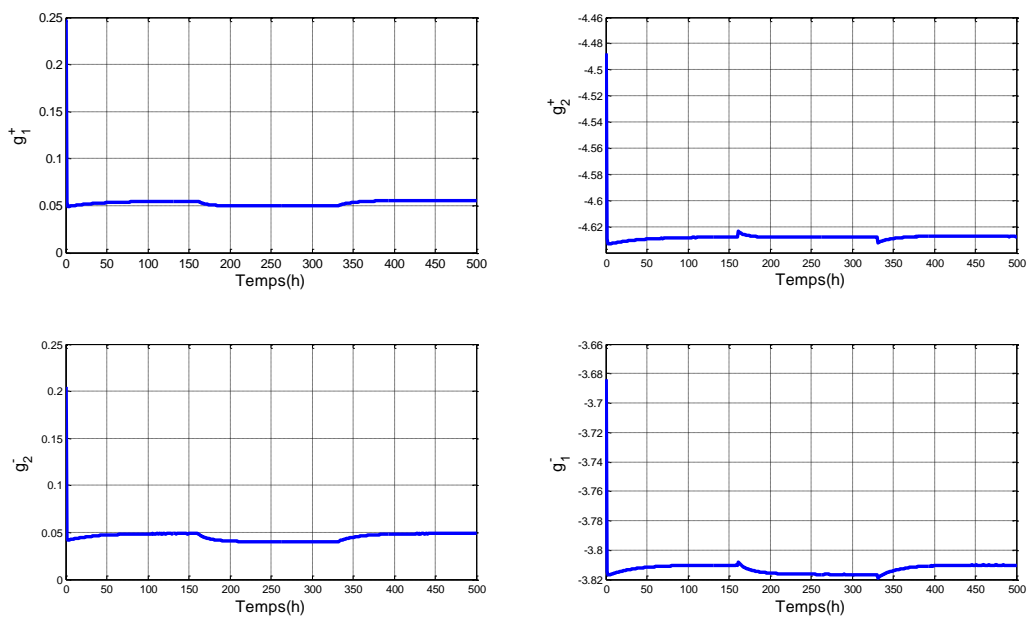
Dans le cas 2, comme le montre la figure 4.25, les performances de l'observateur sont très similaires à ce qui a été obtenu avec l'observateur avec des gains constants (figure 4.22). Le tracé des gains obtenus est donné par les figures 4.26 et 4.27. Ces gains sont variables et l'on devine l'allure du taux de dilution dans cette évolution. De plus, ces gains respectent les conditions de coopérativité (même si aucune spécification n'a été imposée dans ce sens).

L'avantage du réglage des gains par un filtre de Kalman se trouve surtout lorsque le modèle de croissance est fiable. En effet, comme le montre la figure 4.28, lorsque le modèle de la

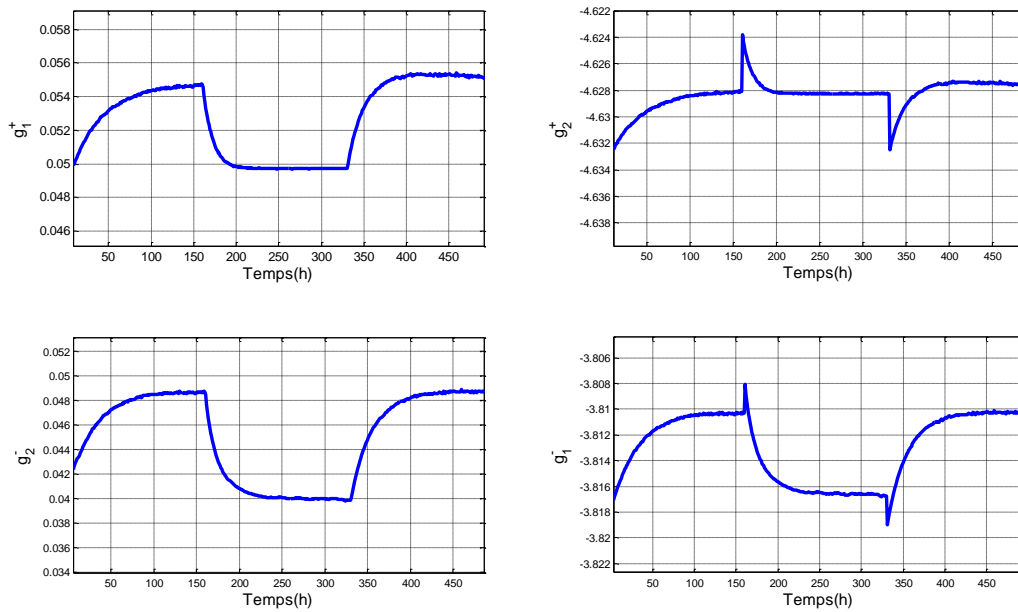
dynamique de croissance est de bonne qualité (cas 1), le filtre de Kalman parvient à encadrer efficacement la trajectoire réelle de la biomasse, et donc à rendre robuste l'observateur vis-à-vis d'incertitudes sur  $k_{LA}$  et  $Y_{X/CT}$ . Cependant, la qualité de l'estimation du filtre de Kalman dépend essentiellement du choix des matrices  $Q$  et  $R$ , avec le risque d'une perte de coopérativité de l'observateur. Les erreurs d'estimation de la concentration cellulaire induisent dans ce cas un écart de productivité en biomasse (qui sera présentée au chapitre 5) de l'ordre de 15%.



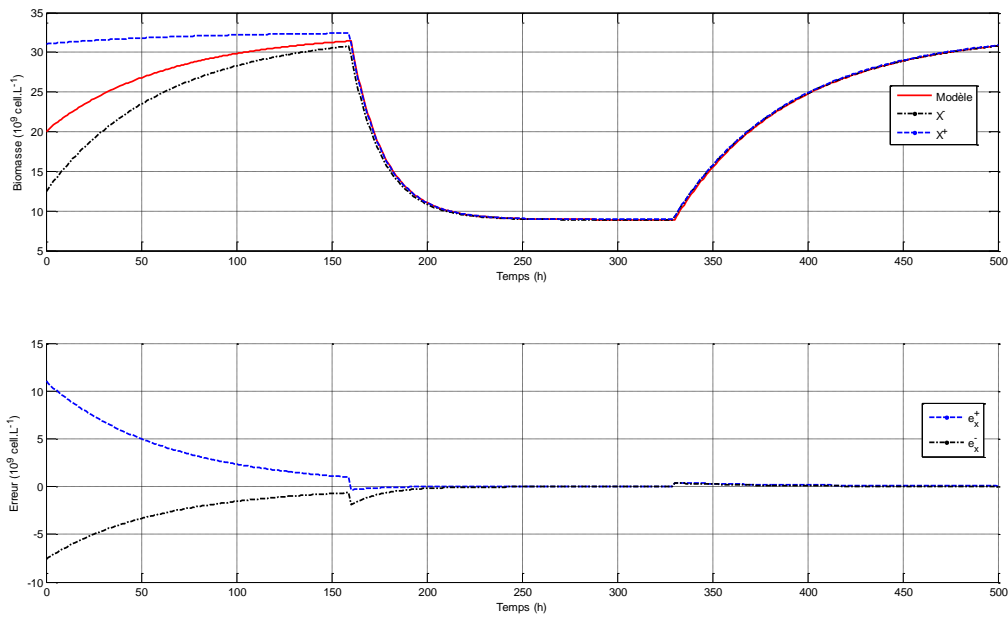
**Figure 4.25 :** Analyse de la robustesse de l'observateur par intervalles avec filtre de Kalman : incertitudes de 10% sur  $k_{LA}$  et  $Y_{X/CT}$  et 30% sur les paramètres du modèle de croissance



**Figure 4.26 :** Analyse de la robustesse de l'observateur par intervalles avec filtre de Kalman : Gains de l'observateur.



**Figure 4.27 :** Analyse de la robustesse de l'observateur par intervalles avec filtre de Kalman : Gains de l'observateur avec zoom



**Figure 4.28 :** Analyse de la robustesse de l'observateur par intervalles avec filtre de Kalman : incertitudes de 20% sur  $k_{La}$  et  $Y_{X/CIT}$  uniquement.

#### 4.5.4.3 Conclusion

Les résultats obtenus en simulation montrent l'efficacité de l'observateur par intervalles pour déterminer un intervalle encadrant la vraie valeur de la concentration de biomasse, même en présence d'incertitudes sur les paramètres du modèle de croissance et sur  $k_{La}$  et  $Y_{X/CIT}$ . La convergence de l'observateur dépend essentiellement de la valeur du taux de dilution, mais peut être malgré tout améliorée via un choix approprié des gains de l'observateur. D'autre part, la précision de l'encadrement final de la concentration de biomasse dépend certes du taux de

dilution, mais également et surtout des incertitudes considérées sur les paramètres  $k_L a$  et  $Y_{X/CIT}$ . L'amélioration de l'estimation dans ce cas est réalisée en considérant un choix des gains de l'observateur issu de l'application d'un filtre de Kalman étendu. Cette approche permet d'améliorer l'estimation, mais sa qualité est liée à la fiabilité du modèle de croissance de la biomasse.

#### 4.6 Validation expérimentale

Les performances des trois stratégies d'estimation proposées précédemment sont analysées à partir de cultures en continu de *Chlorella vulgaris* dans le même photobioréacteur que précédemment sous des conditions optimales de croissance (protocole expérimental détaillé dans l'Annexe A2). Deux cultures en mode continu ont été réalisées avec des débits d'alimentation constants : la culture 1 avec un débit de  $0,15 \text{ L.h}^{-1}$  et la culture 2 avec  $0,12 \text{ L.h}^{-1}$ . Les conditions initiales sont les suivantes :

Culture N°1 $F = 0,15 \text{ L.h}^{-1}$	Culture N°2 $F = 0,12 \text{ L.h}^{-1}$
$X_0 = 24,1 \cdot 10^9 \text{ cell.L}^{-1}$	$X_0 = 23,8 \cdot 10^9 \text{ cell.L}^{-1}$
$CIT_0 = 2,8 \text{ mmol.L}^{-1}$	$CIT_0 = 3,4 \text{ mmol.L}^{-1}$

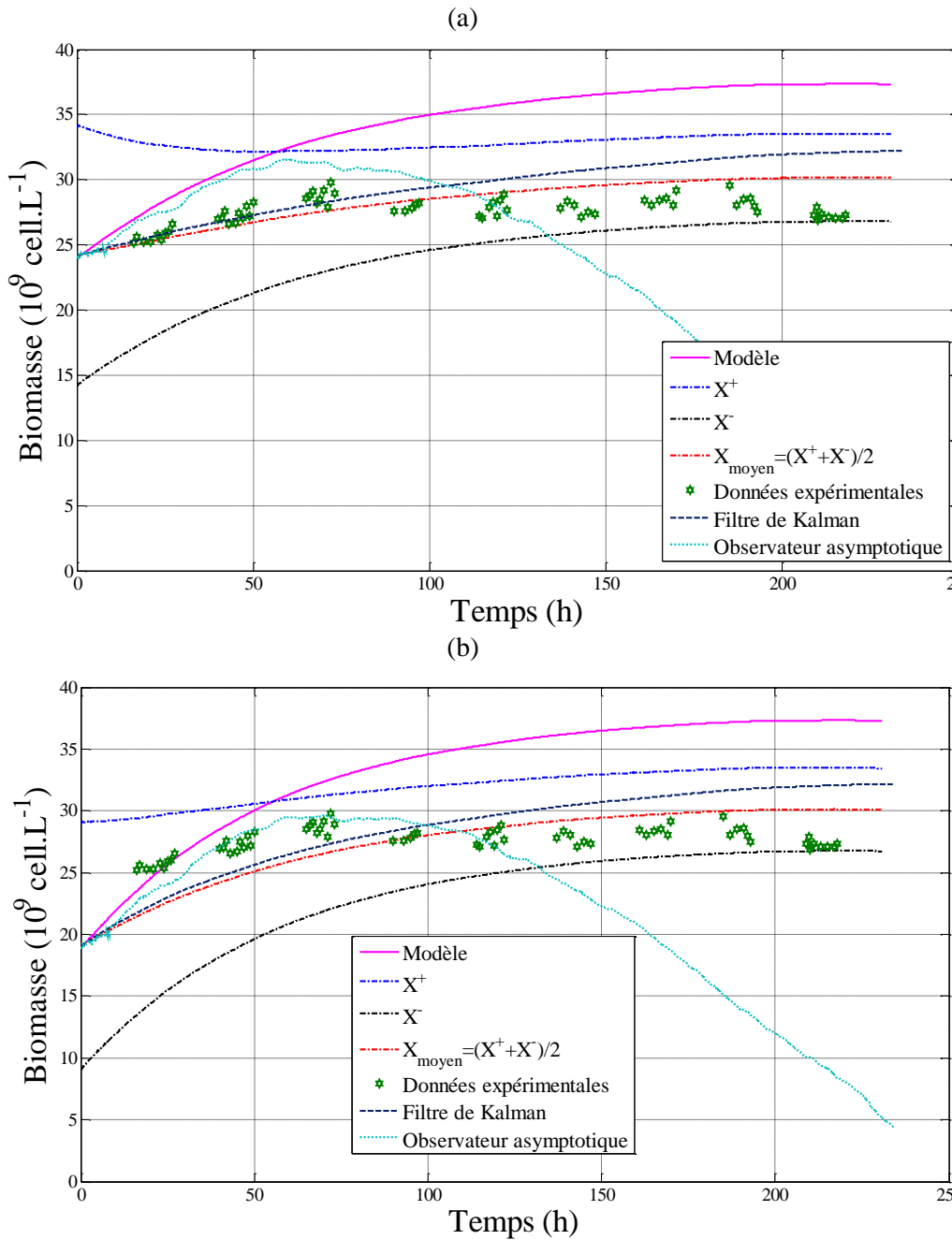
Ces deux cultures ont des caractéristiques similaires et permettent par ailleurs de vérifier la reproductibilité des essais expérimentaux. Les paramètres du modèle et des observateurs sont les mêmes que ceux utilisés lors des tests en simulation. Les gains de l'observateur par intervalles sont issus de l'application du filtre de Kalman, et donc sont des gains variant dans le temps.

Dans un premier temps, les trois observateurs sont testés sur la culture 1, sans erreur d'initialisation de la biomasse (figure 4.29.a) et avec une erreur d'initialisation de 10% (figure 4.29.b). Il ressort de ces résultats que l'observateur asymptotique ne permet pas de reconstruire la concentration de biomasse. En effet, au début de la culture, cet observateur suit approximativement la variation réelle de la concentration de biomasse, mais chute à partir de  $t = 80 \text{ h}$ , et donne une estimation très différente de la valeur mesurée. De fait, et comme vérifié précédemment lors des essais de simulation dans la section 4.4.3, ce type d'observateur en boucle ouverte ne permet pas d'intégrer les écarts entre les mesures et la prédiction et dépend fortement de la fiabilité des paramètres de la cinétique d'évolution de la concentration de  $CIT$ .

Le filtre de Kalman et l'observateur par intervalles estiment globalement efficacement la concentration de biomasse. Le filtre de Kalman surestime cette concentration à partir de  $t = 80 \text{ h}$  dans les deux cas. Dans le cas d'une mauvaise initialisation, due par exemple à une erreur de mesure de la concentration de biomasse initiale, le filtre de Kalman reproduit globalement l'évolution réelle de la concentration de biomasse, mais en la sous estimant au départ, puis en la surestimant.

Enfin, pour ce qui est de l'observateur par intervalles, on peut noter qu'il donne un très bon encadrement de la concentration de biomasse dans les deux cas. Les bornes supérieure et inférieure de l'observateur par intervalles forment un intervalle stable qui permet d'encadrer les mesures de la concentration de biomasse. En outre, si l'on calcule la moyenne des bornes supérieure et inférieure, on peut observer que cette concentration de biomasse « moyenne » suit relativement bien la concentration mesurée. De plus, l'observateur n'a pas encore convergé (vitesse de convergence liée au taux de dilution et de l'ordre de  $200 \text{ h}$  dans ce cas). Cependant, les mesures de concentration de biomasse à la fin de la culture se trouvent proches de la borne inférieure, d'où le risque que les mesures soient en dehors de l'intervalle pour des temps

supérieurs. Aussi, la validation de cet observateur et des réglages des matrices  $Q$  et  $R$  donnant ses gains doit se faire sur de nouvelles données expérimentales.



**Figure 4.29 :** Validation expérimentale des observateurs sur la culture 1 (a) sans erreur d'initialisation de la biomasse (b) avec 10 % d'erreur.

Les performances des stratégies d'estimation proposées sont maintenant testées en exploitant les jeux de données de la culture N°2. Les résultats obtenus sont illustrés par la figure 4.30. On peut constater que l'on retrouve des résultats similaires à ceux de la culture 1. Cette deuxième culture a dû être arrêtée prématurément à  $t = 100$  h du fait de la formation d'un biofilm rendant l'accès de la lumière difficile pour les microalgues, ce qui explique l'excursion temporelle plus restreinte ici. L'observateur asymptotique présente des performances très

médiocres. Le filtre de Kalman étendu permet de reconstruire la concentration de biomasse avec une bonne précision (en la surestimant légèrement). L'observateur par intervalles fournit des estimations des bornes supérieure et inférieure qui encadrent bien les mesures de la concentration de biomasse. L'intervalle d'estimation est stable, diminue et semble converger vers une valeur asymptotique finie et faible. Les points mesurés se trouvent bien à l'intérieur de l'intervalle estimé par l'observateur par intervalles.

Ainsi, les résultats obtenus sur les données expérimentales confirment les conclusions obtenues en simulation, à savoir une efficacité de l'observateur par intervalles, supérieure à celle d'un filtre de Kalman puisqu'elle encadre bien l'évolution de la biomasse, mais on risque d'obtenir un intervalle final grand, selon les conditions opératoires. L'observateur asymptotique ne semble pas être adapté à notre application car trop sensible aux erreurs sur les paramètres du modèle d'évolution de la concentration de *CIT*.

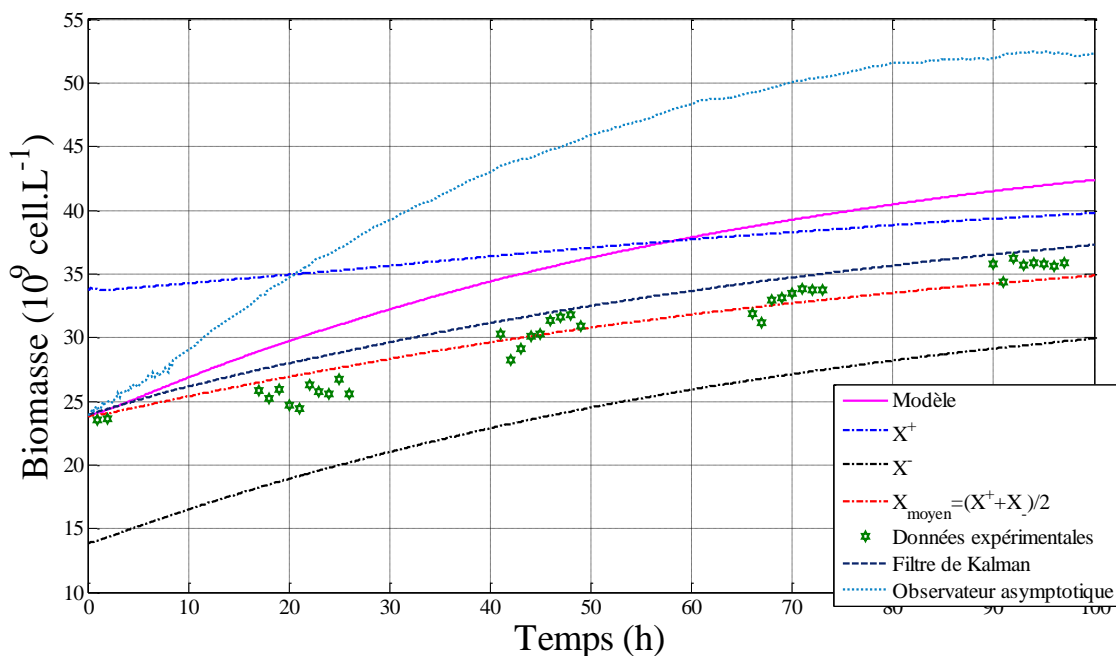


Figure 4.30 : Validation expérimentale des observateurs pour la culture 2

#### 4.7 Conclusion

Dans l'optique de l'implantation de lois de commande robustes, le développement de stratégies d'estimation basées sur le modèle retenu durant cette étude est nécessaire pour la reconstruction de la concentration cellulaire algale, variable non mesurée en ligne, à partir des mesures de concentration de carbone inorganique total. Connaissant la complexité du système biologique, les erreurs éventuelles relatives à la phase de modélisation et les limitations des capteurs physiques, il est fondamental de concevoir un observateur robuste, capable de fournir une estimation fiable de la concentration algale.

Après une première partie consacrée à un état de l'art des stratégies d'estimation appliquées à la biotechnologie algale, les structures de trois observateurs ont été retenues et développées : le filtre de Kalman étendu, l'observateur asymptotique et l'observateur par intervalles. A partir des simulations numériques, la performance et la robustesse de ces trois observateurs ont été

étudiées vis-à-vis des incertitudes du modèle de croissance et des paramètres impliqués dans la dynamique de la concentration de *CIT*, à savoir  $k_L a$  et  $Y_{X/CIT}$ .

Il a été montré que le filtre de Kalman étendu est robuste vis-à-vis des incertitudes des paramètres de la dynamique du *CIT*, mais l'estimation de la concentration de biomasse dépend de la qualité du modèle de croissance.

L'observateur asymptotique est une stratégie d'estimation en boucle ouverte qui est robuste vis-à-vis des imprécisions des paramètres du modèle de croissance mais est fortement sensible aux paramètres  $k_L a$  et  $Y_{X/CIT}$ .

Une structure alternative, basée sur l'approche par intervalles, permet de combiner les avantages des observateurs exponentiels et asymptotiques, en fournissant de plus un intervalle encadrant la trajectoire réelle du système. Cependant, l'erreur asymptotique ne peut généralement pas être annulée en régime permanent et dépend de la fiabilité des paramètres  $k_L a$  et  $Y_{X/CIT}$ . Afin d'améliorer la robustesse de cet observateur essentiellement vis-à-vis de ces paramètres, ses gains sont déterminés par application d'un filtre de Kalman étendu. L'efficacité de cette approche a été testée et mise en évidence en simulation et sur des essais expérimentaux.

On peut donc considérer que l'on dispose d'un estimateur fiable et robuste de la concentration de la biomasse, ce qui permet de considérer maintenant la synthèse d'une loi de commande afin de maintenir la concentration cellulaire à une valeur stationnaire optimale permettant de maximiser la consommation de dioxyde de carbone sous les conditions opératoires considérées.

# 5 Mise en œuvre d'une loi de commande prédictive non-linéaire

---

## 5.1 Introduction

Comme il a été mentionné depuis le début, l'objectif principal de nos travaux réside dans l'optimisation de la séquestration du  $CO_2$  par les microalgues. A cet effet, il s'avère impératif d'introduire une stratégie de commande avancée performante permettant de garantir des conditions de cultures proches de l'optimum, favorisant ainsi la croissance cellulaire et, par conséquent, optimisant les performances du bioprocédé. Les stratégies de commande appliquées aux bioprocédés représentent un réel défi pour la communauté automatique. En effet, la première difficulté est liée à la mise au point d'un modèle fiable mais restant suffisamment simple, le système biologique étant complexe, possédant une dynamique lente et variant dans le temps. Par ailleurs, le deuxième point dur provient de la difficulté de mesurer, en temps réel, certaines variables du bioprocédé nécessaires à la commande, ce qui rend l'implantation de cette dernière d'autant plus complexe avec le recours aux observateurs comme illustré au chapitre précédent.

Dans cette direction, plusieurs stratégies de commande ont été proposées dans le domaine biologique en général, comme on le verra lors du prochain paragraphe, mais peu de travaux concernent spécifiquement les cultures de microalgues. Durant cette thèse, le choix a été fait d'implanter une stratégie de commande prédictive non-linéaire « CPNL », afin de réguler la concentration cellulaire à une valeur de consigne adaptée, permettant de maximiser la productivité, et par conséquent, d'optimiser la consommation en  $CO_2$ . Les fondements théoriques de cette stratégie seront détaillés par la suite, puis la commande CPNL sera appliquée à notre bioprocédé.

Une première partie de ce dernier chapitre dresse un état de l'art des lois de commande appliquées aux bioprocédés, en particulier pour les cultures de microalgues. Une deuxième partie présente le principe de la commande prédictive non-linéaire. La stratégie de régulation retenue pour la maximisation de la consommation du dioxyde de carbone est ensuite décrite avec l'application de la stratégie de commande sur le bioprocédé considéré dans le cadre de nos travaux. L'analyse des performances de la loi de commande prédictive non-linéaire est réalisée dans un premier temps grâce à des essais de simulation. Enfin, la loi de commande développée est validée expérimentalement et ses performances sont comparées aux résultats obtenus par une commande classique par modèle générique « GMC ».

## 5.2 Etat de l'art

Comme dans de nombreux autres domaines, les biotechnologies en général sont propices à l'implantation de stratégies de commande avancées permettant une amélioration sensible des performances. On retrouve ainsi la mise en œuvre des principales stratégies avancées, comme



par exemple des approches s'appuyant sur une démarche de commande adaptative (Bastin et Dochain, 1990 ; Renard et al., 2006 ; Gonzales, 2001 ; Lupu et al., 2002 ; Mailleret et al., 2004), de commande optimale (Smets et al., 2004 ; Banga et al., 1997) et plus récemment de commande prédictive (Ramaswamy et al., 2005 ; Boza-Condorena et al., 2011 ; Santos et al., 2012, Hafidi, 2008).

Dans le cas de la culture de microalgues, plusieurs études récentes se sont focalisées sur l'optimisation des cultures dans un photobioréacteur. Ainsi, un régulateur par modèle générique « GMC » adaptatif a été proposé par Baquerisse (1999) pour la régulation de la biomasse et de la concentration en *CIT*. Berenguel et al. (2004) ont implanté une stratégie de commande prédictive pour la régulation du pH et la diminution des pertes en  $CO_2$  pour une culture, en mode continu, de *Phaeodactylum tricornutum* dans un photobioréacteur tubulaire de type Air-lift. Mailleret et al. (2005) ont proposé une commande non-linéaire par retour de sortie pour la croissance des microorganismes en mode continu. Les performances de cette approche ont été analysées par des essais en simulation dans le cadre de la régulation de la concentration cellulaire de la microalgue verte *Dunaliella tertiolecta*. Meireles et al. (2008) ont proposé un système de commande simple de la concentration en biomasse pour une culture de *Pavlova lutheri* grâce à un dispositif d'incrément de la lumière en fonction de l'évolution de la concentration en biomasse mesurée. Plusieurs stratégies de commande ont été proposées et comparées pour la culture de *Porphyridium purpureum* dans le but de réguler la concentration cellulaire dans (Becerra, 2009). Les commandes testées sont une régulation de type *PID*, une régulation par modèle générique « GMC », une commande linéarisante par retour d'état (Becerra et al., 2008a) et une commande prédictive non-linéaire « CPNL » (Becerra et al., 2008b). La commande GMC et la commande linéarisante par retour d'état ont de plus été implantées et validées expérimentalement sur un photobioréacteur instrumenté.

De même, les performances de la commande prédictive ont été mises en évidence dans le cadre des systèmes de support de vie durant les missions spatiales et plus précisément des systèmes de support de vie bio-régénérative (désignés en anglais sous le terme « bioregenerative life support system » ou « BLSS ») (Hu et al., 2008). A cet effet, une commande prédictive incluant un modèle par réseau de neurones artificiels a été mise en œuvre dans le but de réguler la biomasse vers une valeur de référence pour une culture en mode continu de *Spirulina plantesis*, dans un bioréacteur illuminé en continu, par régulation automatique, robuste et auto-adaptative de l'intensité lumineuse incidente. Les performances de cette stratégie de commande ont été comparées à celles d'un régulateur *PID*.

Buehner et al. (2009) ont proposé une loi de commande basée sur une combinaison d'une action par anticipation et d'une rétroaction pour une culture en mode batch de *Nannochloropsis oculata* dans un photobioréacteur plat vertical. Cette stratégie de commande permet de réguler le pH vers une valeur de consigne à partir de la quantité de  $CO_2$  requise ou apportée. Le principal objectif consiste à optimiser rapidement la croissance de l'algue vers une densité cellulaire maximale.

Enfin, deux stratégies de commande, l'une linéaire avec une régulation de type *PI* et l'autre non-linéaire avec une commande linéarisante par retour d'état, ont été mises en œuvre en simulation pour la culture de *Chalmydomonas reinhardtii* en mode continu dans un photobioréacteur sous forme de tore (Ifrim et al., 2010). Ces deux commandes permettent de réguler la concentration cellulaire vers une valeur de référence en considérant le taux de dilution comme variable de commande.

Globalement, l'élaboration de lois de commande pour l'optimisation des cultures de microalgues dans un photobioréacteur est limitée par la nature fortement non-linéaire et complexe de la dynamique du système. De ce fait, comme en témoigne le nombre important de réalisations expérimentales, les techniques de commande avancées sont des solutions intéressantes, permettant de tenir compte à la fois de la dynamique du système et des incertitudes sur les paramètres identifiés. Les résultats des essais en simulation des travaux de Becerra (2009) ont permis de mettre en évidence les performances intéressantes de la commande prédictive non-linéaire par rapport aux autres stratégies de commande linéaires et non-linéaires pour la régulation de la concentration cellulaire des cultures de *Porphyridium purpureum* dans un photobioréacteur. C'est la raison pour laquelle nous avons repris une des perspectives des travaux de Becerra (2009), à savoir l'élaboration et l'implantation d'une stratégie de commande prédictive non-linéaire, dans le cadre du bioprocédé de *Chlorella vulgaris*, afin de maximiser la consommation du dioxyde de carbone par la microalgue. En effet, cette commande présente des caractéristiques intrinsèques de robustesse fortes, ce qui est un atout dans le contexte de couplage de la commande avec des observateurs.

### 5.3 Commande prédictive

La commande prédictive est une stratégie de commande avancée qui a connu un intérêt croissant ces dernières années dans de nombreux domaines industriels. L'éclosion de cette commande avancée vient d'une part du besoin des industriels de performances élevées des boucles d'asservissement des systèmes non-linéaires complexes, n'étant pas satisfaits par les régulateurs classiques de type PID, et d'autre part du fait que cette loi de commande permet de garantir ces performances élevées en tenant compte des contraintes d'exploitation lors de l'élaboration de la commande. Dans cette partie, nous allons présenter un bref historique de l'évolution de la commande prédictive. Les notions théoriques de base de la commande prédictive sont rappelées et suivies d'une présentation du cadre mathématique dans lequel sera élaborée la stratégie de commande prédictive non-linéaire.

#### 5.3.1 Bref historique de la commande prédictive

L'implantation de la commande prédictive à l'échelle industrielle a connu un intérêt croissant dès la fin des années 70. En effet, la mise en œuvre a été initiée par les travaux pionniers de Richalet et al. (1976, 1978) dans le secteur de la pétrochimie avec le développement du logiciel *IDCOM* (identification-commande) pour la commande prédictive dite heuristique *MPHC* « *Model Predictive Heuristic Control* ». Les ingénieurs de Shell, Cutler et Ramaker, ont appliqué, en 1980, une variante de cette loi de commande désignée sous le nom de commande matricielle dynamique « *Dynamix Matrix Control* » (*DMC*), également, dans le domaine de la pétrochimie. Cette première génération de commande prédictive repose sur un modèle de type boîte noire et ne tient pas compte des contraintes lors de l'élaboration de la commande. De Keyser et Van Cauwenberghe (1979) ont développé la commande auto-adaptative étendue « *Extended Prediction Self Adaptive Control* » (*EPSAC*), qui permet d'appliquer les notions du prédictif sur des modèles sous forme de représentation entrée-sortie.

Au début des années 80, une deuxième génération d'algorithmes de commande prédictive ont été développés, induisant la résolution d'un problème d'optimisation quadratique, en prenant de plus en compte des contraintes sur les entrées et les sorties « *Quadratic Dynamic Matrix Control* » (*QDMC*) (Cutler et al., 1980). Ydstie (1984) a développé une commande prédictive à horizon étendu « *Extended Horizon Adaptive Control* » (*EHAC*), permettant d'optimiser la sortie future vers celle de la consigne pour un horizon temporel plus grand que

le retard présent dans le procédé. Finalement, le milieu des années 80 marque véritablement le début de l'ère prédictive telle que nous la connaissons actuellement, avec la Commande Prédictive Généralisée « *Generalized Predictive Control* » (GPC) initiée par Clarke et son équipe (1987) et la Commande Prédictive Fonctionnelle « *Predictive Functional Control* » développée par Richalet et al. (1987)

Enfin ce n'est qu'à partir des années 90 qu'une réelle explosion du nombre d'applications utilisant la commande prédictive a été enregistrée. La commande prédictive a été utilisée avec succès dans différentes applications industrielles, notamment dans le domaine des processus chimiques (De Keyser, 1988 ; Camacho et Bordons, 1998), dans le domaine de la robotique (Essen et Nijmeijer, 2001 ; Ginhoux, 2003) et plus récemment dans le domaine des bioprocédés (Costa et al., 2001 ; Dowd et al., 2001 ; Foss et al., 1995 ; Preub et al., 2003 ; Campello et al., 2003 ; Ramaswamy et al., 2005). De nos jours, au-delà des stratégies linéaires sans contrainte devenues « classiques », la démarche est plus orientée vers la mise en œuvre de structures non-linéaires, tenant compte de contraintes, et impliquant la résolution en temps réel d'un problème d'optimisation (Camacho et al., 2004 ; Maciejowski, 2002).

### 5.3.2 Principe de la commande prédictive

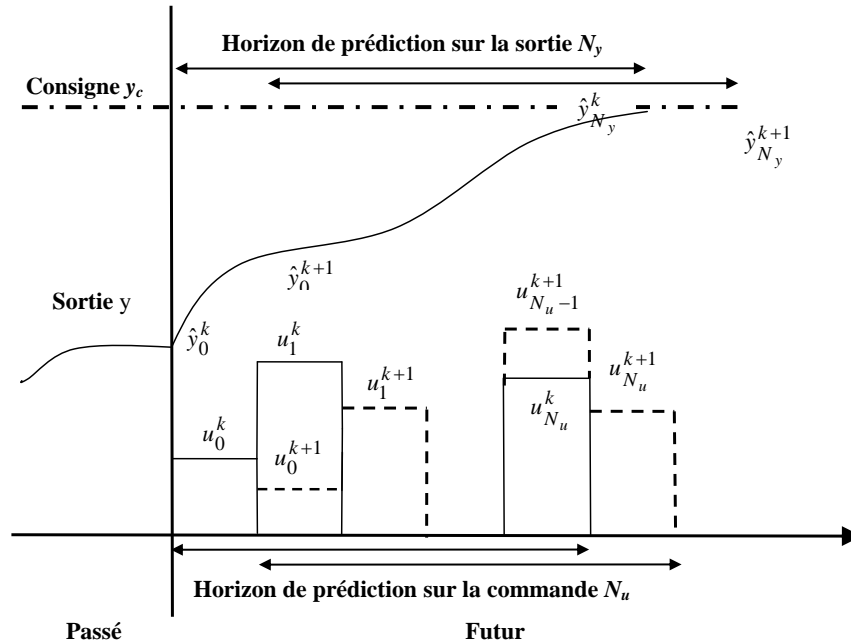
Comme indiqué précédemment, la commande prédictive représente actuellement l'une des approches modernes de commande avancées parmi les plus utilisées dans le monde industriel (Qin et Badgwell, 2003). Sa formulation intègre des concepts issus de la commande optimale, de la commande stochastique, de la commande par modèle interne et de la commande multivariable (Tlili, 2008). Le principe de cette approche, désignée également sous le terme de « commande à horizon glissant ou fuyant », repose sur la notion fondamentale de prédiction. Il s'agit de créer un effet anticipatif par prédiction du comportement futur du système et sur la base de la résolution d'un problème d'optimisation, au sens d'une fonction de coût, tout en respectant les contraintes opératoires du procédé. Il est donc nécessaire pour pouvoir anticiper de connaître explicitement la trajectoire à suivre (éventuellement les perturbations mesurables (Migliore, 2004)), planifiée à l'avance au moins sur un horizon fini donné, et de disposer d'un modèle numérique du système pour la prédiction de ce comportement. Ainsi, la commande prédictive appartient à la grande famille des commandes à base de modèle « *Model Based Control* ». Les performances de cette loi de commande sont dès lors relativement dépendantes de la précision et de la complexité du modèle implanté dans l'algorithme pour la prédiction du comportement futur du système (Huang et Kadali, 2008 ; Magni et al., 2009). Néanmoins la commande prédictive présente un certain nombre d'avantages par rapport aux autres lois de commande. On peut citer une capacité de régulation d'une grande variété de procédés présentant des dynamiques simples ou complexes (systèmes à retard, à oscillations fortes, à déphasage non minimal ou instables, multivariables, non-linéaires, ...).

Cette loi de commande est régie on l'a vu par un concept d'anticipation intuitif et s'apparente fortement au comportement naturel issu de la vie quotidienne (Boucher et Dumur, 1996). Ainsi, la commande prédictive « *Model Predictive Control* » (MPC) repose sur la démarche suivante (Rossiter, 2003) :

1. utilisation d'un modèle numérique du système afin de prédire, à chaque instant les sorties futures du système sur un certain horizon  $N_y$ , appelé horizon de prédiction ;
2. minimisation d'une fonction de coût sur un horizon fini pour la détermination en boucle ouverte de la commande « optimale » à appliquer sur un horizon de

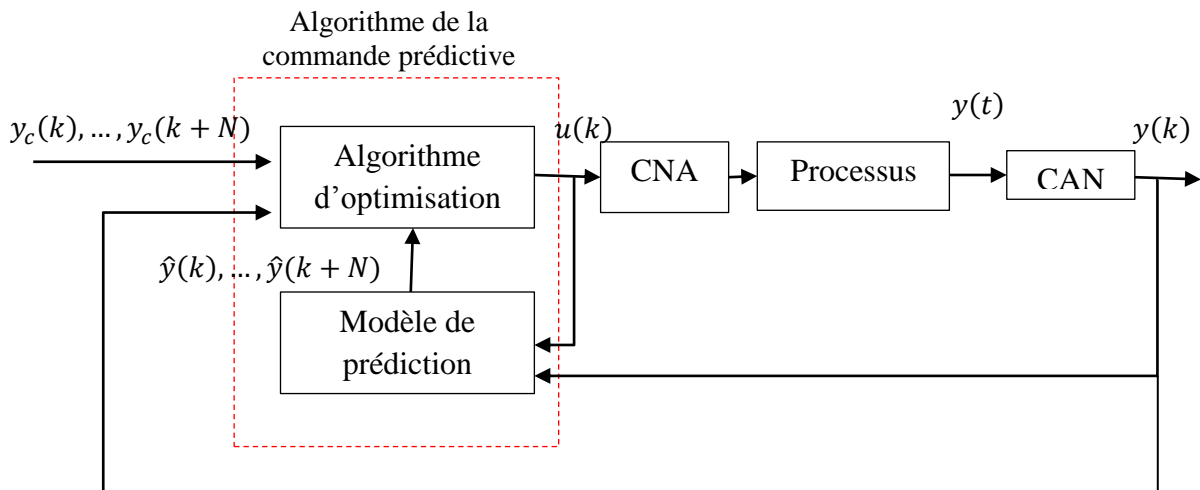
commande  $N_u$ , respectant les contraintes de fonctionnement. Cette phase d'optimisation doit faire coïncider la sortie du processus avec la trajectoire à suivre ;

3. utilisation de la stratégie de l'horizon fuyant (cf. figure 5.1) : à partir de la séquence de commandes futures déterminées à l'étape précédente  $u_{0..N_u}^k$ , seule  $u_0^k$  la première valeur de cette séquence est appliquée au système, et toute la procédure est répétée à la période d'échantillonnage suivante.



**Figure 5.1 :** Stratégie de l'horizon fuyant (avec  $u_{0..N_u}^k$  commandes futures et  $\hat{y}_{0..N_y}^k$  sorties prédites à l'instant  $k$ )

Le principe général de la commande prédictive est récapitulé figure 5.2.



**Figure 5.2 :** Schéma bloc simplifié de la commande prédictive

A ce stade, il convient de distinguer les stratégies de commande prédictives linéaires des structures de commande prédictives non-linéaires. Dans le cas linéaire invariant et en l'absence de contraintes de fonctionnement, la loi de commande prédictive ne nécessite pas d'étape de résolution effective d'un problème d'optimisation en ligne. Ceci est dû au fait que

le correcteur est à son tour linéaire, déduit de façon analytique et explicite hors-ligne (Boucher et Dumur, 1996 ; Flila, 2010). En revanche, la résolution du problème d'optimisation issue de la minimisation du critère prédictif devient plus complexe dans le cas d'un système linéaire ou non-linéaire avec prise en compte de contraintes (de type « inégalité », représentant des limitations du système). En effet, la minimisation du critère nécessite dès lors la résolution d'un problème d'optimisation en temps réel (Camacho et al., 2004), à l'aide d'algorithmes susceptibles de présenter un temps de calcul assez important. Cette stratégie non-linéaire est détaillée plus spécifiquement lors du paragraphe suivant.

### 5.3.3 Commande prédictive non-linéaire

Du fait des limitations de la commande prédictive linéaire vis-à-vis des procédés ayant une dynamique fortement non-linéaire, soumis à des contraintes et/ou régis par un changement fréquent de régimes de fonctionnement, l'application de la commande prédictive non-linéaire est à privilégier. Cette approche non-linéaire peut être considérée comme une commande optimale, dont l'objectif de poursuite repose sur la résolution d'un problème d'optimisation non-linéaire (Henson, 1998 ; Tatjweski, 2007). Cette non-linéarité est issue, principalement, du modèle non-linéaire de prédiction (Long et al., 2006), mais également des contraintes, ce qui rend très difficile la détermination de l'optimum global (Cannon, 2004 ; Magni et al., 2009). La mise en œuvre de la stratégie de commande prédictive non-linéaire dépend principalement du type de modèle utilisé (Findeisen et al., 2007) et de l'algorithme d'optimisation appliqué pour le calcul de la séquence de commande optimale (Cannon, 2004). L'utilisation d'un modèle non-linéaire permet d'optimiser la précision de la prédiction et, par conséquent, d'améliorer les performances du système en boucle fermée (Idiri, 2011). En contrepartie, une prédiction non-linéaire des sorties implique nécessairement un modèle complexe et, par conséquent, un temps de calcul plus important (Idiri, 2011). Ainsi, un compromis doit être effectué entre précision du modèle et complexité de calcul.

Le second aspect concerne le type d'algorithme d'optimisation utilisé et le temps de calcul. Le temps de calcul dépend de l'algorithme d'optimisation implanté pour la minimisation en ligne de la fonction de coût. L'algorithme adopté doit assurer la convergence et la faisabilité de l'optimisation, afin de garantir la stabilité en boucle fermée (Mayne et al., 2000) ; sachant que le calcul de la séquence de commandes futures, à chaque instant d'échantillonnage, doit être effectué en un temps inférieur à la période d'échantillonnage (Cannon, 2004 ; Magni et al., 2009). A ce sujet, Magni et al. (2009) proposent une synthèse des différentes approches utilisées dans le cadre de la mise en œuvre de la commande prédictive non-linéaire. La formulation du problème d'optimisation utilisé par la suite est détaillée ci-dessous.

#### 5.3.3.1 Définition du critère

Le système considéré est représenté par un modèle discret non-linéaire défini par la représentation d'état suivante :

$$\begin{cases} x_{k+1} = f(x_k, u_k) \\ y_k = h(x_k, u_k) \end{cases} \quad (5.1)$$

avec :

- ✓  $x$  : état du système ;
- ✓  $u$  : variable de commande ;
- ✓  $f$  et  $h$  : fonctions non-linéaires ;
- ✓  $y$  : la sortie du système.

où l'indice  $k$  représente la valeur de la variable à l'instant  $kT_e$ ,  $T_e$  période d'échantillonnage. Ce modèle sera utilisé pour prédire le comportement du système.

L'élaboration de la stratégie de commande prédictive non-linéaire est associée à la minimisation sur un horizon fini d'une fonction de coût incluant deux termes quadratiques : le premier est lié aux erreurs futures entre la sortie prédite et la consigne, et le deuxième correspond aux valeurs futures de la commande. A chaque instant d'échantillonnage  $k$  et connaissant l'état de référence  $x_{ref}$ , la fonction de coût utilisée pour le calcul de la séquence de commande optimale est donnée sous forme très générale par la relation suivante :

$$\mathbb{J}(\tilde{u}) = x_N^T P_W x_N + \sum_{i=0}^{N-1} \left( (x_{ref_{k+i}} - x_{k+i})^T Q_W (x_{ref_{k+i}} - x_{k+i}) + u_{k+i}^T R_W u_{k+i} \right) \quad (5.2)$$

avec :

- ✓  $N = N_y$  : horizon de prédiction ;
- ✓  $\tilde{u}$  : vecteur des séquences des commandes futures à appliquer ;
- ✓  $P_w$  : matrice de pondération sur l'état final, semi-définie positive ;
- ✓  $Q_w$  : matrice de pondération de l'état, semi-définie positive ;
- ✓  $R_w$  : matrice de pondération de la commande, définie positive.

Le terme portant sur l'état final est parfois ajouté de façon à améliorer la stabilité de la loi de commande. Concernant les contraintes prises en compte, elles caractérisent, généralement, les limitations physiques sur la commande, sur l'état ou sur la sortie du système (Idiri, 2011). Ces contraintes sont introduites lors de la synthèse du correcteur, afin d'éviter tout changement brusque sur la commande. De manière générale, les contraintes sont définies sur l'horizon de prédiction par des inégalités de la forme :

$$u_{min} \leq u_k \leq u_{max} \quad (5.3)$$

où  $u_{min}$  et  $u_{max}$  représentent des vecteurs pouvant être constants. Ce type de contrainte définit la plage de variations des commandes. On ferait de même pour des contraintes sur l'état ou la sortie. Le vecteur d'optimisation  $\tilde{u}$  du profil de commande est défini par :

$$\tilde{u} = \{u_{k/k}, \dots, u_{k+N-1/k}\} \quad (5.4)$$

### 5.3.3.2 Formulation du problème d'optimisation

La commande prédictive consiste à minimiser le critère (5.2), tout en tenant compte des contraintes ((5.3) par exemple). Son principe général est donné par la figure 5.3.

La démarche de résolution du problème d'optimisation peut être formalisée par les étapes suivantes à un instant d'échantillonnage  $k$  (Hafidi, 2008) :

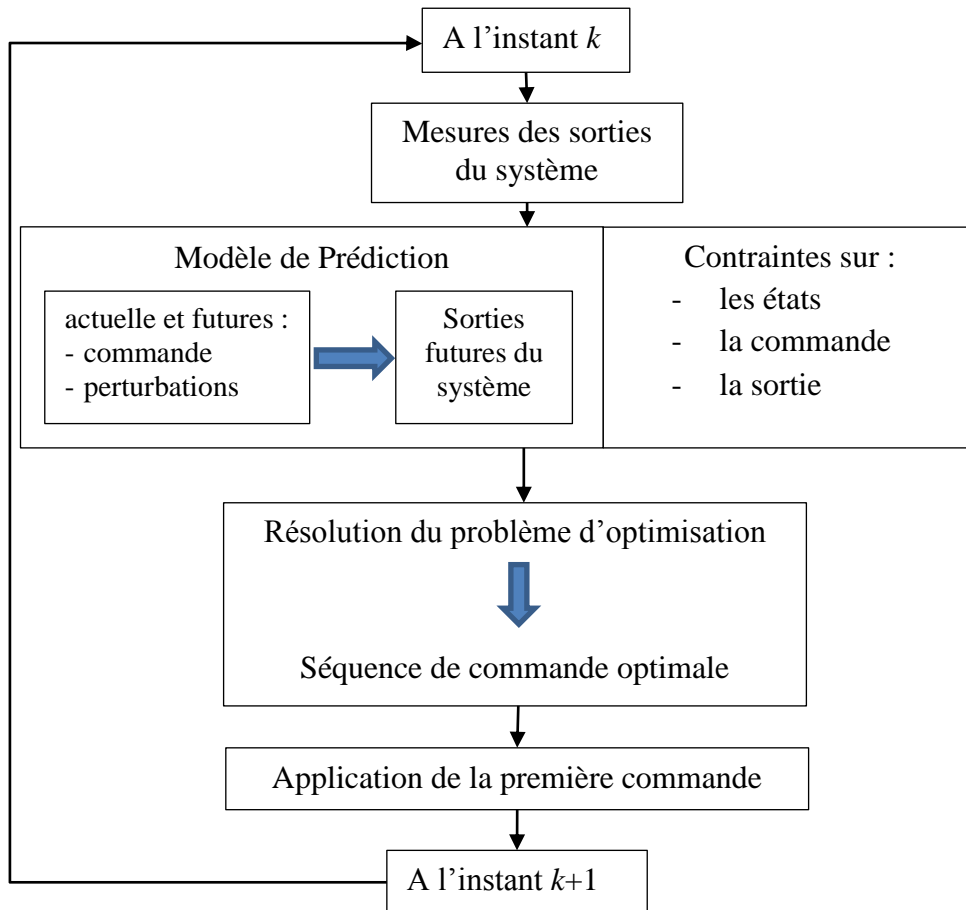
1. Calcul de la séquence optimale  $\chi = \{x_{k+1}, \dots, x_{k+N}, u_k, \dots, u_{k+N-1}\}$  minimisant la fonction de coût  $\mathbb{J}(\tilde{u})$ , en tenant compte des contraintes de fonctionnement :

$$\chi_{opt} = \arg \min_{\chi} \mathbb{J}(\tilde{u})$$

$$\text{s. c. : } \left\{ \begin{array}{l} \text{sur le modèle : } x_{k+1} = f(x_k, u_k) \text{ avec } x_0 \text{ état initial connu} \\ \text{sur les états : } p_{min} \leq P \hat{x}_k \leq p_{max} \\ \text{sur la commande : } r_{min} \leq R u_k \leq r_{max} \\ \text{terminales éventuelles : } p_T \leq P_T x_N \\ x_k \geq 0 \quad \forall k \in \mathbb{N} \end{array} \right. \quad (5.5)$$

avec :  $P$ ,  $P_T$  et  $R$  sont des matrices constantes,  $p$ ,  $r$  et  $p_T$  sont des vecteurs regroupant les valeurs limites à respecter au niveau des contraintes.

2. solution de la résolution du problème d'optimisation : séquence de commande optimale  $\tilde{u} = \{u_{k/k}, \dots, u_{k+N-1/k}\}$  ;
3. implantation de la première commande  $u_k = u_{k/k}$  au système ;
4. réitération selon la stratégie de l'horizon fuyant à l'instant d'échantillonnage suivant  $t_{k+1}$ .



**Figure 5.3 :** Schéma de mise en œuvre de la commande prédictive non-linéaire

Dans la section suivante, cette démarche d'optimisation, formulée jusqu'ici de façon très générale, est appliquée dans le cadre de la synthèse spécifique d'une loi de commande prédictive non-linéaire pour la culture de microalgues dans le photobioréacteur.

#### 5.4 Application au système étudié

Cette section s'intéresse à l'élaboration d'une commande prédictive non-linéaire pour la culture de *Chlorella vulgaris* dans un photobioréacteur. Une première étape consiste à définir les objectifs visés pour la loi de commande. La structure de la commande prédictive non-linéaire sera par la suite présentée à travers la définition du critère de performance et la résolution du problème d'optimisation en utilisant l'approche *CVP* « *Control Vector Parametrization* ».

### 5.4.1 Objectif de commande

Comme indiqué dans le premier chapitre, le principal objectif de cette thèse est d'optimiser la fixation du  $CO_2$  par les microalgues. Au cours de la mise en œuvre de la commande prédictive non-linéaire, nous avons opté pour une stratégie d'optimisation de la productivité au sein du réacteur, ce qui revient à maximiser le produit taux de dilution par concentration de biomasse à l'instant final, soit :

$$\{D, X^*(0)\} = \text{Argmax}(X(t_f)D) \quad (5.6)$$

où le taux de dilution est supposé constant, et les conditions opératoires fixées comme précédemment (sur la lumière et pression en  $CO_2$ ).

Puisque le système fonctionne en mode continu, il atteint toujours un point d'équilibre ( $X_{eq}, [CIT]_{eq}$ ), qui dépend du taux de dilution  $F_{eq}/V$ . La résolution de ce problème d'optimisation a permis d'identifier qu'il n'existe qu'un point unique de fonctionnement pour lequel la productivité des microalgues est maximisée. Ce point de fonctionnement correspond à la valeur d'équilibre ( $X_{eq}, [CIT]_{eq}, F_{eq}$ ) pour lequel la concentration en  $CO_2$  dissous est égale à la concentration de saturation  $[CO_2]^*$ . En conséquence, la maximisation de la productivité au sein du photobioréacteur peut être assurée par la régulation de la concentration de biomasse à cette valeur d'équilibre choisie. Sous les conditions opératoires considérées au cours de notre étude (en terme d'intensité lumineuse, de pH, de pression partielle en  $CO_2$ ), la solution optimale est donnée par  $X_{eq}$  de 6 milliards de cellules par litre et  $F_{eq}$  de  $0,7 \text{ L.h}^{-1}$ , ce qui correspond à une productivité de  $R_X = 0,21 \text{ g.L}^{-1}.\text{j}^{-1}$ . Cependant, afin d'éviter tout risque de lessivage de la culture, nous avons préféré considérer une valeur d'équilibre plus importante dans le but de tester la stratégie mise en place. En effet, afin de réduire la durée des essais expérimentaux, nous avons effectué des échelons descendants en consigne de concentration de biomasse. Etant donnée la valeur faible de la concentration de biomasse consigne, le risque de lessivage de la culture était important. Ainsi, nous avons considéré une valeur de référence de 20 milliards de cellules par litre pour la biomasse, et la loi de commande devra réguler la concentration réelle de biomasse à cette valeur de consigne, en présence d'incertitudes sur le modèle et en rejetant les perturbations.

Nous imposons par ailleurs au débit d'alimentation, la variable de commande, de suivre un profil d'alimentation de référence noté  $F_{ref}$ , défini par la relation suivante :

$$F_{ref} = \mu V \quad (5.6)$$

Cette dernière relation est issue de la dynamique d'évolution de la biomasse (3.2), en considérant l'état stationnaire atteint, ce qui implique que la vitesse de croissance des microalgues est égale au taux de dilution imposé à la culture ( $\mu = D$ ).

### 5.4.2 Formulation mathématique de la commande prédictive non-linéaire

La mise en œuvre de la commande prédictive non-linéaire se base sur une prédiction du comportement futur du système biologique à partir d'un modèle dynamique. Le modèle de prédiction considéré est régi par les équations (3.2) et (3.5) citées au chapitre III. Pour rappel, la dynamique d'évolution de la biomasse et du  $CIT$  est définie par les expressions suivantes :



$$\begin{cases} \frac{dX}{dt} = \mu X - \frac{F}{V} X \\ \frac{d[CIT]}{dt} = -\frac{\mu X}{Y_{X/CIT}} - \frac{F}{V} [CIT] + k_L a ([CO_2]^* - [CO_2]) \end{cases}$$

avec  $[CO_2] = \frac{[CIT]}{1+K_1/[H^+]+K_1K_2/[H^+]^2}$  et  $[H^+] = e^{-pH}$ .

L'implantation de la stratégie de commande prédictive non-linéaire nécessite l'utilisation d'un modèle de prédiction discret, lequel est obtenu par discrétisation de la représentation d'état à une période d'échantillonnage notée  $T_e$  (en utilisant la technique d'Euler par exemple). Le modèle de prédiction est ainsi défini par la représentation d'état suivante :

$$\begin{cases} x_{k+1} = f_d(x_k, F_k) \\ X_k = Hx_k \end{cases} \quad (5.7)$$

avec :

- ✓  $x = [X \ CIT]^T$  : vecteur des variables d'état du système ;
- ✓  $f_d$  : fonction non-linéaire incluant (3.2) et (3.5) ;
- ✓  $H = [1 \ 0]$  : matrice d'observation de la représentation d'état ;
- ✓  $F$  : variable de commande.

#### 5.4.2.1 Définition du critère et formulation du problème d'optimisation

L'objectif de la loi de commande est de réguler la concentration cellulaire  $X$  à une valeur de consigne connue  $X_{ref}$ , pour laquelle la commande d'équilibre associé est  $F_{ref}$  (donnée par (5.6)). Nous avons opté pour une structure de fonction de coût similaire à celle appliquée par Hafidi (2008), lors de l'implantation de la commande prédictive non-linéaire pour la culture des *E. coli* avec une structure quadratique qui ne tient pas compte ni de coût terminal, ni des contraintes terminales, définie par l'expression suivante :

$$\mathbb{J}(U) = \sum_{j=1}^{N_y} (X_{ref_{k+j}} - \tilde{X}_{k+j})^2 + \lambda \sum_{j=1}^{N_u} (F_{ref_{k+j-1}} - F_{k+j-1})^2 \quad (5.8)$$

avec :

- ✓  $\tilde{X}$  : prédiction de la biomasse par le modèle discret (5.7) ;
- ✓  $\lambda$  : facteur de pondération sur la commande ;
- ✓  $U$  : vecteur des variables d'optimisation,  $U = \{\tilde{X}_{k+1}, \dots, \tilde{X}_{k+N}, F_k, \dots, F_{k+N-1}\}$  ;
- ✓  $N_y$  : horizon de prédiction sur la sortie ;
- ✓  $N_u$  : horizon de prédiction sur la commande avec  $N_u = N_y = N$ .

Le problème d'optimisation repose donc sur la minimisation de la fonction coût, précédemment définie en (5.8), à chaque pas d'échantillonnage sous les contraintes de fonctionnement (contrainte sur la commande, contrainte sur les états, etc.). Il se traduit par la relation suivante :

$$\begin{aligned} & \text{Min}_U \left[ \sum_{j=1}^N (X_{ref_{k+j}} - \tilde{X}_{k+j})^2 + \lambda \sum_{j=1}^N (F_{ref_{k+j-1}} - F_{k+j-1})^2 \right] \\ & \text{sous les contraintes : } \begin{cases} \tilde{X}_{k+1} = H f_d(\tilde{x}_k, F_k) \\ \vdots \\ \tilde{X}_{k+N} = H f_d(\tilde{x}_{k+N-1}, F_{k+N-1}) \\ F_k \geq 0 \forall k \in \mathbb{N} \\ \tilde{x}_k \geq 0 \forall k \in \mathbb{N} \end{cases} \quad (5.9) \\ & U = \{\tilde{X}_{k+1}, \dots, \tilde{X}_{k+N}, F_k, \dots, F_{k+N-1}\} \end{aligned}$$

avec :

- ✓  $\tilde{X}$  : concentration de biomasse prédite par le modèle discret (5.7) ;
- ✓  $X_{ref}$  : valeur de référence de la concentration de biomasse ;
- ✓  $U$  : vecteur des variables à optimiser.

La mise en œuvre de la loi de commande à partir du problème d'optimisation, précédemment défini (5.9), ne fait pas intervenir d'action intégrale permettant de compenser les éventuelles désadaptations entre le modèle mathématique et le système réel. Concernant les procédés biologiques en particulier, il est nécessaire de tenir compte de ces erreurs, du fait des incertitudes présentes durant la phase de modélisation et d'identification du système biologique. La prise en compte des erreurs induites par le modèle est assurée à partir d'une modification de la structure du problème d'optimisation par l'introduction d'un signal de mesure, qui permet de tenir compte de l'écart entre la prédiction du modèle et la sortie du système, selon une démarche similaire à celle de l'approche *DMC* « *Dynamic Matrix Control* » (Cutler et Ramaker, 1980), appelée « *Différence Objet-Modèle* » (*D.O.M*) (Richalet et al., 1987).

La prise en compte de l'erreur, notée  $\varepsilon_{s/m}$ , entre la sortie du système  $X$  et celle du modèle, notée  $X_{mod}$ , est traduite par la relation suivante :

$$\tilde{X}_{k+j} = X_{mod_{k+j}} + \underbrace{(X_k - X_{mod_k})}_{\varepsilon_{s/m(k)}}, \quad j = \overline{1, N} \quad (5.10)$$

où  $\tilde{X}$  et  $X_{mod}$  représentent respectivement la sortie prédite du système et celle prédite par le modèle discret.

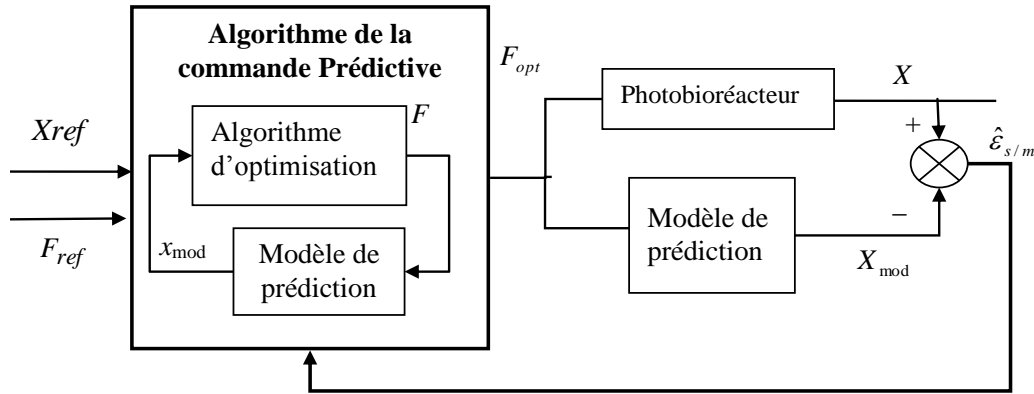
Le problème d'optimisation peut donc être reformulé par l'expression suivante :

$$\begin{aligned} & \text{Min}_U \left[ \sum_{j=1}^N (X_{ref_{k+j}} - \tilde{X}_{k+j})^2 + \lambda \sum_{j=1}^N (F_{ref_{k+j-1}} - F_{k+j-1})^2 \right] \\ & \text{sous les contraintes : } \begin{cases} X_{mod_{k+1}} = H \cdot f_d(x_{mod_k}, F_k) \\ \vdots \\ X_{mod_{k+N}} = H \cdot f_d(x_{mod_{k+N-1}}, F_{k+N-1}) \\ F_k \geq 0 \forall k \in \mathbb{N} \\ x_k \geq 0 \forall k \in \mathbb{N} \end{cases} \quad (5.11) \\ & U = \{\tilde{X}_{k+1}, \dots, \tilde{X}_{k+N}, F_k, \dots, F_{k+N-1}\} \end{aligned}$$

Le problème d'optimisation permet de calculer, à chaque période d'échantillonnage, la séquence de commande optimale notée  $U_{opt} = \{\tilde{X}_{opt_{k+1}}, \dots, \tilde{X}_{opt_{k+N}}, F_{opt_k}, \dots, F_{opt_{k+N-1}}\}$ .

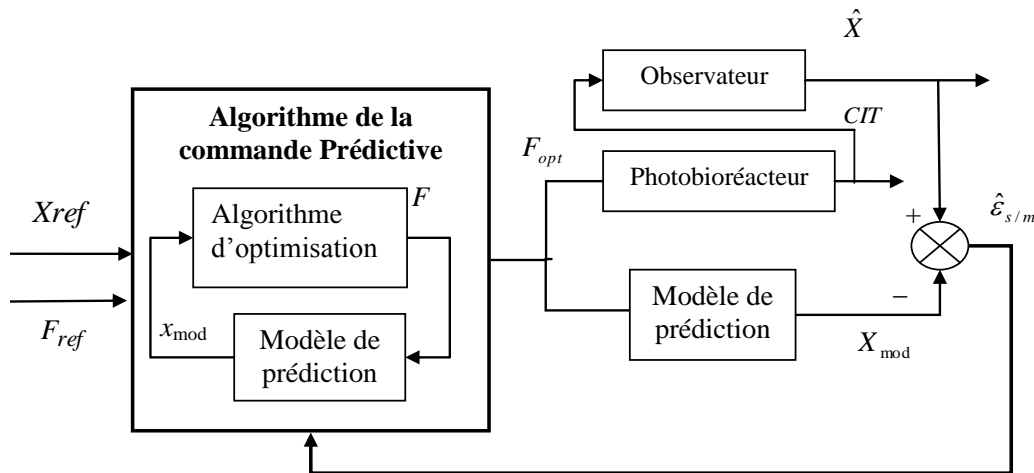
A l'instant  $k$ , seule la première séquence de commande optimale  $F_{opt_k}$  est appliquée au bioprocédé. L'étape suivante consiste à répéter la même démarche d'optimisation à la période d'échantillonnage suivante, selon la stratégie de l'horizon fuyant.

La structure de la loi de commande prédictive non-linéaire avec prise en compte de l'erreur du modèle est illustrée par la figure 5.4.



**Figure 5.4 :** Schéma de la structure générale de commande prédictive non-linéaire avec prise en compte de l'erreur du modèle  $\varepsilon_{s/m}$

Dans les cas des systèmes biologiques et comme détaillé au chapitre IV, la concentration cellulaire est une variable du système qui n'est pas disponible en temps réel, en raison des diverses limitations des capteurs physiques. Du fait que la connaissance de cette variable est fondamentale dans la phase de prédiction de la loi de commande prédictive retenue, la concentration en biomasse sera estimée à partir des mesures du *CIT*. La structure de la commande prédictive non-linéaire doit de ce fait inclure, implicitement ou explicitement, un observateur de la concentration de biomasse dans la boucle de régulation. La concentration de biomasse estimée par l'observateur est exploitée par la commande prédictive non-linéaire, essentiellement par la prise en compte de l'erreur de modèle via le signal *D.O.M.* La structure de la commande prédictive non-linéaire couplée à un observateur est donnée figure 5.5.



**Figure 5.5 :** Schéma de la structure générale de commande prédictive non-linéaire couplée à un observateur

#### 5.4.2.2 Résolution du problème d'optimisation par approche CVP

La résolution d'un problème d'optimisation revient à localiser l'optimum global de la fonction coût en présence ou en absence des contraintes de fonctionnement. Dans la pratique, les processus sont sujets à des contraintes qui doivent nécessairement être prises en compte dans la résolution du problème d'optimisation, afin d'aboutir à des lois de commande admissibles et de performances satisfaisantes. En tenant compte des contraintes, la résolution d'un problème d'optimisation non-linéaire est une tâche très délicate, d'autant plus que les algorithmes de résolution devront converger vers une solution optimale en un temps plus faible que la période d'échantillonnage.

Dans le cas du problème d'optimisation (5.11), deux difficultés majeures sont à noter. La première est relative à la discrétisation du système pour aboutir à la forme discrète du modèle de prédiction (5.7). Il est préférable de choisir une faible période d'échantillonnage afin d'assurer la pertinence du modèle de prédiction discret par rapport au modèle continu. Cependant, les bioprocédés étant caractérisés par des dynamiques lentes et les temps de réponse du système étant importants (de l'ordre de plusieurs heures), on aboutit à des horizons de prédiction très importants et à une augmentation du nombre de variables de décision du problème d'optimisation (Hafidi, 2008). La seconde difficulté est engendrée par la présence des contraintes non-linéaires qui induisent une complexité au niveau de la résolution du problème d'optimisation et, par conséquent, conduisent à un temps de calcul plus important de la boucle de régulation en temps réel.

En conséquence, pour contourner ces difficultés, la résolution a été assurée à l'aide d'une approche de type CVP « *Control Vector Parameterization* » développée dans les travaux de Ray (1981) et Vassiliadis (1993), et appliquée dans les procédés chimiques et biologiques (Schlegel et Marquardt, 2006 ; Balsa-Canto et al., 2006).

Cette approche d'optimisation consiste à paramétrer explicitement les variables à optimiser, en fonction d'un nombre limité de paramètres et selon une période d'échantillonnage adaptée au critère prédictif (Hadiyanto et al., 2007). Les variables d'état dans le modèle de processus restent dès lors sous la forme d'équations différentielles continues (Goh et Teo, 1988) et il n'est plus nécessaire de discrétiser le modèle continu. Les paramètres discrétisés sont les variables de décision lors de l'optimisation et le profil de séquence de commande est approché par une fonction constante ou linéaire par morceaux. Les variables d'états prédites sont obtenues par intégration numérique des équations différentielles et le critère est optimisé sur un nombre fini d'itérations (Hadiyanto et al., 2007). De même, cette approche permet d'appliquer une période d'échantillonnage plus élevée au critère prédictif par rapport à une discrétisation classique (Hafidi, 2008). Le principe de l'approche CVP est illustré par la figure 5.6.

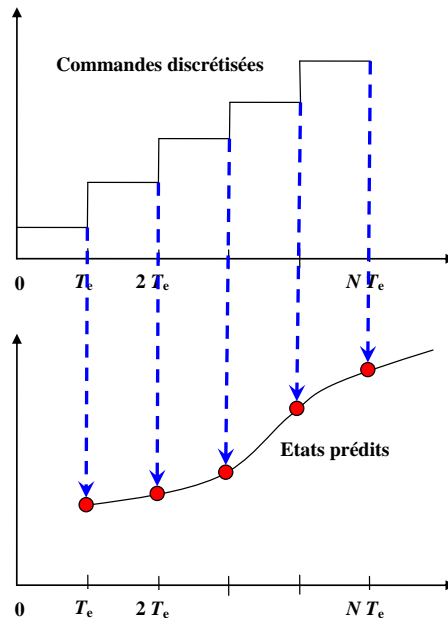


Figure 5.6 : Principe de l'approche CVP (Hafidi, 2008)

A partir de cette approche d'optimisation, le problème d'optimisation, précédemment défini par (5.11), est ainsi transformé en un problème de programmation non-linéaire suivant la relation suivante :

$$\begin{aligned} \text{Min}_{U'} \left[ \sum_{j=1}^N (X_{ref_{k+j}} - \tilde{X}_{k+j})^2 + \lambda \sum_{j=1}^N (F_{ref_{k+j-1}} - F_{k+j-1})^2 \right] \\ \text{sous les contraintes : } F_k \geq 0 \forall k \in \mathbb{N} \\ U' = \{F_k, \dots, F_{k+N-1}\} \end{aligned} \quad (5.12)$$

On constate, avec cette nouvelle formulation, la disparition des contraintes relatives au modèle et aux états. Cette approche *CVP* a permis d'aboutir à une structure plus facile à résoudre, avec une prise en compte implicite des contraintes liées au modèle et aux états au niveau de la prédiction des sorties du système. Une simplification supplémentaire consiste à se défaire des contraintes relatives à la commande, en procédant à un changement de variable sur la commande  $F$ , selon la relation suivante :

$$F = \exp(v) \quad (5.13)$$

On aboutit, ainsi, à un problème de minimisation d'un critère quadratique non contraint défini par :

$$\begin{aligned} \text{Min}_{U''} \left[ \sum_{j=1}^N (X_{ref_{k+j}} - \tilde{X}_{k+j})^2 + \lambda \sum_{j=1}^N (F_{ref_{k+j-1}} - \exp(v_{k+j-1}))^2 \right] \\ U'' = \{v_k, \dots, v_{k+N-1}\} \end{aligned} \quad (5.14)$$

L'ensemble des procédures entreprises pour l'implantation de la stratégie de commande proposée est récapitulé figure 5.7. La stratégie de commande développée est implantée dans l'environnement Matlab<sup>TM</sup>. La détermination de la séquence optimale a été réalisée grâce à la méthode de *Gauss-Newton* (Fletcher, 1991) étant donné que le problème à optimiser est un problème de moindres carrés non-linéaires. Une approche de type Euler est utilisée pour intégrer la trajectoire du système. Dans ce cas, le pas d'échantillonnage est choisi plus rapide que la période d'échantillonnage des mesures, similairement à ce qui a été fait au chapitre IV lors de la mise en œuvre des estimateurs.

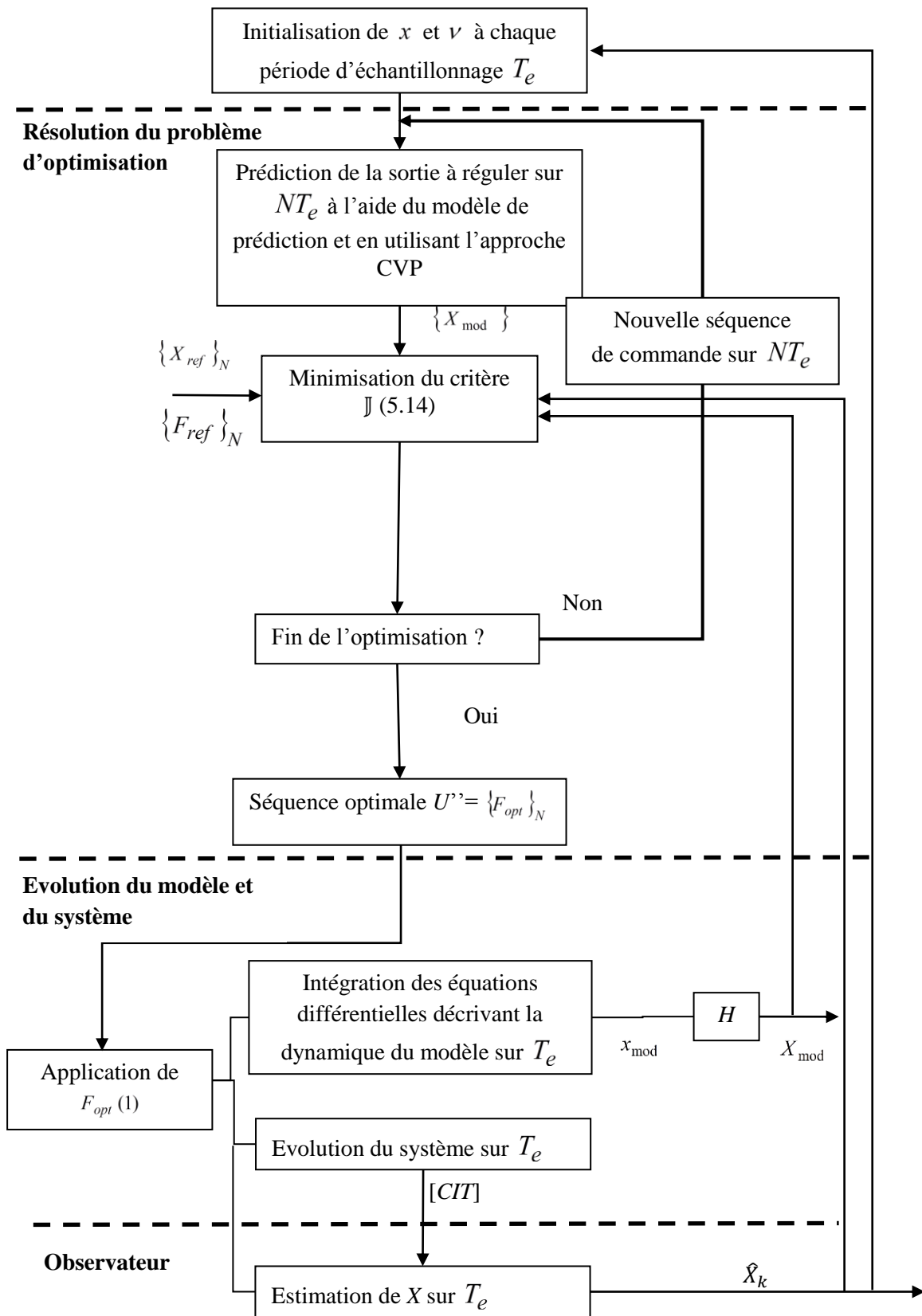


Figure 5.7 : Démarche de mise en œuvre de la loi de commande prédictive non-linéaire

## 5.5 Performances en simulation

Pour rappel, l'objectif de la commande consiste à réguler la concentration cellulaire à une valeur de référence, en forçant le débit d'alimentation  $F$  à suivre un profil de référence. Les conditions de simulations considérées durant ces essais sont récapitulées dans le tableau 5.1

**Tableau 5.1 :** Conditions de simulation de la commande prédictive non-linéaire

Paramètres	Valeur	Unité
$I_{in}$	90	$\mu E. m^{-2}. s^{-1}$
$P_{CO_2}$	0,05	atm
pH	6,5	sans dimension
$V$	9,6	L
$A_r$	0,31	$m^2$
$Y_{X/CIT}$	1212	$10^9 \text{ cell. mol}^{-1}$
$k_{La}$	1,4	$h^{-1}$
$\mu_{max}$	1,07	$h^{-1}$
$K_E$	0,08	$\mu E. s^{-1}. 10^9 \text{ cell}^{-1}$
$K_{CL}$	3,8	$mmol. 10^9 \text{ cell}^{-1}$
$H$	29,41	$atm. L. mol^{-1}$
$X_0$	19	$10^9 \text{ cell.L}^{-1}$
$[CIT]_0$	2	$mmol.L^{-1}$

Les temps d'échantillonnage sont de  $T_e' = 0,5 \text{ min}$  pour la dynamique et  $T_e = 5 \text{ min}$  pour les mesures. La concentration en  $CIT$  est exprimée en  $mmol.L^{-1}$  et la concentration de biomasse en  $10^9 \text{ cell.L}^{-1}$ . Le débit d'alimentation est supposé saturé à la valeur  $F_{max} = 2 \text{ L.h}^{-1}$  (valeur seuil de la pompe péristaltique Watson Marlow utilisée au niveau du banc d'essai). Le temps de simulation est de 20 h.

### 5.5.1 Simulation du cas nominal

A partir d'essais de simulation, analysons tout d'abord les performances de la stratégie de commande proposée dans une configuration « nominale », c'est-à-dire en l'absence d'incertitudes sur le modèle. De ce fait, le terme D.O.M défini par (5.10) n'intervient pas, puisqu'il est nul. La concentration de biomasse est supposée disponible, pour ne pas faire intervenir les estimateurs. On considère le profil suivant pour la consigne de biomasse :

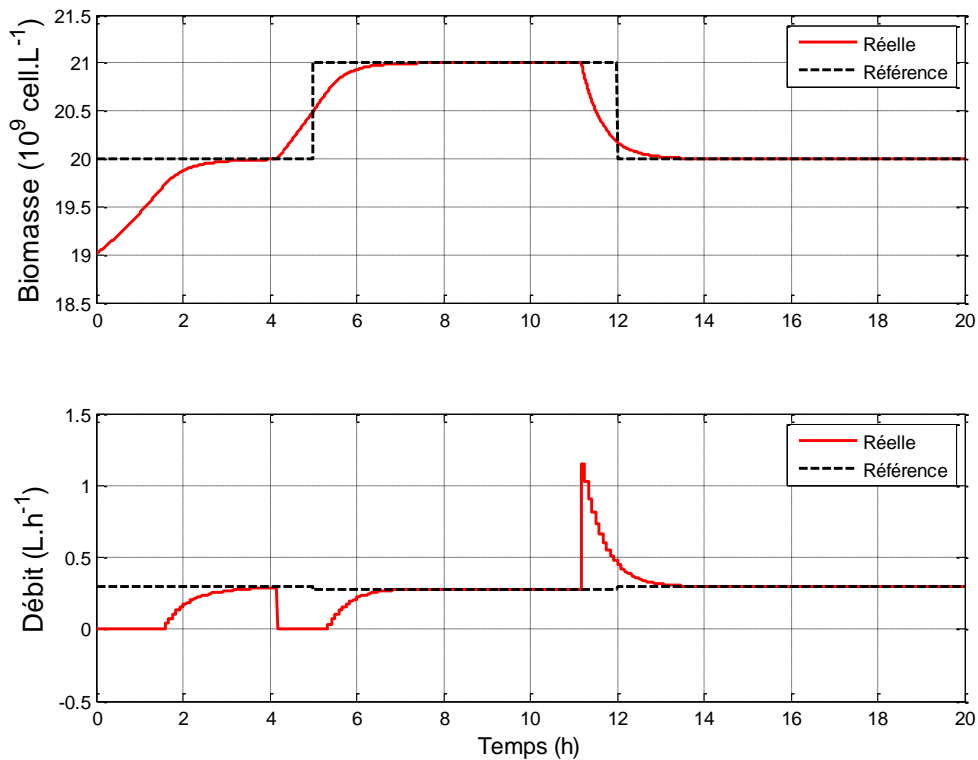
$$X_{ref} = \begin{cases} 20 \cdot 10^9 \text{ cell.L}^{-1} & \text{si } 0 \leq t \leq 5h \\ 21 \cdot 10^9 \text{ cell.L}^{-1} & \text{si } 5h \leq t \leq 12h \\ 20 \cdot 10^9 \text{ cell.L}^{-1} & \text{si } 12h \leq t \end{cases}$$

Dans un premier temps, on choisit les paramètres de la commande prédictive comme suit : un horizon de prédiction  $N = 10$ , un coefficient de pondération  $\lambda = 1$ . Le choix définitif de ces paramètres sera effectué par la suite.

Les résultats obtenus sont donnés par la figure 5.8. On peut noter la stabilité et la bonne performance de la loi de commande développée. En effet, la concentration de biomasse rejoint bien sa valeur référence, avec un temps de réponse de l'ordre de 4 h en montée et de 3 h pour une descente. Cette différence en temps de réponse s'explique par le fait que lorsque la consigne est un échelon ascendant, la commande impose un débit nul, induisant donc un

temps de réponse plus long. En effet, pour augmenter la concentration de biomasse, la commande place le système en mode batch (i.e.  $F=0 \text{ L.h}^{-1}$ ) jusqu'à ce que la concentration arrive naturellement à la valeur consigne. A ce moment, la commande impose un débit non nul pour maintenir la concentration de biomasse à cette valeur souhaitée. A l'inverse, dans le cas d'un échelon descendant, la commande augmente le débit pour diluer la concentration de biomasse, jusqu'à ce que sa concentration atteigne la valeur consigne, puis la commande maintient le débit à la valeur d'équilibre (i.e. pour laquelle  $\mu = D$ ) pour maintenir la concentration de biomasse à sa valeur de consigne.

On peut noter l'effet anticipatif de la commande puisque la commande varie avant l'occurrence d'un changement de consigne. Ce résultat est cohérent avec le principe de l'horizon fuyant, puisque l'algorithme d'optimisation prend en compte les valeurs futures de la consigne et calcule en conséquence les commandes à appliquer dans l'immédiat, en prévision de ce changement de consigne. Par ailleurs, la réponse de la concentration de biomasse ne présente pas de dépassement ni d'erreur statique. Le débit possède des variations lisses, et rejoint à l'équilibre la valeur  $F_{ref}$ , correspondant à la valeur permettant d'obtenir la concentration de biomasse consigne souhaitée.



**Figure 5.8 :** Analyse des performances de la commande prédictive non-linéaire en suivi de consigne (cas nominal).

Dans un deuxième temps, la performance de la commande est testée en présence de perturbations, pour une consigne de concentration de biomasse constante égale à  $20 \cdot 10^9 \text{ cell.L}^{-1}$ . Trois types de perturbations ont été testés :

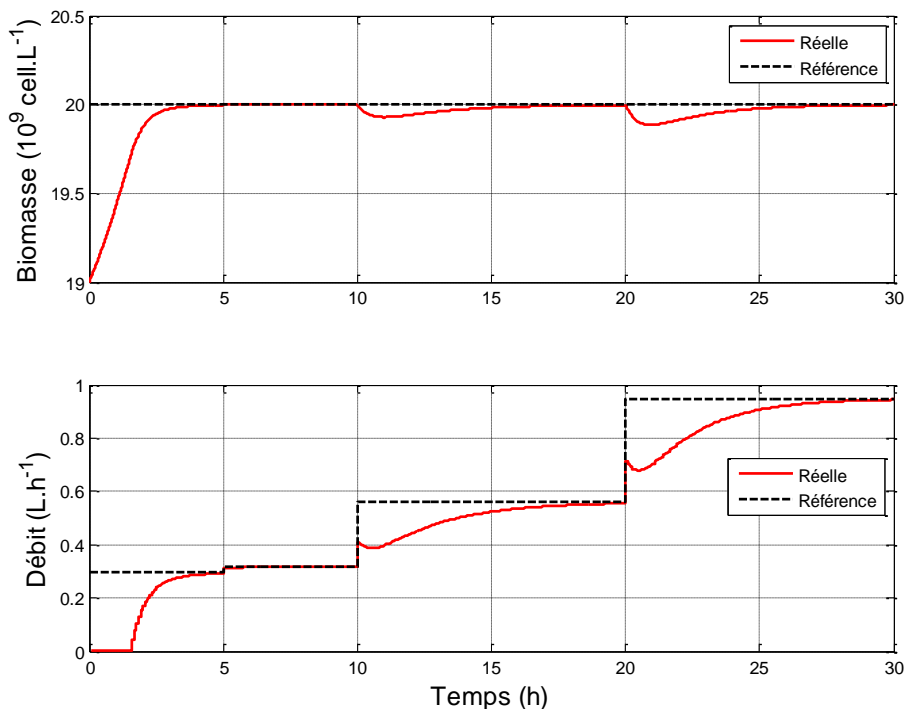
- Passage de l'intensité lumineuse  $I_{in}$  de 90 à 100  $\mu\text{E. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  à  $t = 5\text{h}$ .
- Passage du pH de 6,5 à 7 à  $t = 10\text{h}$ .
- Passage de la pression partielle en  $\text{CO}_2$  de 0,05 atm à 0,1 atm à  $t = 20\text{h}$ .



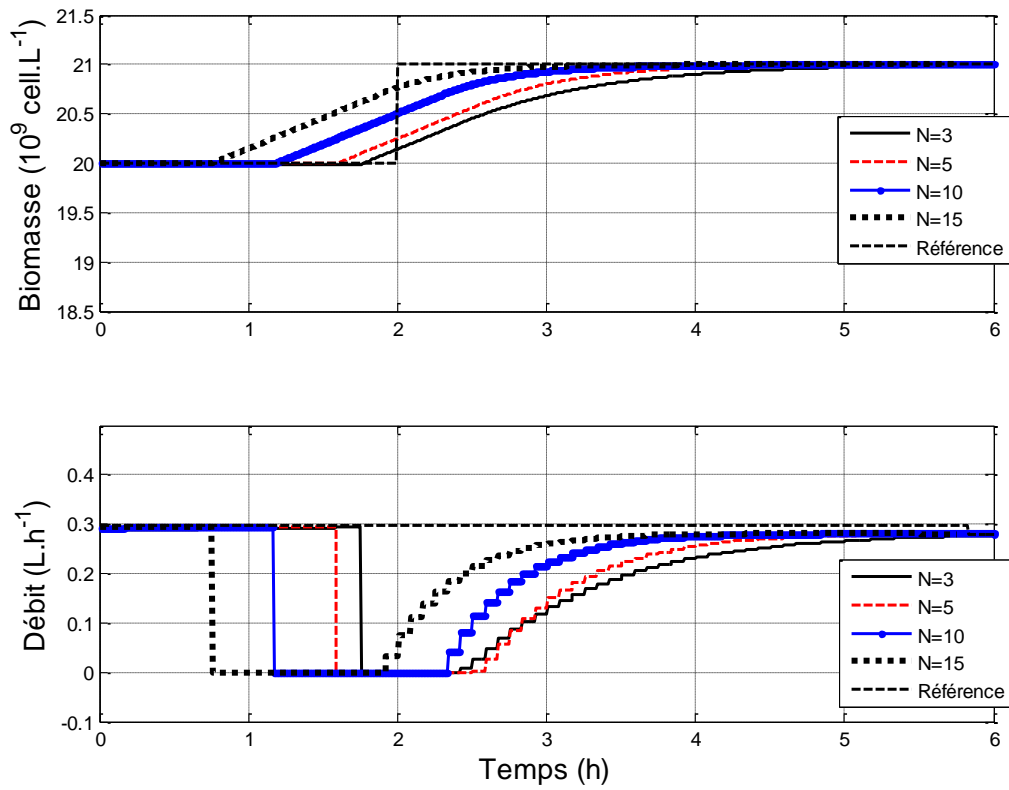
Les résultats obtenus sont donnés figure 5.9. La commande prédictive parvient à rejeter ces perturbations avec des temps de rejet de l'ordre de 5h. On peut noter que l'effet de la variation de l'intensité lumineuse n'est pas très significatif en comparaison au pH et à la pression partielle en  $CO_2$ . La commande rejoint approximativement sa valeur de référence, calculée à partir du modèle. On peut remarquer que la commande a tendance à augmenter le débit et donc à diluer la culture pour maintenir la concentration de biomasse constante.

Ainsi, la commande prédictive non-linéaire présente de bonnes propriétés de suivi de consigne et de rejet de perturbation.

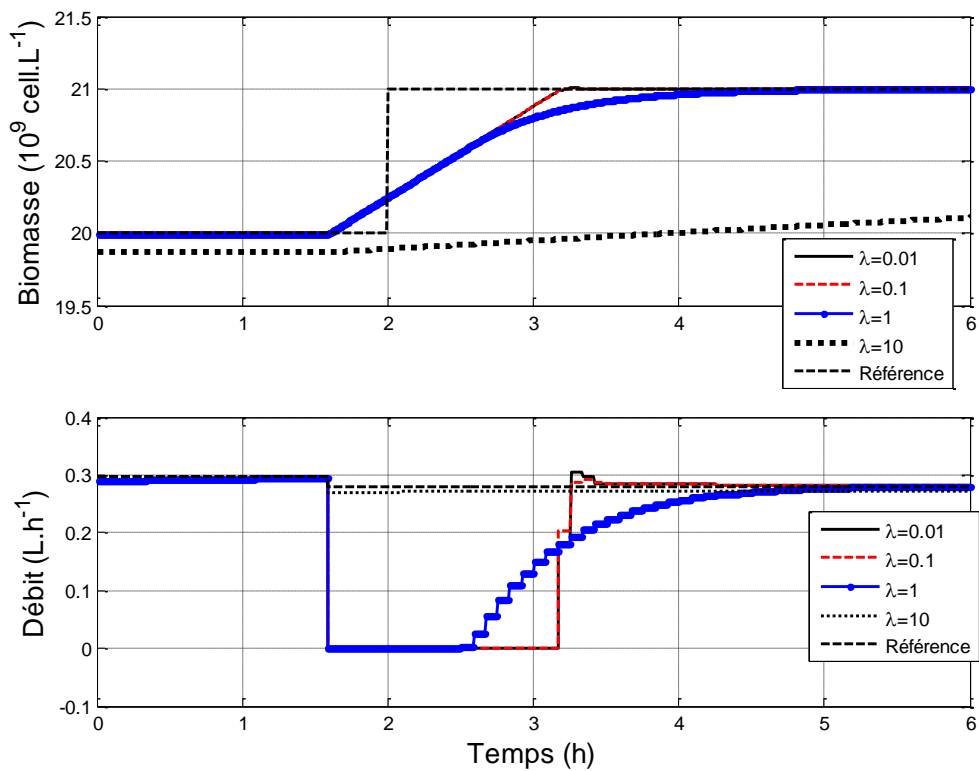
Les résultats présentés précédemment ont été réalisés pour des paramètres  $(\lambda, N) = (1, 10)$ . Dans ce qui suit, l'effet de ces paramètres sur les performances de la commande est étudié, pour pouvoir choisir des ordres de grandeurs « optimaux » à ces grandeurs. Les figures 5.10 et 5.11 donnent les réponses du système commandé pour une consigne en échelon de concentration de biomasse de  $20 \cdot 10^9 \text{ cell.L}^{-1}$  à  $21 \cdot 10^9 \text{ cell.L}^{-1}$  à  $t = 2 \text{ h}$ . Pour une pondération  $\lambda = 1$ , l'influence de l'horizon de prédiction sur la réponse du système est donnée par la figure 5.10. Plus l'horizon de prédiction est grand, plus la commande anticipe la variation de la consigne, et donc meilleure est la réponse du système. Cependant, la taille de la fenêtre de prédiction correspond également à la taille du problème d'optimisation à résoudre. Cette optimisation s'effectuant en temps réel, il est préférable de réduire au maximum le temps de calcul pour déterminer la commande à appliquer. Nous avons choisi de garder une valeur de  $N = 5$ , qui semble être le meilleur compromis, dans le cas étudié, entre la qualité de la réponse et le temps de calcul.



**Figure 5.9 :** Analyse des performances de la commande prédictive non-linéaire pour le rejet de perturbation : en  $I_{in}$  à  $t=5h$ , pH à  $t=10h$  et  $P_{CO_2}$  à  $t=20h$  (cas nominal).



**Figure 5.10 :** Analyse des performances de la commande prédictive non-linéaire pour différentes valeurs de  $N$  (cas nominal,  $\lambda = 1$ ).



**Figure 5.11 :** Analyse des performances de la commande prédictive non-linéaire pour différentes valeurs de  $\lambda$  (cas nominal,  $N=5$ ).

L'étude de l'influence de la pondération  $\lambda$  est réalisée dans un deuxième temps, en fixant la taille de l'horizon de prédiction à  $5T_e$  (soit  $N=5$ ). On peut constater à partir des résultats illustrés par la figure 5.11 que, lorsque la pondération est élevée, le suivi de la consigne de concentration de biomasse est de moindre qualité. En effet, la loi de commande privilégie le suivi de la commande de référence au détriment de la qualité du suivi de la concentration de biomasse. A noter que pour  $\lambda = 10$ , il n'y a plus de phase de batch au début, nécessaire à l'augmentation de la concentration de biomasse, d'où la réponse en biomasse éloignée de la valeur consigne. D'autre part, cette détérioration de la performance serait plus accentuée dans le cas d'incertitudes sur le modèle, où le débit de référence est rappelons-le calculé à partir du modèle. Ainsi, si le modèle comporte des erreurs, le débit de référence serait écarté de la vraie valeur, et de ce fait, la trajectoire obtenue serait éloignée de celle souhaitée. Le choix a été fait de considérer une pondération égale à  $\lambda = 0,1$  qui donne le meilleur compromis entre suivi de la consigne de concentration de biomasse et celle en commande. Ainsi, pour la suite de l'étude, les paramètres de la commande prédictive sont fixés à :

$$N = 5, \lambda = 0,1 \quad (5.14)$$

### 5.5.2 Analyse de robustesse

Dans ce qui précède, la loi de commande développée a été validée dans le cas nominal. Ses performances et robustesse sont maintenant testées dans le cas de présence d'incertitudes dans le modèle (prise en compte d'une incertitude de 30 % sur les paramètres du modèle de croissance et de 20% sur les paramètres  $k_{La}$  et  $Y_{X/CIT}$ ). Afin de faciliter l'analyse des résultats, la loi de commande sera testée dans le cas d'un changement de consigne de  $20 \cdot 10^9 \text{ cell. L}^{-1}$  à  $21 \cdot 10^9 \text{ cell. L}^{-1}$  à  $t = 5 \text{ h}$ . Aucune erreur d'initialisation n'est considérée lors des essais de simulation.

Par ailleurs, trois types de structures de la commande sont testés, selon que la concentration de biomasse est mesurée ou estimée :

- une première approche consiste à considérer la structure de commande en supposant que la concentration cellulaire est disponible en temps réel (similairement au cas nominal). Aucune stratégie d'estimation de la concentration de biomasse n'est donc prise en compte. Les deux cas de prise en compte ou non de la D.O.M sont considérés et comparés.
- une deuxième approche considère la stratégie de commande couplée à un filtre de Kalman étendu dont la structure est détaillée au chapitre IV. Pour rappel, ce filtre estime la concentration de biomasse à partir des mesures disponible du *CIT*. Dans ce cas, la D.O.M est incluse dans la loi de commande pour tenir compte des erreurs de modélisation. Les matrices  $P_0$  (matrice de covariance de l'erreur initiale),  $Q$  (matrice de covariance du bruit du processus) et  $R$  (matrice de covariance du bruit de mesure) sont celles qui ont été déterminées lors de la synthèse du filtre (section 4.3.3), pour rappel leurs valeurs sont les suivantes :

$$Q = \begin{bmatrix} 0,1 & 0 \\ 0 & 0,05 \end{bmatrix}; P_0 = \begin{bmatrix} 0,01 & 0 \\ 0 & 0,01 \end{bmatrix}; R = 0,01$$

- une troisième approche consiste à exploiter la stratégie d'estimation par intervalles proposée au chapitre IV, lors de l'implantation de la commande prédictive non-linéaire. Pour rappel, l'observateur par intervalles repose sur l'estimation d'une borne inférieure et supérieure de la biomasse induisant un intervalle qui garantit la trajectoire des valeurs issues du modèle. Au cours de cette étude, nous avons choisi pour valeur de l'estimée de la concentration de biomasse la moyenne de la borne supérieure et

inférieure fournies par l'observateur par intervalles. Notre choix s'explique par la similarité de structure de la dynamique appliquée au niveau de l'estimation des deux bornes de l'observateur (on a considéré la même forme mathématique du modèle de croissance, seuls leurs paramètres changent) et par le fait que l'intervalle d'initialisation sur la biomasse est centré autour de la valeur mesurée. Le réglage des gains de l'observateur est effectué par application d'un filtre de Kalman comme détaillé au chapitre IV (section 4.5.3.3). Les matrices de covariances  $P_0$ ,  $Q$  et  $R$  sont celles déterminés au chapitre IV, pour rappel :

$$Q = \begin{bmatrix} 0,1 & 0 \\ 0 & 10 \end{bmatrix} \quad R = 0,01, \quad P_0 = \begin{bmatrix} 0,01 & 0 \\ 0 & 10 \end{bmatrix}$$

Pour ce qui est des bornes sur les paramètres du modèle, elles ont été choisies égales à 30% pour les paramètres du modèle de croissance ( $\mu_{max}^{\pm}, K_E^{\pm}, K_{CL}^{\pm}$ ) et 20% pour les valeurs de  $k_{LA}$  et de  $Y_{X/CT}$ , par rapport au nominal. L'intervalle initial pour la biomasse est choisi centré à  $\pm 2$  milliards de cellules par litres par rapport à la valeur nominale. Comme dans le cas de la commande non couplée au filtre de Kalman, la D.O.M est prise en compte pour robustifier la loi de commande vis-à-vis des erreurs de modélisation.

La figure 5.12 illustre les performances de la commande prédictive non-linéaire avec et sans prise en compte de la D.O.M. On peut noter que dans le cas où l'on n'utilise pas la stratégie de la D.O.M, il existe une erreur statique dans le suivi de la consigne de la concentration de biomasse. Ceci s'explique par le fait que la commande prédictive utilise un modèle de prédiction différent de la dynamique réelle du système. Ainsi, les commandes optimisées ne peuvent pas annuler l'erreur statique, puisque leur calcul se base sur un modèle erroné. L'ajout de la D.O.M permet de réduire cette erreur statique et d'améliorer donc les performances de la loi de commande. Par ailleurs, le débit calculé par la loi de commande est plus faible que le débit de référence, calculé à partir d'un modèle qui rappelons-le est différent de celui du système réel. En effet, la loi de commande détermine la nouvelle valeur de débit pour stabiliser la concentration en biomasse à la valeur souhaitée, en s'éloignant si besoin de la valeur de référence.

La figure 5.13 donne les résultats obtenus avec les trois approches avec concentration de biomasse : « mesurée » (i.e. sans observateur), estimée par filtre de Kalman et estimée par observateur par intervalles. On peut noter une dégradation de la réponse du système lorsque la concentration de biomasse estimée remplace la vraie concentration. En effet, des oscillations apparaissent par rapport à la réponse sans utilisation d'estimation. L'amplitude de l'oscillation est moindre lors de l'utilisation de l'estimée issue de l'observateur par intervalles. Les mêmes remarques pour la commande, qui présente des oscillations autour de la valeur de référence, de grande amplitude dans le cas d'utilisation d'estimée par le filtre de Kalman.

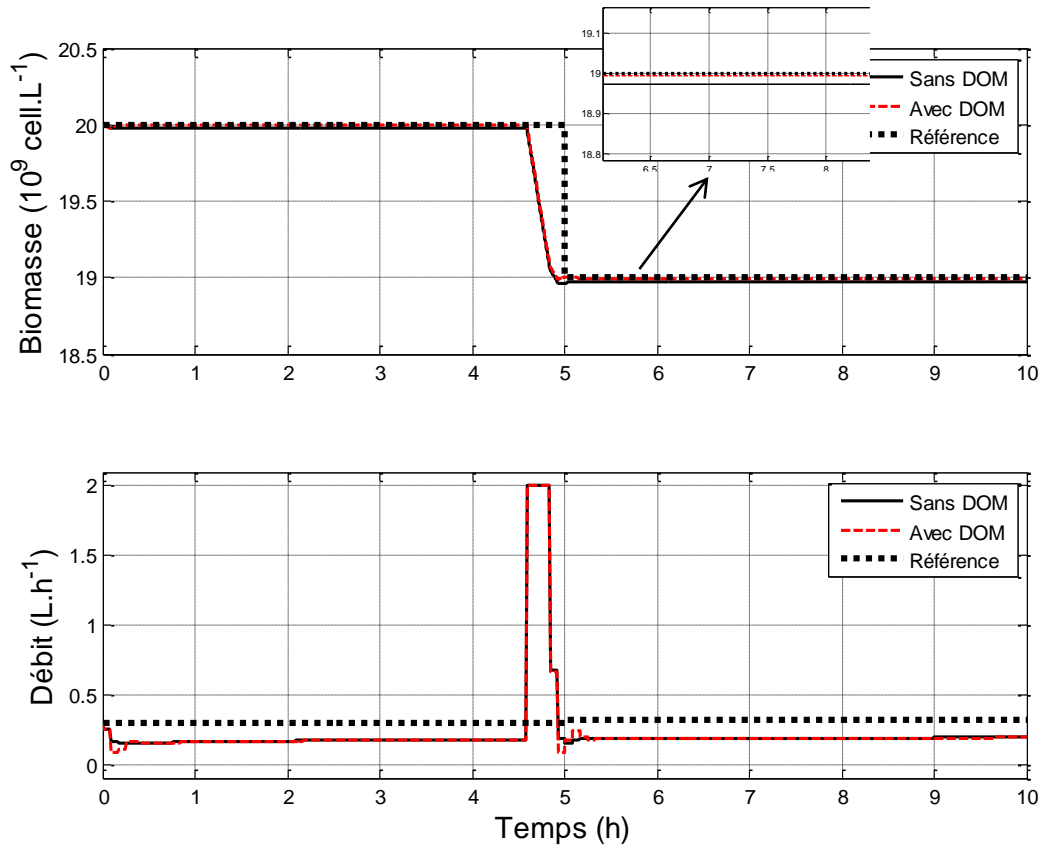


Figure 5.12 : Robustesse de la commande prédictive non-linéaire pour un profil en échelon de la consigne : effet de l'ajout de la D.O.M. (sans utilisation d'estimateurs)

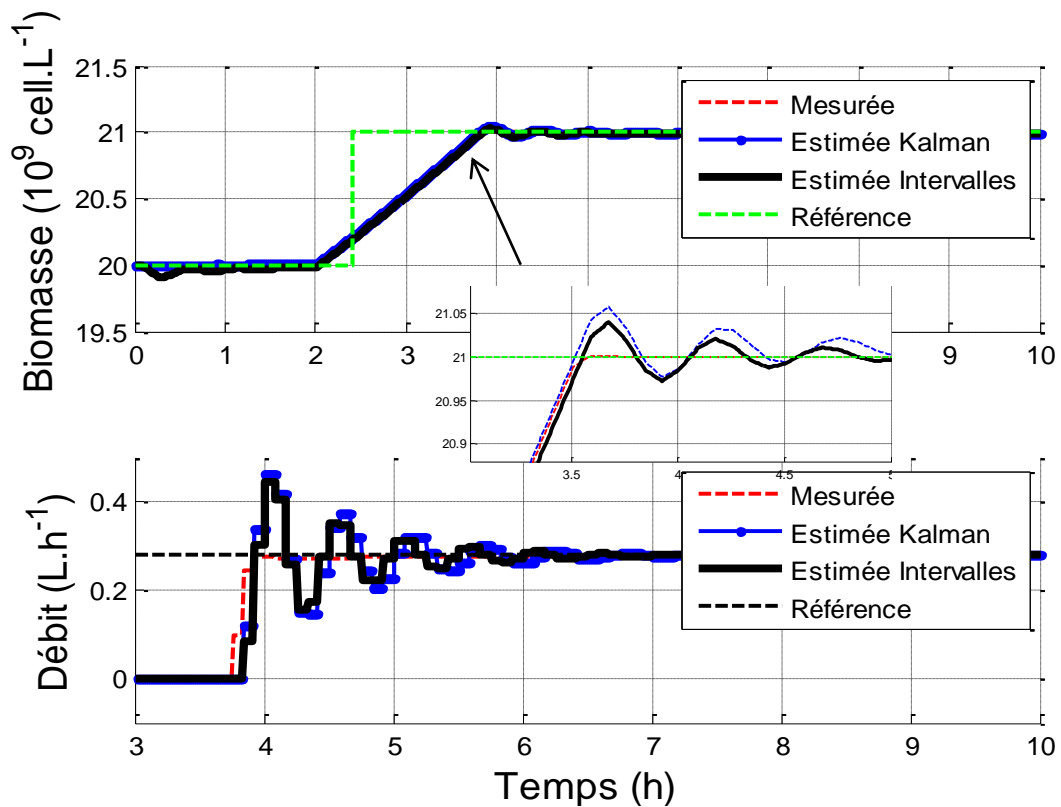
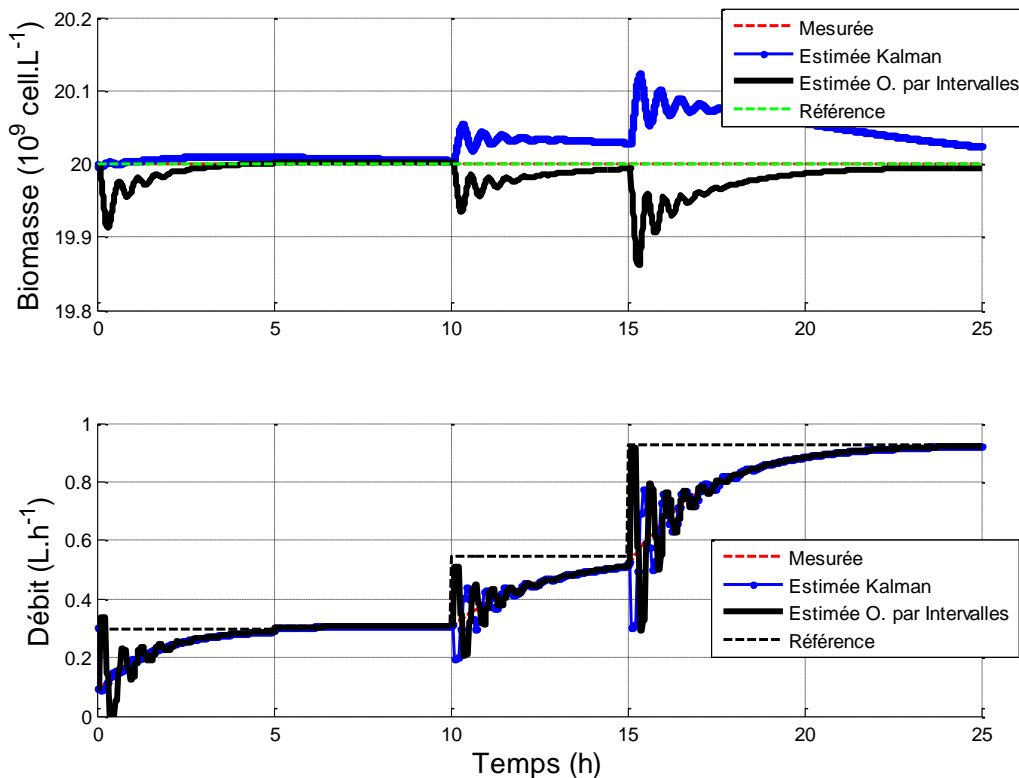


Figure 5.13 : Robustesse de la commande pour un profil en échelon de la consigne, avec utilisation des estimateurs.

Le dernier test de robustesse réalisé consiste à comparer les réponses de la commande pour une référence en concentration de biomasse constante (égale à  $20 \cdot 10^9 \text{ cell. L}^{-1}$ ), en présence de perturbations.

Pour ce faire, nous considérons une perturbation de l'intensité lumineuse  $I_{in}$  qui varie de 90 à  $100 \mu\text{E. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  à  $t = 5\text{h}$ , de pH qui varie de 6,5 à 7 à  $t = 10\text{h}$  et de la pression partielle en  $\text{CO}_2$  qui varie 0,05 atm à 0,1 atm à  $t = 15\text{h}$ . Les résultats obtenus sont résumés par la figure 5.14.



**Figure 5.14 :** Robustesse de la commande pour le rejet de perturbation : en  $I_{in}$  à  $t=5\text{h}$ , pH à  $t=10\text{h}$  et  $P_{\text{CO}_2}$  à  $t=20\text{h}$  (cas désadapté).

On peut noter que l'utilisation d'une estimée de la concentration de biomasse dégrade les performances de la commande en rejet de perturbation. Par ailleurs, l'utilisation de l'estimée issue de l'observateur par intervalles donne de meilleurs résultats qu'avec l'estimée avec un filtre de Kalman. En effet, le temps de rejet est plus rapide lors de l'utilisation de l'estimée par observateur par intervalles. Remarquons qu'au début de la simulation, il existe une erreur sur la concentration de biomasse pour l'estimateur par intervalles, qui s'explique par le fait que l'initialisation de la biomasse est réalisée via un intervalle initial d'appartenance, d'où une erreur qui tend vers une valeur faible en 5h approximativement. Comme dans le cas nominal, on peut noter que le système est plus sensible aux variations du pH et la pression partielle en  $\text{CO}_2$ , qu'à la lumière. Enfin, pour ce qui est de la commande, elle rejoint sa valeur référence, similairement au cas nominal, mais avec quelques oscillations. Globalement, le système présente une bonne robustesse aux perturbations subies.

### 5.5.3 Conclusion

Les essais de simulation nous ont permis de mettre en évidence les performances et la robustesse de la loi de commande prédictive non-linéaire, couplée ou non à une stratégie

d'estimation pour la régulation de la concentration cellulaire à une valeur de référence désirée, en présence de perturbation. Il en ressort que la commande parvient à réguler la concentration de biomasse à sa valeur de référence malgré des erreurs de modélisation, mais avec quelques oscillations lorsqu'une estimée de la concentration de biomasse est utilisée à la place de la vraie valeur. L'estimation par observateur par intervalles semble induire une commande de meilleure qualité (commande et réponse moins oscillantes) que celle donnée par le filtre de Kalman. L'étape suivante consiste à implanter cette stratégie de commande sur le banc d'essai expérimental afin de vérifier ses performances et sa robustesse vis-à-vis des perturbations sur le système réel.

## 5.6 Validation expérimentale de la commande prédictive non-linéaire

L'implantation de la loi de commande proposée, couplée à la stratégie d'estimation (filtre de Kalman ou observateur par intervalles) a été réalisée sous environnement *Matlab*<sup>TM</sup> et *Simulink*<sup>®</sup> sur le banc d'essai expérimental du photobioréacteur de 9,6 litres, dont le protocole est détaillé en Annexe A2. L'objectif de la commande prédictive non-linéaire est de réguler la concentration cellulaire de *Chlorella vulgaris* à une valeur de référence désirée. L'analyse des performances et la robustesse de cette loi de commande sera effectuée via des campagnes expérimentales de cultures en mode continu, dans des conditions optimales de croissance. Afin de respecter l'objectif de commande considéré qui est de maximiser la productivité, tout en évitant tout risque éventuel de lessivage de la culture, la valeur initiale de la biomasse a été choisie aux alentours de 20 milliards de cellules par litres comme lors de l'étude en simulation. Seuls des tests d'échelons descendants ont été considérés, pour réduire la durée de l'expérimentation. En effet, les performances sont évaluées en comparant les concentrations de biomasse estimées à des mesures hors ligne à l'aide de prélèvements. Ces mesures de la concentration de biomasse sont effectuées toutes les 20 minutes pendant la phase transitoire et toutes les 30 minutes pendant la phase stationnaire. Une expérience avec des échelons ascendants implique des durées de culture de plus de 15 h, du fait de la phase de batch en début de la phase ascendante, pour laquelle le système évolue naturellement selon sa dynamique propre. Aussi, l'étude sera restreinte à des consignes en échelon descendant en concentration de biomasse.

Les paramètres de réglage de la commande prédictive et des observateurs sont similaires à ceux présentés lors des tests en simulation. Le temps d'échantillonnage a été fixé à 5 minutes. La valeur maximale de débit est fixée à  $F_{max}=1,5$  L/h.

Afin de quantifier les performances de la commande du point de vue procédé, la productivité est évaluée. Etant donné que le débit d'alimentation est variable, la productivité « cumulée » est alors calculée sur l'ensemble de la culture par la formule :

$$R_{X,c} = \int_0^{t_f} X(t) * D(t) dt$$

où  $t_f$  est le temps final de la culture.

### 5.6.1 Commande couplée avec le filtre de Kalman

On s'intéresse ici à la validation expérimentale de la commande prédictive couplée à un filtre de Kalman. La figure 5.15 présente les résultats obtenus en réponse à un profil de consigne en échelon descendant. Les mesures expérimentales de la biomasse suivent le profil de la consigne et se stabilisent bien vers la valeur finale souhaitée. La loi de commande

implantée présente une réponse rapide vis-à-vis du changement de consigne (temps de réponse de l'ordre de 2 heures) avec un faible dépassement (d'environ 1,2%). La réponse du système ici semble donc posséder de meilleures caractéristiques que lors de l'étude en simulation, sans doute parce que le modèle identifié et utilisé dans le calcul de la commande est proche du système réel. Cependant, on peut noter une légère erreur statique, qui a tendance à augmenter.

La commande anticipe la variation de la consigne en diluant la culture (au début, le débit est égal à sa valeur maximale) afin de diminuer la concentration cellulaire jusqu'à la valeur de consigne finale. En régime permanent, le débit d'alimentation tend vers sa valeur de référence, afin de maintenir la concentration cellulaire à sa valeur de référence. La concentration en *CIT* estimée par le filtre de Kalman suit relativement bien celle mesurée, ce qui est prévisible étant donné que le filtre de Kalman a été conçu en faisant confiance aux mesures disponibles. Le pH diminue légèrement suite à la dilution effectuée par la loi de commande. On peut noter une corrélation entre l'évolution de la concentration en *CIT* et celle du pH, ce qui est cohérent du point de vue biochimique.

On étudie maintenant robustesse de cette loi de commande en présence de perturbations. La figure 5.16 présente les résultats expérimentaux obtenus dans le cas d'une perturbation de lumière sous la forme d'une diminution de l'intensité lumineuse incidente de 90 à 50  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  à l'instant  $t=1,25$  h, pour consigne constante en concentration de biomasse à 23,3 milliards de cellules par litre. A partir de la figure 5.16, on peut vérifier que la loi de commande est robuste vis-à-vis de la perturbation de la lumière. Malgré la variation de l'intensité lumineuse incidente, la commande proposée régule et stabilise la concentration de biomasse à sa valeur de consigne en agissant sur le débit d'alimentation. A partir de cette même figure, on peut également mettre en évidence l'efficacité d'estimation de la concentration de biomasse par le filtre de Kalman, à partir des mesures disponibles du *CIT*.

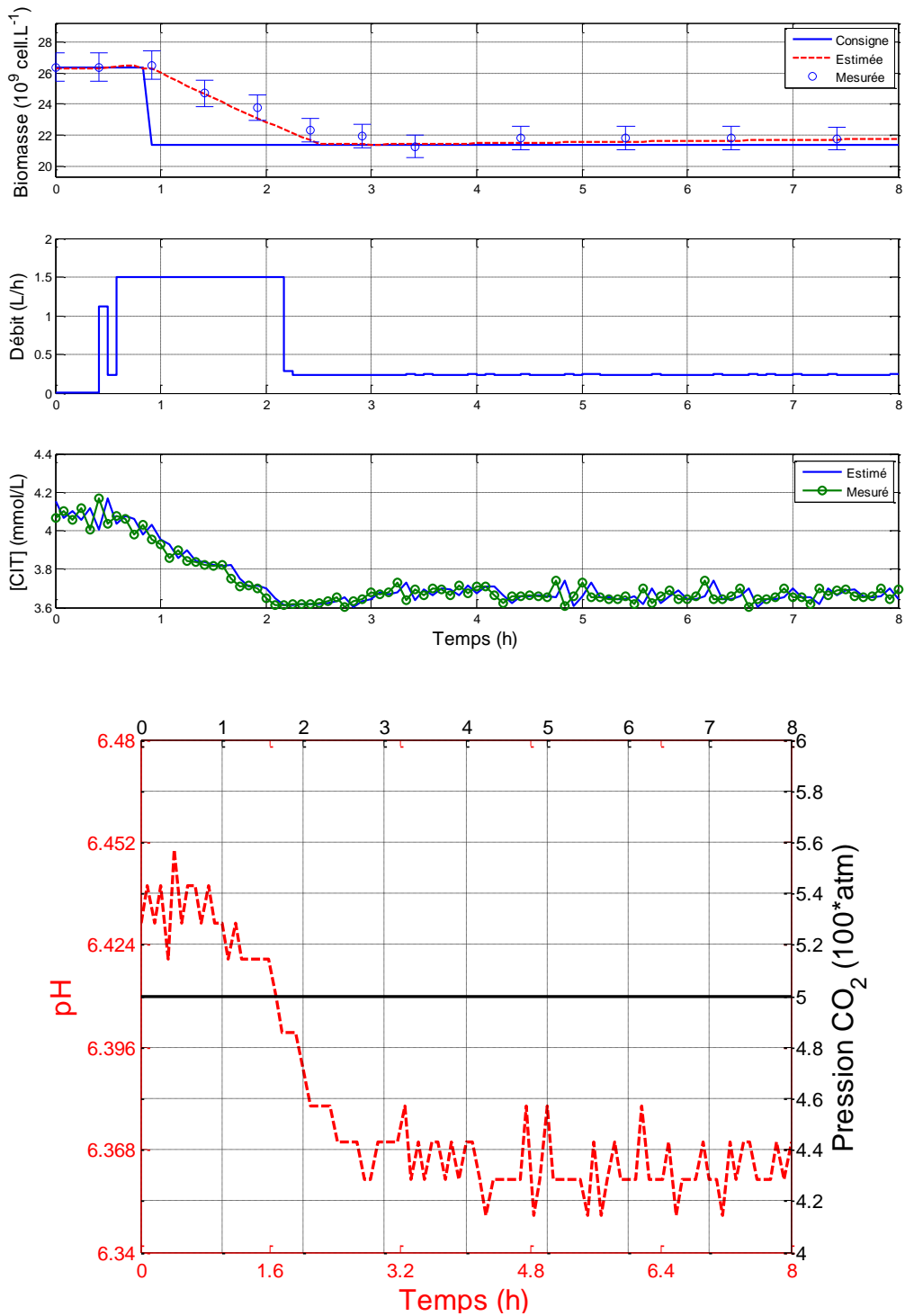
La figure 5.17 illustre la robustesse de la loi de commande implantée en présence de perturbation de pH (variation de 6,25 à 6,05 grâce à un ajout de 13 ml d'acide chlorhydrique à 0,5 N) et de perturbation en pression partielle en  $\text{CO}_2$ , (variation de 0,05 à 0,03 atm). On remarque que la biomasse mesurée reste stable autour de la valeur de référence considérée, et ce malgré ces deux perturbations. La commande dilue la culture pour contrer l'effet de la perturbation, et maintient la concentration de biomasse à la valeur consigne souhaitée. Par ailleurs, la modification de la pression en  $\text{CO}_2$  induit également une modification du pH du fait de l'équilibre chimique entre les espèces carbonés.

Ainsi, la commande prédictive avec utilisation de l'estimation de la concentration de biomasse par filtre de Kalman présente de bonnes performances en suivi de consigne et en rejet de perturbations.

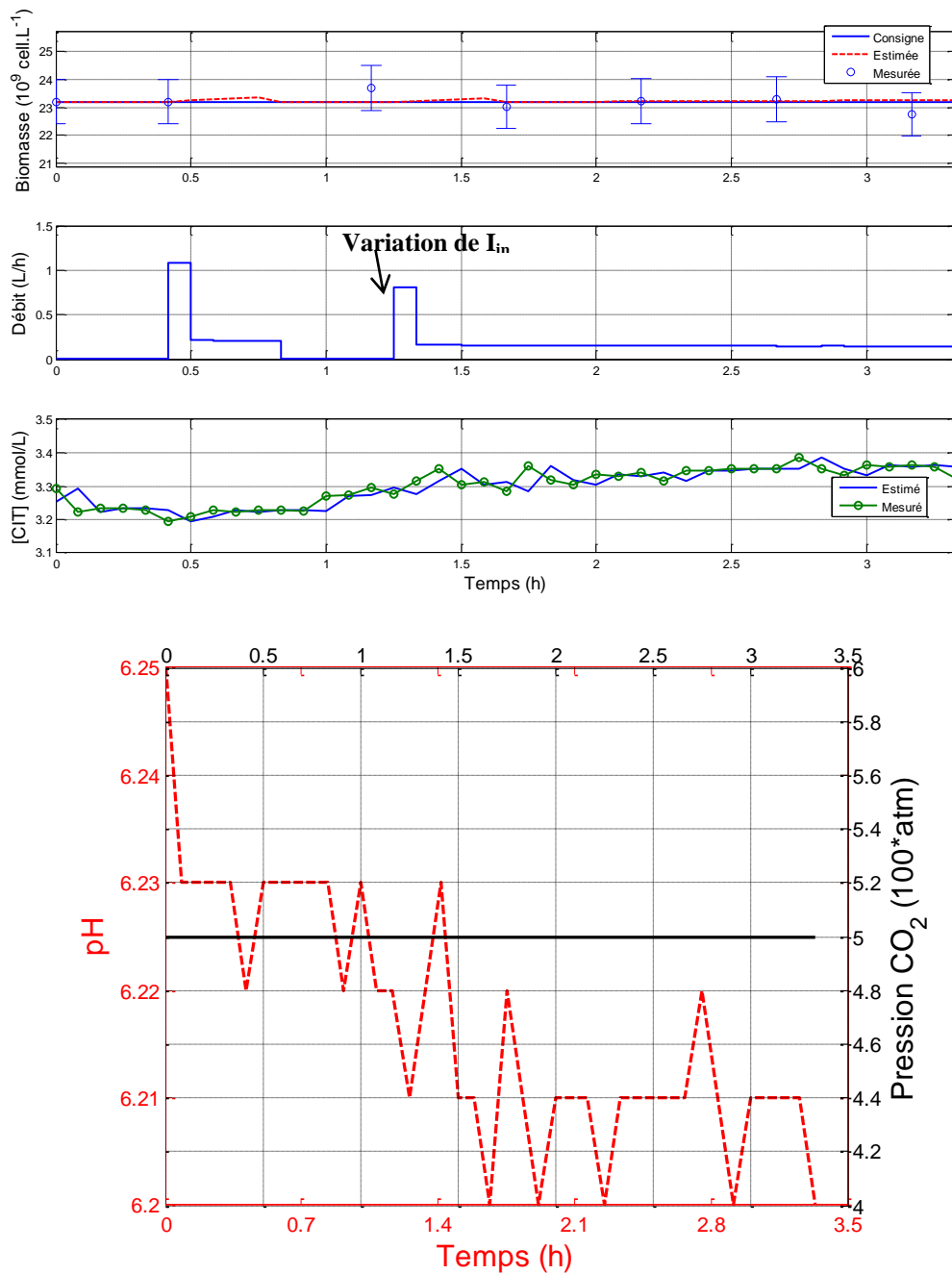
Pour ce qui est de la productivité, elle est de  $0,25 \text{ g.L}^{-1}.\text{j}^{-1}$  pour le test de la figure 5.15. La productivité « cumulée » est dans ce cas de  $0,16 \text{ g.L}^{-1}$ .

Dans le cas d'une diminution de la lumière (figure 5.16), la productivité chute de  $0,24 \text{ g.L}^{-1}.\text{j}^{-1}$  à  $0,16 \text{ g.L}^{-1}.\text{j}^{-1}$ , ce qui montre l'effet de la lumière sur la productivité. Ceci est également visible dans le cas d'une variation de la pression d'entrée en  $\text{CO}_2$  (figure 5.17) où la productivité varie de  $0,21 \text{ g.L}^{-1}.\text{j}^{-1}$  à  $0,16 \text{ g.L}^{-1}.\text{j}^{-1}$ .

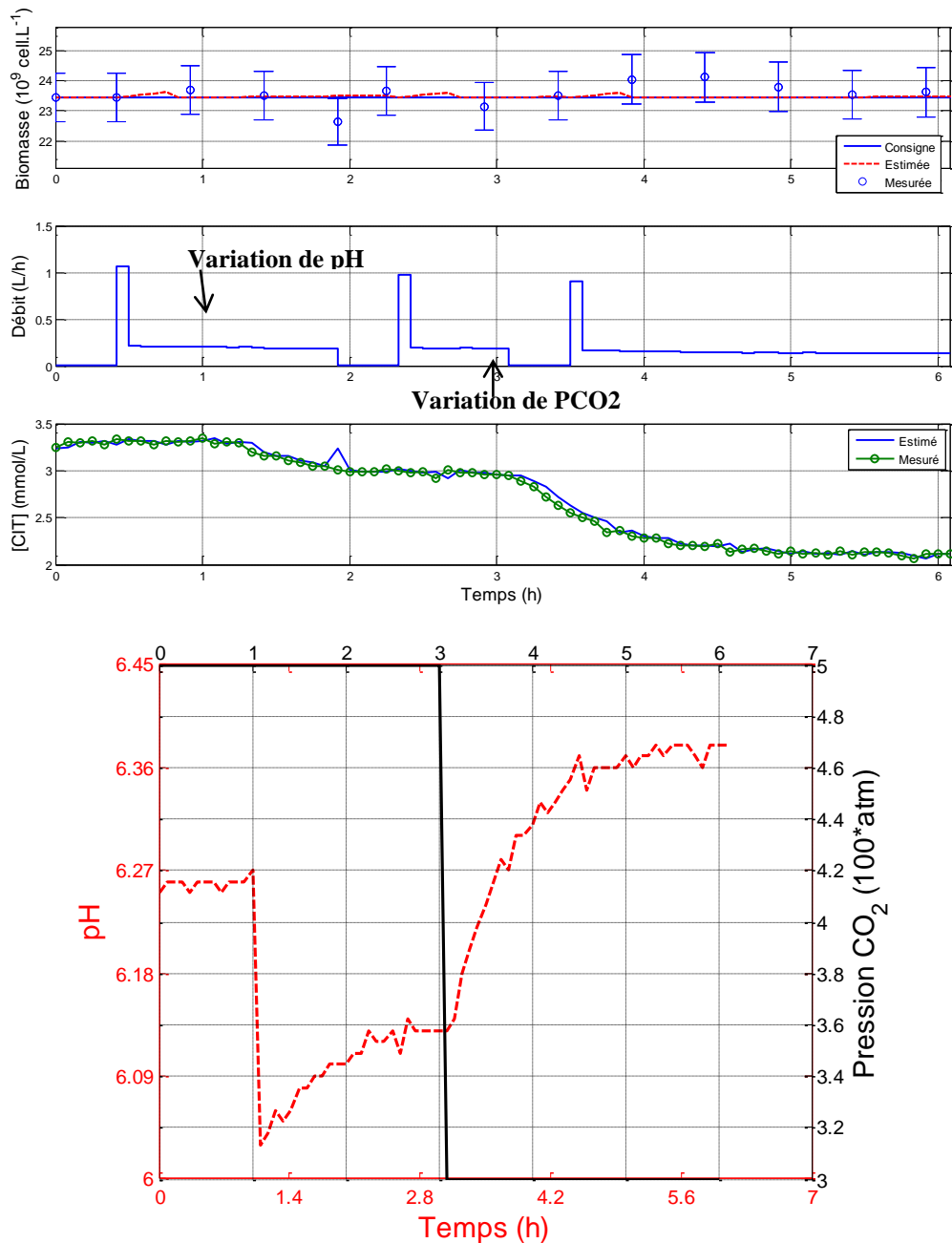




**Figure 5.15 :** Commande prédictive non-linéaire couplée au filtre de Kalman, pour un échelon sur la consigne de  $26,3$  à  $21,3 \cdot 10^9$  cell.  $L^{-1}$  à  $t=1h$



**Figure 5.16 :** Analyse de la robustesse de la commande prédictive non-linéaire couplée au filtre de Kalman en présence d'une perturbation sur la lumière pour une consigne constante de  $23,3 \cdot 10^9 \text{ cell. L}^{-1}$ .

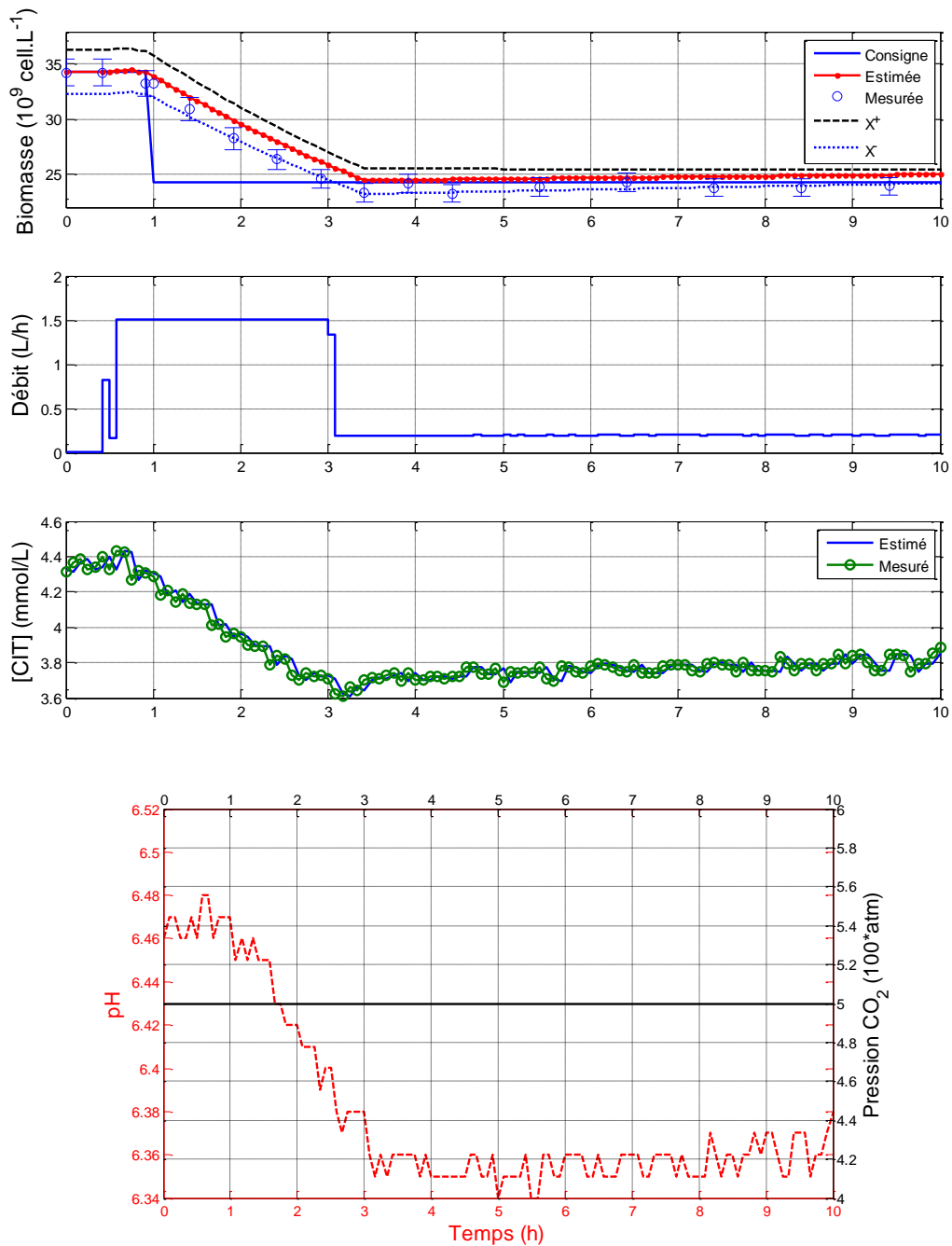


**Figure 5.17 :** Analyse de la robustesse de la commande prédictive non-linéaire en présence de perturbations sur le  $pH$  et de  $P_{CO_2}$  pour une consigne constante de  $23,48 \cdot 10^9 \text{ cell. L}^{-1}$

### 5.6.2 Commande couplée avec l'observateur par intervalles

Les performances de la commande prédictive non-linéaire sont maintenant analysées en considérant une estimation de la concentration de biomasse fournie par l'observateur par intervalles. Les résultats obtenus, en réponse à un profil de consigne en échelon descendant, sont présentés figure 5.18. La commande proposée permet de réguler la concentration cellulaire à la valeur de référence désirée et présente une réponse rapide vis-à-vis du changement de consigne avec un faible dépassement (d'environ 2,4%). Le temps nécessaire à l'établissement du régime stationnaire est d'environ 2,5 heures. Les mesures expérimentales

de la concentration de biomasse tendent à converger avec précision vers la valeur de référence (l'erreur statique est très faible).



**Figure 5.18** : Commande prédictive non-linéaire pour un échelon de descente sur la consigne de 34,2 à 24,2  $10^9$  cell.  $L^{-1}$  à  $t = 1h$ , avec observateur par intervalles.

Le profil du débit d'alimentation possède une allure similaire à ce qui a été constaté en simulation, à savoir un débit qui augmente durant la phase transitoire afin de diluer la culture, entraînant ainsi la diminution de la concentration cellulaire jusqu'à sa valeur de consigne finale. La loi de commande agit, par la suite, sur la variable de commande, afin de converger à sa valeur de référence, permettant ainsi de maintenir la concentration cellulaire à la valeur désirée pendant le régime stationnaire.

Du point de vue stratégie d'estimation, on peut constater l'efficacité et la robustesse de l'estimation de la biomasse par l'observateur par intervalles. En effet, on remarque que les limites supérieure et inférieure de la concentration de biomasse estimées génèrent un intervalle stable qui permet de borner les mesures expérimentales. On peut constater également que cet intervalle tend à diminuer et à converger vers la concentration de biomasse mesurée par méthode granulométrique. Cette efficacité peut se vérifier par le fait que le *CIT* estimé par l'observateur par intervalles suit l'allure des mesures temps réel du *CIT* par la sonde.

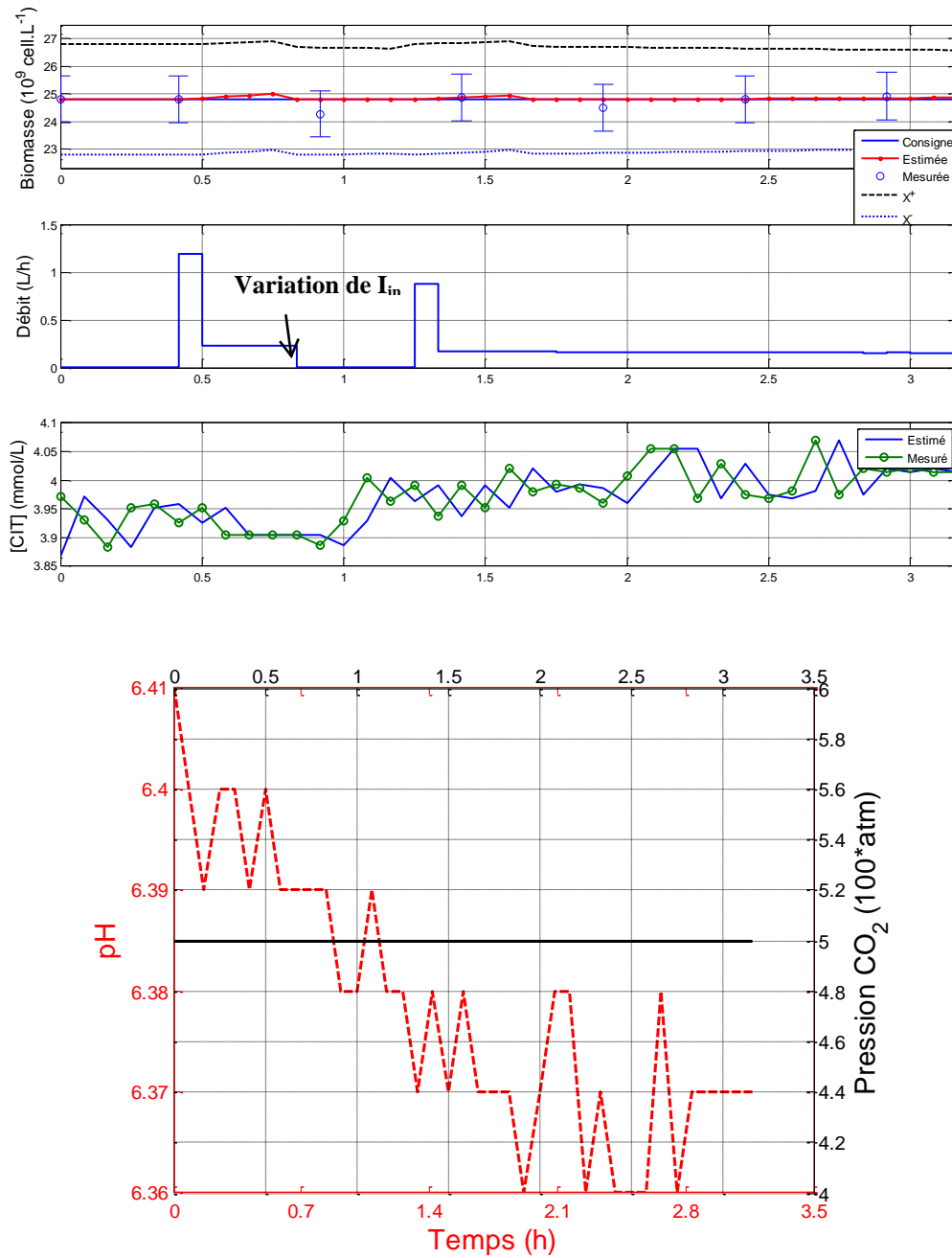
Dans ce qui suit, la robustesse de cette stratégie de commande est testée vis-à-vis des perturbations des conditions de fonctionnement à savoir la lumière, le pH et la pression partielle en  $CO_2$  en entrée du réacteur. La figure 5.19 présente la réponse du système asservi et de la commande vis-à-vis de perturbation de la lumière (diminution de l'intensité lumineuse incidente de 90 à 50  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  à  $t = 1,25$  h, pour une consigne constante en concentration de biomasse). La loi de commande implantée permet de maintenir la concentration cellulaire à sa valeur de référence, en forçant le débit d'alimentation à suivre sa trajectoire de référence. On remarque que malgré la diminution de l'intensité lumineuse, la concentration cellulaire mesurée présente une trajectoire stable autour de la consigne fixée. La commande du fait de cette variation de lumière correspond à une dilution plus faible, ce qui permet de favoriser des conditions de cultures plus adéquates au maintien de la concentration cellulaire à la consigne désirée.

La figure 5.20 présente la réponse du système régulé et de la variable de commande vis-à-vis des perturbations de pH et de  $PCO_2$  en entrée du réacteur. La diminution du pH (variation de 6,4 à 6) a été assurée par un ajout de 20 ml d'acide chlorhydrique à 0,5 N, alors que la réduction de la pression partielle en entrée du réacteur (variation de 0,05 à 0,03 atm) a été effectuée au moyen d'un changement de consigne au niveau des débitmètres massiques. Suite à la diminution du pH, la variable de commande  $F$  tend à diminuer pour converger vers une valeur de référence plus faible. Cette dilution permet d'éviter des chutes significatives de la concentration cellulaire, suite à la variation du pH et de maintenir la concentration de biomasse dans le réacteur autour de la valeur de consigne. De même, pour la variation en pression partielle en  $CO_2$ , la commande force le débit d'alimentation à tendre vers une valeur de référence plus faible.

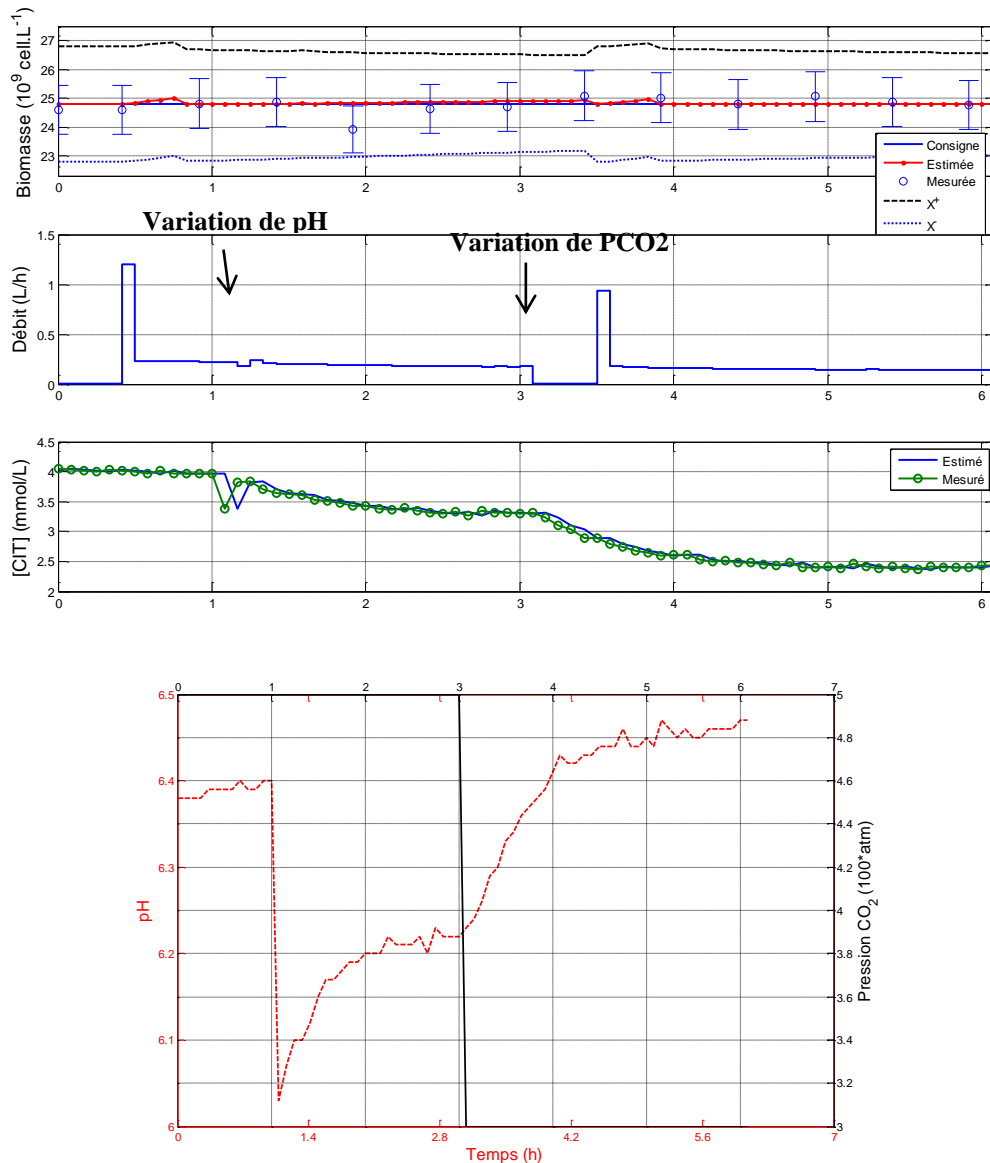
Pour ce qui est de la productivité, elle est de 0,24  $\text{g.L}^{-1}\text{j}^{-1}$  pour le test de la figure 5.18. La productivité cumulée est dans ce cas de 0,29  $\text{g.L}^{-1}$ .

Dans le cas d'une diminution de la lumière (figure 5.19), la productivité chute de 0,3  $\text{g.L}^{-1}\text{j}^{-1}$  à 0,22  $\text{g.L}^{-1}\text{j}^{-1}$ , ce qui montre l'effet de la lumière sur la productivité. Ceci est également visible dans le cas d'une variation de la pression d'entrée en  $CO_2$  (figure 5.20) où la productivité varie de 0,25  $\text{g.L}^{-1}\text{j}^{-1}$  à 0,19  $\text{g.L}^{-1}\text{j}^{-1}$ . Lorsque le pH diminue, la productivité diminue également comme le montre la figure 5.20 puisqu'elle varie de 0,29  $\text{g.L}^{-1}\text{j}^{-1}$  à 0,25  $\text{g.L}^{-1}\text{j}^{-1}$  suite à la variation du pH.

En conclusion, il apparaît d'après les résultats expérimentaux, que la commande prédictive, avec utilisation d'une estimation de la concentration en biomasse issue d'un observateur par intervalles, permet de réguler la concentration de biomasse avec de bonnes performances, tout en rejetant les effets des perturbations. Les mesures de la concentration de biomasse se stabilisent à la valeur consigne, avec moins d'erreurs statiques et d'oscillations par rapport à la stratégie utilisant le filtre de Kalman pour estimer la concentration en biomasse.



**Figure 5.19 :** Analyse de la robustesse de la commande prédictive non-linéaire avec estimation par observateur par intervalles, en présence d'une perturbation sur la lumière pour une consigne constante de  $24,8 \cdot 10^9 \text{ cell. L}^{-1}$



**Figure 5.20 :** Analyse de la robustesse de la commande prédictive non-linéaire avec observateur par intervalles en présence de perturbations sur le  $pH$  et de  $PCO_2$  en entrée pour une consigne constante de  $24,8 \cdot 10^9 \text{ cell. L}^{-1}$ .

### 5.6.3 Validation des performances par rapport à la GMC

On se propose de réaliser enfin une étude comparative entre la loi de commande prédictive développée ci-dessus, avec une seconde stratégie de commande non-linéaire appliquée dans le domaine des bioprocédés. Cette comparaison a pour principal objectif de valoriser les performances obtenues précédemment et d'accentuer l'utilité et l'apport intéressant de cette commande au niveau de la régulation de la concentration de biomasse dans une culture de microalgues dans un photobioréacteur.

Notre choix s'est porté sur la régulation par modèle générique ou GMC qui est une approche de commande non-linéaire développée par Lee et Sullivan à la fin des années 80 (Lee et Sullivan, 1988). Cette technique est souvent utilisée dans la biotechnologie algale.

Baquerisse (1999) s'est intéressé à l'application de la commande *GMC* adaptative dans le but de réguler la concentration cellulaire et la concentration en *CIT* de l'espèce *Porphyridium purpureum*. Une seconde étude de Becerra (2009) s'est également intéressée à la validation de la *GMC* couplée au filtre de Kalman pour la régulation de la biomasse algale de *Porphyridium purpureum* à partir des mesures disponibles en *CIT*.

Le principe de la *GMC* est d'imposer une trajectoire de référence à la variable à asservir. Dans le cas de la régulation de la concentration de biomasse, cette trajectoire de référence suit la relation suivante :

$$\left(\frac{dX}{dt}\right)_{ref} = G_1(X_{ref} - X) + G_2 \int_0^t (X_{ref} - X)dt \quad (5.15)$$

avec :

- ✓  $\left(\frac{dX}{dt}\right)_{ref}$  : trajectoire de référence sur la dérivée de la concentration de biomasse ;
- ✓  $X_{ref}$  : valeur de référence de la concentration de biomasse ;
- ✓  $G_1$  et  $G_2$  : paramètres de réglage du régulateur *GMC*.

Le réglage des gains ( $G_1$ ,  $G_2$ ) s'effectue à partir de la réponse désirée du système en boucle fermée, considérée comme équivalente à celle d'un système du second ordre avec un coefficient d'amortissement  $\xi$  et une pulsation propre  $\omega_0$ . Ainsi, les gains  $G_1$  et  $G_2$  sont donnés par :

$$\begin{cases} G_1 = 2\xi\omega_0 \\ G_2 = \omega_0^2 \end{cases} \quad (5.16)$$

Le principe du régulateur *GMC* repose sur la génération du profil de commande à partir de l'application des actions proportionnelle et intégrale sur les erreurs de poursuite. Elle présente une structure similaire à une loi de commande par retour d'état linéarisant. La commande en débit d'alimentation est alors donnée par la relation suivante :

$$F = -\frac{V}{X} \left[ \underbrace{G_1(X_{ref} - X) + G_2 \int_0^t (X_{ref} - X)dt}_{\hat{F}} - \mu X \right] \quad (5.17)$$

La structure du régulateur par modèle générique est schématisée figure 5.21.

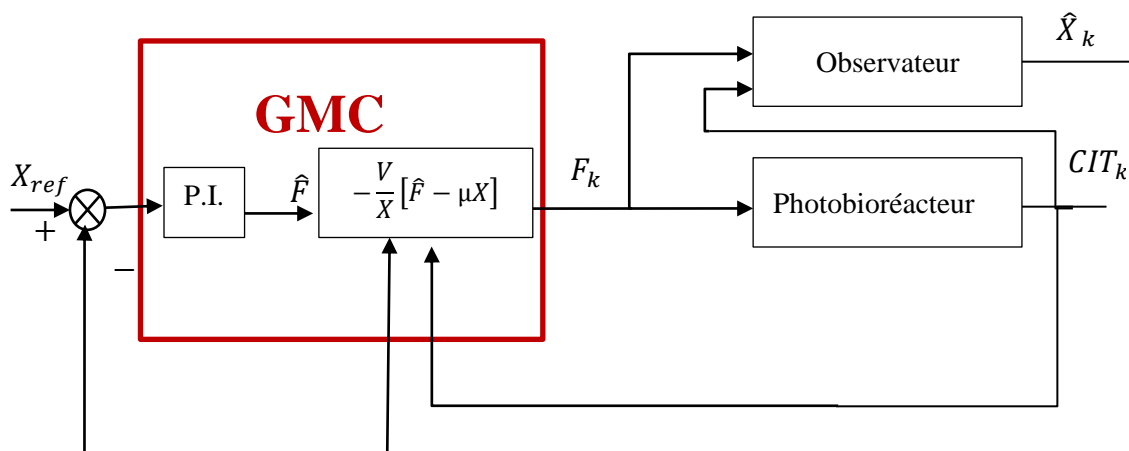


Figure 5.21 : Schéma de la structure générale de la GMC couplée à un observateur



L'étude comparative que l'on se propose d'effectuer repose sur l'implantation de la GMC couplée à une des stratégies d'estimation (filtre de Kalman ou observateur par intervalles) sur le banc d'essai expérimental du photobioréacteur de 9,6 litres (le protocole expérimental est détaillé en Annexe A2). Cette loi de commande présente les mêmes objectifs que la commande prédictive non-linéaire, à savoir la régulation de la concentration de biomasse de *Chlorella vulgaris* pour une culture en mode continu suivant un profil de consigne imposé. Le choix de consigne en concentration de biomasse doit satisfaire à la stratégie d'optimisation de la productivité citée section 5.4.1. Le temps d'échantillonnage est de 5 minutes. Cette commande GMC été complétée par un dispositif d'anti-saturation qui permet d'améliorer considérablement la réponse du système (Becerra, 2009).

La démarche est la même que celle mise en œuvre lors de la validation de la commande prédictive non-linéaire, réponse à une consigne puis analyse de la robustesse vis-à-vis des perturbations. Une première étape consiste à analyser les performances de la GMC couplée à l'observateur par intervalles en réponse à un profil de consigne en échelon. La comparaison des performances entre la commande GMC et la CPNL, couplées au filtre de Kalman, a également été effectuée. Les résultats obtenus sont présentés en Annexe A4.

Concernant le réglage du régulateur, le choix s'est porté sur un facteur d'amortissement  $\xi$  égal à 0,7 et une pulsation naturelle  $\omega_0$  égale à 3 rad.h<sup>-1</sup>. On a également gardé les mêmes paramètres de réglage de l'observateur par intervalles que lors de l'implantation de la commande prédictive non-linéaire (gains variables obtenus par filtre de Kalman). La biomasse estimée représente la moyenne des limites supérieure et inférieure estimées par l'observateur par intervalles.

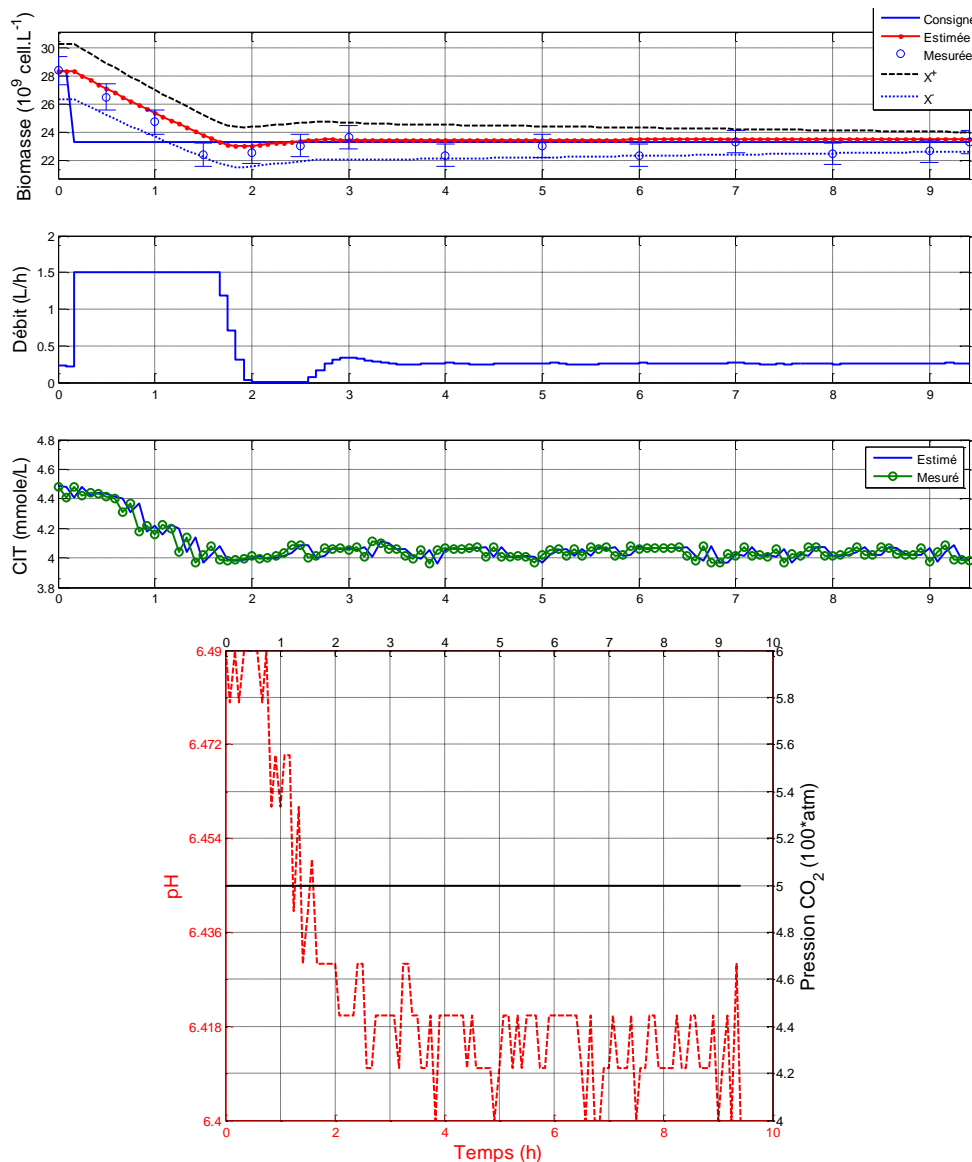
A partir de la figure 5.22, on peut constater que la GMC permet de réguler la concentration cellulaire selon le profil de consigne imposé. En comparant les performances de ce régulateur avec celles de la loi de commande prédictive non-linéaire, on remarque que la GMC régule la biomasse algale avec un dépassement plus important que celui de la CPNL (dépassement d'environ 3,6 % pour la GMC contre un faible dépassement d'environ 2,4% pour la CPNL). De même, Le temps nécessaire à l'établissement du régime stationnaire est plus long pour la GMC (environ 4 heures) par rapport à la commande prédictive non-linéaire (environ 2,5 heures). La valeur finale de la concentration de biomasse présente une légère erreur statique avec la commande GMC. Ainsi, La commande prédictive non-linéaire permet d'atteindre les objectifs fixés avec des performances nettement meilleures (rapidité et efficacité de régulation de la biomasse) que la GMC.

Pour ce qui est de la productivité, elle est de 0,29 g.L<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> pour le test de la figure 5.22. La productivité « cumulée » est dans ce cas de 0,2 g.L<sup>-1</sup>. La productivité est donc inférieure à celle obtenue avec la commande CPNL, mais cependant le point d'équilibre n'est pas identique entre les deux essais. Pour pouvoir comparer les deux approches de commande, des essais en simulation ont permis de mettre en évidence la supériorité de la commande CPNL par rapport à la commande GMC pour la productivité pour un suivi d'un échelon de consigne descendant (productivité « cumulée » de 0,18 g.L<sup>-1</sup> pour la CPNL contre 0,09 g.L<sup>-1</sup> pour la GMC).

La robustesse de la GMC vis-à-vis de perturbations des conditions opératoires est illustrée par les figures 5.23 (passage d'une intensité lumineuse incidente de 90 à 50 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>) et 5.24 (pour le pH et la pression en CO<sub>2</sub>). L'analyse des résultats montre que la GMC est

robuste vis-à-vis des perturbations, ce qui s'explique par la présence d'une action intégrale qui permet de les rejeter. Cependant, une erreur statique est observée car la GMC utilise une estimée de la concentration de biomasse et non la vraie valeur.

Pour conclure, on a pu vérifier précédemment, les performances et la robustesse de la commande prédictive non-linéaire couplée à une stratégie d'estimation (filtre de Kalman ou observateur par intervalles) pour la régulation de la concentration cellulaire à une valeur de référence désirée, en présence de perturbation des conditions de fonctionnement. En comparaison avec la GMC, la stratégie de commande proposée présente de meilleures performances en termes de rapidité et d'efficacité de régulation de la sortie du système à asservir. La CPNL nécessite un temps d'établissement du régime transitoire plus faible et présente un faible dépassement en comparaison avec la GMC. Ceci dit, la GMC est plus simple à mettre en œuvre que la CPNL puisqu'elle ne nécessite pas de résolution de problèmes d'optimisation.



**Figure 5.22 :** Commande GMC couplée à l'observateur par intervalles pour un échelon de consigne de  $28,3$  à  $23,3 \cdot 10^9 \text{ cell. L}^{-1}$  à  $t = 30 \text{ mn}$

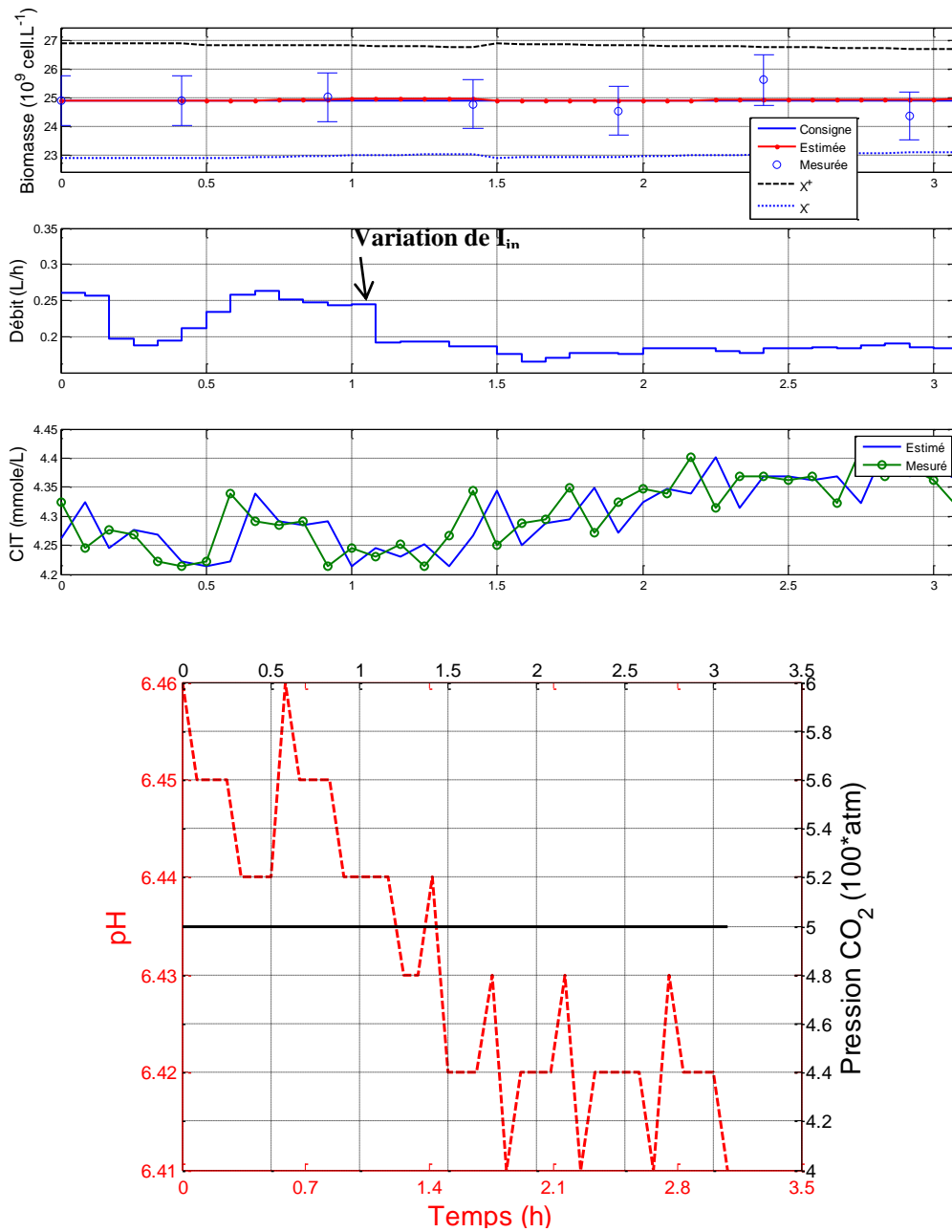


Figure 5.23 : Commande GMC couplée à l'observateur par intervalles pour consigne constante et perturbation de l'intensité lumineuse.

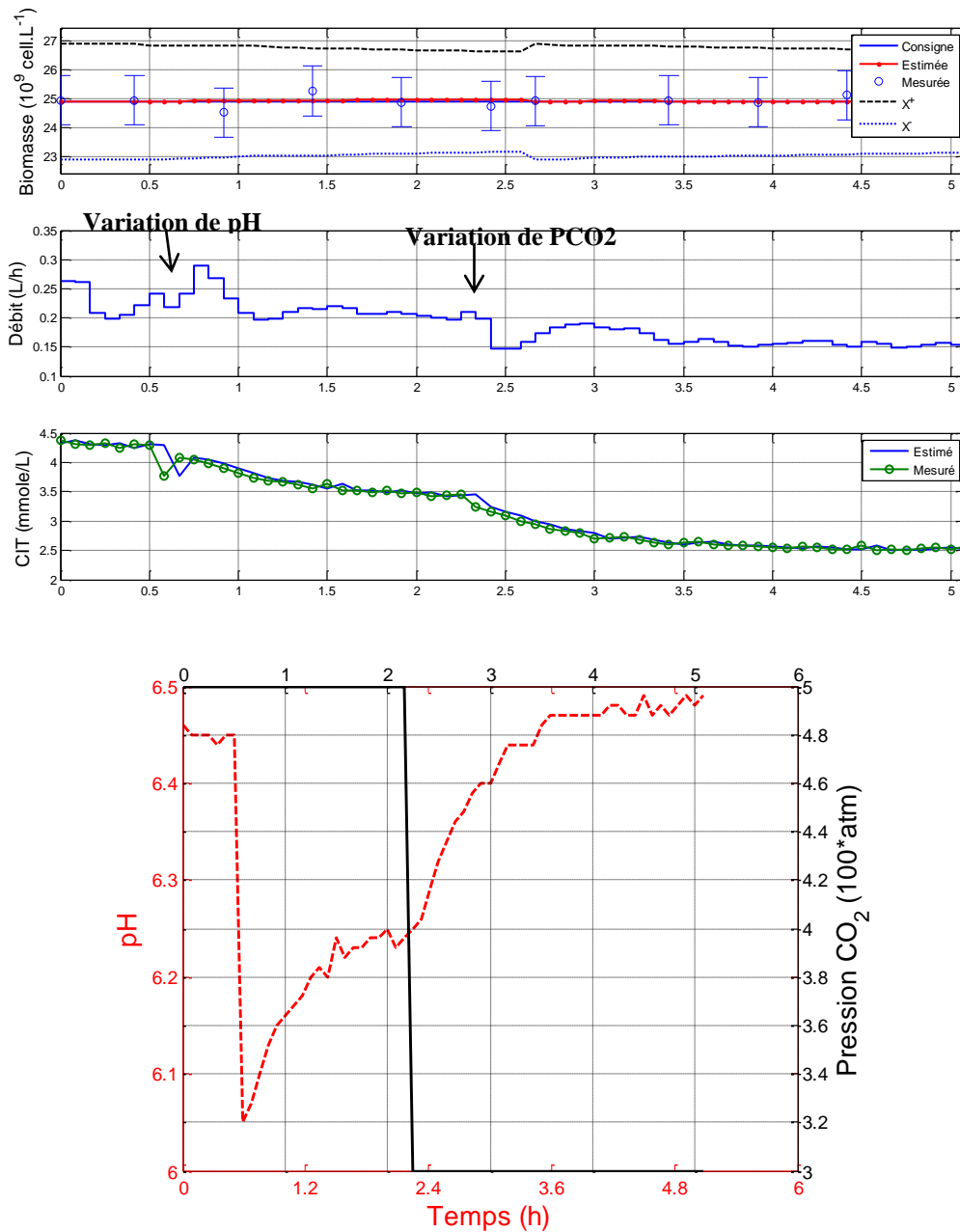


Figure 5.24 : Commande GMC couplée à l'observateur par intervalles pour consigne constante et perturbations de pH et de pression de  $CO_2$ .

### 5.7 Conclusion

Ce chapitre a présenté la démarche suivie pour la mise en œuvre de la loi de commande prédictive non-linéaire, couplée à une stratégie d'estimation de la concentration algale, pour la régulation de la concentration de biomasse de culture de *Chlorella vulgaris* dans un photobioréacteur. La commande prédictive repose sur la prédiction du comportement futur du système biologique à partir d'un modèle dynamique et de la résolution d'un problème d'optimisation à chaque pas d'échantillonnage.

La stratégie considérée au cours de cette étude consiste à maximiser la productivité en biomasse, permettant de satisfaire à la stratégie de bio-fixation du dioxyde de carbone sur lequel se basent nos travaux. Ceci revient à réguler la concentration cellulaire aussi proche

que possible d'une valeur d'équilibre correspondant à un point de fonctionnement bien spécifique. Cette régulation est réalisée avec une commande prédictive non-linéaire, robuste vis-à-vis des erreurs de modélisation et des perturbations.

La mise en œuvre de cette stratégie de commande repose sur deux étapes essentielles : le choix du modèle de prédiction et la résolution du problème d'optimisation. Suite aux difficultés de résolution du problème d'optimisation non-linéaire et afin d'éviter l'étape de discrétisation du modèle dynamique, le problème d'optimisation a été traité comme un problème de programmation non-linéaire sans contrainte à partir d'une approche de paramétrisation de la commande. De même, les erreurs de modélisation par rapport au système ont été prises en compte dans la structure du problème d'optimisation de la commande par l'introduction d'un signal de mesure de type D.O.M.

Les performances de la loi de commande prédictive ont été vérifiées, dans un premier temps, grâce à des essais de simulation, en appliquant trois approches différentes : CPNL non couplée à un observateur, CPNL couplée à un filtre de Kalman et CPNL couplée à l'observateur par intervalles. Les résultats obtenus nous ont permis de mettre en évidence les bonnes performances de la commande prédictive non-linéaire couplée ou non à un observateur. On a pu constater une légère perte de performance du fait du recours à l'estimation de la variable à réguler. Ceci dit, les performances obtenues sont tout à fait satisfaisantes. La robustesse de la CPNL a ensuite été vérifiée vis-à-vis des perturbations (lumière, pH et  $PCO_2$  en entrée du réacteur).

Les performances et la robustesse de la loi de commande prédictive non-linéaire couplée à un observateur (filtre de Kalman ou observateur par intervalles) ont été validées, expérimentalement, à partir de cultures en mode continu de *Chlorella vulgaris* dans un photobioréacteur. Les résultats expérimentaux ont permis de vérifier que la loi de commande développée régule la biomasse à la valeur désirée et ce même en présence de perturbations des conditions de fonctionnement. Cette étude a également permis de valider les performances d'estimation de la biomasse par le filtre de Kalman et par l'observateur par intervalles à partir des mesures disponibles en temps réel du *CIT*, avec un avantage dans le cas de l'observateur par intervalles. L'apport de cette stratégie de commande proposée a été valorisé par une étude comparative avec une seconde méthode de commande non-linéaire : la régulation par modèle générique GMC. Cette dernière étude a permis de mettre en évidence des performances légèrement meilleures de la commande prédictive non-linéaire par rapport à la GMC en termes de rapidité et qualité de la réponse (faible dépassement).

# 6 Conclusions & perspectives

---

## 6.1 Conclusions

Répondant à une des problématiques de la société actuelle, à savoir la réduction des gaz à effet de serre, les travaux présentés dans ce manuscrit ont eu pour objectif de maximiser la consommation de dioxyde de carbone par les microalgues, grâce à une optimisation des conditions de culture. Pour cela, une loi de commande robuste a été mise en œuvre et appliquée à la régulation de la concentration cellulaire de *Chlorella vulgaris* dans un photobioréacteur en mode continu. Cette étape ultime a nécessité au préalable une phase de modélisation du bioprocédé, ainsi que l'élaboration d'observateurs permettant d'estimer la concentration cellulaire pour pouvoir ensuite la réguler. Les étapes successives de cette thèse sont résumées ci-dessous.

### 1. Modélisation de la croissance de la microalgue dans un photobioréacteur (chapitres 2 et 3)

Après examen de plusieurs microalgues potentielles, le choix s'est porté sur *Chlorella vulgaris*, possédant les propriétés requises pour assurer une bonne bio-fixation de  $CO_2$ . Dès lors, la phase de modélisation a été menée en élaborant un modèle mathématique global reposant sur la combinaison des bilans massiques, traduisant l'évolution de la concentration cellulaire et de la concentration du carbone inorganique total, et d'un modèle de croissance de l'algue. Ce dernier permet de tenir compte de l'effet de limitation par la lumière et par le carbone inorganique total. Il présente de plus une structure de faible complexité, prérequis indispensable au développement de la stratégie de commande robuste incluant un observateur pour estimer la concentration cellulaire.

L'ensemble des paramètres nécessaires à la caractérisation du modèle a été identifié en plusieurs étapes, à partir de quelques jeux de données expérimentales de cultures de *Chlorella vulgaris* en mode continu. Dans un premier temps, une régression linéaire a permis la détermination des paramètres impliqués dans le modèle relatif à la lumière. Puis une régression non-linéaire a conduit à l'identification des paramètres du modèle relatif à la vitesse de croissance. Les paramètres impliqués dans la dynamique de consommation du *CIT* ont été quant à eux déterminés à partir d'essais spécifiques. Tous ces paramètres ont été au final validés via d'autres résultats obtenus en mode batch et continu.

### 2. Synthèse d'un observateur (chapitre 4)

Les bioprocédés se caractérisant très souvent, et en particulier dans le cas de la culture de microalgues, par le manque de capteurs physiques fiables pour la mesure de la concentration cellulaire, le développement de stratégies d'estimation de cette concentration s'est révélé nécessaire, dans l'optique de la mise en œuvre d'une loi de

commande robuste. Ainsi, la deuxième partie de nos travaux a eu comme objectif le développement d'observateurs, utilisant le modèle mathématique élaboré précédemment, pour l'estimation de la concentration de biomasse à partir des mesures de la concentration de *CIT*, disponibles en temps-réel.

Après un état de l'art des observateurs appliqués aux cultures de microalgues, trois stratégies d'estimation ont été considérées : le filtre de Kalman étendu, l'observateur asymptotique et l'observateur par intervalles. Les performances et la robustesse de ces trois observateurs ont été tout d'abord testées en simulation dans l'environnement *Matlab*<sup>TM</sup>, vis-à-vis des incertitudes liées au modèle de croissance et à la dynamique d'évolution de la concentration de *CIT*.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence une très bonne robustesse du filtre de Kalman vis-à-vis d'incertitudes sur la dynamique d'évolution de la concentration du *CIT*, mais ont montré que cet observateur restait sensible à la qualité du modèle de croissance.

L'observateur asymptotique présentait, quant à lui, des résultats inverses : une bonne robustesse vis-à-vis du modèle de croissance, mais une forte dépendance vis-à-vis des paramètres liés à la dynamique d'évolution de la concentration de *CIT*.

L'observateur par intervalles, combinant les avantages des deux précédents observateurs, a permis de reconstruire un intervalle stable bornant l'évolution de la concentration de biomasse en fonction du temps. Il faut malgré tout être conscient que la largeur de cet intervalle reste bornée asymptotiquement par une valeur dépendant de la fiabilité des paramètres de la dynamique de la concentration de *CIT*. Pour ce qui concerne les paramètres de réglage, trois démarches liées au choix des gains de l'observateur par intervalles ont été proposées : deux démarches considérant des gains constants (sélection des valeurs propres de la matrice Jacobienne ou minimisation de l'erreur asymptotique) et une dernière démarche avec des gains variables (réglage des gains via un filtre de Kalman étendu).

Ces stratégies d'observateurs ont enfin été testées expérimentalement à partir de données de cultures de microalgues en mode continu, les résultats obtenus corroborant ceux observés en simulation. Ainsi, l'observateur asymptotique, stratégie d'estimation en boucle ouverte, s'est révélé non adapté au bioprocédé algal, en raison de sa forte sensibilité aux paramètres liés à la dynamique de *CIT*. L'observateur par intervalles, ayant fourni des performances supérieures à celles du filtre de Kalman étendu, a été finalement retenu pour la suite, constituant un estimateur fiable et robuste de la concentration de la biomasse.

### **3. Mise en œuvre d'une loi de commande prédictive non-linéaire pour la culture de *Chlorella vulgaris* dans un photobioréacteur (chapitre 5)**

Dernière étape du travail, l'implantation d'une stratégie de commande avancée, en l'occurrence la commande prédictive non-linéaire, couplée à un observateur par intervalles, a représenté une véritable démarche innovante dans le domaine de la biotechnologie algale. L'objectif fixé à la commande résidait dans l'optimisation de la productivité de la biomasse dans le but de maximiser la consommation de  $CO_2$ . Cette optimisation consistait à maintenir la concentration de la biomasse à une valeur spécifique correspondant à un point de fonctionnement adapté « nominal », en forçant la variable de commande, à savoir le débit d'alimentation, à suivre une trajectoire de référence.

Le développement de cette stratégie de commande prédictive, impliquant un problème d'optimisation sous contraintes, a reposé sur la transformation de ce problème d'optimisation en un problème de programmation non-linéaire sans contrainte, résolu selon une approche de type *CVP*. Cette dernière a l'avantage d'éviter l'étape de discrétisation du modèle dynamique, en discrétisant uniquement la variable de commande. La robustesse de la structure a été améliorée en tenant compte explicitement dans le processus d'optimisation d'une désadaptation entre le processus réel et son modèle.

Les performances de cette loi de commande ont été tout d'abord analysées en simulation dans l'environnement Matlab/Simulink™, selon successivement une configuration sans observateur, puis avec observateur par intervalles et enfin avec filtre de Kalman étendu à titre de comparaison. La commande prédictive non-linéaire proposée, couplée ou non à une stratégie d'estimation, a montré de bonnes performances en termes de régulation de la concentration de la biomasse à une valeur de référence désirée. La robustesse de cette commande a été également validée vis-à-vis d'incertitudes liées à la modélisation et vis-à-vis de perturbations des conditions opératoires (lumière, pH et pression en gaz carbonique en entrée du réacteur). L'utilisation d'une estimée de la concentration de biomasse induit cependant de légères oscillations et dépassement sur la réponse du système pour des consignes en échelon. La réponse obtenue reste malgré tout de bonne qualité en termes de rapidité, dépassement et précision.

Dans un deuxième temps, la loi de commande prédictive non-linéaire couplée à un observateur (filtre de Kalman ou observateur par intervalles) a été implantée sur le banc d'essai expérimental incluant le photobioréacteur de 9,6 litres. Les essais réalisés dans le cadre de cultures en mode continu ont permis de valider les performances de la commande proposée, couplée à un observateur par intervalles ou à un filtre de Kalman étendu, en particulier en présence de perturbations des conditions de fonctionnement. La commande couplée à un observateur par intervalles présente de meilleures performances que celle couplée à un filtre de Kalman, notamment en termes de précision.

Les performances de cette stratégie de commande ont enfin été comparées à une loi de commande rencontrée classiquement pour piloter des bioprocédés, la commande par modèle générique. La commande prédictive non-linéaire s'est avérée nettement plus performante, en termes de rapidité, précision et de dépassement.

L'originalité de notre étude réside avant tout dans l'approche par intervalles permettant de reconstruire un intervalle stable de la valeur réelle de la concentration de biomasse, incluant une optimisation du réglage des gains de l'observateur (fixes ou variables) afin d'améliorer la robustesse d'estimation vis-à-vis des incertitudes liées à la dynamique de la concentration de *CIT*.

Ces travaux de thèse ont également permis de démontrer le potentiel intéressant de l'espèce cultivée *Chlorella vulgaris* dans un procédé de séquestration de  $CO_2$ . En effet, plusieurs campagnes de culture en continu dans un photobioréacteur instrumenté et sous des conditions opératoires bien spécifiques nous ont permis, à travers l'optimisation de la productivité en biomasse, de maintenir la culture dans des conditions favorables à la consommation de  $CO_2$ . La productivité en biomasse obtenue dans les campagnes expérimentales est de l'ordre de  $0,22 \text{ g.L}^{-1}.\text{j}^{-1}$ . La biofixation de  $CO_2$  est quant à elle de l'ordre



de  $0,38 \text{ g.L}^{-1}.\text{j}^{-1}$ . Ces valeurs sont cohérentes avec ce qui a été reporté dans la littérature. Pour la microalgue *Chlorella vulgaris*, une productivité en biomasse de  $0,38 \text{ g.L}^{-1}.\text{j}^{-1}$  et une biofixation de dioxyde de carbone de  $0,97 \text{ g.L}^{-1}.\text{j}^{-1}$  ont été obtenues dans (Clément-Larosière, 2012). Nos résultats sont donc moins performants. Cependant, les conditions opératoires en termes de lumière et de pression de  $\text{CO}_2$  dans cette étude étaient différentes des nôtres. En se plaçant dans les mêmes conditions opératoires que dans (Clément-Larosière, 2012), notre stratégie de commande aboutit à une productivité en biomasse de  $0,64 \text{ g.L}^{-1}.\text{j}^{-1}$  et une biofixation de dioxyde de carbone de  $1,15 \text{ g.L}^{-1}.\text{j}^{-1}$  ce qui représente de bons résultats. Ainsi, la stratégie de commande proposée semble donner des résultats encourageants pour la biofixation de  $\text{CO}_2$ , mais il est nécessaire de reconsidérer les conditions opératoires retenues et de les optimiser en vue d'une amélioration significative de la productivité de la biomasse et donc de l'augmentation de la séquestration de  $\text{CO}_2$ .

## 6.2 Perspectives

Les différents résultats présentés dans ce mémoire de thèse nous permettent d'entrevoir de nombreuses perspectives intéressantes. Ce présent travail constitue une première étape pour la compréhension et la mise en œuvre de culture d'algues pour la fixation de  $\text{CO}_2$ . Partant de cette démarche préliminaire, de nombreuses pistes sont à explorer.

Au niveau théorique, plusieurs pistes peuvent être envisagées en se positionnant toujours dans le même contexte, à savoir la stratégie de fixation de  $\text{CO}_2$ .

### – Modélisation

- une planification d'expériences complémentaires pourrait s'envisager, dans le but d'améliorer la qualité des données pour une identification plus précise des paramètres du modèle de croissance. La mise en place d'un plan d'expérience permettrait ainsi d'enrichir le contenu informatif des données collectées pour l'identification. Une des perspectives de la mise en place d'un plan d'expérience consisterait à identifier un profil optimal d'alimentation  $F$  permettant d'aboutir à de meilleures performances de l'identification paramétrique ;
- une étude de sensibilité paramétrique permettrait de hiérarchiser les paramètres selon leur influence sur le modèle et d'en déduire une procédure d'identification plus performante que celle par identification simultanée de l'ensemble des paramètres.

### – Stratégie d'estimation

- une application d'un observateur hybride pour la reconstruction de la concentration de biomasse à partir des mesures du  $CIT$  pourrait s'envisager selon la même approche que celle proposée par Hulhoven et al. (2006). Cet observateur permet d'éliminer les inconvénients des observateurs exponentiels (sensibilité vis-à-vis de la qualité du modèle de croissance) et de l'observateur asymptotique (sensibilité vis-à-vis des paramètres liés à  $CIT$ ). L'introduction d'une fonction représentant un intervalle de confiance dans la structure du modèle nous permet d'osciller entre un comportement d'un observateur exponentiel ou d'un observateur asymptotique selon la qualité du modèle. L'utilité de cette approche pourrait éventuellement être valorisée à travers une étude comparative avec les performances et la robustesse des observateurs développés dans le cadre de cette étude ;

- l'application d'un observateur à horizon fuyant pour la reconstruction de la concentration cellulaire selon la même approche appliquée par Goffaux et Vande Wouwer (2008) pourrait aussi être étudiée. Cet observateur exponentiel repose sur le principe de l'estimation de la trajectoire de l'état non mesuré en utilisant le modèle du système et la connaissance d'une condition initiale optimale issue d'une procédure d'optimisation. La démarche d'estimation de la condition initiale adéquate pour le modèle repose sur la résolution d'un problème de minimisation à partir des mesures disponibles sur un horizon de temps fuyant.
- **Loi de commande**
- l'optimisation de la robustesse de la commande prédictive pourrait s'envisager par la prise en compte de contraintes de robustesse dès la phase de synthèse de la loi de commande ;
  - l'application d'une loi de commande linéarisante par retour d'état couplée à un observateur robuste par modes glissants pour la régulation de la concentration de *CIT* pourrait aussi servir de comparaison, en se fondant sur la même approche que celle proposée par Gonzales et al. (2001). A travers un changement de variables, l'observateur par modes de glissants permet d'estimer un nouvel état incertain dépendant du rendement de conversion et du modèle de croissance, supposé non connu, à partir des mesures disponibles de la concentration de *CIT*. L'avantage de cette approche réside dans la robustesse de cette stratégie d'estimation vis-à-vis des incertitudes des paramètres du modèle de croissance et des bruits de mesures ;
  - la régulation de la concentration de la biomasse pourrait s'envisager en agissant sur l'intensité lumineuse, comme variable de commande, selon une démarche similaire à l'étude de Meireles et al. (2008). La lumière est un paramètre qui présente un impact significatif sur la croissance des microalgues. Selon la densité cellulaire, ce paramètre peut entraîner des phénomènes d'inhibition (forte intensité lumineuse incidente face à une faible concentration cellulaire) ou de limitation de la croissance algale (lumière insuffisante due à une densité cellulaire importante dans le bioréacteur). Au cours de nos travaux, l'implantation de la loi de commande robuste proposée a été effectuée en considérant l'intensité lumineuse comme un paramètre constant réglé à une valeur optimale pour la croissance. Par conséquent, la mise en œuvre d'une loi de commande robuste permettant la régulation de la concentration de la biomasse à partir d'un dispositif de lumière variable représente une piste intéressante à suivre ;
  - Le pH est supposé dans notre étude régulé naturellement par les microalgues. Une piste d'amélioration serait de mettre en place une régulation du pH, pour le maintenir constant et égal à la valeur optimale pour la croissance de l'algue. La modélisation de la variation du pH pourrait apporter de la richesse au modèle d'évolution du système, et pourrait permettre d'améliorer les performances de la loi de commande.
- **Conditions opératoires**
- Optimisation de la stratégie de bio-fixation mise en place par une analyse de l'influence de chaque facteur environnemental sur la culture de *Chlorella vulgaris* en termes de croissance cellulaire et de consommation de  $CO_2$ . Une optimisation des

conditions de culture à travers un plan d'expérience constitue une piste intéressante à suivre dans le but d'améliorer la consommation du  $CO_2$  par *Chlorella vulgaris* ;

- Une compréhension du phénomène biologique d'excrétion des exopolysaccharides (EPS) et une quantification du biofilm afin d'optimiser les conditions de culture, d'une part, et de garantir des campagnes de culture plus longues pour la régulation de la concentration de biomasse, d'autre part. De plus, la production des EPS peut être valorisée pour de nombreuses applications telles que la production de molécules de hautes valeurs ajoutées, ajoutant ainsi un intérêt économique au procédé de séquestration de  $CO_2$ .

Au niveau pratique, plusieurs améliorations peuvent être envisagées.

- un système de stérilisation du réacteur par injection de vapeur d'eau chaude permettrait d'éviter tout déplacement du réacteur en assurant une efficacité du processus ;
- un procédé de nettoyage plus efficace du réacteur pourrait être mis en place, en utilisant un système de deux bombes (l'une contenant le milieu stérilisant et l'autre l'eau distillée stérile) connectées au réacteur par des systèmes de vannes à trois voies ;
- une modification de la partie supérieure du réacteur par des têtes interchangeables permettrait d'atteindre le nombre d'entrées nécessaires et faciliterait le nettoyage du réacteur (en particulier dans le cas de dépôt d'algue important) ;
- l'installation d'un système mécanique de raclage des parois latérales du réacteur par un système de palettes permettrait de réduire la quantité de biofilm. En effet, les campagnes de culture ont mis en évidence la formation progressive et importante de biofilm, particulièrement dans la partie conique du réacteur. Ce dépôt d'algues entraîne une diminution de l'intensité lumineuse à l'intérieur de la culture et affecte la fiabilité des mesures de la concentration de biomasse au niveau des prises d'échantillons ;
- l'application des stratégies d'estimation et de la loi de commande prédictive non-linéaire proposées durant ces travaux pourrait s'envisager dans le cadre de nouvelles souches de microalgues susceptibles d'être également de bonnes candidates pour la séquestration du dioxyde de carbone, comme par exemple *Dunaliella tertiolecta*, *Scenedesmus obliquus*, etc (Wang et al., 2008 ; Ho et al., 2010) ;
- enfin, cette étude représente une première étape pour la conception d'un procédé industriel optimisé pour la fixation de  $CO_2$  par les microalgues, et de ce fait d'autres travaux de recherches sont nécessaires a posteriori afin de permettre, dans un premier temps, d'appliquer cette démarche de mise en œuvre de stratégie d'estimation et de la loi de commande développée dans ce mémoire pour la culture de microalgues dans un réacteur à échelle Pilote puis industrielle et, dans un deuxième temps, de pouvoir conditionner le photobioréacteur afin d'optimiser le procédé industriel de bio-fixation de  $CO_2$  par les microalgues.

---

# Références bibliographiques

---

- **Acién Fernández, F.G., García Camacho, F., Sánchez Pérez, J.A., Fernández Sevilla, J., Grima, M.E.** Modelling of biomass productivity in tubular photobioreactors for microalgal cultures. Effects of dilution rate, tube diameter and solar irradiance. *Biotechnology and Bioengineering*, 58, pp. 605-611. 1998.
- **Agren, G.I.** The C:N:P stoichiometry of autotrophs—theory and observations. *Ecology Letters*, 7, 185-191. 2004.
- **Alcaine, A.A.** Biodiesel from microalgae. Final degree project. Royal School of Technology Kungliga Tekniska Högskolan, Stockholm, Sweden. 2010.
- **Andrews, J.F.** A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates *Biotechnology and Bioengineering*, 10, pp.707-723. 1968.
- **Aslan, S., Kapdan, I.K.** Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae, *Ecological Engineering*, 28, pp. 64–70. 2006.
- **Badger, M.R., Price, G.D.**  $CO_2$  concentration mechanisms in cyanobacteria: Molecular components, their diversity and evolution. *Journal of Experimental Botany*, 54, 383, pp. 609-622. 2003.
- **Balsa-Canto, E., Banga, J.R., Alonso, A.A., Vassiliadis, V.S.** Dynamic optimization of chemical and biochemical processes using restricted second-order information. *Computers and Chemical Engineering*, 25, 4-6, pp. 539-546. 2001.
- **Banerjee, A., Sharma, R., Chisti, Y., Banerjee, U.C.** *Botryococcus braunii*: A renewable source of hydrocarbons and other chemicals. *Critical Reviews in Biotechnology* 22, pp. 245-279. 2002.
- **Banga, J.R., Alonso, A.A., Singh, R.P.** Stochastic dynamic optimization of batch and continuous bioprocesses. *Biotechnology Progress*, 13, 3, pp. 326-335. 1997.
- **Bannister, T.T.** Quantitative description of steady state, nutrient-saturated algal growth, including adaptation. *Limnology and Oceanography* 24 (1), pp. 76-96. 1979.
- **Baquerisse, D.** Utilisation de la simulation dynamique des procédés pour la conduite et le contrôle commande des bioréacteurs. Thèse Doctorale, Ecole Centrale Paris, France, 1999.
- **Bassompierre, C.** Procédé à boues activées pour le traitement d'effluents papetiers : de la conception d'un pilote à la validation de modèles. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Grenoble, France. 2007.
- **Bastin, G., Dochain, D.** On-line estimation and adaptive control of bioreactors, Elsevier, Amsterdam, 1990.
- **Bayramoğlu, G., Tüzün, I., Çelik, G., Yilmaz, M., Yakup Arica, M.** Biosorption of mercury(II), cadmium(II) and lead(II) ions from aqueous system by **microalgae** *Chlamydomonas reinhardtii* immobilized in alginate beads, *International Journal of Mineral Processing*, 81, pp. 35-43. 2006.

- **Becerra Celis, G. P.** Proposition de stratégies de commande pour la culture de microalgues dans un photobioréacteur continu. Thèse de Doctorat, Ecole supérieure d'électricité, Gif-sur-Yvette (France). 2009.
- **Becerra-Celis, G., Tebbani, S., Joannis-Cassan, C., Isambert, A., Boucher, P.** Estimation of microalgal photobioreactor production based on total inorganic carbon in the medium. Proceedings of the 17th World Congress The International Federation of Automatic Control Seoul, Korea, July 6-11, 2008.
- **Becerra-Celis, G., Hafidi, G., Tebbani, S., Dumur, D.** Nonlinear predictive control for continuous microalgae cultivation process in a photobioreactor. 2008 10th Intl. Conf. on Control, Automation, Robotics and Vision Hanoi, Vietnam, 17–20 December 2008b.
- **Becerra-Celis, G., Tebbani, S., Joannis-Cassan, C., Isambert, A., Siguerdidjane, H.** Control strategy for continuous microalgae cultivation process in a photobioreactor. 17th IEEE International Conference on Control Applications Part of 2008 IEEE Multi-conference on Systems and Control San Antonio, Texas, USA, September 3-5, 2008a.
- **Becker, E.W.** (ed.) Microalgae Biotechnology and Microbiology, Cambridge University Press. 1994.
- **Beer, L.L., Boyd, E.S., Peters, J.W., Posewitz, M.C.** Engineering algae for biohydrogen and biofuel production, Current Opinion in Biotechnology, Volume 20, Issue 3, June 2009, pp. 264-271. 2009.
- **Belay, A.** Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina platensis*. Journal of Applied Phycology 5, pp. 235–240. 1993.
- **Benemann, J.R.** Hydrogen biotechnology: Progress and prospects. Nature Biotech. 14, pp. 1101–1103. 1996.
- **Benemann, J.R.** The technology of biohydrogen. In Zaborksy O (ed.) Biohydrogen, Plenum Press, pp. 19–30. 1998.
- **Benemann, J.R.** Hydrogen production by microalgae. Journal of Applied Phycology, Volume 12, 3-5: pp. 291-300. 2000.
- **Benemann, J.R., Koopman, B.L., Weissman, J.C., Oswald, W.J.** Solar energy conversion with microalgal sewage treatment ponds. Proc. Annual Meeting of the American Section of the International Solar Energy Society, 1:5. 1997.
- **Benemann, J.R., Tillett, D., Weissman, J.C.** Microalgae Biotechnology. Trends in Biotechnology. 5, pp. 47-53. 1987.
- **Berdalet, E.** Effects of turbulence on the marine dinoflagellate *Gymnodinium nelsonii*. Journal of Phycology, 28, pp. 267-272. 1992.
- **Berenguel, M., Rodriguez, F., Acien, F.G., García, J.L.** Model predictive control of pH in tubular photobioreactors. Journal of Process Control, 14, pp. 377-387, 2004.
- **Bermejo Román, R., Álvarez-Pez, J.M., Acien Fernández, F.G., Molina Grima, E.** Recovery of pure B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridium cruentum*. Journal of Biotechnology, 93, pp. 73-85. 2002.
- **Bernard, O.** Hurdles and challenges for modelling and control of microalgae for CO<sub>2</sub> mitigation and biofuel production. Journal of Process Control, Volume 21, Issue 10, pp. 1378-1389. 2011.

- **Bernard, O., Gouzé, J.L.** Transient Behavior of Biological Loop Models, with Application to the Droop Model. *Mathematical Biosciences* 127 (1), pp. 19- 43. 1995.
- **Bernard O., Gouzé, J.L.** State estimation for bioprocesses, pp. 813- 855. Trieste : ICTP, 2002.
- **Bernard O., Gouzé, J.L.** Closed loop observers bundle for uncertain biotechnological models, *Journal of Process Control*, 14, pp. 765-774. 2004.
- **Bernard, O., Sallet, G., Sciandra, A.** Nonlinear observers for a class of biological systems. Application to validation of a phytoplanktonic growth model., *IEEE Transactions on Automatic Control*, vol. 43, pp. 1056-1065, 1998.
- **Bernard, O., Sciandra, A., Madani, S.** Multimodel analysis of the response of the coccolithophore *Emiliana huxleyi* to an elevation of  $pCO_2$  under nitrate limitation. *ecological modeling*, 211, pp. 324-338. 2008.
- **Bernard, O., Sciandra, A., Sallet, G.** A non-linear software sensor to monitor the internal nitrogen quota of phytoplanktonic cells, *Oceanologica Acta*, vol. 24, pp. 435-442, 2001.
- **Beyerinck [Beijerinck], M.W.** Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen. *Botanische Zeitung* 47, 725-739, 741-754, 757-768, 781-785.1890.
- **Bhola, V., Desikan, R., Santosh, S. K., Subburamu, K., Sanniyasi, E., Bux, F.** Effects of parameters affecting biomass yield and thermal behaviour of *Chlorella vulgaris*. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 111 (3), pp. 377–382. 2011.
- **Bilanovic, D., Andargatchew, A., Kroeger, T., Shelef, G.** Freshwater and marine microalgae sequestering of  $CO_2$  at different C and N concentrations – response surface methodology analysis. *Energy Conversion and Management*, 50, pp. 262–267. 2009.
- **Bitaubé Pérez, E. Caro Pina, I., Pérez Rodríguez, L.** Kinetic model for growth of *Phaeodactylum tricornutum* in intensive culture photobioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 40, pp. 520-525. 2008.
- **Bogaerts, Ph., Hanus, R.** On-line state estimation of bioprocesses with full horizon observers. *Mathematics and Computers in Simulation*, Volume 56, Issues 4–5, pp. 425-441. 2001.
- **Bogaerts, Ph., Vande Wouwer, A.** Software sensors for bioprocesses. *ISA Transactions*, Volume 42, Issue 4, pp. 547-558. 2003.
- **Borowitzka, L.J., Borowitzka, M.A.** Commercial production of  $\beta$ -carotene by *Dunaliella salina* in open ponds. *Bulletin of Marine Science*. 47: pp. 244-252. 1990.
- **Borowitzka, M.A.** Vitamins and fine chemicals form micro-algae. In: Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J. (Eds.), *Micro Algal Biotechnology*. Cambridge University Press, pp. 153-196. 1988.
- **Borowitzka, M.A.** Microalgae as source of pharmaceuticals and other biologically active compounds. *Journal of Applied Algal*, 7, pp. 3-15. 1995.
- **Borowitzka, M.A.** Closed algal photobioreactors: design considerations for large-scale systems. *Journal of Marine Biotechnology*, 4: pp. 185-191. 1996.
- **Borowitzka, M.A.** Commercial production of microalgae: Ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of biotechnology*, 70, pp. 313-321. 1999.
- **Borowitzka, M.A.** Culturing microalgae in outdoor ponds. In: *Algal culturing Techniques*. (Anderson, R. Ed). Academic Press, London, pp. 205-217. 2005.

- **Boucher, P., Dumur, D.** La commande prédictive. Editions Technip, Paris. 1996.
- **Bougaran, G., Bernard, O., Sciandra, O.** Modeling continuous cultures of microalgae colimited by nitrogen and phosphorus. Journal of Theoretical Biology, Volume 265, Issue 3, 7, pp. 443-454. 2010.
- **Boza-Condorena, E.G., Atala, D.I.P., Carvalho da Costa, A.** Non-linear predictive control of a fermentor in a continuous reaction-separation process. Proceedings of the World Congress on Engineering and Computer Science 2011 Vol II WCECS 2011, San Francisco, USA. October 19-21, 2011.
- **Brand, L.E.** The salinity tolerance of forty-six marine phytoplankton isolates. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 1984.
- **Brown, M.R., Jeffrey, S.W., Volkman, J.K., Dunstan, G.A.** Nutritional properties of microalgae for mariculture. Aquaculture, 151, pp. 315-331. 1997.
- **Buehner, M.R., Young, P.M., Willson, B., Rausen, D., Schoonover, R., Babbitt, G., Bunch, S.** Microalgae growth modeling and control for a vertical flat panel photobioreactor. 2009 American Control Conference Hyatt Regency Riverfront, St. Louis, MO, USA June 10-12, 2009.
- **Buitenhuis, E.T., Klass, C., de Baar, H.J.W.** Zinc-bicarbonate co-limitation of *Emiliana huxleyi*. Limnology and Oceanography. 48, pp. 1575-1582. 2003.
- **Cannon, M.** Efficient Nonlinear Model Predictive Control algorithms. Annual Reviews in Control, vol.28, pp. 229-237. 2004.
- **Camacho, E. F., Bordons, C.** Model Predictive Control in the process industry. Springer, London. 1998.
- **Camacho, E.F., Bordons, C.** Model predictive control, London, Springer-Verlag, 2ème édition, 2004.
- **Campello, R.J.G.B., Von Zuben, F.J., Amaral, W.C., Meleiro, L.A.C. and Filho, R.M.** Hierarchical fuzzy models within the framework of orthonormal basis functions and their application to bioprocess control. Chemical Engineering Science, 58, pp. 4259-4270. 2003.
- **Carballo-Cárdenas, E.C., Tuan, P.M., Janssen, M., Wijffels, R.H.** Vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) production by the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* and *Tetraselmis suecica* in batch cultivation, Biomolecular Engineering, Volume 20, Issues 4–6, pp. 139-147. 2003.
- **Carlozzi, P., Sacchi, A.** Biomass production and studies on *Rhodospseudomonas palustris* grown in an outdoor, temperature controlled, underwater tubular photobioreactor. Journal of Biotechnology. 88, pp. 239-249. 2001.
- **Carlsson, A.S., van Beilen, J.B., Möller, R., Clayton, D.** Micro-and macro-algae: utility for industrial applications, In: Bowles D, editor. Outputs from the EPOBIO project. UK: CPL Press. pp. 82. 2007.
- **Carvalho, A.P., Malcata, F.X.** Transfer of carbon dioxide within cultures of microalgae: plain bubbling versus hollow-fiber modules. Biotechnology Progress, 17, pp. 265–72. 2001.
- **Carvalho, A.P., Malcata, F.X.** Kinetic modeling of the autotrophic growth of *Pavlova lutheri*: study of the combined influence of light and temperature. Biotechnology Progress. , 19(4), pp.1128-35. 2003.

- **Carvalho, A.P., Meireles, L.A., Malcata, F.X.** Microalgal Reactors: A review of enclosed system designs and performances. *Biotechnology Progress*. 22, 1490-1506. 2006.
- **Casasolan, E., Clanzig, K., Deville, T.** Etude de cas : Filtre de Kalman. 2010.
- **Cassagnau, P., Mijangos, C. Michel, A.** An ultraviolet method for the determination of the residence time distribution in a twin screw extruder, *Polymer Engineering and Science*. 31, pp. 772-778. 1991.
- **Chae, S.R., Hwang, E.J., Shin, H.S.** Single cell protein production of *Euglena gracilis* and carbon dioxide fixation in an innovative photo-bioreactor. *Bioresource Technology*. 97, pp. 322–329. 2006.
- **Chen, F. Johns, M.R.** A strategy for high cell density culture of heterotrophic microalgae with inhibitory substrates. *Journal of Applied Phycology*, Volume 7, Number 1, pp. 43-46, 1995.
- **Chen, M., Tanga, H., Maa, H., Holland, T. C., Nga, K. Y. S., Salley, S. O.** Effect of nutrients on growth and lipid accumulation in the green algae *Dunaliella tertiolecta*. *Bioresource Technology*, Volume 102, Issue 2, pp. 1649-1955. 2011.
- **Cheng, L.H., Zhang, L., Chen, H.L., Gao, C.J.** Carbon dioxide removal from air by microalgae cultured in a membrane-photobioreactor. *Separation and Purification Technology*, 50, pp. 324–9. 2006a.
- **Cheng, L.H., Zhang, L., Chen, H.L., Gao, C.J.** Carbon dioxide removal from air by microalgae cultured in a membrane-photobioreactor. *Separation and Purification Technology*, 50, pp. 324–9. 2006b.
- **Cheng, Y.L., Juang, Y.C., Liao, G.Y., Ho, S.H., Yeh, K.L., Chen, C.Y., Chang, J.S., Liu, J.C., Lee, D.J.** Dispersed ozone flotation of *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 101, pp. 9092–6. 2010.
- **Cheruy, A.** Software sensors in bioprocess engineering. *Journal of Biotechnology*, Volume 52, Number 3, 20, pp. 193-199(7). 1997.
- **Chinnasamy, S., Ramakrishnan, B., Bhatnagar, A., Das, K.** Biomass production potential of a wastewater alga *Chlorella vulgaris* ARC 1 under elevated levels of  $CO_2$  and temperature. *International Journal of Molecular Sciences* 10 (2), pp. 518–532. 2009.
- **Chisti, Y.** Biodiesel from microalgae. *Biotechnology advances*, vol.25, pp. 294-306. 2007.
- **Chisti, Y., Moo-Young, M.** Bioreactor design. In: *Biotechnology*. (Ratlidge, C. and Kristiansen, B. eds). Cambridge University Press, Cambridge, pp. 151-171. 2001.
- **Chiu, S.Y., Tsai, M.T., Kao, C.Y., Ong, S.C., Lin, C.S.** The air-lift photobioreactors with flow patterning for high-density cultures of microalgae and carbon dioxide removal. *Engineering in Life Sciences*. 9, pp. 254-60. 2009.
- **Choi, S., d'Andrea-Novel, B., Fliess, M., Mounier, H., Villagra, J.** Model free control of automotive engine and brake for stop-and-go scenarios, European control conference. 2009.
- **Chrimadha, T., Borowitzka, M.A.** Effect of cell density and irradiance on growth, proximate composition and eicosapentaenoic acid production of *Phaeodactylum*



*tricornutum* grown in a tubular photobioreactor. Journal of Applied Phycology. 6, pp. 67-74. 1994.

- **Chynoweth, D.P.** Review of biomethane from marine biomass. University of Florida. 2002.
- **Clarke, D.W., Mohtadi C., Tuffs, P.S.** Generalized Predictive Control: I. The Basic Algorithm. Automatica, 23 (2), 137. 1987.
- **Clément-Larosière, B.** Etude de la croissance de *Chlorella vulgaris* en photobioréacteur batch et continu, en présence de concentrations élevées de  $CO_2$ . Thèse de Doctorat, Ecole Centrale Paris. France. 2012.
- **Corey, P.D., Leith, D.A., English, M.J.** A growth model for coho salmon including effects of varying ration allotments and temperature. Aquaculture, 30, pp. 125-143. 1983.
- **Cornet, J.F., Dussap, C.G., Gros, J.B.** A simplified monodimensional approach for modelling coupling between radiant light transfer and growth kinetics in photobioreactors. Chemical Engineering Science, 50 (9), pp. 1489-1500. 1995.
- **Cornet, J.F., Dussap, C.G., Gros, J.B.** Kinetics and energetic of photosynthetic micro-organisms in photobioreactors: application to *spirulina* growth, Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, 59, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 153-222. 1998.
- **Costa, A.C., Meleiro, L.A.C., Maciel Filho, R.** Non-linear predictive control of an extractive alcoholic fermentation process. Process Biochemistry, 38, pp. 743-750. 2001.
- **Costa, J.A.V., Linde, G.A., Atala, D.I.P.** Modelling of growth conditions for cyanobacterium *Spirulina platensis* in microcosms. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 16, pp.15–8. 2000.
- **Couté, A.** Diversité chez les microalgues. Techniques sciences Méthodes Génie Urbain Rural, 1, pp. 20-24.1995.
- **Coutteau, P., Geurden, I., Camara, M.R., Bergot, P., Sorgeloos, P.** Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. Aquaculture 155, pp. 149–164.1997.
- **Cuaresma, M., Garbayo, I., Vega, J.M., Vílchez, C.** Growth and photosynthetic utilization of inorganic carbon of the microalga *Chlamydomonas acidophila* isolated from Tinto river. Enzyme and Microbial Technology, 40, pp. 158-162. 2006.
- **Cutler, C.R., Ramaker, B.L.** Dynamic matrix control: a computer control algorithm. Joint Automatic Control Conference, San Francisco (CA). 1980.
- **Davidson, K. and Gurney, W.S.C.** An investigation of non-steady-state algal growth II. Mathematical modelling of co-nutrient limited algal growth. Journal of Plankton Research, 21, pp. 839-858. 1999.
- **Dawes, C.J., Mathieson, A.C.** The Seaweeds of Florida. University Press of Florida, Gainesville. 2008.
- **De Keyser, R.M.C., Van Cauwenberghe, A.** A self-tuning multistep predictor application. Automatica, vol. 15, pp. 167-174. 1979.
- **De Keyser, R.M.C., Van de Velde, Ph.G.A., Dumortier, F.G.A.** A Comparative Study of Self-adaptive Long-range Predictive Methods. Automatica, vol. 24, pp. 149-163. 1988.

- **De la Noüe, J., De Pauw, N.** The potential of microalgal biotechnology: a review of production and uses of microalgae. *Biotechnology Advances*, 6, pp.723-770. 1988.
- **de Morais, M.G., Costa, J.A.V.** Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina sp.* and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*, 129, pp. 439–45. 2007a.
- **de Morais, M.G., Costa, J.A.V.** Carbon dioxide fixation by *Chlorella kessleri*, *C. vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina sp.* cultivated in flasks and vertical tubular photobioreactors. *Biotechnology Letters*, 29, pp. 1349–52. 2007b.
- **de Morais, M.G., Costa, J.A.V.** Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. *Energy Conversion and Management*, 48, pp. 2169–73. 2007c.
- **Del Campo, J.A., Moreno, J., Rodríguez, H., Vargas, M.A., Rivas, J., Guerrero, M.G.** Carotenoid and phosphorus ions from synthetic wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* coimmobilized in alginate beads with the microalgae growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. *Water Research*, 36, pp. 2941-2948. 2000.
- **Demirbas, A.** Mechanisms of liquefaction and pyrolysis reactions of biomass. *Energy Conversion and Management* 41, pp. 633-646. 2000.
- **Demirbas, A.** Oily products from mosses and algae via pyrolysis. *Energy Sources Part A-Recovery Utilization and Environmental Effects* 28, pp. 933-940. 2006.
- **Dermoun, D., Chaumont, D., Thebault, J.M., Dauta, A.** Modelling of growth of *Porphyridium cruentum* in connection with two interdependent factors: light and temperature. *Bioresource Technology*. 42, pp. 113-117. 1992.
- **Diao, Y.F., Zheng, X.Y., He, B.S., Chen, C.H., Xu, X.C.** Experimental study on capturing  $CO_2$  greenhouse gas by ammonia scrubbing. *Energy Conversion and Management*, 45, pp. 2283-96. 2004.
- **Dochain, D.** Automatique des bioprocédés, Hermes Science Europe Ltd, Paris, 2001.
- **Dochain, D.** State and parameter estimation in chemical and biochemical processes: a tutorial. *Journal of Process Control*, 13, pp. 801-818. 2003.
- **Doré-Deschênes, F.** Utilisation des microalgues comme source d'énergie durable. Essai de maîtrise en environnement, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, 111 p. 2009.
- **Dote, Y., Sawayama, S., Inoue, S., Minowa, T., Yokoyama, S.** Recovery of Liquid Fuel from Hydrocarbon-Rich Microalgae by Thermochemical Liquefaction. *Fuel* 73, pp. 1855-1857. 1994.
- **Doucha, J., Livansky, K.** Process of outdoor thinlayer cultivation of microalgae and blue-green algae and bioreactor for performing the process. US Patent No 5981271. 1999.
- **Douskova, I., Doucha, J., Livansky, K., Machat, J., Novak, P., Umysova, D., Zachleder, V., Vitova, M.** Simultaneous flue gas bioremediation and reduction of microalgal biomass production costs. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 82 (1), pp. 179-185. 2009.
- **Dowd, J.E., Kwok, K.E., Piret, J.M.** Predictive modeling and loose-loop control for perfusion bioreactors, *Biochemical Engineering Journal*, 9, pp. 1-9. 2001.

- **Droop, M.R.** Vitamin B12 and marine ecology. IV. The kinetics of uptake, growth and inhibition in *Monochrysis Lutheri*. Journal of Marine Biology, 48, pp. 689-733. 1968.
- **Droop, M.R.** Some thoughts on nutriment limitation in algae. Journal of Phycology, 9, 264-272. 1973.
- **Dunahay, T.G., Jarvis, E.E., Dais, S.S., Roessler, P.G.** Manipulation of microalgal lipid production using genetic engineering. Applied Biochemistry and Biotechnology, 57-58, pp. 223-31.1996.
- **Elri, I. R., Turpin, D. H.** Steady-state luxury consumption and the concept of optimum nutrient ratios: a study with phosphate and nitrate limited *Selenastrum minutum* (chlorophyta). Journal of Phycology, 21, pp. 592-602. 1985.
- **Eriksen, N.T.** The technology of microalgal culturing. Biotechnology Letters. 30, pp. 1525-36. 2008.
- **Essen, H.V., Hijmeijer, H.** Nonlinear model predictive control of constrained mobile robots. In: Proceedings of the European Control Conference. Porto, Portugal. pp. 1157-1162. 2001.
- **Estrada Duran, S.L.** Simulation dynamique des photobioréacteurs : Etude de l'influence de l'azote et du phosphore sur la croissance de *Porphyridium purpureum*, Thèse Doctorale, Ecole Centrale Paris, France, 2007.
- **Filali, R.** Validation de la méthode granulométrique pour le comptage cellulaire des microalgues. Projet de laboratoire, Master Recherche 2<sup>ème</sup> année, Ecole Centrale Paris, 2008.
- **Findeisen, R., Allgöwer, F., Biegler, L.T.** Assessment and future directions of Nonlinear Model Predictive Control. Lecture Notes in Control and Information Sciences, Springer, vol. 358. Springer, 2007.
- **Fletcher, R.** Practical Methods of optimization, Second edition. A wiley Interscience publication. John Wiley & Sons LTD. 1991.
- **Flila, S.** Identification optimale et commande prédictive. Thèse de Doctorat, Université de Lyon, France. 2010.
- **Fogg, G.E.** The metabolism of algae. London, Methuen, 149 p. (Collection Methuen's monographs on biological subjects). 1953.
- **Foss, B.A., Johansen, T.A. and Sorensen, A.V.** Nonlinear predictive control using local models-applied to a batch fermentation process. Control Engineering Practice, Vol. 3, No. 3, pp. 389-396. 1995.
- **Fridlyand, L., Kaplan, A., Reinhold, L.** Quantitative evaluation of the role of a putative  $CO_2$ -scavenging entity in the cyanobacterial  $CO_2$ -concentrating mechanism. BioSystems. 37, pp. 229-238. 1996.
- **Frohlich, B.T., Webster, I.A., Ataa, M.M., Shuler, M.L.** Photobioreactors: models for interaction of light intensity, reactor design and algal physiology. Biotechnology and bioengineering symposium. 13, pp. 331-350. 1983.
- **Fulks, W., Main, K.L.** Part I: Background review the design and operation of commercial-scale live feeds production systems. In: Rotifer and Microalgae Culture Systems. (Fulks, W. and Main, K.L. eds). The Oceanic Institute, Honolulu, pp. 2-46. 1991.

- **Gaffron, H., Rubin, J.** Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae. *The Journal of General Physiology*, 26, pp. 219-240. 1942.
- **Garcia, J., Hernandez-Marine, M.** High rate algal pond operating strategies for urban wastewater nitrogen removal. *Journal of Applied Phycology*, 12, pp. 331-339. 2000.
- **Gauthier, J.P., Hammouri, H., Celle, F.** A simple observer for nonlinear systems – Applications to bioreactors. *IEEE Transactions on Automatic Control*, 37, pp. 875-880, 1992.
- **Gavrilescu, M., Chisti, Y.** Biotechnology—a sustainable alternative for chemical industry. *Biotechnology Advances*, 23, pp. 471–99. 2005.
- **Gendron, R., Daigneault, L.E., Tatibouët, J., Dumoulin, M.M.** Residence time distribution in extruders determined by in-line ultrasonic measurements, *Advances in Polymer Technology*. 15, pp. 111-125. 1996.
- **Ghirardi, M.L., Dubini, A., Yu, J.P., Maness, P.C.** Photobiological hydrogen-producing systems. *Chemical Society Reviews*, 38(1): pp. 52-61.2009.
- **Ginhoux, R.** Compensation des mouvements physiologiques en chirurgie robotisée par commande prédictive. Thèse de Doctorat. Université Louis Pasteur, Strasbourg, France. 2003.
- **Ginzburg, B.Z.** Liquid fuel (oil) from halophilic algae: a renewable source of non-polluting energy. *Renewable Energy*, 3, pp. 249–252. 1993.
- **Glass, J.B., Wolfe-Simon, F., Anbar, A.D.** Coevolution of metal availability and nitrogen assimilation in cyanobacteria and algae. *Geobiology*. 7(2), pp. 100-23. 2009.
- **Global Warming.** Union of Concerned Scientist, [Internet], 2010[cited March 2010].
- **Goffaux, G., Vande Wouwer, A.** Design of a Robust Nonlinear Receding-Horizon Observer – Application to a biological system. *Proceedings of the 17th World Congress The International Federation of Automatic Control Seoul, Korea, July 6-11, 2008.*
- **Goffaux, G., Vande Wouwer, A., Bernard, O.** Improving continuous–discrete interval observers with application to microalgae-based bioprocesses. *Journal of Process Control*, 19 pp. 1182–1190. 2009a.
- **Goffaux, G., Vande Wouwer, A., Bernard, O.** Continuous-discrete interval observers for monitoring microalgae cultures. *Biotechnology Progress*, 25(3), pp. 667-75. 2009b.
- **Goh,C.J., Teo, K.L.** Control parameterization: A unified approach to optimal control problems with general constraints. *Automatica*, 24(1), pp. 3-18. 1988.
- **Goldman, J.C.** Physiological aspects in algal mass cultures. In: *Algae Biomass*. (Shelef, G. and Soeder, C.J. eds). Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 343-359. 1980.
- **Goldman, J.C., Carpenter, E.J.** A Kinetic Approach to the Effect of Temperature on Algal Growth. *Limnology and Oceanography*, Vol. 19, No. 5, pp. 756-766. 1974.
- **Goldman, J.C., Oswald, W.J., Jenkins, D.** The kinetics of inorganic carbon limited algal growth, *Journal WPCF*. 46, pp. 554-573. 1974.
- **Gomez, P.I., Barriga, A., Cifuentes, A.S., Gonzales, M.A.** Effect of salinity on the quantity and quality of carotenoids accumulated by *Dunaliella salina* (strain CONC-

- 007) and *Dunaliella barbawil* (strain ATCC 30861) Chlorophyta. Biological Research. 36, pp. 185-192. 2003.
- **Gonzales, V.A.** Estimation et commande robuste non-linéaires des procédés biologiques de dépollution des eaux usées : application à la digestion anaérobie. Thèse de Doctorat, Université de Perpignan, France. 2001
  - **Gordon, H. T., Bauernfeind, J. C.** Carotenoids as food colorants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, pp. 18–59.1982.
  - **Gouveia, L., Nobre, B.P., Marcelo, F.M., Mrejen, S., Cardoso, M.T., Palavra, A.F., Mendes, R.L.** Functional food oil coloured by pigments extracted from microalgae with supercritical  $CO_2$ . Food Chemistry, Volume 101, pp. 717-723. 2007.
  - **Green, B.R., Durnford, D.G.** The chlorophyll-carotenoid proteins of oxygenic photosynthesis. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 47, 685-714. 1996.
  - **Grima, M.E., Acien Fernandez, F., Garcia Camacho, F., Chisti, Y.** Photobioreactors: Light regime, mass transfer, and scale up. Journal of Biotechnology. 70, pp. 231-47. 1999.
  - **Grima, M.E., Fernandez Sevilla, J.M., Sanchez Perez, J.A., Garcia Camacho, F.** A study on simultaneous photolimitation and photoinhibition in dense microalgal cultures taking into account incident and averaged irradiances. Journal of Biotechnology, 45, pp. 59-69. 1996.
  - **Grima, M.E., García Camacho, F., Sánchez Pérez, J.A., Fernández Sevilla, J., Acien Fernández, F.G., Contreras Gómez, A.** A mathematical model of microalgal growth in light limited chemostat cultures. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. 61, pp. 167-173. 1994.
  - **Grodzinski, B., Woodrow, L., Leonardos, E.D., Dixon, M., Tsujita, M.J.** Plant responses to short and long-term exposures to high carbon dioxide levels in closed environments. Advances in Space Research, 18, pp. 203–211, 1996.
  - **Guan, Y., Zhang, W., Deng, M., Jin, M., Yu, X.** Significant enhancement of photobiological  $H_2$  evolution by carbonylcyanide mchlorophenylhydrazone in the marine green alga *Platymonas subcordiformis*. Biotechnology Letters 26, pp. 1031–1035. 2004.
  - **Gustafson, K.R., Cardellina, J.H., Fuller, R.W., Weislow, O.S., Kiser, R.F., Snader, K.M., Patterson, K.M.L., Boyd, M.R.** AIDS-antiviral sulfolipids from cyanobacteria (blue-green algae). Journal of the National Cancer Institute. 81, pp. 1254-1258.1989.
  - **Gutierrez, R., Gutierrez-Sanchez, R., Nafidi, A.** Trend analysis using nonhomogeneous stochastic diffusion processes. Emission of  $CO_2$ ; Kyoto protocol in Spain. Stochastic Environmental Research and Risk Assessment, 22, pp. 57–66. 2008.
  - **Hadiyanto, H., Esveld, D.C, Boom, R.M., van Straten G., van Boxtel A.J.B.** Control Vector Parameterization with Sensitivity Based Refinement Applied to Baking Optimization. Control Vector Parameterization with Sensitivity Based Refinement Applied to Baking Optimization Proceedings of European Congress of Chemical Engineering (ECCE-6) Copenhagen, 16-20 September 2007.
  - **Hafidi, G.** Application de la commande prédictive non-linéaire à la commande de culture de bactéries *Escherichia coli*. Thèse Doctorale, Supélec, Université Paris-Sud 11, France, 2008.

- **Hankammer, B., Lehr, F., Rupprecht, J., Mussnug, J.H., Posten, C., Kruse, O.** Photosynthetic biomass and H<sub>2</sub> production by green algae: from bioengineering to bioreactor scale up. *Physiologia Plantarum* in press. 2007.
- **Harris, G.P.** Phytoplankton ecology. Chapman & Hall, New York. 1988.
- **Henson, M.A.** Nonlinear Predictive Control: current status and future directions. *Computers and Chemical Engineering*, vol. 23, pp. 187-202. 1998.
- **Herbland, A.** La culture du phytoplancton dans les bassins aquacoles a fond de terre. Aspects théoriques et applications pratiques. IFREMER/DAC ed., Nouvelle-Caledonie, 20 p. 2007.
- **Herzog, H.** What future for carbon capture and sequestration? *Environmental Science and Technology*, 35, pp. 148A–53A. 2001.
- **Ho, S-H., Chen, C-Y., Lee, D-J., Chang, J-S.** Perspectives on microalgal CO<sub>2</sub>-emission mitigation systems — A review, *Biotechnology Advances*, Volume 29, Issue 2, pp. 189-198. 2010.
- **Hodaifa, G., Martinez, M.E., Sanchez, S.** Daily doses of light in relation to the growth of *Scenedesmus obliquus* in diluted three-phase olive mill wastewater. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84, pp. 1550-8. 2009.
- **Hoffmann, J.P.** Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae. *Journal of Phycology*, 34, pp. 757-763. 1998.
- **Hondzo, M., Lyn, D.** Quantified small-scale turbulence inhibits the growth of a green alga. *Freshwater Biology*, 41, pp. 51-61. 1999.
- **Hoppe, H.A.** Marine algae and their products and constituents in pharmacy. In Hoppe HA, Levring T, Tanaka Y (eds), *Marine Algae in Pharmaceutical Science*. Walter de Gruyter, Berlin -New York, pp.25-119. 1979.
- **Hu D., Liu, H., Yang, C., Hu, E.** The design and optimization for light-algae bioreactor controller based on Artificial Neural Network-Model Predictive Control. *Acta Astronautica* 63, pp. 1067 -1075. 2008.
- **Hu, G.H., Kadri, I., Picot, C.** On-line measurement of the residence time distribution in screw extruders, *Polymer Engineering and Science*. 39, pp. 930-939. 1999.
- **Huang, B., Kadali, R.** Dynamic modeling, Predictive Control and performance monitoring: a data-driven subspace approach. *Lecture Notes in Control and Information Sciences*, Springer, vol. 374. Springer, 2008.
- **Hulatt, C. J., Thomas, D.N.** Productivity, carbon dioxide uptake and net energy return of microalgal bubble column photobioreactors. *Bioresource Technology*. 102, pp. 5775-5787. 2011.
- **Hulhoven, X., Vande Wouwer, A., Bogaerts, Ph.** **Hybrid extended Luenberger-asymptotic observer for bioprocess state estimation.** *Chemical Engineering Science*, Volume 61, Issue 21, 6, pp. 7151-7160. 2006.
- **Idiri, G.** Commande prédictive des systèmes non linéaires dynamiques. Projet de Magister, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie. 2011.
- **IEA GHG.** Leading options for the capture of CO<sub>2</sub> emissions at power stations, report PH3/14, IEA Greenhouse Gas R&D Programme. Available From: 18. Cheltenham, UK, Feb. 2000.
- **Ifrim, G., Barbu, M., Titica, M., Boillereaux, L., Caraman, S.** Control of the microalgae photosynthetic growth in a torus photobioreactor. *Annals of The*

University of Craiova Series: Automation, Computers, Electronics and Mechatronics. Vol1. 2010.

- **Israelsson, P.H., Chow, A.C., Adams, E.E.** An updated assessment of the acute impacts of ocean carbon sequestration by direct injection. *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 4, pp. 262–71. 2009.
- **Jacob-Lopes, E., Scoparo, C.H.G., Franco, T.T.** Rates of  $CO_2$  removal by *Aphanothece microscopica Nægeli* in tubular photobioreactors. *Chemical Engineering and Processing*, 47, 1365–1373. 2008.
- **Jacob-Lopes, E., Scoparo, C.H.G., Lacerda, L., Franco, T.T.** Effect of light cycles (night/day) on  $CO_2$  fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors. *Chemical Engineering and Processing*, 48: pp. 306–10. 2009.
- **Jacob-Lopes, E., Scoparo, C.H.G., Queiroz, M.I., Franco, T.T.** Biotransformations of carbon dioxide in photobioreactors. *Energy Conversion and Management* 51, pp. 894-900. 2010.
- **Janssen, M., Tramper, J., Mur, L.R., Wijffels, R.H.** Enclosed outdoor photobioreactors: light regime, photosynthesis efficiency, scale-up, and future prospects. *Biotechnology and Bioengineering*. 81, pp. 193-204. 2002.
- **Jiang, Y., Chen, F., Liang, S.Z.** Production potential of docosahexaenoic acid by the heterotrophic marine dinoflagellate *Cryptothecodinium cohnii*. *Process Biochemistry*, 34, pp. 633-637. 1999.
- **Jimenez, C., Cossio, B.R., Labella, D., Niell, F.X.** The feasibility of industrial production of *Spirulina (Arthrospira)* in southern Spain. *Aquaculture*, 217, pp. 179-190. 2003.
- **Kajiwara, S., Yamada, H., Narumasa, O.** Design of the bioreactor for carbon dioxide fixation by *Synechococcus* PCC7942. *Energy Conversion and Management*, 38, 529– 532. 1997.
- **Kalman, R.E.** A New Approach to Linear Filtering and Prediction Problems. *Transactions of the ASME - Journal of Basic Engineering*, Vol. 82, pp. 35-45. 1960.
- **Kalman, R.E., Bucy, R.S.** New Results in Linear Filtering and Prediction Theory. *Transactions of the ASME - Journal of Basic Engineering*, Vol. 83, pp. 95-107. 1961.
- **Karel, M., Nakhost, Z.** Potential utilization of algal protein concentrate as a food ingredient in space habitats. *Science Aliments*, 9, pp. 491– 506, 1989.
- **Kim, D.J., Choi, J. W., Choi, N.C., Mahendran, B., Lee, C.E.** Modeling of growth kinetics for *Pseudomonas spp.* during benzene degradation. *Applied Microbial and Cell Physiology*, 69, pp. 456-462. 2005.
- **Kim, N.J., In Soo, S., Hur, B.K., Lee, C.G.** Simple Monodimensional Model for Linear Growth Rate of Photosynthetic Microorganisms in Flat-Plate Photobioreactors. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12(6), pp. 962-971. 2002.
- **King, D.L.** The role of carbon in eutrophication, *Journal WPCF*. 42, pp. 2035- 2051. 1970.
- **Kintisch, E.** Climate change: senate looms as bigger hurdle after Copenhagen. *Science*, 327, pp. 19–21. 2010.
- **Kondili, E.M., Kaldellis, J.K.** Biofuel implementation in East Europe: current status and future prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 11, pp. 2137–2151. 2007.

- **Krystallidis, A.** Application du génie des procédés aux biotechnologies marines : étude de faisabilité, modélisation et simulation dynamique d'un procédé de culture de microalgues, Thèse Doctorale, Ecole Centrale Paris, France, 1994.
- **Kumar, A., Ergas, S., Yuan, X., Sahu, A., Zhang, Q., Dewulf, J., Malcata, F.X., van Langenhove, H.** Enhanced  $CO_2$  fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. *Trends in Biotechnology*, Volume 28, Issue 7, pp. 371-380. 2010.
- **Kumar, K., Dasgupta, C.N., Nayak, B., Lindblad, P., Das, D.** Development of suitable photobioreactors for  $CO_2$  sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. *Bioresource Technology*, 102 (8), pp. 4945-53. 2011.
- **Lage, O.M., Darente, A.M., Soares, H.M.V.M., Vasconcelos, M.T.S.D., Salem, R.** Some effects of copper on the dinoflagellates *Amphidinium carterae* and *Prorocentrum micans* in batch culture. *European Journal of Phycology*. 29, pp. 253-260. 1994.
- **Lechevalier, H. A.** Volume II Fungi, Algae, Protozoa, and Viruses. 2ème édition, Floride, Laskin, Allen I., 874 p., CRC handbook of microbiology. 1977.
- **Lee, J.S., Lee, J.P.** Review of Advances in Biological  $CO_2$  Mitigation Technology. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, Vol.8, No.6, pp. 354–359. 2003.
- **Lee, J.S., Park, S.C.** Carbon dioxide fixation by microalgae, Korea Institute of Energy Research. 1995.
- **Lee, Y.K.** Carbon Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential. *Journal of Applied Phycology*. 13, pp. 307-315. 2001.
- **Lee, Y.K., Ding, S.Y., Low, C.S., Chang, Y.C., Forday, W.L., Chew, P.C.** Design and performance of an  $\alpha$ -type tubular photobioreactor for mass cultivation of microalgae. *Journal of Applied Phycology*. 7, pp. 47-51. 1995.
- **Lemesle, V.** Modélisation mathématique structure de la croissance cellulaire en chemostat : analyse et estimation. Thèse de Doctorat, Université Nice Sophia Antipolis – UFR Sciences. France, 2004.
- **Lemesle, V., Mailleret, L.** A Mechanistic Investigation of the Algae Growth “Droop” Model. *Acta Biotheoretica* , Volume 56, Numbers 1-2, pp. 87-102. 2008.
- **Levin, D.B., Pitt, L., Love, M.** Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. *International Journal of Hydrogen Energy* 29: pp. 173-185. 2004.
- **Lewis, F.L.** Optimal and Robust Estimation: With an Introduction to Stochastic Control Theory, Second Edition. Published CRC Press - 552 Pages. 2008.
- **Li, H-B., Cheng, K-W., Wong, C-C., Fan, K-W., Chen, F., Jiang, Y.** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*. 2006.
- **Li, J.** On-line state estimation of microalgal photobioreactors, PhD thesis, University of Hawaii, USA. 2002.
- **Li, J., Xu, N-S., Su, W.W.** Online estimation of stirred-tank microalgal photobioreactor cultures based on dissolved oxygen measurement *Biochemical Engineering Journal* 14, pp. 51-65. 2003.
- **Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C.Q., Dubois-Calero, N.** Biofuels from microalgae. *Biotechnology Progress*, 24(4), pp. 815-20. 2008.



- **Lindström, K.** effect of temperature, light and pH on growth, photosynthesis and respiration of the dinoflagellate *Peridinium cinctum* fa. *Westii* in laboratory cultures. Journal of Phycology, 20, pp. 212-220. 1984.
- **Littler, D. S., Littler, M. M.** Caribbean Reef Plants. Offshore Graphics, Washington, D.C. 2000.
- **Livansky, K.** Losses of  $CO_2$  in outdoor mass cultures: determination of the mass transfer coefficient  $kl$  by means of measured pH course in  $NaHCO_3$  solution. Algal. Stud. 58, 87-97. 1990.
- **Ljung, L.** System Identification-theory for the user Prentice Hall. Englewood Cliffs, New Jersey. 1987.
- **Long, C.E., Polisetty, P.K., Gatzke, E.P.** Nonlinear Model Predictive Control using deterministic global optimization. Journal of Process Control, vol. 16, pp. 635-643. 2006.
- **Lorenz, R. T., Cysewski, G. R.** Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. Trends biotechnology, 18, 160–167. 2000.
- **Lu, C., Torzilla G., Vonshak, A.** Kinetic response of photosystem II photochemistry in the cyanobacterium *Spirulina plantensis* to high salinity is characterized by two distinct phases. Australian Journal of Plant Physiology. 26, pp. 283-292. 1999.
- **Luan, T.G., Jing J., Sidney, M.N. Chan, Wong Y.S., Nora, F.Y. Tam.** Biosorption and biodegradation of tributyltin (TBT) by alginate immobilized *Chlorella vulgaris* beads in several treatment cycles. Process Biochemistry, 41, pp. 1560-1565. 2006.
- **Luenberger, D.G.** An introduction to observer. IEEE Transactions on Automatic Control, vol. AC-16, No. 6, pp. 596-602. 1971.
- **Lupu, C., Haszler, M., Popescu, D.** Adaptive Control of Bioprocess. Proceedings of the 10th Mediterranean Conference on Control and Automation - MED2002 Lisbon, Portugal, July 9-12, 2002.
- **Maciejowski, J.M.** Predictive control with constraints, Prentice Hall, 2002.
- **Maeda, K., Owada, M., Kimura, N., Omata, K., Karube, I.**  $CO_2$  fixation from flue gas on coal fired thermal power plant by microalgae. Energy Conversion and Management, 36(6-9), pp. 717-720. 1995.
- **Magni, L., Raimondo, D.M., Allgöwer, F.** Nonlinear Model Predictive Control: towards new challenging applications. Lectures Notes in Control and Information Sciences, Springer. 2009.
- **Mailleret, L., Bernard, O., Steyer, J.P.** Nonlinear adaptive control for bioreactors with unknown kinetics. Automatica, 40, pp. 1379-1385, 2004.
- **Mailleret, L., Gouzé, J.L., Bernard, O.** Nonlinear control for algae growth models in the chemostat. Bioprocess and Biosystems Engineering, 27, pp. 319-327. 2005.
- **Mairet, F., Bernard, O.** Coupling framers to get enhanced interval observers. Application to growth rate estimation in a photobioreactor. Joint 48th IEEE Conference on Decision and Control and 28th Chinese Control Conference Shanghai, P.R. China, December 16-18, 2009.
- **Malone, T.C.** Phytoplankton photosynthesis and carbon-specific growth: light-saturated rates in a nutrient-rich environment. Limnology and Oceanography, 27, pp. 226-235. 1982.

- **Marafioti, G., Tebbani, S., Beauvois, D., Becerra-Celis, G., Isambert, A., Hovd, M.** Unscented Kalman Filter State and Parameter estimation in a photobioreactor for microalgae production. International Symposium on Advanced Control of Chemical Processes, Istanbul. Turquie. 2009.
- **Marcus, Y.** Distribution of inorganic carbon among its component species in cyanobacteria: Do cyanobacteria in fact actively accumulate inorganic carbon? Journal of Theoretical Biology, 185, pp. 31-45. 1997.
- **Martínez Sancho, M.E., Jiménez Castillo, J.M., El Yousfi, F.** Photoautotrophic consumption of phosphorus by *Scenedesmus obliquus* in a continuous culture. Influence of light intensity. Process Biochemistry; 34, pp. 811-818. 1999a.
- **Martínez Sancho, M.E., Jiménez Castillo, J.M., El Yousfi, F.** Influence of phosphorus concentration and temperature on growth and phosphorus uptake by the microalga *Scenedesmus obliquus*. Bioresource Technology, 67, pp. 233-240. 1999b.
- **Masci, P., Grogard, F., Bernard, O.** Microalgal biomass surface productivity optimization based on a photobioreactor model. 11th Computer applications in biotechnology, Leuven, Belgium, CAB. 2010.
- **Matsumoto, H., Hamasaki, A., Sioji, N., Ikuta, Y.** Influence of  $CO_2$ ,  $SO_2$  and  $NO$  in flue gas on microalgae productivity. Journal of Chemical Engineering of Japan, 30, pp. 620-4. 1997.
- **Matsumoto, H., Shioji, N., Hamasaki, A., Ikuta, Y., Fukuda, Y., Sato, M., Endo, N., Tsukamoto, T.** Carbon dioxide fixation by microalgae photosynthesis using actual flue gas discharged from a boiler. Applied Biochemical and Biotechnology, 51/52, pp. 681-692. 1995.
- **Mayer, A.M.S., Lehmann, V.K.B.** Marine pharmacology in 1999: antitumor and cytotoxic compounds. Anticancer Research, 21, pp. 2489-2500. 2001.
- **Mayer, A.M.S., Hamann, M.T.** Marine pharmacology in 2000: marine compounds with antibacterial, anticoagulant, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiplatelet, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the cardiovascular, immune, and nervous system and other miscellaneous mechanisms of action. Marine Biotechnology, 6, pp. 37-52. 2004.
- **Mayne, D.Q., Rawlings, J.B., Rao, C.V., Sokaert, P.O.M.** Constrained Model Predictive Control: stability and optimality. Automatica, vol.36, No.6, pp. 789-814. 2000.
- **Meeting, F.B.** Biodiversity and application of microalgae. Journal of industrial Microbiology, 17, pp. 477-489. 1996.
- **Meireles, L.A., Guedes, A.C., Barbosa, C.R., Azevedo, J.L., Cunha J.P., Malcata, F.X.** On-line control of light intensity in a microalgal bioreactor using a novel automatic system. Enzyme and Microbial Technology, 42, pp. 554-559, 2008.
- **Melis, A.** Photosynthetic  $H_2$  metabolism in *Chlamydomonas reinhardtii* (unicellular green algae). Planta 226(5): pp. 1075-1086. 2007.
- **Melis, A., Happe, T.** Hydrogen production: green algae as a source of energy. Plant Physiology 127, pp. 740-748. 2001.
- **Melis, A., Happe, T.** Trails of green alga hydrogen research – from Hans Gaffron to new frontiers. In : Discoveries in Photosynthesis, Springer Netherlands (ed.), pp. 681-689, 2006.

- **Mélo T.A., Canevarolo, S. V.** An optical device to measure in-line residence time distribution curves during extrusion, *Polymer Engineering and Science*. 42, pp. 170-181. 2002.
- **Miao, X., Wu, Q.** High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*. *Journal of Biotechnology* 110, pp. 85-93. 2004a.
- **Miao, X., Wu, Q., Yang, C.Y.** Fast pyrolysis of microalgae to produce renewable fuels. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 71: pp. 855-863. 2004b.
- **Michaelis, L., Menten, M.L.** Die kinetic der invertinwirkung. *Biochemische Zeitschrift*, 49, 334-369. 1913.
- **Migliore, E-G.** Commande prédictive à base de programmation semi définie. Thèse de Doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, France. 2004.
- **Miron, A.S., Camacho, F.G., Gomez, A.C., Grima, E.M., Chisti, Y.** Bubble-Column and Airlift photobioreactors for algal culture. *Australian Institute of Chemical Engineers Journal*. 46, pp. 1872-1887. 2000.
- **Miron, A.S., Gomez, A.C., Camacho, F.G., Grima, E.M., Chisti, Y.** Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae. *Journal of Biotechnology*. 70, pp. 249-270. 1999.
- **Miron, A.S., Garcia, M.C.C., Camacho, F.G., Grima, E.M., Chisti, Y.** Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: studies in fed-batch culture. *Enzyme and Microbial Technology*, 31, pp. 1015-23. 2002.
- **Moheimani, N.R.** The culture of coccolithophorid algae for carbon dioxide bioremediation. PhD, Murdoch University, Perth, Australia. 2005.
- **Monod, J.** Recherches sur la Croissance des Cultures Bactériennes. Herman, Paris, 1942.
- **Moreau, D., Tomasoni, C., Jacquot, C., Kaas, R., Le Guedes, R., Cadoret, J-P., Muller-Feuga, A., Kontiza, I., Vagias, C., Roussis, V., Roussakis, C.** Cultivated microalgae and the carotenoid fucoxanthin from *Odontella aurita* as potent anti-proliferative agents in bronchopulmonary and epithelial cell lines. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 22, pp. 97-103. 2006.
- **Morel, F. M. M., Reinfelder, J.R., Roberts, S.B., Chamberlain, C.P., Lee, J.G., Yee, D.** Zinc and carbon co-limitation of marine phytoplankton. *Nature*. 369, pp.740-742. 1994.
- **Morita, M., Watanabe, Y., Saiki, H.** Investigation of photobioreactor design for enhancing the photosynthetic productivity of microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*. 69, pp. 693 698. 2000.
- **Morrissey, W.A., Justus, J.R.** Global Climate Change. Cambridge Scientific Abstracts. 1997.
- **Moser, H.** The dynamic of the bacterial populations maintained in the chemostat. Carnegie Institution of Washington, Washington DC. 1985.
- **Muller-Feuga, A.** Microalgues marines. Les enjeux de la recherché. Plouzane, Editions IFREMER, 35 pages. 1996.

- **Muller-Feuga, A.** Growth as a function of rationing: a model applicable to fish and microalgae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 236, pp. 1-13. 1999.
- **Muñoz, R., Guieysse, B.** Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water Research* 40, pp. 2799-2815. 2006.
- **Muñoz, R., Teresa Alvarez, M., Muñoz, A., Terrazas, E., Guieysse, B., Mattiasson, B.** Sequential removal of heavy metals ions and organic pollutants using an algal-bacterial consortium. *Chemosphere*, 63, pp. 903-911. 2006.
- **Naouals, S.** Modélisation d'un photobioréacteur pour le pilotage de microalgues. Thèse de doctorat, Ecole Centrale Paris, Châtenay-Malabry (France). 2000.
- **Novak, J.T., Brune, D.E.** Inorganic carbon limited growth kinetics of some freshwater algae, *Water Resources*. 19, pp. 215-225. 1985.
- **Ogawa T., Aiba, S.** Bioenergetic analysis of mixotrophic growth in *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus*. *Biotechnology and Bioengineering*, 23, pp. 1121-1132, 1981.
- **Ogbonna, J. C., Yada, H., Tanaka. H.** Kinetic study on light-limited batch cultivation of photosynthetic cells. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80, pp. 259-264. 1995.
- **Olguin, E.J.** Phycoremediation: Key issues for cost-effective nutrient removal processes. *Biotechnology Advances* 22, pp. 81-91. 2003.
- **Olivo, E.** Conception et étude d'un photobioréacteur pour la production en continu de microalgues en écloséries aquacoles. Thèse de Doctorat, Université de Nantes, France, 2007.
- **Ono, E., Cuello, J. L.** Design parameters of solar concentrating systems for  $CO_2$ -mitigating algal photobioreactors. *Energy, International Journal*, 29, pp. 1651-1657. 2004.
- **Ördög, V., Szigeti, J., Pulz, O.** Proceedings of the conference on progress in plant sciences from plant breeding to growth regulation. Pannon University, Mosonmagyaróvár. 1996.
- **Osinga, R., Tramper, J., Burgess, J.G., Wijffels, R. H.** Marine bioprocess engineering. *Proceedings of the Society for Industrial Microbiology*. 35, pp. 1-413. 1999.
- **Oswald, W.J.** Productivity of algae in sewage disposal. *Solar Energy*, 15(1): pp. 107-117. 1973.
- **Ota, M., Kato, Y., Watanabe, H., Watanabe, M., Sato, Y., Smith, R.L. Jr., Inomata, H.** Fatty acid production from a highly  $CO_2$  tolerant alga, *Chlorococcum littorale*, in the presence of inorganic carbon and nitrate. *Bioresource Technology*, 100, pp. 5237-42. 2009.
- **Packer, M.** Algal capture of carbon dioxide; biomass generation as a tool for greenhouse gas mitigation with reference to New Zealand energy strategy and policy. *Energy Policy*, 37, pp. 3428-37. 2009.
- **Patterson, G.M.L., Baldwin, C.L., Bolis, C.M., Caplan, F.R., Karuso, H., Larsen, L.K., Levine, I.A., Moore, R.E., Nelson, C.S., Tschappat, K.D., Tuang, G.D., Furusawa, E., Furusawa, S., Norton, T.R., Raybourne, R.B.** Antineoplastic activity of cultured blue-green algae (Cyanophyta). *Journal of Phycology*. 27, pp. 530-536. 1991.

- **Peeters, J.C.H., Eilers, P.** The relationship between light intensity and photosynthesis. A simple mathematical model. *Hydrobiological Bulletin*, 12, pp. 134-136. 1978.
- **Peng, W.M., Wu, Q.Y., Tu, P.G.** Effects of temperature and holding time on production of renewable fuels from pyrolysis of *Chlorella protothecoides*. *Journal of Applied Phycology* 12, pp. 147-152. 2000.
- **Peng, W.M., Wu, Q.Y., Tu, P.G.** Pyrolytic characteristics of heterotrophic *Chlorella protothecoides* for renewable bio-fuel production. *Journal of Applied Phycology* 13, pp. 5-12. 2001a.
- **Peng, W.M., Wu, Q.Y., Tu, P.G., Zhao, N.M.** Pyrolytic characteristics of microalgae as renewable energy source determined by thermogravimetric analysis. *Bioresource Technology* 80, pp. 1-7. 2001b.
- **Perales-Vela, H.V., Pena-Castro, J.M., Canizares-Villanueva, R.O.** Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. *Chemosphere* 64, pp. 1-10. 2006.
- **Plaza, M.G., Pevida, C., Arenillas, A., Rubiera, F., Pis, J.J.** CO<sub>2</sub> capture by adsorption with nitrogen enriched carbons. *Fuel*, 86, pp. 2204–12. 2007.
- **Preub, K., Lann, M.V., Cabassud, M. and Anne-Archard G.** Implementation procedure of an advanced supervisory and control strategy in the pharmaceutical industry. *Control Engineering Practice*, 11, pp. 1449-1458. 2003.
- **Prince, R.C., Kheshgi, H.S.** The photobiological production of hydrogen: Potential efficiency and effectiveness as a renewable fuel. *Critical Reviews in Microbiology* 31, pp. 19-31. 2005.
- **Pruvost, J., Le Borgne, F., Legrand, J.** Modelling photobioreactors for mass scale solar production of microalgae. Communication au 8th World Congress of Chemical Engineering, Montreal. 2009.
- **Pulz, O.** Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57, pp. 287–93. 2001.
- **Pulz, O., Gross, W.** Valuable products from biotechnology of microalgae. Mini-review, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Volume 65, Number 6, pp. 635-648. 2004.
- **Qin, S.J., Badgwell, T.** A Survey of Industrial Model Predictive Control Technology, *Control Engineering Practice*, vol. 11, pp. 733-764. 2003.
- **Ragauskas, A.J., Williams, C.K., Davison, B.H., Britovsek, G., Cairney, J., Eckert, C.A., Frederick, W.J. Jr., Hallett, J.P., Leak, D.J., Liotta, C.L., Mielenz, J.R., Murphy, R., Templer, R., Tschaplinski, T.** The path forward for biofuels and biomaterials. *Science*, 311(5760), pp. 484–489. 2006.
- **Ramaswamy, S., Cutright, T.J., Qammar, H.K.** Control of a continuous bioreactor using model predictive control. *Process Biochemistry*, 40, pp. 2763-2770, 2005.
- **Ramesh, N.** Factors affecting growth rates of *Scrippsiella* sp.: Light spectral quality, level and agitation. University of Rhode Island, pp. 35-40. 1997.
- **Rapaport, A., Dochain, D.** Interval observers for biochemical processes with uncertain kinetics and inputs. *Mathematical Biosciences*, Vol. 193, Issue 2, pp 235-253. 2005.
- **Rasoul-Amini, S., Montazeri-Najafabady, N., Mobasher, M.A., Hoseini-Alhashemi, S., Ghasemi, Y.** *Chlorella* sp.: A new strain with highly saturated fatty

- acids for biodiesel production in bubble-column photobioreactor, *Applied Energy*, Volume 88, Issue 10, pp. 3354-3356. 2011.
- **Ray, W.H.** *Advanced Process Control*. McGraw-Hill, New York. 1981.
  - **Reddy, M.H.** Application of algal culture technology for carbon dioxide and flue gas emission control. PhD, Arizona State University, USA, 2002.
  - **Renard, F., Vande Wouwer, A., Valentinotti, S., Dumur, D.** A practical robust control scheme for yeast fed-batch cultures- An experimental validation. *Journal of Process Control*, 16, pp. 855-864. 2006.
  - **Richalet, J., Abu El Ata, S., Arber, C., Kuntze, M.B., Jacubasch, A., Schill, W.** Predictive Functional Control. Application to Fast and Accurate Robots. *Proceedings 10th IFAC World Congress, Munich*. July. 1987.
  - **Richalet, J., Rault, A., Testud, J.L., Papon, J.** Algorithmic control of industrial processes. In *Proceedings of the 4th IFAC Symposium on identification and system parameter estimation*, pp. 1119-1167. 1976.
  - **Richalet, J., Rault, A., Testud, J.L., Papon, J.** Model predictive heuristic control: Applications to industrial processes. *Automatica*, 14, pp. 413-428. 1978.
  - **Richmond, A.** Physiological principles and modes of cultivation in mass production of photoautotrophic microalgae. In : *Chemical from microalgae*. (Cohen, Z. ed). Taylor and Francis, Philadelphia, pp. 353-386. 1999.
  - **Richmond, A.** Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview. *Hydrobiologia* 512, pp. 33-37. 2004.
  - **Richmond, A. Lichtenberg, E., Stahl, B., Vonshak, A.** Quantitative assessment of the major limitations on the productivity of *Spirulina platensis* in open raceways. *Journal of Applied Phycology*, 2, pp. 195-206. 1990.
  - **Rocha-Cózatl, E., Vande Wouwer, A.** State and input estimation in phytoplanktonic cultures using quasi-unknown input observers. *Chemical Engineering Journal*, Volume 175, 15, pp. 39-48. 2011.
  - **Rochaix, J. D.** Assembly, function, and dynamics of the photosynthetic machinery in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant physiology* 127 (4), pp. 1394-1398. 2001.
  - **Roessler, P.G., Brown, L.M., Dunahay, T.G., Heacox, D.A., Jarvis, E.E., Schneider, J.C., Talbot, S.G., Zeiler, K.G.** Genetic-engineering approaches for enhanced production of biodiesel fuel from microalgae. *American Chemical Society Symposium Series*, 566, pp. 255-70. 1994.
  - **Roman-Leshkov, Y., Barrett, C.J., Liu, Z.Y., Dumesic, J.A.** Production of dimethylfuran for liquid fuels from biomass derived carbohydrates. *Nature* 447, pp. 982-985. 2007.
  - **Rosello Sastre, R., Csogor, Z., Perner-Nochta, I., Fleck-Schneider, P., Posten, C.** Scale-down of microalgae cultivations in tubular photobioreactors—a conceptual approach. *Journal of Biotechnology*, 132, pp.127-133. 2007.
  - **Rossiter, J.A.** *Model based predictive control. A practical approach*, CRC Press LLC, 2003.
  - **Rubio, F.C., Camacho, F.G., Sevilla, J.M., Chisti, Y., Grima, E.M.** A mechanistic model of photosynthesis in microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, 81 (4), pp. 459-73. 2003.

- **Rupprecht, J., Hankamer, B., Mussnug, J.H., Ananyev, G., Dismukes, G.C., Kruse, O.** Perspectives and advances of biological H<sub>2</sub> production in microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 72, pp. 442-449. 2006.
- **Ryu, H.J., Oh, K.K., Kim, Y.S.** Optimization of the influential factors for the improvement of CO<sub>2</sub> utilization efficiency and CO<sub>2</sub> mass transfer rate. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 15, pp. 471–5. 2009.
- **Sandnes, J.M., Ringstad, T., Wenner, D., Heyerdahl, P.H., Källqvist, T., Gislerød, H.R.** Real-time monitoring and automatic density control of large-scale microalgal cultures using near infrared (NIR) optical density sensors. *Journal of Biotechnology*, 122, pp. 209-215. 2006.
- **Sander, R.** Compilation of Henry's Law Constants for Inorganic and Organic Species of Potential Importance in Environmental Chemistry, Journal Article: DOI: root/1999/3319567. 1999.
- **Santos, L.O., Dewasme, L., Coutinho, D., Vande Wouwer, A.** Nonlinear model predictive control of fedbatch cultures of microorganisms exhibiting overflow metabolism: Assessment and robustness. *Computers and Chemical Engineering*, 39, pp. 143- 151. 2012.
- **Sato, V.** Development of a phytoplankton production system as a support base for finfish larval rearing research. In: *Rotifer and Microalgae Culture Systems*. (Fulks, W. and Main, K.L. eds). The oceanic Institute Makapuu Point, Honolulu, pp. 257-274. 1991.
- **Sawayama, S., Inoue, S., Dote, Y., Yokoyama, S-Y.** CO<sub>2</sub> fixation and oil production through microalga. *Energy Conversion and Management*, 36, pp.729–31. 1995.
- **Sawayama, S., Minowa, T., Yokoyama, S.Y.** Possibility of renewable energy production and CO<sub>2</sub> mitigation by thermochemical liquefaction of microalgae. *Biomass and Bioenergy* 17, pp. 33-39. 1999.
- **Schlegel, M., Marquardt, W.** Detection and exploitation of the control switching structure in the solution of dynamic optimization problems. *Journal of Process Control*, 16, 3, pp. 275-290. 2006.
- **Schnackenberg, J., Ikemoto, H., Miyachi, S.** Photosynthesis and hydrogen evolution under stress conditions in a CO<sub>2</sub>-tolerant marine green alga, *Chlorococcum littorale*. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 34, pp. 59–62. 1996.
- **Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J., Roessler, P.** A look back at the U.S. Department of Energy's aquatic species program—biodiesel from algae. NREL/TP-580-24190. U.S. Department of Energy's Office of Fuels Development. 1998.
- **Shen, Y., Yuan, W., Pei, Z.J., Wu, Q., Mao, E.** Microalgae mass production methods. *Transactions of the ASABE*, 52(4), pp. 1275-1287. 2009.
- **Sierra, E., Acien, F.G., Fernandez, J.M., Garcia, J.L., Gonzalez, C., Molina, E.** Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chemical Engineering Journal*. 138, pp. 136-47. 2008.
- **Skjånes, K.** Use of algae technology for production of biohydrogen from green microalgae. PhD, University of Bergen, Bergen, Norway. 2011.
- **Smets, I., Claes, J., November, E., Bastin, G., Van Impe, J.** Optimal adaptive control of (bio) chemical reactors: past, present and future. *Journal of process control*, 14, pp. 795-805, 2004.



- **Smit, A.J.** Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: a review. *Journal of Applied Phycology*, 16, 245–262. 2004.
- **Smith, H.L.** Monotone dynamical systems: an introduction to the theory of competitive and cooperative systems. *Mathematical Survey and Monographs*, Vol. 41, American Mathematical Society, Providence, Rhode Island, 1995.
- **Smith, V.H.** Light and nutrient dependence of photosynthesis by algae. *Journal of Phycology*, 19, pp. 306-313.1983.
- **Sobczuk, T.M., Camacho, F.G., Rubio, F.C., Fernandez, F.G.A., Grima E.M.** Carbon dioxide uptake efficiency by outdoor microalgal cultures in tubular airlift photobioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*. 67(4), 465-475. 2000.
- **Spalding, M.H.** Microalgal carbon-dioxide-concentrating mechanisms: *Chlamydomonas* inorganic carbon transporters. *Journal of Experimental Botany*, 59, 7, pp. 1463-1473. 2008.
- **Spolaore, P.** Optimisation et modélisation de la croissance de microalgues en vue de la validation des performances d'un photobioréacteur pilote, Thèse Doctorale, Ecole Centrale Paris, France, 2005.
- **Spolaore, P. Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A. Commercial applications of microalgae.** *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101, pp. 87-96. 2006.
- **Stauffer, G.D.** A growth model for salmonids reared in hatchery environments. PhD. Thesis, Department of Zoology, University of Washington, Seattle, WA. 1973.
- **Steele, J.H.** In: Lapidus, L., Amunson, N.R. (Eds.), *Microbial Kinetics and Dynamics in Chemical Reactor Theory*, vol. 7. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, pp. 405-483. 1977.
- **Stolz, P., Obermayer, B.** Manufacturing microalgae for skin care. *Cosmetics Toiletries*, 120, pp. 99-106. 2005.
- **Su, F.S., Lu, C.S., Cnen, W.F., Bai, H.L., Hwang, J.F.** Capture of  $CO_2$  from flue gas via multiwalled carbon nanotubes. *Science of the Total Environment*, 407, pp. 3017-23. 2009.
- **Su, W.W., Li, J., Xu, N-S.** State and parameter estimation of microalgal photobioreactor cultures based on local irradiance measurement. *Journal of Biotechnology*, 105, pp. 165-178. 2003.
- **Sullivan, J.M., Swift, E.** Effects of small scale turbulence on net growth rate and size of ten species of marine dinoflagellates. *Journal of Phycology*, 39, pp. 83-94. 2003.
- **Sumi, Y.** Microalgae Pioneering the Future -Application and Utilization, Life Science Research Unit, quarterly review No.34. 2009.
- **Sun, Z., Jen, C.K., Shih, C.K., Denelsbeck, D.A.** Application of ultrasound in the determination of fundamental extrusion performance: Residence time distribution measurement, *Polymer Engineering and Science*. 43, pp. 102-111. 2003.
- **Surisetty, K., De la Hoz Siegler, H., McCaffrey, W.C., Ben-Zvi, A. Robust modeling of a microalgal heterotrophic fed-batch bioreactor.** *Chemical Engineering Science*, Volume 65, Issue 19, 1 pp. 5402-5410. 2010.
- **Sussmann, H.J., Jurdjevic, V.** Controllability of nonlinear systems. *Journal of Differential Equations*, 12, pp. 95-16. 1972.



- **Sydney, E. B., Sturm, W., de Carvalho, J. C., Thomaz-Soccol, V., Larroche, C., Pandey, A., Soccol, C. R.** Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae. *Bioresource Technology* 101 (15), pp. 5892–5896. 2010.
- **Tamiya, H., Hase, E., Shibata, K., Iwamura, A., Morimura, Y.** Kinetics of growth of *Chlorella*, with special reference to its dependence on quantity of available light and temperature. In. *Algal culture: From Laboratory to Pilot Plant*, Burlew Carnegie Institute, Washington Publ., 600, pp. 76-84. 1953.
- **Tamponet, C., Savage, C., Amblard, P., Laserre, J.C., Personne, J.C., Germain, J.C.** Water recovery in space. *ESA Bull.* 97, 56–60, 1999.
- **Tapiero, H., Townsend, D.M., Tew, K.D.** The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomedicine and Pharmacotherapy.* 58, pp. 100–110. 2004.
- **Tatjewiski, P.** *Advanced control of industrial processes: structures and algorithms.* Springer. 2007.
- **Taylor, W. R.** *Marine algae of the northeastern coast of North America.* University of Michigan Press, Ann Arbor. 1957.
- **Taylor, W. R.** *Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas.* University of Michigan Press, Ann Arbor. 1960.
- **Tchernov, D., Hassidim, M., Luz, B., Sukenik, A., Reinhold, L., Kaplan, A.** Sustained net  $CO_2$  evolution during photosynthesis by marine microorganisms. *Current Biology*, 7, pp. 723-728. 1997.
- **Thiery, M.** *Modélisation de la carbonatation atmosphérique des bétons – Prise en compte des effets cinétiques et de l'état hydrique.* Thèse de Doctorat, Ecole Nationale des Ponts et Chaussées. France. 2005.
- **Thomas, W.H., Gibson, C.H.** Effects of small-scale turbulence on microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 2, pp. 71-77. 1990.
- **Tlili, B.** *Identification et commande des systèmes non linéaires : utilisation des modèles de type NARMA.* Thèse de Doctorat, Université de Tunis El Manar, Ecole National d'Ingénieur de Tunis, Tunisie. 2008.
- **Todd, D. B.** Residence time distribution in twin screw extruder, *Polymer Engineering and Science.* 15, pp. 437-443. 1975.
- **Torzillo, G., Sacchi, A., Materassi, R., Richmond, A.** Effect of temperature on yield and night biomass loss in *Spirulina platensis* grown outdoor in tubular photobioreactor. *Journal of Applied Phycology*, 3, pp. 103-109. 1991.
- **Tredici, M.R.** Mass production of microalgae: photobioreactors. In: *Microalgal Culture.* (Richmond, A. ed). Blackwell Science Ltd, Oxford, pp. 178-214. 2004.
- **Tsukahara, K., Sawayama, S.** Liquid fuel production using microalgae. *Journal of the Japan Petroleum Institute* 48, pp. 251-259. 2005.
- **Tüzün, I., Bayramoğlu, G., Yalçın, E., Başaran, G., Çelik, G., Yakup Arıca, M.** Equilibrium and kinetic studies on biosorption of Hg(II), Cd(II) and Pb(II) ions onto microalgae *Chlamydomonas reinhardtii*, *Journal of Environmental Management*, 77, pp. 85-92. 2005.
- **Ugwu, C.U., Aoyagi, H., Uchiyama, H.** Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology*, 99, pp.4021–8. 2008.
- **Ugwu, C.U., Ogonna, J.C., Tanaka, H.** Improvement of mass transfer characteristics and productivities of the inclined tubular photobioreactors by

installation of internal static mixers. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 58, 600-607. 2002.

- **van Harmelen, T., Oonk, H.** Microalgae biofixation processes: applications and potential contributions to greenhouse gas mitigation options. Apeldoorn, TNO Built Environment Geosciences. 2006.
- **Van Oorschot, J.L.P.** Medelel Landbouwhogesschool te Wageningen. 55, pp. 225. 1955.
- **Varela, D. E., Willers, V., Crawford, D. W.** Effect of zinc availability on growth, morphology, and nutrient incorporation in a coastal and an oceanic diatom. *Journal of Phycology*. 47(2), pp. 302-312. 2011.
- **Vassiliadis, V.S.** Computational solution of dynamic optimization problems with general differential-algebraic constraints. PhD thesis, Imperial College, University of London, London, UK. 1993.
- **Vonshak, A., Richmond, A.** Mass production of the blue-green alga *Spirulina*: an overview. *Biomass*, 15, pp. 233-247. 1988.
- **Wang, B., Li, Y., Wu, N., Lan, C.Q.**  $CO_2$  bio-mitigation using microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79, pp. 707–718. 2008.
- **Watson, M.K.** Determination and modeling of growth and biomass production rate of freshwater algae as a function of media carbon content, PhD thesis, Clemson University, USA. 2009.
- **Wen, Z., Johnson, M. B.** Microalgae as a feedstock for biofuel production, Virginia Cooperative Extension Publication, pp. 442-886. 2009.
- **Wheeler, R.M., Mackowiak, C.L., Sager, J.C., Corey, K.A., Dreschel, T.W., Vieux, B.A., Knott, W.M., Prince, R.P., Hinkle, C.R.** Crop tests in NASA's Biomass production chamber – a review of the last four years of operation, in: *Proceedings of the International Life Support and Biospherics Conference*, Huntsville, KL, pp. 563-573, 1992.
- **Wijanarko, A. Dianursanti, Witarto, A.B., Soemantojo, R.W.** Effect of photoperiodicity on  $CO_2$  fixation by *Chlorella vulgaris* Buitenzorg in bubble column photobioreactor for food supplement production. *Makara, Teknologi*, VOL. 8, NO. 2, pp. 35-43. 2004.
- **Wilde, E.W., Benemann, J.R.** Bioremoval of Heavy-Metals by the Use of Microalgae. *Biotechnology Advances* 11, pp. 781-812. 1993.
- **Witt, W., Köhler, U., List, J.** Current limits of particle size and shape analysis with high speed image analysis. *PARTEC*. 2007.
- **Ydstie, B.E.** Extended Horizon Adaptive Control. *Proceedings of the 9th IFAC World Congress*, Budapest, Hungary. 1984.
- **Yoo, C., Jun, S.Y., Lee, J.Y., Ahn, C.Y., Oh, H.M.** Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide. *Bioresource Technology*, 101,S71-4. 2010.
- **Yúfera, M., Lubián, L.M.** Effects of microalgal diets on growth and development of invertebrates in marine aquaculture. In: Akatsuka, I. Eds. *Introduction to applied phycology*. SPB Academic Publishing BV, The Hague, pp. 209-227. 1990.

- **Yun, Y.S., Park, J.** Development of gas recycling photobioreactor system for microalgal carbon dioxide fixation. *Korean Journal of Chemical Engineering* 14 (4), pp. 297-300. 1997.
- **Zame, K.K.** Carbon capture using the microalgae *Chlorella vulgaris* in a packed bubble column photobioreactor. PhD, Youngstown State University, USA, 2010.
- **Zhang, K., Kurano, N., Miyachi, S.** Outdoor culture of cyanobacterium with a vertical flat-plate photobioreactor: effects on productivity of the reactor orientation, distance setting between the plates, and culture temperature. *Applied Microbial and Biotechnology*, 52, pp. 781-786. 1999.
- **Zhang, Q. B., Yu, P. Z., Li, Z., Zhang, H., Xu, Z. H., Li, P. C.** Antioxidant activities of sulfated polysaccharide fractions from *Porphyra haitanensis*. *Journal of Applied Phycology*, 15, pp. 305-310. 2003.

---

# Annexes

---



---

# Annexe A1

---

## A1.1 Facteurs influençant la culture algale

La culture de microalgues est soumise à l'influence de plusieurs paramètres environnementaux physiques ou biologiques qui sont dépendants des caractéristiques intrinsèques de l'espèce algale et de la géométrie du système de production. Ces paramètres affectent non seulement l'activité photosynthétique et la productivité en biomasse, mais également le comportement physiologique et métabolique des microalgues dans la culture (Richmond, 2004). Ce sont la lumière, la température, le pH, la salinité, les éléments nutritifs, la concentration de l'oxygène dissous et la présence d'éléments toxiques (Kumar et al., 2010). D'autres paramètres liés au fonctionnement hydrodynamique du réacteur, tels que le temps de séjour, la vitesse du transfert gazeux et le degré d'homogénéité du milieu, peuvent jouer sur la disponibilité des nutriments et de l'énergie lumineuse (Kumar et al., 2010). Nous allons les détailler ci-dessous.

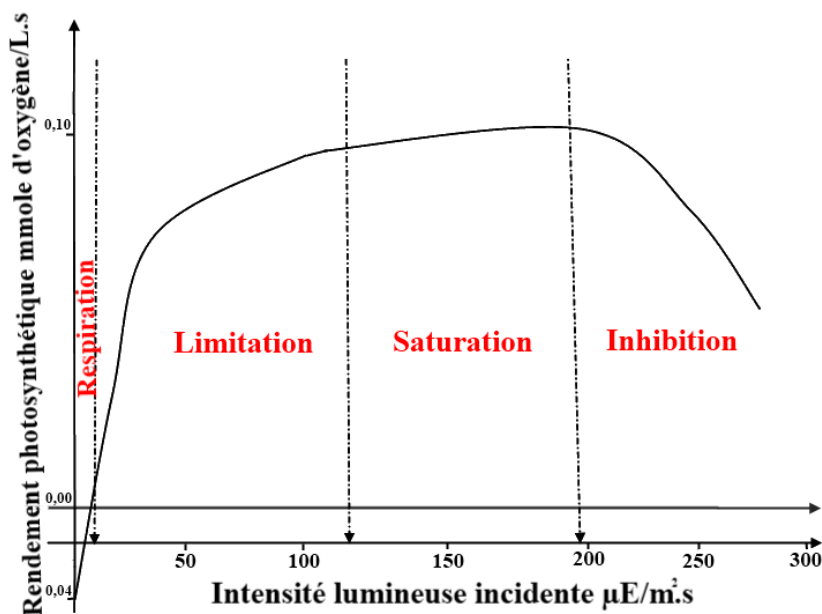
### A1.1.1 Lumière

La lumière est un des facteurs indispensables au métabolisme photosynthétique des microalgues. L'apport de l'énergie lumineuse peut se produire de manière naturelle grâce à l'énergie solaire ou bien artificiellement grâce à des tubes fluorescents émettant la lumière à une longueur d'onde bien spécifique.

La croissance algale dépend de la disponibilité et de l'efficacité de l'utilisation de l'énergie lumineuse (Smith, 1983 ; Lindström, 1984). On notera l'importance du trajet lumineux, de la concentration cellulaire (qui trop importante induit le phénomène d'auto-ombrage), des caractéristiques pigmentaires des cellules algales (Malone, 1982). Un apport insuffisant de lumière est susceptible de limiter la productivité et la croissance même si les autres paramètres sont à des valeurs optimales (Richmond, 1999).

On rencontre plusieurs types de comportement des microalgues selon le degré d'illumination (cf. figure A1.1) :

- Phase de respiration (en absence de lumière) : réactions métaboliques de consommation de l'oxygène et de rejet de dioxyde de carbone ;
- Phase de limitation : liée à un apport insuffisant d'énergie lumineuse (faible intensité lumineuse, trajet lumineux élevé, géométrie non favorable du réacteur) ou au phénomène d'ombrage cellulaire mutuel induit par une forte concentration cellulaire (Kumar et al., 2011) ;
- Phase de saturation : traduite par un rendement photosynthétique maximal ;
- Phase d'inhibition : définie par une perte de l'activité photosynthétique en raison d'une trop forte intensité lumineuse (Vonshak et al., 1988).



**Figure A1.1 :** Rendement photosynthétique en fonction de l'intensité lumineuse incidente (exprimée en  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) (Goldman, 1980)

### A1.1.2 Température

La cinétique de croissance algale est influencée par la température (Richmond et al., 1990 ; Torzillo et al., 1991), la vitesse de croissance augmentant en général avec la température. Ce paramètre permet de réguler les réponses cellulaires, physiologiques et morphologiques des microalgues (Kumar et al., 2010). La température peut provoquer des changements de la structure cellulaire, et notamment de son volume (Richmond, 2004). Ainsi, une température supérieure à la valeur optimale induit une augmentation du volume cellulaire (Harris, 1988). Les microalgues tolèrent en général une gamme de température comprise entre 15 et 26°C avec une concentration cellulaire optimale à 23°C (Kumar et al., 2010). Des températures extrêmes, supérieures à 35°C, peuvent causer la mort de certaines espèces d'algues (Alcaine, 2010). De plus, l'augmentation de la température affecte le métabolisme de fixation de  $\text{CO}_2$  par les microalgues (Kumar et al., 2011).

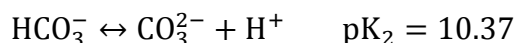
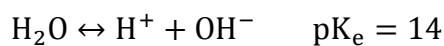
### A1.1.3 pH

Ce paramètre dépend notamment de la concentration de  $\text{CO}_2$  dissous dans le milieu de culture, régie par les équilibres chimiques entre les différentes formes de carbone dans l'eau ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{HCO}_3^-$  et  $\text{CO}_3^{2-}$ ). Un grand apport de  $\text{CO}_2$  peut entraîner une acidification du milieu susceptible d'inhiber la croissance des microalgues. De même, la présence de monoxyde de soufre, un élément toxique, entraîne une acidification importante du milieu et par là même une croissance limitée (Kumar et al., 2011). En conséquence, un contrôle du pH des cultures est nécessaire afin de favoriser la croissance de certaines espèces ayant des exigences environnementales particulières (Kumar et al., 2011). De manière générale, la croissance algale est favorisée pour un pH proche de la neutralité. On rencontre malgré tout certaines espèces tolérantes vis-à-vis de valeurs extrêmes.

### A1.1.4 Nutriments

#### A1.1.4.1 Carbone

La source de carbone d'une culture algale en condition d'autotrophie est présente en phase liquide sous forme de différentes espèces en équilibre :  $CO_2$ ,  $H_2CO_3$ ,  $HCO_3^-$  et  $CO_3^{2-}$ . Ces équilibres sont régis par les équations de dissociation de l'eau et du mélange carbonate-bicarbonate à une température de 25°C (Livansky, 1990) :



Ces différentes formes de carbone constituent le carbone inorganique total « CIT » dont la concentration est donnée par l'expression suivante, où les crochets désignent les concentrations volumiques

$$[CIT] = [CO_2] + [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}]$$

On néglige la concentration de  $H_2CO_3$ .

Durant la photosynthèse, la consommation du  $CO_2$  entraîne une augmentation progressive du pH, alors qu'en présence de concentrations importantes de  $CO_2$  dissous, le pH chute entraînant une consommation moindre de  $CO_2$  par suite de l'inactivation de l'enzyme « *rubisco* » responsable de l'activité de fixation de  $CO_2$ . (Sobczuk et al., 2010). Une préférence de l'espèce algale peut être distinguée vis-à-vis de l'une des formes du carbone ( $CO_2$  ou  $HCO_3^-$ ) selon le mécanisme biologique de concentration du  $CO_2$  ou « MCC ». Généralement, les microalgues présentent une préférence vis-à-vis de l'assimilation du  $CO_2$  comme source de carbone inorganique (Carvalho et al., 2006).

#### A1.1.4.2 Azote

L'azote constitue un élément nutritif essentiel pour la croissance algale. La teneur en azote des microalgues se situe aux alentours de 7% de la matière sèche algale (Bhola et al., 2011). La source d'azote pour la culture peut être organique (urée) ou inorganique (nitrate  $NO_3^-$ , ammoniacque  $NH_4^+$ ) (Alcaine, 2010). L'azote, étant un des constituants des acides nucléiques et des protéines, est impliqué dans les principales voies métaboliques des microalgues (Green et Durnford, 1996). Ainsi, une augmentation de la concentration d'azote, jusqu'à une certaine valeur limite, entraîne une productivité cellulaire et protéique plus importante et une synthèse plus significative de chlorophylle. La carence de cet élément induit une accumulation importante de réserve lipidique (polysaccharides et acides gras polyinsaturés "AGPI") (Chen et al., 2011), une limitation de l'activité photosynthétique et cellulaire (Alcaine, 2010) ainsi qu'une augmentation de la synthèse des caroténoïdes (Becker, 1994).

#### A1.1.4.3 Phosphore

Le phosphore est impliqué dans plusieurs voies métaboliques (Chen et al., 2011) et régulations cellulaires (Droop, 1973 ; Smith, 1983). Il représente environ 1% de la matière sèche algale (Richmond, 2004). Les microalgues sont capables d'utiliser les formes inorganiques du phosphore (phosphate  $PO_4^{3-}$ , dihydrogène-phosphate  $H_2PO_4^-$  et l'hydrogène-



phosphate  $HPO_4^{2-}$ ) ainsi que ses formes organiques via le phénomène d'hydrolyse grâce à une enzyme de la famille des phosphatases (Alcaine, 2010).

La carence en phosphore joue sur l'activité photosynthétique principalement au niveau de la fonction de l'enzyme « *rubisco* », indispensable à la fixation du  $CO_2$  (Agren, 2004), sur l'accumulation des réserves lipidiques (Wang et al., 2008) et sur la productivité en biomasse (Borowitzka, 1988). Le phosphore forme des précipités avec les ions métalliques et de ce fait pas toute la quantité de phosphore ajoutée est disponible ; il est nécessaire qu'il soit apporté en excès dans le milieu (Yun et al., 1997).

#### A1.1.4.4 Micro-éléments

Plusieurs micro-éléments organiques et inorganiques sont nécessaires à la croissance des microalgues, tels le soufre (*S*), le fer (*Fe*), le magnésium (*Mg*), le potassium (*K*), le sodium (*Na*) ; il en va de même d'oligoéléments tels le cuivre (*Cu*), le manganèse (*Mn*), le zinc (*Zn*), le cobalt (*Co*), le molybdène (*Mo*), etc.

Le soufre est un des éléments essentiels dans la composition de deux acides aminés : la cystéine et la méthionine. Une carence en soufre induit une inhibition de la synthèse protéique et de l'activité photosynthétique des microalgues (Wang et al., 2008).

Une carence en fer entraîne des changements métaboliques cellulaires à travers une diminution de la densité et de la taille cellulaire et une inhibition de la synthèse protéique et lipidique (Valera et al., 2011). Cet élément intervient également comme catalyseur lors de la synthèse de la chlorophylle (Becerra, 2009).

Le magnésium est indispensable à l'activité nitrogénase dans le métabolisme cellulaire des microalgues (Wang et al., 2008). On a par ailleurs mis en évidence l'implication du cuivre, du fer et du zinc dans diverses fonctions enzymatiques telles que l'activité de l'anhydrase carbonique, enzyme impliquée dans le mécanisme d'assimilation du carbone (Brand et al., 1983; Lage et al., 1994 ; Morel et al., 1994 ; Buitenhuis et al., 2003). De même, une carence en cuivre est susceptible d'affecter le mécanisme photosynthétique des microalgues (Rochaix, 2001). Une carence en molybdène peut influencer sur le processus métabolique d'assimilation de l'azote au niveau cellulaire (Glass et al., 2009).

La carence en certains oligo-éléments peut affecter plusieurs voies métaboliques telles que l'accumulation des triglycérides ou « *TAG* » (acide gras indicateur de stress environnemental durant la culture de microalgues) (Chen et al., 2009). Ces oligoéléments peuvent réagir avec d'autres éléments présents dans le milieu et précipiter ; il est donc souvent nécessaire d'ajouter un agent chélatant comme l'*EDTA* « *acide éthylène diamine tétraacétique* » afin d'éviter toute limitation en éléments nutritifs dans le liquide.

#### A1.1.5 Salinité du milieu

Le changement de salinité du milieu induit un stress osmotique et ionique (sel) qui peut entraîner la formation de précipités, une augmentation de la teneur lipidique des algues, une concentration en caroténoïdes plus importante chez certaines espèces de *Dunaliella* (Borowitzka et Borowitzka, 1990) et une inhibition de leur croissance (Gomes et al., 2003). De plus une augmentation de la salinité entraîne une inhibition de l'activité photosynthétique (Lu et al., 1999).

### A1.1.6 Caractéristiques intrinsèques du réacteur

#### A1.1.6.1 Agitation

L'homogénéité du milieu de culture représente un point fondamental afin d'assurer une productivité optimale de biomasse (Ugwu et al., 2002) et une capacité importante de fixation de  $CO_2$ . Ce paramètre doit donc être pris en compte lors de la conception du photobioréacteur. En effet, une faible agitation entraîne une difficulté d'accès aux nutriments et à la lumière, des phénomènes de décantation de la biomasse et la création de zones « *stagnantes* » au sein desquelles les conditions de cultures sont défavorables, pouvant conduire à une mortalité cellulaire à travers l'accumulation de produits toxiques (Becker, 1994). D'autre part, une agitation trop élevée conduit à un cisaillement des cellules algales (Carlsson et al., 2007) qui engendre des déficiences physiologiques et métaboliques ainsi que des dommages structuraux (Thomas et Gibson, 1990 ; Berdalet, 1992 ; Hondzo et Lyn, 1999 ; Sullivan et Swift, 2003). En conséquence, le choix d'un système d'agitation adapté doit répondre à un compromis entre ces deux types de contrainte.

#### A1.1.6.2 Transfert gaz-liquide

Le transfert gaz-liquide constitue un second phénomène à prendre en compte lors de la conception des systèmes de production. Une bonne qualité de transfert gaz-liquide induit une disponibilité maximale de  $CO_2$  et une régulation du pH grâce à la dissolution de  $CO_2$  dans le liquide (Kumar et al., 2010). La mesure de l'efficacité du transfert gaz-liquide se fait par la détermination du coefficient volumique de transfert noté «  $k_{LA}$  », que nous présenterons en détail au chapitre III.

#### A1.1.6.3 Eclairage

Un bon éclairage est indispensable pour une croissance cellulaire importante. Les dispositifs d'éclairage peuvent être naturels exploitant directement l'énergie solaire ou bien artificiels à travers l'emploi de tubes fluorescents autour du réacteur ou de sources lumineuses immergées dans la culture (*LED* ou fibre optique). La conception de ce genre de dispositif doit prendre en compte des paramètres variés que l'on a déjà cités (chemin optique, profondeur optique (proportion de lumière absorbée ou diffusée le long d'un chemin lumineux par un milieu partiellement transparent) et ratio surface éclairée par volume de culture). La disponibilité de la lumière varie selon la profondeur et la densité cellulaire du milieu de culture. Plusieurs études se sont intéressées à la distribution de la lumière au sein du réacteur et à la conception de systèmes efficaces pour la séquestration de  $CO_2$  et la production en biomasse (Morita et al., 2000 ; Lee et al., 1995).

### A1.2 Système de culture

Etant donnée la diversité des applications industrielles et des exigences nutritionnelles et environnementales de la culture des microalgues, la mise en place d'un système de culture efficace est une étape spécifique et cruciale pour une application donnée. On distingue principalement deux grandes catégories de systèmes de culture: les systèmes ouverts (bassins naturels et artificiels caractérisés par un faible ratio surface sur volume) et les systèmes fermés (bioréacteurs avec un ratio surface sur volume élevé).

#### A1.2.1 Systèmes ouverts

Ce type de système est caractérisé par sa simplicité technique, sa facilité d'exploitation et une durée de vie assez importante (Moheimani, 2005). Ce sont essentiellement des bassins de

faible profondeur alimentés par exemple de l'eau usée issue des usines de traitements de déchets et munis d'un système d'agitation formé par des structures tournantes ou des roues à aubes (Alcaine, 2010). La biomasse est, quant à elle, récoltée à la fin du cycle de recirculation (cf. figure A1.2). Ce type de configuration est connu sous l'appellation bassin de type « raceway ».

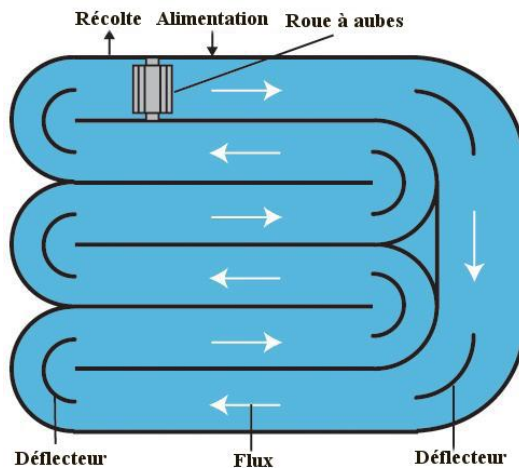


Figure A1.2 : Représentation schématique d'un système ouvert (Alcaine, 2010)

Les systèmes ouverts présentent une grande diversité de configuration selon la taille, la profondeur, le type de matériau, le système d'agitation et le degré d'inclinaison (Tredici, 2004). On en distingue principalement trois grands types, employés à l'échelle industrielle : lacs et bassins naturels (écosystèmes naturels), bassins circulaires, bassins de type « raceway » (Moheimani, 2005) (cf. figure A1.3).

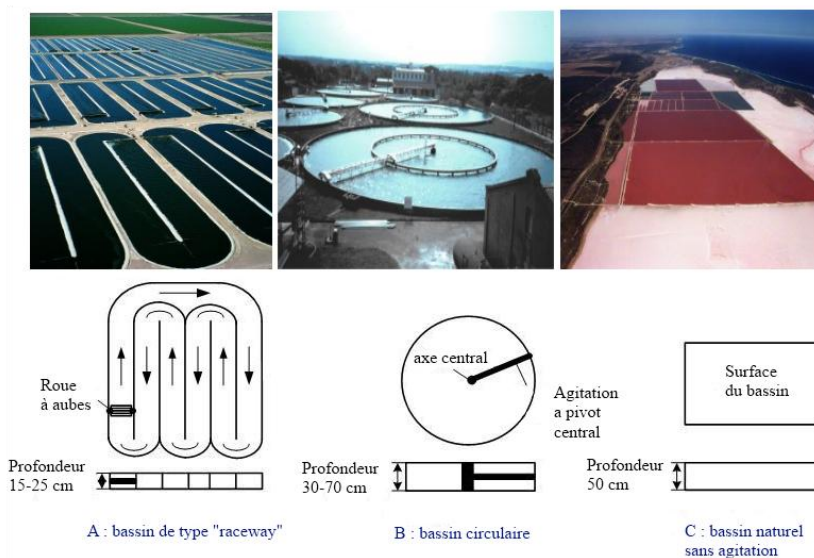


Figure A1.3 : Variété de configurations des systèmes ouverts: **A** bassin de type « raceway » employé pour la culture de *Spirulina platensis* en Californie – **B** : bassin circulaire à pivot central pour la culture de *Chlorella* à Taiwan – **C** : larges bassins non agités utilisés pour la culture de *Dunaliella salina* en Australie (Chen et al., 2009)

Les écosystèmes naturels représentent le mode de culture le plus économique et le moins exigeant techniquement. A l'échelle industrielle, cette technique a été employée pour la culture de l'espèce *Dunaliella salina* (Benemann et al., 1987). Leur principal avantage est un faible coût d'installation. Cependant, ces systèmes ont des inconvénients importants comme la possibilité très réduite de contrôle des conditions de culture, l'incapacité de maîtrise de l'agitation, le transfert gaz-liquide inefficace et la forte dépendance vis-à-vis des conditions climatiques (Borowitzka, 1999)

Le second système repose sur un mode de culture dans des bassins artificiels circulaires. Il est largement utilisé dans les procédés de traitement des eaux (Hoffmann, 1998 ; Borowitzka, 2005 ; Garcia et Hernandez-Marine, 2000). Cette configuration est composée d'un bassin circulaire muni d'un système mécanique d'agitation à pivot central. Elle est limitée, du fait essentiellement de l'inefficacité du système d'agitation pour les bassins de grande taille (Borowitzka, 2005), d'une consommation énergétique élevée relative pour l'agitation et de coûts d'installation importants.

Le dernier système de culture ouvert est celui de type « raceway ». Il utilise une configuration par unité individuelle ou par une série de boucles multiples (Becker, 1994). Ces bassins peuvent être homogénéisés grâce à une diversité de systèmes : roues à aubes, hélices, systèmes de type "air-lift" et pompes (Becker, 1994). A l'échelle industrielle, ce type de configuration est utilisé pour la culture d'espèces telles que *Chlorella sp.*, *Spirulina platensis*, *Haematococcus sp.*, *Dunaliella salina* (Jimenez et al., 2003 ; Borowitzka, 2005). Cependant, cette configuration présente, entre autres, des inconvénients comme une certaine décantation des algues dans les bassins (Moheimani, 2005) et une surface de culture importante.

D'autres systèmes comme le type de bassins à configuration inclinée, ont été mis au point pour augmenter le ratio surface sur volume et donc la productivité (Richmond, 1999). Cette technologie dérivée des travaux de Doucha et Livansky (1999) a été largement utilisée par la société Trebon en République tchèque pour la culture des espèces *Chlorella sp.*, *Spirulina platensis* ainsi que *Scenedesmus sp.* (Moheimani, 2005). Elle présente des limitations techniques relatives aux coûts élevés des opérations de pompage, de la maintenance et de l'installation (Tredici, 2004).

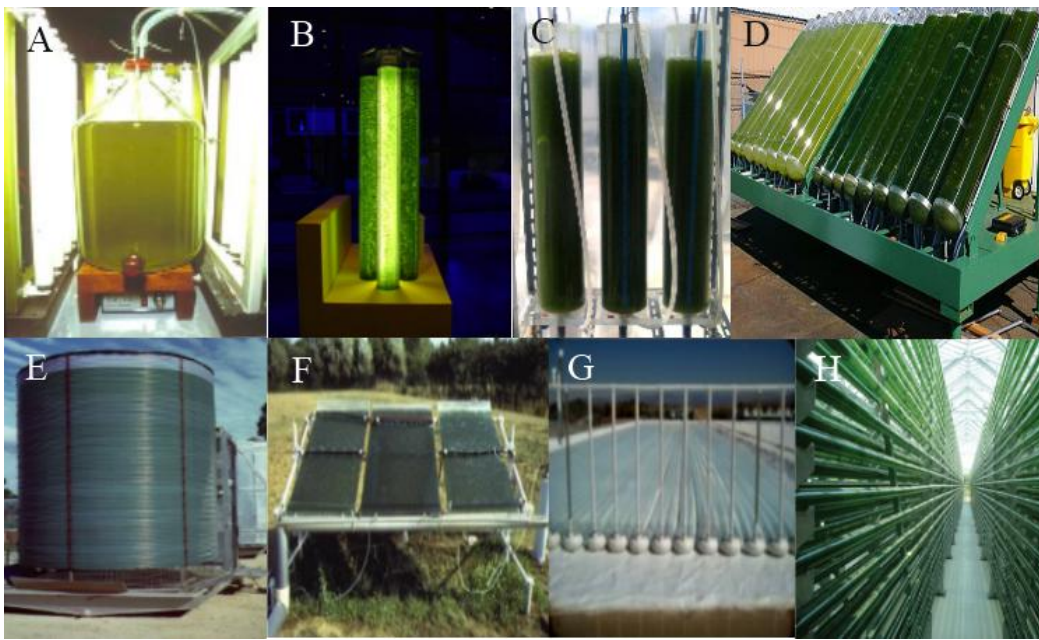
En conclusion, les systèmes ouverts présentent de nombreux inconvénients tels qu'une productivité très faible par rapport à celle théoriquement attendue, une difficulté de maîtrise des conditions opératoires (Richmond, 2004), des risques potentiels de contaminations par des organismes pathogènes (Wen et Johnson, 2009), des surfaces d'installation importantes (Pulz, 2001) et des coûts de récolte élevés (Grima et al., 1999). De plus, ces systèmes de culture ne permettent qu'un faible rendement de consommation de  $CO_2$  (Chisti, 2007 ; Shen et al., 2009 ; Becker, 1994 ; Lee, 2001), par suite de l'impossibilité de contrôler les paramètres de culture.

#### **A1.2.2 Systèmes fermés "photobioréacteurs"**

Les systèmes fermés ou "photobioréacteurs" permettent un meilleur contrôle des facteurs extérieurs au bioprocédé que les systèmes ouverts. Les microalgues sont exposées à la source lumineuse à travers un matériau de construction transparent (Richmond, 2004). Ces systèmes sont susceptibles d'être optimisés en fonction du type d'application choisie et des propriétés biochimiques de l'espèce cultivée (Alcaine, 2010).

Ce type de système est également caractérisé par une grande diversité de configurations selon la géométrie des réacteurs (plan, tubulaire, horizontal, incliné, vertical ou en spirale, etc.), le système d'agitation (système air-lift ou pompe, etc.) et le type de matériau utilisé (verre ou plastique, rigide ou flexible) (Richmond, 2004). Le principe de conception des photobioréacteurs repose sur une optimisation de la disponibilité de l'énergie lumineuse et de l'agitation. Deux configurations principales prédominent en fonction de la géométrie utilisée :

- ✓ **Les photobioréacteurs tubulaires** sont constitués d'un ou de plusieurs tubes transparents qui peuvent être disposés horizontalement, verticalement ou en hélice. On distingue les technologies suivantes.
  - *Réacteur à cuve agitée* : « Carboy » ou « Bag » (cf. figure A1.4 (A)) : ce type de système est généralement utilisé pour la fabrication et la maintenance des inoculums pour des cultures de très grande échelle dans le domaine de l'aquaculture (Fulks et Main, 1991; Sato, 1991). Il est composé d'une cuve munie d'un système d'agitation avec un arbre entraîné par un moteur ou avec des barrettes magnétiques (Chisti et Moo-young, 2001). Il est facile à mettre en œuvre et à entretenir, mais présente un faible ratio surface sur volume.
  - *Réacteur de type colonne à bulle* : il s'agit d'un cylindre dans lequel l'agitation est assurée via le barbotage de la phase gazeuse sous forme de petites bulles. Le ratio surface sur volume est relativement élevé (Kumar et al., 2011) , son coût est faible (Miron et al., 2002) et les transferts thermiques et massiques satisfaisants.
  - *Réacteur de type « Air-lift »* : il s'agit d'un cylindre avec deux zones interconnectées l'une dite « riser » ou le mélange gazeux est diffusé et l'autre dite « downcomer » ou il n'y a pas d'alimentation en gaz (Kumar et al., 2011). La phase liquide est mise en mouvement naturellement, par différence de poids de colonnes d'eau entre les zones aérée et non aérée (Olivo, 2007). L'agitation est assurée par barbotage du gaz. Ce type de configuration présente des inconvénients relatifs à la mise en œuvre (Miron et al., 2000) et d'un faible temps de séjour (Janssen et al., 2001).
  - *Photobioréacteur tubulaire* : Ce type de configuration utilise de longs tubes transparents en verre ou en plastique. Il peut être : vertical (Chiu et al., 2009; Pulz, 2001), horizontal (Janssen et al., 2002) , hélicoïdal (cf. figure A1.4 (E))(Chrimadha et Borowitzka, 1994) et même incliné (cf. figure A1.4 (D))
- ✓ **Les photobioréacteurs plats** (cf. figure A1.4 (F)) Ils sont constitués de deux panneaux transparents de forme rectangulaire entre lesquels circule une faible épaisseur culture (Kumar et al., 2011). Cette configuration est présente sous différentes géométries : verticale, horizontale et inclinée (Chen et al., 2009). Les avantages de ces photobioréacteurs résident dans un ratio surface sur volume important (Kumar et al., 2011), un faible chemin lumineux, et une bonne qualité de transfert gazeux. Les limitations concernent l'augmentation des coûts de production suite à la re-carbonatation des cultures due essentiellement à l'augmentation du pH, le phénomène de colmatage et la difficulté de conception de cette installation (Lee, 2001 ; Ugwu et al., 2008).



**Figure A1.4** : Variété des configurations des photobioréacteurs: **A** Photobioréacteur à cuve agitée (Montes, 2000) – **B** : Photobioréacteur de type colonne à bulle de 5 L issu des travaux du laboratoire marin de Plymouth « *LMP* » au Royaume Unis – **C** : Air-lift photobioréacteur conçu par la compagnie "Algain Energy" – **D** : Photobioréacteur incliné d'après les études menée par l'organisme d'étude géologique américaine ou « *USGS* » au sud-west des USA– **E** : Photobioréacteur hélicoïdal tubulaire de 1000 L de type « *BIOCOIL* » à l'université de Murdoch, Est d'Australie – **F** : photobioréacteur à plaque inclinée – **G** : Photobioréacteur horizontal commercial en cours de construction dans le désert de Californie à la jonction de la vallée de la mort – **H** : photobioréacteur tubulaire « *Controlled Environment Agriculture & Energy* »

Les systèmes fermés offrent de nombreux avantages intéressants. Ils permettent un contrôle des conditions hydrodynamiques de culture (Grima et al., 1999 ; Sierra et al., 2008), une réduction des risques de contamination par des microorganismes indésirables, une diminution de la consommation en eau, un ratio surface sur volume important, une productivité en biomasse maximale ainsi qu'une capacité de fixation de  $CO_2$  élevée (Rosello et al., 2007). Cependant, ils sont limités au niveau de l'implantation et des coûts pour une installation à grande échelle ainsi qu'au niveau de la disponibilité de la lumière notamment par la formation de biofilm sur les parois du photobioréacteur (Wen et Johnson, 2009). En conséquence, plusieurs études ont tenté de surmonter les limitations techniques des systèmes fermés dans le but de réduire le chemin lumineux (Miron et al., 1999 ; Janssen et al., 2002), et d'obtenir un système de régulation plus économique de la température (Torzillo et al., 1991 ; Becker, 1994 ; Borowitzka, 1996 ; Zhang et al., 1999 ; Carlozzi et Sacchi, 2001).

Ainsi, le choix d'un système de culture efficace vis-à-vis de la séquestration du  $CO_2$  doit tenir compte de plusieurs paramètres dont les principaux sont l'efficacité du mélange, l'efficacité du transfert gaz-liquide et la disponibilité de la lumière (Chiu et al., 2009 ; Eriksen, 2008).



---

# Annexe A2

---

## A2.1 Dispositif expérimental : banc d'essai d'un photobioréacteur de 9,6 L

La campagne expérimentale mise en place pour la réalisation de la phase d'identification des paramètres nécessaires au modèle retenu (intervenant dans le modèle de croissance et dans les équations d'évolution) repose sur des cultures en modes batch et continu de la souche *Chlorella vulgaris* AC 149 de la classe des *Trebouxiophyceae*, provenant de la collection de cultures de microalgues du laboratoire "Algobank Caen" de l'université de Caen Basse-Normandie.

La culture d'une microalgue dans un photobioréacteur présente diverses exigences relatives à la stérilisation complète du matériel utilisé, au choix d'un milieu de culture permettant l'apport des principaux éléments nutritifs essentiels à la croissance ; et à l'entretien permanent de précultures qui permettent d'inoculer le photobioréacteur avec une concentration cellulaire suffisante.

### A2.1.1 Stérilisation du matériel utilisé

La stérilisation est une étape fondamentale pour le bon démarrage des essais expérimentaux impliquant des procédés biologiques, afin d'éviter toute contamination par des germes pathogènes et indésirables, susceptibles d'affecter la croissance de l'algue et d'induire ainsi des erreurs aux niveaux des résultats expérimentaux. Cette phase concerne aussi bien le photobioréacteur que le milieu de culture et les sondes utilisées pour le suivi de l'évolution des paramètres de culture. On distingue principalement trois méthodes de stérilisation : stérilisation thermique au moyen d'un autoclave, stérilisation chimique et stérilisation sous *U.V.* Durant nos campagnes expérimentales, les trois méthodes ont été utilisées, chacune appliquée spécifiquement et pour des raisons précises aux différentes composantes du réacteur :

- Concernant les sondes utilisées pour la mesure du pH et de la pression partielle de  $CO_2$ , a été privilégiée une stérilisation sous une hotte à flux laminaire et sous l'action d'*U.V.* pendant 20 minutes, en raison de la fragilité de la sonde de pH et afin d'éviter les risques de cassures pouvant survenir dans l'autoclave sous l'action thermique, d'une part, et de la dégradation constatée de la membrane de la sonde à  $CO_2$  suite à une stérilisation thermique, d'autre part. Cette dégradation peut se traduire, soit par un dessèchement du tampon présent au niveau de la membrane, soit par la détérioration de la membrane en silicone.
- Concernant le photobioréacteur, la stérilisation par voie chimique a été préférée, s'avérant aussi efficace que la stérilisation par voie thermique mais présentant l'avantage d'éviter tout risque de cassure lié au déplacement du réacteur du banc d'essai vers l'autoclave. Cette phase de stérilisation a été réalisée au moyen de quatre comprimés effervescents de stérilisation à froid, mis en solution dans de l'eau. Ces comprimés, contenant du dichloroisocyanurate de sodium qui est une substance active biocide, ont une action bactéricide et fongicide avec une efficacité de 24 heures. Après stérilisation du réacteur, l'élimination de toute trace de cet élément chimique, susceptible d'affecter la croissance algale, est assurée par deux lavages successifs avec de l'eau distillée et stérilisée au moyen d'un traitement thermique par autoclavage.



- Le milieu de culture ainsi que d'autres composantes du réacteur (filtres, etc.) sont stérilisés par voie thermique grâce à l'autoclave. Cette méthode correspond à un cycle thermique à une température de 121°C pendant 20 minutes. Une seconde méthode de stérilisation, employée au cours de nos expériences, concerne principalement les stérilisations locales par voies thermiques en utilisant essentiellement un bec benzène lors des prélèvements des échantillons, de la phase d'inoculation du réacteur et durant l'installation des différentes composantes et sondes dans le réacteur.

### **A2.1.2 Maintenance des précultures**

Le début de chaque culture de microalgue est caractérisé par une étape d'inoculation qui consiste à introduire l'inoculum (quantité de cellules algales mise en culture dans un système fermé à partir de souche mère) dans un milieu de culture stérile. On assiste à une dilution de la concentration cellulaire vers une valeur d'environ 1 milliard de cellules par litre. Une des conséquences de cette étape est la phase de latence, précédemment décrite dans la section 2.2 du chapitre II, qui caractérise l'acclimatation de ces cellules algales aux nouvelles conditions de culture. De ce fait, la réussite du démarrage d'une campagne expérimentale est conditionnée par la qualité de l'inoculum introduit dans le réacteur (absence d'agrégat cellulaire).

Durant cette étude, nous avons eu recours à quatre précultures dans des flacons d'Erlenmeyers de 1 litre. Elles sont rafraichies toutes les deux semaines, c'est-à-dire diluées de moitié avec le milieu de culture stérile afin de renouveler le milieu réactionnel en nutriments nécessaires à la croissance. Afin d'assurer une croissance suffisante et un entretien des algues, ces Erlenmeyers sont conservés dans une enceinte close ou incubateur Minitron à atmosphère contrôlée, sous un éclairage en continu avec une intensité lumineuse fixée à  $70 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . La température est régulée à sa valeur optimale égale à 25°C et un mélange gazeux d'air contenant 1,4 % de  $\text{CO}_2$  est introduit à l'intérieur de cette enceinte. De même, la culture est soumise à agitation permanente à une vitesse de 90 tr/min.

### **A2.1.3 Choix du milieu de culture**

La croissance des microalgues est fortement dépendante de la composition du milieu réactionnel. L'apport des éléments nutritifs doit être suffisamment important afin d'éviter toute carence susceptible d'affecter la croissance algale. Au cours de nos essais, nous avons opté pour le milieu de culture Bristol 3 N modifié dont la composition est détaillée dans le tableau A2.1.

Tableau A2.1 : Composition du milieu de culture Bristol 3 N modifié

<b>Solution A</b>				
	Poids/litre de milieu (mg.L <sup>-1</sup> )	Poids/litre de solution A(g)	Poids/250 ml de milieu A (g)	Concentration (mol/L)
NaNO <sub>3</sub>	750	75	18,75	0,0088
CaCl <sub>2</sub> , 2H <sub>2</sub> O	25	2,5	0,625	1,93 10 <sup>-4</sup>
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	75	7,5	1,875	3,045 10 <sup>-4</sup>
FeEDTA	20	2	0,5	5,75 10 <sup>-5</sup>
<b>Solution B</b>				
	Poids/litre de milieu (mg.L <sup>-1</sup> )	Poids/litre de solution B (g)	Poids/250 ml de milieu B (g)	Concentration (mol/L)
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	75	7,5	1,875	0,00044
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	175	17,5	4,375	0,00128
NaCl	20	2	0,5	3,41 10 <sup>-4</sup>
<b>Solution μ-éléments</b>				
	Poids/litre de milieu (mg.L <sup>-1</sup> )	Poids/litre de solution μ-E (g)	Poids/250 ml de milieu μ-E (mg)	Concentration (mol/L)
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86	2,86	715	4,61 10 <sup>-5</sup>
MnCl <sub>2</sub> , 4H <sub>2</sub> O	1,81	1,81	452,5	1,20 10 <sup>-5</sup>
ZnSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,220	0,220	55	1,149 10 <sup>-6</sup>
CuSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,08	0,08	20	4,221 10 <sup>-7</sup>
MoO <sub>3</sub> 85%	0,036	0,036	9	2,5 10 <sup>-7</sup>
CoSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,09	0,09	22,5	4,86 10 <sup>-7</sup>

Pour la préparation de 1 litre de milieu de culture Bristol 3 N modifié, il faut mélanger 10 ml de solution A avec 10 ml de solution B et 1 ml de solution de μ-élément.

Le choix de ce milieu est justifié par l'apport nécessaire d'azote, de phosphore et des microéléments indispensables afin de favoriser uniquement des conditions de limitation par le carbone et par la lumière. En effet, sous ces conditions opératoires, la culture ne présente pas de carence vis-à-vis de l'azote et du phosphore. Le modèle choisi est donc adéquat pour caractériser la croissance des microalgues et plus particulièrement *Chlorella vulgaris*.

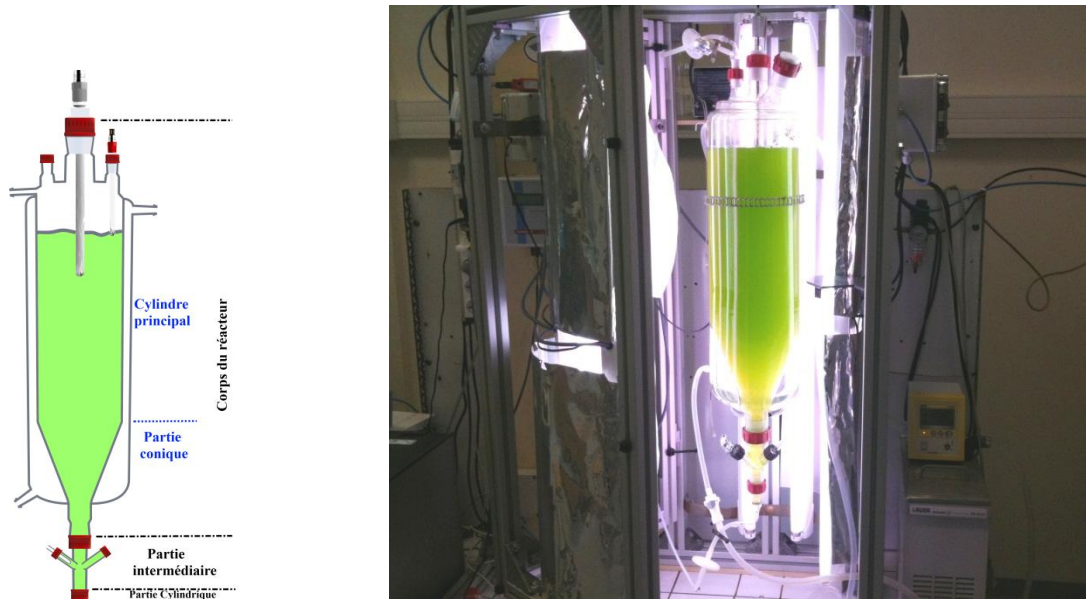
La stérilisation du Bristol 3 N s'effectue par voie thermique grâce à l'autoclave. Ce milieu de culture est ensuite conservé dans un système frigorifique à une température de 4°C (température inhibant la prolifération de germes pathogènes).

#### A2.1.4 Description du photobioréacteur

La phase d'identification des paramètres nécessaire au modèle a été réalisée grâce aux données expérimentales collectées à partir de la culture de *Chlorella vulgaris* dans un banc d'essai expérimental. Ce dispositif comprend un photobioréacteur de type colonne à bulles présentant un volume utile de 9,6 litres (cf. figure A2.1).

Le corps du réacteur est construit en verre transparent avec un rapport surface par volume égal à 32,24 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>. Il est constitué de trois parties (cf. figure A2.1) : une partie cylindrique contenant une pastille de verre frittée permettant de fractionner le débit de gaz à l'entrée en

petites bulles permettant l'apport de la source carbonée par un système d'aération par bullage, d'une part, et l'agitation du milieu réactionnel par le système air-lift (détailé dans l'Annexe A1), d'autre part ; une seconde partie dite intermédiaire qui présente deux sorties, sur l'une d'entre-elles est reliée une vanne qui permet la prise de l'échantillon durant la culture ; la troisième partie comprend une fraction conique permettant d'augmenter le diamètre jusqu'au cylindre principal de 0,4 m de hauteur et de 0,17 m de diamètre intérieur. Ce réacteur présente une surface éclairée de 0,31 m<sup>2</sup>.



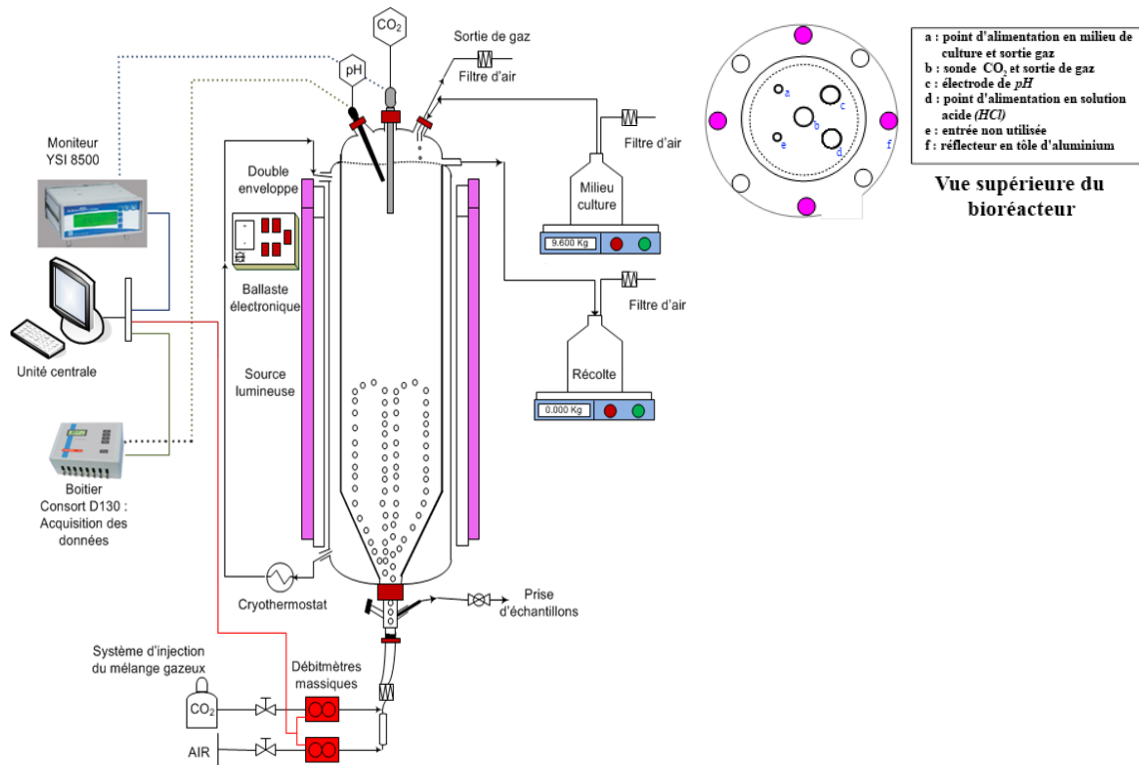
**Figure A2.1** : Photo du photobioréacteur de 9,6 L utilisé durant cette étude

La température au sein du réacteur est maintenue à une valeur optimale de croissance égale à 25°C, par l'intermédiaire d'une double enveloppe en verre qui assure la recirculation d'eau distillée et régulée au moyen d'un thermostat (cf. figure A2.2). Comme indiqué précédemment, l'agitation de la culture est assurée par le système air-lift. Un mélange gazeux d'air contenant 5 % de CO<sub>2</sub> avec un débit de 2,5 V.V.H (volume de gaz par volume de réacteur par heure) est injecté en continu par la partie inférieure du réacteur. Au préalable, ce débit gazeux est stérilisé par l'intermédiaire d'un filtre stérilisant Millipore. La régulation de ce mélange gazeux est assurée par une vanne de régulation intégrée (Vögtlin Instruments, Red-y Smart Series) et deux débitmètres massiques. La précision de mesure de ces débitmètres est égale à 0,5 %. Durant les campagnes expérimentales et pendant la phase de latence, l'apport du dioxyde de carbone est effectué de manière progressive et par palier afin d'éviter tout risque de stress environnemental lié à une chute importante du pH au niveau de la culture.

Le réacteur est entouré par deux types de tubes fluorescents Osram : quatre tubes de type BIOLUX® et quatre tubes de type FLUORA®. La combinaison de ces deux types assure un spectre lumineux similaire à la lumière solaire adéquate pour la croissance et l'activité photosynthétique des microalgues. L'intensité lumineuse incidente est ajustée grâce à des ballasts électroniques. Un réflecteur de lumière en aluminium a été placé sur toute la hauteur du réacteur afin de concentrer la lumière incidente et d'améliorer la disponibilité de l'énergie lumineuse au niveau de la culture. Au cours de nos essais, la variation de l'intensité lumineuse

est effectuée progressivement et par palier pendant la phase de latence afin d'éviter tout stress environnemental lié à une photo-inhibition (forte intensité lumineuse qui diminue la croissance algale en présence d'une faible concentration cellulaire). Une étude complémentaire a permis d'identifier l'amplitude de l'intensité lumineuse, égale à  $90 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , permettant d'obtenir une vitesse de croissance maximale de l'algue. Cette intensité lumineuse, considérée comme optimale pour la croissance de *Chlorella vulgaris*, est prise en considération pendant nos campagnes expérimentales.

Au niveau de la partie supérieure, ce photobioréacteur est équipé de cinq entrées. Seules quatre d'entre-elles sont utilisées, pour la sonde à  $\text{CO}_2$ , l'électrode de pH, l'alimentation en milieu de culture ainsi que pour l'ajout de solution acide lors des tests de perturbation au niveau de la stratégie de commande envisagée. Au niveau de l'alimentation en milieu de culture, un filtre Millipore de  $0,2 \mu\text{m}$  est rajouté au niveau d'une entrée auxiliaire afin d'assurer un dégagement gazeux et de garantir en même temps la stérilité du photobioréacteur.



**Figure A2.2 :** Représentation schématique du photobioréacteur de 9,6 L et de son environnement

Dans le cas de campagnes de culture en mode continu, l'apport du milieu de culture stérile à l'intérieur du réacteur est assuré au moyen d'une pompe péristaltique de type Watson Marlow 323 Du, commandée par une carte National Instruments PCI-6024E possédant des sorties analogiques correspondant à la tension de commande de la pompe. Une vérification du débit d'alimentation est possible grâce à une balance de précision. La récolte de l'excédent de culture s'effectue grâce à la surverse située au niveau de la partie supérieure du réacteur.

Avant chaque essai de culture, un étalonnage de la pompe péristaltique avec tout le système de raccord (tuyau en néoprène NORPENE<sup>®</sup> 06404-14 de Masterflex<sup>®</sup> de 1,6 mm de diamètre

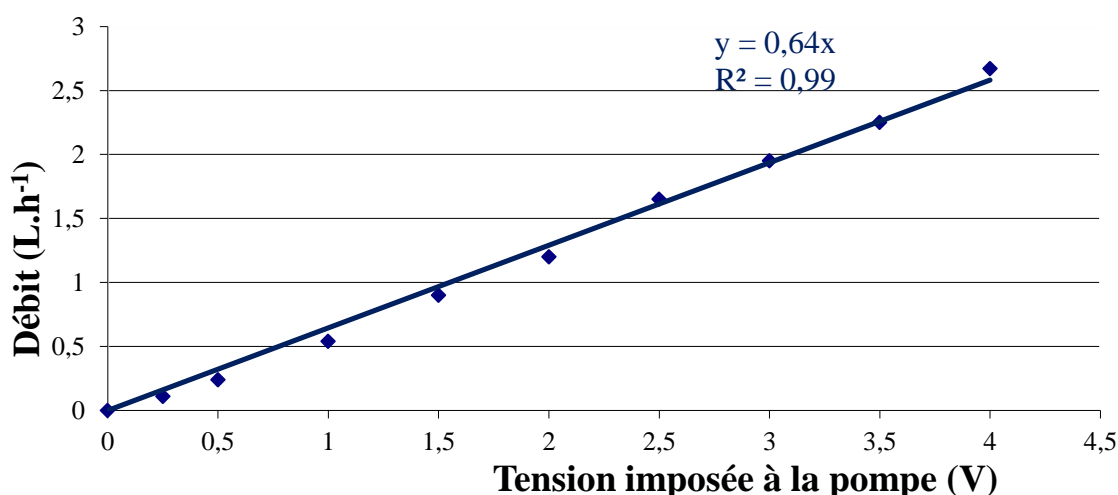
interne) est nécessaire. Cette procédure est effectuée grâce à une corrélation entre la tension imposée à la pompe par la carte National Instruments, la vitesse de sa rotation et le débit de liquide mesuré. Afin de mesurer la quantité de liquide pompée par unité de temps, une bonbonne, contenant le milieu de culture, est placée sur une balance de précision et est raccordée à la partie supérieure du réacteur. Au moyen d'un chronomètre, la balance permet de déterminer la quantité de liquide soutirée durant un temps bien défini. Cette procédure fournit l'identification expérimentale du facteur de proportionnalité entre le débit de liquide (exprimé en  $L.h^{-1}$ ) et le voltage imposé à la pompe.

Les résultats de l'étalonnage de la pompe sont indiqués dans le tableau A2.2.

**Tableau A2.2 :** Résultats d'étalonnage de la pompe

Vitesse de rotation de la pompe (Tours par minute)	Tension imposée à la pompe (V)	Débit ( $L.h^{-1}$ )
10	0,25	0,11
20	0,5	0,24
40	1	0,54
60	1,5	0,9
80	2	1,2
100	2,5	1,65
120	3	1,95
140	3,5	2,25
160	4	2,67

La figure A2.3 donne l'allure de variation du débit en fonction de la tension en entrée de la pompe. Le gain de conversion au niveau de la pompe est donc égal à  $0,64 L/h/V$ .



**Figure A2.3 :** Courbe d'étalonnage de la pompe

### A2.1.5 Méthode d'analyse

Le photobioréacteur possède une sortie au niveau de la partie intermédiaire du réacteur qui permet, au moyen d'une vanne, de récolter des échantillons. Cette opération est effectuée sous contrôle de flamme afin d'éviter tout risque de contamination. La fréquence de prélèvement varie en fonction du mode de culture appliqué : un temps d'échantillonnage de 2 heures dans le cas d'une culture en mode batch (afin d'éviter une diminution importante du volume de la culture) et de 30 à 60 minutes dans le cas d'une culture en mode continu (selon que la culture est en état transitoire ou stationnaire, respectivement).

**Tableau A2.3 :** Méthode d'analyse selon le mode de culture de *Chlorella vulgaris*

	Mode batch	Mode continu
<b>Mesures ponctuelles</b>	- Concentration cellulaire - Intensité lumineuse incidente - Intensité lumineuse sortante	- Concentration cellulaire - Intensité lumineuse incidente
<b>Mesures en temps réel</b>	- pH - [CO <sub>2</sub> ]	- pH - [CO <sub>2</sub> ]

#### A2.1.5.1 Mesure de la concentration cellulaire

Dans le domaine de la biotechnologie et de la microbiologie, plusieurs méthodes d'analyse sont utilisées pour quantifier la concentration cellulaire des micro-organismes, telles que le comptage par microscopie optique au moyen de lame de Malassez, la mesure de la matière sèche qui est couramment utilisée dans la littérature, et la mesure de la densité optique par spectrophotométrie. Toutes ces mesures diffèrent selon le volume de l'échantillon requis et selon la durée nécessaire à l'analyse.

**Tableau A2.4 :** Caractéristiques des méthodes de comptage cellulaire

	Volume requis (ml)	Durée de l'analyse (minutes)	Efficacité de la méthode
<b>Comptage par microscopie (nombre de cell.L<sup>-1</sup>)</b>	10 <sup>-5</sup>	15 à 30	Moyenne, erreurs relatives aux manipulateurs
<b>Matière sèche (g.L<sup>-1</sup>)</b>	50 à 100	24	Moyenne, erreurs éventuelles dues à la présence de cellules mortes ou polysaccharide
<b>Comptage par densité optique (sans dimension)</b>	1,5 à 2	1 à 2	Faible, nécessite une gamme étalon avec une seconde méthode de comptage
<b>Méthode granulométrique (nombre de cell.L<sup>-1</sup>)</b>	10 à 20 ml	5 à 10	Elevée, erreurs éventuelles dues à la focalisation de la lentille

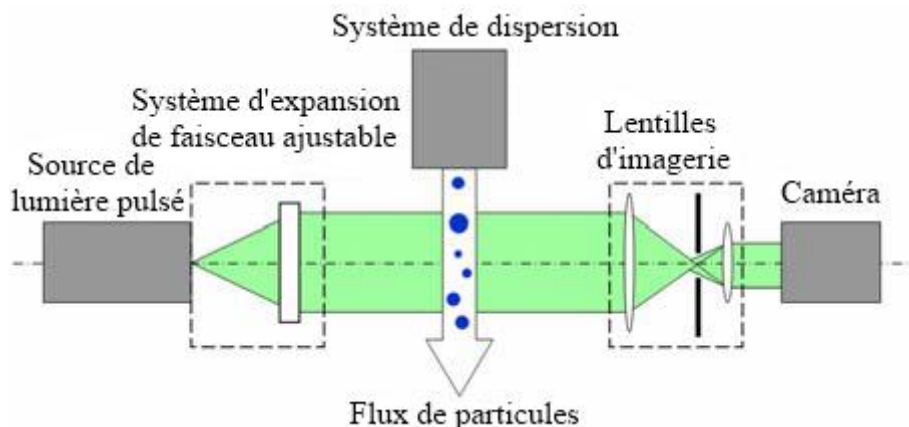
Une méthode récente a été envisagée pour mesurer la concentration cellulaire des microalgues. Il s'agit de la méthode granulométrique. Cette technique de comptage a été validée

dans le cadre d'une étude effectuée au *LGPM* sur la microalgue *Porphyridium purpureum*, au travers d'une comparaison avec une méthode plus classique de comptage par microscopie optique, selon le taux de dilution et le type de prétraitement de l'échantillon (Filali, 2008).

La méthode granulométrique par diffraction laser permet de mesurer la taille et la distribution selon le diamètre des particules compris entre 2 et 1700  $\mu\text{m}$ . Elle résulte de l'interaction entre un ensemble de particules et le faisceau laser incident par l'analyse de la tâche de diffraction du faisceau. Une lentille convergente forme l'image du faisceau diffracté sur un détecteur (caméra) situé dans le plan focal (cf. figure A2.4). Un traitement mathématique complexe permet de déduire le diamètre moyen et la distribution selon la taille des particules.

Durant cette étude, le comptage cellulaire de *Chlorella vulgaris* a été réalisé en utilisant un granulomètre avec un système d'analyse d'image et de diffraction laser de type *QICPIC* (Sympatec) et un système de dispersion de particules type *LIXELL*. Ce dispositif comporte une lentille caractérisée par un trajet optique de 0,2 mm de longueur. L'apport de la solution liquide contenant les cellules algales est assuré au moyen d'une pompe. Avant chaque utilisation, l'échantillon est soumis à une étape de sonication (utilisation des ultra-sons pendant 5 à 10 minutes pour rompre les agrégats cellulaires) et une étape de dilution selon la concentration de l'échantillon. Un logiciel de traitement de donnée, *WINDOX*, est intégré dans une unité centrale permettant de positionner la lentille dans le plan focal et de fournir la concentration moyenne de l'échantillon ainsi que sa distribution en fonction de la taille des particules. Une étude complémentaire a été réalisée sur la précision de la mesure de la concentration cellulaire selon la position de la lentille dans le plan focal. La précision de la mesure avec cette approche est évaluée à  $\pm 5\%$ .

Comparativement aux autres méthodes de comptage, cette technique permet d'assurer des analyses rapides, reproductibles tout en garantissant des précisions de mesures satisfaisantes. De même, elle permet une calibration simple, une grande étendue de la plage de mesure ainsi qu'une souplesse opératoire.



**Figure A2.4 :** Principe de fonctionnement du granulomètre laser muni d'un capteur d'analyse d'image de type QICPIC (Witt et al., 2007)

#### A2.1.5.2 Mesure de l'intensité lumineuse

La mesure de l'intensité lumineuse est réalisée à l'aide d'un photomètre avec un capteur LI-COR LI-190 SA relié à un boîtier de mesure de type LI-250. La mesure est obtenue en



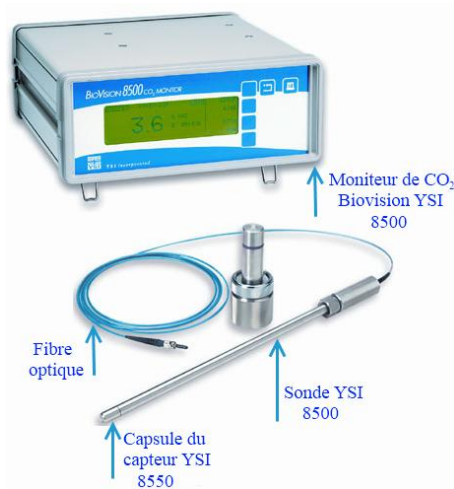
effectuant la moyenne de 6 mesures réalisées à des positions préalablement définies sur la surface du réacteur. Chaque mesure est quant à elle le résultat d'une moyenne de 60 lectures effectuées durant 15 secondes. La précision de la mesure fournie par le constructeur est évaluée à  $\pm 0,4$  %. Deux variables sont mesurées successivement : l'intensité lumineuse incidente par orientation du capteur vers la source lumineuse et l'intensité lumineuse sortante par son orientation vers le corps du réacteur.

#### A2.1.5.3 Mesure du pH

Le pH de la culture est mesuré en temps réel au moyen d'une électrode à pH (de type W83905 Fisher Scientific) reliée à une centrale d'acquisition multi-paramètres Consort D130. Cette dernière permet de collecter et d'exploiter les données expérimentales au sein de l'unité centrale par le biais d'un logiciel dédié. Cette électrode est étalonnée avant chaque campagne expérimentale grâce au logiciel du Consort D130, en utilisant deux solutions tampons : l'une à un pH de 4 et l'autre à un pH de 7. Afin d'éviter toute dérive de la mesure durant la culture, un étalonnage régulier de cette électrode est effectué.

#### A2.1.5.4 Mesure de la pression partielle en $CO_2$

Au niveau de la littérature, la technique de quantification du  $CO_2$  gazeux la plus couramment utilisée est celle de la chromatographie en phase gazeuse. Cependant, en raison des éventuelles erreurs induites par des pertes gazeuses lors de la préparation des échantillons et de l'impossibilité de travailler en temps réel, nous avons opté, durant nos campagnes de cultures, pour l'utilisation d'une sonde de mesure de  $CO_2$  dissous, de type YSI 8500, reliée par fibre optique à un moniteur de  $CO_2$  Biovision YSI 8500 (cf. figure A2.5).



**Figure A2.5** : Accessoires du système YSI 8500 d'acquisition du  $CO_2$  dissous en temps réels

Source : <http://www.ysilifesciences.com>

Cette technique de quantification repose sur la technologie opto-chimique (technologie qui met en jeu des méthodes chimiques et optiques). La capsule du capteur de  $CO_2$  se compose de quatre couches principales (cf. figure A2.6) : une couche d'acier inoxydable perforé, une couche externe de polymère inerte, une couche de colorant et une couche interne transparente de polymère. La spécificité de cette technique repose sur la couche de colorant. Elle comprend :



- Tampon de bicarbonate : acide carbonique et l'ion bicarbonate ;
- Tampon contenant un colorant fluorescent sensible au pH : la forme acide *HPTS* (acide trisulfonique hydropyrène) et la forme basique *PTS<sup>-</sup>* ;
- Chlorure de sodium (*NaCl*) ;

Au niveau de la membrane de la sonde, le  $CO_2$  réagit avec le colorant en modifiant le pH et en entraînant le changement de concentration et de fluorescence du HPTS. Les deux réactions qui se produisent au niveau du réservoir du colorant sont les suivantes :

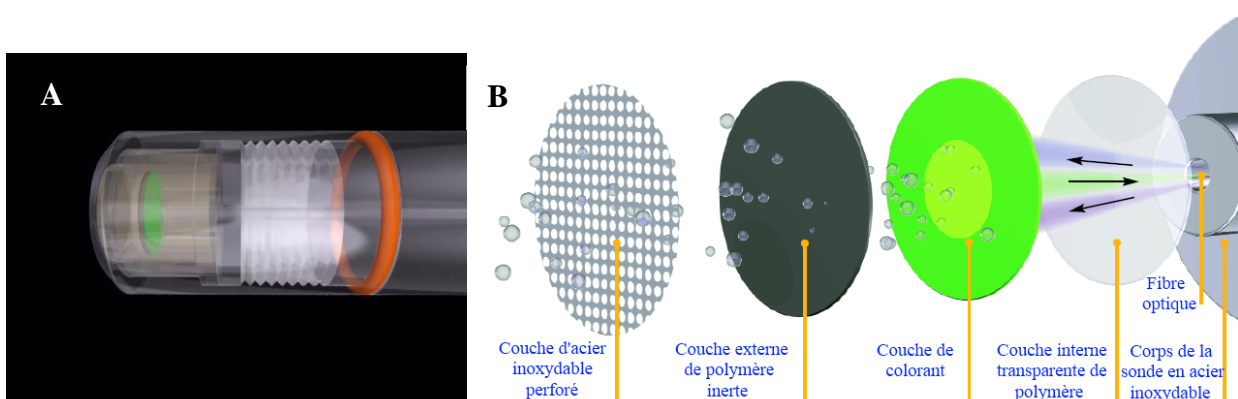


Le moniteur transmet deux longueurs d'ondes d'excitation, une de 405 nm pour la forme acide *HPTS* et une autre de 460 nm pour la forme basique *PTS<sup>-</sup>*. Les résultats d'excitation de la forme acide et basique sont ensuite retransmis du réservoir contenant le colorant vers le moniteur Biovision via la fibre optique pour la mesure de la fluorescence à 525 nm. Ceci permet de calculer la concentration du  $CO_2$  dissous via l'analyse du ratio de fluorescence entre la forme acide et la forme basique du colorant. Il existe une relation de proportionnalité entre le  $CO_2$  dissous et ce ratio de fluorescence de la forme :

$$\text{Ratio} \left( \frac{HPTS}{PTS^-} \right) = \alpha [CO_2] + \beta \quad (A2.2)$$

La détermination des paramètres  $\alpha$  et  $\beta$  a été réalisée à l'aide d'une calibration utilisant une gamme de concentration connue en  $CO_2$ .

Les résultats, affichés et enregistrés au niveau du moniteur Biovision YSI 8500, sont importés sur l'unité centrale YSI 8500 via le port RS232. Ils correspondent à la pression partielle du  $CO_2$  dissous qui est exprimée soit en pourcentage ou en mbar après introduction de la pression partielle atmosphérique et de celle au niveau du réacteur.



**Figure A2.6** : Principe de fonctionnement du capteur YSI 8500 : **A** : vue transparente de la capsule (document YSI®) – **B** : représentation schématique de la composition de la capsule

Source : <http://www.ysilifesciences.com>

L'étalonnage de cette sonde est réalisé avant chaque campagne expérimentale. Cette procédure est réalisée par l'intermédiaire d'une calibration avec un seul point utilisant une gamme étalon d'un mélange gazeux d'azote contenant 3,6 % de  $CO_2$ . La durée de l'étalonnage

varie entre 40 minutes et deux heures avec la stabilisation permanente de la mesure de la pression partielle en  $CO_2$ . De même, afin de prévenir toute dérive de la mesure, un étalonnage régulier de cette sonde est effectué (le constructeur signale une dérive de 2% de la mesure par semaine). La précision de la mesure fournie par le constructeur est évaluée à  $\pm 5\%$ .

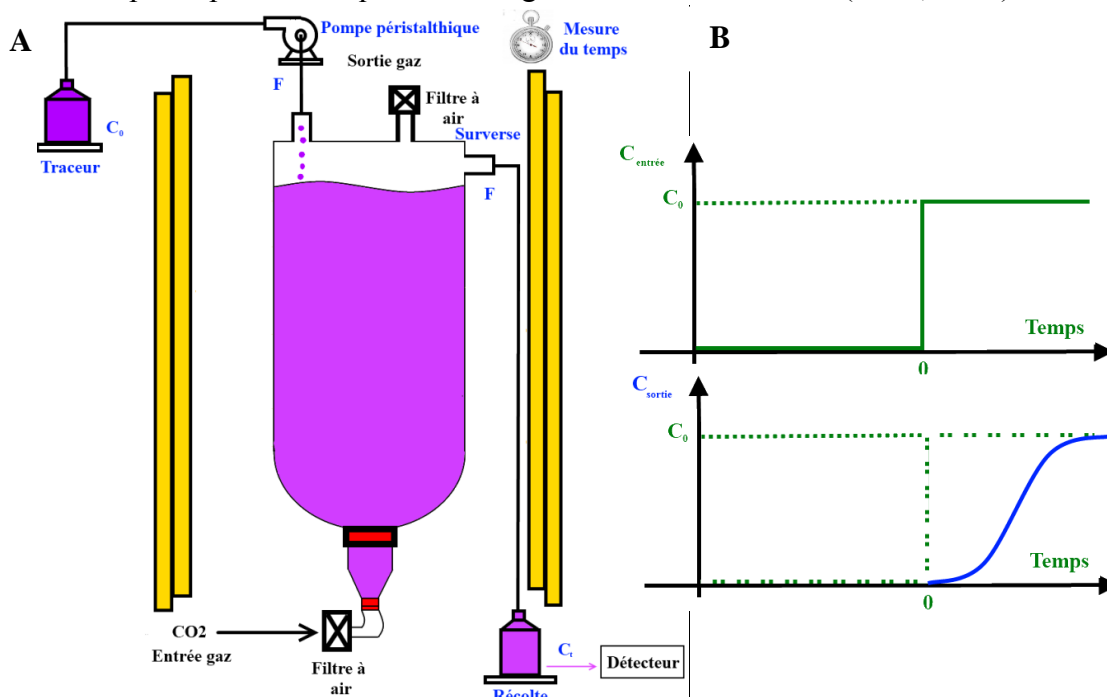
### A2.2 Distribution du temps de séjour « DTS »

Cette étude préliminaire visant à caractériser le « DTS » a été réalisée pour modéliser le type d'écoulement du photobioréacteur (réacteur continu parfaitement agité), afin de pouvoir valider les bilans massiques effectués pour la mise au point du modèle du système.

Ce paramètre reflète la durée de vie d'un élément fluide dans le réacteur. Il permet de fournir des informations sur le temps de séjour, la qualité du mélange et la présence de zones stagnantes (Cassagnau et al., 1991).

Le principal objectif de cet essai réside dans la comparaison du comportement hydrodynamique de ce photobioréacteur par rapport à un réacteur idéal continu parfaitement agité « RCPA ». Plusieurs protocoles expérimentaux ont été proposés dans la littérature (Todd, 1975 ; Gendron et al., 1996 ; Hu et al., 1999 ; Melo et al., 2002 ; Sun et al., 2003).

Durant cette campagne, une méthode colorimétrique a été privilégiée, en utilisant le permanganate de potassium comme traceur. Le traceur est un élément chimique qui doit être inerte, mesurable, et qui présente les mêmes propriétés que le fluide, avec la possibilité de le marquer sans perturber ce dernier. Un essai en continu et en régime stationnaire a été réalisé sur le banc d'essai comprenant le photobioréacteur de 9,6 L contenant de l'eau distillée. Il s'agit d'injecter en continu, grâce à une pompe péristaltique, une concentration bien définie du traceur au temps initial (colorant de concentration initiale égale à  $58,7 \text{ mg.L}^{-1}$ ) et de suivre l'évolution de la concentration du fluide liquide à la sortie du réacteur au niveau de la surverse (cf. figure A2.7). L'entrée passe ainsi brusquement d'une concentration nulle à la concentration initiale du traceur. Ce suivi de la concentration de sortie du traceur est effectué grâce à la méthode spectrophotométrique à une longueur d'onde de 526 nm (Filali, 2008).



**Figure A2.7 :** A : protocole expérimental de détermination de la distribution du temps de séjour dans un photobioréacteur – B : réponse vis-à-vis d'une perturbation en échelon

Le suivi de la concentration du traceur à la sortie du réacteur est normalisé par rapport à celle initiale en vue de déterminer l'évolution de la courbe d'une fonction adimensionnelle notée «  $F_t$  » caractérisant la distribution du temps de séjour et définie par la relation suivante :

$$F_t = \frac{C_t}{C_0} \quad (\text{A2.3})$$

où  $C_0$  et  $C_t$  représentent respectivement la concentration initiale et de sortie du traceur.

Sachant que dans le cas d'un réacteur idéal continu parfaitement agité et en réponse à une injection en échelon d'un traceur, cette fonction adimensionnelle  $F_t$  est définie par cette expression :

$$F_t = 1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) \quad (\text{A2.4})$$

où  $\tau$  représente le temps de résidence moyen, défini comme étant le rapport entre le volume total utile du photobioréacteur et le débit d'alimentation du traceur.

Afin de quantifier l'idéalité de notre réacteur, il est nécessaire de comparer la fonction adimensionnelle  $F_t$  obtenue à partir des mesures expérimentales de la concentration de sortie du fluide à celle d'un réacteur idéal parfaitement agité.

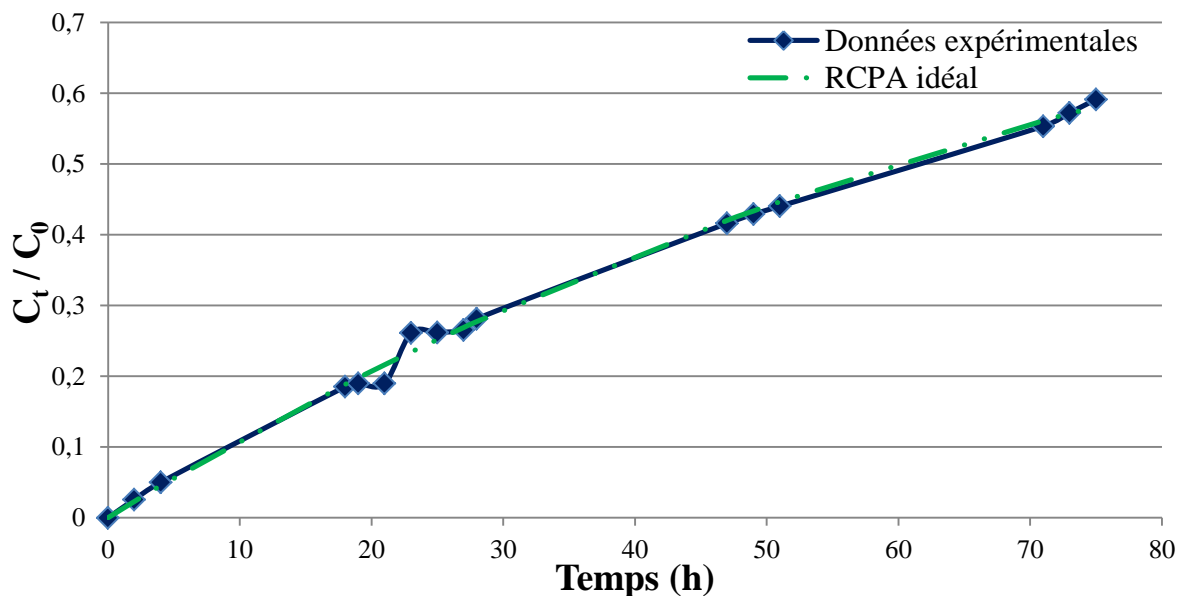
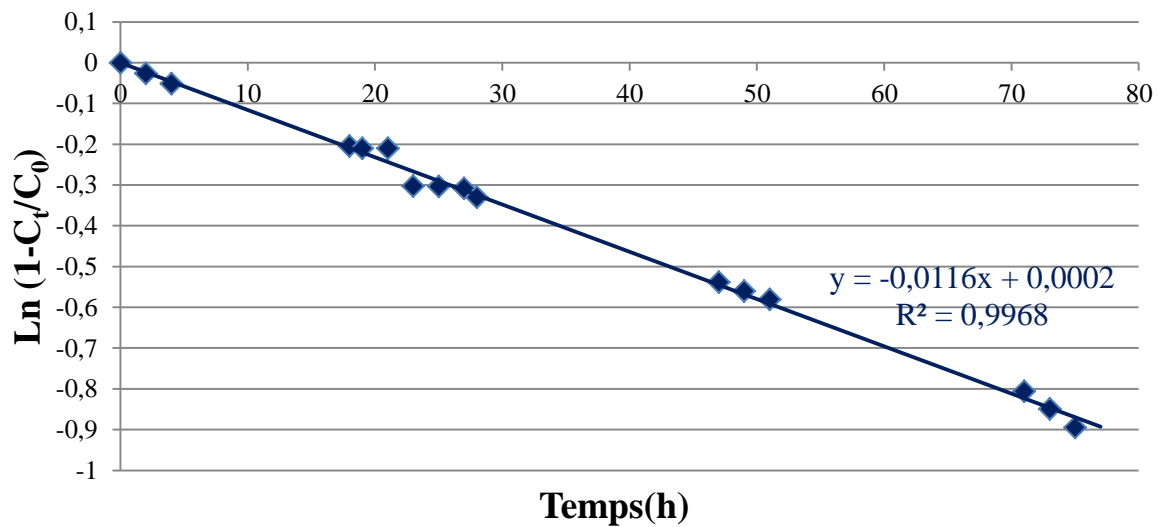


Figure A2.8 : Suivi de l'évolution de la fonction adimensionnelle  $F_t$

A partir de la figure A2.8, on peut considérer, dans un premier temps, que le photobioréacteur utilisé présente un comportement similaire à celui d'un réacteur idéal parfaitement agité. En effet, à partir du suivi de la concentration du traceur à la sortie du réacteur, la distribution du temps de séjour, déterminée expérimentalement, présente une allure similaire à celle issue d'un RCPA.

Afin de valider la dynamique d'écoulement dans le réacteur, on va comparer le temps de séjour expérimental à celui d'un RCPA. Le temps de séjour expérimental est déterminé en

traçant la courbe du logarithme népérien de la fonction «  $1-F_t$  » en fonction du temps (cf. figure A2.9). Ce paramètre correspond à l'inverse de la pente de la droite obtenue.



**Figure A2.9 :** Détermination expérimentale du temps de séjour «  $\tau_{\text{exp}}$  »

A partir des résultats obtenus, on peut déduire le temps de séjour expérimental, égal à 86 heures. En comparant cette valeur avec le temps de séjour théorique d'un *RCPA*, égal à 87 heures (paramètre obtenu en faisant le rapport entre le volume utile du réacteur, égal à 9,6 litres, et le débit d'alimentation utilisé durant cette campagne, égal à  $0,11 \text{ L.h}^{-1}$ ), on peut valider le caractère idéal du photobioréacteur utilisé durant cette étude. Il présente en effet toutes les caractéristiques hydrodynamiques d'un réacteur idéal parfaitement agité.

A partir de cette étude sur le régime d'écoulement du réacteur, on peut donc exploiter les bilans matières afin de modéliser l'évolution des variables du bioprocédé.

### A2.3 Etat de l'art : modèles de croissance appliqués dans les bioprocédés

Afin de caractériser le comportement d'un système biologique, différentes équations mathématiques sont déterminées dans le but de reproduire fidèlement la cinétique de croissance, notamment en termes d'évolution de la concentration cellulaire et de vitesse de consommation du substrat limitant. Ces modèles permettent de tenir compte de l'interaction de la population algale avec les espèces chimiques présentes dans le milieu de culture (dioxyde de carbone, azote, phosphore, etc.) et de l'influence des conditions environnementales (lumière, température, etc.). Ce sont des outils de prédiction et d'optimisation de la croissance cellulaire sous certaines conditions de cultures.

Du point de vue de la commande, ces outils présentent une base pour le développement d'observateurs et pour la mise en place de stratégies de commande du bioprocédé. La modélisation d'un système de culture de microalgues repose sur des lois de croissance empiriques développées pour les microorganismes microbiens de manière générale ou pour les microalgues de manière plus spécifique. Un grand nombre de structures de modèles plus ou moins complexes ont été proposées au niveau de la littérature permettant de traduire la vitesse de croissance en fonction des paramètres biologiques et physico-chimiques du système.

On distingue principalement deux catégories de modèle mathématique selon leur complexité :

- ✓ Des modèles déterministes ou non structurés : ce type de modèle permet de caractériser l'évolution de la biomasse de façon globale en fonction du temps sous l'influence des

paramètres environnementaux tels que la température, le  $pH$ , la lumière, etc. Cette structure est simple et ne permet pas de tenir compte des évolutions physiologiques et cellulaires des microalgues mais uniquement de l'évolution de la concentration des nutriments dans le milieu de culture. Cette simplicité offre des possibilités d'applications intéressantes particulièrement dans le domaine de l'Automatique. Le modèle le plus représentatif de cette catégorie est celui de Monod (Monod, 1942).

- ✓ Des modèles structurés : leur complexité est beaucoup plus importante. Ce sont des modèles plus réalistes qui permettent de reproduire la cinétique des microalgues. La croissance cellulaire est prédite en prenant en compte plusieurs caractéristiques physiologiques propres à l'espèce de microalgue, relatives à l'âge, la taille, la morphologie, etc. Cependant, la complexité mathématique de ces modèles les rend difficilement exploitables. Le modèle de Droop est considéré comme l'outil de référence dans cette catégorie (Droop, 1968).

### A2.3.1 Modèle de Monod

Le modèle de Monod est un outil non structuré empirique très utilisé dans la caractérisation de la cinétique de croissance microbienne. Il est issu de travaux basés sur la loi de Michaëlis et Menten (1913). Ce modèle permet de mettre en valeur l'effet limitant d'un substrat sur la vitesse de croissance d'un microorganisme, selon la relation hyperbolique suivante :

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S + S} \quad (\text{A2.5})$$

avec  $S$  concentration du substrat limitant.

Ce modèle se base sur deux paramètres importants :

- ✓  $\mu_{max}$  qui représente la vitesse spécifique maximale de croissance exprimée en  $\text{h}^{-1}$ . C'est un paramètre intrinsèque au microorganisme mis en culture. Son identification s'effectue durant la phase exponentielle de croissance lorsque le substrat est en très large excès (concentration largement supérieure à la constante  $K_S$ )
- ✓  $K_S$  qui représente la constante de demi-saturation en substrat et qui est généralement exprimée en  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ . (ou  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Ce paramètre permet d'avoir une idée de l'affinité du microorganisme avec le substrat. L'affinité représente l'inverse de la constante  $K_S$ . C'est un indicateur essentiel de l'état de la culture par rapport au niveau de saturation relatif au substrat limitant. Il représente également la concentration du substrat lorsque la vitesse de croissance est égale à la moitié de sa valeur maximale, d'où son nom de constante de demi-saturation.

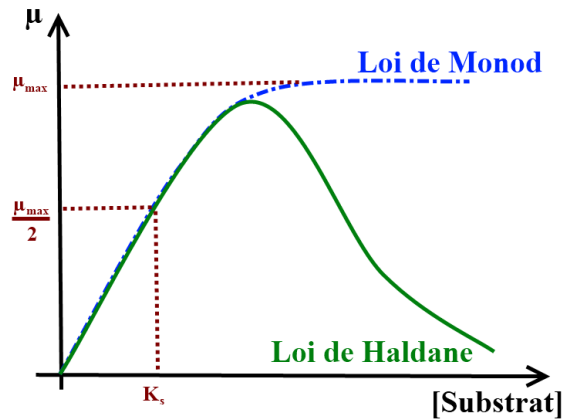
Cependant, ce type de modèle permet uniquement de modéliser la croissance pendant la phase exponentielle dans le cas d'une culture en batch et pendant la phase stationnaire dans le cas d'une culture en continu. Cette structure n'est pas valide durant les phases transitoires dans le cas d'une culture en continu. Les modèles non structurés présentent une vision simplifiée de la réalité et considèrent que la croissance et l'absorption des nutriments se font simultanément. D'autres types de modèles structurés et non structurés ont été élaborés afin de caractériser la cinétique microbienne.

### A2.3.2 Modèle de Haldane

Le modèle de Haldane est complémentaire de celui de Monod, car il permet de mettre en évidence l'inhibition du même substrat sur la cinétique de croissance (cf. figure A2.10).

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_I}} \quad (\text{A2.6})$$

La constante  $K_I$  est la constante d'inhibition ( $\text{g.L}^{-1}$ ). Elle représente la concentration du substrat à partir de laquelle il devient inhibiteur de la croissance cellulaire.



**Figure A2.10** : Représentation graphique de la loi de Monod et de Haldane d'après (Cindy Bassompierre, 2007)

### A2.3.3 Modèle de Contois

Ce type de modèle permet de mettre en évidence l'effet simultané de la limitation par le substrat et de l'impact de la concentration cellulaire sur la cinétique de croissance. En effet, cette loi admet une éventuelle inhibition limitation suite à l'augmentation de la concentration cellulaire qui pourrait ralentir les phénomènes de transfert massique et ainsi limiter la disponibilité des éléments nutritifs. L'expression mathématique de cette loi est la suivante :

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S \cdot X + S} \quad (\text{A2.7})$$

avec  $X$  la concentration cellulaire et  $K_S$  la constante de demi-saturation en substrat (mol. nombre de cellule<sup>-1</sup>). Au travers de cette loi, on peut remarquer que la vitesse de croissance est inversement proportionnelle à la concentration cellulaire.

### A2.3.4 Modèles portant sur l'influence de la lumière

La lumière est l'un des paramètres fondamentaux qui présente une influence significative sur la cinétique de croissance des microalgues. La modélisation de l'influence de ce paramètre sur la croissance doit prendre en compte différents phénomènes liés à l'intensité lumineuse fournie qui affectent l'évolution cellulaire de l'algue à travers des modifications physiologiques et métaboliques.

Plusieurs modèles ont été établis permettant de mettre en évidence l'impact de l'effet limitant et/ou inhibant de la lumière sur la croissance des microalgues (Molina Grima et al., 1999 ; Rubio et al., 2003 ; Muller Feuga, 1999 ; Cornet et al., 1998 ; Pruvost et al., 2009). Le tableau suivant permet de résumer les principaux modèles trouvés dans la littérature.

**Tableau A2.5 :** Modèles mathématiques traduisant l'effet de limitation de la lumière sur la croissance des microalgues

$\mu_{max}$  : vitesse spécifique maximale de croissance ( $h^{-1}$ )

$I$  : intensité lumineuse moyenne dans le photobioréacteur ( $\mu E. m^{-2}.s^{-1}$ )

Modèles	Structure	Paramètres du modèle
<b>Monod (1942)</b> appliqué à <i>Spirulina platensis</i> (cornet et al., 1995)	$\mu = \mu_{max} \frac{I}{K_{SI} + I}$	$K_{SI}$ : constante de demi-saturation relative à la lumière ( $\mu E. m^{-2}.s^{-1}$ )
<b>Tamiya et al. (1953)</b> appliqué à <i>Chlorella vulgaris</i>	$\mu = \mu_{max} \frac{\alpha \cdot I}{\mu_{max} + \alpha \cdot I}$	$\alpha$ : valeur empirique
<b>Van Oorschot (1955)</b> appliqué à <i>Isochrysis galbana</i> (Molina Grima et al., 1996)	$\mu = \mu_{max} \left( 1 - e^{\left( -\frac{I}{I_{max}} \right)} \right)$	$I_{max}$ : intensité lumineuse de saturation correspondant à $\mu_{max}$ ( $\mu E. m^{-2}.s^{-1}$ )
<b>Ramesh (1997)</b> appliqué à <i>Scrippsella sp.</i>	$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{(I - I_c)}{K_1 + (I - I_c) - A e^{\left( -\frac{K}{I} \right)}}$	$I_c$ : intensité lumineuse minimale nécessaire à la croissance ( $\mu E. m^{-2}.s^{-1}$ ) $A, K_1$ : constantes $K$ : paramètre équivalent de l'énergie d'activation
<b>Moser (1985)</b> appliqué à <i>Isochrysis galbana</i> (Molina Grima et al., 1994)	$\mu = \mu_{max} \frac{I^n}{I_k^n + I^n}$	$I_k$ : Affinité des microalgues à la lumière ( $\mu E. m^{-2}.s^{-1}$ ) $n$ : valeur empirique (sans dimension)
<b>Ogbonna et al. (1995)</b> appliqué à <i>Chlorella pyrenoidosa et Spirulina platensis</i>	$\mu = K \cdot \left( \frac{\varepsilon \cdot a \cdot I_0}{V} \right)$	$\varepsilon$ : constante $a$ : surface éclairée ( $m^2$ ) $V$ : volume de culture ( $m^3$ ) $K$ : constante équivalente à un rendement de croissance $I_0$ : intensité lumineuse incidente ( $\mu E. m^{-2}.s^{-1}$ )
<b>Martínez Sancho et al. (1999a)</b> appliqué à <i>Scenedesmus obliquus</i>	$\mu = \alpha \cdot e^{(-\beta \cdot I_0)} \cdot \frac{n}{\sqrt[n]{q_E - m_E}}$	$\alpha, \beta$ : constantes $q_E$ : vitesse spécifique de consommation de l'énergie lumineuse ( $KJ. g^{-1}. s^{-1}$ ) $m_E$ : énergie d'utilisation de la lumière pour la maintenance ( $KJ. g^{-1}. s^{-1}$ ) $n$ : paramètre empirique (sans dimension)

**Tableau A2.6 :** Modèles mathématiques traduisant l'effet de la limitation et/ou de l'inhibition de la lumière sur la croissance des microalgues

Modèles	Structure	Paramètres du modèle
<b>Peeters et Eilers (1978)</b> appliqué à <i>Porphyridium purpureum</i> (Dermoun et al., 1992)	$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{2 \cdot (1 + \delta) \cdot \frac{I}{I_{max}}}{\left( \frac{I}{I_{max}} \right)^2 + \left( 2 \cdot \delta \cdot \frac{I}{I_{max}} \right) + 1}$	$I_{max}$ : intensité lumineuse de saturation correspondante à $\mu_{max}$ ( $\mu E. m^{-2}.s^{-1}$ ) $\delta$ : coefficient d'acuité

<p><b>Steele (1977)</b> appliqué à <i>Isochrysis galbana</i> (Molina Grima et al., 1996)</p>	$\mu = \mu_{max} \left( \frac{I}{I_{max}} \cdot e^{(1 - \frac{I}{I_{max}})} \right)$	<p><math>I_{max}</math> : intensité lumineuse de saturation correspondante à <math>\mu_{max}</math> (<math>\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}</math>)</p>
<p><b>Molina Grima et al. (1999)</b> appliqué à <i>Phaeodactylum tricornutum</i> (Acien Fernández et al., 1998)</p>	$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I^{\left(\frac{b+c}{I_0}\right)}}{\left[ I_k \cdot \left( 1 + \left( \frac{I_0}{K_t} \right)^a \right) \right] + I^{\left(\frac{b+c}{I_0}\right)}}$	<p><math>I_0</math> : intensité lumineuse incidente (<math>\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}</math>)  <math>I_k</math> : Affinité des microalgues à la lumière (<math>\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}</math>)  <math>K_t</math> : constante de photo-inhibition (<math>\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}</math>)  <math>a, b</math> et <math>c</math> : paramètres du modèle</p>
<p><b>Frohlich et al. (1983)</b></p>	$\mu = \mu_{max} \left( \frac{I}{K_{SI} + I} \right) \left( \frac{K_t}{K_t + I} \right)$	<p><math>K_t</math> : constante de photo-inhibition (<math>\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}</math>)  <math>K_{SI}</math> : constante de demi-saturation par la lumière (<math>\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}</math>)</p>
<p><b>Bannister (1979)</b> appliqué à <i>Chlorella pyrenoidosa</i></p>	$\mu = \mu_{max} \frac{I}{(K_t^m + I^m)^{\frac{1}{m}}}$	<p><math>K_t</math> : constante de photo-inhibition (<math>\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}</math>)  <math>m</math> : valeur empirique sans dimension décrivant la transition de faible à forte intensité lumineuse</p>
<p><b>Andrews-Haldane (1968)</b> appliqué à <i>Chlorella vulgaris</i> (Ogawa et Ainba, 1981)</p>	$\mu = \mu_{max} \frac{I}{K_{SI} + I + \frac{I^2}{K_t}}$	<p><math>K_t</math> : constante de photo-inhibition (<math>\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}</math>)  <math>K_{SI}</math> : constante de saturation relative à la lumière (<math>\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}</math>)</p>
<p><b>Kim et al. (2002)</b> appliqué à <i>Chlorella Kessleri</i></p>	$\mu = \frac{\mu_{max}}{I_c - K_{SI}} \cdot \left[ I_c + \frac{K_{SI} \cdot \log\left(\frac{K_t}{K_t + I_{max} - I_c}\right)}{\log\left(\frac{I_{max}}{I_c}\right)} \right]$	<p><math>I_{max}</math> : intensité lumineuse de saturation (<math>\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}</math>)  <math>I_c</math> : intensité lumineuse minimale nécessaire à la croissance (<math>\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}</math>)  <math>K_{SI}</math> : constante de demi-saturation relative à la lumière (<math>\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}</math>)</p>
<p><b>Muller-feuga (1999)</b> appliqué à <i>Porphyridium purpureum</i></p>	$\mu = 2 \cdot \mu_{max} \cdot \frac{(1 - \rho_e) \cdot (\rho - \rho_e)}{2 \cdot (1 - \rho_e)^2 + (\rho - \rho_e)^2}$ $\rho = \frac{I}{I_{max}}$ $\rho_e = \frac{I_c}{I_{max}}$	<p><math>I_{max}</math> : intensité lumineuse de saturation (<math>\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}</math>)  <math>I_c</math> : intensité lumineuse minimale nécessaire à la croissance (<math>\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}</math>)  <math>\rho</math> : ratio normalisé  <math>\rho_e</math> : ratio de maintenance normalisé</p>
<p><b>Stauffer (1973)</b></p>	$\mu = \mu_{max} \cdot \sin\left(\frac{\pi \cdot (\rho - \rho_e)}{2 \cdot (1 - \rho_e)}\right)$	<p><math>\rho</math> : ratio normalisé (sans dimension)  <math>\rho_e</math> : ratio de maintenance normalisé (sans dimension)</p>
<p><b>Corey et al. (1983)</b></p>	$\mu = \mu_{max} \cdot \left( 1 - \frac{(1 - \rho)}{(1 - \rho_e)} \right)^n$	<p><math>\rho</math> : ratio normalisé (sans dimension)  <math>\rho_e</math> : ratio de maintenance normalisé (sans dimension)  <math>n</math> : paramètre empirique (sans dimension)</p>



### A2.3.5 Modèles portant sur l'influence du carbone

Mise à part l'importance de la lumière sur la cinétique de croissance, la disponibilité du dioxyde de carbone dans la culture est susceptible d'être limitante pour la concentration cellulaire. Les phénomènes physiologiques tels que le mécanisme biologique de concentration de  $CO_2$  « MCC », qui traduit la capacité d'adaptation des microalgues vis-à-vis des conditions de limitation en carbone, permettent de confirmer l'importance de la modélisation de l'effet limitant du carbone sur la cinétique de croissance. En effet dans des conditions de faibles concentrations de  $CO_2$ , la capacité d'adaptation des cellules algales dépend de leurs préférences vers l'une des formes du carbone inorganique. Plusieurs études se sont intéressées à la modélisation de l'effet de la concentration en carbone inorganique total sur la cinétique de croissance des microalgues (Watson, 2009). L'utilisation d'un modèle non structuré tel que le modèle de Monod permet de tenir compte de l'effet de limitation par le  $CO_2$  (King, 1970 ; Novak et Brune, 1985) et par le  $CIT$  (Goldman et al., 1974). Une modélisation de l'influence de deux sources de carbone (une espèce préférentielle pouvant être  $CO_2$  avec une seconde espèce pouvant être le bicarbonate) sur la vitesse de croissance est représentée par la relation suivante (Watson, 2009) :

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{[HCO_3^-]}{K_{S,HCO_3^-} + [HCO_3^-]} \cdot \frac{K_{S,CO_2}}{K_{S,CO_2} + [CO_2]} \quad (A2.8)$$

avec :

- ✓  $\mu_{max}$  : vitesse maximale de croissance ( $h^{-1}$ ) ;
- ✓  $[HCO_3^-]$  : concentration de bicarbonate dissous ( $mol. L^{-1}$ ) ;
- ✓  $[CO_2]$  : concentration de dioxyde de carbone dissous ( $mol. L^{-1}$ ) ;
- ✓  $K_{S,HCO_3^-}$  : constante de demi-saturation relative au bicarbonate ( $mol. L^{-1}$ ) ;
- ✓  $K_{S,CO_2}$  : constante de demi-saturation relative au dioxyde de carbone ( $mol. L^{-1}$ ).

Par ailleurs l'inhibition par le substrat peut être décrite par le modèle de Haldane (Kim et al., 2005 ; Wijanarko et al., 2004).

### A2.3.6 Modèles portant sur l'influence simultanée du carbone et de la lumière

Certains auteurs se sont intéressés à l'élaboration de modèles mathématiques capables de décrire la vitesse de croissance des microalgues à partir des données expérimentales, en intégrant simultanément l'effet de la lumière, exprimé sous forme d'énergie disponible accessible par cellule ou "E", et l'impact de la concentration de carbone inorganique total disponible dans le milieu de culture. Ainsi, Baquerisse (1999) a appliqué une structure similaire à celle de Steele (1977) afin de caractériser la vitesse de croissance de *Porphyridium purpureum* en fonction de l'énergie lumineuse accessible par cellule et de  $[CIT]$  suivant cette relation mathématique :

$$\mu = \mu_{max} \cdot \left( \frac{E}{E_{opt}} \right) \cdot e^{\left(1 - \frac{E}{E_{opt}}\right)} \cdot \left( \frac{[CIT]}{[CIT]_{opt}} \right) \cdot e^{\left(1 - \frac{[CIT]}{[CIT]_{opt}}\right)} \quad (A2.9)$$

avec :

- ✓  $\mu_{max}$  : vitesse maximale de croissance ( $h^{-1}$ ) ;
- ✓  $[CIT]$  : concentration du carbone inorganique total ( $mmol.L^{-1}$ ) ;
- ✓  $[CIT]_{opt}$  : concentration du carbone inorganique total lorsque  $\mu$  est égale à  $\mu_{max}$  ( $mmol.L^{-1}$ ) ;
- ✓  $E$  : énergie lumineuse accessible par cellule ( $\mu E. 10^9 cell^{-1}.s^{-1}$ ). Ce paramètre est défini selon le modèle de Krystallidis (1994) à travers l'expression suivante :

$$E = \frac{(I_{in} - I_{out}) \cdot A_r}{V \cdot X} \quad (A2.10)$$

- $V$ : volume utile du photobioréacteur ( $m^3$ );
- $A_r$ : surface éclairée du réacteur ( $m^2$ );
- $I_{in}$  et  $I_{out}$ : intensité lumineuse incidente et sortante, respectivement ( $\mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ ).
- ✓  $E_{opt}$ : énergie lumineuse accessible par cellule lorsque  $\mu$  est égale à  $\mu_{max}$  ( $\mu E \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1} \cdot s^{-1}$ );
- ✓  $X$ : concentration cellulaire ou biomasse ( $10^9 \text{ cell} \cdot L^{-1}$ ).

Un second type de modèle a été établi par Nouals (2000) avec une combinaison de structure issue du modèle de Monod afin de mettre en évidence simultanément l'effet de la lumière, ainsi que l'effet limitant et inhibant relatif au  $CIT$  sur la croissance. Ce modèle est de la forme :

$$\mu = \mu_{max} \cdot \left( \frac{E}{K_E + E} \right) \cdot \left( \frac{[CIT]_{cell}}{K_{CL} + [CIT]_{cell}} \right) \cdot \left( \frac{K_{CI}}{K_{CI} + [CIT]_{cell}} \right) \quad (A2.11)$$

avec :

- ✓  $\mu_{max}$ : vitesse maximale de croissance ( $h^{-1}$ );
- ✓  $[CIT]_{cell}$ : concentration en carbone inorganique total disponible par cellule ( $mmol \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1}$ );
- ✓  $E$ : énergie lumineuse accessible par cellule ( $\mu E \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1} \cdot s^{-1}$ );
- ✓  $K_E$ : constante de demi-saturation relative à la lumière ( $\mu E \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1} \cdot s^{-1}$ );
- ✓  $K_{CL}$ : constante de demi-saturation relative au  $CIT$  ( $mmol \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1}$ );
- ✓  $K_{CI}$ : constante d'inhibition par le  $CIT$  ( $mmol \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1}$ ).

Les travaux de Krystallidis (1994) ont permis de mettre au point un modèle mathématique qui présente comme particularité de tenir compte du phénomène de photo-inhibition induite par des fortes intensités lumineuses incidentes.

$$\mu = \mu_{max} \cdot \left( \frac{[CO_2]}{K_S + [CO_2]} \right) \cdot \left( \frac{E}{K_E + E} \right) \cdot \left( 1 + \frac{E_{min}}{E} \right)^n \cdot \left( \frac{K_I}{K_I + E} \right)^{n_1} \quad (A2.12)$$

avec :

- ✓  $\mu_{max}$ : vitesse maximale de croissance ( $h^{-1}$ );
- ✓  $[CO_2]$ : concentration en dioxyde de carbone dissous ( $g \cdot L^{-1}$ );
- ✓  $E$ : énergie lumineuse accessible par cellule ( $W \cdot g \text{ de biomasse}^{-1}$ );
- ✓  $E_{min}$ : énergie lumineuse minimale accessible par cellule en dessous de laquelle la photosynthèse est limitée ( $W \cdot g \text{ de biomasse}^{-1}$ );
- ✓  $K_E$ : constante de demi-saturation relative à la lumière ( $W \cdot g \text{ de biomasse}^{-1}$ );
- ✓  $K_S$ : constante de demi-saturation relative au  $CO_2$  ( $g \cdot L^{-1}$ );
- ✓  $K_I$ : constante d'inhibition relative à la lumière  $E$  ( $W \cdot g \text{ de biomasse}^{-1}$ );
- ✓  $n$  et  $n_1$ : constante définissant la non-linéarité de l'effet de l'inhibition sur la vitesse de croissance et sur la photo-inhibition, respectivement.

### A2.3.7 Modèles portant sur l'influence d'autres paramètres environnementaux

D'autres espèces chimiques telles que l'azote et le phosphore peuvent avoir un effet significatif sur la cinétique de croissance des microalgues. De même, des facteurs environnementaux tels que la température ou le pH sont susceptibles d'avoir un effet favorable ou inhibiteur sur l'évolution cellulaire et sur la vitesse de croissance de l'espèce mise en culture.

Un des modèles les plus utilisés dans la caractérisation de l'influence de la concentration d'azote et de phosphore sur la vitesse de croissance des microalgues est celui de Droop (1968). Ce type de modèle structuré permet d'exprimer la cinétique de croissance en fonction des composés intracellulaires et plus spécialement de la notion de quota cellulaire interne, qui

représente la masse d'élément limitant intracellulaire par unité de biomasse. De même, il découple le phénomène d'absorption du substrat de la croissance algale (Bougaran et al., 2010).

$$\mu = \mu_{max} \cdot \left(1 - \frac{Q_{min}}{Q}\right) \tag{A2.13}$$

avec :

- ✓  $\mu_{max}$  : vitesse maximale de croissance hypothétique obtenue pour une valeur infinie du quota de l'élément limitant ( $h^{-1}$ ) ;
- ✓  $Q_{min}$  : quota intracellulaire minimum pouvant être atteint pour l'élément limitant, désigné également par le terme de constante de subsistance pour laquelle  $\mu = 0$  (g de substrat limitant/ g de biomasse) ;
- ✓  $Q$  : quota intracellulaire de l'élément limitant (g de substrat limitant/ g de biomasse).

Des études ont traité de la capacité de ce modèle à reproduire efficacement la croissance cellulaire dans le cas d'une limitation par l'azote (Lemesle et Mailleret, 2008 ; Bernard et Gouzé, 1995). Concernant la notion de quota cellulaire, il a été démontré que ce paramètre est limité par deux bornes : une borne inférieure correspondant à  $Q_{min}$  lorsque la vitesse de croissance est nulle et une borne supérieure correspondant à  $Q_{max}$  lorsque la vitesse de croissance est maximale (Bougaran et al., 2010). Ces deux paramètres sont définis comme des limites physiologiques (Elri et Turpin, 1985).

Un grand nombre d'extensions a été établi à partir de cette structure afin de tenir compte de l'influence d'autres nutriments dans le milieu de culture ou même de facteurs environnementaux tels que la lumière, le pH, etc.

Le tableau A2.7 regroupe les principaux modèles issus de la littérature pour différentes espèces de microalgues.

**Tableau A2.7 :** Structures alternatives dérivées du modèle de Droop appliquées pour la croissance des microalgues

$\mu_{max}$  : vitesse spécifique maximale de croissance hypothétique obtenue pour une valeur infinie du quota de l'élément limitant ( $h^{-1}$ )

$Q_{Nmin}$  : quota intracellulaire minimum pouvant être atteint pour l'azote (g d'azote / g de biomasse)

$Q_N$  : quota intracellulaire pour l'azote (g d'azote/ g de biomasse)

Modèles	Structure	Paramètres du modèle
<b>Bougaran et al. (2010) appliqué à <i>Isochrysis galbana</i></b>	$\mu = \mu_{max} \cdot \min \left( \frac{1 - \frac{Q_{Nmin}}{Q_N}}{1 - \frac{Q_{Nmin}}{Q_{Nmax}}}, \frac{1 - \frac{Q_{Pmin}}{Q_P}}{1 - \frac{Q_{Pmin}}{Q_{Pmax}}} \right)$	<p><math>Q_{Nmax}</math> : quota intracellulaire maximum pouvant être atteint pour l'azote correspondant à une vitesse de croissance maximale (phase exponentielle) (g d'azote/g de biomasse)</p> <p><math>Q_{Pmin}</math> : quota intracellulaire minimum pouvant être atteint pour le phosphore (g de phosphore/ g de biomasse)</p> <p><math>Q_{Pmax}</math> : quota intracellulaire maximum pouvant être atteint pour le phosphore correspondant à une vitesse de croissance maximale (g de phosphore/ g de biomasse)</p>

<p><b>Davidson et Gurney (1999)</b> appliqué à <i>Thalassiosira pseudonana</i>, <i>Heterosigma carterae</i> et <i>Alexandrium minutum</i></p>	$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{(Q_N - Q_{Nmin})}{K_{SN} + (Q_N - Q_{Nmin})} \cdot \frac{(Q_{Si} - Q_{Si min})}{K_{SSi} + (Q_{Si} - Q_{Si min})}$	<p><math>Q_P</math> : quota intracellulaire pour le phosphore (g de phosphore/ g de biomasse) <math>K_{SN}</math> : constante de demi-saturation par l'azote (g d'azote/ g de biomasse) <math>Q_{Si min}</math> : quota intracellulaire minimum pouvant être atteint pour le silicium (g de silicium/ g de biomasse) <math>K_{SSi}</math> : constante de demi-saturation par le silicium (g de silicium/ g de biomasse) <math>Q_{Si}</math> : quota intracellulaire pour le silicium (g de silicium/ g de biomasse)</p>
<p><b>Masci et al. (2010)</b> appliqué à <i>Isochrysis galbana</i></p>	$\mu = \mu_{max} \cdot \left( \frac{I}{I + K_{SI}} \right) \cdot \left( 1 - \frac{Q_{Nmin}}{Q_N} \right)$	<p><math>I</math> : intensité lumineuse moyenne dans le photobioréacteur (<math>\mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}</math>) <math>K_{SI}</math> : constante de demi-saturation par la lumière (<math>\mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}</math>)</p>
<p><b>Bernard (2011)</b> appliqué à <i>Isochrysis galbana</i></p>	$\mu = \mu_{max} \cdot \left( \frac{I}{I + K_{SI} + \frac{I^2}{K_t}} \right) \cdot \left( 1 - \frac{Q_{Nmin}}{Q_N} \right)$	<p><math>I</math> : intensité lumineuse moyenne dans le photobioréacteur (<math>\mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}</math>) <math>K_{SI}</math> : constante de demi-saturation par la lumière (<math>\mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}</math>) <math>K_t</math> : constante de photo-inhibition (<math>\mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}</math>)</p>
<p><b>Surisetty et al. (2010)</b> appliqué à <i>Chlorella pyrenoidosa</i></p>	$\mu = \mu_{max} \left( \frac{S}{S + K_S} \right) \left( \frac{Q_N - Q_{Nmin}}{K_{SN} + Q_N} \right)$	<p><math>S</math>: concentration en source de carbone (g. L<sup>-1</sup>) <math>K_S</math> : constante de demi-saturation par le carbone (g. L<sup>-1</sup>) <math>K_{SN}</math> : constante de demi-saturation par l'azote (g d'azote/ g de biomasse)</p>
<p><b>Bernard et al. (2008)</b> appliqué à <i>Emiliana huxleyi</i></p>	$\mu = \mu_{max} \left( \frac{S}{S + K_S} \right) \left( 1 - \frac{Q_{Nmin}}{Q_N} \right) - R_e$	<p><math>S</math>: concentration du <i>CIT</i> (g. L<sup>-1</sup>) <math>K_S</math> : constante de demi-saturation par le <i>CIT</i> (g. L<sup>-1</sup>) <math>R_e</math> : taux de respiration</p>

D'autres modèles mathématiques ont été établis afin de caractériser la vitesse de croissance sous des conditions de limitation par des éléments nutritifs autres que le carbone. L'étude de Cornet et al. (1998) a permis de modéliser l'évolution cellulaire de *Spirulina Platensis* sous des conditions de limitation par la lumière, l'azote, le phosphore et le soufre. Ces auteurs ont supposé que la croissance résulte de l'accumulation du glycogène intracellulaire et qu'elle s'arrête suite à l'augmentation de la taille cellulaire. La croissance de la microalgue est dans ce cas modélisée par :

$$r_x = R_x \cdot \left[ \frac{S_N}{S_N + K_{SN}} \cdot \frac{S_S}{S_S + K_{SS}} \cdot \frac{S_P}{S_P + K_{SP}} + \frac{S_{PC}}{S_{PC} + K_{PC}} \cdot \left( \frac{K_{SN}}{S_N + K_{SN}} + \frac{K_{SS}}{S_S + K_{SS}} \right) \right] \quad (A2.14)$$

avec :

- ✓  $r_x$  : vitesse volumique moyenne de synthèse totale de biomasse (kg. m<sup>-3</sup>. h<sup>-1</sup>) ;
- ✓  $R_x$  : vitesse volumique moyenne de l'évolution de la croissance cellulaire, paramètre traduisant uniquement la limitation (en absence de limitation par les nutriments) par la lumière (Kg. m<sup>-3</sup>. h<sup>-1</sup>) et défini par la relation suivante :

$$R_x = \gamma \cdot S_{PC} \cdot \left(\frac{1}{V_2}\right) \cdot \iiint \mu_{max} \left(\frac{4\pi I}{K_{SI} + 4\pi I}\right) dV$$

- $V_2$ : volume illuminé du photobioréacteur ( $m^3$ );
- $\gamma$ : ratio volume illuminé / volume total du photobioréacteur (sans dimension);
- $K_{SI}$ : constante de demi-saturation par la lumière ( $W \cdot m^{-2}$ );
- $I$ : intensité lumineuse moyenne dans le photobioréacteur ( $W \cdot m^{-2}$ );
- $\mu_{max}$ : vitesse spécifique maximale de croissance ( $h^{-1}$ ).
- ✓  $S_N$ : concentration en azote ( $Kg \cdot m^{-3}$ );
- ✓  $S_S$ : concentration en soufre ( $Kg \cdot m^{-3}$ );
- ✓  $S_P$ : concentration en phosphore ( $Kg \cdot m^{-3}$ );
- ✓  $S_{PC}$ : concentration en Phycocyanine ( $Kg \cdot m^{-3}$ );
- ✓  $K_{SN}$ : constante de demi-saturation par l'azote ( $Kg \text{ de } NO_3^- \cdot m^{-3}$ );
- ✓  $K_{SS}$ : constante de demi-saturation par le soufre ( $Kg \text{ de } SO_4^{2-} \cdot m^{-3}$ );
- ✓  $K_{SP}$ : constante de demi-saturation par le phosphore ( $Kg \text{ de } HPO_4^{2-} \cdot m^{-3}$ );
- ✓  $K_{PC}$ : constante de demi-saturation par les Phycocyanines ( $Kg \cdot m^{-3}$ ).

D'autres auteurs ont exploité la structure du modèle de Monod afin de mettre en évidence l'effet de limitation et d'inhibition du phosphore sur la vitesse de croissance de *Scenedesmus obliquus* (Martínez Sancho et al., 1999b). La vitesse spécifique de croissance est de la forme :

$$\mu = \frac{\mu_{m1} \cdot K_{IP} \cdot S_P + \mu_{m2} \cdot S_P^2 + \mu_{m3} \cdot K_{IP} \cdot K_{SP}}{K_{IP} \cdot K_{SP} + K_{IP} \cdot S_P + S_P^2} \quad (A2.15)$$

avec :

- ✓  $\mu_{m1}$ : vitesse maximale de croissance ( $h^{-1}$ );
- ✓  $\mu_{m2}$ : vitesse maximale de croissance en absence de phosphore ( $h^{-1}$ );
- ✓  $\mu_{m3}$ : vitesse maximale de croissance en excès de phosphore ( $h^{-1}$ );
- ✓  $S_P$ : concentration en phosphore ( $\mu M$ );
- ✓  $K_{SP}$ : constante de demi-saturation par le phosphore ( $\mu M$ );
- ✓  $K_{IP}$ : constante d'inhibition par le phosphore ( $\mu M$ ).

Estrada-Duran (2007), au travers d'une extension du modèle de Nouals précédemment cité, a modélisé la vitesse de croissance de *Porphyridium purpureum* selon l'effet simultané de l'énergie lumineuse, de la limitation par le carbone, le phosphore et l'azote, et de l'inhibition par l'azote. La vitesse spécifique de croissance est alors modélisée par :

$$\mu = \mu_{max} \cdot \left(\frac{E}{K_E + E}\right) \cdot \left(\frac{CIT_{cell}}{K_{CL} + CIT_{cell}}\right) \cdot \left(\frac{P_{cell}}{K_{LP_{cell}} + P_{cell}}\right) \cdot \left(\frac{K_{IP_{cell}}}{K_{IP_{cell}} + P_{cell}}\right) \cdot \left(\frac{N_{cell}}{K_{LN_{cell}} + N_{cell}}\right) \left(\frac{K_{IN_{cell}}}{K_{IN_{cell}} + N_{cell}}\right) \quad (A2.16)$$

avec :

- ✓  $\mu_{max}$ : vitesse maximale de croissance ( $h^{-1}$ );
- ✓  $CIT_{cell}$ : concentration en carbone inorganique total disponible par cellule ( $mmol \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1}$ );
- ✓  $E$ : énergie lumineuse accessible par cellule ( $\mu E \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1} \cdot s^{-1}$ );
- ✓  $K_E$ : constante de demi-saturation par la lumière ( $\mu E \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1} \cdot s^{-1}$ );
- ✓  $K_{CL}$ : constante de demi-saturation par le  $CIT$  ( $mmol \cdot 10^9 \text{ cell}^{-1}$ );

- ✓  $KL_{P_{cell}}$  : constante de demi-saturation par le phosphore (mg.  $10^9 \text{ cell}^{-1}$ ) ;
- ✓  $KI_{P_{cell}}$  : constante d'inhibition par le phosphore (mg.  $10^9 \text{ cell}^{-1}$ ) ;
- ✓  $KL_{N_{cell}}$  : constante de demi-saturation par l'azote (mg.  $10^9 \text{ cell}^{-1}$ ) ;
- ✓  $KI_{N_{cell}}$  : constante d'inhibition par l'azote (mg.  $10^9 \text{ cell}^{-1}$ ) ;
- ✓  $P_{cell}$  : phosphore disponible par cellule (mg.  $10^9 \text{ cell}^{-1}$ ) ;
- ✓  $N_{cell}$  : azote disponible par cellule (mg.  $10^9 \text{ cell}^{-1}$ ).

Il convient de noter également, qu'au cours du phénomène de photosynthèse, les microalgues synthétisent, outre la biomasse, de l'oxygène. Or la croissance algale peut être inhibée par de fortes concentrations d'oxygène. Ainsi, Li (2002) a appliqué, au cours de ses travaux, un modèle de structure hyperbolique qui permet de tenir compte de l'effet d'inhibition de la lumière et de l'oxygène sur la vitesse de croissance de *Dunaliella salina*. Le modèle proposé est le suivant :

$$\mu = \mu_{max} \cdot \left( \frac{I}{K_{SI} + I} \right) \cdot \left( 1 - \frac{I}{I_m} \right) \cdot \left( 1 - \frac{O}{O_m} \right) \quad (\text{A2.17})$$

avec :

- ✓  $\mu_{max}$  : vitesse maximale de croissance ( $\text{h}^{-1}$ ) ;
- ✓  $I$  : intensité lumineuse moyenne au sein du réacteur ( $\mu\text{E. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) ;
- ✓  $O$  : concentration en oxygène dissous ( $\text{mg. L}^{-1}$ ) ;
- ✓  $I_m$  : intensité lumineuse moyenne pour laquelle  $\mu = 0$  ( $\mu\text{E. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) ;
- ✓  $O_m$  : concentration en oxygène dissous pour laquelle  $\mu = 0$  ( $\text{mg. L}^{-1}$ ).

D'autres facteurs présentent un effet significatif sur la croissance des microalgues, telle la température et le pH. Bitaubé Pérez et al. (2008) ont modélisé la vitesse de croissance à travers un modèle mathématique simple qui fait intervenir les constantes de dissociation de différentes espèces carbonées :

$$\mu = \frac{\mu_{max}}{1 + \frac{[H]^+}{K_1} + \frac{K_2}{[H]^+}} \quad (\text{A2.18})$$

avec :

- ✓  $[H]^+$  : concentration en ion  $H^+$  ( $\text{mol. L}^{-1}$ ) ;
- ✓  $K_1$  et  $K_2$  : constantes de dissociation de l'acide carbonique dans l'eau ( $\text{mol. L}^{-1}$ ).

Concernant la modélisation de la température, elle repose essentiellement sur une loi empirique de type Arrhenius. Les principaux modèles utilisés dans la littérature sont résumés dans le tableau A2.8.

**Tableau A2.8** : Modèles mathématiques traduisant l'effet de la température sur la croissance des microalgues

Modèles	Structure	Paramètres du modèle
<b>Bitaubé Pérez et al. (2008)</b> appliqué à <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	$\mu = A_0 \cdot e^{\left(\frac{E_a}{RT} - \frac{T-T_0}{T_0}\right)} - B_0 \cdot e^{\left(\frac{E_b}{RT} - \frac{T-T_0}{T_0}\right)}$	$E_a, E_b$ : respectivement, l'énergie d'activation pour la croissance et pour la dégradation cellulaire (Kcal. mol <sup>-1</sup> ) $R$ : constante des gaz parfaits (8,314 KJ. mol <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup> ) $T$ : température (K) $T_0$ : température de référence égale à 293 K $A_0, B_0$ : respectivement, vitesse spécifique de croissance et de dégradation cellulaire pour $T_0$ (h <sup>-1</sup> ) $A$ : constante sans dimension $E(I)$ : énergie d'activation, fonction de la lumière $I$ (cal. mol <sup>-1</sup> ) $K_S(T)$ : constante de demi-saturation fonction de la température (mg. L <sup>-1</sup> ) $S$ : concentration en substrat limitant (mg. L <sup>-1</sup> )
<b>Goldman et Carpenter (1974)</b>	$\mu = A \cdot e^{\left(\frac{-E(I)}{RT}\right)} \cdot \left[ \frac{S}{K_S(T) + S} \right]$	$K_3, K_4, K_5$ : constantes $R$ : constante des gaz parfaits (8,314 KJ. mol <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup> ) $T$ : température (K)
<b>Carvalho et Malcata (2003)</b> appliqué à <i>Pavlova lutheri</i>	$\mu_{max} = \frac{K_3 \cdot I}{K_4 \cdot T + I} \cdot e^{\left(\frac{K_5 \cdot I}{RT}\right)}$	$T, T_{opt}$ : température au sein du réacteur et température optimale de croissance (K) $\mu_{max,Topt}$ : vitesse maximale de croissance à $T_{opt}$ (h <sup>-1</sup> ) $E_g$ : énergie d'activation du processus de croissance (KJ. mol <sup>-1</sup> ) $\Delta G_d$ : variation d'énergie libre de la réaction de dénaturation des protéines (KJ. mol <sup>-1</sup> ) $A$ : constante sans dimension
<b>Nouals (2000)</b> appliqué à <i>Porphyridium purpureum</i>	$\mu_{max} = \frac{\mu_{max,Topt} \cdot e^{\left(\frac{E_g}{RT} \left(\frac{1}{T_{opt}} - \frac{1}{T}\right)\right)}}{\left[ 1 + A \cdot e^{\left(\frac{\Delta G_d}{R} \left(\frac{1}{T_{opt}} - \frac{1}{T}\right)\right)} \right]}$	

Spolaore (2005)  
appliqué à  
*Nannochloropsis*  
*oculta*

$$\mu = \frac{\mu_{\max 0} \cdot e^{\left(\frac{E_g}{RT}(T_f)\right)}}{\left[1 + A \cdot e^{\left(\frac{\Delta G_d}{R}(T_f)\right)}\right]} \cdot \frac{e^{(b(pH_f))}}{1 + C \cdot e^{(d(T_f))}} \cdot \left(\frac{k_L a}{k_L a_{opt}}\right)^h \left(\frac{E}{K_E + E}\right) \cdot \left(\frac{CIT_{cell}}{K_{CL} + CIT_{cell}}\right)$$

$$T_f = \frac{1}{T_{opt}} - \frac{1}{T}$$

$$pH_f = \frac{1}{pH_{opt}} - \frac{1}{pH}$$

$\mu_{\max 0}$  : vitesse maximale de croissance ( $h^{-1}$ )

$CIT_{cell}$  : carbone inorganique total disponible par cellule ( $mmol \cdot 10^9 cell^{-1}$ )

$E$  : énergie lumineuse accessible par cellule ( $\mu E \cdot 10^9 cell^{-1} \cdot s^{-1}$ );

$K_E$  : constante de demi-saturation par la lumière ( $\mu E \cdot 10^9 cell^{-1} \cdot s^{-1}$ );

$K_{CL}$ : constante de demi-saturation par le  $CIT$  ( $mmol \cdot 10^9 cell^{-1}$ );

$T, T_{opt}$  : température au sein du réacteur et température optimale de croissance (K)

$pH, pH_{opt}$  : pH au sein du réacteur et pH optimal de croissance

$K_L a, K_L a_{opt}$  : coefficient volumique de transfert gaz-liquide ( $h^{-1}$ )

$E_g$  : énergie d'activation du processus de croissance ( $KJ \cdot mol^{-1}$ )

$R$ : constante des gaz parfaits

$A, C, h$  : constantes sans dimension

$\Delta G_d$  : variation d'énergie libre de la réaction de dénaturation des protéines ( $KJ \cdot mol^{-1}$ )

$b, d$  : paramètres empiriques (sans dimension)





# Annexe A3

## A3.1 Observabilité des systèmes

Soit le système dynamique non-linéaire décrit par:

$$\begin{cases} \dot{x}(t) = f(x) + g(x)u & x(t_0) = x_0 \\ y(t) = h(x, u) \end{cases} \quad (\text{A3.1})$$

avec :

- $x(t)$  : vecteur d'état,  $x(t) \in \mathbb{R}^n$  ;
- $u(t)$  : vecteur d'entrée,  $u(t) \in \mathbb{R}^m$  ;
- $y(t)$  : vecteur de sortie,  $y(t) \in \mathbb{R}^p$  ;

L'observabilité de ce système est liée aux entrées (via les entrées dites universelles) et aux conditions initiales (via les conditions de distinguabilité ou de discernabilité). On va introduire la notion de distinguabilité ou discernabilité qui permet de différencier deux conditions initiales distinctes :

- Définition A3.1 : deux conditions initiales  $x_0$  et  $x_1$  pour le système (A3.1) sont indistinguables ou indiscernables dans l'espace d'état, noté  $V$ , si pour tout  $t \geq 0$  et pour toute entrée  $u(t) : t \in [0, T]$ , les sorties correspondantes  $y(t, x_0, u(t))$  et  $y(t, x_1, u(t))$  sont identiques (Lemesle, 2004). Réciproquement,  $x_0$  et  $x_1$  sont distinguables et discernables dans  $V$  si pour tout  $t \geq 0$  et pour tout  $u(t) : t \in [0, T]$ ,  $y(t, x_0, u(t)) \neq y(t, x_1, u(t))$

A partir de cette notion, on peut définir la notion d'observabilité d'un système non linéaire :

- Définition A3.2 : le système (A3.1) est dit observable s'il ne possède pas de couples d'état initiaux distincts  $x_0$  et  $x_1$  indiscernables.

La vérification de l'observabilité est réalisée par l'étude du rang d'une matrice, dite matrice d'observabilité, basée sur le calcul du crochet de Lie :

Définition A3.3 : le système est totalement observable si et seulement si la matrice d'observabilité  $O$  est de dimension égale à  $n$ , avec :

$$\dim O = n, \text{ avec } O = \left\{ h \quad [f, h] \quad [f, [f, h]] \quad [f, [f, [f, h]]] \dots \right\} \quad (\text{A3.2})$$

avec  $[f, h]$  représente le crochet de Lie et est défini par :

$$[f, h] = \frac{\partial h}{\partial x} f - \frac{\partial f}{\partial x} h$$

L'observabilité du système étudié (pour les modèles utilisant comme variables d'état respectivement en (X, [CIT]) pour la synthèse du filtre de Kalman, (z, X) pour l'observateur

asymptotique ou par intervalles) a été vérifiée avant la mise au point des observateurs. Le système est donc totalement observable à partir de la mesure de la concentration du *CIT*, pour les deux modèles considérés (i.e. en  $(X, [CIT])$  et en  $(z, X)$ ), pour les conditions opératoires retenues dans cette étude.

### A3.2 Précision de l'observateur par intervalles

#### A3.2.1 Cas d'incertitudes sur les paramètres du modèle de croissance uniquement

Dans cette partie, seules les incertitudes sur les paramètres du modèle de croissance sont prises en compte. Les paramètres  $k_L a$  et  $Y_{X/CIT}$  sont donc supposés parfaitement connus.

Durant le développement suivant, on pose :

$$Y = Y_{X/CIT}; (g_1^+, g_2^+) = (G_1, G_2), \alpha = \frac{1}{1+K_1/[H^+] + K_1 K_2/[H^+]^2}$$

La représentation d'état du système est la suivante :

$$(S_{z,X}) \begin{cases} \dot{z} = -Dz + Yk_L a. \left( [CO_2]^* - \alpha \frac{z-X}{Y} \right) + G_1. \left( y - \frac{z-X}{Y} \right) \\ \dot{X} = \mu(y, X). X - DX + G_2. \left( y - \frac{z-X}{Y} \right) \end{cases} \quad (A3.3)$$

En considérant que les mesures du *CIT* ne sont pas bruitées, on a donc  $y = [CIT] = \frac{z-X}{Y}$  et de ce fait le terme correctif pondéré par le gain  $G_{1,2}$  sont par définition nuls pour le système réel.

En considérant la borne supérieure (démarche similaire pour la borne inférieure), l'observateur associé à  $(S_{z,X})$  est donné par :

$$(O_{z,X}) \begin{cases} \dot{z}^+ = -Dz^+ + Yk_L a. \left( [CO_2]^* - \alpha \frac{z^+-X^+}{Y} \right) + G_1. \left( y - \frac{z^+-X^+}{Y} \right) \\ \dot{X}^+ = \mu^+(y, X^+). X^+ - DX^+ + G_2. \left( y - \frac{z^+-X^+}{Y} \right) \end{cases} \quad (A3.4)$$

où  $G_1$  et  $G_2$  représente les gains de l'observateur et  $y$  la mesure du *CIT*.

Soient les erreurs d'estimation de  $(z, X)$ , données par :

$$e_{z,X}^+ = \begin{pmatrix} e_z^+ \\ e_X^+ \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} z^+ - z \\ X^+ - X \end{pmatrix} \quad (A3.5)$$

La dynamique de ces erreurs suit la relation suivante :

$$\dot{e}_{z,X}^+ = \begin{bmatrix} -Dz^+ + Yk_L a. \left( [CO_2]^* - \alpha \frac{z^+-X^+}{Y} \right) + Dz - Yk_L a. \left( [CO_2]^* - \alpha \frac{z-X}{Y} \right) + \\ G_1. \left( y - \frac{z^+-X^+}{Y} \right) - G_1. \left( y - \frac{z-X}{Y} \right) \\ \mu^+(y, X^+). X^+ - DX^+ - \mu(y, X). X + DX + \\ G_2. \left( y - \frac{z^+-X^+}{Y} \right) - G_2. \left( y - \frac{z-X}{Y} \right) \end{bmatrix} \quad (A3.6)$$

En considérant que

$$\mu^+(y, X^+).X^+ - \mu(y, X).X = \mu^+(y, X^+) (X^+ - X) + \mu^+(y, X^+)X - \mu(y, X).X$$

alors, par simple regroupement des termes de l'erreur en  $z$  et  $X$ , la dynamique de l'erreur d'estimation (A3.6) devient :

$$\dot{e}_{z,X}^+ = \begin{bmatrix} -De_z^+ + \frac{G_1}{Y} e_X^+ - \frac{G_1}{Y} e_z^+ - \alpha k_L a e_z^+ + \alpha k_L a e_X^+ \\ \mu^+(y, X^+) e_X^+ + \mu^+(y, X^+) X - \mu(y, X).X - De_X^+ - \frac{G_2}{Y} e_z^+ + \frac{G_2}{Y} e_X^+ \end{bmatrix} \quad (A3.7)$$

(A3.7) peut être réécrite comme suit :

$$\dot{e}_{z,X}^+ = \underbrace{\begin{bmatrix} -D - \frac{G_1}{Y} - \alpha k_L a & \frac{G_1}{Y} + \alpha k_L a \\ -\frac{G_2}{Y} & \mu^+(y, X^+) - D + \frac{G_2}{Y} \end{bmatrix}}_{J^+} \begin{pmatrix} e_z^+ \\ e_X^+ \end{pmatrix} + \begin{bmatrix} 0 \\ (\mu^+(y, X^+) - \mu(y, X))X \end{bmatrix} \quad (A3.8)$$

Sachant  $\mu^+(y, X^+) - \mu(y, X) \leq \mu_{max}^+$  (car  $\mu \geq 0$ ) et que  $X \leq z \leq \max[z(0), z(\infty)]$ , le terme  $(\mu^+ - \mu)X$  reste donc borné selon l'expression suivante :

$$(\mu^+ - \mu)X \leq \mu_{max}^+ \max(z(0), z(\infty)) \quad (A3.9)$$

En se plaçant en régime permanent, la dynamique de  $z$  en (A3.3) est nulle, soit :

$$-Dz(\infty) + Yk_L a. ([CO_2]^* - \alpha CIT(\infty)) = 0$$

Sachant que  $CIT \geq 0$ , on obtient ainsi une majoration de  $z(\infty)$  selon la relation suivante :

$$z(\infty) = \frac{\alpha k_L a [CO_2]^* - \alpha CIT(\infty)}{D} \leq \underbrace{\frac{\alpha k_L a [CO_2]^*}{D}}_{\Lambda} \quad (A3.10)$$

On peut déduire la majoration suivante de la dynamique l'erreur d'estimation :

$$\dot{e}_{z,X}^{++} = \underbrace{\begin{bmatrix} -D - \frac{G_1}{Y} - \alpha k_L a & \frac{G_1}{Y} + \alpha k_L a \\ -\frac{G_2}{Y} & \mu_{max}^+ - D + \frac{G_2}{Y} \end{bmatrix}}_{J^{++}} \begin{pmatrix} e_z^{++} \\ e_X^{++} \end{pmatrix} + \begin{bmatrix} 0 \\ \Lambda \end{bmatrix} \quad (A3.11)$$

et  $e^+(t, z, X) \leq e^{++}(t, z, X) \quad \forall (t, z, X)$

### A3.2.2 Cas d'incertitudes sur l'ensemble des paramètres

Dans le développement suivant, on applique la même démarche que celle appliquée précédemment en considérant cependant également des incertitudes sur les paramètres  $k_L a$  et  $Y_{X/CIT}$ .

L'observateur associé à  $(S_{z,X})$  (A3.3) est réécrit comme suit :

$$(O_{z,X}) \begin{cases} \dot{z}^+ = -Dz^+ + Y^+ k_L a^+ . \left( [CO_2]^* - \alpha \frac{z^+ - X^+}{Y^+} \right) + G_1 . \left( y - \frac{z^+ - X^+}{Y^+} \right) \\ \dot{X}^+ = \mu^+(y, X^+).X^+ - DX^+ + G_2 . \left( y - \frac{z^+ - X^+}{Y^+} \right) \end{cases} \quad (A3.12)$$

En considérant les erreurs d'estimation de  $(z, X)$  selon (A3.5), la dynamique de l'erreur d'estimation est définie comme suit :

$$\dot{e}_{z,X}^+ = \begin{bmatrix} -Dz^+ + Y^+ k_L a^+ \cdot \left( [CO_2]^* - \alpha \frac{z^+ - X^+}{Y^+} \right) + Dz - Y k_L a \cdot \left( [CO_2]^* - \alpha \frac{z - X}{Y} \right) + \\ G_1 \cdot \left( y - \frac{z^+ - X^+}{Y^+} \right) - G_1 \cdot \left( y - \frac{z - X}{Y} \right) \\ \mu^+(y, X^+) \cdot X^+ - DX^+ - \mu(y, X) \cdot X + DX + \\ G_2 \cdot \left( y - \frac{z^+ - X^+}{Y^+} \right) - G_2 \cdot \left( y - \frac{z - X}{Y} \right) \end{bmatrix} \quad (A3.13)$$

Par regroupement des termes de l'erreur en  $z$  et  $X$ , (A3.13) devient (avec la même philosophie que celle utilisée pour passer de (A3.6) à (A3.7)) :

$$\dot{e}_{z,X}^+ = \begin{bmatrix} -De_z^+ + \frac{G_1}{Y^+} e_X^+ - \frac{G_1}{Y^+} e_z^+ - \alpha k_L a^+ e_z^+ + \alpha k_L a^+ e_X^+ + \frac{G_1}{Y^+} X - \frac{G_1}{Y} X - \frac{G_1}{Y^+} z + \frac{G_1}{Y} z - \\ \alpha [k_L a^+ z - k_L a \cdot z - k_L a^+ X + k_L a \cdot X] + [CO_2]^* [Y^+ k_L a^+ - Y k_L a] \\ \mu^+(y, X^+) e_X^+ + \mu^+(y, X^+) X - \mu(y, X) \cdot X - De_X^+ - \frac{G_2}{Y} e_z^+ + \frac{G_2}{Y} e_X^+ - \\ G_2 \left[ \frac{z}{Y^+} - \frac{z}{Y} - \frac{X}{Y^+} + \frac{X}{Y} \right] \end{bmatrix} \quad (A3.14)$$

(A3.14) peut être réécrite comme suit :

$$\dot{e}_{z,X}^+ = \underbrace{\begin{bmatrix} -D - \frac{G_1}{Y^+} - \alpha k_L a^+ & \frac{G_1}{Y^+} + \alpha k_L a^+ \\ -\frac{G_2}{Y^+} & \mu^+(y, X^+) - D + \frac{G_2}{Y^+} \end{bmatrix}}_{J^+} \begin{pmatrix} e_z^+ \\ e_X^+ \end{pmatrix} + \begin{bmatrix} \Lambda_z \\ \Lambda_X \end{bmatrix} \quad (A3.15)$$

avec

$$\begin{bmatrix} \Lambda_z \\ \Lambda_X \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} G_1 \left( \frac{1}{Y^+} - \frac{1}{Y} \right) (X - z) + \alpha (k_L a^+ - k_L a) (X - z) + [CO_2]^* [Y^+ k_L a^+ - Y k_L a] \\ (\mu^+(y, X^+) - \mu(y, X)) X - G_2 \left( \frac{1}{Y^+} - \frac{1}{Y} \right) (z - X) \end{bmatrix}$$

Sachant que  $z - X = Y \cdot CIT$  et que  $Y^- \leq Y \leq Y^+$ , on peut déduire les majorations suivantes :

$$G_1 \left( \frac{1}{Y} - \frac{1}{Y^+} \right) \frac{(z - X)}{Y \cdot CIT} \leq \begin{cases} G_1 \left( \frac{1}{Y^-} - \frac{1}{Y^+} \right) Y^+ CIT_{max} & \text{si } G_1 > 0 \\ 0 & \text{sinon} \end{cases}$$

avec

$$[CIT]_{max} = \max([CIT](0), [CIT](\infty))$$

où  $[CIT](\infty)$  correspond à l'état d'équilibre entre la phase liquide et la phase gazeuse traduite par la concentration de dioxyde de carbone  $[CO_2]^*$  et définie par la relation suivante :

$$[CIT](\infty) = \frac{[CO_2]^*}{\alpha}$$

De même, sachant que  $k_L a^- \leq k_L a \leq k_L a^+$ , que  $G_2 \leq 0$  (selon la condition de coopérativité détaillée dans le chapitre IV)

$$-\alpha(k_L a^+ - k_L a)Y.CIT \leq 0$$

$$[CO_2]^*[Y^+k_L a^+ - Yk_L a] \leq [CO_2]^*[Y^+k_L a^+ - Y^-k_L a^-]$$

$$-G_2 \left( \frac{1}{Y^+} - \frac{1}{Y} \right) Y.CIT \leq 0$$

et que le terme  $(\mu^+ - \mu)X$  reste borné par  $\Lambda$  (cf. (A3.10)).

alors la dynamique l'erreur d'estimation (A3.20) peut être majorée par la relation suivante :

$$\dot{e}_{z,X}^{++} = \underbrace{\begin{bmatrix} -D - \frac{G_1}{Y} - \alpha k_L a & \frac{G_1}{Y} + \alpha k_L a \\ -\frac{G_2}{Y} & \mu_{max}^+ - D + \frac{G_2}{Y} \end{bmatrix}}_{J^{++}} \begin{pmatrix} e_z^{++} \\ e_X^{++} \end{pmatrix} + \begin{bmatrix} \Lambda_z^+ \\ \Lambda_X^+ \end{bmatrix} \quad (A3.16)$$

$$e^+(t, z, X) \leq e^{++}(t, z, X), \forall (t, X, z)$$

avec

$$\begin{bmatrix} \Lambda_z^+ \\ \Lambda_X^+ \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \max[ G_1 \cdot \left( \frac{1}{Y^-} - \frac{1}{Y^+} \right) Y^+ CIT_{max}, 0] + [CO_2]^*[Y^+k_L a^+ - Y^-k_L a^-] \\ \Lambda \end{bmatrix}$$

On peut vérifier que, en considérant que  $Y^+ = Y^- = Y$  et  $k_L a^+ = k_L a^- = k_L a$  (pas d'incertitudes sur les paramètres  $k_L a$  et  $Y_{X/CIT}$ ), qu'on obtient la même relation que dans le cas nominal (A3.11).



# Annexe A4

## A4.1 Commandabilité des systèmes

Les conditions de commandabilité d'un système non-linéaire affine en la commande sont définies comme suit :

- Définition A4.1 : un système est dit complètement commandable si, par action sur l'entrée de commande, n'importe quel point de l'espace d'état est atteint en un temps fini (Hafidi, 2008).

Soit un système non-linéaire régi par la relation suivante :

$$\dot{x} = f(x) + g(x)u$$

où  $f$  et  $g$  sont des champs de vecteurs de fonctions non-linéaires en les états.

- Définition A3.2 : le système est totalement commandable si et seulement si la matrice de commandabilité  $C$  est de dimension égale à  $n$  (Sussmann et Jurdjevic, 1972).

$$\dim C = n \text{ avec } C = \left\{ g \quad [f, g] \quad [f, [f, g]] \quad [f, [f, [f, g]]] \dots \right\}$$

avec  $[f, g]$  représente le crochet de Lie et est définie par :

$$[f, g] = \frac{\partial g}{\partial x} f - \frac{\partial f}{\partial x} g$$

La commandabilité de la dynamique du bioprocédé, considéré durant notre étude, a été vérifiée et validée pour les conditions opératoires retenues dans le cadre de cette étude.

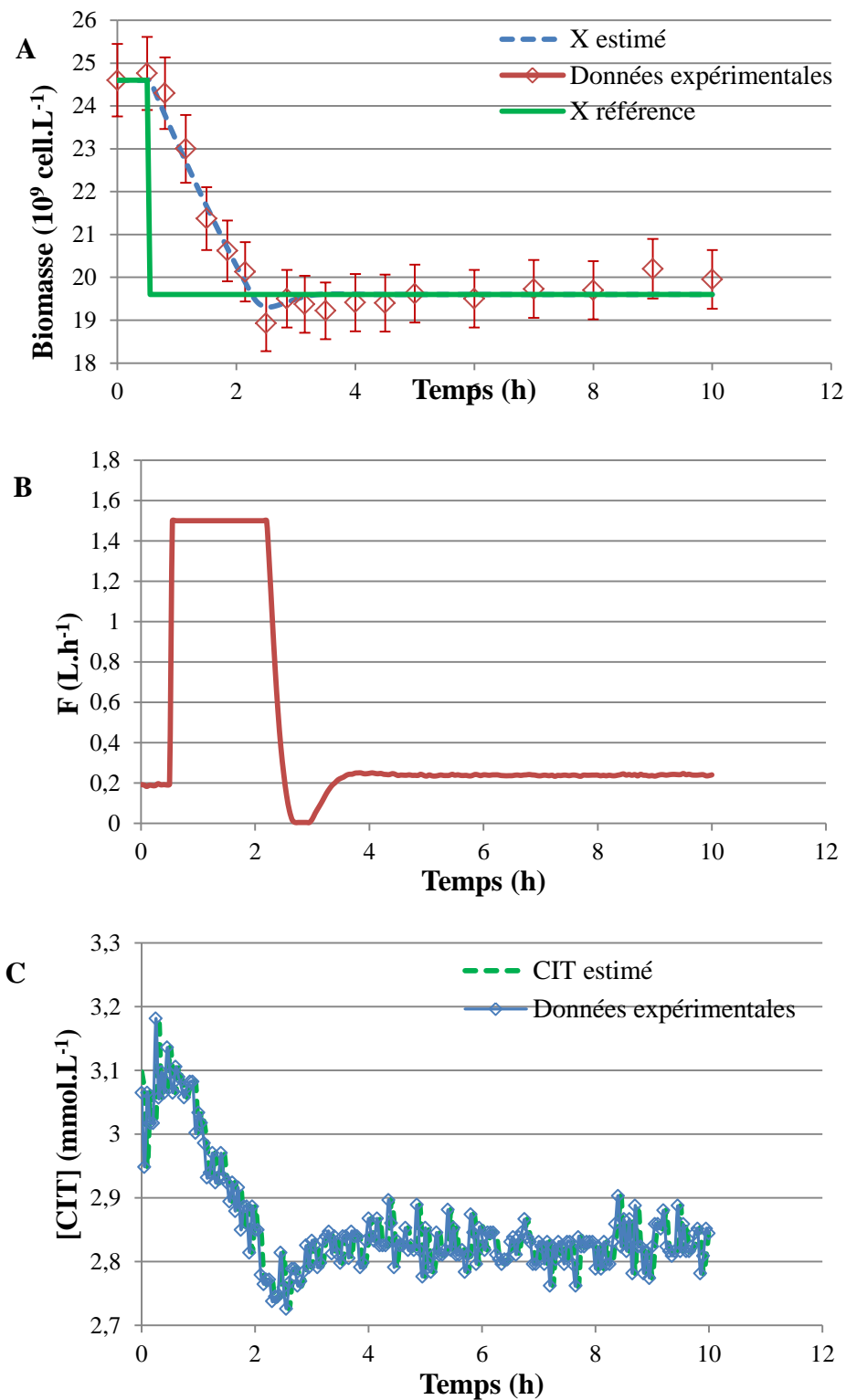
## A4.2 Validation expérimentale de la GMC couplée au filtre de Kalman

La commande GMC couplée à un filtre de Kalman pour estimer la concentration de biomasse a été testée expérimentalement sur le banc d'essai. Les résultats obtenus sont résumés dans ce qui suit.

### A4.2.1 Réponse à un échelon de consigne

La commande est testée pour un échelon descendant. Les résultats obtenus sont résumés dans la figure A4.1. On peut noter que la concentration de biomasse suit la consigne, avec un temps de réponse de l'ordre de 3h et un léger dépassement. La valeur finale de la concentration semble présenter une erreur statique due à l'utilisation de le filtre de Kalman, et donc à l'introduction d'une erreur d'estimation.

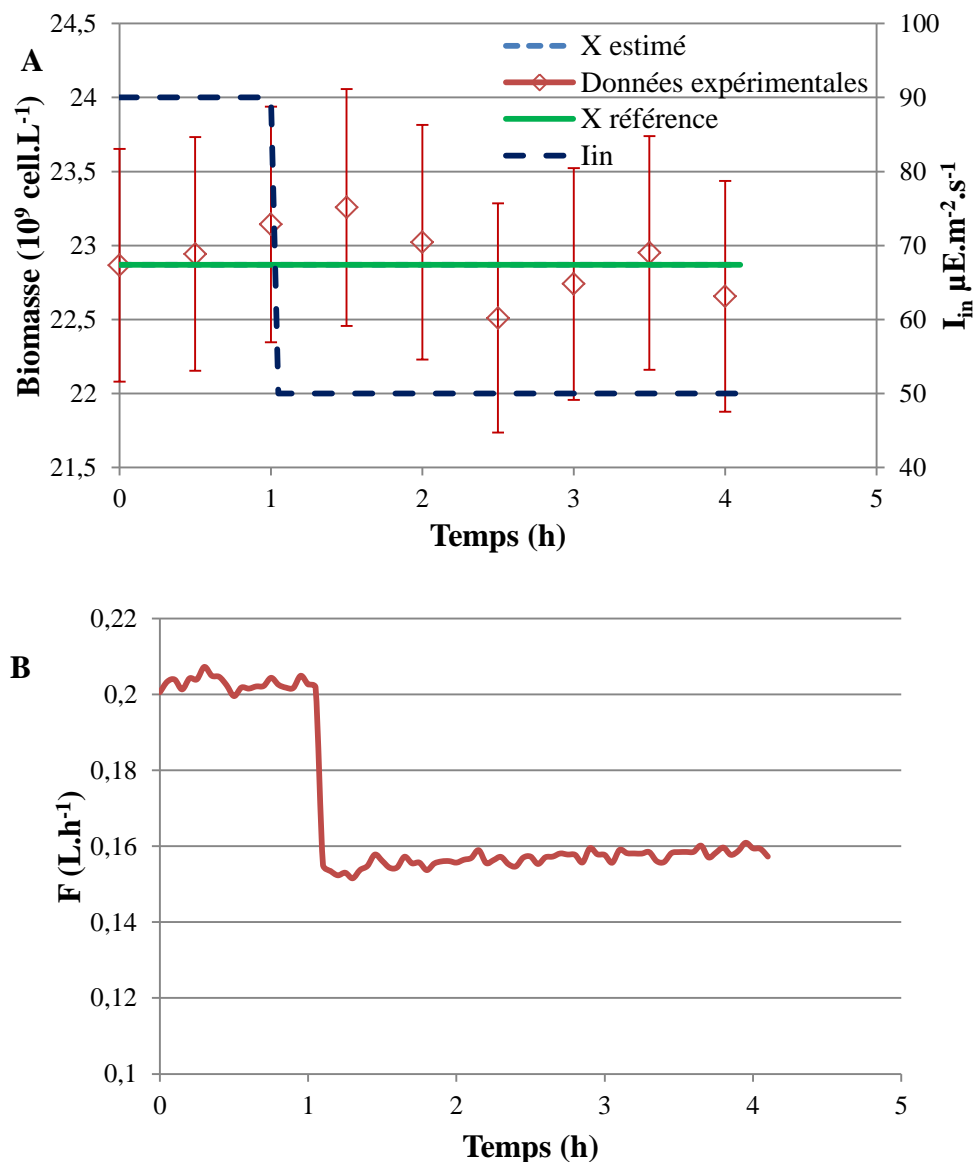




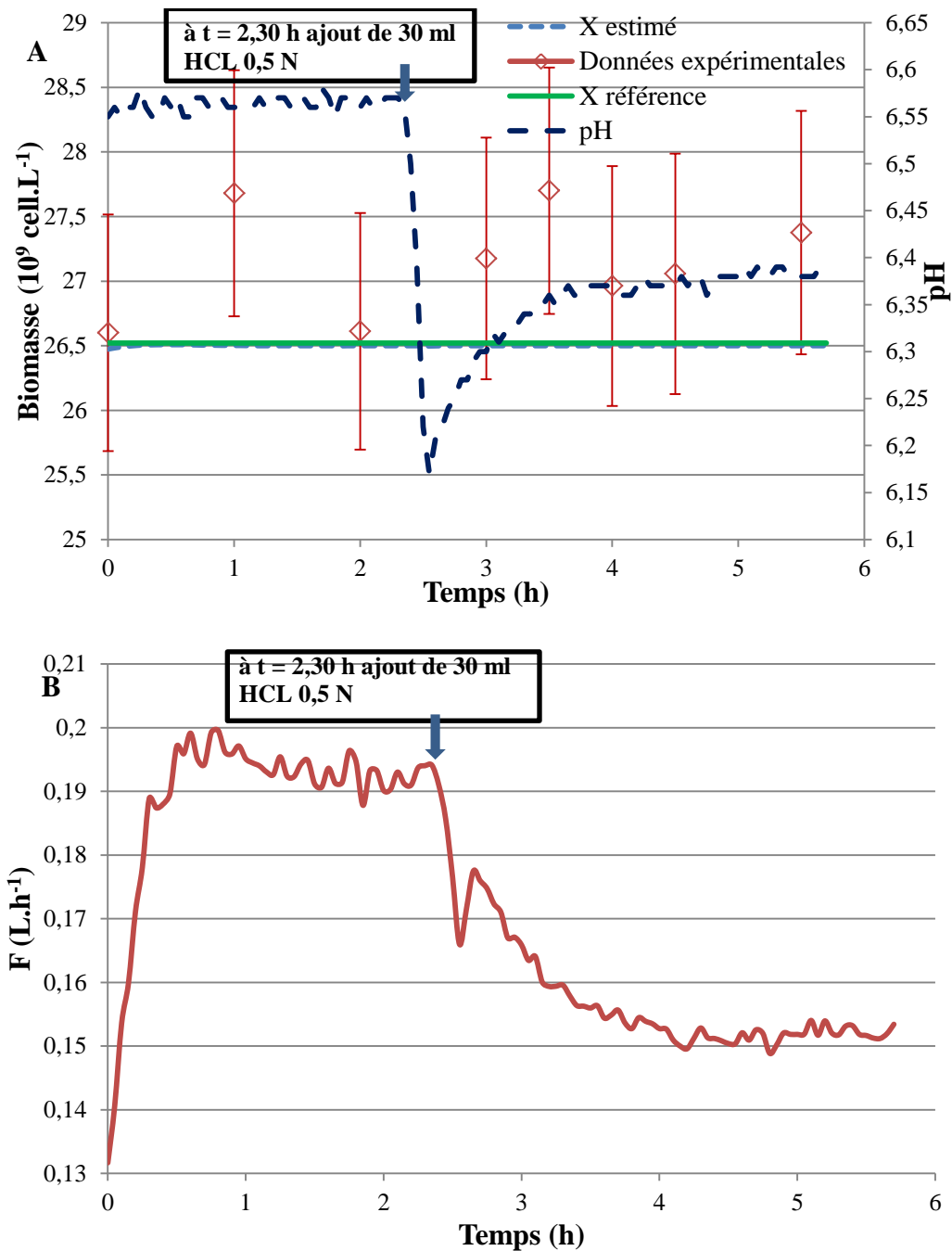
**Figure A4.1 :** Commande GMC couplée au filtre de Kalman pour un échelon de descente sur la consigne de 24,8 à 19,8  $10^9$  cell. L $^{-1}$  à  $t = 30$  mn : A : évolution de la biomasse – B : évolution de la variable de commande  $F$ - C : évolution du  $CIT$

### A4.2.2 Analyse de la robustesse de la GMC

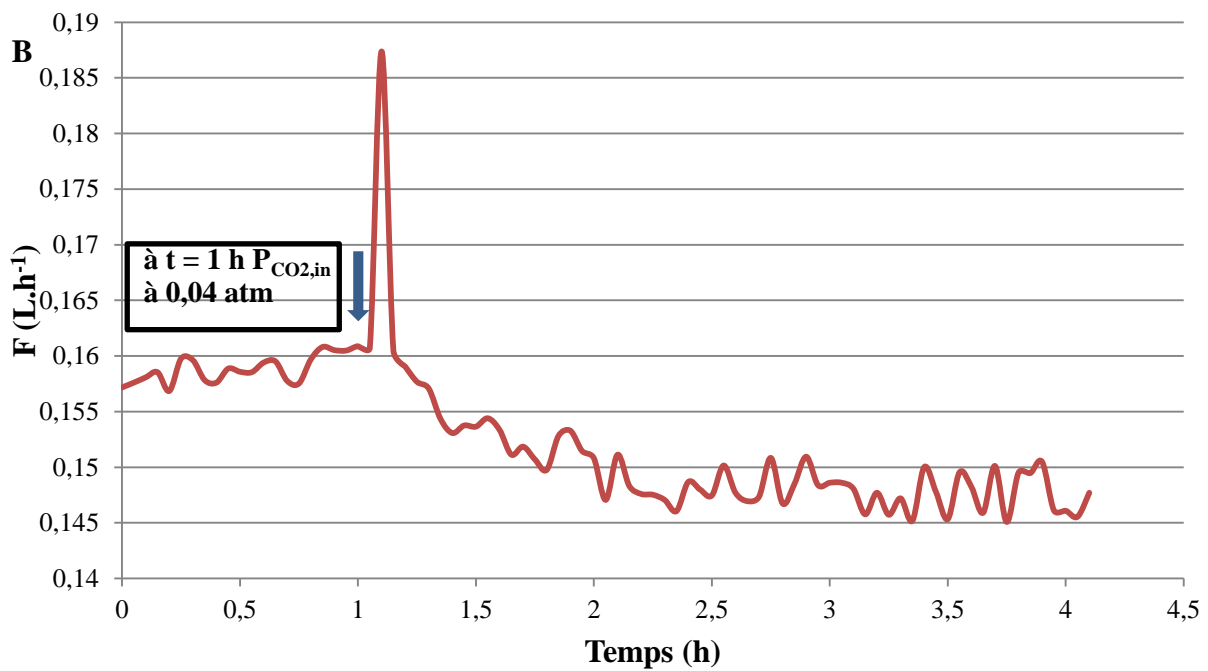
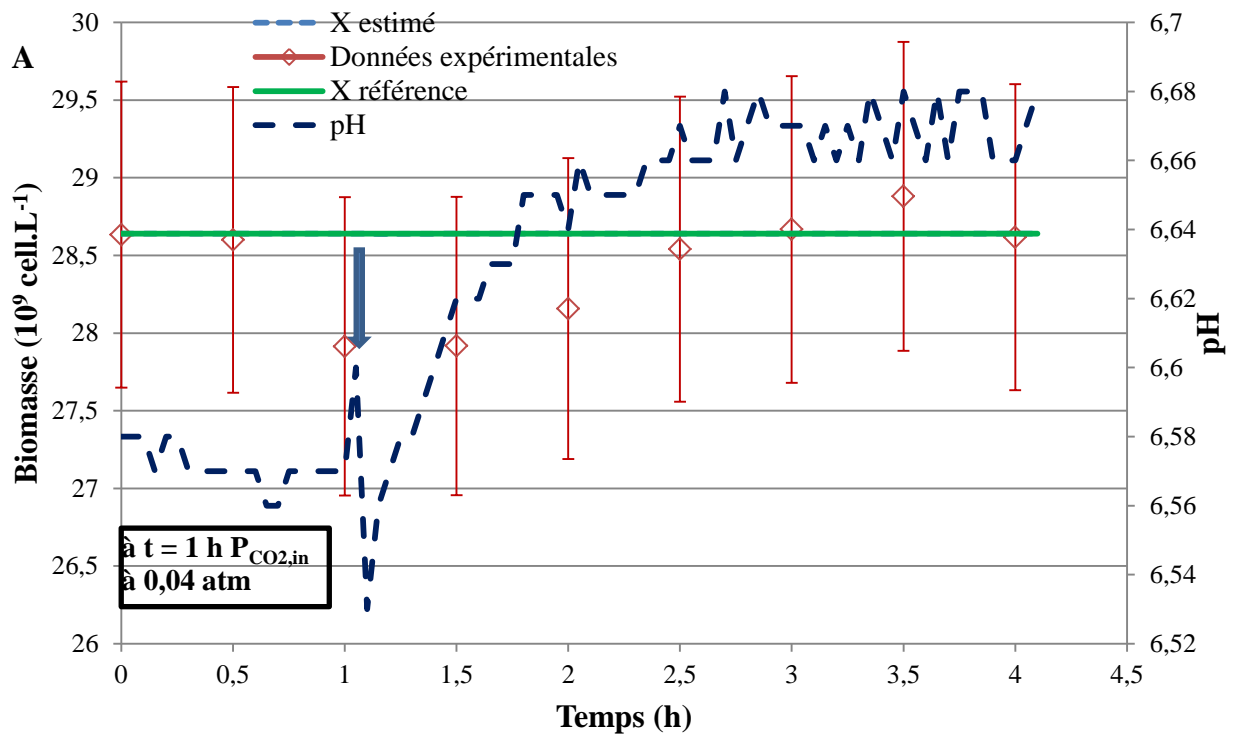
Dans un deuxième temps, la commande GMC a été testée dans le cas d'une consigne constante et en présence de perturbation en lumière, pH et pression de  $CO_2$  en entrée du réacteur. Les résultats obtenus sont résumés par la figure A4.2 (pour une perturbation en lumière) et la figure A4.3 (pour une perturbation en pH) et la figure A4.4 pour une perturbation de la pression de  $CO_2$ ). La commande est robuste vis-à-vis de ces perturbations et le débit d'alimentation est adapté afin de maintenir la concentration de biomasse constante et égale à sa valeur consigne. Il est à noter par ailleurs, la présence d'une légère oscillation de la concentration de la biomasse, expliquée par le fait que la grandeur régulé provient du filtre de Kalman. Ce phénomène a également observé en simulation.



**Figure A4.2 :** Commande GMC couplée au filtre de Kalman en présence d'une perturbation sur la lumière pour une consigne constante de  $22,8 \cdot 10^9 \text{ cell. L}^{-1}$ : A : évolution de la biomasse – B : évolution de la variable de commande  $F$



**Figure A4.3 :** Commande GMC couplée au filtre de Kalman en présence d'une perturbation sur le pH pour une consigne constante de  $26,5 \cdot 10^9$  cell. L $^{-1}$ : A : évolution de la biomasse – B : évolution de la variable de commande  $F$



**Figure A4.4 :** Commande GMC couplée au filtre de Kalman en présence d'une perturbation sur la pression partielle de  $PCO_2$  en entrée pour une consigne constante de  $28,6 \cdot 10^9$  cell.  $L^{-1}$ : A : évolution de la biomasse – B : évolution de la variable de commande  $F$



# Annexe A5 - Glossaire

Nom	Définition
<b>Aérobic</b>	Terminologie appliquée au niveau de la biologie désignant la nécessité d'un microorganisme de se développer dans un milieu saturé en oxygène (métabolisme qui nécessite de l'oxygène)
<b>Agent antifongique</b>	Médicament ayant la capacité de traiter les infections causées par les champignons microscopiques
<b>Agent chélateur</b>	Substance chimique qui induit la fixation des cations métallique afin de former un complexe soluble non ionisé
<b>Alicament</b>	Aliment combinant les propriétés d'un aliment et d'un médicament et permettant de réduire ou de prévenir l'apparition de certaines maladies
<b>Amyloplaste</b>	Structures cellulaires responsables du stockage de l'amidon dans les cellules végétales
<b>Anaérobic</b>	Terminologie appliquée au niveau de la biologie désignant la nécessité d'un microorganisme de se développer dans un milieu ne contenant pas d'oxygène
<b>Aquifère</b>	Formation hydrogéologique poreuse et perméable pouvant contenir une nappe d'eau souterraine
<b>Autoclave</b>	Enceinte hermétique permettant d'assurer la stérilisation par voie thermique, sous pression et grâce à la vapeur d'eau.
<b>Autotrophe</b>	Mode de nutrition d'un organisme capable de synthétiser la matière organique à partir d'une matière minérale
<b>Biofilm</b>	Matrice solide formée par une couche visqueuse de microorganismes qui s'adhèrent entre-elles et à une surface.
<b>Canthaxanthine</b>	Pigment utilisé comme additif alimentaire et dans l'aquaculture
<b>Caroténoïdes</b>	Pigments accessoires de la photosynthèse de couleur orange et jaune
<b>Chimioautotrophe</b>	Mode de nutrition d'un organisme capable de synthétiser la matière organique à partir d'une matière minérale en utilisant l'énergie chimique
<b>Chimiohétérotrophe</b>	Mode de nutrition d'un organisme capable d'assimiler la matière organique préexistante en utilisant l'énergie chimique
<b>Chlorophyte</b>	Algue verte
<b>Chloroplaste</b>	Structure cellulaire à l'origine de la photosynthèse des cellules eucaryotes
<b>Chlorophylle</b>	C'est un pigment chez les organismes photosynthétiques

	permettant d'assimiler l'énergie lumineuse
<b>Chrysolaminaran</b>	Bio polymère et polysaccharide de stockage
<b>Condition axénique</b>	Condition de culture en absence de prolifération de tous germes pathogènes
<b>Cytométrie en flux</b>	Technique de caractérisation individuelle, quantitative et qualitative de particules
<b>Cycle de Calvin</b>	Série de réactions biochimiques qui se déroule au niveau des chloroplastes chez les organismes photosynthétiques. Il permet, à travers la fixation du $CO_2$ , de synthétiser le glucose
<b>Décantation des cellules</b>	Formation d'une couche de particules cellulaires à la surface de la culture sous l'action de la gravitation
<b>Effet immuno-modulateur</b>	Effet de modulation (stimulation ou freinage) du système immunitaire
<b>Emissions anthropiques</b>	Fait en général référence aux gaz à effet de serre. Les émissions de gaz provenant des activités humaines viennent se rajouter à des émissions naturelles. Ces émissions induisent des perturbations anthropiques
<b>Epiphytes</b>	Organismes autotrophes photosynthétiques (plantes) qui se développent à la surface d'autres plantes
<b>Eucaryote</b>	Organismes ayant une structure complexe contenant un noyau entouré d'une membrane ainsi que plusieurs organites intracellulaires
<b>Eutrophisation</b>	Processus naturel de dégradation ou de modification d'un milieu aquatique suite à un apport exagéré en substance nutritive
<b>Fluorescence Activated Cell Sorting</b>	Une des techniques issue de la cytométrie en flux basée sur le triage et le dénombrement des particules cellulaires à travers la diffraction de la lumière fluorescente
<b>Gonadotrophine chorionique humaine</b>	hormone naturelle utilisée pour induire l'ovulation et le traitement des troubles de l'ovaire chez la femme ainsi que l'inhibition de la production des testostérones chez l'homme
<b>Hétérotrophe</b>	Mode de nutrition d'un organisme capable d'assimiler la matière organique préexistante obtenu à partir d'autres organismes (vivant ou mort)
<b>Humus</b>	Couche supérieure du sol issue de la décomposition de la matière organique
<b>Incubateur</b>	Une enceinte à environnement contrôlé permettant la croissance des pré-cultures
<b>Inoculum</b>	Echantillon de microorganismes susceptible d'être introduit dans un milieu de culture
<b>Lessivage</b>	Diminution importante de la concentration cellulaire suite à un apport significatif du milieu de culture lors du fonctionnement en continu
<b>Leucémie lymphoïde</b>	Maladie cancéreuse du sang

<b>Lutéine</b>	Oxydant utilisé comme additif alimentaire, dans l'alimentation animale et comme substance protection oculaire
<b>Maintenance</b>	Energie consommée pour des fonctions autres que celles destinées à la synthèse de matière pour de nouvelles cellules. Energie nécessaire pour la réparation des dommages cellulaires, transfert de nutriment et de produit à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule et pour réguler l'osmolarité du volume intérieur des cellules.
<b>Membrane plasmique</b>	Membrane qui délimite la cellule et qui la sépare de son milieu extérieur
<b>Médicament cytotoxique</b>	Médicament ayant un effet nocif sur la cellule
<b>Métabolite</b>	Composé organique stable intermédiaire ou issu de la transformation biochimique d'une molécule initiale par le métabolisme
<b>Mitochondries</b>	Organites considérés comme les sources énergétiques des cellules eucaryotes
<b>Mixotrophie</b>	Mode de nutrition des organismes qui peuvent être autotrophe et hétérotrophe
<b>Nitrogénase</b>	Enzyme très sensible à l'oxygène et qui est responsable de la fixation biologique de l'azote.
<b>Noyau</b>	Organite contenant le matériel génétique d'une cellule eucaryote
<b>Oléoplastes</b>	Structures cellulaires responsables du stockage des lipides dans les cellules végétales
<b>Osmorégulation</b>	Ensemble de réactions responsables de la pression osmotique et de la régulation de la concentration de sels dissous à son niveau normal dans les fluides internes d'un être vivant
<b>Ozone troposphérique</b>	Superoxydant considéré comme un polluant majeur de l'air et un élément toxique pour les êtres vivants
<b>Paramylon</b>	Polymère du glycose que l'on trouve chez les <i>Euglenophycées</i>
<b>Phénomène d'auto-ombrage</b>	Le développement cellulaire induit une formation de couche suite à l'entassement des cellules les unes sur les autres et qui crée de l'ombre pour les cellules situées à une distance plus importante par rapport à la source lumineuse
<b>Photoautotrophe</b>	Mode de nutrition d'un organisme capable de synthétiser la matière organique à partir d'une matière minérale en utilisant la lumière comme source d'énergie
<b>Photohétérotrophe</b>	Mode de nutrition d'un organisme capable d'assimiler la matière organique préexistante en utilisant la lumière comme source d'énergie
<b>Phycobiliprotéines</b>	Protéines hydrosolubles qui forment des complexes d'antennes réceptrices de la lumière. Elles agissent en tant que pigments photosynthétiques accessoires chez les algues rouges



<b>Produit inhibiteur</b>	Produit généré qui à forte concentration induit une diminution de la vitesse de croissance cellulaire
<b>Pyrénoïde</b>	Structure cellulaire source de production de l'amidon et contenant l'enzyme responsable de la photosynthèse
<b>Substrat limitant</b>	Substrat qui est susceptible de disparaître le plus rapidement possible et qui limite la vitesse de croissance
<b>Taurine</b>	Dérivé d'acide aminé soufré utilisé comme additif alimentaire
<b>Temps de séjour</b>	Temps moyen de résidence d'une molécule dans le réacteur
<b>Thylakoïdes</b>	Sacs sous formes de lamelles présents dans le chloroplaste et intervenant dans la photosynthèse (essentiellement la phase claire)
<b><i>Trebouxiophyceae</i></b>	Classe de microalgue verte de la division des <i>Chlorophycées</i>
<b>Tributylétain</b>	Puissant composé toxique pour les végétaux et d'autres organismes vivants
<b>Xénobiotique</b>	Substance chimique polluante et toxique pour l'organisme vivant
<b>Zéaxanthine</b>	Pigment utilisé comme additif alimentaire et comme substance protection oculaire



## Résumé

Cette thèse s'attache à la maximisation de la consommation du dioxyde de carbone par les microalgues. En effet, suite aux différentes problématiques environnementales actuelles liées principalement aux émissions importantes de gaz à effet de serre et notamment le  $CO_2$ , il a été démontré que les microalgues jouent un rôle très prometteur pour la bio-fixation du  $CO_2$ . Dans cette optique, nous nous intéressons à la mise en place d'une loi de commande robuste permettant de garantir des conditions opératoires optimales pour une culture de la microalgue *Chlorella vulgaris* dans un photobioréacteur instrumenté.

Cette thèse repose sur trois axes principaux. Le premier porte sur la modélisation de la croissance de l'espèce algale choisie à partir d'un modèle mathématique traduisant l'influence de la lumière et de la concentration en carbone inorganique total. Le deuxième axe est consacré à l'estimation de la concentration cellulaire à partir des mesures disponibles en temps réel du dioxyde de carbone dissous. Cette étape s'avère nécessaire en vue de la commande du fait de l'absence de capteurs de moindre coût pour la mesure en temps-réel de la concentration algale. Trois types d'observateurs ont été étudiés et comparés : filtre de Kalman étendu, observateur asymptotique et observateur par intervalles. Le dernier axe concerne l'implantation d'une loi de commande prédictive non-linéaire couplée à une stratégie d'estimation pour la régulation de la concentration cellulaire autour d'une valeur maximisant la consommation du  $CO_2$ . Les performances et la robustesse de cette commande ont été validées en simulation et expérimentalement sur un photobioréacteur instrumenté à l'échelle de laboratoire. Cette thèse est une étude préliminaire pour la mise en œuvre de la maximisation de la fixation du dioxyde de carbone par les microalgues.

**Mots-clés :** bioprocédés, microalgues, photobioréacteur, bio-fixation du  $CO_2$ , observateur par intervalles, commande prédictive.

## Abstract

This thesis deals with the optimization of carbon dioxide consumption by microalgae. Indeed, following several current environmental issues primarily related to large emissions of  $CO_2$ , it is shown that microalgae represent a very promising solution for  $CO_2$  mitigation. From this perspective, we are interested in the optimization strategy of  $CO_2$  consumption through the development of a robust control law. The main aim is to ensure optimal operating conditions for a *Chlorella vulgaris* culture in an instrumented photobioreactor.

The thesis is based on three major axes. The first one concerns growth modeling of the selected species based on a mathematical model reflecting the influence of light and total inorganic carbon concentration. The second axis is related to biomass estimation from the real-time measurement of dissolved carbon dioxide. This step is necessary for the control part due to the lack of affordable real-time sensors for this kind of measurement. Three observers structures have been studied and compared: an extended Kalman filter, an asymptotic observer and an interval observer. The last axis deals with the implementation of a non-linear predictive control law coupled to the estimation strategy for the regulation of the cellular concentration around a value which maximizes the  $CO_2$  consumption. Performance and robustness of this control law have been validated in simulation and experimentally on a laboratory-scale instrumented photobioreactor. This thesis represents a preliminary study for the optimization of  $CO_2$  mitigation strategy by microalgae.

**Keywords:** bioprocess, microalgae, photobioreactor,  $CO_2$  mitigation, interval observer, predictive control.