

UNIVERSITE DE NANTES

Ecole polytechnique de l'Université de Nantes

ECOLE DOCTORALE

Mécanique, Thermique et Génie Civil

de NANTES

Année 2007

Thèse de **DOCTORAT**

Discipline : Sciences Pour l'Ingénieur

Spécialité : Génie des Procédés

Présentée et soutenue à huis-clos par

**Erell OLIVO**

le 21 septembre 2007

à IFREMER, Nantes (44)

**CONCEPTION ET ETUDE D'UN PHOTOBIOREACTEUR POUR LA  
PRODUCTION EN CONTINU DE MICROALGUES EN ECLOSERIES  
AQUACOLES**

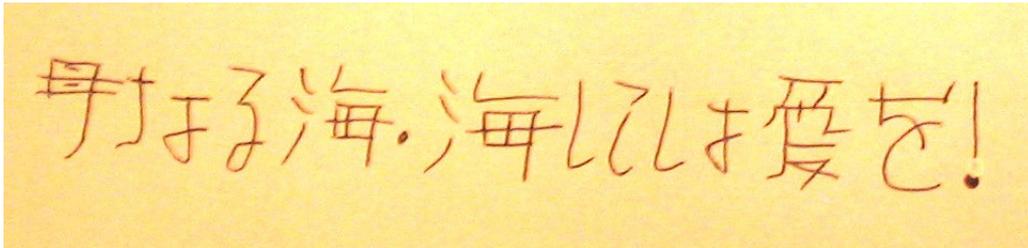
**Jury :**

M. BOUGARAN Gaël, Cadre de recherche, IFREMER Nantes	<i>Invité</i>
M. BOURSEAU Patrick, Professeur des universités, Université de Bretagne Sud	<i>Président</i>
Mme HOURMANT Annick, Professeur des universités, Université de Bretagne Occidentale	<i>Examinatrice</i>
M. ISAMBERT Arsène, Professeur des universités, Ecole Centrale de Paris	<i>Rapporteur</i>
M. LEFEVRE Sébastien, Maître de conférences, Université de Caen	<i>Invité</i>
M. LEGRAND Jack, Professeur des universités, Université de Nantes	<i>Examinateur</i>
Mme LOUBEIRE Karine, Chargée de recherche CNRS, GEPEA UMR 6144	<i>Invitée</i>
M. PRUVOST Jérémy, Maître de conférences, Université de Nantes	<i>Invité</i>
M. ROBERT René, Chef de projet, IFREMER Argenton-en-Landunvez	<i>Examinateur</i>
M. VERON Benoît, Maître de conférences, Université de Caen	<i>Rapporteur</i>

**Directeurs de thèse :** LEGRAND Jack, ROBERT René

**Co-encadrants :** BOUGARAN Gaël, LOUBIERE Karine, PRUVOST Jérémy

**N°ED 0367-292**



*La mer la mère, l'amour pour la mer !*

*A Elie,*





## REMERCIEMENTS

Je veux tout d'abord remercier messieurs Arsène ISAMBERT et Benoît VERON pour avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse ; madame Annick HOURMANT et monsieur Patrick BOURSEAU, ainsi que mes directeurs de thèse messieurs René Robert et Jack Legrand pour avoir accepté de juger ce travail. Je tiens également à remercier Sébastien LEFEBVRE pour avoir accepté mon invitation.

Je remercie les responsables d'écloserie qui m'ont permis de mener à bien la première étape de ce projet d'envergure.

Je remercie très chaleureusement Gaël BOUGARAN, Karine LOUBIERE, Loïc LE DEAN et Jérémy PRUVOST pour leur encadrement et qui par leur patience infinie, leurs conseils, leur disponibilité de tous les instants m'ont permis de m'enrichir pendant ces années.

Un grand merci aux laboratoires d'Ifremer et plus particulièrement à l'équipe PBA pour l'ambiance chaleureuse et pleine de rires qui permet de passer les caps difficiles et de partager les bons moments. Heureusement, j'ai récupéré ma cheville pour la suite des expériences nécessitant un peu « d'escalade » !

Merci Marie-Lise PICQUET, pour les éclats de rire partagés et l'aide que tu m'as gentiment apportée. Merci Raymond KAAS, pour m'avoir aidée à résoudre les problèmes ponctuels dans la bonne humeur.

Merci beaucoup à tout le laboratoire du GEPEA pour votre accueil et votre aide ponctuelle mais néanmoins indispensable : le passage d'un labo à l'autre n'est pas toujours un exercice aisé !

Je désire également remercier un personnage haut en couleur sans qui rien n'aurait pu réellement débiter : MERCI Jean Claude JOUIN pour m'avoir permis de partir à l'aventure. Nos excursions « au bout du monde » pour rencontrer les représentants des écloseries ont été un bonheur. Elles m'auront permis de rencontrer Annick que j'ai toujours énormément de plaisir à voir. Ton goût du défi et de la découverte, auréolé de bonne humeur aura également contaminé Didier ELIN qui partage ta philosophie du travail et que tu as entraîné avec nous. Je pense également aux salariés de JOUIN SOLUTIONS PLASTIQUES qui m'accueillent toujours aussi gentiment et qui manifestent beaucoup de curiosité à l'égard de mes « petites algues » et du monde océanique. Les laboratoires seront peut être un peu moins mystérieux !

Merci à tous ceux, nombreux, qui ont partagé cette période importante de ma vie. Merci à vous tous et merci d'être toujours aussi présents :

Mes amis Nantais d'adoption et de « thésards fidèles » avec qui tout reste possible : Karla, Benoît, Vincent, Caro, Myriam, Alex, Laurent... Finalement, il y a une fin pour mieux commencer !

Mes amis de danse devenus bien plus au fil du temps : Sterenn, Bao qui m'a permis de rencontrer une personne qui envahit ma vie : Elie. Et aussi Julien T., Julien B., Agnès, Julie, Renaud, Mars... la liste est longue, mes amis !

Mes complices internationaux, présents malgré les distances : Tali, Stéphanie, Thi Thai, Paul, Martin, Naomi, Hiromi, Tiago, Rafael, Steve, Edison et Ximena, Sophie ; mes amis du pays de Rhuys, et ceux de Paris. Thank you always to be there for me!

La liste serait incomplète sans les personnes qui me sont chères et qui me suivent inconditionnellement depuis toujours : Dominique, Jean-Pol, Sulian, Mamie.

**MERCI POUR TOUT !**

---

---

CONFIDENTIEL



---

# NOMENCLATURE

## Sigles

CEN x = 500 mm : injection d'air centrale réalisée à la hauteur x = 500 mm

CEN : injection d'air centrale

Chl : chlorophylle

CIFRE : Conventions Industrielles de Formation par la Recherche

FV : facteur de vitesse

GEPEA : Laboratoire de GENIE des Procédés Environnement Agroalimentaire, UMR CNRS 6144, St Nazaire (44)

IFREMER : Institut Français de Recherche et d'Exploitation de la MER

JSP : Société JOUIN SOLUTIONS PLASTIQUES, Le Cellier (44)

LPI : Laboratoire de Production des Invertébrés, IFREMER Argenton (29)

MBR : injection d'air membranaire

MLI : Modulation par Largeur d'Impulsion

PAR : Photosynthetic active radiation ou Rayonnement Photosynthétique Actif (400-700 nm)

LPBA : Laboratoire de Physiologie et Biotechnologie des Algues, IFREMER, Nantes (44)

CPP : caroténoïdes photoprotecteurs (carotènes, autres xanthines, lutéine)

PPS : pigments photosynthétiques (Chl, phytols, fucoxanthine)

AGPI : Acides Gras PolyInsaturés

TAN : injection d'air tangentielle

## Lettres romanes

C : concentration en oxygène dissous ( $\text{mg.l}^{-1}$ )

C\* : concentration en oxygène dissous à l'équilibre ( $\text{mg.l}^{-1}$ )

C\*<sub>n</sub> : concentration du milieu de Conway à raison de n fois la concentration du milieu de Conway de référence (Annexe N°2) ( $\text{ml.l}^{-1}$ )

C<sub>s</sub> : concentration en oxygène donnée par la sonde ( $\text{mg.l}^{-1}$ )

C<sub>l</sub> : concentration en oxygène réelle ( $\text{mg.l}^{-1}$ )

C<sub>o</sub> : concentration en oxygène dissous au temps t<sub>0</sub> où l'air est injecté ( $\text{mg.l}^{-1}$ )

$D$  : taux de renouvellement ou de dilution ( $j^{-1}$ )  
 $E_a$  : coefficient massique d'absorption ( $m^2/kg$ )  
 $E_s$  : coefficient massique de diffusion ( $m^2/kg$ )  
 $G$  : irradiance ( $\mu mol/m^2/s$ )  
 $G_c$  : irradiance au point de compensation ( $\mu mol/m^2/s$ )  
 $H$  : hauteur de la bride (mm)  
 $K_G$  : constante d'affinité pour l'irradiance ( $\mu mol/m^2/s$ )  
 $k_{La}$  : coefficient volumique de transferts gaz-liquide ( $min^{-1}$ )  
 $L'$  : largeur du passage en sortie de bride (mm)  
 $L$  : trajet optique de chaque rayon incident (m)  
 $L_c$  : longueur droite de parcours (m)  
 $P$  : productivité ( $cell.l^{-1}.j^{-1}$ )  
 $Q_g$  : débit d'air ( $Nl.min^{-1}$ )  
 $q_0$  : flux de lumière incident ( $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ )  
 $r$  : positions radiales dans le tube (mm)  
 $R$  : rayon du tube (m)  
 $S$  : section du tube ( $mm^2$ )  
 $S_i$  : concentration en substrat en entrée ( $mol.l^{-1}$ )  
 $S_r$  : concentration en substrat résiduel ( $mol.l^{-1}$ )  
 $T_c$  : temps de recirculation (s)  
 $t_g$  : temps de résidence du gaz (s)  
 $U$  : composante axiale de vitesse ( $m.s^{-1}$ )  
 $U_g$  : vitesse superficielle de gaz ( $cm.s^{-1}$ )  
 $U_{max}$  : composante axiale de vitesse maximale au centre de la conduite ( $m.s^{-1}$ )  
 $\langle U \rangle$  : vitesse débitante ( $m.s^{-1}$ )  
 $V$  : volume de la maquette (L)  
 $W$  : composante tangentielle de vitesse ( $m.s^{-1}$ )  
 $\langle W \rangle$  : vitesse tangentielle moyennée sur la section de la colonne S ( $m.s^{-1}$ )  
 $X$  : concentration en biomasse ( $cell.l^{-1}$ )  
 $x$  : position axiale dans le tube (mm)  
 $z$  : axe de propagation de la lumière dans les deux directions opposées ( $I^+$  et  $I^-$ ) (m)

---

**Lettres grecques**

$\delta$  : coefficient d'extinction ( $m^{-1}$ )

$\Delta H$  : hauteur de liquide (m)

$\theta$  : positions angulaires dans le tube (rad)

$\theta_c$  : angle entre la normale et le rayon incident colimaté (rad)

$\mu$  : taux spécifique de croissance ( $j^{-1}$ )

$\mu_m$  : taux de maintenance ( $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ )

$\mu_{max}$  : taux spécifique de croissance maximal ( $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ )

$\rho$  : absorption en nutriment ( $mol.cell^{-1}.j^{-1}$ )

$\tau$  : constante de temps de la sonde à oxygène (s)

**Nombres sans dimension**

b : fraction rétrodiffusée

n : indice optique de réfraction du milieu

IC95 : Intervalle de confiance à 95%

Re : nombre de Reynolds

Sn : intensité tourbillonnaire

$\alpha$  : module de réflexion linéaire

$\varepsilon_g$  : rétention gazeuse



---

# TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS .....	iii
NOMENCLATURE .....	vii
TABLE DES MATIERES .....	xi
LISTE DES FIGURES .....	xvii
LISTE DES TABLEAUX.....	xxvii
INTRODUCTION .....	1
<b>PARTIE II ETAT DE L'ART ET OBJECTIFS DE L'ETUDE.....</b>	<b>9</b>
<b>CHAPITRE I GENERALITES SUR LES PHOTOBIOREACTEURS .....</b>	<b>11</b>
<i>I.1 Qu'est ce qu'un photobioréacteur ?.....</i>	<i>11</i>
<i>I.2 Conception et problématique générale.....</i>	<i>11</i>
I.2.1 La lumière et le photobioréacteur.....	11
I.2.2 L'hydrodynamique au sein des photobioréacteurs .....	15
<i>I.3 Conclusions pour la conception d'un photobioréacteur .....</i>	<i>15</i>
<b>CHAPITRE II TECHNOLOGIES DE PHOTOBIOREACTEURS .....</b>	<b>19</b>
<i>II.1 Les deux formes géométriques les plus courantes .....</i>	<i>19</i>
II.1.1 Les photobioréacteurs plats .....	19
II.1.2 Les photobioréacteurs cylindriques .....	19
<i>II.2 Caractéristiques des principaux types de photobioréacteurs .....</i>	<i>27</i>
II.2.1 Eclairage.....	27
II.2.2 Dimensions des photobioréacteurs .....	29
II.2.3 Régulation .....	31
<i>II.3 Techniques d'agitation et de mise en circulation .....</i>	<i>33</i>
II.3.1 Description des systèmes d'agitation.....	33
II.3.2 Mise en circulation des microorganismes.....	37
II.3.3 Conclusion sur les systèmes d'agitation.....	41

II.4	<i>Techniques mises en œuvre pour l'optimisation des photobioréacteurs.....</i>	43
II.4.1	Optimisation de la lumière .....	43
II.4.2	Optimisation de l'écoulement.....	47
II.5	<i>Quelques exemples d'applications académiques et semi-industrielles.....</i>	49
II.5.1	Les applications des photobioréacteurs plats.....	49
II.5.2	Les applications des photobioréacteurs cylindriques et de leurs variantes .....	49
II.5.3	Applications industrielles .....	51
II.6	<i>Conclusions sur les géométries et l'agitation des photobioréacteurs.....</i>	55
CHAPITRE III	GENERALITES SUR LES MICROALGUES AQUACOLES .....	57
III.1	<i>Les microalgues : une nourriture pour mollusques.....</i>	57
III.2	<i>Critères de sélection des espèces candidates à l'étude.....</i>	63
III.3	<i>Morphologie et paramètres écophysologiques de Isochrysis affinis galbana (t-Iso, CCAP 927/14) 65</i>	
III.3.1	Classification et morphologie.....	65
III.3.2	Conditions optimales de croissance.....	66
III.3.3	Conclusion.....	68
CHAPITRE IV	CHOIX DES ELEMENTS DE CONCEPTION DE LA MAQUETTE ET OBJECTIFS DE L'ETUDE 69	
IV.1	<i>Les écloseries.....</i>	69
IV.1.1	Le domaine d'application premier du futur photobioréacteur .....	69
IV.1.2	Le fonctionnement des écloseries.....	71
IV.1.3	Estimation des besoins journaliers en microalgues .....	77
IV.1.4	Autres aspects mis en évidence par l'enquête.....	77
IV.2	<i>Contraintes scientifiques et technico-économiques à intégrer .....</i>	78
CHAPITRE V	OBJECTIFS DE LA THESE .....	82
PARTIE III	MATERIEL ET METHODES.....	87
CHAPITRE I	MAQUETTE D'ETUDE ET INSTRUMENTATION.....	89
I.1	<i>Spécifications de la maquette .....</i>	89
I.1.1	Nomenclature des pièces de la maquette .....	89

---

I.1.2	Les colonnes.....	89
I.1.3	Les brides et les prismes des facteurs de vitesse (FV).....	91
I.1.4	Les distributeurs d'air.....	93
I.1.5	Les équipements périphériques de la maquette d'étude.....	94
CHAPITRE II	CULTURES BIOLOGIQUES.....	97
II.1	<i>Mise en œuvre des cultures en continu</i> .....	97
II.1.1	Culture en continu : modes chemostat versus turbidostat.....	97
II.1.2	Microalgue et milieu utilisés .....	98
II.2	<i>Suivi de la croissance des cultures</i> .....	99
II.3	<i>Configurations d'étude dans la maquette</i> .....	99
II.4	<i>Détermination du modèle de croissance <math>\mu=f(G)</math></i> .....	101
CHAPITRE III	TRANSFERT RADIATIF .....	103
III.1	<i>Prédiction de la productivité en photobioréacteur</i> .....	103
III.2	<i>Prédiction du transfert radiatif : modèle à deux flux</i> .....	105
III.3	<i>Détermination des propriétés optiques des microalgues t-Iso</i> .....	109
III.4	<i>Détermination expérimentale des profils d'irradiance</i> .....	113
CHAPITRE IV	HYDRODYNAMIQUE ET TRANSFERTS DE GAZ.....	117
IV.1	<i>Traçage conductimétrique</i> .....	117
IV.2	<i>Vélocimétrie par images de particules (PIV)</i> .....	119
IV.2.1	Principe de la PIV (Vélocimétrie par Images de Particules) et mesures effectuées.....	119
IV.2.2	Matériels utilisés .....	119
IV.2.3	Calibration.....	121
IV.2.4	Campagnes de mesure .....	121
IV.2.5	Post Traitement .....	125
IV.3	<i>Comparaison des méthodes en terme de vitesse débitante</i> .....	125
IV.4	<i>Etude des transferts de matière gaz-liquide</i> .....	127
IV.4.1	Détermination expérimentale du coefficient volumique de transfert de matière gaz-liquide ( $k_L a$ )	127
IV.4.2	Conditions opératoires et matériel utilisé .....	129

---

IV.4.3	Vérification des hypothèses associées à la méthode.....	129
<b>PARTIE IV</b>	<b>RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>135</b>
<b>CHAPITRE I</b>	<b>PRODUCTIVITE THEORIQUE ET CHOIX DU DIAMETRE DE TUBE.....</b>	<b>137</b>
<i>I.1</i>	<i>Validation du modèle de transfert radiatif.....</i>	<i>137</i>
<i>I.2</i>	<i>Productivités théoriques du réacteur.....</i>	<i>139</i>
I.2.1	Modèle cinétique de croissance.....	139
I.2.2	Influence de l'irradiance reçue $q_0$ et du rayon R des tubes sur la productivité .....	141
<i>I.3</i>	<i>Conclusion.....</i>	<i>145</i>
<b>CHAPITRE II</b>	<b>CARACTERISATION DU COMPORTEMENT HYDRODYNAMIQUE.....</b>	<b>147</b>
<i>II.1</i>	<i>Détermination de la gamme de débits d'air <math>Q_g</math> d'intérêt.....</i>	<i>147</i>
II.1.1	Débit d'air minimal .....	149
II.1.2	Débit d'air maximal.....	149
II.1.3	Conclusion.....	153
<i>II.2</i>	<i>Influence du type de distributeur d'air .....</i>	<i>153</i>
II.2.1	Comparaison qualitative (simplicité technologique, facilité de mise en oeuvre, bénéfices attendus) 153	
II.2.2	Effet du type de distributeur sur la vitesse débitante .....	157
II.2.3	Conclusion.....	161
<i>II.3</i>	<i>Influence du facteur de vitesse et longueur de tube.....</i>	<i>161</i>
II.3.1	Caractérisation du mouvement tourbillonnaire.....	161
II.3.2	Conclusion.....	203
<i>II.4</i>	<i>Etudes des transferts de matière gaz-liquide.....</i>	<i>203</i>
II.4.1	Coefficient volumique de transfert d'oxygène $k_L a$ .....	203
II.4.2	Conclusion.....	208
<i>II.5</i>	<i>Conclusion sur les études hydrodynamiques .....</i>	<i>209</i>
<b>CHAPITRE III</b>	<b>CARACTERISATION DES PERFORMANCES BIOLOGIQUES : CULTURES EN CONTINU DE T-ISO .....</b>	<b>211</b>
<i>III.1</i>	<i>Préambule.....</i>	<i>211</i>
<i>III.2</i>	<i>Productivités sur une période courte.....</i>	<i>215</i>

---

III.3	<i>Encrassement sur une période longue</i> .....	217
III.4	<i>Conclusion</i> .....	219
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	223
	BIBLIOGRAPHIE .....	231
	ANNEXES .....	243
	ANNEXE N°1 : QUESTIONNAIRE DE L'ENQUETE .....	243
	ANNEXE N°2 : MILIEU DE CONWAY (WALNE 1966) .....	249
	ANNEXE N°3 : MESURE DE MATIERE SECHE (MS) .....	251
	ANNEXE N°4 : VALEUR DE $K_{LA}$ ( $\text{MIN}^{-1}$ ) EN EAU DOUCE, EAU DE MER ET MILIEU DE CULTURE .....	253
	ANNEXE N°5 : DESCRIPTION DU PROTOTYPE .....	255
	1. <i>Agencement des tubes</i> .....	255
	2. <i>Brides</i> .....	257
	3. <i>Appareils périphériques</i> .....	257
	4. <i>Facilité de mise en œuvre et entretien</i> .....	259
	ABSTRACT .....	197
	RESUME .....	197



---

## LISTE DES FIGURES

Figure II.1 : Représentation schématique de l'atténuation de la lumière en fonction de l'épaisseur de culture de microalgues. ....	12
Figure II.2 : Photos de gauche à droite : a) Agglomération de cellules de <i>Porphyridium purpureum</i> (Cliché Ifremer, LPBA, J. Pruvost). b) Segmentation de cellules de Spiruline (Cliché GEPEA. N. Rossi). c) Effets du passage dans une pompe chez <i>Haslea ostrearia</i> (Cliché LBM-Isomer. J.Robert, P.Jaouen).....	14
Figure II.3 : Géométrie du photobioréacteur plat (Bosma et Wijffels 2003).....	18
Figure II.4 : Photobioréacteurs de type colonne à bulles (Scobalit) utilisés classiquement en éclosionerie.....	20
Figure II.5 : Photobioréacteurs annulaires verticaux (Zittelli <i>et al.</i> 2006).....	20
Figure II.6 : Détails du système de culture solaire à boucle (a) et la zone de dégazage (b) (Acien Fernandez <i>et al.</i> 2001).....	22
Figure II.7 : Photobioréacteur « Biocoil » (Richmond 2000) inventé par Lee Robinson (brevet européen n° EP 0239272, 6 mars 1987). ....	22
Figure II.8 : Installation du photobioréacteur industriel de la société Photo Bioreactors Ltd. en Espagne (Tredici 1999). ....	24
Figure II.9 : Configuration d'un photobioréacteur plat où les chambres de cultures A, B et C sont inclinées verticalement et où A forme un auto-ombrage des chambres B et C (Grobbelaar et Kurano 2003). ....	26
Figure II.10 : Photobioréacteur tubulaire pour la culture de <i>Spirulina spp.</i> en extérieur utilisant une surface réfléchissante (Tredici et Materassi 1992).....	26
Figure II.11 : Photobioréacteurs plats : photobioréacteur de 500 L construit au laboratoire de l'Institut Jacob Blaustein pour le projet "Desert Research" (Richmond 2000). ....	28

Figure II.12 : Système de régulation thermique: photobioréacteur plat à compartiments de culture et de circulation d'eau (a) et schéma d'un photobioréacteur plat équipé de: 1 chambre interne de culture; 2 chambre de régulation externe de température; 3 récolte; 4 entrée et 5 sortie d'eau de refroidissement; 6 port d'entrée des tubes d'air; 7 sortie d'air; 8 port de prélèvement; 9 ports des sondes pH, température, O <sub>2</sub> etc.; 10 mur de tubes fluorescents (b) (Hu <i>et al.</i> 1998b).	30
Figure II.13 : Schémas de colonne à bulle (a), de photobioréacteurs airlift à chambres annulaires (b) à paroi interne (c) et à boucle externe (d) (Chisti et Moo-Young 2001).	32
Figure II.14 : Configurations de types airlift (Luo et Al Dahhan 2004).	32
Figure II.15 : Différents mobiles d'agitation : (a) Turbine à disque Rushton, (b) hélice hydrofoil, (c) hélice marine (Chisti et Moo-Young 2001).	34
Figure II.16 : Diagramme schématique de trois unités de photobioréacteurs plats où l'aération et la circulation sont réalisées par un tube placé à la base de la chambre permet plusieurs points d'injection d'air : panneaux alvéolaires double (a), simple (b) (Tredici et Materassi 1992) et utilisant des pompes pour la circulation du milieu entre les panneaux (c) (Tredici 1999).	38
Figure II.17 : Photobioréacteur composé de plateaux où la circulation des microalgues se fait par gravité : (1) support ; (2) gaine de plastique ; (3) structure métallique ; (4) plateaux perforés ; (5) container de récolte ; (6) pompe ; (7) tube (Petkov 2000).	38
Figure II.18 : Répartition des systèmes d'agitation par classes de volumes (étude menée sur 43 réacteurs).	40
Figure II.19 : Répartition des systèmes d'agitation selon la géométrie du photobioréacteur (étude menée sur 48 réacteurs).	40
Figure II.20 : Schéma du photobioréacteur plat modulaire. (a) panneaux alvéolaires amovibles ; (b) tubes fluorescents; (c) coffre; (d) points d'injection de l'air et du CO <sub>2</sub> (Zittelli <i>et al.</i> 2000).	44
Figure II.21 : Le photobioréacteur plan airlift (Flat Panel Airlift), objet d'un dépôt de brevet par l'industriel W.Trösch (Degen <i>et al.</i> 2001).	46

---

Figure II.22 : Schéma de l'écoulement tourbillonnaire dans un photobioréacteur annulaire généré par une injection tangentielle (Pruvost <i>et al.</i> 2002). .....	46
Figure II.23 : Photobioréacteur torique de 1100 ml, mis au point par les laboratoires IFREMER LPBA et GEPEA UMR CNRS 6144 (a) et schéma de la face avant et du profil de celui-ci (b) (Pruvost <i>et al.</i> 2006). .....	48
Figure II.24 : « Pipe Photobioreactor » de la société Yamaha Motor Co. : Détail d'un module de photobioréacteur tubulaire délimité par un volume cylindrique annulaire fermé de 2,5 m de long et 1 m de diamètre, définissant un volume de 230 L (a). L'injection d'air est implantée à droite de la génératrice inférieure pour permettre la circulation de la culture (b) (Yamaha Motor Ltd. 2006 et com. pers., Muller-Feuga 2004). .....	48
Figure II.25 : Photobioréacteur Hydrobiologica SA Plant (Tredici 1999). .....	50
Figure II.26 : Photobioréacteur de la société Sea Salter Shellfish Co. (1996), constitué de 40 poches permettant une récolte journalière d'environ 5000 litres ( $4 \cdot 10^6$ cell.ml <sup>-1</sup> ).....	50
Figure II.27 : Le photobioréacteur « Cell Pharm Tubular reactor (Bio-Fence) » de 400 litres (à gauche) et de 600 litres (à droite) (Cell Pharm Bioactive Product <a href="http://home.bt-webworld.com/cellpharm/">http://home.bt-webworld.com/cellpharm/</a> ). .....	52
Figure II.28 : Mera Growth Module, un photobioréacteur de 25 000 l composés de tubes de 120 m de long et 25,5 cm de diamètre installé à Hawaii (Etat Unis) (Olaizola 2000; 2003). .....	54
Figure II.29 : Comparaison de deux photobioréacteurs industriels en Allemagne et en Israel (a), photobioréacteur tubulaire en verre (700 m <sup>3</sup> ) produisant de la biomasse de <i>Chlorella</i> et le « Photobioreaktor PBR 35000 GL » (Pulz 2001). .....	54
Figure II.30 : Exemple de courbe de croissance de t-Iso lors d'une culture en continu dans la maquette d'étude (Config. : FV4, Distributeur d'air tangentiel, Qg = 1,4 Nl.min-1)...	62
Figure II.31 : Photographie en microscopie optique de <i>Chaetoceros sp.</i> (Longueur de 10-15 µm, volume cellulaire de 80 µm <sup>3</sup> ). .....	62
Figure II.32 : Photographie en microscopie optique de <i>Skeletonema marinoï</i> (Longueur de 20-70 µm la colonie). .....	64

---

Figure II.33 : Photographie en microscopie optique de <i>Isochrysis affinis galbana</i> (Taille de 4-6 $\mu\text{m}$ , volume cellulaire de $40\mu\text{m}^3$ ). .....	64
Figure III.1 : Photographie de la maquette d'étude. ....	88
Figure III.2 : Détail d'une bride (moitié inférieure) et prismes de Facteur de Vitesse (FV2, FV4 et FV9 de gauche à droite). ....	90
Figure III.3 : Schéma de la bride composée du facteur de vitesse FV4 (vue de dessus)..	90
Figure III.4 : Les différents distributeurs d'air utilisés : central simple ( $x = 0 \text{ mm}$ ) (a), central à mi hauteur ( $x = 500 \text{ mm}$ ) (b), membranaire (c) et tangentiel (d). ....	92
Figure III.5 : Schéma du principe de la culture en continu.....	96
Figure III.6 : Photobioréacteur torique (a) et schéma des points de mesure retenus pour mesurer l'irradiance en son sein (b).....	100
Figure III.7 : Schéma illustrant le changement de direction des rayons lumineux au passage de la courbure du tube lorsque la direction incidente est unique. ....	104
Figure III.8 : Schéma illustrant l'absorption et la diffusion de l'irradiance incidente par une cellule algale.....	104
Figure III.9 : Représentation schématique du modèle à deux flux avec le sens de propagation du flux lumineux ( $I^+$ ) et sa partie rétrodiffusée ( $I^-$ ).....	106
Figure III.10 : Schéma illustrant le changement de direction des rayons au passage de la courbure du tube (relation Fresnel-Descartes). ....	106
Figure III.11 : Schéma représentant des directions de rayons incidents inchangées au passage de la courbure du tube (ne prenant pas en compte la réfraction après le passage de la paroi courbe). ....	106
Figure III.12 : Spectre d'absorption de la microalgue t-Iso mettant en jeu les pigments photosynthétiques (Chl <i>a</i> : 450 et 680 nm) et photoprotecteurs (carotènes et xanthophylles : 480-500 nm). ....	110

---

Figure III.13 : Profils d'atténuation de l'irradiance ( $q_0 = 210 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ). Tube vide sans écran ( $\diamond$ ), tube vide avec écran ( $\Delta$ ), tube avec culture ( $X = 16,8.10^6 \text{ cell.ml}^{-1}$ ) et sans écran ( $\square$ ), tube avec culture et avec écran ( $\circ$ ).....	114
Figure III.14 : Schéma du dispositif de traçage conductimétrique .....	116
Figure III.15 : Exemple de courbe conductimétrique au sein de la maquette d'étude et temps de circulation $T_c$ (configuration : distributeur tangential, FV4, débit d'air de $1,6 \text{ Nl.min}^{-1}$ ).....	116
Figure III.16 : Visualisation des faces planes équipant la colonne descendante mises en place pour la PIV. ....	118
Figure III.17 : Mires utilisées lors des campagnes de PIV : barre métallique (a) et mire permettant la calibration à différentes positions radiales du plan médian (b). ....	120
Figure III.18 : Schémas de principe de la première campagne PIV : Vue de dessus (a), Vue de face (b).....	122
Figure III.19 : Schémas de principe de la deuxième campagne PIV : orientation et disposition de la caméra et du laser ; visualisation des points de mesures réalisés dans le plan médian du tube (intersections entre le faisceau laser et celui de la caméra aux différentes positions radiales). ....	122
Figure III.20 : Comparaison des méthodes en terme de vitesse débitante $\langle U \rangle$ au sein de la maquette d'étude (injection d'air tangentielle, facteur de vitesse FV4) : première campagne PIV ( $\diamond$ ), deuxième campagne PIV ( $\Delta$ ), traçage conductimétrique ( $\circ$ ). ....	124
Figure III.21 : Illustration de l'évolution temporelle de la concentration en oxygène dissous lors de la méthode de désoxygénation/réoxygénation. ....	126
Figure III.22 : Exemple de détermination expérimentale du $k_L a$ à partir de l'Equation III.14.....	128
Figure III.23 : Réponse de la sonde à oxygène à un échelon de 100% à 0% en $\text{O}_2$ (a) et détermination de la constante de temps de la sonde (b).....	130

Figure IV.1 : Profils radiaux théoriques (avec et sans prise en compte des effets de distorsion) et expérimental d'irradiance $G(z)/q_0$ au sein du tube ( $L = 60$ mm, $q_0 = 210$ $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ et $X_{t\text{-Iso}} = 16,8.10^6$ cell.ml <sup>-1</sup> ). .....	136
Figure IV.2 : Champs d'irradiance sur une section de colonne : sans distorsion (a) et avec distorsion (b). .....	136
Figure IV.3 : Modèle de croissance (taux spécifique de croissance $\mu$ versus irradiance reçue) : données expérimentales (points) et régression multiparamètre à partir du modèle de Monod (courbe). .....	138
Figure IV.4 : Productivité théorique du réacteur en fonction du rayon R des tubes et du taux de dilution D, pour une culture de t-Iso soumise à des flux incidents de 100 et 200 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .....	140
Figure IV.5 : Productivité volumique (cell.l <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> ) en fonction du rayon R (m) pour $D_{\text{optimum}}$ ( $D = 0,6312$ j <sup>-1</sup> avec $q_0 = 100$ $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ et $D = 0,7584$ j <sup>-1</sup> avec $q_0 = 200$ $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) (a), et D fixé à 0,36 j <sup>-1</sup> (b), le taux de dilution utilisé lors des cultures expérimentales..	142
Figure IV.6 : Prédiction de volume (a) et coût (b) du photobioréacteur (calculé sur la base du coût des tubes) nécessaire à un besoin journalier de $1,15.10^{12}$ cellules en fonction du rayon du tube, pour deux flux incidents de 100 ( $\square$ ) et 200 ( $\Delta$ ) $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .....	144
Figure IV.7 : Vitesse liquide débitante $\langle U \rangle$ en fonction du débit d'air ( $Q_g$ ) (Configuration : Distributeur central, FV4). .....	148
Figure IV.8 : Croissance cellulaire ( $\text{Ln } X$ ) d'une culture en mode batch de t-Iso au sein de la maquette d'étude. Configuration : distributeur tangentiel ( $\circ$ ), membranaire ( $\diamond$ ), central ( $\Delta$ ) ; FV4, 0,74 Nl.min <sup>-1</sup> .....	148
Figure IV.9 : Variation de la productivité à l'équilibre en fonction du débit d'air appliqué. Configuration : distributeur tangentiel, FV4, taux de renouvellement de 0,36 j <sup>-1</sup> , irradiance de 80 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , milieu Conway : $C^*_1$ .....	150
Figure IV.10 : Illustration du gonflement des distributeurs membranaires sous l'effet d'un débit de gaz croissant (Loubière 2002) (a). Orifice de membrane en forme de fente (bille	

---

de verre de 300 $\mu\text{m}$ de diamètre), (Loubière 2002) (b). Mise en place de l'injection membranaire au sein de la maquette d'étude (c). .....	154
Figure IV.11 : Illustration de l'encrassement de l'évent du tube ascendant sous l'effet de l'éclatement des bulles (proches de 1 mm de diamètre) générées par l'injection membranaire. ....	154
Figure IV.12 : Panache de bulles généré au niveau du distributeur sous l'effet de l'écoulement tourbillonnaire. ....	156
Figure IV.13 : Temps de circulation ( $t_c$ ) en fonction du débit d'air injecté ( $Q_g$ ) et du type de distributeur d'air (TAN, MBR). ....	156
Figure IV.14 : Vitesse débitante $\langle U \rangle$ en fonction du débit d'air ( $Q_g$ ) (configuration : FV4, distributeurs : tangentielle ( $\square$ , conductimétrie), central ( $\circ$ , PIV), membranaire ( $\Delta$ , conductimétrie), central $x = 500$ mm ( $\diamond$ , PIV)). ....	158
Figure IV.15 : Vitesse débitante $\langle U \rangle$ en fonction du débit d'air $Q_g$ pour les configurations testées : FV1 (conductimétrie), FV2 (PIV), FV4 (PIV et conductimétrie) et FV9 (PIV et conductimétrie) en distributeur tangentiel ( $\square$ ) et membranaire ( $\Delta$ ). ....	158
Figure IV.16 : Exemples de profils radiaux (selon le rayon $r$ du tube) des composantes axiale ( $U$ ) (a) et ( $W$ ) tangentielle (b) aux positions axiales $x = 150$ mm ( $\square$ ) et 850 mm ( $\diamond$ ). Configuration : Distributeur tangentiel, FV4, débit d'air de $1,6 \text{ NL}\cdot\text{min}^{-1}$ . ....	160
Figure IV.17 : Composantes axiale $\langle U \rangle$ (symboles noirs) et tangentielle $\langle W \rangle$ (symboles gris) de vitesse moyennées sur la section du tube en fonction de la position axiale ( $x$ ) du tube pour les facteurs de vitesse FV4 ( $\square$ ) et FV9 ( $\Delta$ ) (configuration : distributeur tangentiel, $0,74 \text{ NL}\cdot\text{min}^{-1}$ ). ....	162
Figure IV.18 : Profils radiaux (selon le rayon $r$ du tube) de la composante axiale ( $U$ ) pour différents débits d'air $Q_g$ : 0,12 ( $\bullet$ ) ; 0,24 ( $\circ$ ) ; 0,36 ( $\blacklozenge$ ) ; 0,49 ( $\diamond$ ) ; 0,60 ( $\blacksquare$ ) ; 0,74 ( $\square$ ) $\text{NL}\cdot\text{min}^{-1}$ . (configuration : distributeur tangentiel, FV2, $x = 850$ mm). ....	162
Figure IV.19 : Profils radiaux (selon le rayon $r$ du tube) de la composante tangentielle ( $W$ ) pour deux débits d'air $Q_g$ : 0,74 ( $\square$ ) et 1,6 ( $\circ$ ) $\text{NL}\cdot\text{min}^{-1}$ . Configuration : distributeur	

---

tangentielle, FV4 (a) et FV9 (b), pour $x = 50$ mm (figures de gauche) et $x = 850$ mm (figures de droite).....	1
Figure IV.20 : Intensité tourbillonnaire ( $S_n$ ) en fonction de la position axiale $x$ (Configurations : $Q_g = 0,7$ et $1,6$ $\text{NL}\cdot\text{min}^{-1}$ , FV4 et FV9, distributeurs membranaire et tangentielle).....	198
Figure IV.21 : Variation du coefficient de transfert gaz-liquide $k_{L,a}$ ( $\text{min}^{-1}$ ) en fonction de débit d'air ( $Q_g$ ) dans le cas où la phase liquide est l'eau douce (a), l'eau de mer (b) et le milieu de culture (c). Les mesures expérimentales de $k_{L,a}$ sont réalisées à $25^\circ\text{C}$ sous 1 atm. Configurations : FV4-TAN ( $\blacklozenge$ ), FV9-TAN ( $\blacktriangle$ ), FV1-TAN ( $\bullet$ ), FV4-MBR ( $\diamond$ ), FV9-MBR ( $\Delta$ ), et FV1-MBR ( $\circ$ ). .....	202
Figure IV.22 : Evolution du coefficient volumique de transfert gaz-liquide ( $k_{L,a}$ ) en fonction de la vitesse d'injection ( $U_g$ ) de l'air dans le cas où la phase liquide est le milieu de culture.....	204
Figure IV.23 : Culture continu de t-Iso en mode chemostat (essai 1 ( $\Delta$ ), essai 2 ( $\circ$ ) et essai 3 ( $\diamond$ ) pour les facteurs de vitesse FV1 (a) et FV4 (b). Conditions opératoires : milieu de Conway C* <sub>3</sub> , distributeur d'air tangentielle, débit d'air $1,4$ $\text{NL}\cdot\text{min}^{-1}$ , Irradiance de $250$ - $260$ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95%. .....	212
Figure IV.24 : Prédiction des profils radiaux (selon le rayon $r$ du tube) de la composante axiale ( $U$ ) de vitesse en écoulement purement axial turbulent au sein de la maquette d'étude (FV1, distributeur d'air tangentielle). .....	216
Figure IV.25 : Photographies de l'encrassement des tubes descendants dans les maquettes d'étude après vidange du réacteur : vues externe (a) et interne (b) prises à une position axiale comprise entre $0 < x < 100$ mm. Les photographies à gauche correspondent au facteur de vitesse FV1 (écoulement axial) et à droite au FV4 (écoulement tourbillonnaire). Les conditions opératoires associées aux cultures sont un distributeur d'air tangentielle et un débit d'air de $1,4$ $\text{NL}\cdot\text{min}^{-1}$ .....	218
Figure IV.26 : Photographies de biofilm sur les tubes descendants des maquettes d'étude dans le cas de FV1 (gauche) et de FV4 (droite), prises à une position axiale comprise	

---

entre $0 < x < 100$ mm. Configurations : distributeur tangentiel, débit d'air de $1,4 \text{ Nl.min}^{-1}$ . .....	218
Figure 0.1 : Châssis en U du photobioréacteur pilote (a) et assemblage des tubes (b, c). .....	254
Figure 0.2 : Répartition des injecteurs d'air (a) ; détail d'un injecteur (b) ; tubulure passant par l'axe de rotation du photobioréacteur (c, d). ....	254
Figure 0.3 : Bride d'injection composée de deux parties supérieure et inférieure, fixées à l'aide de sauterelles (a, b) et équipés d'un détrompeur (c). ....	256
Figure 0.4 : Système d'éclairage (a, b) rassemblant les tubes fluorescents par quatre (c). .....	256
Figure 0.5 : Régulateur pH et de température.....	258
Figure 0.6 : Cuve de vidange .....	258



---

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau II.1 : Espèces cultivées et concentrations atteintes dans le photobioréacteur du groupe Cell Pharm Bioactive Product (2004). .....	52
Tableau II.2 : Liste des microalgues à vocation aquacole (Coutteau et Sorgeloos 1992). Cette enquête mondiale a été réalisée sur 43 écloséries de mollusques réparties en Amérique, en Océanie et en Europe (excluant la France et la Chine). .....	58
Tableau II.3 : Espèces de microalgues communément utilisées pour le nourrissage de mollusques, de crustacés et de rotifères (Borowitzka 1997). .....	58
Tableau II.4 : Espèces aquacoles utilisées en éclosérie française et proportions de microalgues utilisées par les écloséries visitées (concentrations non communiquées). ...	72
Tableau II.5 : Besoins journaliers en flagellés et diatomées estimés à partir des données collectées dans les écloséries visitées (excluant <i>Skeletonema marinoi</i> ). .....	75
Tableau II.6 : Besoins quotidiens en t-Iso des écloséries visitées. ....	76
Tableau III.1 : Dimension de l'extrémité des facteurs de vitesse FV1, FV2, FV4 et FV9. ....	90
Tableau III.2 : Concentration pigmentaire de t-Iso (culture CSIRO N° CS-177), déterminée par HPLC (Green et Leadbeater 1994) et classé selon Jeffrey et Wright (1994) en pigments photosynthétiques et photoprotecteurs. ....	110
Tableau III.3 : Pourcentages massiques en pigments utilisés pour calculer les propriétés optiques de la microalgue t-Iso. ....	112
Tableau IV.1 : Prédiction du volume de photobioréacteur nécessaire à un besoin journalier de $1,15 \cdot 10^{12}$ cellules selon le rayon du tube et pour deux flux de lumière incidents. ....	144
Tableau IV.2 : Vitesse débitante obtenue pour chaque type d'injecteur d'air, pour un débit d'air fixé ( $Q_g = 0,74 \text{ Nl} \cdot \text{min}^{-1}$ ). .....	159

Tableau IV.3 : Constantes a et b associées à la loi de décroissance de l'intensité tourbillonnaire ( $S_n$ ) et nombres de Reynolds associés (Re) (Configurations : FV4/FV9, distributeur TAN/MBR).....	200
Tableau IV.4 : Coefficients $\alpha$ et $\beta$ caractérisant l'évolution du $k_L a$ ( $\text{min}^{-1}$ ) en fonction de la vitesse superficielle du gaz ( $\text{m.s}^{-1}$ ) dans le cas où la phase liquide est le milieu de culture .....	206
Tableau IV.5 : Productivité et variance $\sigma$ associée ( $\text{cell.l}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) en configurations FV1 et FV4 (Distributeur tangentiel, $1,4 \text{ Nl.min}^{-1}$ ). .....	214

---

---

CONFIDENTIEL



## INTRODUCTION

La conchyliculture française concerne essentiellement l'ostréiculture et la mytiliculture qui représente un secteur économique dynamique. Débutées au 17<sup>ème</sup> siècle au Japon, les cultures d'huître se sont rapidement développées durant les soixante dernières années, principalement en Asie (Chine, Corée, Philippines) pour gagner ensuite l'Europe (Italie, France) et l'Amérique (Mexique, USA, Canada) (Barnabé 1990).

Très tôt, l'accès à cette ressource naturelle fait l'objet de toutes les attentions en France: des bancs artificiels sont créés en Baie de Saint-Brieuc et des concessions apparaissent dès 1860. Jusqu'au 17<sup>ème</sup> siècle, les huîtres sont considérées comme une ressource inépuisable ; c'est seulement à partir de la seconde moitié du 18<sup>ème</sup> siècle que des réglementations sont mises en place pour limiter leur exploitation : interdiction totale de pêche, limitation des moyens ou dans le temps. Ces règlements réduisent certes la disparition des huîtres, mais ne permettent pas aux bancs naturels de se reconstituer durablement. Au 19<sup>ème</sup> siècle, la situation devient véritablement préoccupante en plein essor du commerce de l'huître (grâce notamment au développement du chemin de fer). Pour préserver cette ressource naturelle un contrôle de bout en bout du cycle d'élevage de l'huître, notamment de son captage a été mis en place (OSTREA [www.ostrea.org/biblio.html](http://www.ostrea.org/biblio.html)).

L'ostréiculture est une activité économique toujours en expansion. Selon la « Food and Agriculture Organization » (FAO), la production mondiale d'huîtres en 2004 est estimée à 4,33 millions de tonnes. Aux trois premiers rangs des productions ostréicoles mondiales se trouvent les pays d'Asie avec la Chine (3 750 000 t), le Japon (234 000 t) et la Corée du Sud (239 000 t). Suivent ensuite aux 4<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> rangs la France (115 500 t) et les États-Unis (100 000 t).

De nos jours, l'activité ostréicole française est regroupée autour de sept grands bassins : Haute et Basse Normandie (Mer du Nord), Bretagne Nord (Mont Saint Michel à la Rade

de Brest), Bretagne Sud (Golfe du Morbihan, Rivière du Belo, Baie de Quiberon), Région Centre Ouest (Pays de Loire, Loire Atlantique, Vendée, Nord Charente), Marennes Oléron (Poitou-Charente, Sud Charente), Arcachon (Aquitaine), et Méditerranée (Étang de Thau, Étang de Leucate). Elle est essentiellement axée sur l'huître creuse du pacifique (*Crassostrea gigas*), l'huître plate (*Ostrea edulis*) restant actuellement marginale (à peine un pour cent de la production d'huîtres creuses). La production moyenne française d'huîtres avoisine 114000 t *Crassostrea gigas* (creuse) et 1500 t *Ostrea edulis* (plates) sur 184000 tonnes de coquillages toutes espèces confondues (*Mytilus sp.*, *Cerastoderma edulis* et *Ruditapes sp.*) (Food and Agriculture Organization 2004).

La conchyliculture a commencé à se moderniser avec les travaux de Hudinaga à partir de 1934 : cela s'est traduit notamment par la maîtrise de l'élevage des huîtres du stade larvaire aux géniteurs. Ces travaux constituent la base des techniques utilisées dans les écloseries et nurseries actuelles (Hudinaga 1942). Aujourd'hui, le procédé d'élevage des huîtres reste foncièrement le même qu'en milieu sauvage. Mis à part une étape essentielle la reproduction contrôlée, il se déroule selon les trois étapes suivantes : le captage, le grossissement du naissain et l'affinage.

Dans le milieu naturel, à la période des pontes, quelques jours après la fécondation, les larves d'huîtres dérivent avec les courants et vont, au moment de la métamorphose, se fixer sur un substrat solide pour continuer leur croissance. C'est à ce moment que des collecteurs (tuiles, ardoises, tubes, coquilles St Jacques...) sont immergés dans le milieu pour récupérer le naissain : il s'agit alors de captage dit naturel. Le naissain, une fois collecté, va grossir pendant environ neuf mois, jusqu'à atteindre une taille minimum (2 à 4 cm) où l'huître pourra être mise en poche et travaillée sur une période d'environ trois ans avant d'être commercialisée.

Parmi les différents stades de la production, les ostréiculteurs s'accordent à dire que la phase de captage demeure la plus aléatoire. En effet, d'une année sur l'autre, le recrutement en milieu naturel s'avère très variable. Cette irrégularité de captage est défavorable au développement de l'activité conchylicole et va parfois de paire avec un taux important de pertes du jeune naissain. La survie des larves et leur abondance dans le milieu naturel dépendent de divers facteurs liés à la reproduction des huîtres: (i) l'effort

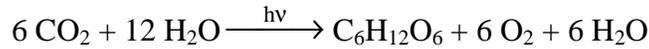
---

de reproduction des géniteurs, lui-même conditionné par la richesse phytoplanctonique des eaux ; (ii) la survie des cohortes qui dépend essentiellement de la température de l'eau et de l'abondance nanoplanctonique, ainsi que des conditions de dispersion des larves ; (iii) les niveaux de concentration en molécules organiques et inorganiques susceptibles d'influencer le captage, tels que les contaminants et les herbicides (Auby *et al.* 2004). Dans ces conditions, la production du naissain et la vitesse de croissance initiale des coquillages sont donc totalement dépendantes des conditions environnementales, ce qui est d'autant plus préjudiciable aujourd'hui que la qualité des eaux littorales est fortement contrainte par les diverses activités humaines.

Pour pallier ces risques, la filière des écloseries propose aux ostréiculteurs une alternative au captage naturel : elle est basée sur un contrôle du début de cycle par production en milieu fermé, garantissant ainsi un approvisionnement régulier et une qualité constante de naissain d'une année sur l'autre. En outre, elle offre la possibilité unique de fournir aux ostréiculteurs un produit spécifique : les huîtres triploïdes. L'intérêt principal de ces huîtres, commercialisées sous le nom « d'huîtres des quatre saisons », est qu'elles produisent peu ou pas de laitance du fait de leur stérilité et que leur croissance est rapide. Ces huîtres sont issues de croisement entre mâles tétraploïdes et femelles diploïdes.

Ainsi, pour assouvir la demande du marché en naissain, les écloseries se doivent de maîtriser la production phytoplanctonique et le coût associé. A noter que d'autres alternatives ont été explorées afin de développer une nourriture moins coûteuse pouvant convenir aux larves d'huîtres. Elles consistaient en une alimentation utilisant des substituts riches en protéines ou lipides, des bactéries, des levures, des thraustochytrides, des microalgues séchées ou de la pâte d'algues (les concentrés d'algues pouvant être congelés) (Ponis *et al.* 2003). Malgré une certaine réussite des concentrés de microalgues réfrigérés sur quelques espèces de coquillages, les régimes de microalgues vivantes demeurent performants chez *C. gigas* (Ponis *et al.* 2003; Robert *et al.* 2004).

Les microalgues autotrophes sont capables, par photosynthèse, d'élaborer leur propre substance organique à partir des minéraux et des éléments simples présents dans leur milieu comme le dioxyde de carbone, en utilisant comme seule source d'énergie la lumière :



En cultures en mode batch (fermé), les microalgues ont des temps de doublement de l'ordre de 24 h et respectent les quatre phases de développement des micro-organismes (bactéries, levures) : la phase de latence (adaptation aux conditions), la phase de croissance exponentielle (multiplication optimale des cellules), la phase stationnaire (arrêt de la croissance) et la phase de sénescence (mort de la culture).

Miquel (1893) pose les premières bases des cultures pures de microalgues en « batch ». La mise au point du milieu de culture (Allen et Nelson 1910) donne accès à des procédés reproductibles (Toonen 1997) basés sur l'inoculation du milieu de culture (eau de mer filtrée, stérilisée et enrichie en nutriments) par la microalgue désirée.

Les microalgues aquacoles (ou microalgues « fourrage ») sont achetées par les écloséries auprès de banques de microalgues. Les souches mères fournies sont entretenues par repiquages successifs tous les 15 jours, et une partie de ces repiquages est utilisée pour inoculer de grands volumes de milieux stérilisés. Les microalgues sont récoltées à la fin de la phase de croissance exponentielle, avant la phase de sénescence, pour être distribuées avec le milieu de culture aux larves d'huître.

Actuellement, la production de phytoplancton est réalisée en éclosérie dans des enceintes ou systèmes fermés de type scobalits ou gaines selon la technique des volumes croissants (ou batch). Les résultats sont certes globalement satisfaisants, mais les conditions de culture des microalgues et les concentrations algales ne sont ni optimisées ni contrôlées : mauvaise exploitation de l'irradiance fournie par éclairage artificiel (géométrie non optimale des bassins et cuves employés), température et pH mal maîtrisés. De plus la production phytoplanctonique en batch a un coût d'autant plus important qu'elle ne peut être facilement automatisée, la rendant ainsi consommatrice de temps et de main d'œuvre. D'après Coutteau et Sorgeloos (1992), elle représente environ 30% du coût de revient du naissain d'éclosérie.

Au regard des pratiques actuelles des écloséries et des avancées scientifiques en contrôle de cultures, la mise au point d'un procédé utilisant un photobioréacteur en

fonctionnement continu permettrait incontestablement d'optimiser les productions phytoplanctoniques en éclosérie.

Cette technique, désormais maîtrisée à l'échelle du laboratoire, est novatrice pour le secteur aquacole. Les principaux avantages attendus sont, d'une part, une réduction sensible des besoins en main d'œuvre, et, d'autre part, un contrôle et une stabilité quantitative et qualitative des cultures de microalgues (tant sur le plan microbiologique que biochimique).

Un tel contexte a motivé le lancement de recherches sur la conception et l'étude d'un nouveau photobioréacteur dédié au secteur aquacole. La particularité de ce projet réside dans un partenariat multi compétences associant :

- la société JOUIN SOLUTIONS PLASTIQUES (JSP), au regard de sa compétence sur la mise en œuvre des matériaux plastiques,
- le laboratoire GEPEA (GÉNIE des Procédés Environnement Agroalimentaire), UMR CNRS 6144 de l'Université de Nantes, au regard de leurs compétences en Génie des Procédés et en ingénierie des photobioréacteurs,
- le Laboratoire Physiologie et Biotechnologies des Algues (LPBA) d'IFREMER Nantes et le Laboratoire de Physiologie des Invertébrés (LPI) d'IFREMER Brest, pour leurs compétences respectives en physiologie des microalgues et des mollusques et leur connaissance du secteur aquacole.

Ce travail a également été mené en partenariat avec l'éclosérie VENDEE NAISSAIN consultée en tant que premier utilisateur du produit, et avec le soutien de la Région Pays de la Loire au travers du Syndicat Mixte pour le Développement Aquacole en Pays de la Loire (SMIDAP).

En conséquence, l'objet de cette présente thèse CIFRE est, d'une part, de définir les spécifications d'un système de production en continu de microalgues aquacoles, en s'appuyant sur une double expertise, académique (laboratoires de recherche CNRS et IFREMER) et industrielle (JSP et écloséries), et, d'autre part, de concevoir et d'étudier un photobioréacteur pilote en vue du dimensionnement d'un prototype répondant à la

réalité économique des écloséries, notamment en termes d'investissement, de rendement, de qualité de la biomasse produite et de facilité d'emploi.

A cet effet, la première partie de ce mémoire sera consacrée à un état de l'art sur les différents types de photobioréacteurs et sur la biologie des microalgues aquacoles potentiellement candidates pour la présente étude. Les objectifs de la thèse seront ensuite précisés, en s'appuyant, d'une part, sur l'état des connaissances précédemment dressé, et, d'autre part, sur les résultats d'une enquête conduite auprès des responsables des écloséries dans le but de mieux cerner les contraintes technico-économiques associées.

La deuxième partie de ce mémoire s'attachera à décrire le matériel utilisé (tout particulièrement la maquette d'étude), ainsi que les différentes méthodes et techniques expérimentales ou de modélisation utilisées.

L'ensemble des résultats sera décrit dans la troisième partie qui s'articule autour des trois grands axes suivants : (I) étude des transferts radiatifs et prédiction de la productivité, (II) études hydrodynamiques et choix des configurations les plus adaptées (facteur de vitesse, type de distributeur d'air et débit), (III) études biologiques et quantification expérimentale des performances de la maquette (productivité, gain engendré par le mouvement tourbillonnaire).

---

---

CONFIDENTIEL



## **PARTIE II ETAT DE L'ART ET OBJECTIFS DE L'ETUDE**

L'objectif de ce chapitre est de dresser un état de l'art non exhaustif sur les technologies de photobioréacteurs et sur les microalgues aquacoles.

La première partie traite de la problématique de conception des photobioréacteurs.

La seconde partie s'attache à présenter les photobioréacteurs existants (différentes géométries, principales caractéristiques), à décrire les divers types de systèmes d'agitation (homogénéisation du milieu de culture) et d'optimisation des photobioréacteurs, pour en final faire l'examen des applications associées aux photobioréacteurs commercialisés.

La troisième partie rappelle quelques généralités sur les microalgues et précise leur utilisation en éclosérie. Des données d'écophysiologie de l'une des espèces phytoplanctoniques fréquemment utilisée lors du nourrissage du premier stade de croissance larvaire des huîtres sont également rapportées.

La dernière partie est consacrée aux choix des éléments de conception de la maquette élaborée à partir d'une enquête menée auprès des responsables des écloséries, les futurs utilisateurs du photobioréacteur aquacole. Elle permet de déterminer les contraintes à intégrer à la conception pour dresser le cahier des charges des principaux critères à satisfaire et pour définir plus précisément les travaux expérimentaux à privilégier au cours de cette thèse.



---

## ***Chapitre I GENERALITES SUR LES PHOTOBIOREACTEURS***

### ***1.1 Qu'est ce qu'un photobioréacteur ?***

Un photobioréacteur est défini comme un système clos à l'intérieur duquel se déroulent, en présence d'énergie lumineuse, des interactions biologiques que l'on cherche à contrôler en maîtrisant les conditions de culture. En son sein, une réaction biochimique de photosynthèse a lieu dans le but de produire de la biomasse végétale à partir de microalgues, de CO<sub>2</sub> et de lumière.

La notion de photobioréacteur date déjà de quelques décennies. Les premiers systèmes clos sont apparus à la fin des années 40, mais faute de moyens techniques leur développement a été interrompu et les cultures ont continué à être réalisées en bassins rudimentaires. Dans les années 80, les recherches ont repris activement et de nombreux photobioréacteurs ont été réalisés et expérimentés avec des formes géométriques diverses.

### ***1.2 Conception et problématique générale***

Le principe du fonctionnement des photobioréacteurs est le suivant : au sein d'une enceinte confinée, le bioréacteur, des microorganismes photosynthétiques sont cultivés, dans des conditions contrôlées, à l'aide des substrats nécessaires à leur croissance et d'un apport d'énergie lumineuse. Les interactions biologiques ayant lieu en milieu fermé, il est indispensable de maîtriser les conditions de cultures appliquées dans le photobioréacteur. Il faut en particulier gérer l'accès au nutriments et le processus d'homogénéisation du milieu, et effectuer un suivi de la température et du pH.

Les utilisations des photobioréacteurs sont variées (Cf. paragraphe II.1) et dans le cas présent ils sont restreints uniquement à la production de biomasse en système clos.

#### ***1.2.1 La lumière et le photobioréacteur***

La particularité d'un photobioréacteur tient, en plus des besoins habituels communs à tous les bioréacteurs, à la nécessité de fournir une énergie photonique aux microorganismes à cultiver (ici les microalgues), cet apport étant incontournable pour la réalisation de la photosynthèse.

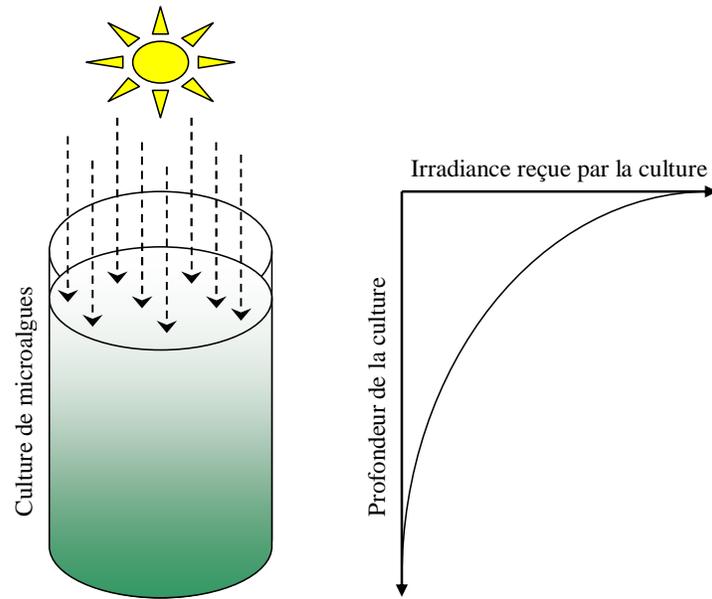


Figure II.1 : Représentation schématique de l'atténuation de la lumière en fonction de l'épaisseur de culture de microalgues.

D'un point de vue technologique, l'enceinte du système doit donc être transparente et être conçue de façon à fournir une intensité lumineuse suffisante, mais non létale, pour les microalgues.

**La notion d'irradiance disponible**

La croissance des microorganismes (microalgues), et donc la production de biomasse, dépend de la quantité de lumière reçue par chaque microalgue.

Deux facteurs sont à distinguer :

- d'une part, la quantité et la qualité de la lumière émise par le dispositif d'éclairage (intensité, spectre d'émission des sources lumineuses et nombre de ces sources).
- d'autre part, la quantité et la qualité de la lumière réellement disponible pour les microalgues au sein du photobioréacteur : celle-ci étant différente du flux lumineux incident du fait des pertes par absorption et diffusion qui ont lieu en traversant la culture et les parois du réacteur.

L'irradiance réellement disponible pour la culture est fonction de la concentration cellulaire. Globalement, celle-ci est atténuée de façon exponentielle en fonction de la profondeur de culture. Ce phénomène dit d'auto-ombrage (absorption et diffusion de la lumière par les microalgues) raréfie le rayonnement lumineux et rend hétérogène la distribution en énergie photonique au sein du procédé (Figure II.1).

La distribution hétérogène de l'irradiance selon l'épaisseur de la culture conduit à des cinétiques locales de croissance :

- en surface, du fait d'une intensité lumineuse trop forte, une zone de photoinhibition peut apparaître et entraîner la dégradation des photosystèmes I et II (PSI et PSII) des antennes collectrices de la chlorophylle a et l'apparition de pigments accessoires,
- en profondeur, des effets d'auto-ombrage peuvent conduire à une photoalimentation avec un manque d'énergie ou même à un basculement vers un mécanisme respiratoire (Figure II.1).

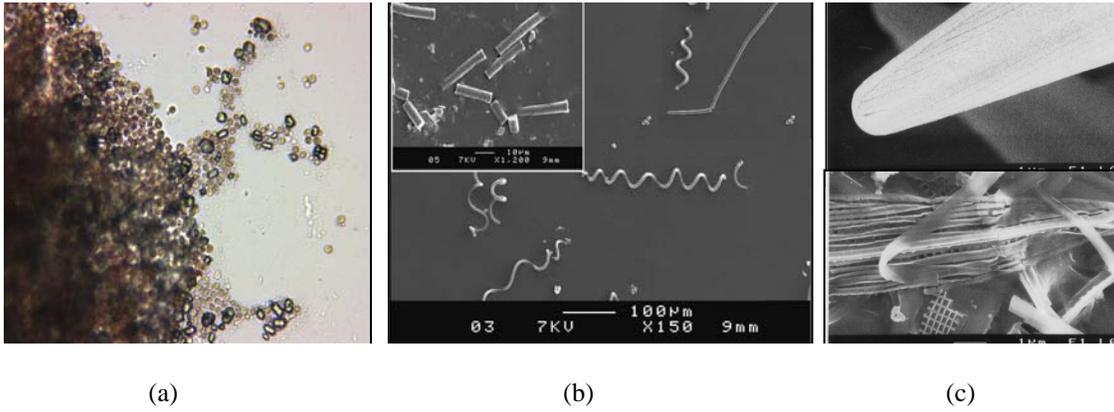


Figure II.2 : Photos de gauche à droite : a) Agglomération de cellules de *Porphyridium purpureum* (Cliché Ifremer, LPBA, J. Pruvost). b) Segmentation de cellules de Spiruline (Cliché GEPEA. N. Rossi). c) Effets du passage dans une pompe chez *Haslea ostrearia* (Cliché LBM-Isomer. J.Robert, P.Jaouen).

---

Concevoir un photobioréacteur suppose donc une réflexion poussée sur les conditions d'accès à la lumière.

### *1.2.2 L'hydrodynamique au sein des photobioréacteurs*

L'homogénéisation de la culture est importante pour que les diverses réactions se déroulant au sein du photobioréacteur aient lieu. Des systèmes d'agitation et d'aération du milieu (Cf. paragraphe II.3) sont à mettre en place pour favoriser le mélange. Cependant cela entraîne des effets antagonistes car si ces systèmes améliorent les transferts, ils peuvent aussi fragiliser le matériel biologique.

Les différentes phases en présence au sein d'un photobioréacteur doivent être mélangées afin de favoriser l'accès à la lumière et les transferts liquide-liquide et gaz-liquide, de limiter la formation de zones de photolimitation et de photoinhibition (cinétiques locales de croissance) et d'éviter l'encrassement des parois (biofilm).

L'hydrodynamique (turbulence, bulles, cisaillement...) est un facteur potentiellement stressant pour la croissance des cellules. Elle peut perturber voire modifier l'état physiologique cellulaire au-delà d'un certain seuil et/ou une certaine fréquence. Cela peut se traduire par l'excrétion de polysaccharides (Figure II.2 a) (Morineau-Thomas *et al.* 2002), par l'altération physique de la cellule (Figure II.2 b), ou par la destruction cellulaire (Figure II.2 c) (Vandanjon *et al.* 1999). Il est à noter également que le bullage peut provoquer des perturbations de l'état physiologique des cellules et de la croissance (Sanchez Miron *et al.* 1999). Différents facteurs peuvent en être responsables : les forts cisaillements au niveau de l'injecteur de gaz, l'entraînement des cellules par flottation et l'éclatement des bulles à la surface (Sanchez Miron *et al.* 1999; Barbosa 2003).

En conséquence, un compromis hydrodynamique est à rechercher, pour assurer d'une part, un mélange suffisant, et, d'autre, part préserver l'intégrité cellulaire.

### **1.3 Conclusions pour la conception d'un photobioréacteur**

Le photobioréacteur à construire devra impérativement intégrer les contraintes classiques d'un bioréacteur fonctionnant en continu et surtout, celles liées à l'accès à la lumière. Destiné à une application aquacole et plus particulièrement à la production de

microalgues à destination des larves de mollusques, il sera nécessairement clos pour un contrôle de la microbiologie. Sa géométrie dépendra principalement du volume visé pour la culture et du type de microorganismes photosynthétiques (microalgues) à cultiver. Pour ces raisons, il n'existe pas une géométrie prédéfinie de photobioréacteur. Les types existants peuvent être classés en plusieurs catégories et seront détaillées dans les paragraphes suivants.



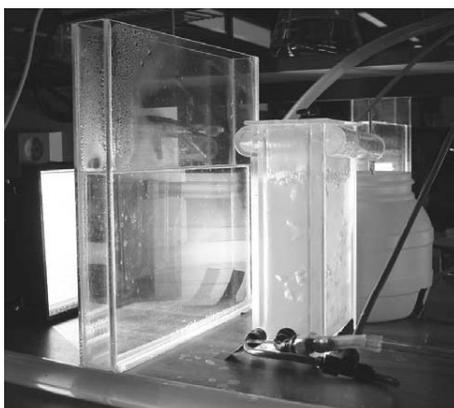


Figure II.3 : Géométrie du photobioréacteur plat (Bosma et Wijffels 2003).

## ***Chapitre II TECHNOLOGIES DE PHOTOBIOREACTEURS***

Ce chapitre présente différentes alternatives technologiques en vue d'optimiser la productivité des photobioréacteurs et leurs applications en fonction de la géométrie retenue, plane ou cylindrique. Dans un second temps, l'accent est porté sur les systèmes d'agitation utilisés en donnant les utilisations courantes en fonction du volume de culture et de la géométrie considérée.

### ***II.1 Les deux formes géométriques les plus courantes***

Abordons en premier la géométrie du photobioréacteur car c'est de ce critère que dépend principalement la problématique de l'accès à la lumière.

Au regard de la littérature, deux familles de photobioréacteurs se dégagent au point de vue géométrique : les photobioréacteurs plats (géométrie plane) et les photobioréacteurs tubulaires (géométrie cylindrique). Pour chacune de ces deux familles des variantes existent, liées à des besoins spécifiques.

Dans les paragraphes suivants, un bilan des principales caractéristiques de ces photobioréacteurs sera dressé : géométrie, dimensions, volumes, épaisseur de la culture, système d'éclairage et type de mise en circulation utilisé pour la culture.

#### ***II.1.1 Les photobioréacteurs plats***

Un photobioréacteur plat se compose de deux panneaux parallèles transparents pour laisser passer la lumière, de surfaces variables et entre lesquels réside une mince couche de culture d'une profondeur (épaisseur) de quelques centimètres (Figure II.3).

#### ***II.1.2 Les photobioréacteurs cylindriques***

Un photobioréacteur cylindrique se compose d'un ou plusieurs tubes transparents, de diamètres et longueurs variables, de configurations diverses et au sein desquels circule la culture.

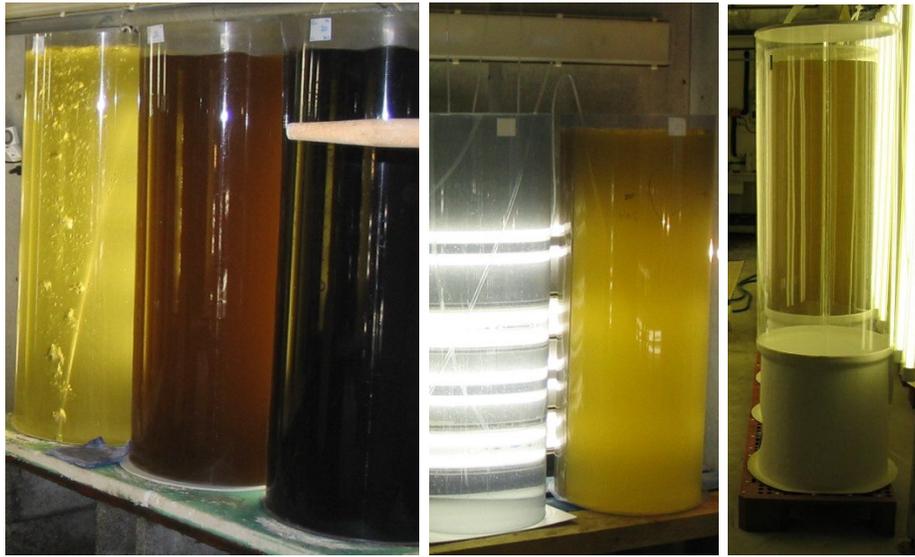


Figure II.4 : Photobioréacteurs de type colonne à bulles (Scobalit) utilisés classiquement en éclosion.

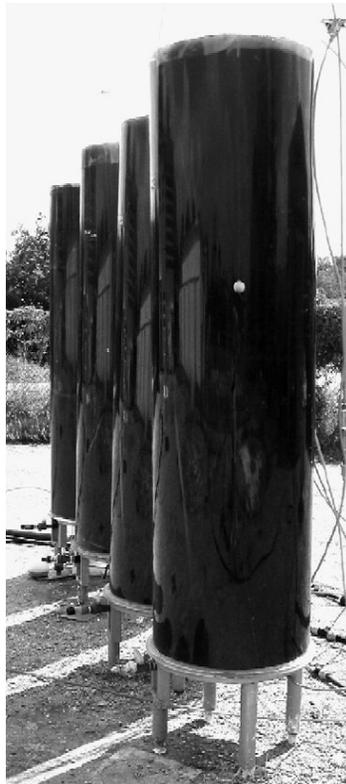


Figure II.5 : Photobioréacteurs annulaires verticaux (Zittelli *et al.* 2006).

Pour les photobioréacteurs cylindriques, les variantes de configuration sont multiples (Tredici 2004) :

- un tube large et vertical formant une colonne,
- deux tubes de diamètres différents agencés l'un dans l'autre formant une chambre annulaire,
- un tube placé au sol et de diamètre modéré mais de longueur importante agencé sous forme de serpentín,
- un tube de petit diamètre et de longueur importante enroulé hélicoïdalement autour d'une tour,
- plusieurs tubes de petit diamètre agencés parallèlement et à la verticale.

Les photobioréacteurs cylindriques sont largement répandus car leur conception est simple et facile à redimensionner vers des volumes importants de plusieurs centaines de litres (Tsygankov 2001), : ci-après, plusieurs de ces photobioréacteurs sont décrits et illustrés.

#### **Les photobioréacteurs de type colonne**

Le photobioréacteur cylindrique de type « scobalit » est un système classique qui est très répandu dans l'aquaculture française. Ce photobioréacteur se compose d'une colonne verticale, dont la dimension varie tant en hauteur qu'en diamètre.

En général, les dispositifs utilisés dans les écloseries font 2 m de haut pour environ 30-50 cm de diamètre (Figure II.4) et sont éclairés latéralement par des tubes fluorescents (Tredici 1999).

#### **Les photobioréacteurs de type annulaire**

Les photobioréacteurs annulaires sont des photobioréacteurs cylindriques agencés d'une manière particulière : ils sont fabriqués à partir de deux tubes de diamètres différents emboîtés l'un dans l'autre pour constituer ainsi un espace annulaire dans lequel circule la culture (Figure II.5).

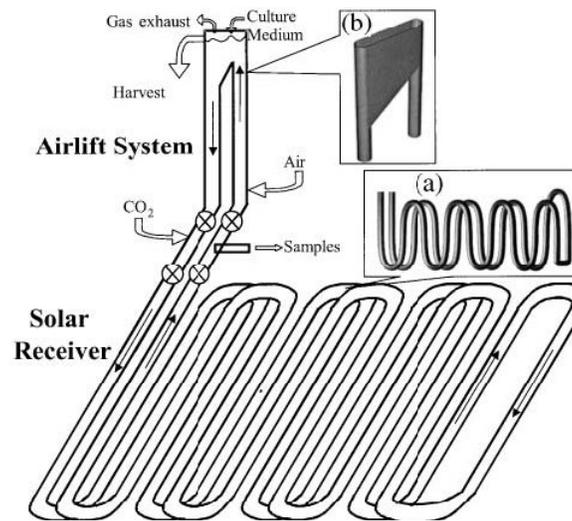


Figure II.6 : Détails du système de culture solaire à boucle (a) et la zone de dégazage (b) (Acien Fernandez *et al.* 2001).



Figure II.7 : Photobioréacteur « Biocoil » (Richmond 2000) inventé par Lee Robinson (brevet européen n° EP 0239272, 6 mars 1987).

La variante annulaire est intéressante du point de vue de la distribution de la lumière artificielle que l'on peut situer au centre du système de tubes. Cependant, ce type de géométrie est plutôt complexe et difficile à extrapoler car elle occupe une surface importante au sol pour un volume de culture restreint.

#### **Les photobioréacteurs tubulaires agencés horizontalement**

La configuration tubulaire se présente sous forme de boucles, ou serpentins, qui laissent passer la lumière entre les interstices des boucles (Figure II.6) (Acien Fernandez *et al.* 2001).

Dans les années 1980, Gudin et Chaumont, notamment, ont mis au point ce type de photobioréacteur en forme de serpentins au sol, dont la culture circule à l'aide d'une pompe et d'une zone airlift afin de limiter les dommages cellulaires (Gudin et Chaumont 1983; Tredici 1999). Par la suite des améliorations y ont été introduites avec un système de balles en plastique permettant un auto-nettoyage des parois des tubes rigides (Tredici 1999). L'ensemble de ce photobioréacteur est d'un coût prohibitif et nécessite une maintenance trop importante pour pouvoir être aisément commercialisé (Tredici 1999).

#### **Les photobioréacteurs tubulaires agencés verticalement**

Les photobioréacteurs tubulaires qui utilisent l'énergie solaire nécessitent de grandes surfaces au sol. Afin de restreindre cet encombrement, des photobioréacteurs à structure verticale ont été conçus : ils utilisent généralement des tubes de diamètre relativement faible (inférieur à 200 mm).

Le photobioréacteur « Biocoil » est un photobioréacteur tubulaire dont les tubes sont enroulés autour d'une structure verticale (Figure II.7), ce qui offre l'avantage de pouvoir utiliser une grande longueur de tube (donc un grand volume de culture) tout en occupant une surface réduite (Tredici et Zittelli 1998; Richmond 2000).

D'autres photobioréacteurs cylindriques utilisent des tubes connectés les uns aux autres par des tubulures (Cell Pharm Bioactive Product <http://home.bt-webworld.com/cellpharm/>; Tredici 1999; Pulz 2001).



Figure II.8 : Installation du photobioréacteur industriel de la société Photo Bioreactors Ltd. en Espagne (Tredici 1999).

Cette configuration reprend celle inventée par J. Pirt (brevet anglais n° 2.118.572, 1983), grâce aux investisseurs des sociétés Photo Bioreactors Ltd., créées en Grande Bretagne (1986) et en Espagne (1989) (Figure II.8). Ce photobioréacteur cylindrique est constitué de 50 tubes de polyéthylène, de 50 m de long et de 12 mm de diamètre. Il possède une longueur totale de 125 km ou de 200 km, la circulation de la culture y est réalisée par airlift (Tredici 1999).

Les longueurs de tubes sont au cœur de la problématique des photobioréacteurs tubulaires agencés horizontalement ou verticalement. Dans les photobioréacteurs tubulaires horizontaux, le flux doit être maintenu régulier et uniforme pour permettre une circulation homogène de la culture le long des tubes : il est directement dépendant de la longueur et du nombre des tubes disposés en parallèle (Tsygankov 2001).

Malgré un gain de place indéniable, ces structures verticales ou horizontales (de serpentins à plat ou enroulés) sont sujettes à des problèmes d'encrassement et de limitations en terme de transferts gazeux (Tredici et Zittelli 1998).

Contrairement aux photobioréacteurs de type colonne, les échanges gazeux sont moindres : l'évacuation de l'oxygène produit par la culture est souvent problématique et peut s'avérer limitant voire inhibant (Tsygankov 2001). L'accumulation d'oxygène dissous dans ces tubes horizontaux peut entraîner une inhibition de la croissance cellulaire et des dommages dus à la photooxydation (Montecino *et al.* 2001). D'après Tredici (2004), cette concentration en oxygène peut atteindre 8 à 10 mg.l<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup> dans des photobioréacteurs tubulaires de 1 cm de diamètre. Ce phénomène varie en fonction de l'intensité solaire (Montecino *et al.* 2001), mais il demeure aussi en lumière artificielle. La capacité de désorption de l'oxygène dissous est directement liée au coefficient volumique de transferts des gaz ( $k_{La}$ ) : il est très faible dans ce type de géométrie (Tredici 2004). Ainsi, les difficultés majeures rencontrées lors de l'utilisation de ces photobioréacteurs sont un mauvais mélange, une mauvaise distribution de la culture le long des tubes, un mauvais contrôle de la température, un encrassement des tubes et, en général, l'absence d'un système de pilotage approprié (Tredici 1999).

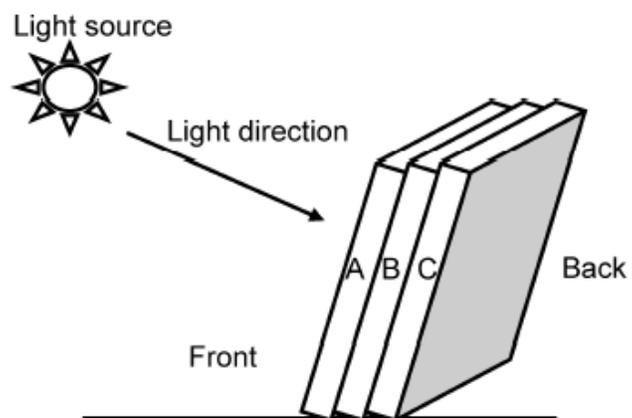


Figure II.9 : Configuration d'un photobioréacteur plat où les chambres de cultures A, B et C sont inclinées verticalement et où A forme un auto-ombrage des chambres B et C (Grobbelaar et Kurano 2003).



Figure II.10 : Photobioréacteur tubulaire pour la culture de *Spirulina spp.* en extérieur utilisant une surface réfléchissante (Tredici et Materassi 1992).

Un compromis sur la vitesse de circulation est à trouver pour éviter des dépôts sur les parois des tubes (Acien Fernandez *et al.* 2001) et pour optimiser le mélange et les transferts et échanges de CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> sur toute la longueur du système (Olaizola 2003).

Assez régulièrement, d'après Tredici (1999), les problèmes rencontrés lors de la conception des prototypes, (notamment celui de la société Photo Bioreactors Ltd. créé en 1991), n'ont pas été résolus avant le passage du pilote à un photobioréacteur à une échelle dix pour leur commercialisation (Figure II.8). Dans ce cas précis, ceci a entraîné la fermeture de la société avant même qu'elle puisse en débiter la production, puis l'abandon de ce photobioréacteur faute de repreneur (Sanchez Miron *et al.* 1999; Tredici 1999). D'autre part, sous le soleil, le matériel s'est rapidement dégradé (Tredici 1999).

## **II.2 Caractéristiques des principaux types de photobioréacteurs**

### *II.2.1 Eclairage*

L'éclairage des photobioréacteurs, en extérieur, peut simplement être naturel en utilisant la lumière solaire : les panneaux sont alors généralement installés horizontalement ou de façon inclinée pour améliorer l'utilisation de l'irradiance solaire (Figure II.9) (Grobbelaar et Kurano 2003).

Une variante consiste, pour certains photobioréacteurs cylindriques, à placer les photobioréacteurs sur des surfaces réfléchissantes (Figure II.10) afin d'accroître, par réflexion, l'incidence du rayonnement (Sanchez Miron *et al.* 1999).

D'autres moyens ont aussi été expérimentés, utilisant la lumière naturelle (Ogbonna *et al.* 1999; Suh et Lee 2003) aussi bien que celle artificielle au sein des photobioréacteurs plat (2002) ou cylindrique (Borowitzka 1996) : ils utilisent un harnais de fibres optiques (ou réseau de gaines transparentes) disposé au centre de la chambre du réacteur. Ce système de conduction lumineuse accentue la diffusion de la lumière au cœur du milieu de culture (Tsygankov 2001).

A l'intérieur, les photobioréacteurs peuvent être placés sous serre, mais souvent des sources lumineuses artificielles sont utilisées, telles que des tubes fluorescents (de type : « cool white » ou lumière du jour).



Figure II.11 : Photobioréacteurs plats : photobioréacteur de 500 L construit au laboratoire de l'Institut Jacob Blaustein pour le projet "Desert Research" (Richmond 2000).

---

Placés verticalement ou horizontalement, ils sont souvent agencés sous forme de murs de tubes horizontaux ou verticaux (Applied Photosynthetics Ltd. [www.campus-venture.co.uk/apl](http://www.campus-venture.co.uk/apl); Tredici 1999).

### II.2.2 Dimensions des photobioréacteurs

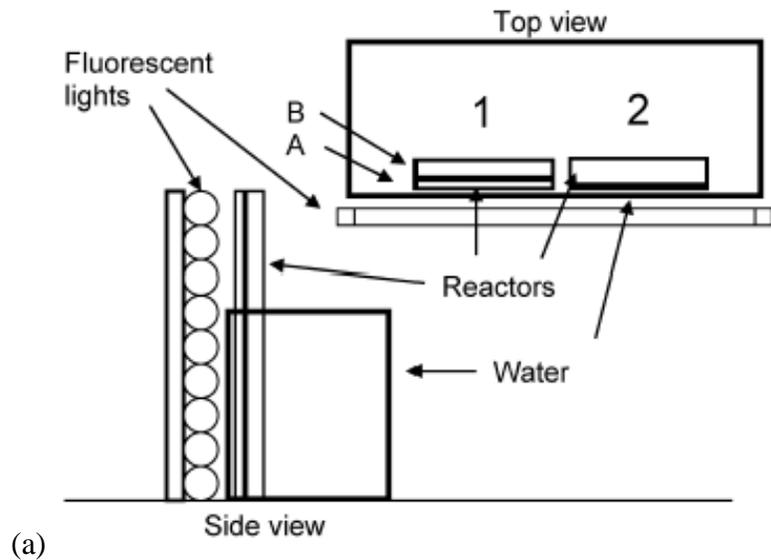
Les photobioréacteurs plats sont généralement des réacteurs de petits volumes pour un usage en laboratoire (Figure II.3) (Richmond et Cheng Wu 2001; Ogonna 2003).

Ces photobioréacteurs plats ont des dimensions variables car le nombre des panneaux qui les composent peut être démultiplié (Tredici 1999) comme celui de 500 L (Figure II.11) constitué de plusieurs unités. L'épaisseur de la culture, au sein de chacun des panneaux, peut varier de 1 cm à 17 cm (Ogonna 2003). Néanmoins, il est rare que la surface de chacun des panneaux excède un mètre carré (ex: photobioréacteur plat alvéolaire 100 x 170 cm de Zhang *et al.* (2001)) car au-delà la pression exercée par le milieu de culture peut courber les parois (contraintes mécaniques).

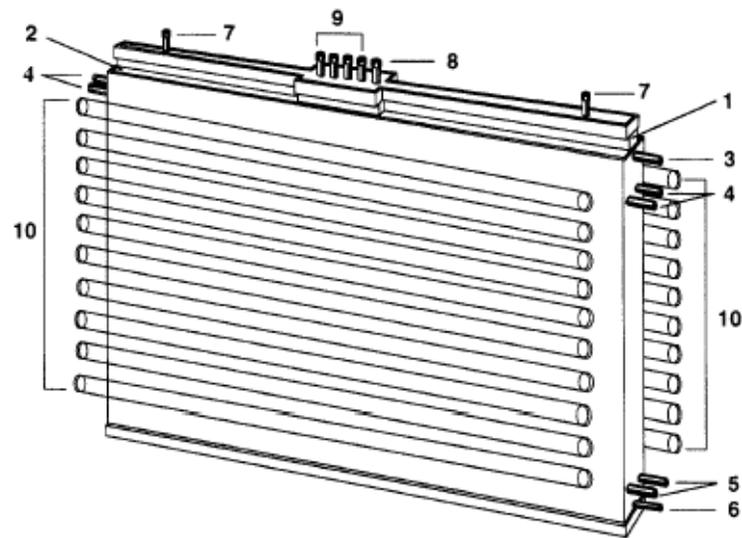
Les volumes importants peuvent être composés d'unités de culture rangées verticalement et connectées entre elles par un réseau de conduites équipé de pompes (Tredici et Materassi 1992). Par exemple, il existe un photobioréacteur plat composé de 42 unités, d'un volume de 6 m<sup>3</sup> compacté sur une surface de 100 m<sup>2</sup> (avec un rapport surface sur volume de 60 m<sup>-1</sup>) (Pulz et Scheibenbogen 1998), et dont les unités sont commercialisées par la société B. Braun Biotech Int. (Tredici 1999).

Les photobioréacteurs cylindriques d'étude utilisés en laboratoire ont un volume de l'ordre de quelques litres (Watanabe *et al.* 1995; Sahle Demessie *et al.* 2003) mais peuvent atteindre facilement quelques dizaines de litres (García Camacho *et al.* 2000; Sanchez Miron *et al.* 2000), voire des volumes plus importants.

En production industrielle (usages aquacole ou agroalimentaire), les photobioréacteurs cylindriques ont des volumes qui oscillent entre quelques centaines de litres, en intérieur (Applied Photosynthetics Ltd. [www.campus-venture.co.uk/apl](http://www.campus-venture.co.uk/apl)), et quelques milliers de litres en extérieur (Pulz 2001; Olaizola 2003). Selon Tzygankov (2001), pour obtenir des volumes importants, la connexion de plusieurs unités de photobioréacteurs cylindriques entre elles reste la méthode la plus efficace.



(a)



(b)

Figure II.12 : Système de régulation thermique: photobioréacteur plat à compartiments de culture et de circulation d'eau (a) et schéma d'un photobioréacteur plat équipé de: 1 chambre interne de culture; 2 chambre de régulation externe de température; 3 récolte; 4 entrée et 5 sortie d'eau de refroidissement; 6 port d'entrée des tubes d'air; 7 sortie d'air; 8 port de prélèvement; 9 ports des sondes pH, température, O<sub>2</sub> etc.; 10 mur de tubes fluorescents (b) (Hu *et al.* 1998b).

### *II.2.3 Régulation*

Tout comme en bioréacteur, un suivi et un contrôle de grandeurs caractérisant la croissance est nécessaire telles que le dégagement d'oxygène, la consommation de dioxyde de carbone, l'augmentation du pH...

Une régulation est mise en place afin d'assurer une optimisation des cultures. Le minimum requis pour un photobioréacteur industriel est le contrôle des conditions de culture à savoir le pH et la température. En laboratoire la régulation peut s'avérer plus poussée et des périphériques sont alors ajoutés pour permettre un suivi expérimental.

#### **Contrôle du pH**

Le réajustement et la régulation du pH de la culture sont majoritairement obtenus à l'aide de CO<sub>2</sub> distribué conjointement à de l'air ou bien séparément (Chisti et Moo-Young 2001; Ogbonna 2003), quel que soit le système d'agitation. A noter que l'aération et le mélange du milieu de culture en scobalits (photobioréacteur à colonne) s'effectuent par un bullage simple d'air enrichi entre 2 et 5% de CO<sub>2</sub>.

#### **Contrôle de la température**

Les moyens de contrôle et systèmes de régulation de la température des photobioréacteurs en extérieur comme en intérieur sont variés : ils peuvent être entourés d'une enveloppe d'eau froide placée à la base du procédé (Sanchez Miron *et al.* 2000) où la régulation thermique pour les photobioréacteurs plat est réalisée par une circulation d'eau dans des compartiments adjacents aux panneaux de la chambre de culture (Figure II.12) (Degen *et al.* 2001; Bosma et Wijffels 2003; Grobbelaar et Kurano 2003). Une variante de ce système est l'utilisation de tubes à écoulement d'eau placés au sein même de la culture (Hu *et al.* 1998b).

Plus particulièrement, à l'extérieur, des jets d'eau permettent le contrôle de la température par évaporation (Tredici 2004). La régulation thermique peut se faire également en immergeant le photobioréacteur dans un bassin rempli d'eau (Acien Fernandez *et al.* 2001), ou encore en aménageant autour de lui un système d'ombrage (Tredici 1999).

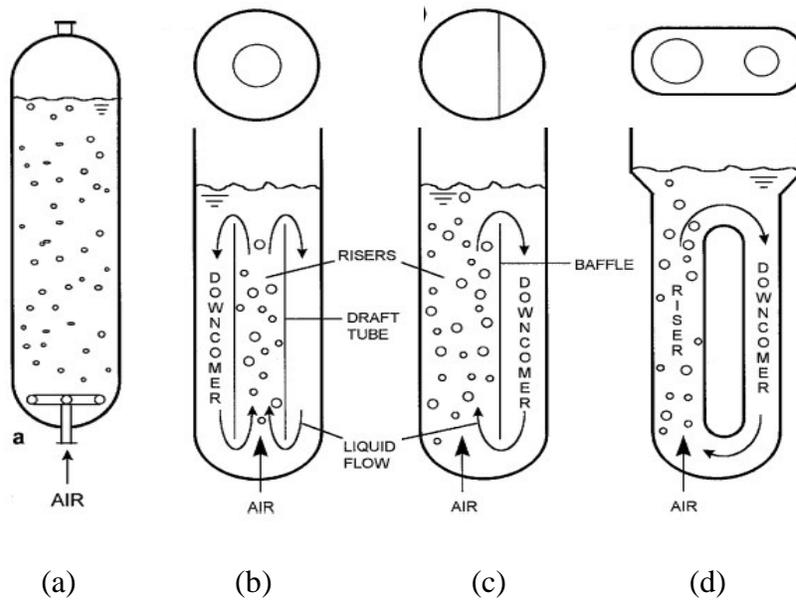


Figure II.13 : Schémas de colonne à bulle (a), de photobioréacteurs airlift à chambres annulaires (b) à paroi interne (c) et à boucle externe (d) (Chisti et Moo-Young 2001).

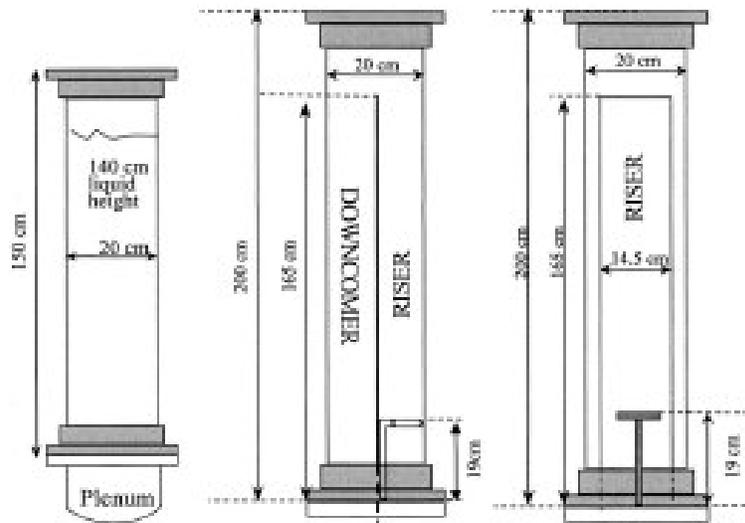


Figure II.14 : Configurations de types airlift (Luo et Al Dahhan 2004).

---

Quant à l'intérieur, les petits volumes sont généralement placés dans des pièces climatisées (Zittelli *et al.* 2000).

### **L'adjonction de systèmes périphériques**

Le suivi et la surveillance d'une production en continu, nécessitent des appareils périphériques afin d'assurer le contrôle des cultures. Ainsi, la synthèse de biomasse nécessitera la mise en place d'une alimentation contrôlée (par des pompes), régulière et suffisante des matières premières utilisées (substrats), et d'un soutirage des produits de transformation (biomasse).

## **II.3 Techniques d'agitation et de mise en circulation**

### *II.3.1 Description des systèmes d'agitation*

#### **Injection de gaz**

Le système le plus basique et le moins coûteux consiste à injecter du gaz sous forme de bulles en fond de réacteur appelé alors colonne à bulles (Figure II.13 a) : les mouvements complexes de la phase liquide sont simplement induits par la population de bulles.

Dans les systèmes de type airlift (Figure II.14), l'injection de gaz est réalisée seulement dans une zone localisée du réacteur, une zone de redescente du liquide étant spécialement prévue. La phase liquide est mise en mouvement naturellement, par différence de poids de colonnes d'eau entre les zones aérée et non aérée.

Différentes configurations de réacteurs airlifts existent (Figure II.13 b-d). Dans tous les cas, aucun système mécanique n'est mis en œuvre, ce qui confère une simplicité de concept et un gain énergétique.

Ces modes de fonctionnement permettent également de fortement aérer le milieu et ainsi de ne pas être limitant en terme de transferts gaz-liquide (apport du dioxyde de carbone et élimination de l'oxygène dissous).

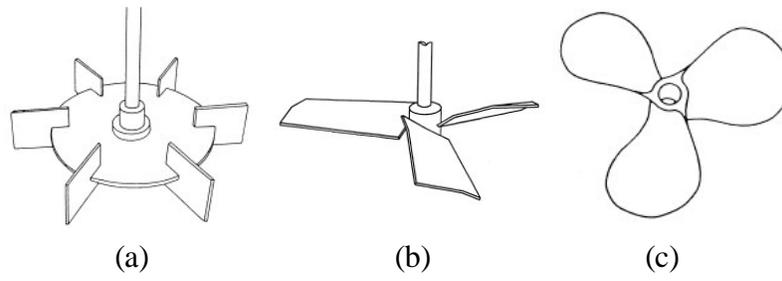


Figure II.15 : Différents mobiles d'agitation : (a) Turbine à disque Rushton, (b) hélice hydrofoil, (c) hélice marine (Chisti et Moo-Young 2001).

Enfin, un système d'évacuation des gaz doit être prévu (événements). A noter qu'au niveau de la zone d'échappement du gaz, l'éclatement des bulles en surface peut entraîner une zone de salissure où s'accumulent les cellules mortes propices aux développements bactériens.

### **Pompe**

Les pompes sont des dispositifs externes de mise en circulation largement répandus. Elles sont insérées dans le circuit d'alimentation du photobioréacteur, généralement sur les canalisations, et permettent de connecter les unités de photobioréacteurs entre elles.

Il est important de souligner que ces dispositifs peuvent avoir un effet néfaste sur les cellules, en particulier celles sensibles aux stress hydrodynamiques (Figure II.2) (Jaouen *et al.* 1999; Vandanjon *et al.* 1999).

### **Mobiles d'agitation**

Les mobiles d'agitation (hélice, turbine) sont des dispositifs technologiques internes d'agitation mis en rotation par des moteurs (Figure II.15). Quelle que soit leur forme, le diamètre des mobiles d'agitation correspond généralement à un tiers de celui du cylindre lorsqu'il s'agit de favoriser le dégazage. Lorsqu'il s'agit de mélanger le milieu, il est réduit entre 0,5 et 0,6 fois celui du photobioréacteur (Chisti et Moo-Young 2001). Ces dispositifs sont utilisés dans les photobioréacteurs cylindriques verticaux ou horizontaux, les photobioréacteurs plats ayant une chambre de culture d'épaisseur en général trop faible.

Les turbines (Figure II.15 a) sont efficaces pour homogénéiser le milieu (mouvement de convection) mais ne permettent pas généralement d'éviter la formation de dépôts (salissures) en parois.

Dans le cas de cultures de cellules sensibles à l'hydrodynamique, des hélices marines de large diamètre (Figure II.15 c) sont utilisées à des vitesses de rotation faibles (Chisti et Moo-Young 2001). Cependant, pour les grands volumes (quelques dizaines de litres), il est nécessaire d'augmenter la vitesse de rotation des hélices pour vaincre les pertes de charges (photobioréacteur tubulaire) ce qui n'est pas toujours bien supporté par tous les microorganismes.



Des systèmes à hélices peuvent provoquer des cisaillements et des taux de turbulence élevés qui perturbent la physiologie des cellules de flagellés. C'est le cas des cellules d'*Isochrysis affinis galbana* (t-Iso) dont la sensibilité à l'action mécanique d'une turbine a été mise en évidence au laboratoire PBA d'IFREMER : soumises à une vitesse de rotation supérieure à 130 rpm, les cellules perdent leurs flagelles. Il suffit cependant d'en diminuer la vitesse pour que les microalgues retrouvent leurs appendices (com. pers., Bougaran 2004).

### *II.3.2 Mise en circulation des microorganismes*

#### **Contraintes liées à l'agitation**

En général, au sein d'un photobioréacteur plat, la mise en œuvre d'une agitation mécanique demeure délicate en raison des minces couches de culture. Dans ce type de géométries, le mélange est donc souvent généré par bullage, mais des pompes peuvent être parfois utilisées pour transférer la culture d'un compartiment à l'autre (Petkov 2000).

Dans les photobioréacteurs plats de type airlift, l'inconvénient majeur tient au flux de gaz (air) qui, lorsqu'il devient trop important, provoque la formation de mousses : de larges bulles sont alors formées au sein de la culture (écoulement à poches de gaz) dans le cas de petits diamètres ou de faibles épaisseurs.

La formation de mousse peut imposer l'installation d'un agitateur extérieur pour la limiter (Tsygankov 2001), ou l'utilisation d'agent anti-mousse tout en prenant garde qu'il soit biocompatible aux concentrations employées.

Certaines espèces de microalgues (Cf. paragraphe I.2.2) restent très difficiles à cultiver dans les photobioréacteurs plats car elles peuvent générer un biofilm sur les parois (Tsygankov 2001). Dans ce cas, un système de nettoyage doit être prévu afin de maintenir un accès correct à la lumière.

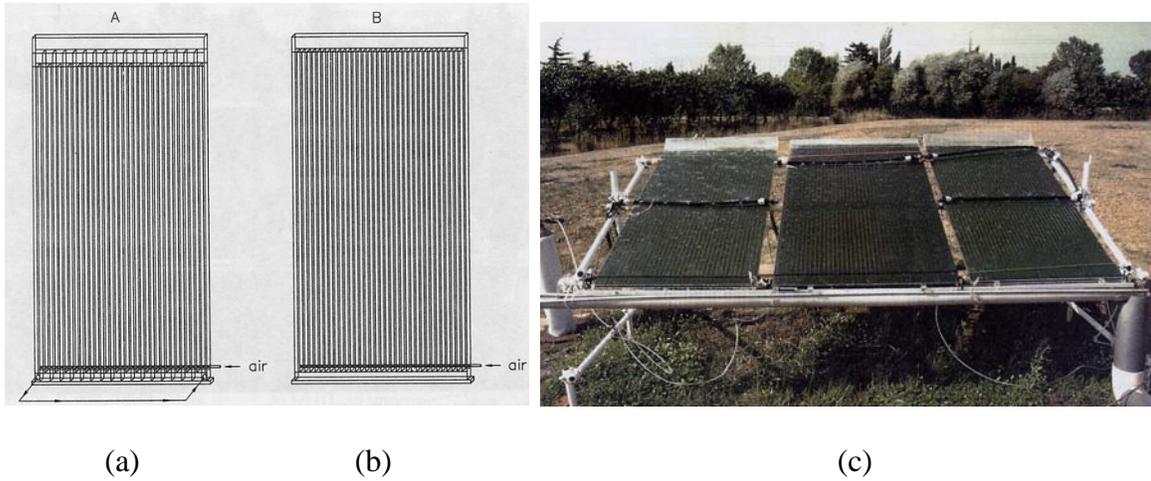


Figure II.16 : Diagramme schématique de trois unités de photobioréacteurs plats où l'aération et la circulation sont réalisées par un tube placé à la base de la chambre permet plusieurs points d'injection d'air : panneaux alvéolaires double (a), simple (b) (Tredici et Materassi 1992) et utilisant des pompes pour la circulation du milieu entre les panneaux (c) (Tredici 1999).

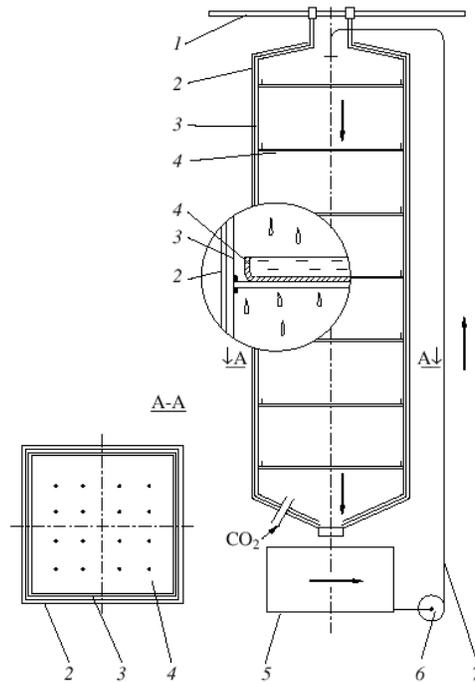


Figure II.17 : Photobioréacteur composé de plateaux où la circulation des microalgues se fait par gravité : (1) support ; (2) gaine de plastique ; (3) structure métallique ; (4) plateaux perforés ; (5) container de récolte ; (6) pompe ; (7) tube (Petkov 2000).

**Application des systèmes d'agitation**

Les solutions techniques d'agitation et de mise en circulation des microorganismes au sein des photobioréacteurs plats ou cylindriques sont diverses.

Des pompes peuvent être placées sur les conduites de connexion des panneaux et permettre ainsi de créer et d'entretenir l'écoulement (Pulz *et al.* 1995; Ogbonna 2003).

Ce même procédé est utilisé dans les unités de photobioréacteurs plats alvéolaires (Figure II.16 c) via des pompes à piston (Tredici 1999), mais ces unités peuvent aussi fonctionner avec un bullage simple grâce à la superposition de deux panneaux (Figure II.16 a) (Tredici et Materassi 1992). Plusieurs points d'injection peuvent être mis en place (Figure II.16) selon le volume à mélanger (Ogbonna 2003). Le dispositif de bullage, installé à la base de la chambre de culture, permet ainsi d'entretenir la circulation des microorganismes et le mélange de la culture, selon le principe d'une colonne à bulles (Figure II.16 b) ou d'un airlift (Ogbonna 2003).

Petkov (2000) présente une autre alternative dans laquelle la circulation des microorganismes est réalisée par gravité (Figure II.17), une pompe étant nécessaire pour amener la culture au sommet de la tour composée de panneaux horizontaux.

Quant aux photobioréacteurs cylindriques, ils font aussi appel à diverses techniques d'agitation et de mise en circulation. Ce sont des systèmes externes tels que des pompes (Watanabe *et al.* 1995) ou des mobiles internes comme des hélices (Eriksen *et al.* 1998; Csogor *et al.* 1999) ou bien encore un bullage simple ou un airlift (Figure II.14) (Sanchez Miron *et al.* 2000; Acien Fernandez *et al.* 2001; Luo et Al Dahhan 2004).

Il existe des dispositifs plus originaux comme des systèmes de mélangeurs magnétiques (Sanchez Miron *et al.* 2000; Tsygankov 2001) ou par la mise en rotation de la paroi externe dans le cas de photobioréacteur annulaire (Tsygankov 2001). Leur mise en œuvre est plus complexe, ce qui en limite les applications (Tsygankov 2001).

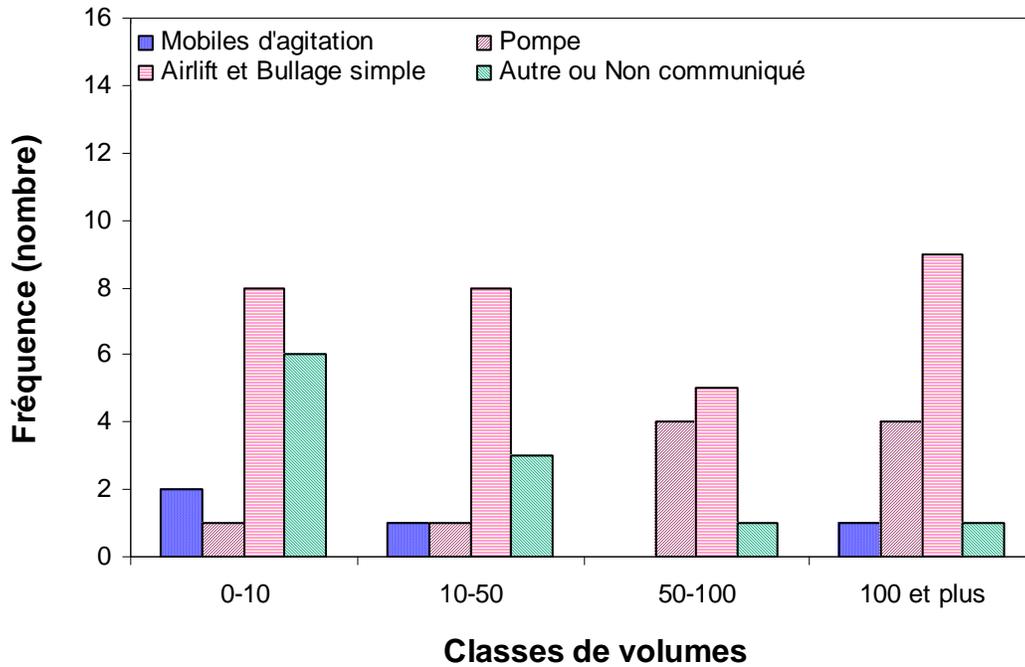


Figure II.18 : Répartition des systèmes d'agitation par classes de volumes (étude menée sur 43 réacteurs).

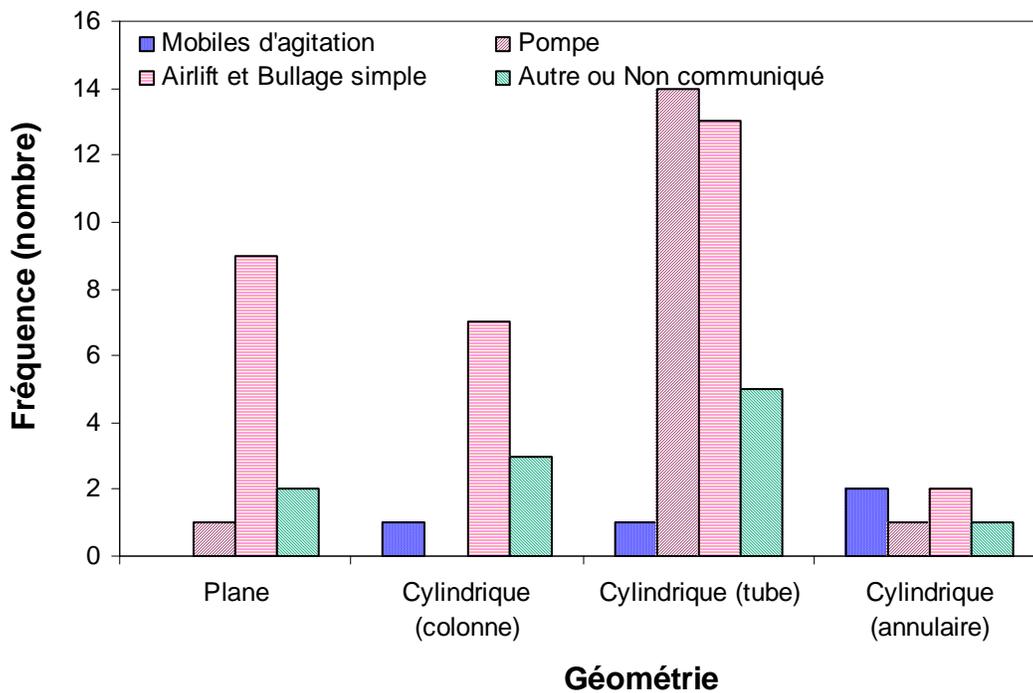


Figure II.19 : Répartition des systèmes d'agitation selon la géométrie du photobioréacteur (étude menée sur 48 réacteurs).

### *II.3.3 Conclusion sur les systèmes d'agitation*

L'analyse précédente montre que le choix d'un système d'agitation est conditionné par le volume de culture et par la géométrie du photobioréacteur pour une utilisation spécifique. Ces deux points sont abordés dans les paragraphes suivants.

#### **Système d'agitation en fonction du volume de culture**

L'ensemble des photobioréacteurs peut être classé selon leur volume de culture : les petits volumes (<10 litres), les moyens volumes (10-50 litres), les grands volumes (50-100), et les volumes de production industrielle (100 litres et plus).

Ces classes ont été mises en regard des systèmes d'agitation utilisés (Figure II.18). Cette étude montre que 7% des systèmes d'agitation (des photobioréacteurs répertoriés dans la bibliographie) sont des hélices ou turbines, 18% des pompes, 38% des distributeurs de gaz, 20% n'étant pas précisés.

Le volume du photobioréacteur est un critère déterminant quant au choix du système d'agitation. Ainsi, la Figure II.18 montre que quel que soit le volume considéré, le mélange est principalement effectué par injection de gaz (55% des équipements toutes catégories confondues). D'autre part, l'homogénéisation des grands volumes (< 50 litres) se fait préférentiellement à l'aide de pompes (32%) et surtout de distributeur de gaz (56% de l'équipement de ces catégories).

#### **Système d'agitation en fonction de la géométrie du photobioréacteur**

Parmi les deux types de géométries recensées (plane et cylindrique), les pompes (25%) et les systèmes de distributeur de gaz (36%) sont largement répandus (Figure II.19), sachant que de nombreux articles ne précisent pas le système d'agitation utilisé (33%).

Les géométries planes et cylindriques plébiscitent largement l'utilisation de distributeur de gaz (50% des équipements toutes catégories confondues). Les mobiles d'agitation sont utilisés pour les géométries cylindriques car l'épaisseur de culture des géométries planes ne permet pas d'installer de tels systèmes. Les pompes sont quant à elles très utilisées pour la géométrie cylindrique tubulaire (42% de l'équipement de cette catégorie).



## **II.4 Techniques mises en œuvre pour l'optimisation des photobioréacteurs**

### *II.4.1 Optimisation de la lumière*

Différentes pistes existent pour améliorer l'accès à la lumière par les microalgues et pour uniformiser l'éclairage sur l'ensemble de la surface. Cependant, dès qu'il s'agit de grandes surfaces (supérieures à 1 m<sup>2</sup>), ceci demeure encore délicat.

Ce paragraphe offre un panorama de solutions possibles.

#### **Les solutions pour améliorer l'exploitation lumineuse**

L'optimisation de l'utilisation de l'énergie lumineuse au sein des photobioréacteurs passe par la résolution des problématiques liées, d'une part, à la géométrie et au volume de l'enceinte, et, d'autre part, aux procédés et techniques mis en œuvre pour l'agitation et la mise en circulation de la culture.

La géométrie du photobioréacteur doit autant que possible privilégier un rapport élevé de la surface éclairée sur le volume de culture, tout en limitant l'encombrement et en restant en adéquation avec les objectifs de concentration en biomasse souhaitée et de besoins physiologiques des microorganismes cultivés. Un compromis sur le diamètre (ou l'épaisseur) est donc à rechercher.

Les procédés et techniques d'agitation et de mise en circulation des microorganismes au sein de la culture se doivent de favoriser au maximum l'accès de chacune des cellules algales à une irradiance adéquate (alternance maximale entre zones éclairées et zones sombres) et de minimiser la formation de dépôts sur les parois (biofilm), très négatif pour la pénétration de la lumière dans le milieu.

#### **Angle d'inclinaison**

Pour les photobioréacteurs plats et cylindriques, Sanchez Miron *et al.* (1999) ont réalisé des études sur l'inclinaison idéale des photobioréacteurs en fonction du degré d'incidence des rayons du soleil.

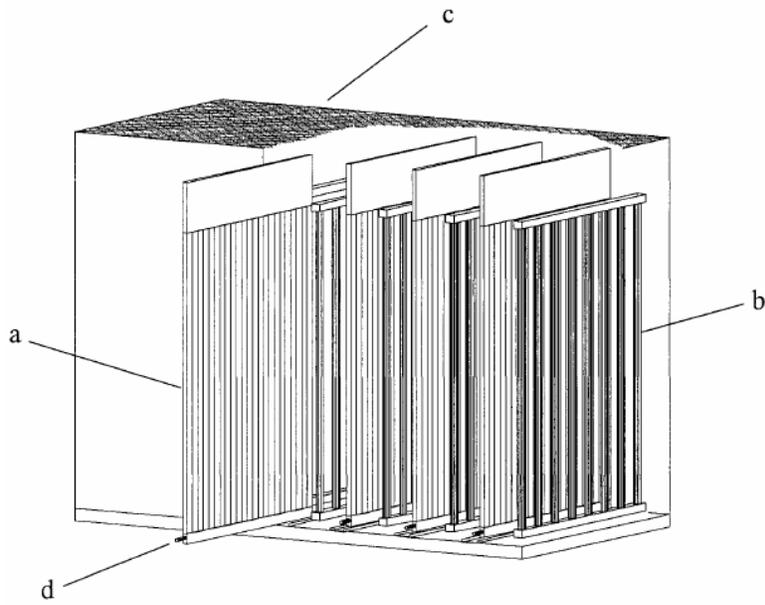


Figure II.20 : Schéma du photobioréacteur plat modulaire. (a) panneaux alvéolaires amovibles ; (b) tubes fluorescents; (c) coffre; (d) points d'injection de l'air et du CO2 (Zittelli *et al.* 2000).

Pour améliorer l'apport de lumière à la culture, l'équipe de Hu et Richmond (1996) a développé un photobioréacteur incliné où les modules sont surélevés et sont connectés les uns aux autres en cascade. L'optimisation tient à la possibilité de modifier l'angle d'inclinaison de façon à obtenir une capture maximale de l'irradiance solaire (Hu *et al.* 1998a).

Par le jeu de la diffusion de la lumière et en fonction du degré d'inclinaison des rayons solaires, il est possible d'éclairer l'ensemble des parois du photobioréacteur afin d'en optimiser la production selon les saisons (Tredici 2004; Zittelli *et al.* 2006). Ainsi, Sanchez Miron *et al.* (1999) obtiennent un doublement du flux lumineux capté.

### **Épaisseur de la culture**

L'intérêt d'une couche de culture de faible épaisseur se justifie si le flux incident de lumière est maîtrisé afin d'éviter tout phénomène de photoinhibition (Tredici 1999).

Lors de l'utilisation de photobioréacteurs plats, une faible épaisseur de culture (quelques centimètres) améliore l'exploitation de la lumière par la culture, en limitant la zone d'atténuation (Pulz et Scheibenbogen 1998) ; celle-ci est d'autant plus importante que le rapport de la surface irradiée par rapport au volume de culture est fort (Tredici 2004).

Pour Molina Grima *et al.* (1997a), les photobioréacteurs cylindriques, de petits diamètres sont à privilégier car ils permettent une bonne distribution de la lumière.

### **Duplication des modules**

Une variante de photobioréacteur plat consiste en une juxtaposition des panneaux verticaux éclairés par les deux faces (Pulz et Scheibenbogen 1998), restreignant ainsi l'encombrement (Figure II.20).

Cette variante de photobioréacteur plat, modulaire, a été introduite de manière indépendante par des équipes française et italienne entre 1985 et 1990. C'est notamment le cas du photobioréacteur plat modulaire (Figure II.20) composé de panneaux amovibles éclairés par des panneaux lumineux intercalés (Zittelli *et al.* 2000).

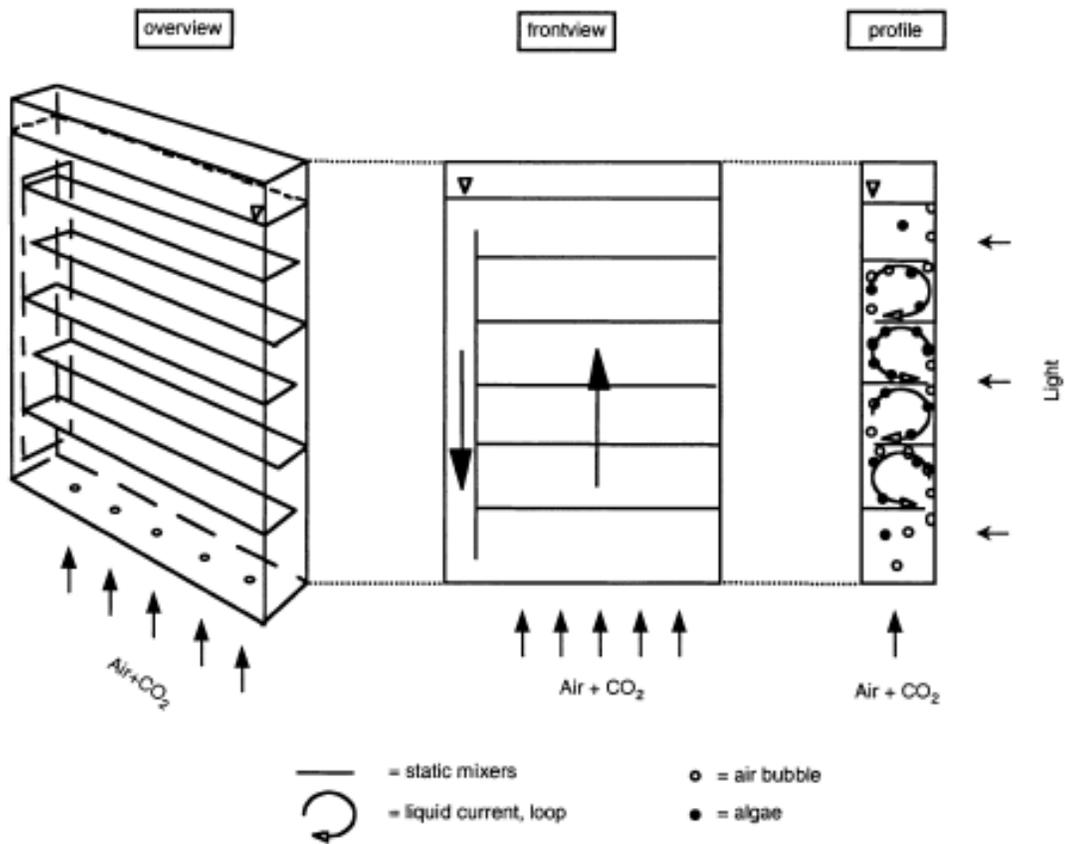


Figure II.21 : Le photobioréacteur plan airlift (Flat Panel Airlift), objet d'un dépôt de brevet par l'industriel W.Trösch (Degen *et al.* 2001).

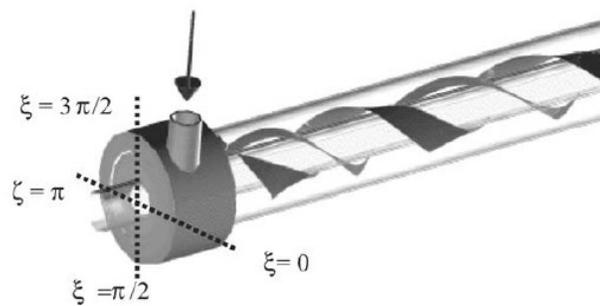


Figure II.22 : Schéma de l'écoulement tourbillonnaire dans un photobioréacteur annulaire généré par une injection tangentielle (Pruvost *et al.* 2002).

Cependant, les panneaux, lorsqu'ils sont trop resserrés, peuvent s'auto-ombrer (Figure II.9), ce qui empêche la lumière d'atteindre de manière optimale la culture (Pulz et Scheibenbogen 1998).

#### *II.4.2 Optimisation de l'écoulement*

##### **Introduction de petites chambres ou alvéoles**

Les photobioréacteurs plats modulaires peuvent être améliorés à l'aide d'un système de chicanes aménagées au sein de la chambre qui perturbe l'écoulement et amène chaque microalgue vers les parois (lumière) (Tredici et Materassi 1992; Pulz et Scheibenbogen 1998). La chambre du photobioréacteur est alors cloisonnée pour former des alvéoles (Degen *et al.* 2001).

Un brevet utilisant ce système de photobioréacteur plat, modulaire et alvéolaire, et équipé d'un système de bullage dans les conduites de connexion verticales, a été déposée en Italie (Tredici 1999; Tredici *et al.* brevet italien n° 9357-A/88, 1988).

Tredici (1999) a adopté la géométrie plane à alvéoles et augmenté le volume du photobioréacteur en connectant les panneaux verticaux entre eux par des conduites horizontales dans laquelle la circulation de la culture est assurée par des pompes (Figure II.16 c).

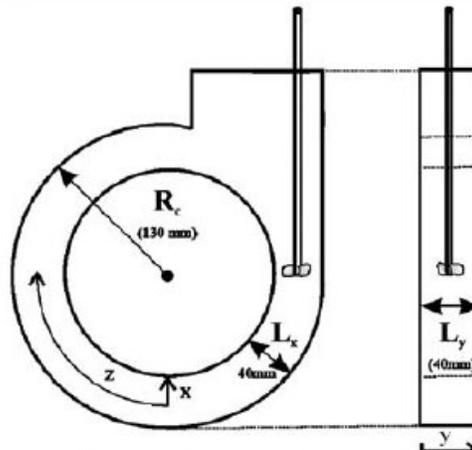
Degen *et al.* (2001) utilisent également ce type de photobioréacteur à géométrie plane mais en orientant la compartimentation horizontalement (sous forme de chicanes) (Figure II.21) afin de créer de la turbulence propice à l'accès à la lumière et aux transferts de gaz-liquide (CO<sub>2</sub> et O<sub>2</sub>).

##### **Introduction d'organes externes**

La création d'un mouvement tourbillonnaire est utilisée pour améliorer l'homogénéisation du milieu et favoriser l'accès à la lumière en maximisant le déplacement des cellules entre zones sombres et éclairées. Le mouvement est initié soit par injection tangentielle dans des géométries annulaires (Figure II.22) (Pruvost *et al.* 2002), soit par utilisation d'une hélice dans un photobioréacteur de géométrie plane,



(a)

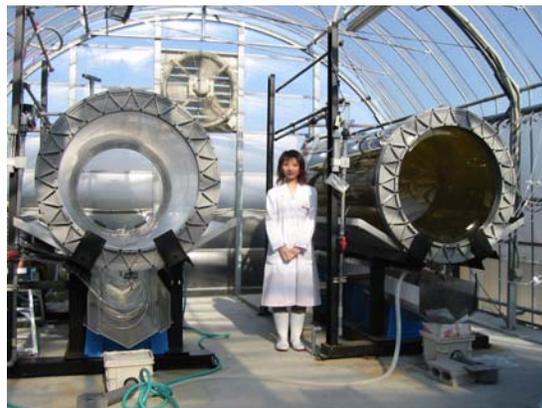


(b)

Figure II.23 : Photobioréacteur torique de 1100 ml, mis au point par les laboratoires IFREMER LPBA et GEPEA UMR CNRS 6144 (a) et schéma de la face avant et du profil de celui-ci (b) (Pruvost *et al.* 2006).



(a)



(b)

Figure II.24 : « Pipe Photobioreactor » de la société Yamaha Motor Co. : Détail d'un module de photobioréacteur tubulaire délimité par un volume cylindrique annulaire fermé de 2,5 m de long et 1 m de diamètre, définissant un volume de 230 L (a). L'injection d'air est implantée à droite de la génératrice inférieure pour permettre la circulation de la culture (b) (Yamaha Motor Ltd. 2006 et com. pers., Muller-Feuga 2004).

torique (Figure II.23) (Pruvost *et al.* 2004b). L'hydrodynamique est alors telle qu'elle favorise le mélange mais également des vitesses en proche paroi pour limiter la formation de biofilm sur les parois des tubes car celle-ci est néfaste à la pénétration de la lumière.

Le photobioréacteur torique (Figure II.23) est également conçu pour des recherches spécifiques sur l'hydrodynamique et sur les transferts radiatifs (Pruvost *et al.* 2004a; Pruvost *et al.* 2006) : le milieu de culture y est mis en mouvement de façon à générer un écoulement tourbillonnaire. La modélisation de l'irradiance reçue par une microalgue lors de son parcours dans le réacteur a été effectuée, et par là un modèle prédictif de productivité (Pottier *et al.* 2005) a été développé.

## **II.5 Quelques exemples d'applications académiques et semi-industrielles**

### *II.5.1 Les applications des photobioréacteurs plats*

Les photobioréacteurs plats sont généralement de production modeste (petites unités, Figure II.11 et Figure II.21) et sont donc bien adaptés aux études dédiées à l'expérimentation en laboratoire, tout particulièrement si ces dernières sont liées aux transferts radiatifs (Tredici 1999).

### *II.5.2 Les applications des photobioréacteurs cylindriques et de leurs variantes*

Les photobioréacteurs cylindriques ont des applications en laboratoire pour des études en conditions contrôlées et en production de tailles modestes.

Ils peuvent aussi permettre la production massive de biomasse algale (de centaines de milliers de tonnes de matières sèches par an), ou des productions intermédiaires (quelques grammes de biomasse par litre de culture) plus coûteuses dont la finalité est l'exploitation des molécules d'intérêt excrétées par les algues (Pulz et Gross 2004).

Des études relatives aux transferts de matières gazeuses sont réalisées en photobioréacteurs cylindriques de type colonne : l'influence des conditions d'injection d'air sur les performances des cultures y sont étudiées (Eriksen *et al.* 1998; Luo et Al Dahhan 2004). A l'aide d'un dispositif de ce type (bullage), Eriksen *et al.* (1998) ont



Figure II.25 : Photobioréacteur Hydrobiologica SA Plant (Tredici 1999).



Figure II.26 : Photobioréacteur de la société Sea Salter Shellfish Co. (1996), constitué de 40 poches permettant une récolte journalière d'environ 5000 litres ( $4 \cdot 10^6$  cell.ml<sup>-1</sup>).

démontré que la libération de bulles de petites tailles permet d'obtenir une plus grande surface de contact avec le milieu de culture et qu'ainsi le transfert du CO<sub>2</sub> est plus efficace.

Récemment, Zittelli *et al.* (2006) ont utilisé des photobioréacteurs de type annulaire (Figure II.5) pour des études de transferts radiatifs (zones sombre et éclairée) et leurs influences sur la productivité.

Le photobioréacteur de la société Yamaha Motor Co. « Pipe Photobioreactor » est un autre exemple de photobioréacteur annulaire destiné à des cultures de microalgues (*Chaetoceros gracilis* et *Chlorococum littorale*) pour l'aquaculture et la biorémédiation du CO<sub>2</sub> des gaz de combustion (Figure II.24) (Yamaha Motor Ltd. [www.yamaha-motor.co.jp](http://www.yamaha-motor.co.jp)).

Le système Hydrobiologica SA Plant (Argentine) est un photobioréacteur tubulaire (Figure II.25) agencé horizontalement, dédié à la culture d'*Arthrospira platensis*, où la concentration est maintenue à 1 g l<sup>-1</sup> pour une productivité de 0,2 g l<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> (Tredici 2004). Ce système consiste en 96 tubes de polyéthylène, placés au sol horizontalement et en parallèle. Chaque tube mesure 120 m de long et 25,5 cm de diamètre et est partiellement rempli, donnant un volume total de culture de 600 m<sup>3</sup>. La circulation est réalisée à l'aide d'une pompe (900 m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup>) à la vitesse de 6 à 10 cm.s<sup>-1</sup> (Tredici 2004).

### II.5.3 Applications industrielles

#### **Production aquacole**

**Le photobioréacteur de la société Sea Salter Shellfish Co.** (Erreur ! Source du renvoi introuvable.) :

L'écloserie anglaise, Sea Salter Shellfish Whiskable Limited (Kent, G-B), commercialise un photobioréacteur cylindrique, inventé par R. Pitt et nommé « Sea Continuous Algal Production System » (Sea CAPS) (Sea Salter Shellfish Co. 1996).

Ce système composé de 40 poches de 500 litres permet de récolter chaque jour 20 à 30% du volume total soit environ 5000 litres. Le système est conçu de manière à réaliser la

pasteurisation de l'eau en continu et le milieu est mélangé par l'injection d'air enrichi en CO<sub>2</sub>.



Figure II.27 : Le photobioréacteur « Cell Pharm Tubular reactor (Bio-Fence) » de 400 litres (à gauche) et de 600 litres (à droite) (Cell Pharm Bioactive Product <http://home.bt-webworld.com/cellpharm/>).

Tableau II.1 : Espèces cultivées et concentrations atteintes dans le photobioréacteur du groupe Cell Pharm Bioactive Product (2004).

Espèces	Concentration atteinte en extérieur (sous serres) (10 <sup>6</sup> cellules.ml <sup>-1</sup> )	Concentration atteinte à l'intérieur (10 <sup>6</sup> cellules.ml <sup>-1</sup> )
<i>Chlorella sp.</i>	300	100
<i>Isochrysis affinis galbana</i>	40	24
<i>Tetraselmis suecica</i>	6	2,5
<i>Chaetoceros sp.</i>	15	8
<i>Nannochloropsis sp.</i>	Environ 10 fois plus qu'un batch classique	Environ 5 fois plus qu'un batch classique

Un inoculum de quatre litres par poche permet en 4 à 6 jours d'atteindre la concentration cellulaire d'environ  $4.10^6$  cell.ml<sup>-1</sup> nécessaire pour débiter la récolte de *Phaeodactylum tricornutum* ou de *Skeletonema marinoi* (anciennement *Skeletonema costatum*) (Sea Salter Shellfish Co. 1996). Cette culture conduite en mode continu peut se maintenir sur une durée de trois à quatre mois.

**Le photobioréacteur tubulaire du groupe Cell Pharm Bioactive Product (Figure II.27) :**

A vocation aquacole, ce dernier photobioréacteur anciennement nommé « Bio-Fence », a été conçu par P. Jenkins et est construit dès 1998 par la société Applied Photosynthetic Ltd. de l'Université de Manchester. Repris par le groupe Cell Pharm Bioactive Product, ce photobioréacteur est toujours sur le marché (Cell Pharm Bioactive Product <http://home.bt-webworld.com/cellpharm/>).

Il s'agit d'un photobioréacteur tubulaire constitué d'unités de 4 mètres de long pour 2 mètres de haut et 1 mètre de large d'une capacité totale de 200 L dont un tiers ou 50% est récolté quotidiennement. Ce système est modulable et peut atteindre une capacité finale de 1200 litres (Applied Photosynthetics Ltd. [www.campus-venture.co.uk/apl](http://www.campus-venture.co.uk/apl)). Les tubes transparents sont fixés sur une structure support, le long d'un mur de tubes fluorescents, et sont connectés à un réservoir central permettant la récolte en continu de diverses microalgues aquacoles (Tableau II.1) à un coût estimé de 7,4 euros par litre (en 1998) (Applied Photosynthetics Ltd. [www.campus-venture.co.uk/apl](http://www.campus-venture.co.uk/apl)).

**Production de molécules à haute valeur ajoutée**

Seul un exemple sera présenté ici.

**Le photobioréacteur de la société Mera Pharmaceuticals Inc. (Figure II.28) :**

Ce photobioréacteur tubulaire agencé au sol utilisé pour l'exploitation d'astaxanthine via la microalgue *Haematococcus pluvialis*, a été construit, par la société Mera Pharmaceuticals Inc. à Hawaï aux Etats-Unis. Il a une capacité totale de 25000 litres et couvre une surface de 100 m<sup>2</sup> (le module le plus petit étant de 5000 litres) (Olaizola 2003).



Figure II.28 : Mera Growth Module, un photobioréacteur de 25 000 l composés de tubes de 120 m de long et 25,5 cm de diamètre installé à Hawaii (Etat Unis) (Olaizola 2000; 2003).



(a)



(b)

Figure II.29 : Comparaison de deux photobioréacteurs industriels en Allemagne et en Israël (a), photobioréacteur tubulaire en verre ( $700 \text{ m}^3$ ) produisant de la biomasse de *Chlorella* et le « Photobioreaktor PBR 35000 GL » (Pulz 2001).

La particularité de ce photobioréacteur (Figure II.28) est que les tubes ont été déroulés sur un revêtement réfléchissant, permettant ainsi une meilleure utilisation du flux incident (Olaizola 2000; 2003).

### **Production de biomasse**

**Le photobioréacteur de la compagnie Ökologistche Produkte Altmark GmbH (Figure II.29) :**

Un des photobioréacteurs de type tubulaire en fonctionnement à l'heure actuelle est celui de la compagnie Ökologistche Produkte Altmark GmbH (ÖPA), qui associé à l' « Institut für Getreidverarbeitung » localisé en Allemagne en assure la production et la commercialise sous la dénomination "BIOSTAT PBR" (Tredici 2004).

Ce photobioréacteur est constitué d'un circuit clos de 500 km de tube en verre et renferme un volume total de 700 m<sup>3</sup> (répartis en 20 serres de 35 m<sup>3</sup>). Il permet de cultiver la microalgue *Chlorella vulgaris* dans une serre de 2000 m<sup>2</sup> et d'obtenir une productivité quotidienne de 1,3 g.l<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> (ou 28 g.m<sup>-2</sup>.j<sup>-1</sup>) (Tredici 2004). La récolte est effectuée par séparation et pulvérisation sèche : le produit semi liquide obtenu est pulvérisé dans une colonne où un courant d'air chaud circule à contre courant et le temps de la descente des gouttelettes est optimisé pour permettre de sécher complètement le produit. La production est estimée à 150 tonnes par an de matière sèche (Pulz 2001).

## **II.6 Conclusions sur les géométries et l'agitation des photobioréacteurs**

La conception des **systèmes clos** est relativement **récente** et est actuellement en phase d'optimisation. Les photobioréacteurs les plus performants en terme de productivité sont plats ou tubulaires, le choix ultime du système à utiliser pour une algue particulière est cependant dépendant du critère économique (Borowitzka 1996) et du volume de culture recherché.

Pour Pulz *et al.* (2001), les **inconvénients** majeurs liés à l'utilisation des **photobioréacteurs plats** alvéolaires sont les fuites, la propension aux salissures (dues aux nombreuses chicanes) et le trop grand nombre d'unités nécessaires à une exploitation

commerciale. En conséquence, leurs recherches s'orientent vers l'utilisation d'une géométrie tubulaire (Tredici 2004).

Parmi ces géométries, les **photobioréacteurs cylindriques de type colonne** ont l'avantage de permettre la mise en œuvre de grands volumes de culture mais ne sont pas optimisés d'un point de vue accès à la lumière. Les **photobioréacteurs annulaires** quant à eux offrent de grandes surfaces éclairées pour la culture via un éclairage en leur centre, mais ils demeurent cependant difficilement extrapolables en volume (plusieurs dizaines de litres). Pour finir, les **photobioréacteurs tubulaires**, présentant un petit diamètre, autorisent une flexibilité en taille et en volume (grâce à des agencements dans l'espace intéressants) ainsi qu'une grande souplesse d'utilisation quant à l'accès à la lumière. Leurs inconvénients majeurs sont les salissures des parois du tube (du à un écoulement axial) et l'évacuation difficile des gaz (oxygène dissous) qui peut être limitante en particulier pour les tubes placés horizontalement.

Ainsi, le **diamètre de tube** et son **positionnement** (vertical ou horizontal) sont des éléments clés à prendre en compte dans la conception des photobioréacteurs tubulaires. Du point de vue de l'agitation, seule la géométrie tubulaire (faible diamètre) permet d'utiliser tous les types de systèmes d'agitation, ce qui en final, apporte un choix plus large et une plus grande flexibilité pour s'adapter aux contraintes.

Dès lors il semble que le meilleur compromis soit une **géométrie cylindrique** (grands volumes), utilisant plusieurs tubes de **diamètre réduit** (accès à la lumière) et disposés **verticalement** pour favoriser le dégazage. Son inconvénient majeur étant l'encrassement potentiel des parois, une solution technologique permettant de générer un écoulement intense en proche paroi doit être mise en place pour pallier ce défaut. La souplesse de la **géométrie cylindrique verticale** semble adaptée à l'application aquacole qui demande une certaine modularité en volume.

Jusqu'à présent, les photobioréacteurs industriels mis sur le marché adoptent une géométrie cylindrique et ont pour finalité la production de molécules d'intérêt destinées aux industries pharmaceutique, cosmétique ou agroalimentaire. A l'exception du photobioréacteur Cell Pharm Tubular Reactor et du système Sea CAPS, aucun photobioréacteur ne concerne le domaine de l'aquaculture.

---

### ***Chapitre III GENERALITES SUR LES MICROALGUES AQUACOLES***

En premier lieu, le choix des microalgues au sein des écloséries commerciales sera abordé, en terme d'espèces les plus couramment utilisées, et plus particulièrement celles indispensables au bon développement des premiers stades larvaires de mollusques.

Dans les paragraphes suivants, le rôle nutritif des microalgues sur la croissance larvaire sera évoqué et les caractéristiques écophysiologiques des microalgues utilisées pour l'alimentation des larves et du naissain d'huître (*C. gigas*) seront décrites.

#### **III.1 Les microalgues : une nourriture pour mollusques**

L'aquaculture traditionnelle est confrontée à des besoins en naissain toujours croissants. La maîtrise du cycle de vie des mollusques a permis de développer des techniques d'élevage dont les premiers stades larvaires sont réalisés dans les écloséries. Les géniteurs sont conditionnés à partir d'une alimentation pluri-algale, les jeunes larves, étant plus exigeantes puisqu'elles nécessitent du phytoplancton adapté à leur taille.

Le besoin en microalgues à vocation aquacole est dès lors important puisqu'il s'agit d'en fournir la quantité nécessaire au bon développement des jeunes stades larvaires, l'objectif étant d'assurer des taux de croissance et de survie du naissain satisfaisants pour les écloséries. Le besoin quotidien en microalgues impose une gestion lourde pour les écloséries. En effet, ils doivent prévoir les espèces à cultiver et le nombre de cultures « en batch » à démarrer pour assurer à terme l'alimentation des larves. Ceci demande une intendance bien rodée puisque les cultures atteignent leur concentration optimale 4 à 8 jours après leur inoculation : les premières cultures doivent donc être démarrées avant même la fécondation. Ensuite, chaque jour, il est impératif de prévoir la consommation quotidienne en microalgues de chaque cohorte pour démarrer les cultures en conséquence.

Tableau II.2 : Liste des microalgues à vocation aquacole (Coutteau et Sorgeloos 1992). Cette enquête mondiale a été réalisée sur 43 écloséries de mollusques réparties en Amérique, en Océanie et en Europe (excluant la France et la Chine).

Espèces	Nombre d'écloséries cultivant l'espèce désignée
<i>Isochrysis affinis galbana</i> (clone t-Iso)	31
<i>Chaetoceros gracilis</i>	23
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	16
<i>Tetraselmis suecica</i>	15
<i>Thalassiosira pseudonana</i> (clone 3H)	14
<i>Pavlova lutheri</i>	11
<i>Isochrysis galbana</i>	8
<i>Skeletonema costatum</i> ( <i>S. marinoi</i> )	6

Tableau II.3 : Espèces de microalgues communément utilisées pour le nourrissage de mollusques, de crustacés et de rotifères (Borowitzka 1997).

Espèces	Mollusques	Crustacés	Rotifères
<i>Isochrysis affinis galbana</i> (clone t-Iso)	•		
<i>Chaetoceros muelleri</i>	•		
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	•	•	
<i>Skeletonema costatum</i> ( <i>S. marinoi</i> )	•	•	
<i>Thalassiosira pseudonana</i> (clone 3H)	•	•	
<i>Tetraselmis spp.</i>		•	
<i>Nannochloropsis sp.</i>			•
<i>Pavlova lutheri</i>	•		
<i>Nitzschia &amp; Navicula spp.</i>	•		

Les écloséries commerciales ont une pratique commune consistant à standardiser les lots. Ainsi, de 20 larves.ml<sup>-1</sup> en début de culture, la densité diminue (mortalité mais surtout sélection régulière par la taille) et passe à 5 larves.ml<sup>-1</sup> en fin de semaine. Cette pratique couramment utilisée permet au final de toujours distribuer la même quantité d'algues puisque même si les besoins augmentent, la densité larvaire diminue.

Pour les écloséries, la culture en continu de microalgues présente un double intérêt : d'une part, alléger la main d'œuvre, et, d'autre part, maîtriser la qualité et la quantité d'algues produites afin de les adapter au nourrissage des lots standardisés de larves.

En aquaculture, les microalgues utilisées diffèrent de celles classiquement cultivées à des fins de consommation humaine ou de production de substances à haute valeur ajoutée. Cette spécificité est directement liée au fait qu'elles doivent conserver leur intégrité membranaire afin de servir de proies attractive pour les larves de mollusques, le zooplancton ou les poissons.

Une liste des microalgues à vocation aquacole a été dressée par Coutteau et Sorgeloos (1992) à travers une enquête mondiale sur 43 écloséries (Tableau II.2) : une prédominance pour les espèces de *Isochrysis affinis galbana* (clone t-Iso) et de *Chaetoceros sp.* apparaît clairement.

Cette démarche a été réitérée par Borowitzka (1997) : la liste établie est peu différente, mais présente l'avantage d'y associer la catégorie animale (mollusques, crustacés, rotifères) à laquelle la culture est destinée (Tableau II.3).

Ainsi, les espèces les plus cultivées en éclosérie de mollusques se révèlent être : t-Iso, *Chaetoceros sp.*, *Thalassiosira pseudonana* (clone 3H) et *Pavlova lutheri*. Bien adaptées aux besoins des mollusques, ces microalgues ont la particularité d'être de petite taille (moins de dix micromètres), facilitant ainsi leur assimilation par les larves. *Skeletonema marinoi*, diatomée en chaîne est également utilisée, surtout en France, avec un certain succès bien qu'échappant aux critères de taille classique.

Selon Brown (2002), t-Iso, *P. lutheri* et *C. sp.* sont les microalgues les plus distribuées pour nourrir les premiers stades larvaires et le naissain.

La valeur nutritionnelle et la bonne assimilation des microalgues par l'animal sont conditionnées par plusieurs facteurs : la taille, la forme, la digestibilité (liée à la structure et à la composition des parois cellulaires), et la composition biochimique (ex : acides gras, enzymes, toxine si présente) (Brown 2002).

Les mollusques étant pour la plupart incapables de synthétiser les acides gras polyinsaturés et stérols nécessaires à leur croissance, cet apport doit être fourni par une alimentation pluri-algale. Selon le stade de croissance, les besoins nutritionnels des mollusques varient : le régime alimentaire est au début constitué de flagellés et de diatomées.

Dans les écloséries françaises, un régime tri-spécifique de microalgues est réalisé, avec la distribution de t-Iso aux plus jeunes stades (dix premiers jours de la vie larvaire), puis de *C. sp.* aux stades plus matures et enfin de *S. marinoï* pour les derniers stades.

Néanmoins, des recherches récentes ont été conduites afin d'étudier les effets du type d'alimentation (mono-, bi-, ou tri-spécifique), du pourcentage d'espèces de microalgues distribuées et de leurs associations entre elles. Elles ont montré qu'une alimentation bispécifique permet d'obtenir des gains de croissance et de survie des larves équivalents à ceux obtenus par une alimentation tri-spécifique chez *C. gigas* (Phatarpekar *et al.* 2000; Brown et Robert 2002; Ponis *et al.* 2003; Robert *et al.* 2004; Rico-Villa *et al.* 2006).

Actuellement, trois acides gras insaturés sont considérés comme essentiels pour la croissance et la reproduction des mollusques: l'acide docosahexanoïque (DHA, 22 :6 (n-3)), l'acide eicosapentanoïque (EPA, 20 :5 (n-3)), et l'acide arachidonique (ARA, 20 :4 (n-6) (Robert *et al.* 2004).

Cependant, même si plusieurs études confirment l'existence de retard de croissance et/ou de mortalités des larves nourries par des rations démunies en acides gras insaturés (AGPI : oméga 3 et oméga 6), les besoins réels des larves demeurent encore mal connus (Whyte 1987; Whyte *et al.* 1989; Parrish *et al.* 1998; Labarta *et al.* 1999; Brown 2002).

Des travaux poussés sont menés pour tenter de relier les besoins des mollusques à la composition biochimique des microalgues (Knauer *et al.* 1999; McCausland *et al.* 1999; Ponis *et al.* 2006; Rivero Rodriguez *et al.* 2007).

D'après Brown (1997), les microalgues contiennent classiquement, en fin de phase logarithmique de croissance, environ 6 à 52% de protéines, 7 à 23% de lipides et 5 à 23% de glucides. Albentosa *et al.* (2002) donnent plus particulièrement pour t-Iso 27,8% de protéines, 33,8% de lipides et 38,3% de glucides.

L'analyse des stérols et acides gras des diatomées et flagellés, réalisée au Laboratoire de Production des Invertébrés de Brest (LPI), a montré que :

- *Isochrysis galbana* et t-Iso contiennent toutes deux du brassicastérol et se différencient par l'absence d'alkénone chez t-Iso. Cette dernière contient plus de DHA 22 :6 (n-3) que *I. galbana* mais elles contiennent une quantité importante et identique d'autres acides gras (Robert *et al.* 2004).
- Les *Chaetoceros sp.* sont très riches en cholestérol (30 à 50% du total des stérols) et en EPA 20 :5 (n-3) (15-20%), mais contiennent peu de DHA 22 :6 (n-3). *C. calcitrans* est caractérisée par la présence d'ARA 20 :4 (n-6) tandis que *C. gracilis* en est dépourvu (Robert *et al.* 2004).
- *Skeletonema marinoi* contient du cholestérol, une grande quantité d'EPA 20 :5 (n-3), peu de DHA 22 :6 (n-3) et pas d'ARA 20 :4 (n-6). Elle est également caractérisée par une quantité plus élevée d'acides gras 16 :3 (n-4) et 16 :4 (n-1) qui sont peu présents chez les autres diatomées (Robert *et al.* 2004).

En complément, Brown (2002) a mis en évidence que, quelles que soient la phase de croissance et les conditions de lumière considérées, la composition en acides aminés des microalgues varie peu entre espèces. En revanche, la composition vitaminique diffère selon l'espèce considérée et la composition en acides gras saturés peut être améliorée en pratiquant des cultures à forte intensité lumineuse. Les expériences relatives aux effets de la température sur la composition biochimique des algues ont montré que, pour certaines espèces d'algues cultivées, un pourcentage plus important de quelques acides gras polyinsaturés est obtenu en deçà de leur optimum de température (Mortensen *et al.* 1988; Renaud *et al.* 2002).

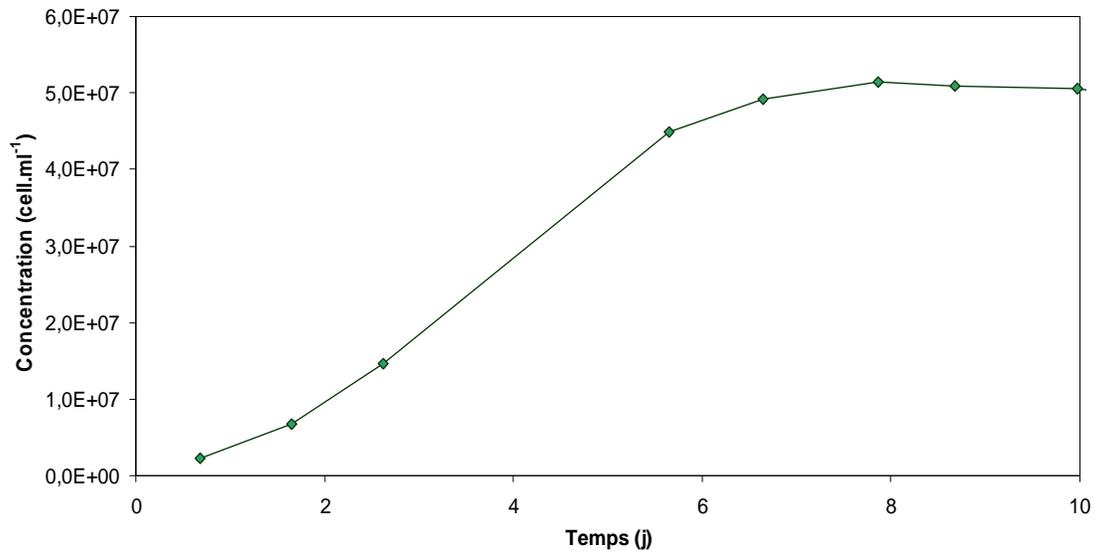


Figure II.30 : Exemple de courbe de croissance de t-Iso lors d'une culture en continu dans la maquette d'étude (Config. : FV4, Distributeur d'air tangentiel,  $Q_g = 1,4 \text{ NI.min}^{-1}$ ).

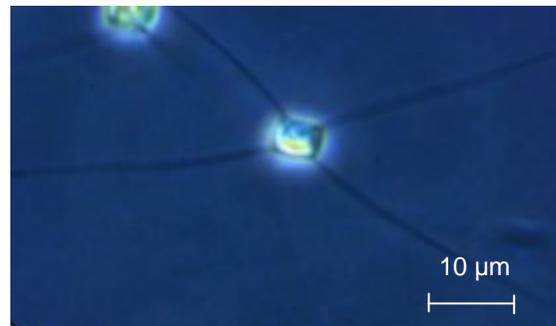


Figure II.31 : Photographie en microscopie optique de *Chaetoceros sp.* (Longueur de 10-15  $\mu\text{m}$ , volume cellulaire de 80  $\mu\text{m}^3$ ).

---

Enfin, Robert *et al.* (2004) ont observé une variation de la composition biochimique de plusieurs espèces en fonction du stade de la culture, montrant ainsi le caractère primordial des conditions de culture. Dans ce contexte, la mise en place de cultures algales en continu permettra incontestablement de mieux explorer les besoins nutritifs des mollusques dans la mesure où la qualité et la composition des microalgues y est constante et maîtrisée.

### **III.2 Critères de sélection des espèces candidates à l'étude**

Les espèces candidates sont celles couramment utilisées par les écloséries commerciales de mollusques françaises (Tableau II.2 et Tableau II.3). Pour les cultiver en photobioréacteur, il est nécessaire de connaître et de maîtriser le cycle de vie de la microalgue. C'est le cas de t-Iso (CCAP 927/14) pour laquelle un équilibre de culture a été obtenu sur plusieurs jours (Figure II.30).

Du point de vue de l'écloserie, t-Iso est particulièrement intéressante dans la mesure où elle est fournie en grande quantité dès les premiers stades aux larves d'huîtres. Sa culture en continu (en mode turbidostat ou chemostat) sur plusieurs mois est maîtrisée en laboratoire ; de plus, ses qualités bactériologiques et biochimiques sont constantes et son cycle de vie relativement simple.

Pour d'autres espèces de microalgues, il faut noter qu'en travaillant en lumière limitante, une culture en continu de *Chaetoceros gracilis* (Figure II.31) est stabilisée. Cependant, il reste à maîtriser leur culture pour une plus large gamme d'irradiance. D'autre part, l'utilisation de *Skeletonema marinoï* (Figure II.32) concerne essentiellement les stades larvaires les plus avancés. Elles ne sont donc pas envisagées dans cette étude.

Pour ces raisons, t-Iso a été retenue pour la mise au point d'un nouveau photobioréacteur adapté aux écloséries commerciales.



Figure II.32 : Photographie en microscopie optique de *Skeletonema marinoi* (Longueur de 20-70 μm la colonie).



Figure II.33 : Photographie en microscopie optique de *Isochrysis affinis galbana* (Taille de 4-6 μm, volume cellulaire de 40μm<sup>3</sup>).

---

### **III.3 Morphologie et paramètres écophysologiques de *Isochrysis affinis galbana* (t-Iso, CCAP 927/14)**

#### *III.3.1 Classification et morphologie*

*Isochrysis affinis galbana* (Figure II.33) est une microalgue flagellée de la Classe des Prymnésiophyceae et de l'Ordre des Isochrysidales.

Deux espèces sont actuellement répertoriées et se différencient par des critères autres que morphologiques (Robert *et al.* 2004). Ainsi *I. galbana*, très répandue dans le milieu aquacole est, depuis une vingtaine d'années, remplacée en grande partie par la forme t-Iso adaptée aux eaux chaudes, (Robert *et al.* 2004) et plus résistante aux fortes températures (30°C) (Tzovenis *et al.* 2003).

Le genre est décrit par une cellule mobile solitaire, de forme allongée, possédant deux flagelles sub-égaux, lisses, à insertion apicale ou sub-apicale, et un haptonème réduit dit vestigial. La cellule est habituellement recouverte de minuscules écailles organiques (0,2 à 0,4 µm) (Chrétiennot-Dinet 1990).

Les pigments de la cellule lui confèrent une couleur brune parfois jaune. Il est possible d'observer un plaste généralement jaune d'or à pyrénoloïde immergé. La reproduction est végétative dans les stades non mobiles ou mobiles (Chrétiennot-Dinet 1990). L'autre caractéristique la différenciant des autres flagellées est sa nage oscillante particulière qui la fait tourner sur elle-même : son déplacement se fait à la vitesse de quelques dizaines de micromètres par seconde et n'est pas uniquement rectiligne (brusques changements de direction observés).

Chrétiennot-Dinet (1990) a mesuré une taille de cellule généralement comprise entre 4 et 6 µm. Cependant, des variations de taille entre 5 et 20 µm ont été observées par d'autres auteurs, variations directement corrélées à la souche cultivée et aux conditions de culture (Chrétiennot-Dinet 1990).

### *III.3.2 Conditions optimales de croissance*

L'optimum de croissance en terme de facteurs environnementaux demeure encore mal défini malgré les nombreuses études sur le sujet. La raison principale réside dans le fait que les moyens mis en place ne permettent généralement de mesurer l'influence que d'un seul facteur environnemental à la fois. Ceci est gênant d'un point de vue écologique dans la mesure où la réponse des organismes dépend de la synergie d'un ensemble de facteurs. Les facteurs pris en compte dans ces études sont les suivants : salinité, température, pH, irradiance.

#### **Salinité**

La salinité communément utilisée pour la croissance de t-Iso est comprise entre 32 et 36‰. D'autre part, Laing and Utting (1980) et Fabregas *et al.* (1985) préconisent une gamme de 15 à 35‰ tandis que Abu-Rezq *et al.* (1999) conseillent une moins basse salinité minimum de 25 à 35‰.

#### **Température**

*I. affinis galbana* est cultivée entre 15 et 30°C (Fabregas *et al.* 1985; Sukenik et Wahnou 1991; Abu Rezq *et al.* 1999), avec une préférence générale pour des valeurs de 20-25°C (Laing et Utting 1980; Brown *et al.* 1998; Brown 2002; Valenzuela Espinoza *et al.* 2002). D'après Zhu *et al.* (1997), la température optimale est proche de 30°C car son taux de croissance est doublé par rapport à une culture réalisée à 15°C. Renaud *et al.* (2002) déterminent une température optimale comprise entre 27 et 30°C.

#### **pH**

La plupart des cultures étant menées en batch, il n'y a pas de contrôle strict de ce paramètre. Les expérimentateurs essaient cependant de le maintenir à des valeurs comprises entre 6,7 et 8,2. Le pH est mesuré régulièrement et son évolution maîtrisée par injection de CO<sub>2</sub> pur ou mélangé à l'air (1 à 5%) (Fabregas *et al.* 1985; Brown *et al.* 1993; Pernet *et al.* 2003). La croissance de t-Iso est réalisée à une valeur moyenne de 7,2-7,8 (Brown *et al.* 1993; Bougaran *et al.* 2003). D'après Kain et Fogg (1958), la croissance de *Isochrysis galbana* est inhibée dès que le pH excède 8,75.

---

### **Irradiance**

Saoudi-Helis *et al.* (1994) utilisent une irradiance de  $460 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  pour leurs expériences alors que Molina Grima *et al.* (1996) cultivent t-Iso à des flux incidents solaires de 820, 1620 et  $3270 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Généralement, l'irradiance de compensation admise est voisine de  $10 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (Molina Grima *et al.* 1997a) ou  $8 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (Tzovenis *et al.* 2003).

Les travaux de Sukenik et Wahnou (1991) montrent une saturation de la croissance à une irradiance de  $300 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  avec apparition d'une photoinhibition autour de  $500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Pour Molina Grima *et al.* (1997a) l'optimum de croissance est atteint entre 820 et  $1620 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , mais au-delà de cette valeur, l'irradiance devient photoinhibitrice.

La difficulté d'interprétation de ces résultats est la conséquence de la variabilité et/ou de la non définition des conditions de mesures (irradiance incidente mesurée à l'intérieur du réacteur ou en surface, concentration des cultures, batch ou continu, taux de renouvellement), et de la durée pendant laquelle les microalgues sont soumises à une irradiance donnée.

De plus, les irradiances indiquées dans la littérature demeurent fortement corrélées au type d'appareil de mesure utilisé (capteur plan, capteur sphérique, sensibilité du capteur...) et à la manière dont les mesures sont organisées.

Dans bien des cas, de simples mesures d'irradiance en surface de photobioréacteurs sont réalisées car plus faciles à mettre en œuvre. Cependant, elles font abstraction des effets de diffusion et d'atténuation au passage de la paroi du réacteur, et ne caractérisent donc pas le flux incident réel vu par la culture algale. C'est pourquoi des mesures d'irradiance moyenne à l'intérieur du réacteur ou de surface en proche paroi sont préférables.

L'ensemble de ces travaux permettent de conclure que l'espèce t-Iso peut être cultivée en eau de mer ou en eau faiblement salée, à une température d'environ  $25^{\circ}\text{C}$  (mais résiste à une gamme de  $15^{\circ}\text{C}$  à  $30^{\circ}\text{C}$ ) et à un pH généralement fixé autour de 7. L'irradiance minimale permettant d'assurer une croissance par photosynthèse est de l'ordre de

quelques dizaines de  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , et celle permettant une croissance optimisée est comprise entre 300 et 800  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

Malgré la variabilité de ces données, des informations sur l'optimum de croissance sont disponibles. Des expériences complémentaires ont été conduites au laboratoire PBA d'IFREMER via une approche de plan d'expériences. Ces études ont montré qu'un taux de croissance de t-Iso maximal est associé à une température de 28°C, à un flux incident de 700  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  et à un pH de 6,9 (Bougaran *et al.* 2007). Ces expériences permettent de mettre en évidence l'interaction des facteurs écologiques (T°, pH, irradiance) qui influencent de façon conjuguée la croissance de t-Iso et d'en déterminer son *preferendum*.

### *III.3.3 Conclusion*

En l'état actuel, les recherches concernant les microalgues d'intérêt aquacole sont insuffisantes et ne sont pas orientées vers des approches écophysiologiques. En effet, malgré un grand nombre de publications scientifiques, il reste à établir, dans bien des cas, les relations entre les trois principaux facteurs environnementaux (température, irradiance et pH) et à déterminer les cinétiques de croissance de ces microalgues en conditions contrôlées.

## ***Chapitre IV CHOIX DES ELEMENTS DE CONCEPTION DE LA MAQUETTE ET OBJECTIFS DE L'ETUDE***

Les chapitres précédents ont mis en évidence les atouts et les inconvénients des technologies de photobioréacteurs existants. L'objectif est désormais de s'appuyer sur cet état des connaissances afin d'éviter les écueils des prédécesseurs dans la conception et la fabrication d'un photobioréacteur à vocation aquacole.

Les écloseries sont clairement identifiées comme le domaine d'application premier de ce photobioréacteur. La microalgue t-Iso sera l'espèce aquacole privilégiée : ses particularités écophysiologiques seront donc à intégrer au dimensionnement du photobioréacteur.

Pour affiner cette approche, des rencontres ont été réalisées avec les utilisateurs potentiels (écloseries commerciales) afin de préciser leurs attentes et de connaître les contraintes auxquelles ils sont confrontés quotidiennement.

Ce chapitre rapporte les informations recueillies auprès des écloseries françaises et celles publiées dans la littérature dans le but de dresser le cahier des charges de la maquette d'étude et, à terme, de construire un photobioréacteur prototype satisfaisant les besoins des professionnels du milieu aquacole.

### ***IV.1 Les écloseries***

#### ***IV.1.1 Le domaine d'application premier du futur photobioréacteur***

Une réflexion approfondie doit être conduite pour la conception du futur photobioréacteur commercial et ne peut se faire que conjointement avec les professionnels. Des questions diverses sont à formuler et de nombreux points sont à aborder avec eux. C'est pourquoi un document sous forme de questionnaire (Annexe N°1) a été réalisé afin d'initier les sujets de discussion lors des entretiens avec les professionnels et de collecter les informations nécessaires à la bonne marche du projet.

La confidentialité est un impératif du groupe de travail, notamment pour y instaurer un climat de confiance entre les acteurs et pour permettre le bon déroulement des différentes étapes du projet. Pour cette raison, le questionnaire est précédé d'une clause qui garantit la confidentialité des informations spécifiques recueillies auprès des écloseries commerciales. Les points de discussion ont eu essentiellement trait à :

- La production d'algues, la maintenance et les équipements.

Il s'agit de définir les limites d'encombrement du futur photobioréacteur et de ne pas imposer un équipement trop lourd aux écloseries. Elles doivent aussi recenser les espèces de microalgues cultivées, celles qui sont consommées quotidiennement selon le stade larvaire atteint. Enfin, sont abordées des questions concernant les points techniques associés aux modes de culture et aux milieux utilisés, ainsi que des questions d'ordre sanitaire et d'autres relatives à la gestion du temps.

- La production de naissain.

Les productions et les distributions des microalgues produites en batch sont directement conditionnées par les besoins journaliers des larves et par les concentrations phytoplanctonique, souvent variables. En pratique, ce sont l'expérience et l'œil du technicien qui servent « d'outils » pour sélectionner les productions en batch prêtes à être distribuées. Dans le cadre de cette étude, il est fondamental de bien connaître les pratiques d'élevage, et notamment les fréquences et répartitions des distributions d'algues au cours d'un cycle larvaire et ce, tout au long de la production.

- Les aspects environnementaux et économiques.

L'objectif étant d'appliquer un apport en nutriments raisonné et optimal pour la croissance, une connaissance approfondie des besoins larvaires quotidiens en microalgues est nécessaire. En conséquence, le développement larvaire pourra être réalisé dans une eau sans excédents en nutriments (notamment azote et phosphate), directement rejetable dans le milieu naturel, sans à éventuellement recycler l'eau. Le coût de cette production algale est difficilement chiffrable. Pour estimer la part de microalgues dans le coût de revient du naissain, différents pourcentages sont proposés aux entrepreneurs.

Les écloseries qui ont été ciblées dans cette enquête sont les écloseries françaises de mollusques centrées notamment sur l'élevage de larves d'huîtres : elles concernent au total cinq producteurs de la région du Grand Ouest. La synthèse des informations recueillies auprès de ces producteurs est présentée dans les paragraphes suivants.

#### *IV.1.2 Le fonctionnement des écloseries*

Au préalable, il est à noter que les professionnels souhaitent conserver une certaine discrétion sur leurs techniques et pratiques de fonctionnement : de ce fait, certaines réticences ont été rencontrées au moment d'acquérir plusieurs informations liées au fonctionnement intrinsèque des écloseries et à la production larvaire.

L'entretien et le renouvellement des cultures souches de microalgues se font par repiquages successifs, les nutriments ajoutés sont généralement du milieu de Conway (Annexe N°2), un milieu complet en sels nutritifs, métaux et vitamines, ou du milieu de Provasoli (Pinter et Provasoli 1963), autre milieu dont la composition diffère légèrement.

La quantité de temps allouée uniquement à la tâche de production de microalgues reste mal appréciée par les responsables. Fractionné tout au long de la journée, ce travail regroupe les tâches suivantes : vider les containers en pompant les algues vers les bacs larvaires, nettoyer et stériliser les ballons, poches, cuves ou bacs d'algues, les remplir d'eau de mer préalablement filtrée, ajouter des nutriments (pour les grands volumes) et enfin inoculer le milieu en algues pour mener une culture en batch dans les jours suivants.

En écloserie, les cultures sont réalisées en milieu clos et de façon mono-spécifique, afin que chaque algue puisse être cultivée dans ses propres conditions optimales de croissance. En bassin externe, la pression écologique joue un rôle non négligeable puisque certaines conditions de milieu sont propices au développement naturel d'une espèce d'algue et à sa colonisation d'une niche écologique. Ces conditions particulières sont fonction des besoins du microorganisme et des contraintes rencontrées. C'est le cas de *Skeletonema marinoi*, espèce euryhaline, qui a la capacité de supporter de fortes variations de salinité et ainsi d'envahir ces milieux au détriment des autres espèces.

Tableau II.4 : Espèces aquacoles utilisées en éclosion française et proportions de microalgues utilisées par les éclosiers visités (concentrations non communiquées).

Espèces *Référence des calculs	t-Iso	<i>Chaetoceros gracilis</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	<i>Skeletonema marinoï</i>	<i>Pavlova lutheri</i>	<i>Thalassiosira pseudonana</i> (clone 3H)
<b>Eclosionerie A</b>	Cultivé			Cultivé		
<b>Eclosionerie B</b>	Cultivé		Cultivé	Cultivé quotidien- nement	Cultivé	Cultivé
<b>Eclosionerie C</b> *Besoins compris entre 200 et 4000 litres de biomasse	Cultivé	Cultivé	Cultivé quotidien- nement	Cultivé quotidien- nement		
<b>Eclosionerie D</b>	Cultivé quotidien- nement (couvre 1/2 des besoins larvaires)	Cultivé quotidien- nement (couvre 1/2 des besoins larvaires)		Cultivé quotidien- nement en complément	Cultivé quotidien- nement en complément	
<b>Eclosionerie E</b> *Volume de base : 1,5 m <sup>3</sup> toutes espèces confondues	Cultivé quotidien- nement (couvre 1/3 des besoins larvaires)	Cultivé quotidien- nement (couvre 1/3 des besoins larvaires)		Cultivé quotidien- nement (couvre 1/3 des besoins larvaires)		

Dans chaque écloserie, une salle est généralement dédiée aux cultures d'algues soit en gaines à usage unique (70 L à 170 L) soit en « scobalits » (cuves à colonnes transparentes de 2 m de haut, d'environ 30 à 50 cm de diamètre et d'environ 250 L de capacité). Les surfaces de ces salles varient entre 25 m<sup>2</sup> et 120 m<sup>2</sup>. La température y est maintenue à 20°C (avec pour certaines des variations réelles comprises entre 8° l'hiver et 25°C l'été), soit en utilisant la chaleur dégagée par l'éclairage soit en rafraîchissant la pièce par climatisation, courant d'eau ou extracteur de chaleur.

L'ensemble des écloseries utilise des systèmes de lumière artificielle consistant en des tubes fluorescents (type « lumière du jour ») ou des lampes à sodium. Ces systèmes peuvent être complétés par l'énergie solaire via des installations sous serres. L'eau, dans la majorité des cas, est pompée à une centaine de mètres de la côte. Cette dernière est filtrée sur du sable à 10 µm, puis dans certains cas à 1 µm et parfois même pasteurisée et traitée aux UV. Certaines écloseries ont la possibilité d'exploiter une eau de forage naturellement salée et riche en nutriments. Celle-ci étant exempte de contamination, elle peut être utilisée directement sans filtration préalable.

Les espèces d'algues cultivées dans les écloseries de Loire, Bretagne et Normandie sont en nombre limité ; seules six espèces ont été dénombrées (Tableau II.4) : t-Iso, *Chaetoceros gracilis*, *C. calcitrans*, *Skeletonema marinoï*, *Pavlova lutheri*, *Thalassiosira pseudonana* (clone 3H). Les autres espèces sont cultivées uniquement à des fins expérimentales.

En début d'élevage, les jeunes larves sont nourries avec des microalgues faciles à ingérer, à digérer et ayant une valeur nutritive adaptée à leur développement. L'ensemble des écloseries utilise la microalgue t-Iso au moins pendant les dix premiers jours de vie des larves, cette microalgue flagellée étant la seule à convenir à ce stade de la croissance des huîtres. Dans la pratique, les besoins larvaires en t-Iso sont souvent complétés par l'apport d'autres espèces de microalgues de petite taille comme *Chaetoceros sp.*, *Pavlova lutheri* ou *Thalassiosira pseudonana* (clone 3H).

Quand les jeunes larves ont atteint une taille suffisante (110-120 µm), t-Iso est abandonnée au profit de *Chaetoceros sp.*, *C. gracilis* ou bien *C. calcitrans* ; puis plus tard

par une autre microalgue massivement cultivée en France, *Skeletonema marinoi*. Considérée comme une algue fourrage de qualité par les écloseries et nourriceries, facilement cultivables en bassins, elle est fournie en grande quantité aux derniers stades larvaires. Sa valeur nutritive pour l'huître *Crassostrea gigas* est néanmoins moindre que celle des *Chaetoceros sp.* Elle est souvent utilisée en parallèle de ces dernières comme complément alimentaire.

Concernant la production, les informations restent difficiles à exploiter car chaque écloserie utilise sa propre méthode de calcul. Les concentrations en algues des cultures sont le plus souvent suivies empiriquement : les techniciens détectent à l'œil le changement d'intensité de couleur et l'associe à une modification de la concentration. Un contrôle est parfois opéré en effectuant un comptage sur lames de Malassez lorsque les écloseries sont équipées de microscopes.

La gestion individuelle des cultures de t-Iso varie d'une écloserie à l'autre. Certains raisonnent sur la quantité d'algues à fournir aux larves et la déterminent en observant leur comportement ; d'autres préfèrent une gestion par bacs d'algues qu'ils tiennent à disposition pour le nourrissage des jours futurs.

Le premier raisonnement oblige les responsables à prévoir des cultures en batch à l'avance pour obtenir une concentration en algues suffisante le jour de la distribution. Certaines écloseries font même un roulement entre les différents containers disponibles. Dans ce dernier cas, les microalgues fournies aux larves proviennent de cultures conduites en ballon, bonbonnes, scobalits ou bacs de 1-3 ou 8 m<sup>3</sup>.

La fréquence de distribution des microalgues, de une à deux fois par jour (généralement réalisée à l'aide d'une pompe), est adaptée à la demande larvaire. Cet ajustement est lié à la mauvaise connaissance, d'une part, de la concentration en algues des cultures distribuées aux larves, et, d'autre part, des besoins larvaires variables en fonction de leur maturité.

Le second raisonnement engendre une manutention plus importante à cause de l'ensemencement de containers 48 h avant le nourrissage et du gaspillage (au niveau

larvaire), les algues n'étant pas conservées plus longtemps. La distribution est réalisée systématiquement à une fréquence déterminée par avance en fonction du stade larvaire.

Ainsi, l'étape cruciale reste les premiers stades larvaires liés aux besoins en t-Iso et en *Chaetoceros sp.* (Tableau II.5), ceci avant de pouvoir nourrir les stades larvaires ultimes avec *S. marinoï*, ou passer les stades matures des nurseries vers le milieu naturel. Les besoins varient dans une large gamme : entre 1000 et 6000 milliards de cellules quotidiennes pour les flagellés et entre 900 et 20000 milliards de cellules pour les diatomées.

Tableau II.5 : Besoins journaliers en flagellés et diatomées estimés à partir des données collectées dans les écloséries visitées (excluant *Skeletonema marinoï*).

Besoins journaliers (milliards de cellules/ jour)	Flagellés : t-Iso <i>Pavlova lutheri</i>	Diatomées : <i>Chaetoceros calcitrans</i> <i>C. gracilis</i> <i>Thalassiosira pseudonana</i> (clone 3H)
Minimaux	1000	900
Maximaux	6000	20000

L'ensemble de ces informations sur le fonctionnement des écloséries montre les limites des connaissances spécifiques des écloséries sur les besoins larvaires. Ceux ci demeurent mal définis car ils sont régis par les paramètres biologiques et physiologiques des larves et par les variations du milieu (qualité de l'eau variable, appétit plus ou moins important, qualité du nourrissage fournissant l'énergie nécessaire à leur croissance...).

Tableau II.6 : Besoins quotidiens en t-Iso des écloséries visitées.

	Eclosérie A	Eclosérie B	Eclosérie C	Eclosérie D	Eclosérie E
Besoins journaliers en t-Iso (milliards de cellules/ jour)	400 à 1300	800 à 1000	1000 et plus	1400	1700 à 5700

#### *IV.1.3 Estimation des besoins journaliers en microalgues*

A l'issue des visites une disparité en taille des écloseries a été observée (petite, moyenne et grande), conditionnant directement leur production larvaire annuelle. En conséquence, les besoins en microalgues sont très variables (Tableau II.6) et les volumes de photobioréacteurs associés sont nécessairement différents selon l'écloserie considérée.

Les chiffres fournis sont basés sur le début de la production larvaire alors que cette dernière est en constante évolution. Ainsi, la consommation réelle journalière de microalgues peut être doublé ou triplée, selon la taille des larves et leur nombre dans les classes de taille.

#### *IV.1.4 Autres aspects mis en évidence par l'enquête*

L'enquête a permis d'obtenir des renseignements complémentaires sur la production phytoplanctonique en écloserie. Ils sont toutefois annexés au présent travail et ne sont donc présentés ici qu'à titre informatif. Il est cependant important de prendre conscience que le photobioréacteur, bien que central, n'est qu'une partie de la mise en œuvre pratique d'une production microalgale en continu.

#### **Traitement des eaux**

La qualité de l'eau reste une préoccupation récurrente en amont de l'écloserie. A certaines périodes et localisations, l'eau de mer pompée peut contenir des molécules chimiques ou composés toxiques nuisibles au développement des cultures d'algues. Des traitements adaptés doivent donc être mis en place préalablement à l'étape de filtration (par exemple de type charbon actif ou ozoneur).

En aval, l'impact sur l'environnement doit être également minimisé, notamment par un contrôle des rejets et une meilleure connaissance de l'écophysiologie de microalgues d'intérêt aquacoles (optimisation de l'apport en nutriments).

#### **Production algale et sécurité**

Les écloseries souhaitent s'équiper d'un système sécurisé. La même question est régulièrement posée : « Comment faire lorsqu'une culture s'effondre ou se détériore ? ».

Classiquement, les productions sont renforcées par la mise en place de cultures en doublon afin de subvenir aux besoins larvaires même en cas d'accident. Cette procédure est lourde surtout si l'on intègre des besoins croissants au fur et à mesure de l'avancement de la croissance larvaire.

Pour ces raisons, le photobioréacteur proposé devra être modulable ou extrapolable en volume. Cette extrapolation pourra être envisagée par l'ajout d'un certain nombre d'unités élémentaires.

### **La bactériologie**

Actuellement, des développements bactériens sont fréquents dans le système de culture en batch, posant ainsi des problèmes sanitaires nuisibles à la croissance algale et ultérieurement à la survie larvaire.

Les systèmes classiques (scobalits) sont en effet non hermétiquement clos. La culture en continu ne permet pas de s'affranchir totalement d'un développement bactérien, mais le risque y est diminué de façon importante, si les entrants sont maîtrisés.

### **Perception du monde industriel à l'innovation**

D'une façon générale, les responsables des écloseries voient un intérêt manifeste pour une culture en continu de t-Iso, notamment en terme de qualité de biomasse obtenue. Certains ont même entrepris des travaux dans ce sens mais n'ont pas abouti par manque de temps. De plus, même en regard de leurs productions extensives de *S. marinoï* peu coûteuses et faciles à mettre en place, certains entrepreneurs se disent favorables et intéressés par la possibilité de produire en continu *S. marinoï*.

## **IV.2 Contraintes scientifiques et technico-économiques à intégrer**

Le cahier des charges du futur photobioréacteur est établi à partir de l'état de l'art dressé et des données collectées auprès des écloseries françaises. Son objectif est de clairement spécifier les contraintes à intégrer dès sa conception, contraintes soit inhérentes à tout photobioréacteur soit spécifiques au domaine d'application visé (aquaculture).

Au regard des systèmes existants, le photobioréacteur qui sera conçu dans cette étude doit fonctionner à l'aide d'une source lumineuse artificielle, de par un meilleur contrôle des

paramètres de production de microalgues (Pulz et Scheibenbogen 1998) et parce que les écloséries utilisent déjà ce type d'éclairage.

De plus, le futur photobioréacteur se doit d'être clos. Ce type de système est largement étudié par la communauté scientifique et présente de réels avantages par rapport aux systèmes ouverts. En effet, outre le contrôle des cultures, ils permettent de prévenir et de minimiser les contaminations tout en atteignant des concentrations cellulaires et des productivités intéressantes pour les écloséries (Tredici 2004).

En contrepartie, de multiples verrous scientifiques et technologiques demeurent et limitent actuellement leur expansion et leur diffusion au sein des entreprises commerciales. Le changement d'échelle en est le principal : le passage d'un photobioréacteur d'étude (de quelques litres) à des photobioréacteurs de production industrielle reste délicat à cause des difficultés rencontrées pour l'exploitation de la lumière pénétrant dans les cultures. La conservation d'un apport optimal de lumière aux microalgues est souvent mal assurée, à laquelle peuvent se rajouter des mauvais transferts de matière gaz-liquide : ces deux phénomènes sont étroitement liés à l'hydrodynamique et à la géométrie du photobioréacteur (Olaizola 2003).

Le photobioréacteur à vocation aquacole doit intégrer ces verrous et les surmonter puisqu'il est destiné à une production à large échelle (centaines de litres). C'est pourquoi les études réalisées autour de ce projet se sont appuyées en premier lieu sur la bibliographie et en second lieu sur le savoir-faire et l'expertise des partenaires impliqués. Les contraintes émanant des utilisateurs imposent que ce photobioréacteur :

- fonctionne en continu et soit fiable sur le long terme (productivité volumique sur plusieurs mois),
- soit facile à installer et à entretenir,
- soit simple à utiliser,
- soit automatisé pour le contrôle des paramètres essentiels (pH, T°...),
- soit peu encombrant,

L'enquête conduite auprès des professionnels a permis de converger vers un volume de photobioréacteur d'environ 100 L. Cet ordre de grandeur permet en première approximation de soutenir quotidiennement  $1,15 \cdot 10^{12}$  microalgues, quantité adaptée à l'alimentation d'une cohorte au stade larvaire de développement. Il sera cependant nécessaire de conduire des études plus poussées pour le vérifier.

Une modularité en volume du photobioréacteur est à prévoir afin d'être capable de répondre (i) à une demande croissante en microalgues, (ii) à une souplesse d'utilisation par les écloseries. Cette modularité est une condition importante à remplir au regard de la variabilité des tailles des écloseries. Elle consistera en œuvre par une succession de n modules élémentaires.

Au préalable, il est nécessaire de choisir un type de géométrie de photobioréacteur à mettre en œuvre pour assurer la productivité demandée. Ce choix va conditionner en grande partie :

- d'une part, l'hydrodynamique, le mélange du milieu de culture et les transferts de matière gaz-liquide dans le photobioréacteur,
- d'autre part, les transferts radiatifs.

Au vu de la bibliographie et des critères inhérents à l'activité aquacole, la **géométrie tubulaire** (cylindrique) verticale se révèle être la mieux adaptée dans la mesure où elle autorise une modularité aisée en volume (multiplication de modules élémentaires) tout en conservant une surface réduite d'encombrement (Tredici 2004). Sa configuration la plus simple, consiste en deux colonnes verticales connectées l'une à l'autre (en haut et en bas) par des brides. En leur sein, le milieu de culture est mis en mouvement, selon le principe d'un **airlift**, grâce à une injection d'air en bas de colonne.

La productivité d'un photobioréacteur reste étroitement liée à la qualité et la quantité de lumière reçue (champ radiatif) à laquelle les microalgues ont accès. Il est donc nécessaire de la préserver au maximum. Outre le flux incident de lumière, elle est dans ce type de géométrie fonction du diamètre du tube. Plus celui-ci est réduit, plus le rapport de surface sur le volume de culture est grand et meilleur est l'accès à la lumière. Le choix de

géométrie étant réalisé, des études de transferts radiatifs seront à mettre en œuvre afin de déterminer un diamètre optimal des colonnes.

Le coût final du produit est aussi une contrainte essentielle à intégrer. Au regard du caractère relativement artisanal de ce domaine d'activité, le produit final doit avoir un coût d'achat réaliste en accord avec le budget d'une éclosérie. Cela suppose donc une minimisation des coûts dès l'étape de fabrication et au cours de son fonctionnement. De plus, les matériaux utilisés doivent être particulièrement résistants à un environnement humide et salé.

En conséquence, il a été décidé que le photobioréacteur serait en matière plastique. Les tubes seront en PMMA (polyméthyl métacrylate), les brides en polycarbonate en raison de la technique de confection par injection et des propriétés (résistance thermique, transparence, traitement anti UV).

Enfin, la bibliographie a mis en évidence l'intérêt manifeste d'un mouvement tourbillonnaire, notamment en termes de mélange et de limitations de biofilm en parois. Il a donc été décidé de générer un tel écoulement au sein de la géométrie airlift retenue. Le mouvement va dépendre uniquement du rétrécissement en sortie de brides par rapport à l'entrée (facteur de vitesse). Le façonnage des brides supérieures et inférieures sera identique : le mouvement tourbillonnaire ascendant sera généré dans le sens horaire et le descendant en sens antihoraire. Ceci a son importance dans la mesure où elle permet la confection d'un moule unique, servant à la fois pour les brides supérieures et inférieures, minimisant ainsi le coût de production.

## ***Chapitre V OBJECTIFS DE LA THESE***

Actuellement, le mode de culture des algues en éclosérie française est mal adapté au développement de ces entreprises. Ce poste primordial demande du temps, du savoir-faire et un équipement relativement encombrant (en terme de surface au sol), rendant ainsi difficile une extension des cultures autorisant une augmentation de la production larvaire.

La technique de culture en continu en photobioréacteur est une technique connue mais actuellement mal adaptée aux contraintes du milieu aquacole (en particulier financières).

C'est pourquoi les objectifs principaux visés dans la présente thèse sont :

- (i) de produire en continu une biomasse de qualité maîtrisée avec une productivité optimale ;
- (ii) de développer un photobioréacteur adapté aux écloséries commerciales, c'est-à-dire à un environnement souvent dépourvu d'équipements de laboratoire et soumis à une atmosphère marine ;
- (iii) d'obtenir une réduction importante de la main d'œuvre.

Cette partie de thèse a révélé que la géométrie du photobioréacteur en colonnes verticales est incontestablement la plus facilement modulable en volume et la moins encombrante. L'écoulement de la phase liquide y est aisé et peu onéreux dans la mesure où il est mis en œuvre selon le principe d'un airlift. Pour éviter toute contamination, le photobioréacteur à concevoir sera nécessairement clos. L'utilisation de la lumière doit y être optimale : seront donc utilisées des matières transparentes comme le plastique, d'autant plus qu'elles sont résistantes dans un milieu marin. Pour limiter la formation de biofilm en paroi, un écoulement tourbillonnaire au sein de la colonne sera généré.

Sur ces bases, et en adéquation avec le cahier des charges défini à l'issue des synthèses bibliographiques et de l'enquête menée auprès des entreprises, la conception d'une maquette d'étude a pu être réalisée : elle constitue un module élémentaire du prototype final.

Son volume est de 6,1 litres (rayon de ses tubes de 30 mm, longueur de 1 m). Les brides assurant la connexion entre les cylindres permettent de mettre en œuvre différents

facteurs de vitesse (définis par le rapport des sections d'entrée et de sortie), modifiant ainsi l'intensité du mouvement tourbillonnaire généré. Une description détaillée de la maquette d'étude sera l'objet de la partie suivante.

Les objectifs spécifiques de la présente thèse, dont les résultats exposés et discutés dans la dernière partie, sont déclinés selon les items suivants :

- Productivité théorique et choix du diamètre de tube

Pour déterminer un diamètre optimum, une modélisation des transferts radiatifs sera entreprise en se basant sur les travaux de Pottier (2005) (modèle à deux flux). A cet effet, les propriétés optiques intrinsèques de la microalgue aquacole choisie pour l'étude, t-Iso, seront déterminées.

- Caractérisation du comportement hydrodynamique

Différents types de distributeurs d'air en bas de colonne seront testés (injections centrales à  $x = 0$  mm et à  $x = 500$  mm, tangentielle et membranaire) ainsi que différents débits d'air, afin de déterminer quelle injection sera la plus adaptée et pour quelle gamme de débit d'air.

Le mouvement tourbillonnaire généré sera expérimentalement caractérisé par des techniques de traçage conductimétrique et de vélocimétrie par image de particules (PIV). Ces études donneront accès, pour différentes configurations (débit d'air, type de distributeur d'air, facteur de vitesse), à la vitesse débitante, aux profils radiaux des composantes axiale et tangentielle de vitesse et à l'intensité tourbillonnaire en fonction de la distance depuis la sortie de bride.

Pour les différentes configurations, les performances d'aération de la maquette seront également déterminées via des mesures expérimentales de coefficient volumique de transferts de matière gaz-liquide.

- Caractérisation des performances biologiques

Dans le cadre de ce projet, le réacteur doit être capable de répondre aux exigences de production de biomasse quotidienne d'espèces aquacoles en quantité désirée et en qualité

biochimique et bactériologique stable. A cet effet, des cultures en continu de t-Iso seront réalisées dans la maquette, les productivités et la formation de biofilm en paroi y seront comparés en présence d'un écoulement tourbillonnaire et d'un écoulement purement axial.





## **PARTIE III MATERIEL ET METHODES**

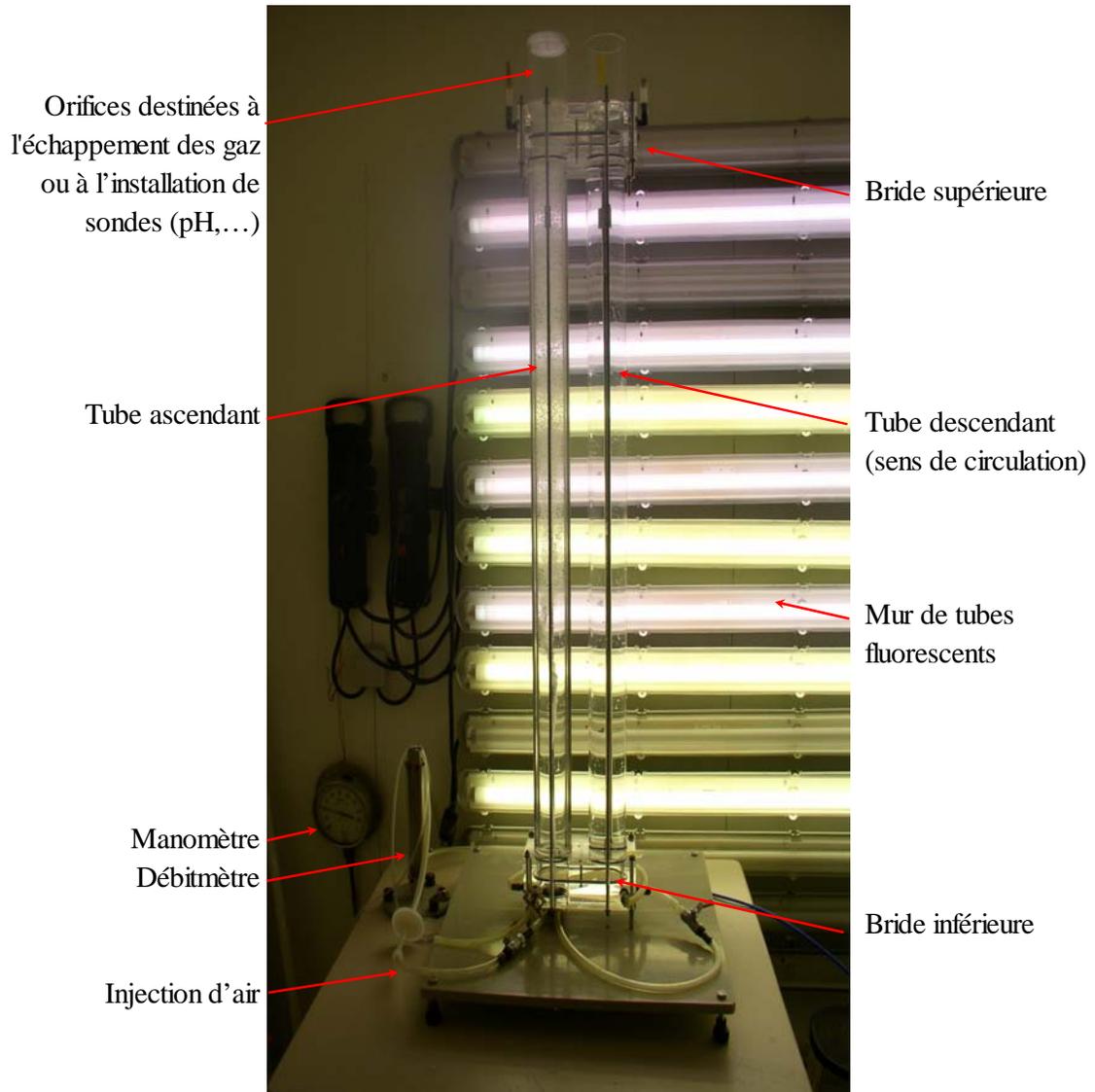


Figure III.1 : Photographie de la maquette d'étude.

---

## ***Chapitre I MAQUETTE D'ETUDE ET INSTRUMENTATION***

### ***1.1 Spécifications de la maquette***

Les étapes précédentes ont permis d'effectuer certains choix préliminaires en adéquation avec le cahier des charges. Pour répondre aux besoins de modularité et de simplicité de conception du système, une géométrie de type colonnes verticales a été retenue. La maquette d'étude (Figure III.1), d'un volume de 6,1 L, forme une boucle de circulation airlift, constituée de deux colonnes d'un mètre de longueur et de 60 mm de diamètre, connectées entre elles par des brides d'injection de géométrie variable. L'inconvénient majeur d'une géométrie tubulaire où la circulation du liquide est axiale est d'engendrer au fil du temps un encrassement des parois du tube (biofilm). Afin de pallier ce défaut, une solution technologique simple basée sur un écoulement tourbillonnaire a été étudiée : cette option constitue l'originalité majeure de ce photobioréacteur.

#### ***1.1.1 Nomenclature des pièces de la maquette***

La maquette d'étude réalisée par la société JOUIN SOLUTIONS PLASTIQUES est conçue de façon à conserver une certaine souplesse afin de tester différentes configurations. La maquette est composée de plusieurs pièces dont la nomenclature est définie sur la Figure III.1 où sont situés notamment les tubes ascendant et descendant, les brides supérieure et inférieure et l'injection d'air.

Sa conception permet à la fois de prendre en compte les besoins spécifiques aux études physiques (hydrodynamique) et biologiques (cultures). Les modifications apportées en cours d'études, seront explicitées dans les paragraphes suivants.

#### ***1.1.2 Les colonnes***

Pour faciliter l'évacuation des gaz et limiter l'encombrement au sol, les tubes du photobioréacteur ont une orientation verticale. L'injection d'air en fond de tube crée une différence de poids de colonnes d'eau entre les tubes, mettant ainsi en circulation la phase liquide (principe de l'airlift). La modularité en volume du photobioréacteur sera réalisée par l'adjonction d'une série de tubes verticaux connectés les uns aux autres par des brides

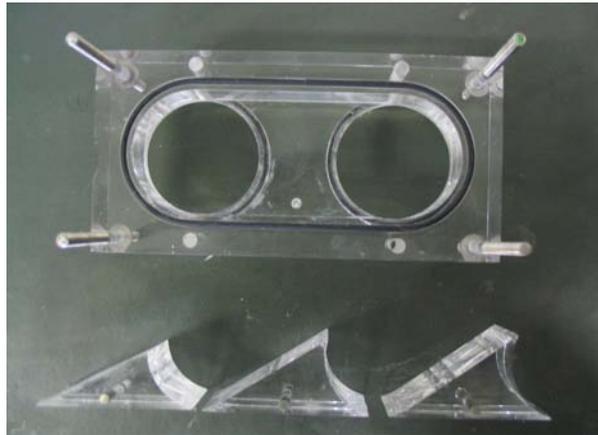


Figure III.2 : Détail d'une bride (moitié inférieure) et prismes de Facteur de Vitesse (FV2, FV4 et FV9 de gauche à droite).



Figure III.3 : Schéma de la bride composée du facteur de vitesse FV4 (vue de dessus).

Tableau III.1 : Dimension de l'extrémité des facteurs de vitesse FV1, FV2, FV4 et FV9.

Facteur de vitesse	FV1 (sans prisme)	FV2	FV4	FV9
Largeur L' (mm)	60	30	15	7,5

Le choix initial de tubes de 1000 mm de hauteur a été retenu pour faciliter le maniement de la maquette mais fera ensuite l'objet d'études pour déterminer la longueur à retenir sur le prototype final.

### *1.1.3 Les brides et les prismes des facteurs de vitesse (FV)*

La génération et l'entretien du mouvement tourbillonnaire sont réalisés en connectant les tubes les uns aux autres par des brides d'injection qui permettent d'introduire la phase liquide tangentiellement en entrée de colonne et donc de générer un mouvement tourbillonnaire (Figure III.2). Elles sont composées de deux pièces formant le corps de la bride (dont l'étanchéité est réalisée par un joint torique) et d'un prisme. Un prisme est une pièce de forme triangulaire, amovible et fixée par un axe central dans chaque bride (Figure III.3). Cette pièce réalisée en plusieurs tailles permet de contrôler la restriction de section en entrée de tube, et donc la vitesse d'injection du fluide dans les tubes afin de générer un mouvement tourbillonnaire plus ou moins intense. Trois facteurs de vitesse (FV) ont été retenus pour les études hydrodynamiques ; ils ont déjà fait l'objet d'études dans d'autres géométries (Pruvost 2000).

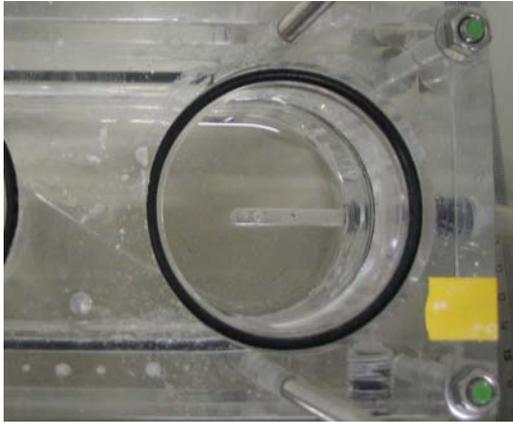
Les facteurs de vitesse retenus sont définis en fonction du rapport entre la vitesse dans l'injection en sortie de bride et celle débitante au sein du tube (Equation III.1). Ils sont égaux à deux, quatre et neuf et respectivement notés FV2, FV4 et FV9.

Le facteur de vitesse FV1 représente la bride sans prisme de restriction, ce qui génère un écoulement axial.

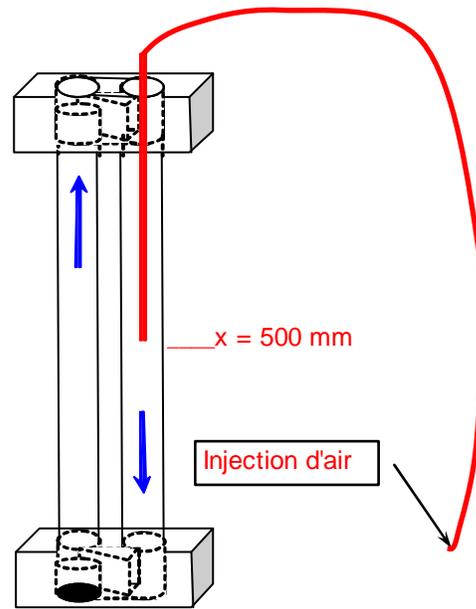
Le facteur vitesse est défini comme suit :

$$FV = \frac{V_{\text{injection en sortie de bride}}}{V_{\text{débitante au sein du tube}}} = \frac{\text{section de passage dans le tube}}{\text{section de l'injection}}$$

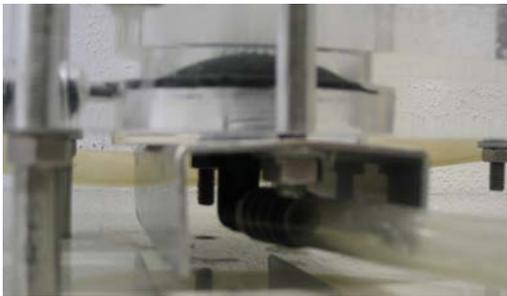
**Equation III.1**



(a)



(b)



(c)



(d)

Figure III.4 : Les différents distributeurs d'air utilisés : central simple ( $x = 0$  mm) (a), central à mi hauteur ( $x = 500$  mm) (b), membranaire (c) et tangentiel (d).

Le Tableau III.1 donne la largeur  $L'$  du passage en sortie de bride laissée par le prisme amovible calculée à l'aide de la relation suivante ;

$$L' = \frac{S}{FV.H}$$

**Equation III.2**

où  $S$  est la surface en entrée de bride ( $\text{mm}^2$ ),  $H$  la hauteur de la bride (mm) et  $R$  le rayon du tube (30 mm). Pour ne pas créer de zone morte ou de recirculation, la hauteur de la bride rectangulaire a été choisie telle que la section  $S$  en entrée soit égale à la section de la colonne, soit  $S = H.2R = \pi R^2$  d'où  $H = \pi R/2 = 47,1$  mm.

#### 1.1.4 Les distributeurs d'air

Différents types de distributeurs d'air ont été testés afin d'évaluer leur impact sur le mouvement tourbillonnaire et sur les transferts gaz-liquide. Quatre modes d'injection sont mis en place (Figure III.4):

- un capillaire horizontal (2 mm de diamètre) centré sur l'axe vertical de symétrie du tube et placé en fond de tube ascendant (CEN),
- un capillaire horizontal (2 mm de diamètre) centré sur l'axe vertical de symétrie du tube mais placé à mi-hauteur du tube à l'aide d'une canule (CEN x = 500 mm),
- une membrane élastique perforée, placée en fond de tube ascendant (MBR),
- un capillaire horizontal (2 mm de diamètre) débouchant tangentiellement à la paroi du tube et situé à la base du tube ascendant (TAN),

L'injection capillaire centrale à mi-hauteur permet d'obtenir des conditions ne « détériorant » le mouvement que sur la partie supérieure du tube ascendant.

L'injection membranaire est séduisante car génératrice de fines bulles homogènes en taille, favorisant les transferts gaz-liquide. Ces membranes sont classiquement utilisées dans le traitement des eaux (Loubière et Hebrard 2003).

La dernière injection, le capillaire placé tangentiellement, vient compléter le panel de distributeurs et offre l'avantage d'accompagner le mouvement tourbillonnaire dès sa création.

En complément, des piquages de 2 mm de diamètre sont percés sur les tubes et sont équipés de façon à amener les nutriments nécessaires à la culture de microalgues (études biologiques). Des orifices sont également percés dans la bride supérieure soit pour permettre la récolte et l'échappement des gaz, soit pour insérer des sondes (pH).

### *1.1.5 Les équipements périphériques de la maquette d'étude*

#### **Régulation du pH et de la température lors des cultures**

Un automate ou un logiciel (utilisant l'interface LABVIEW) contrôle en continu l'injection de CO<sub>2</sub> et permet de réguler le pH (consigne de 7,2). En effet, les équilibres carboniques sont sans cesse modifiés lors de la croissance des microalgues qui, en consommant les espèces chimiques de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> et de CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, tendent à alcaliniser le milieu. Une injection de CO<sub>2</sub> co-courant à l'air, permet de diminuer le pH et ainsi de rééquilibrer ces équilibres.

Les cultures sont menées en chambres thermorégulées, afin d'être maintenue à 27,0 ± 0,2°C.

#### **Régulation du débit d'air**

Les débits d'air sont contrôlés et varient dans une gamme établie entre (0,1 et 1,6) ± 0,2 NI.min<sup>-1</sup>. Le débit d'air est mesuré par un débitmètre à bille (GILMONT 30789 n°13) relié à un manomètre de précision (BOURDON Classe 1 AISI 316L, 1 bar maximum) pour mesurer la pression de travail (nécessaire à la conversion en NI.min<sup>-1</sup>).

#### **Système d'éclairage**

L'éclairage artificiel est réalisé par un mur de lumière composé d'un ensemble de tubes fluorescents alternant les types « lumière du jour » (PHILIPS TLD 58W/865) et les types « GroLux » (SYLVANIA GRO-LUX F58W/GRO-T8). Les tubes sont disposés horizontalement le long d'un mur et espacés de 12 cm ; l'irradiance reçue est fonction du

nombre de tubes allumés et est comprise entre 80 et 400  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . La mesure de l'irradiance de surface est effectuée à l'aide d'un capteur quantique sphérique LI-COR (US-SQQ/L, Heinz Walz GmbH, 91090 EFFELTRICH, Allemagne).

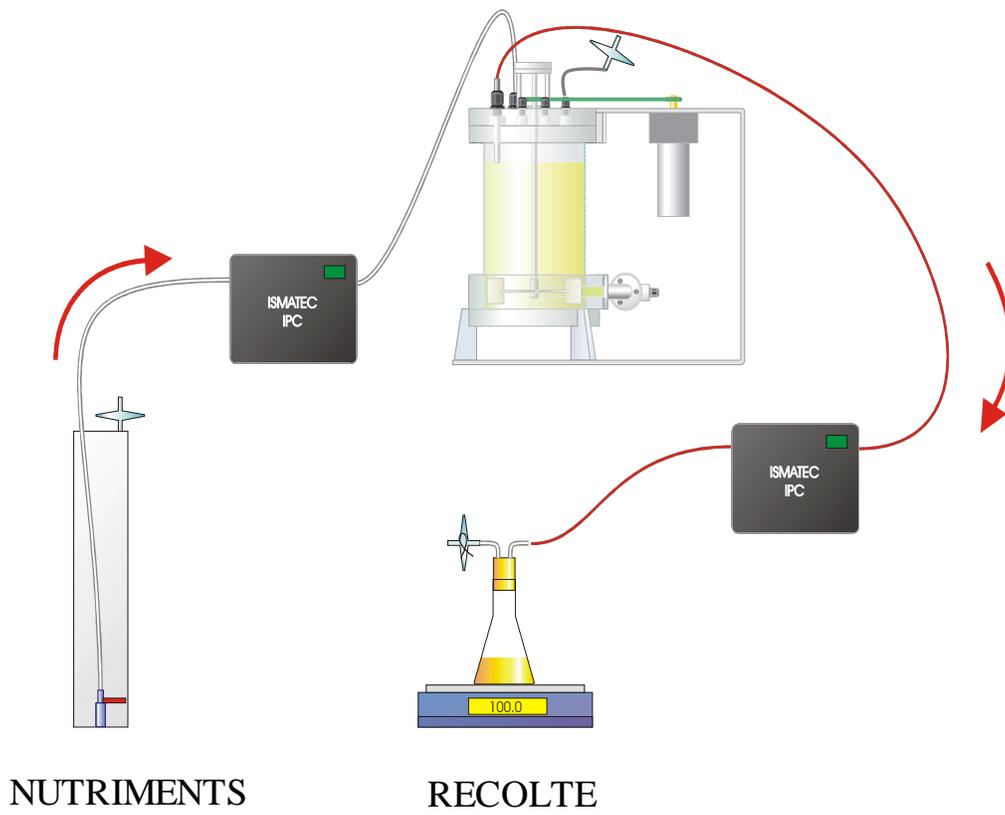


Figure III.5 : Schéma du principe de la culture en continu.

---

## **Chapitre II CULTURES BIOLOGIQUES**

### **II.1 Mise en œuvre des cultures en continu**

#### *II.1.1 Culture en continu : modes chemostat versus turbidostat*

La culture en continu (par opposition à la culture en batch) consiste à maintenir les cellules dans un environnement stable, où l'apport en nutriments est réalisé par une alimentation continue du milieu et où l'excès de milieu réactionnel (biomasse) est généralement soutiré (évacué par surverse). Les bilans de biomasse (X) et de nutriments (S) s'écrivent :

$$\begin{cases} \frac{dX}{dt} = \langle \mu \rangle X - DX \\ \frac{dS}{dt} = -\rho X + D(S_i - S_r) \end{cases} \text{ soit en régime (pseudo)-permanent } \begin{cases} \langle \mu \rangle X = DX \\ \rho X = D(S_i - S_r) \end{cases}$$

**Equation III.3**

avec,  $\langle \mu \rangle$  le taux de croissance moyen dans l'enceinte de culture (en  $j^{-1}$ ), D le taux de renouvellement (défini comme le ratio entre le débit d'alimentation en milieu de culture sur le volume du réacteur Q/V) ou de dilution (en  $j^{-1}$ ),  $\rho$  l'absorption en nutriment ( $\text{mol.cell}^{-1}.j^{-1}$ ),  $S_i$  le substrat en entrée et  $S_r$  le substrat résiduel ( $\text{mol.l}^{-1}$ ).

Deux modes de culture en continu (Figure III.5) peuvent être appliqués :

#### **Fonctionnement continu en mode turbidostat :**

L'équilibre de la culture est ici contrôlé par la turbidité, ou la concentration cellulaire dans le milieu de culture. Un capteur (photodiode) sensible à la longueur d'onde de 680 nm (maximum d'absorption de la chlorophylle *a*) permet de mesurer la turbidité. Dès que le signal reçu via le capteur dépasse la consigne fixée, la culture est diluée (régulation MLI) grâce à l'ajout de milieu par une pompe péristaltique asservie (Ismatec ISM827) : le taux de dilution est ainsi ajusté. Dans le cadre expérimental, la température, le pH et l'irradiance étant fixés, il est possible d'avoir accès au taux de croissance de l'algue cultivée.

### **Fonctionnement continu en chemostat :**

Dans ce cas, un taux de renouvellement fixe est imposé grâce à un débit maintenu constant de la pompe d'alimentation (pompe péristaltique STEPDOS). Une fois l'équilibre de la culture atteint, la concentration cellulaire devient une constante. En fixant les autres paramètres expérimentaux (température de  $27,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$ , pH de  $7,2 \pm 0,1$  et irradiance de  $260 \pm 10 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), il est alors possible d'avoir accès à la biomasse produite dans ces conditions définies.

Dans les deux modes, une fois la culture à l'équilibre (régime permanent), le taux de croissance spécifique de la microalgue est égal au taux de renouvellement. Donc, en connaissant le volume du photobioréacteur, le volume et le temps de récolte (surverse), un calcul simple donne le taux de croissance spécifique moyen :

$$\langle \mu \rangle = \frac{V_{surverse} / \Delta T_{surverse}}{V_{photobioréacteur}}$$

**Equation III.4**

#### ***II.1.2 Microalgue et milieu utilisés***

La culture de la microalgue, *Isochrysis affinis galbana* (CCAP 927/14), dite t-Iso, originaire de la culture et collection phytoplanctonique d'Oban (Ecosse) est entretenue au laboratoire PBA par repiquages successifs dans des erlenmeyers de 250 ml contenant 150 ml d'eau et 1,5 ml de milieu nutritif de Conway (Annexe N°2).

L'eau de mer utilisée pour les cultures de microalgues provient de la zone côtière de Saint Malo. Avant d'être utilisée, elle est vieillie à l'obscurité un mois au minimum puis filtrée à  $0,45 \mu\text{m}$  puis  $0,22 \mu\text{m}$  (filtres SARTORIUS). Le milieu nutritif des algues est composé d'eau de mer et de milieu de Conway stérilisé par autoclavage (Annexe N°2) utilisé dans les écloséries et les laboratoires au dosage standard de 1 mL par litre d'eau de mer ( $C^*_1$ ).

Les photobioréacteurs utilisés sont stérilisés pendant 20 min par une solution d'acide peroxyacétique, dosée entre 5 et 20‰, puis ils sont inoculés en microalgues (culture issue de l'algothèque LPBA) à une concentration comprise entre  $10^6$  et  $10^7 \text{ cell.ml}^{-1}$ .

---

## **II.2 Suivi de la croissance des cultures**

Le suivi quotidien des cultures est réalisé en prélevant un échantillon dont l'absorption est mesurée à 680 nm et 800 nm (résiduel non pigmentaire) à l'aide d'un spectrophotomètre (MILTON ROY GENE-SYS.5). Ce contrôle de l'absorption maximale de la chlorophylle *a* permet de vérifier que la quantité de pigments intracellulaires ne varie pas lorsque les conditions sont stables.

La concentration cellulaire est calculée par un dénombrement automatique (analyse d'images). Pour cela, les cellules sont fixées à l'aide de lugol et sont disposées sur une cellule de Malassez. Le logiciel d'analyse d'images utilisé a été développé sous l'environnement SAMBA (Samba Technologies, Meylan, France) par Le Déan et Gautier (1991). Le coefficient de variation de cette méthode est estimé à moins de 6% (Bougaran *et al.* 2003).

Une analyse par chromatographie ionique (DX500 *DIONEX* colonne AS9-HC) permet de mesurer les concentrations résiduelles en nitrates, phosphates, chlorures bromures et sulfates au moment de la récolte (les seuils de détection sont :  $8.10^{-6}$  mol.l<sup>-1</sup> pour NO<sub>3</sub><sup>-</sup> et  $10^{-5}$  mol.l<sup>-1</sup> pour HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) ; cela permet de vérifier que la culture ne croît pas dans des conditions limitantes en nutriments. Lorsque la concentration cellulaire devient importante dans le photobioréacteur, les nutriments du milieu nutritif sont susceptibles d'être totalement consommés ; le milieu de Conway est dans ce cas doublé ou triplé (C\*<sub>2</sub> ou C\*<sub>3</sub>) (Annexe N°2).

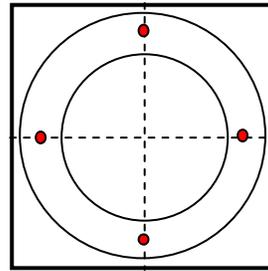
## **II.3 Configurations d'étude dans la maquette**

Des cultures de t-Iso ont été réalisées en continu pour deux configurations de facteur de vitesse : FV1 (écoulement axial) et FV4 (écoulement tourbillonnaire). Dans les deux cas, le distributeur d'air est de type capillaire tangentiel (TAN) et le débit d'air est fixé à 0,74 Nl.min<sup>-1</sup>. Le mode chemostat est utilisé avec un taux de renouvellement fixé à 0,36 j<sup>-1</sup>.

Les paramètres fixés et contrôlés quotidiennement sont : le pH ( $7,2 \pm 0,1$ ), la température ( $27,0 \pm 0,1$ °C) et le flux incident ( $260 \pm 10$  μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>).



a



b

Figure III.6 : Photobioréacteur torique (a) et schéma des points de mesure retenus pour mesurer l'irradiance en son sein (b).

---

La culture est considérée à l'équilibre à partir du moment où les constantes de croissance ( $\mu$ , absorption à 680 et 800 nm, quantité de cellules) sont stables, soit pour un intervalle de confiance (IC 95%) de l'absorption inférieur à 10%, après une dizaine de jours environ.

#### **II.4 Détermination du modèle de croissance $\mu=f(G)$**

Cette étude a pour but de déterminer la cinétique de croissance de t-Iso, à savoir la courbe reliant le taux de croissance spécifique  $\mu$  de t-Iso au flux incident ( $G$ ). L'extrapolation de cette courbe  $\mu=f(G)$  permet d'accéder au point de compensation correspondant à une irradiance  $G_c$  définie comme la valeur du flux incident pour laquelle le taux de croissance est nul.

Expérimentalement, des cultures en continu sont conduites en mode turbidostat dans un photobioréacteur d'étude : le photobioréacteur torique (Figure III.6 a), ce photobioréacteur ayant la particularité d'avoir été totalement caractérisé d'un point de vue transfert radiatif (Pottier *et al.* 2005). Les cultures sont menées à une concentration cellulaire faible (fixée à  $10^6$  cell.ml<sup>-1</sup>), les effets d'auto-ombrage étant alors minimisés.

Ce photobioréacteur est équipé de matériel d'acquisition complet permettant de suivre en ligne différentes grandeurs physiques à l'aide d'un capteur de température intégré (modèle LM35), d'une sonde pH (type METLER-TOLEDO InPro 4800/225/PT100), d'un capteur de débit de gaz et d'un capteur d'atténuation optique composé de photodiodes. Ces capteurs reliés à une carte d'acquisition (PCI 6023E National Instrument) sont contrôlés via un logiciel d'acquisition/ régulation (Exploralgue, développé sous l'environnement LABVIEW VI par le laboratoire PBA).

Le photobioréacteur est placé sur des rails afin de maîtriser la distance entre la surface plane du photobioréacteur et la rampe de dix tubes fluorescents (OSRAM L13W/954 de 16 mm de diamètre, espacées de 3,5 cm). Le flux incident arrivant sur la surface du réacteur est ainsi facilement modifié, il varie entre  $15 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (à l'aide de filtres grillagés) et  $400 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

Lorsque le réacteur est vide, le flux incident est mesuré en son sein (derrière la paroi de plexiglas épaisse de 2 cm) à l'aide du capteur quantique sphérique (LI-COR, US-SQQ/L,

Heinz Walz GmbH, 91090 EFFELTRICH, Allemagne). Une moyenne est réalisée à partir de quatre points de mesure (Figure III.6 b), pour différents filtres utilisés (grillages) et positions repérées sur les rails.

Un « abaque » du flux incident reçu par les algues est alors établi, permettant ainsi de positionner et d'exposer le photobioréacteur en cours de culture à l'irradiance désirée.

La culture en mode continu turbidostat est suivie pendant plusieurs semaines dans le photobioréacteur torique. Dès que les constantes de croissance sont stabilisées, le flux incident peut alors être modifié. Pour chaque équilibre (irradiance incidente), le taux de croissance est déterminé via le poids et le temps de récolte.

---

### ***Chapitre III TRANSFERT RADIATIF***

La conversion de l'énergie lumineuse en énergie utilisable pour la croissance des microalgues dépend du métabolisme photosynthétique de l'algue mais aussi de la quantité de lumière qu'elle reçoit, paramètre-clé lorsqu'il s'agit de modéliser la productivité en photobioréacteur.

#### ***III.1 Prédiction de la productivité en photobioréacteur***

Le bilan de matière donné par l'Equation III.3 permet de décrire l'évolution de la concentration en biomasse dans le photobioréacteur en fonction des termes d'entrée, de sortie et d'accumulation. En régime (pseudo-) permanent, le terme d'accumulation ( $dX/dt$ ) étant nul, la productivité ( $\text{cell.l}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) s'exprime selon :

$$P = \langle \mu \rangle X$$

**Equation III.5**

où  $\langle \mu \rangle$  désigne le taux de croissance moyen ( $\text{j}^{-1}$ ) dans l'enceinte de culture et  $X$  la concentration en biomasse, exprimée ici en nombre de cellules par litre de culture ( $\text{cell.l}^{-1}$ ).

Dans le cas d'une croissance suivant celle liée à la photosynthèse, le taux de croissance  $\mu$  est fonction de l'irradiance reçue. Or, en photobioréacteur, les microalgues absorbant et diffusant la lumière, le champ radiatif est hétérogène et d'autant plus que la concentration est élevée. Pour calculer le taux de croissance moyen  $\langle \mu \rangle$ , il est donc nécessaire de déterminer préalablement la distribution de l'irradiance ( $G$ ) le long de la profondeur de culture (profil d'atténuation) par un modèle de transfert radiatif. Le couplage avec un modèle de croissance liée à la photosynthèse permet ensuite d'accéder à la cinétique locale de croissance ( $\mu=f(z)$  à  $q_0$  donné), et donc au taux de croissance moyen  $\langle \mu \rangle$  dans la culture nécessaire au calcul de la productivité.

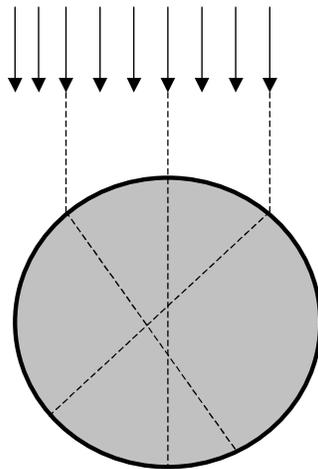


Figure III.7 : Schéma illustrant le changement de direction des rayons lumineux au passage de la courbure du tube lorsque la direction incidente est unique.

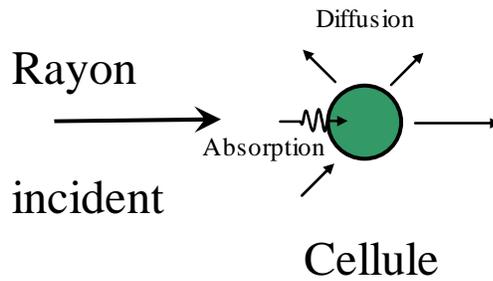


Figure III.8 : Schéma illustrant l'absorption et la diffusion de l'irradiance incidente par une cellule algale.

---

### ***III.2 Prédiction du transfert radiatif : modèle à deux flux***

Pour une concentration donnée en biomasse, le champ d'irradiance au sein d'un photobioréacteur est fonction de la géométrie du réacteur, des sources lumineuses employées, et des propriétés optiques de la culture. La modélisation du champ d'irradiance au sein d'un photobioréacteur repose classiquement sur l'hypothèse d'atténuation monodimensionnelle (Pottier 2005) dans laquelle le profil d'irradiance est fonction d'une direction unique, à savoir la profondeur de culture (perpendiculaire à la surface frontale éclairée).

Dans le cas d'une géométrie tubulaire éclairée (Figure III.7), le problème est toutefois plus complexe, du fait du dioptre optique créé par la paroi courbe et de la différence d'indices optiques entre l'air et le milieu de culture (indice de l'eau). Il s'en suit un changement de direction des rayons lumineux incidents (phénomène de réfraction).

Ce type de géométrie étant relativement courant, quelques exemples de représentation du champ radiatif existent dans la littérature (Cornet *et al.* 1995; Acien Fernandez *et al.* 1997; Molina Grima *et al.* 2003; Kojima et Lin 2004). Toutefois, la plupart de ces études négligent un aspect important du transfert radiatif au sein d'une culture de microorganismes photosynthétiques, à savoir le phénomène de diffusion de la lumière.

L'atténuation de la lumière dans le réacteur est en effet un phénomène difficile à caractériser. Elle est fonction de l'absorption proprement dite de la culture, elle-même fonction de la concentration en biomasse et de la pigmentation, mais aussi de la diffusion (réflexion, réfraction) de lumière par la présence même des cellules (particules diffusantes, Figure III.8) au sein du milieu liquide homogène.

La diffusion dépend de la taille des cellules et de leur forme. La non prise en compte des phénomènes de diffusion mène à des erreurs importantes de détermination du champ radiatif dans le cas de solutions concentrées, comme celles rencontrées en photobioréacteur (Pottier *et al.* 2005). Ce dernier phénomène est cependant difficile à considérer, notamment dans le cas de géométries complexes telles qu'un réacteur tubulaire éclairé. En effet, pour faire le couplage avec la cinétique de croissance liée à la photosynthèse, le modèle radiatif doit rester relativement simple, pour conserver des

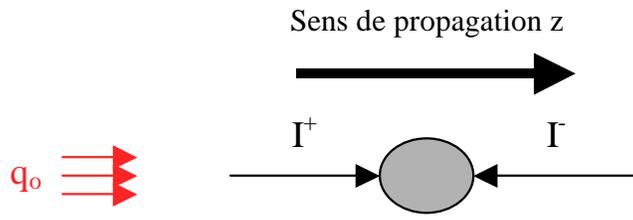


Figure III.9 : Représentation schématique du modèle à deux flux avec le sens de propagation du flux lumineux ( $\Gamma^+$ ) et sa partie rétrodiffusée ( $\Gamma$ ).

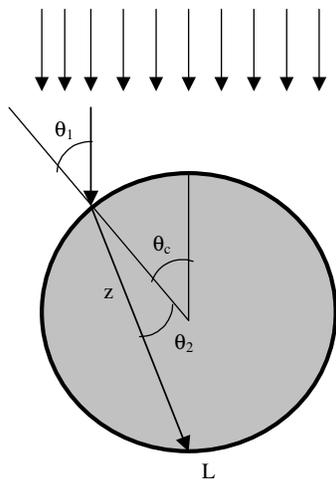


Figure III.10 : Schéma illustrant le changement de direction des rayons au passage de la courbure du tube (relation Fresnel-Descartes).

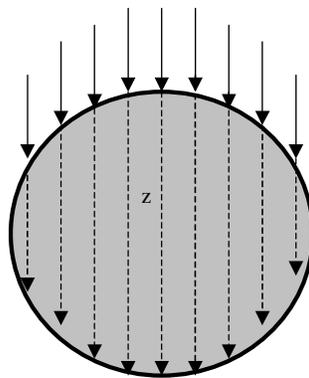


Figure III.11 : Schéma représentant des directions de rayons incidents inchangées au passage de la courbure du tube (ne prenant pas en compte la réfraction après le passage de la paroi courbe).

temps de calculs acceptables. Le modèle à deux flux permet d'apporter ce compromis, les résultats obtenus étant très satisfaisants pour les cultures de microorganismes photosynthétiques (Cornet *et al.* 1995). Il considère explicitement et de façon séparée la diffusion et l'absorption du milieu. La méthode ayant été développée par ailleurs, seules les principales étapes de son application sont présentées ci-dessous.

Ce modèle repose sur l'hypothèse de l'atténuation monodimensionnelle introduite précédemment. La propagation de la lumière est ainsi considérée suivant un axe z unique, mais dans deux directions opposées ( $I^+$  et  $I^-$ ) afin de prendre en compte la partie rétrodiffusée du flux lumineux ( $I^-$ ) (Figure III.9).

Finalement, si on suppose un flux lumineux collimaté, le système à résoudre est le suivant (Schuster 1905) :

$$\begin{cases} \frac{dI^+}{dz} = -E_a X I^+ - bE_s X (I^+ - I^-) \\ \frac{dI^-}{dz} = E_a X I^- - bE_s X (I^+ - I^-) \end{cases}$$

**Equation III.6**

où b est la fraction rétrodiffusée de la lumière par la cellule (sans dimension),  $E_a$  le coefficient massique d'absorption ( $m^2.kg^{-1}$ ) et  $E_s$  le coefficient massique de diffusion ( $m^2.kg^{-1}$ ).

Une fois les conditions limites fixées (voir ci-après), la résolution donne  $I^+$  et  $I^-$ , avec le flux d'irradiance G à la profondeur z dans la culture donnée simplement par :

$$G(z) = I^+ + I^-$$

**Equation III.7**

Pour l'application au photobioréacteur tubulaire étudié, une adaptation est nécessaire. Le modèle à deux flux repose sur une direction unique d'un rayon lumineux. Compte tenu de la réfraction, ceci n'est pas le cas. Il est toutefois possible en utilisant la relation de Fresnel-Descartes pour la réfraction de déterminer des directions principales au sein de la culture pour chaque rayon lumineux impactant sur la surface optique du réacteur (Figure III.9). Cela suppose toutefois que le flux lumineux soit collimaté.

Dans le cas pratique, cette hypothèse ne sera pas forcément vérifiée (éclairage externe relativement diffus). Compte tenu de l'objectif du modèle qui est de prédimensionner l'installation, cette modélisation sera toutefois retenue, la différence entre l'hypothèse d'un flux collimaté et d'un flux diffus au sein de la culture ne menant pas à des écarts importants dans la résolution du champ radiatif (Pottier et al. 2005).

Les conditions aux limites nécessaires au modèle à deux flux (Equation III.6) sont les suivantes :

$$\begin{cases} z = 0 & I^+ = q_0(\theta_c) \\ z = L & I^- = 0 \end{cases}$$

**Equation III.8**

où L représente le trajet optique de chaque rayon incident (ici le rayon du tube).

Il est donc nécessaire de connaître les valeurs des flux lumineux aux frontières de la géométrie tubulaire  $q_0(\theta_c)$  (Figure III.10). A cette fin, pour différents flux incidents, ces valeurs ont été déterminées expérimentalement, par l'utilisation d'un capteur quantique sphérique de 3 mm de diamètre (LI-COR, US-SQQ/L, Heinz Walz GmbH, 91090 EFFELTRICH, Allemagne). Il est placé contre la paroi intérieure du tube à différentes positions  $\theta_c$  sur la demi-périphérie éclairée du réacteur ( $\theta_c$  compris entre  $-\pi/2$  et  $\pi/2$ ). Ces mesures permettent de limiter les erreurs, notamment sur la prise en compte d'un rayonnement collimaté (le capteur sphérique intégrant le flux venant de toutes les directions, et donc la part diffuse de ce flux).

Une fois les valeurs du flux incident  $q_0(\theta_c)$  connues, le champ d'irradiance peut donc être calculé pour chaque direction principale (z) définie par  $\theta_2$  (Figure III.10), calculé par la loi de Fresnel-Descartes :

$$n_1 \cdot \sin \theta_1 = n_2 \cdot \sin \theta_2$$

**Equation III.9**

où  $n_1$  est l'indice optique de l'air (1), l'indice optique de l'eau ( $n_2 = 1,33$ ),  $\theta_1$  et  $\theta_2$  les angles définis sur la Figure III.10.

La face arrière du photobioréacteur étant totalement transparente, la solution analytique de l'Equation III.6 est la suivante :

$$G(z) = 2q_0(\theta c) \frac{(1 + \alpha) e^{\delta(L-z)} - (1 - \alpha) e^{-\delta(L-z)}}{(1 + \alpha)^2 e^{\delta L} - (1 - \alpha)^2 e^{-\delta L}}$$

Equation III.10

avec le module de réflexion linéaire  $\alpha = \sqrt{\frac{E_a}{(E_a + 2bE_s)}}$  et le coefficient d'extinction

$$\delta = X\sqrt{E_a(E_a + bE_s)}$$

$E_a$ ,  $E_s$  et  $b$  sont caractéristiques des propriétés optiques de l'algue cultivée. Si ces paramètres sont connus, l'application de l'Equation III.10 sur chaque direction principale d'atténuation permet de déterminer le champ d'irradiance au sein de la culture. Dans le cas où des directions principales se croisent (Figure III.7), les irradiances obtenues en un même point sont sommées.

Afin de mettre en évidence l'intérêt de prendre théoriquement en compte la réfraction au passage de la paroi courbe, une comparaison sera réalisée avec une représentation plus simple considérant que la direction des rayons incidents est inchangée au passage de la paroi courbe (Figure III.11).

### **III.3 Détermination des propriétés optiques des microalgues t-Iso**

Les paramètres optiques  $E_a$ ,  $E_s$  et  $b$  nécessaires au modèle à deux flux peuvent être calculés de façon théorique, en se basant notamment sur la théorie de Lorenz-Mie. Cette méthode totalement prédictive a été présentée et validée par ailleurs (Pottier 2005).

Appliquée ici au cas de la microalgue t-Iso, elle nécessite de connaître sa composition pigmentaire, sa taille et sa forme. De façon analogue à *Chlamydomonas reinhardtii* (Pottier *et al.* 2005), les cellules de t-Iso, de forme ovoïde, peuvent être assimilées à des sphères de 5  $\mu\text{m}$  de diamètre (déterminé par analyse d'images).

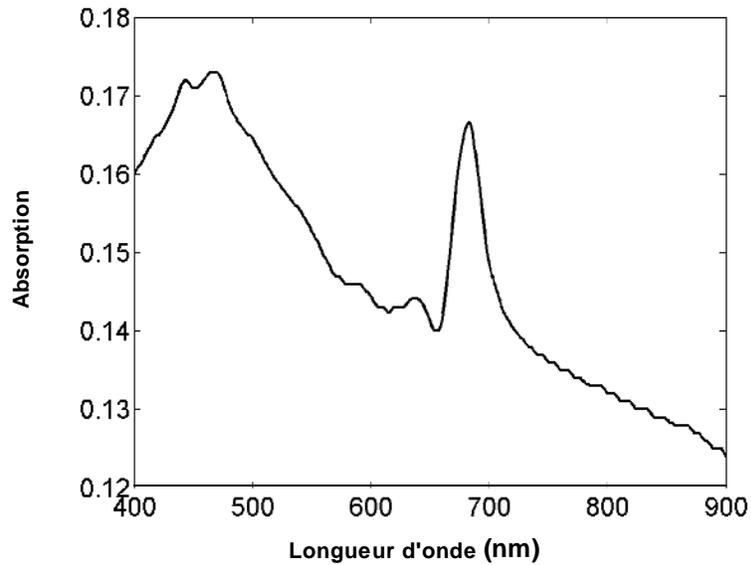


Figure III.12 : Spectre d'absorption de la microalgue t-Iso mettant en jeu les pigments photosynthétiques (Chl *a* : 450 et 680 nm) et photoprotecteurs (carotènes et xanthophylles : 480-500 nm).

Tableau III.2 : Concentration pigmentaire de t-Iso (culture CSIRO N° CS-177), déterminée par HPLC (Green et Leadbeater 1994) et classé selon Jeffrey et Wright (1994) en pigments photosynthétiques et photoprotecteurs.

Type de pigments	Concentration pigmentaire (ng.ml <sup>-1</sup> de culture)
Pigments photosynthétiques (PPS)	
Chl <i>a</i>	422
Chl <i>c1 + c2</i>	129
Fucoxanthine	399
Caroténoïdes photoprotecteurs (CPP)	
Carotènes	15
Diadinoxanthine	78
Diatoxanthine	4,4

---

Le spectre d'absorption de t-Iso (Figure III.12) met en évidence le deuxième pic d'absorption à 680 nm caractéristique de la chlorophylle *a*, le premier pic (Chl *a*) caractéristique situé à 450 nm est difficilement observable car confondu avec les maximum d'absorption correspondant aux pigments de la famille des carotènes et des xanthophylles situés entre 450 et 500 nm.

La composition pigmentaire de la microalgue flagellée t-Iso est donnée dans le Tableau III.2. Son équipement pigmentaire est composé de deux types de pigments (Jeffrey et Wright 1994) : les pigments photosynthétiques (PPS), permettant de capter l'énergie lumineuse, et les caroténoïdes photoprotecteurs (CPP) protégeant la cellule des radiations susceptibles de détériorer sa physiologie interne et son intégrité.

Les pigments assimilateurs (chlorophylles *a*, *b*, *c* et autres pigments assimilateurs accessoires) collectent l'énergie photonique du spectre photosynthétiquement actif (PAR : 400-800 nm) qui est ensuite transmise au centre réactionnel du photosystème II (PSII ou P680). Ce PSII initie alors la première réaction d'oxydo-réduction de l'activité photochimique en cédant un électron (via une molécule d'eau, dont l'oxydation s'accompagne d'un dégagement d'oxygène). S'ensuivent, les réactions en chaîne de la photosynthèse mettant en jeu le deuxième photosystème (PSI ou P700) et créatrices d'énergie chimique (à l'aide du couple redox  $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ ) et d'ATP nécessaire à la croissance de l'algue.

La concentration en chlorophylle étant également connue (Green et Leadbeater 1994) en masse par cellule ( $0,154 \text{ pg.cell}^{-1}$ ), il est possible de déterminer son pourcentage massique (Tableau III.3), en utilisant la masse moyenne d'une cellule de t-Iso. Elle a été déterminée à 7,64 pg par dosage de la matière sèche d'une culture de t-Iso dont la concentration cellulaire avait été mesurée préalablement (Annexe N°3).

Tableau III.3 : Pourcentages massiques en pigments utilisés pour calculer les propriétés optiques de la microalgue t-Iso.

Type de pigment	Pourcentage massique
Chl <i>a</i>	2,0%
Chl <i>c</i>	0,6%
Autres pigments photosynthétiques (Fucoxanthine)	1,9%
Caroténoïdes de protection (Diadinoxanthine, Diatoxanthine et carotènes)	0,5%

---

Le Tableau III.3 résume la composition pigmentaire de t-Iso et les pourcentages massiques associés ; les données étant recalculées à partir de la littérature du Tableau III.2 (Green et Leadbeater 1994). Ces données seront utilisées pour déterminer les propriétés optiques de la microalgue t-Iso, données d'entrée du modèle à deux flux (Pottier *et al.* 2005).

La composition pigmentaire de t-Iso révèle que la chlorophylle *a* est le pigment majoritaire, que son bagage pigmentaire ne comporte pas de chlorophylle *b* et que les pigments de protection sont en plus faible proportion (0,5%) que les pigments photosynthétiques (4,5%).

Pour chaque microalgue considérée, la composition pigmentaire est spécifique à l'espèce. A titre d'exemple, voici la composition pigmentaire de *Chlamydomonas reinhardtii* PPS (Chl *a* : 1,4%, Chl *b* : 0,7%), CPP (0,4% de néoxanthine, linoxanthine, violaxanthine, anthéroxanthine, zéaxanthine, lutéine et  $\beta$ -carotène) (Pottier *et al.* 2005).

Au final, selon la méthode de Pottier et al (2005), les propriétés optiques de t-Iso obtenues sont :

$E_a = 293 \text{ m}^2.\text{kg}^{-1}$  (coefficient massique d'absorption)

$E_s = 757 \text{ m}^2.\text{kg}^{-1}$  (coefficient massique de diffusion)

$b = 0,01162$  (fraction rétrodiffusée)

#### **III.4 Détermination expérimentale des profils d'irradiance**

Les mesures d'irradiance à l'intérieur du tube sont réalisées à l'aide d'un capteur quantique sphérique de 3 mm de diamètre (LI-COR, US-SQQ/L, Heinz Walz GmbH, 91090 EFFELTRICH, Allemagne), équipé d'un boîtier de mesure LI-250. La forme sphérique du capteur permet d'intégrer les flux de photons provenant de toutes les directions et de prendre en compte le spectre photosynthétiquement actif (PAR) (Pottier *et al.* 2005). Les mesures sont effectuées à différentes positions radiales *r* depuis la paroi du tube, dans trois cas : le tube vide, le tube rempli d'eau de mer et le tube rempli d'une culture dense de t-Iso (concentration de  $16,8.10^6 \text{ cell. ml}^{-1}$ ).

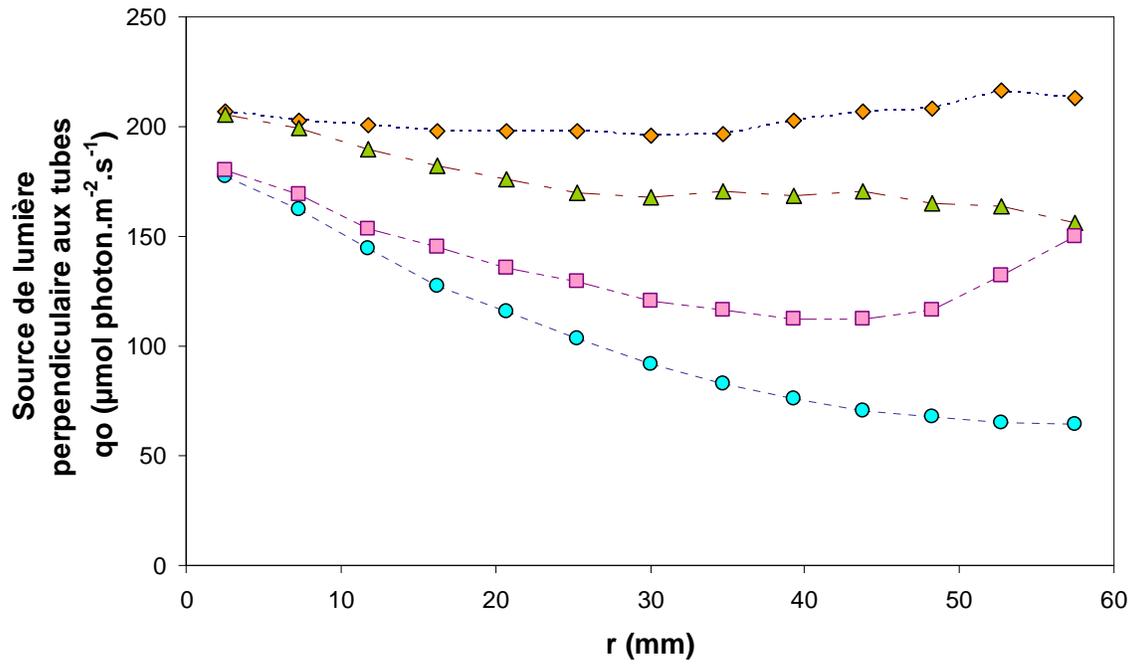


Figure III.13 : Profils d'atténuation de l'irradiance ( $q_0 = 210 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ). Tube vide sans écran (◇), tube vide avec écran (Δ), tube avec culture ( $X = 16,8.10^6 \text{ cell.ml}^{-1}$ ) et sans écran (□), tube avec culture et avec écran (○).

---

Un dispositif permet de déplacer le capteur radialement avec des incréments  $\Delta r = 4,5$  mm entre  $r = 2,5$  et  $57,5$  mm.

Un écran noir tapissant la demi circonférence du tube opposée au flux incident de lumière est utilisé afin d'éviter des réflexions provenant des murs de la pièce.

La Figure III.13 présente, pour un flux incident  $q_0 = 210 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , les profils radiaux d'irradiance obtenus expérimentalement. Les différences observées avec et sans écran mettent en évidence l'influence, sur les irradiances mesurées, des réflexions provenant de l'environnement extérieur au tube. L'atténuation de l'irradiance sous l'effet de la présence de culture algale est également démontrée de manière éclatante ( $X = 16,8.10^9 \text{ cell.l}^{-1}$ ). Ce profil servira en vue d'une comparaison avec le profil prédit par le modèle à deux flux.

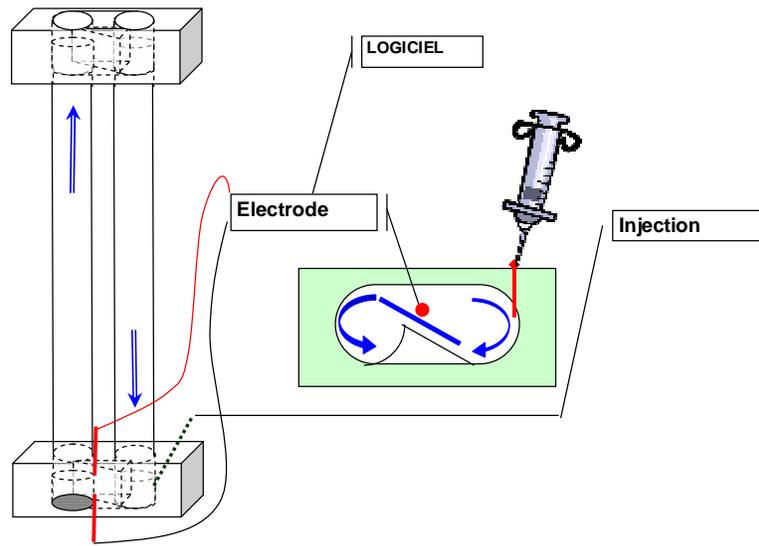


Figure III.14 : Schéma du dispositif de traçage conductimétrique

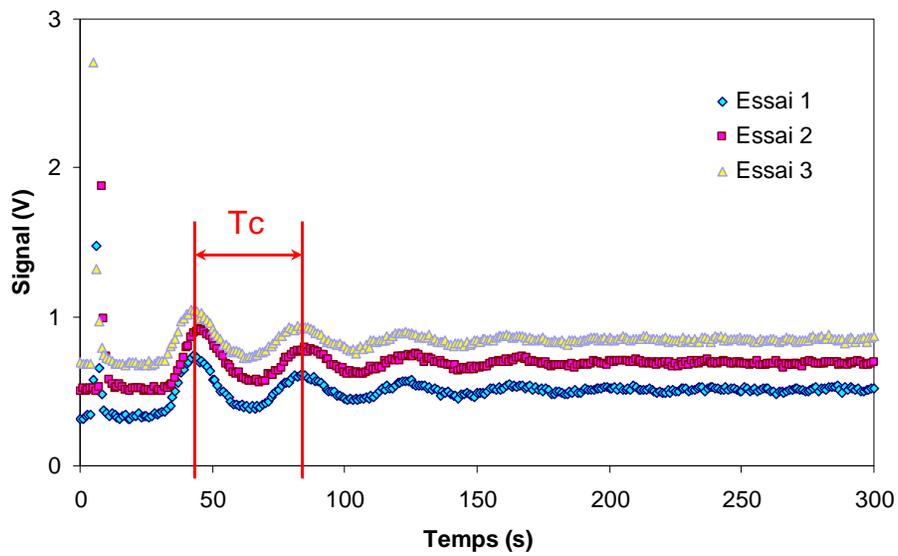


Figure III.15 : Exemple de courbe conductimétrique au sein de la maquette d'étude et temps de circulation  $T_c$  (configuration : distributeur tangential, FV4, débit d'air de  $1,6 \text{ NI} \cdot \text{min}^{-1}$ ).

---

## ***Chapitre IV HYDRODYNAMIQUE ET TRANSFERTS DE GAZ***

Dans un premier temps, le comportement hydrodynamique de la maquette sera caractérisé en terme de vitesse liquide débitante  $\langle U \rangle$  via des traçages conductimétriques. La technique de la PIV a été ensuite mise en œuvre afin (i) de valider la méthode précédente (ii) d'accéder aux profils radiaux des composantes axiale et tangentielle de vitesse (iii) de quantifier l'intensité tourbillonnaire générée et son atténuation. Enfin, les performances d'aération de la maquette seront évaluées via la détermination des coefficients volumiques de transfert de matière gaz-liquide.

### ***IV.1 Traçage conductimétrique***

Le traçage conductimétrique est utilisé ici seulement pour déterminer, à partir des temps de circulation, les vitesses liquides débitantes dans le tube descendant de la maquette. A cette fin, deux fils en inox (jouant le rôle d'électrode et de contre électrode) sont placés au centre de la bride inférieure, de manière affleurante afin de ne pas perturber l'écoulement. Le point d'injection du traceur est situé, en amont, à la base du tube descendant à l'entrée de la bride inférieure (Figure III.14). Le traceur employé est de l'eau de mer (les expériences étant conduites dans de l'eau douce). Il est injecté de manière ponctuelle sous forme d'injection de type impulsion. La détection est assurée par un conductimètre Tacussel (type CD810) délivrant une tension proportionnelle à la conductivité de la phase liquide.

Le suivi de la courbe de traçage permet de visualiser le retour du traceur à chaque passage devant la sonde (Figure III.15). Une succession de pics d'amplitude variable et de période régulière est observée jusqu'à leur atténuation totale caractéristique d'un retour à une phase liquide parfaitement mélangée. Le traitement de ces données donne accès au temps de circulation  $T_C$  (temps séparant deux pics consécutifs) et à la vitesse débitante  $\langle U \rangle$  ( $\text{m.s}^{-1}$ ) selon :

$$\langle U \rangle = \frac{L_c}{T_c} = \frac{V / \pi R^2}{T_c}$$

Equation III.11

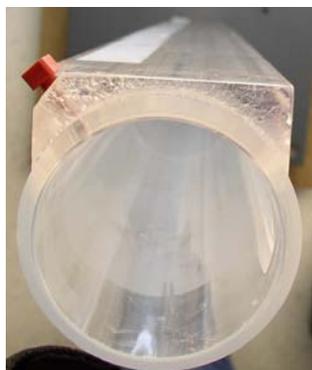


Figure III.16 : Visualisation des faces planes équipant la colonne descendante mises en place pour la PIV.

---

avec,  $L_c$  la longueur moyenne de parcours dans le réacteur (2.32 m),  $T_C$  le temps de circulation (s),  $V$  le volume de la maquette ( $0,0061 \text{ m}^3$ ), et  $R$  le rayon du tube (0,03 m).

Pour chaque condition opératoire, le traçage est répété trois fois.

## ***IV.2 Vélocimétrie par images de particules (PIV)***

### *IV.2.1 Principe de la PIV (Vélocimétrie par Images de Particules) et mesures effectuées.*

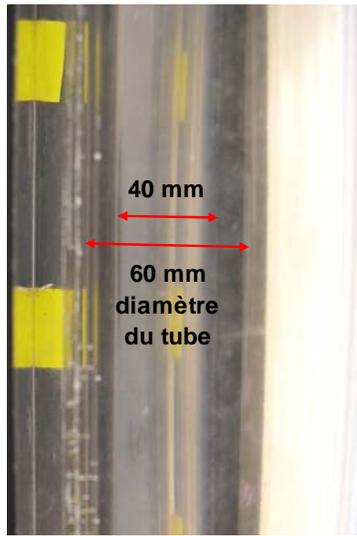
La vélocimétrie par images de particules (PIV) est une technique de mesure non intrusive permettant d'obtenir des champs de vecteurs de vitesse instantanée (Pruvost 2000).

Le principe de la PIV consiste àensemencer la phase liquide à l'aide de particules réfléchissant la lumière, de petites tailles et de densité proche de celle de la phase liquide, jouant ainsi le rôle de traceurs de l'écoulement. Ces particules sont ensuite éclairées par un plan laser dans lequel leur déplacement est visualisé. Des images sont acquises via une caméra placée perpendiculairement au plan laser. En prenant deux images successives de l'écoulement et en corrélant ces images, il est possible d'accéder au déplacement des particules entre ces deux instants, et donc, le temps entre deux prises étant connu, à leur vitesse.

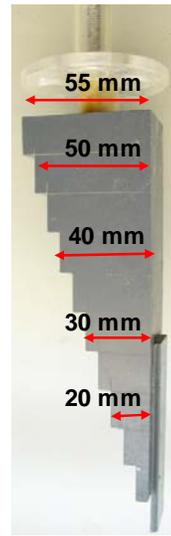
Dans le cas présent, la caractérisation de l'hydrodynamique est conduite seulement sur la colonne descendante dans la mesure où l'injection d'air dans la colonne ascendante perturbe le mouvement généré et rend très délicat le traitement des données PIV. Toutes les études sont réalisées dans l'eau de mer.

### *IV.2.2 Matériels utilisés*

Ces études hydrodynamiques sont effectuées au moyen d'un laser (NEW SOLO I de 120 mJ) de longueur d'onde 532 nm. La maquette a été équipée de faces planes sur toute la hauteur de tube (Figure III.16) pour permettre au laser de balayer la section du tube sans qu'il ne soit dévié par la courbure de la paroi.



(a)



(b)

Figure III.17 : Mires utilisées lors des campagnes de PIV : barre métallique (a) et mire permettant la calibration à différentes positions radiales du plan médian (b).

---

Des particules en polyamide (Dantec Invent 38A2121 PSP-50/ 50  $\mu\text{m}$ ) sont utilisées comme traceurs. Un bon ensemencement est caractérisé par une densité en particules d'un minimum de cinq particules par zone d'interrogation. La visualisation de la zone est réalisée à l'aide d'une caméra (Flow Sense M2/E 8 bit) équipée d'un capteur CCD (Charge Coupled Device) de résolution 1600 x 1186 pixels (7,40 x 7,40  $\mu\text{m}$  par pixel). La coordination entre la prise d'images et l'impulsion du laser est réalisée à l'aide d'un logiciel d'analyse fourni par Dantec Dynamics (Flow Manager software); le tout est envoyé au corrélateur DANTEC PIV 2000 qui traite les images pour en déduire le champ de vecteurs du fluide dans la zone de mesure.

#### *IV.2.3 Calibration*

Préalablement à toutes acquisitions, une mire doit être prise en photo dans le tube rempli d'eau de mer (Figure III.17). Ceci permet de déterminer la calibration propre aux images acquises. La mire utilisée pour la première campagne PIV est une barre métallique de 40 mm de large (Figure III.17 a) positionnée dans le plan médian du tube de diamètre 60 mm. Lors de la seconde campagne PIV, la mire permettant les calibrations à différentes positions radiales dans le tube a été fabriquée sur mesure par la société JSP (Figure III.17 b) : elle est constituée d'une succession de marches de différentes longueurs connues.

#### *IV.2.4 Campagnes de mesure*

La technique PIV utilisée ici permet de mesurer simultanément seulement deux des trois composantes du vecteur vitesse  $\vec{V}$ . La notation choisie est la suivante : la composante axiale est notée U, la radiale V et la tangentielle W (coordonnées cylindriques).

Deux campagnes de mesure ont été effectuées afin de caractériser l'écoulement dans la maquette.

La première campagne de mesure donne accès aux profils radiaux de U en fond de tube et à la vitesse débitante  $\langle U \rangle$ . La seconde campagne de mesure a pour but de caractériser le mouvement tourbillonnaire et sa dégradation sur la longueur de tube (mesure de U et W).

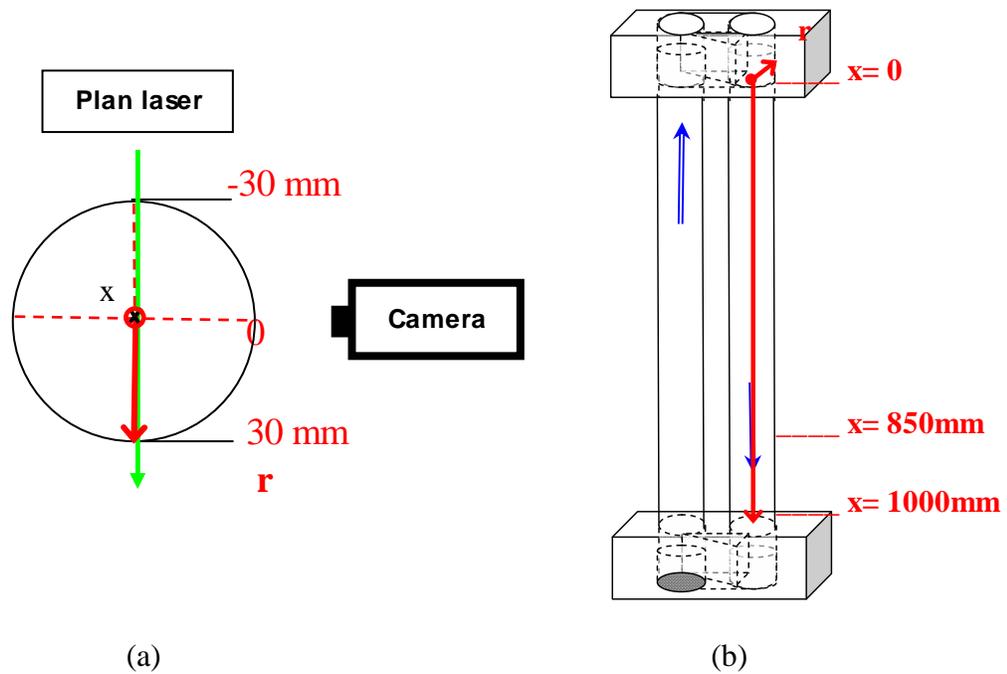


Figure III.18 : Schémas de principe de la première campagne PIV : Vue de dessus (a), Vue de face (b).

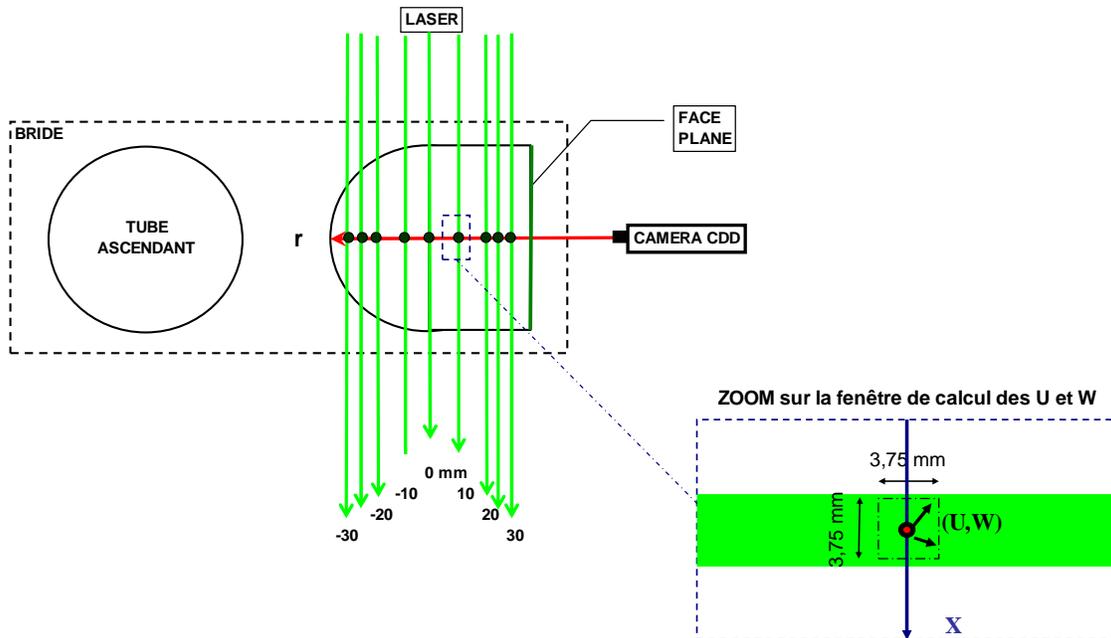


Figure III.19 : Schémas de principe de la deuxième campagne PIV : orientation et disposition de la caméra et du laser ; visualisation des points de mesures réalisés dans le plan médian du tube (intersections entre le faisceau laser et celui de la caméra aux différentes positions radiales).

**Première campagne PIV (vitesse axiale)**

Les champs de vitesse sont ici mesurés dans un plan (r, x) situé dans l'axe de symétrie du tube et en fond du tube à x = 850 mm (Figure III.18).

Lors de cette première campagne, mille clichés sont acquis par configuration testée. Trois types de paramètre varient à savoir :

- le facteur de vitesse (FV2, FV4, et FV9),
- le type de distributeurs d'air (CEN, TAN, CEN x = 500 mm et MBR),
- le débit d'air (six valeurs entre 0,15 à 1,6 Nl.min<sup>-1</sup>).

Par intégration des profils radiaux des composantes axiales U(r), la vitesse débitante <U> peut être calculée en supposant que l'écoulement est axisymétrique (les acquisitions étant réalisées pour une seule position angulaire):

$$\langle U \rangle = \frac{1}{S} \iint_S U \cdot dS = \frac{1}{S} \int_{-0,03}^{0,03} \int_0^{2\pi} U(r, \theta) \cdot dr \cdot d\theta = \frac{2\pi}{\pi R^2} \int_{-0,03}^{0,03} U(r) \cdot dr = \frac{2}{R^2} \int_{-0,03}^{0,03} U(r) \cdot dr$$

Equation III.12

**Deuxième campagne PIV (mouvement tourbillonnaire)**

Les champs de vitesse sont ici mesurés dans des plans (r, x) associés à différentes positions radiales (-30 <r <30 mm) et différentes positions axiales (0 <x <1000 mm) (Figure III.18 et Figure III.19).

Une centaine de prises d'images est réalisée pour chaque condition. Les configurations testées correspondent à deux facteurs de vitesse (FV4 et FV9), à deux types de distributeur d'air (TAN et MBR) et à deux débits de gaz (0,74 et 1,6 Nl.min<sup>-1</sup>).

Cette campagne donne accès aux profils radiaux des composantes axiale U(r) et tangentielle W(r) de vitesse, à différentes hauteurs de tube x.

Les acquisitions ont été réalisées dans des plans (r, x) correspondant à sept positions radiales (r = -25/ -20/ -10/ 0/ 10/ 20/ 25 mm) et à six positions axiales ou hauteurs (x = 0,05/ 0,15/ 0,25/ 0,4/ 0,55/ 0,85 m) (Figure III.18).

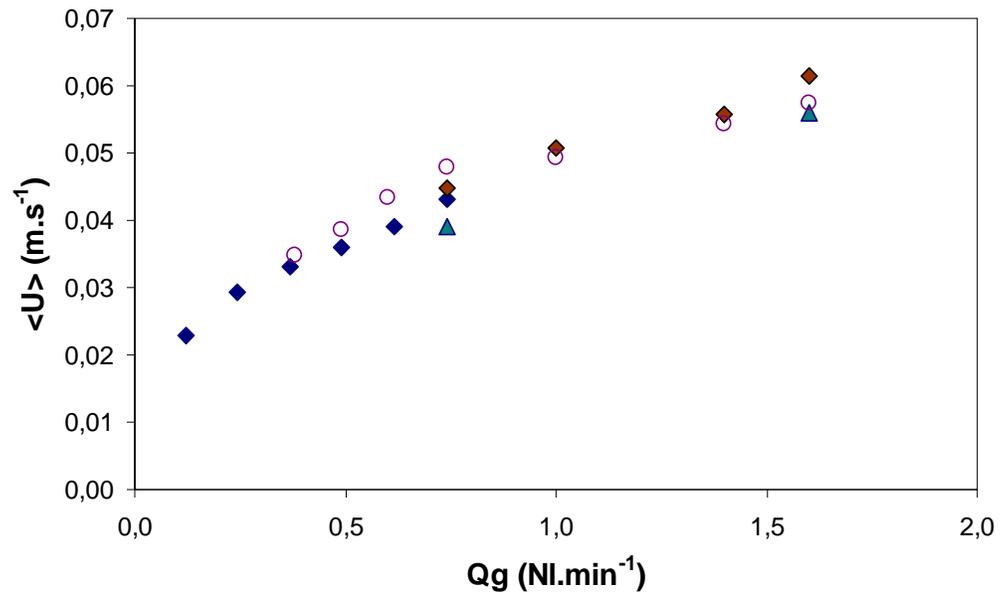


Figure III.20 : Comparaison des méthodes en terme de vitesse débitante  $\langle U \rangle$  au sein de la maquette d'étude (injection d'air tangentielle, facteur de vitesse FV4) : première campagne PIV ( $\diamond$ ), deuxième campagne PIV ( $\Delta$ ), traçage conductimétrique ( $\circ$ ).

---

Il est important de préciser que, au regard des plans de mesure réalisés, les composantes tangentielles de vitesse ne peuvent être connues que dans le plan de symétrie vertical du tube. Sur la Figure III.19, les lieux où elles sont calculées sont représentés par les points noirs situés sur la droite rouge (partant de la caméra). En pratique, les profils radiaux de composante tangentielle vont être obtenus à partir de la reconstitution des données issues des sept plans (r, x) acquis aux sept positions radiales pour une hauteur donnée dans le tube (Figure III.19). Du champ de vitesse obtenu dans un plan (r, x) défini à une position radiale r donnée, la composante tangentielle est extraite au niveau de l'intersection entre l'axe de symétrie vertical du tube et l'axe horizontal correspondant à la hauteur de tube x désirée. Compte tenu de la difficulté à repérer précisément l'axe de symétrie vertical du tube sur les champs acquis, l'intersection précédemment évoquée est élargie à une fenêtre de taille 3,75 x 3,75 mm (Figure III.19). La composante tangentielle de vitesse (à r et x donnés) est calculée comme la moyenne des valeurs obtenues dans cette zone. La reproductibilité des mesures dépend, pour chaque campagne, de la position de la face plane de la maquette par rapport à la normale de la caméra et au parallélisme avec le faisceau laser. Cela devient d'autant plus vrai lorsqu'il y a des changements de configuration et de montage de maquette. C'est pourquoi il a été nécessaire de vérifier systématiquement la verticalité de la maquette et la calibration sur l'image.

#### *IV.2.5 Post Traitement*

Un post-traitement des images acquises est nécessaire pour obtenir les champs de vitesse : il est réalisé via le logiciel FLOW MANAGER®. Seules ses grandes étapes sont mentionnées ici. Un algorithme de corrélation croisée est appliqué avec une taille de fenêtre d'interrogation de 32 x 32 pixels et un recouvrement de 50%. Les vecteurs aberrants (hors gamme) sont éliminés par filtrage (algorithme « Moving average »).

Une fois ces post-traitements achevés pour chaque image, une moyenne statistique est réalisée à partir des N champs instantanés acquis.

### **IV.3 Comparaison des méthodes en terme de vitesse débitante**

Les vitesses débitantes obtenues par les méthodes précédemment évoquées (conductimétrie, 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> campagnes PIV) ont été comparées (Figure III.20).

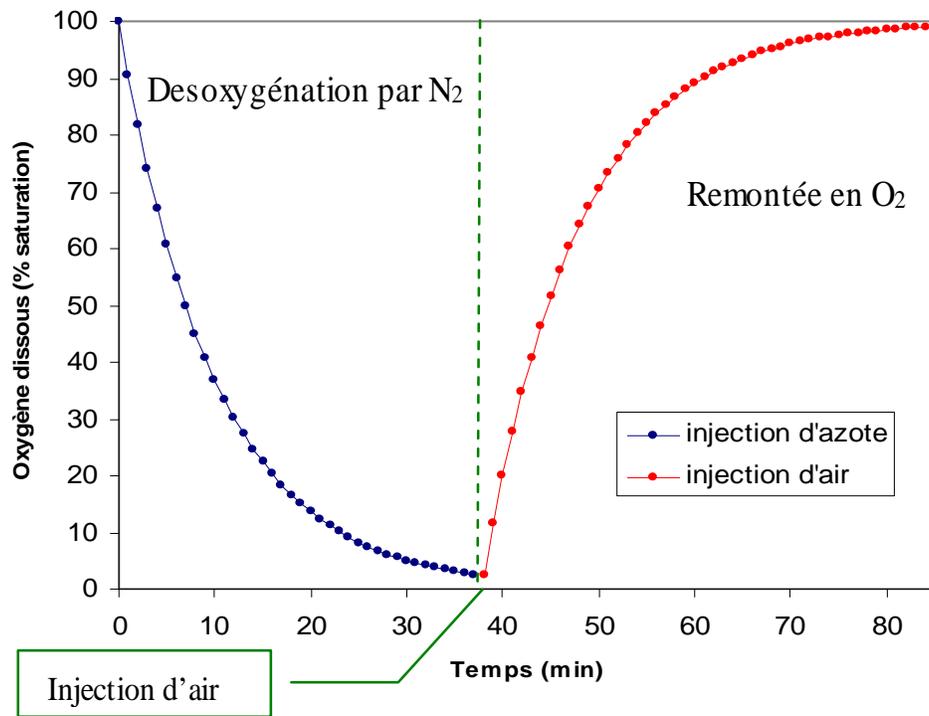


Figure III.21 : Illustration de l'évolution temporelle de la concentration en oxygène dissous lors de la méthode de désoxygénation/réoxygénation.

Cette comparaison est présentée ici seulement pour la configuration de distributeur d'air tangentielle (TAN) et avec le facteur de vitesse FV4 (Figure III.20). L'ensemble des résultats obtenus lors des deux campagnes de PIV et du traçage conductimétrique, sont en bon accord : ce résultat a été validé quelle que soit la configuration considérée.

Les écarts observés sont la conséquence directe des imprécisions de mesure (sur le volume de phase liquide,  $V = 6,1 \pm 0,1$  L pour la conductimétrie) et/ou de calcul (hypothèse d'axisymétrie pour la PIV).

#### ***IV.4 Etude des transferts de matière gaz-liquide***

##### *IV.4.1 Détermination expérimentale du coefficient volumique de transfert de matière gaz-liquide ( $k_L a$ )*

La méthode de désoxygénation/réoxygénation utilisée consiste dans un premier temps, à substituer l'oxygène dissous par de l'azote (étape de désoxygénation du milieu) et, à suivre ensuite la remontée en oxygène après remise en fonctionnement de l'injecteur d'air (Figure III.21).

Le bilan de matière en  $O_2$  dissous lors de la remontée en oxygène conduit à une égalité entre les termes d'accumulation et de transfert de matière gaz-liquide pour un réacteur parfaitement agité :

$$\frac{dC}{dt} = k_L a (C^* - C)$$

**Equation III.13**

où  $C$  est la concentration en oxygène dissous ( $mg.l^{-1}$ ),  $C^*$  la concentration en oxygène dissous à saturation ( $mg.l^{-1}$ ).

En intégrant l'Equation III.13, la relation suivante est obtenue :

$$\ln(C^* - C) = -k_L a (t - t_0) + \ln(C^* - C_0)$$

**Equation III.14**

avec,  $C_0$  la concentration en oxygène dissous au moment où l'air est injecté soit à  $t_0 = 0$ .

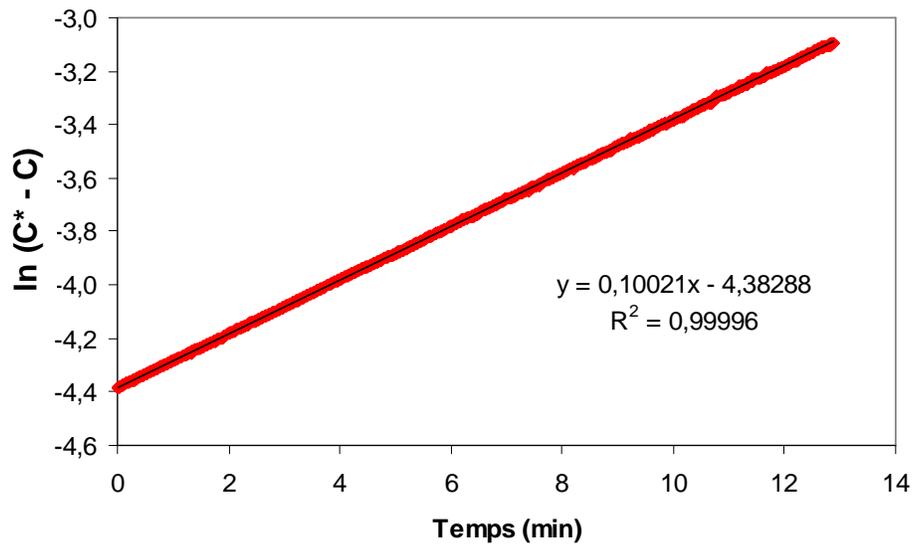


Figure III.22 : Exemple de détermination expérimentale du  $k_L a$  à partir de l'Equation III.14.

---

Le coefficient volumique de transfert en oxygène ( $k_{La}$ ) est déterminé à partir de la pente de la droite reliant  $\ln(C^*-C)$  au temps (Figure III.22). La littérature préconise de calculer cette pente pour les concentrations en oxygène dissous comprises entre 20 et 80% (Roustan 2003).

#### *IV.4.2 Conditions opératoires et matériel utilisé*

Les configurations retenues pour la détermination du coefficient volumique de transfert en oxygène ( $k_{La}$ ) sont les suivantes : trois milieux aqueux (eau douce, eau de mer et milieu de culture), trois facteurs de vitesse (FV1, FV4 et FV9), deux distributeurs d'air (tangentielle et membranaire) et cinq débits d'air.

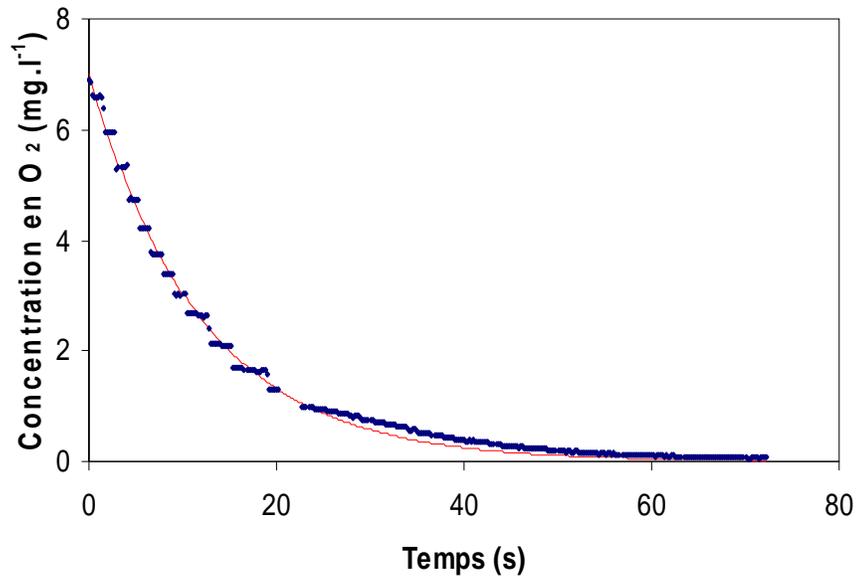
L'oxygène dissous est mesuré à l'aide d'une sonde à oxygène ( $O_2$  InPro 6800) basée sur le principe de l'électrode de Clark à laquelle est associée un transmetteur  $O_2$  4100 (Mettler Toledo). Cette sonde est immergée dans le tube à courant descendant, afin de limiter les perturbations liées aux bulles de gaz.

Les mesures de remontée en oxygène dans la maquette débutent après avoir atteint une concentration en  $O_2$  dissous égale à 10% d'oxygène dissous. Cette dernière à saturation (pour une température de 25°C) est égale à 8,26 mg.l<sup>-1</sup> pour l'eau douce et à 6,9 mg.l<sup>-1</sup> pour l'eau de mer et le milieu de culture (Green et Carritt 1967). Quatre mesures sont effectuées par configuration. Le signal, une fois traité par le logiciel d'acquisition PHYSCOPE V 1.601 (EUROSMART), est converti directement après étalonnage en mg.l<sup>-1</sup> d'oxygène.

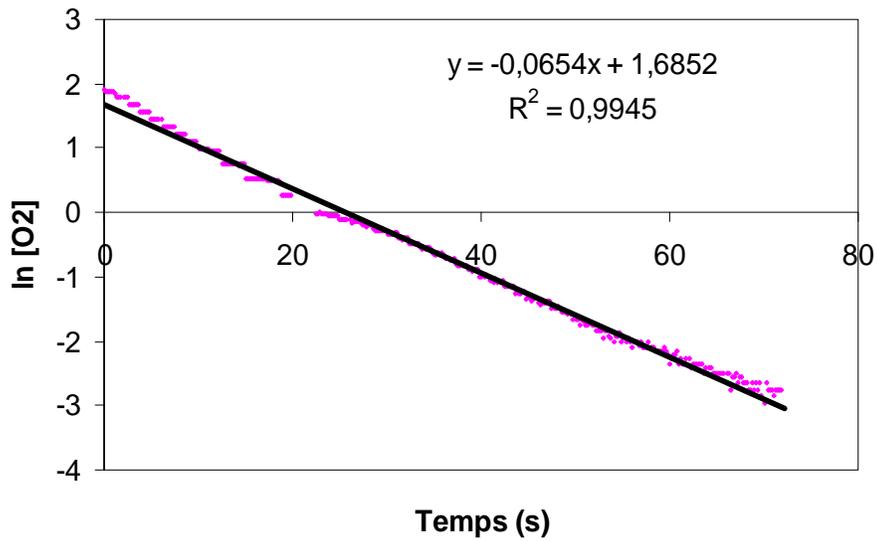
#### *IV.4.3 Vérification des hypothèses associées à la méthode*

Le bilan en oxygène dissous sur lequel repose la méthode de réoxygénation (Equation III.13) est basé sur trois hypothèses:

- 1) un effet négligeable de la dynamique de réponse de la sonde.
- 2) un liquide parfaitement mélangé.
- 3) une composition de la phase gaz constante entre l'entrée et la sortie.



(a)



(b)

Figure III.23 : Réponse de la sonde à oxygène à un échelon de 100% à 0% en  $O_2$  (a) et détermination de la constante de temps de la sonde (b).

Dans un premier temps, la composition de la phase gazeuse est considérée comme inchangée.

La dynamique de réponse de la sonde à oxygène est caractérisée comme suit (Ingham *et al.* 1994) :

$$C_l = C_s + \tau \cdot \frac{dC_s}{dt}$$

**Equation III.15**

avec,  $C_l$  la concentration en oxygène réelle (dans le liquide),  $C_s$  celle au sein de la sonde, et  $\tau$  la constante de temps de la sonde.

L'intégration de l'Equation III.15 conduit à :

$$C_s = C_l \cdot \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right)$$

**Equation III.16**

soit,

$$\ln(C_s) = -\frac{t}{\tau} + \ln(C_l)$$

**Equation III.17**

Pour déterminer expérimentalement le temps de réponse de la sonde, sa réponse à un échelon en  $O_2$  de 100% à 0% est enregistrée (c.a.d. une eau saturée en  $O_2$  à une eau dépourvue en  $O_2$ , Figure III.23).

Une constante de temps  $\tau$  peu différente de 14 secondes est obtenue.

Il est possible de prendre en considération ce temps de réponse de la sonde directement dans le bilan matière en  $O_2$  dissous. Le couplage des deux équations caractéristiques (Equation III.13 et Equation III.15) conduit alors à :

$$\frac{dC_l}{dt} = k_L a (C^* - C_l)$$

**Equation III.18**

D'où,

$$\tau \frac{d^2 C_s}{dt^2} + (1 + \tau k_L a) \frac{dC_s}{dt} = k_L a (C^* - C_s)$$

**Equation III.19**

L'Equation III.19 peut être résolue par la fonction DSOLVE du logiciel MATLAB :

$$\frac{C_s}{C^*} = 1 + \left( \frac{e^{-k_L a t} - k_L a \cdot \tau e^{-\left(\frac{t}{\tau}\right)}}{k_L a \cdot \tau - 1} \right)$$

**Equation III.20**

En appliquant cette équation aux courbes de remontée en oxygène, il est possible de déterminer le  $k_L a$ , en prenant directement en compte le temps de réponse de la sonde.

Cette valeur peut ensuite être comparée à celle obtenue en négligeant le temps de réponse. En considérant les conditions les plus propices au transfert, un écart de 2% est obtenu, ce qui est très faible. Dans les conditions les moins propices au transfert la valeur de  $k_L a$  trouvée reste identique ( $\pm 0,01\%$ ).

Le temps de réponse de la sonde peut donc être considéré comme négligeable devant les temps de transfert.

Dans un deuxième temps, il est nécessaire de s'assurer que le milieu est parfaitement mélangé. En première approximation, le critère classiquement utilisé consiste à vérifier que le produit du  $k_L a$  et du temps de circulation est bien inférieur à 2 (Merchuk *et al.* 1994).

D'après les résultats de traçage conductimétrique, le temps de circulation est de l'ordre de 30 à 40 s (0,5 à 0,67 min). Les valeurs de  $k_L a$  étant toujours inférieures à  $0,82 \text{ min}^{-1}$  ce produit est donc inférieur à 0,6. L'hypothèse d'un comportement parfaitement mélangé est donc valide.

Dans un troisième temps, il faut vérifier que la composition de la phase gazeuse est constante entre l'entrée et la sortie.

---

Pour vérifier cette hypothèse, une méthode consiste à calculer le temps de séjour de l'air et à le comparer au temps de transfert ( $1/k_L a$ ).

Le temps de résidence peut être calculé selon Gourich *et al.* (2006) :

$$t_g = \varepsilon_g \cdot \frac{\Delta H}{U_g}$$

**Equation III.21**

avec,  $t_g$  le temps de résidence du gaz (s),  $\varepsilon_g$  la rétention gazeuse,  $\Delta H$  la hauteur de liquide (m) et  $U_g$  la vitesse superficielle de gaz ( $\text{cm.s}^{-1}$ ).

La rétention gazeuse  $\varepsilon_g$  (rapport entre le volume de gaz et le volume total) ayant été estimée entre 0,04 et 0,1, le temps de résidence est de l'ordre de 1 à 2 secondes. Cette valeur est complètement négligeable devant le temps de transfert qui est toujours supérieur à 1,2 minutes (72 secondes). La variation de composition du gaz peut être négligée et considérée constante lors du passage dans le réacteur.



---

## **PARTIE IV RESULTATS ET DISCUSSION**

L'objet du présent chapitre est de caractériser le photobioréacteur d'étude (maquette) en termes de transferts radiatifs, d'hydrodynamique et de performances biologiques. Ces différentes études ont un double rôle : mettre en évidence les atouts de la géométrie retenue et apporter des éléments de choix en vue du dimensionnement du pilote final.

Dans un premier chapitre, un modèle prédictif de productivité, basé sur un couplage entre des modèles de transferts radiatifs et de croissance, sera utilisé afin de déterminer le diamètre du tube adéquat pour le futur pilote.

Dans un deuxième chapitre, le comportement hydrodynamique du photobioréacteur sera expérimentalement caractérisé, notamment en termes de vitesse débitante, de profils radiaux de vitesse et d'intensité tourbillonnaire. La gamme de débits d'air et le type de distributeur à utiliser pour la culture de t-Iso seront également proposés. La capacité de transferts de matière gaz-liquide sera enfin évaluée.

Dans le dernier chapitre, les résultats des cultures de t-Iso conduites en continu dans la maquette d'étude seront présentés. Ils permettront de comparer les configurations d'écoulements axial et tourbillonnaire en termes de productivité et d'impact à long terme.

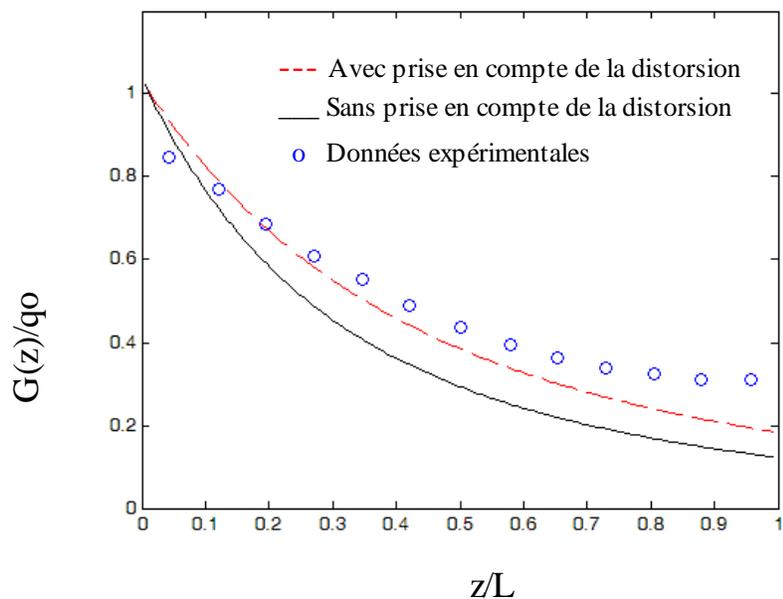


Figure IV.1 : Profils radiaux théoriques (avec et sans prise en compte des effets de distorsion) et expérimental d'irradiance  $G(z)/q_0$  au sein du tube ( $L = 60 \text{ mm}$ ,  $q_0 = 210 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  et  $X_{t\text{-Iso}} = 16,8\cdot 10^6 \text{ cell}\cdot\text{ml}^{-1}$ ).

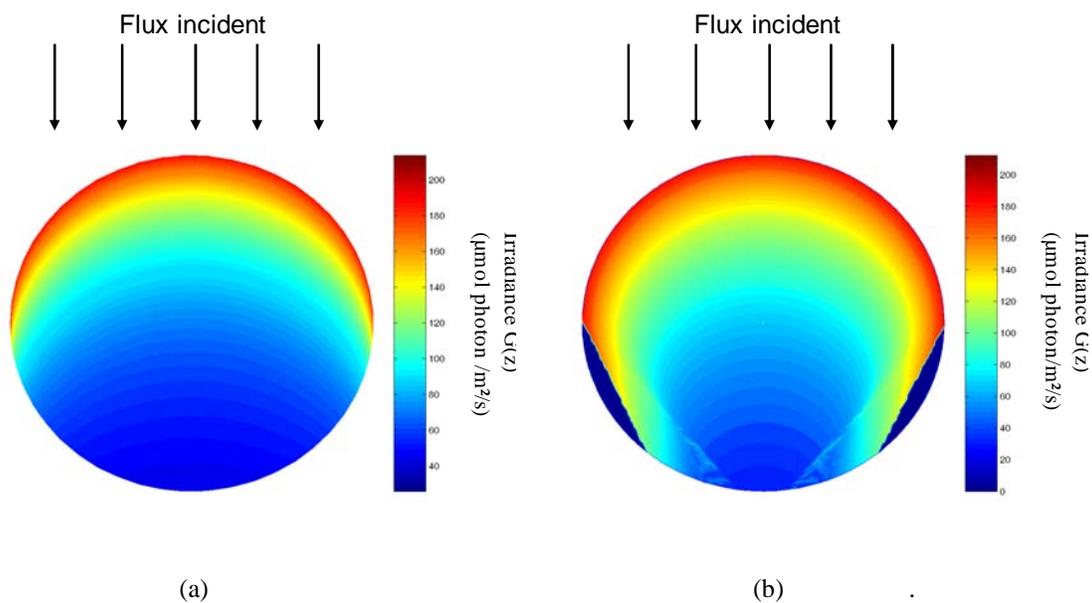


Figure IV.2 : Champs d'irradiance sur une section de colonne : sans distorsion (a) et avec distorsion (b).

---

## ***Chapitre I PRODUCTIVITE THEORIQUE ET CHOIX DU DIAMETRE DE TUBE***

L'objectif de ce chapitre est de déterminer le diamètre de tube du photobioréacteur en utilisant comme outil le modèle prédictif de productivité couplant le modèle de transfert radiatif et celui de croissance.

### ***1.1 Validation du modèle de transfert radiatif***

Sur la Figure IV.1, les profils radiaux d'irradiance prédits par le modèle à deux flux sont comparés à ceux mesurés expérimentalement (flux incident  $q_0$  de  $210 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  et concentration en t-Iso de  $16,8.10^6 \text{ cell.ml}^{-1}$ ). Il est intéressant de remarquer que la prise en compte de la distorsion optique améliore la prédiction : par exemple, à une position radiale de tube  $z/L=0,5$ ,  $G(r)/q_0=0,4$  avec prise en compte de la distorsion contre 0,3 en la négligeant, pour une valeur expérimentale  $G(z)/q_0=0,42$ . A noter également que pour de fortes valeurs de  $z/L$ ,  $G(r)/q_0$  est toujours sous estimé (entre 6 et 12% par rapport à la valeur expérimentale, selon  $z/L$  considéré). Au regard de la complexité de la géométrie et des hypothèses simplificatrices émises, les résultats obtenus sont corrects et peuvent être considérés en bonne adéquation avec les données expérimentales.

La Figure IV.2 présente les champs d'irradiance (sur la section du tube) théoriquement obtenus avec et sans prise en compte des effets de distorsion dans la modélisation. Des différences notables sont clairement mises en évidence : la réfraction des rayons lumineux incidents au passage de la courbure du tube a un impact très net. Elle génère une surconcentration d'irradiance en proche paroi côté lumière incidente, évitant ainsi une dilution trop rapide de la lumière et restreignant les zones faiblement éclairées sur plus de la moitié du tube. Ainsi, la prise en compte de la courbure du tube conduit à une répartition spatiale plus homogène de la lumière au sein de la culture, en particulier au niveau des couches profondes ou les plus éloignées de la source lumineuse. Ceci explique l'atténuation radiale de l'irradiance moins marquée qu'en absence de distorsion observée sur la Figure IV.1.

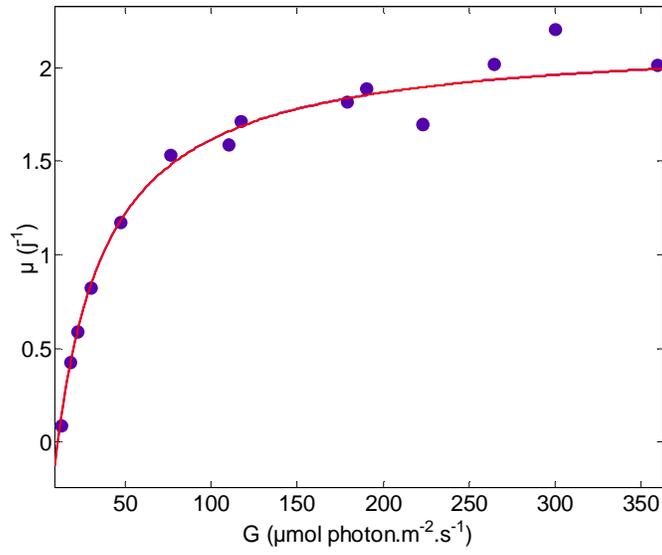


Figure IV.3 : Modèle de croissance (taux spécifique de croissance  $\mu$  versus irradiance reçue) : données expérimentales (points) et régression multiparamètre à partir du modèle de Monod (courbe).

## 1.2 Productivités théoriques du réacteur

### 1.2.1 *Modèle cinétique de croissance*

Outre les données d'entrée du modèle de transfert radiatif (propriétés optiques des microalgues, distribution du flux incident selon la position angulaire), il est nécessaire de connaître le modèle cinétique de croissance de la microalgue t-Iso  $\mu = f(G)$ . Il décrit l'évolution du taux spécifique de croissance  $\mu$  en fonction de l'irradiance reçue et donne notamment accès au point de compensation entre photosynthèse et respiration.

Les données expérimentales obtenues sont reportées sur la Figure IV.3. Aucune inhibition par excès de lumière n'étant observée, le modèle de Monod a été préféré au modèle d'Andrews-Haldane (Andrews 1968). Ce modèle de croissance s'exprime selon :

$$\mu = \mu_{\max} \frac{G}{K_G + G} - \mu_m$$

**Equation IV.1**

où,  $\mu_{\max}$  est le taux spécifique de croissance maximal,  $\mu_m$  le terme de maintenance lié à la respiration,  $K_G$  la constante de limitation (ou d'affinité) et  $G$  l'irradiance reçue.

L'obtention des paramètres du modèle a été réalisée par régression multiparamétrique sous MATLAB. Les résultats suivants sont obtenus :

$$\mu_{\max} = 3,12241 \text{ j}^{-1},$$

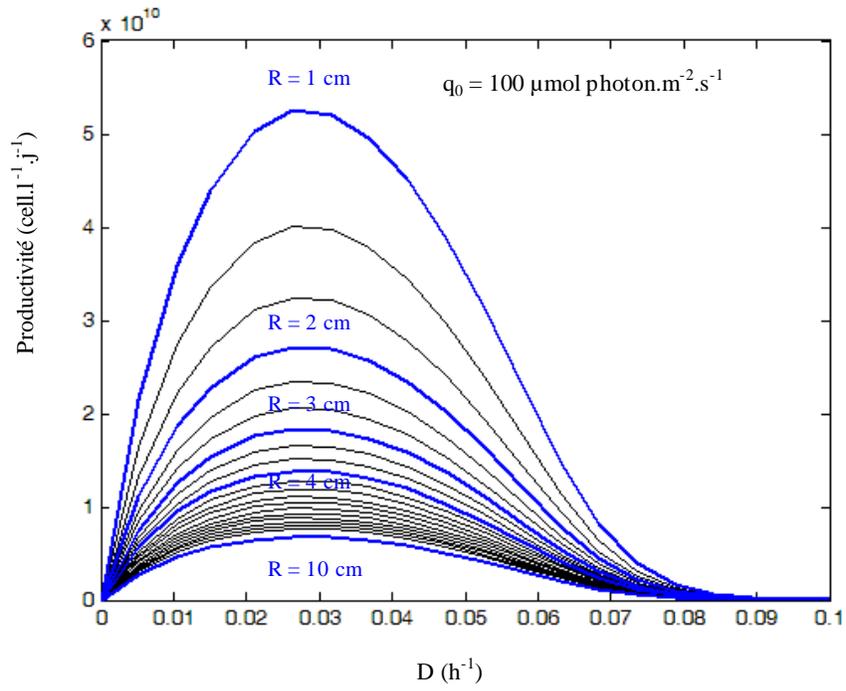
$$\mu_m = 0,9312 \text{ j}^{-1},$$

$$K_G = 25,64 \text{ } \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1},$$

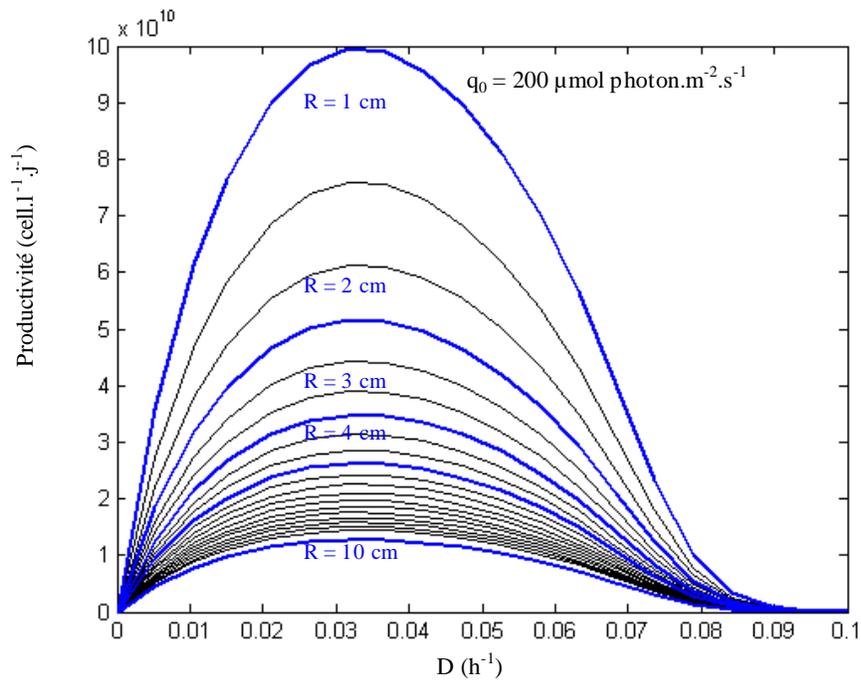
$$G_c = 10,89 \text{ } \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$$

avec,  $G_c$  l'irradiance au point de compensation, déterminée à partir de l'Equation IV.1 pour  $\mu = 0$ .

D'après Falkowski *et al.* (1985), *Isochrysis galbana* possède une irradiance de compensation ( $G_c$ ) voisine de  $16 \text{ } \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Ce résultat, déterminé pour un même genre, est relativement proche de celui obtenu pour t-Iso (CCAP 927/14).



(a)



(b)

Figure IV.4 : Productivité théorique du réacteur en fonction du rayon  $R$  des tubes et du taux de dilution  $D$ , pour une culture de t-Iso soumise à des flux incidents de 100 et 200  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

---

Il est également en accord avec les valeurs rapportées par Molina Grima *et al.* (1997b) et Tzovenis *et al.* (2003) qui utilisent t-Iso et trouvent respectivement une irradiance de compensation de  $10 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  et  $8 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . A noter également que Molina Grima *et al.* (1997b) trouvent un taux de maintenance de  $0,924 \text{ j}^{-1}$  proche de celui obtenu.

Cependant, il est intéressant de remarquer le désaccord entre auteurs sur les valeurs d'irradiances photoinhibitrices de t-Iso : elles diffèrent des résultats observés sur la Figure IV.3 où aucune inhibition n'apparaît entre  $300$  et  $360 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Pour Sukenik et Wahnou (1991) la croissance est saturée à partir de  $300 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  et inhibée autour de  $500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , tandis que Molina Grima *et al.* (1997b) donnent un optimum de croissance compris entre  $820$  et  $1620 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , et une photoinhibition au-delà de cette valeur.

Les résultats obtenus dans l'étude présente (Figure IV.3) sont en contradiction avec cette dernière valeur : en effet, ils mettent en évidence que la culture de t-Iso supporte des irradiances supérieures à  $400 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  sans que le phénomène de photoinhibition ne soit observé. Des appréciations erronées du flux incident réel ou des conditions opératoires non maîtrisées sont probablement à l'origine de la variabilité des résultats observés dans la littérature.

### *1.2.2 Influence de l'irradiance reçue $q_0$ et du rayon $R$ des tubes sur la productivité*

La productivité volumique du réacteur P ( $\text{cell.l}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) est calculée selon l'Equation III.5 à partir de la concentration en biomasse à l'équilibre et des taux de croissance moyens dans l'enceinte de culture, tous deux déduits de la résolution du modèle radiatif couplé au modèle cinétique de croissance (Monod).

La Figure IV.4 décrit l'évolution de cette productivité en fonction du taux de dilution et du rayon de tube utilisé, pour des flux incidents de  $100$  (a) et de  $200$  (b)  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

Quel que soit le rayon de tube considéré, les courbes reliant la productivité volumique et le taux de dilution adoptent la même allure : un optimum est obtenu pour un taux de dilution moyen proche de  $0,03 \text{ h}^{-1}$  (soit  $0,72 \text{ j}^{-1}$ ).

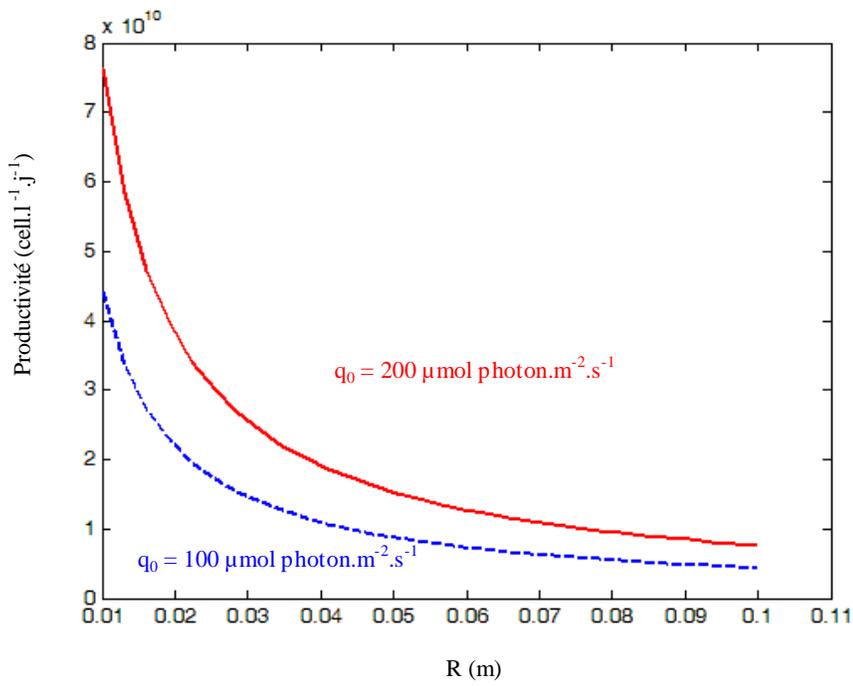
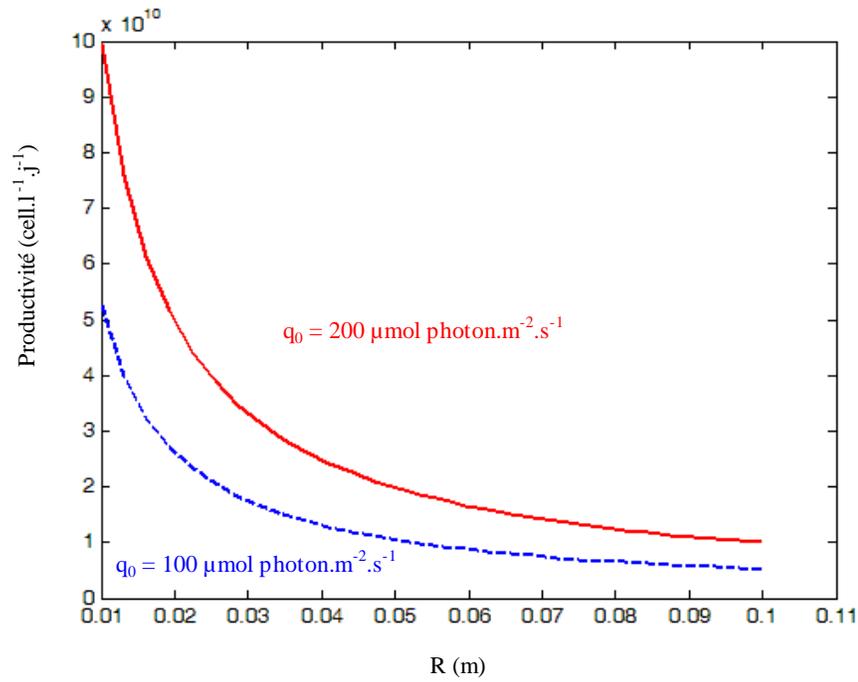


Figure IV.5 : Productivité volumique ( $\text{cell.l}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) en fonction du rayon  $R$  (m) pour  $D_{\text{optimum}}$  ( $D = 0,6312 \text{ j}^{-1}$  avec  $q_0 = 100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  et  $D = 0,7584 \text{ j}^{-1}$  avec  $q_0 = 200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) (a), et  $D$  fixé à  $0,36 \text{ j}^{-1}$  (b), le taux de dilution utilisé lors des cultures expérimentales.

---

En revanche, une chute significative du maximum de productivité est observée pour des rayons de tubes croissants : voisine de  $5,1 \cdot 10^{10} \text{ cell.l}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$  pour  $R = 20 \text{ mm}$ , il n'est que de  $2,5 \cdot 10^{10} \text{ cell.l}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$  pour  $R = 40 \text{ mm}$  et de  $3,4 \cdot 10^{10} \text{ cell.l}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$  pour  $R = 30 \text{ mm}$  à  $q_0 = 200 \mu\text{mol.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (Figure IV.4).

La Figure IV.5 représente l'évolution de la productivité volumique théorique en fonction du rayon de tube pour deux flux incidents ( $q_0$ ) pour les taux de dilution théoriquement optimaux (a) et pour le taux de dilution de  $0,36 \text{ j}^{-1}$  appliqué expérimentalement (b). Elle confirme la décroissance de la productivité, d'une part avec le rayon du tube et, d'autre part avec le flux de lumière incident.

Ces prédictions de productivité sont particulièrement utiles car, connaissant les besoins journaliers en cellules, le volume de photobioréacteur requis peut être aisément déterminé pour chaque diamètre de tube. Suite à l'enquête préliminaire menée auprès des écloséries françaises, les besoins larvaires moyens journaliers en t-Iso ont été estimés à  $1,15 \cdot 10^{12}$  cellules.

L'ensemble des résultats est collecté dans le Tableau IV.1, dans lequel le volume de photobioréacteur nécessaire et son prix de revient (calculé sur la base des longueurs de tubes nécessaires) sont estimés pour différents diamètres de tubes et flux incidents de lumière, au taux de dilution de  $0,36 \text{ j}^{-1}$ .

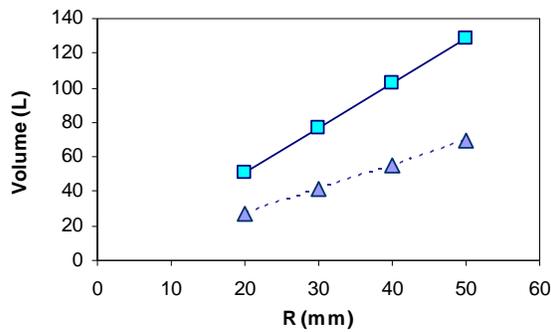
Le volume de photobioréacteur nécessaire (Tableau IV.1) augmente avec le diamètre des tubes (Figure IV.6 a) mais est inversement proportionnel à la longueur totale de tubes. D'autre part, seul le prix des tubes est estimé ici, il faut lui rajouter celui des brides ce qui ne fera que mettre en valeur la tendance observée : une augmentation du coût liée à une diminution du diamètre.

Par ailleurs, plus l'irradiance utilisée est élevée moins les caractéristiques géométriques ont d'importance (Figure IV.6 a). Il faut noter que le modèle utilisé ne tient pas compte de la photoinhibition : il est cependant peu probable de l'atteindre au regard de la gamme d'irradiance permise par les tubes fluorescents, la valeur de photoinhibition étant supérieure à  $400 \mu\text{mol.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

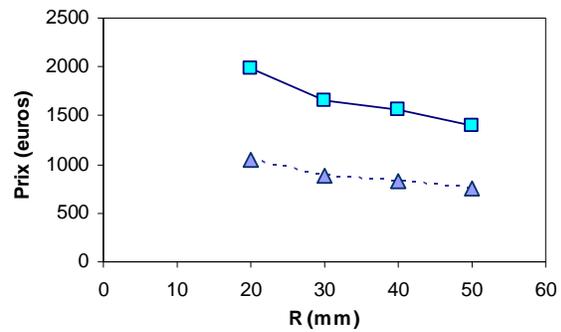
Tableau IV.1 : Prédiction du volume de photobioréacteur nécessaire à un besoin journalier de  $1,15 \cdot 10^{12}$  cellules selon le rayon du tube et pour deux flux de lumière incidents.

Les prix de revient du tube (basé sur une longueur de 1 mètre) et du photobioréacteur ont été estimés pour chaque condition (notés entre parenthèses).

Rayon (mm) et prix HTT	Irradiance incidente	
	$q_0 = 100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	$q_0 = 200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
20 mm (48,70 €)	53 L (soit 42 m de tube) 2035 €	30 L (soit 24 m de tube) 1161 €
30 mm (60,93 €)	79 L (soit 28 m de tube) 1697 €	45 L (soit 16 m de tube) 964 €
40 mm (76,23 €)	104 L (soit 21 m de tube) 1571 €	60 L (soit 12 m de tube) 908 €
50 mm (85,03 €)	131 L (soit à 17 m de tube) 1415 €	75 L (soit 10 m de tube) 808 €



(a)



(b)

Figure IV.6 : Prédiction de volume (a) et coût (b) du photobioréacteur (calculé sur la base du coût des tubes) nécessaire à un besoin journalier de  $1,15 \cdot 10^{12}$  cellules en fonction du rayon du tube, pour deux flux incidents de  $100$  (□) et  $200$  (Δ)  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

---

### ***1.3 Conclusion***

Pour conclure sur le diamètre du tube, un compromis doit être trouvé entre productivité volumique et coût de revient, tout en intégrant les aspects liés d'une part, à l'entretien du photobioréacteur (nettoyage et assemblage des diverses pièces constitutives), et, d'autre part, à son encombrement au sol puisque l'espace dédié à la production d'algue représente nécessairement un coût.

D'un point de vue économique, il est évident qu'une réduction du nombre de tubes est à privilégier (Figure IV.6 b). Ceci est renforcé par le fait que chaque paire de tubes se connecte à l'ensemble modulaire par une paire de brides. Or, le nombre de brides de jonction augmente fortement le prix final de construction du pilote. Chaque tube est vendu en longueur de deux mètres, le nombre de pièces particulières est donc égal au nombre de tubes (si un mètre de long) à connecter entre eux, ou à la moitié de ce nombre (si deux mètres de long).

En conséquence, un tube de rayon 20 mm permet certes une meilleure productivité (Figure IV.4), mais il sera exclu des choix car le nombre de tubes de 1 m associé devient trop important (42) (Tableau IV.1) au regard de l'encombrement induit.

D'autre part, il est intéressant de noter que plus le rayon augmente, plus la productivité volumique diminue (Figure IV.5) et plus un volume de culture important est nécessaire (Figure IV.6). Or, des volumes trop grands engendrent potentiellement des surcoûts de fonctionnement, surtout en regard de la stérilisation de l'eau de mer et de la quantité de substrat à fournir au milieu de culture. En conséquence, il ne faut pas privilégier des diamètres trop importants, d'autant plus qu'il semble difficile d'envisager des irradiances très élevées avec les tubes fluorescents. L'ensemble de ces réflexions tend à ne pas retenir les rayons extrêmes de la plage considérée.

Au regard de ces premiers éléments, un rayon de 30 mm a été fixé pour la suite des études (conception de la maquette et études expérimentales).



---

## ***Chapitre II CARACTERISATION DU COMPORTEMENT HYDRODYNAMIQUE***

La maquette d'étude du futur photobioréacteur a été conçue pour permettre la caractérisation expérimentale de l'hydrodynamique tridimensionnelle tourbillonnaire générée.

Dès la conception de la maquette, la possibilité de tester plusieurs configurations a été intégrée, notamment en terme de distributeurs d'air, de tailles de section de la bride (facteurs de vitesse) et de débits d'air. A cet effet, la maquette réalisée est donc facilement modifiable.

La caractérisation de l'hydrodynamique s'appuie notamment sur des campagnes de mesures utilisant des techniques disponibles au laboratoire GEPEA, à savoir le traçage conductimétrique et la Vélocimétrie par Images de Particules (PIV).

Les résultats obtenus donneront les éléments nécessaires au choix du dimensionnement final d'un module élémentaire et des conditions opératoires à appliquer ainsi qu'une base de données utile pour mieux comprendre les performances biologiques observées.

En complément, les transferts de matière gaz-liquide seront caractérisés au sein de la maquette : ils permettront de mettre en regard la capacité physique de transfert gaz-liquide et la production photosynthétique d'oxygène par les microalgues.

### ***II.1 Détermination de la gamme de débits d'air Og d'intérêt***

La mise en circulation de la phase liquide étant assurée par la phase gazeuse (principe de l'airlift), une relation s'établit entre le débit d'air injecté et la vitesse liquide débitante (Chisti 1989).

L'objet du présent paragraphe est de déterminer la gamme de débits d'air à utiliser, à savoir la valeur minimale (autorisant la mise en circulation de la phase liquide) et la valeur maximale (préservant l'intégrité cellulaire et en adéquation avec les équipements actuels en éclosérie).

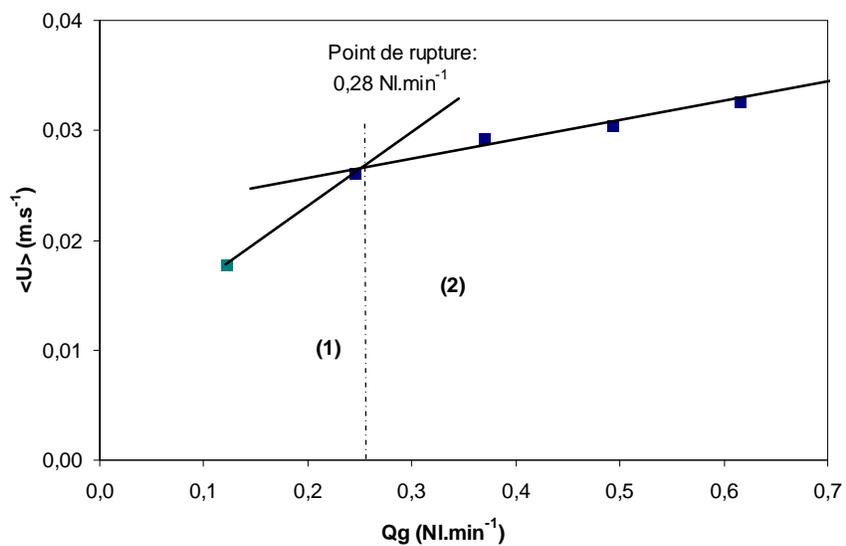


Figure IV.7 : Vitesse liquide débitante  $\langle U \rangle$  en fonction du débit d'air ( $Q_g$ ) (Configuration : Distributeur central, FV4).

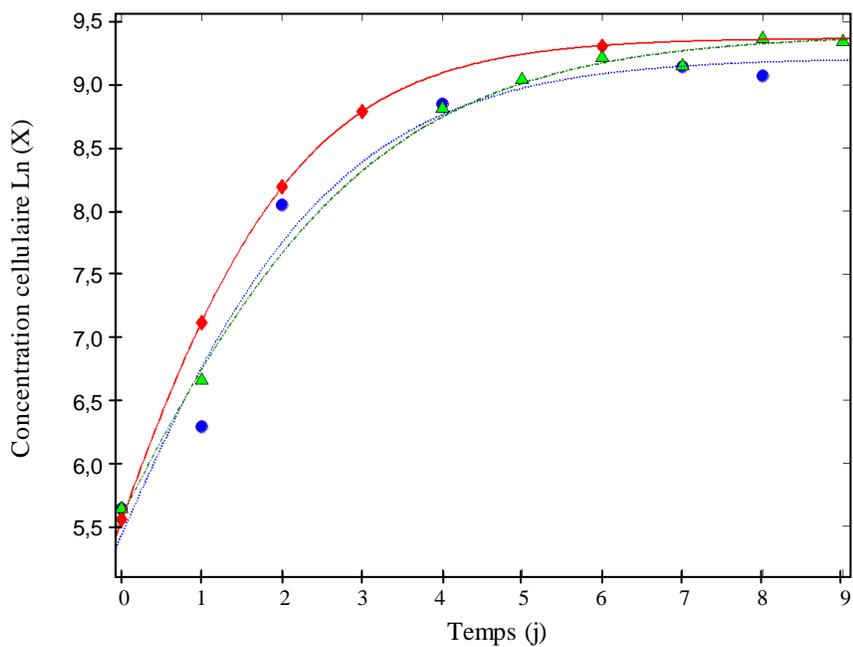


Figure IV.8 : Croissance cellulaire ( $\text{Ln } X$ ) d'une culture en mode batch de t-Iso au sein de la maquette d'étude. Configuration : distributeur tangentiel ( $\circ$ ), membranary ( $\diamond$ ), central ( $\Delta$ ) ; FV4, 0,74 NL.min<sup>-1</sup>.

---

### *II.1.1 Débit d'air minimal*

Il est évident qu'un débit d'air minimal est nécessaire pour générer une circulation suffisante, c'est-à-dire évitant la sédimentation de la culture et assurant une bonne homogénéisation du milieu au sein de la boucle airlift.

Des campagnes de PIV ont été réalisées en bas de tube descendant pour une gamme de débits d'air comprise entre 0,1 et 0,8  $\text{NL}\cdot\text{min}^{-1}$ , permettant ainsi d'accéder aux vitesses débitantes  $\langle U \rangle$  (intégration des profils radiaux de  $U$  sur la section du tube en supposant un écoulement axisymétrique, Equation III.12).

La Figure IV.7 présente, à titre d'exemple, les résultats obtenus pour un distributeur central et un facteur de vitesse FV4. La présence de deux régimes est mise en évidence, conformément aux travaux de Chisti (1989), via une rupture de pente. Indépendamment de la configuration, il est possible d'observer (1) une phase de mise en régime de la boucle dans laquelle la circulation dans les deux tubes n'est que partielle, et (2) une phase de régime fonctionnel dans laquelle la circulation est totale.

Cette zone de changement de régimes est importante dans la mesure où elle définit le débit d'air minimum à utiliser. En deçà de ce débit d'air seuil, l'énergie fournie par la dispersion gazeuse n'est pas suffisante pour assurer une circulation totale du fluide dans la boucle. Ce débit d'air minimal est de 0,3  $\text{NL}\cdot\text{min}^{-1}$  (Figure IV.7) et ce, quelle que soit la configuration considérée.

### *II.1.2 Débit d'air maximal*

Le débit d'air maximal à utiliser est conditionné en particulier par la préservation de l'état physiologique général des microalgues. En effet, lors de cultures en continu, le passage régulier de la culture dans les brides d'injection et au sein de la population de bulles peut générer des stress hydrodynamiques auxquels certaines espèces d'algues peuvent être sensibles. Les réponses physiologiques à ces perturbations sont diverses (Figure II.2) et peuvent notamment se traduire par la formation de dépôts et salissures sur les parois ou par la perte de la culture.

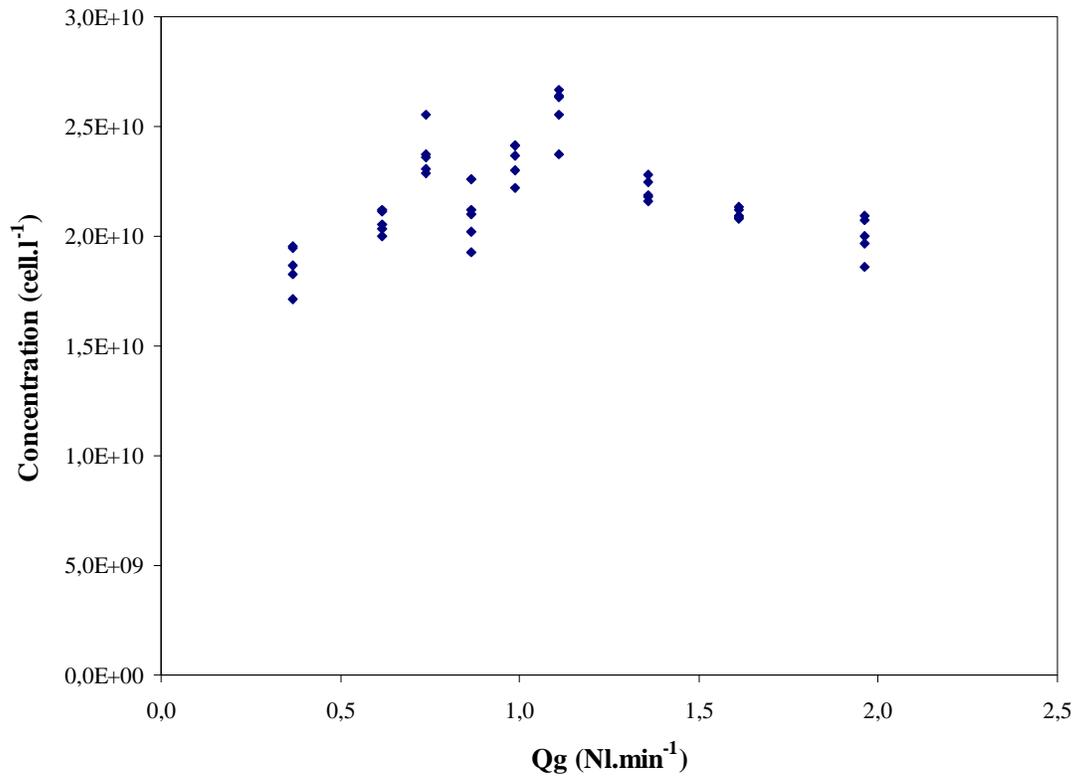


Figure IV.9 : Variation de la productivité à l'équilibre en fonction du débit d'air appliqué. Configuration : distributeur tangentiel, FV4, taux de renouvellement de 0,36 j<sup>-1</sup>, irradiance de 80 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, milieu Conway : C\*<sub>1</sub>.

---

En premier lieu, des cultures en batch de t-Iso ont été réalisées sur plusieurs jours en utilisant différents distributeurs d'air (TAN, MBR et CEN : Figure IV.8), l'objectif étant d'accéder à une première information qualitative sur la résistance des microalgues aux stress générés par un débit d'air de  $0,74 \text{ Nl.min}^{-1}$ .

La Figure IV.8 montre que ce débit ne semble pas être délétère pour les cultures et ce quel que soit le type de distributeur ; en effet, les taux de croissance ( $\mu$ ) des différents batch demeurent sensiblement constants :  $1,29 \text{ j}^{-1}$  avec le distributeur Central,  $1,32 \text{ j}^{-1}$  avec le distributeur Membranaire et  $1,49 \text{ j}^{-1}$  avec le distributeur Tangentiel (Calcul par modèle logistique, *Zwietering et al. (1990)*). Ainsi, ces cultures de t-Iso se révèlent être relativement résistantes face à ce niveau de stress hydrodynamiques et sur une durée d'une dizaine de jours.

En se basant sur ces constatations, des cultures en continu de t-Iso sont réalisées : d'un équilibre à l'autre, seul le débit d'air appliqué est modifié, le taux de renouvellement ( $0,36 \text{ j}^{-1}$ ), les conditions de lumière ( $q_0 = 80 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), le pH, la température et l'alimentation en nutriments restent inchangés.

Différentes restrictions de section de bride sont testées en FV4 (Figure IV.9) et FV9 (non présenté) pour des débits d'air compris entre  $0,4$  et  $2,0 \text{ Nl.min}^{-1}$ . Les réponses cellulaires sont appréciées de manière globale, soit qualitativement par des changements de comportement de la culture, soit quantitativement par une variation de la productivité ou du taux de croissance des microalgues.

Les résultats associés aux cultures en continu sont reportés sur la Figure IV.9 et donnent une concentration cellulaire à l'équilibre comprise entre  $1,72.10^{10}$  et  $2,66.10^{10} \text{ cell.l}^{-1}$ . La disparité des concentrations observée est vraisemblablement liée à une variation du taux de dilution expérimental ( $0,36 \text{ j}^{-1}$  fluctuant à  $\pm 0,02 \text{ j}^{-1}$ ). D'une manière globale l'influence du débit d'air (dans la gamme testée) sur les cultures peut être considérée comme non significative et non délétère.



---

### *II.1.3 Conclusion*

Il est à noter que, pour les études de comportement de culture, le débit d'air maximal de 2  $\text{Nl}\cdot\text{min}^{-1}$  a été arrêté car au-delà, la colonne a un comportement hydrodynamique perturbé, caractérisé par un engorgement en tête de colonne (accumulation d'air).

Ces études préliminaires ont montré que des débits d'air compris entre 0,3 et 2,0  $\text{Nl}\cdot\text{min}^{-1}$  ne sont pas délétères pour les cultures de t-Iso. De plus ils assurent également une mise en circulation efficace du fluide tout en respectant les contraintes technologiques des écloséries.

Ainsi, pour la suite des études, seuls deux débits d'air (moyen et limite supérieure) seront considérés : 0,74 et 1,6  $\text{Nl}\cdot\text{min}^{-1}$ .

## **II.2 Influence du type de distributeur d'air**

### *II.2.1 Comparaison qualitative (simplicité technologique, facilité de mise en oeuvre, bénéfices attendus)*

La simplicité technologique et la facilité de mise en oeuvre du distributeur d'air sont des critères essentiels en vue de la conception du futur photobioréacteur et de son prix de revient.

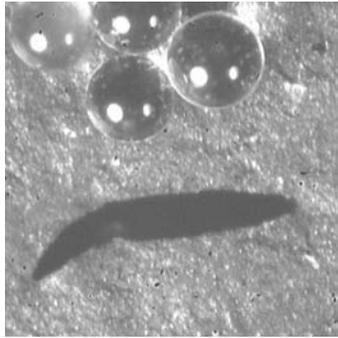
Les distributeurs dits tangentiels (TAN) et centraux (CEN) sont simples à réaliser puisqu'elles impliquent juste l'insertion d'une buse et sa fixation soit tangentiellement au tube, soit centralement à la base du socle de la bride.

L'intérêt du distributeur tangentiel réside dans le fait que, de par son positionnement latéral à la base du tube, elle accompagne le mouvement tourbillonnaire sans le perturber, contrairement au distributeur central qui se trouve en sortie de bride et qui peut contrarier et déstructurer le mouvement (Figure III.4).

La mise en place de distributeurs membranaires est plus complexe dans la mesure où ils nécessitent un usinage particulier et où ils doivent être insérés au niveau de chaque



(a)



(b)



(c)

Figure IV.10 : Illustration du gonflement des distributeurs membranaires sous l'effet d'un débit de gaz croissant (Loubière 2002) (a). Orifice de membrane en forme de fente (bille de verre de  $300\ \mu\text{m}$  de diamètre), (Loubière 2002) (b). Mise en place de l'injection membranaire au sein de la maquette d'étude (c).



Figure IV.11 : Illustration de l'encrassement de l'évent du tube ascendant sous l'effet de l'éclatement des bulles (proches de  $1\ \text{mm}$  de diamètre) générées par l'injection membranaire.

---

bride inférieure au moment même du montage du réacteur (leur fixation étant assurée par le serrage de la maquette). Il est évident aussi qu'ils contribuent à augmenter le prix de revient et qu'ils ne facilitent pas le nettoyage du réacteur. A titre d'illustration, la Figure IV.10 a présente le gonflement de la membrane sous l'effet de la pression d'air appliquée, les orifices (en forme de fentes) s'ouvrent alors (Figure IV.10.b) et génèrent une population de petites bulles de taille homogènes (Figure IV.10.c) (Loubière 2002).

Dès les premiers essais de culture avec les membranes, il a été observé un tapissage de l'évent en haut de la colonne ascendante par les microalgues, dépôt généré par l'éclatement des fines bulles générées (Figure IV.11). Si ces petites bulles n'empêchent pas la croissance de la culture a priori, la décomposition des microalgues projetées sur les parois au niveau du ciel gazeux est à éviter car elle peut être source de contamination.

L'intérêt du distributeur membranaire réside dans la répartition homogène de bulles sur toute la section du tube ascendant : ce type de distributeur est reconnu comme étant propice à l'augmentation de la rétention gazeuse, de l'aire interfaciale et des transferts de matière gaz-liquide (Rice et Tupperainen 1981; Hébrard *et al.* 1996). Dans le cas présent, cette configuration pourrait être retenue si elle confère un avantage réel à l'issue des études de transferts gaz-liquide présentées ultérieurement.

Quel que soit le type de distributeur, il est intéressant de remarquer que, dès leur génération en sortie d'injecteurs, les bulles formées sont rassemblées, sous l'effet du mouvement tourbillonnaire, dans une colonne de gaz qui, quelques centimètres plus haut, éclate en un nuage de bulles (Figure IV.12).

A noter enfin que l'eau de mer a des propriétés tensioactives sur la population de bulles : elle provoque une diminution significative de leur taille, facilement visualisable en comparaison de celles observées en eau douce. Ce résultat est quelque peu surprenant dans la mesure où théoriquement la tension superficielle de l'eau de mer est légèrement supérieure à celle de l'eau douce (ex : à 25°C, respectivement  $72,92 \cdot 10^{-3} \text{ N.m}^{-1}$  pour une salinité de  $35 \text{ g.l}^{-1}$  contre  $72,04 \cdot 10^{-3} \text{ N.m}^{-1}$ ). Une explication possible serait la présence, dans l'eau de mer utilisée (pompée au large de Saint-Malo), de composés abaisseurs de



Figure IV.12 : Panache de bulles généré au niveau du distributeur sous l'effet de l'écoulement tourbillonnaire.

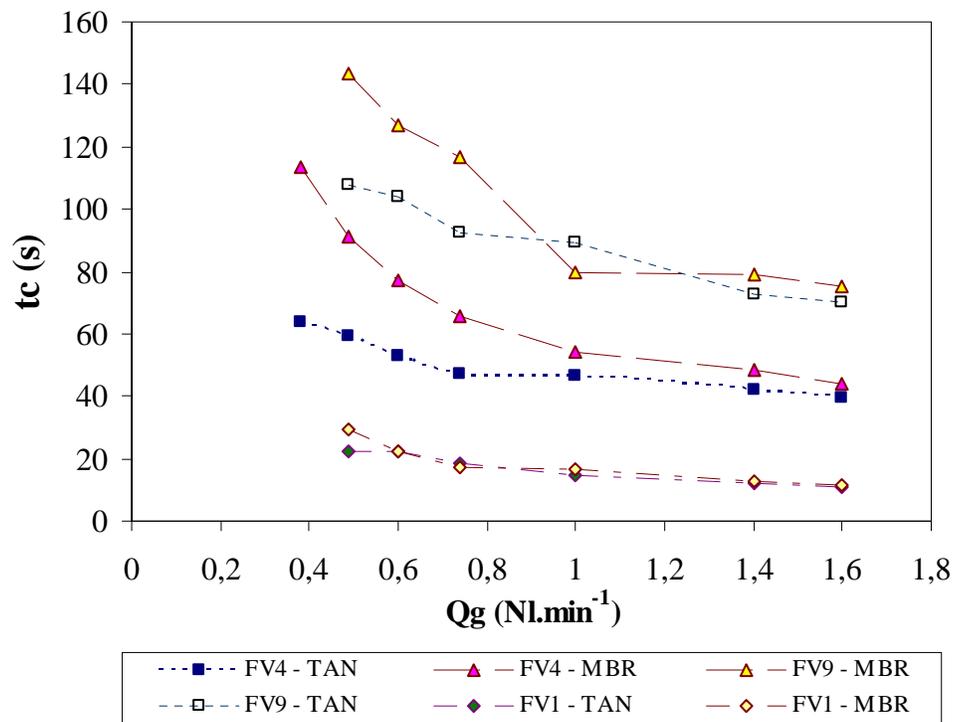


Figure IV.13 : Temps de circulation ( $t_c$ ) en fonction du débit d'air injecté ( $Q_g$ ) et du type de distributeur d'air (TAN, MBR).

---

tensions superficielles (alcools, hydrocarbures, ...) ayant pour origine soit une pollution soit le métabolisme planctonique (Copin-Montégut 2002).

### *II.2.2 Effet du type de distributeur sur la vitesse débitante*

En première approche, l'effet du type de distributeur sur le comportement hydrodynamique du photobioréacteur a été apprécié en terme de vitesse débitante générée. Les résultats obtenus seront à mettre en parallèle avec les considérations techniques précédemment évoquées (simplicité de mise en œuvre, encrassement) et avec les performances de transferts de matière gaz-liquide. L'intégration de ces facteurs permettra un choix optimal du type de distributeur.

La Figure IV.13 met en évidence la logique diminution du temps de circulation en fonction du débit d'air injecté. A forts débits de gaz, les temps de circulation obtenus avec les distributeurs membranaire et tangentiel sont très proches. Néanmoins, à des débits de gaz plus faibles ( $<1 \text{ NI.min}^{-1}$ ), le distributeur membranaire génère des valeurs nettement plus grandes que celles obtenues par le distributeur tangentiel, en particulier avec les facteurs de vitesse FV4 et FV9 : pour  $Q_g = 0,74 \text{ NI.min}^{-1}$ , dans le cas de FV4,  $t_c = 47 \text{ s}$  pour le distributeur tangentiel et  $65,5 \text{ s}$  pour le distributeur membranaire et, dans le cas de FV9,  $t_c = 92 \text{ s}$  pour le distributeur tangentiel et  $116,5 \text{ s}$  pour le distributeur membranaire. Ce résultat est vraisemblablement lié à des différences de rétentions gazeuses et d'aires interfaciales entre les injections membranaire et tangentielle, et donc aux différences de pertes de charges induites.

En présence d'un mouvement tourbillonnaire, les temps de circulation sont multipliés par deux voire sept par rapport à un écoulement purement axial. Pour  $Q_g = 1,6 \text{ NI.min}^{-1}$  et un distributeur tangentiel,  $t_c$  est sensiblement égal à  $12 \text{ s}$  avec FV1 (axial), à  $40 \text{ s}$  avec FV4 et à  $70 \text{ s}$  avec FV9.

Directement corrélée au temps de circulation, la variation de la vitesse débitante en fonction du débit d'air et du type de distributeur est présentée dans les Figures IV.14 et IV.15.

La Figure IV.14 montre pour le facteur de vitesse FV4 qu'une augmentation du débit

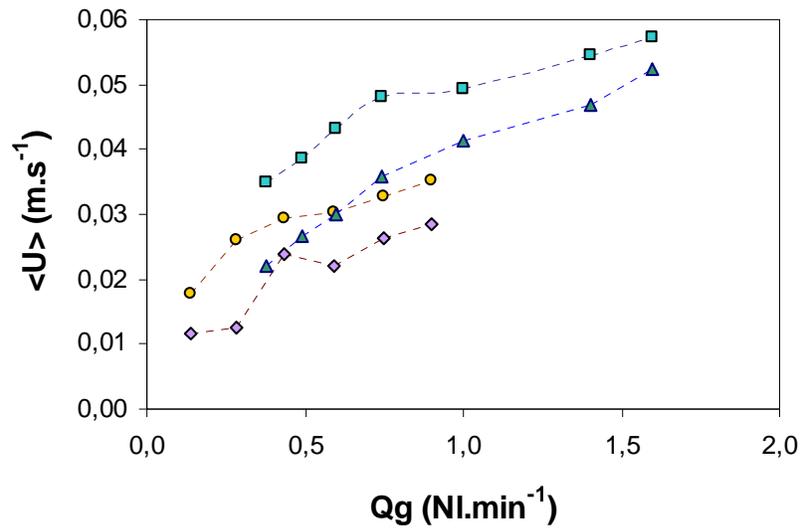


Figure IV.14 : Vitesse débitante  $\langle U \rangle$  en fonction du débit d'air ( $Q_g$ ) (configuration : FV4, distributeurs : tangentielle (□, conductimétrie), central (○, PIV), membranaire (Δ, conductimétrie), central  $x = 500$  mm (◇, PIV)).

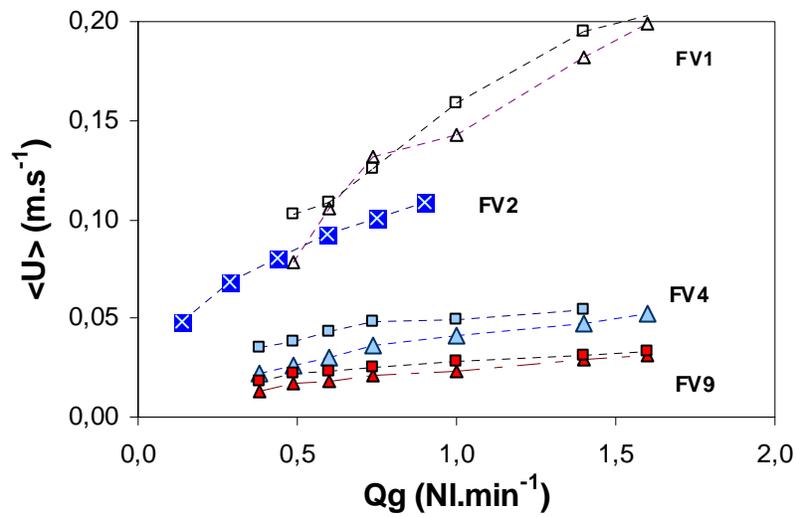


Figure IV.15 : Vitesse débitante  $\langle U \rangle$  en fonction du débit d'air  $Q_g$  pour les configurations testées : FV1 (conductimétrie), FV2 (PIV), FV4 (PIV et conductimétrie) et FV9 (PIV et conductimétrie) en distributeur tangentiel (□) et membranaire (Δ).

d'air engendre une vitesse débitante logiquement croissante. Le type de distributeur n'influence pas les vitesses obtenues : TAN, 4,3 cm.s<sup>-1</sup> MBR:3,6 cm.s<sup>-1</sup>, CEN : 3,3 cm.s<sup>-1</sup> et CEN x = 500 mm : 2,6 cm.s<sup>-1</sup> au débit d'air de 0,74 nl.min<sup>-1</sup>. Ce résultat demeure valide sur la gamme de débits balayée entre 0,74 à 1,6 Nl.min<sup>-1</sup>.

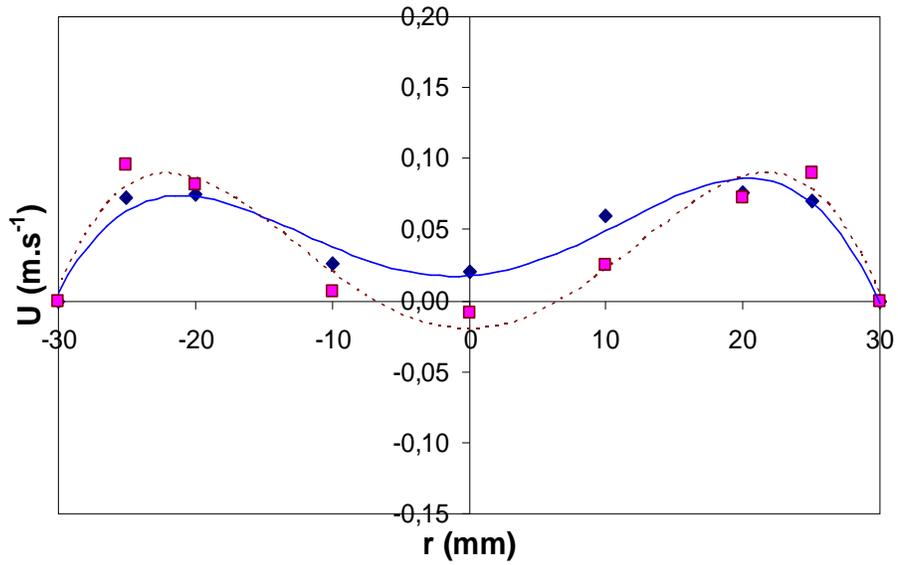
La Figure IV.15 présente la variation de la vitesse débitante en fonction du débit d'air, pour deux types de distributeurs (tangentielle TAN et membranaire MBR) et pour différents facteurs de vitesse (FV1, FV2, FV4 et FV9). Plus le facteur de vitesse augmente, plus la vitesse débitante <U> résultante diminue.

Par exemple, pour un débit d'air de 0,74 Nl.min<sup>-1</sup> en configuration tangentielle (Tableau IV.2), une diminution de la vitesse débitante de 20% est observée avec FV2, de 69% avec FV4, et de 80% avec FV9 (la vitesse en FV1 servant de référence). Il est à noter que la chute de vitesse est rapide et que, dès l'utilisation du facteur de vitesse FV4, elle est divisée par trois (par rapport au FV1). Ceci est directement lié à la génération du mouvement tourbillonnaire : il est de plus en plus intense au fur et à mesure que le facteur de vitesse croît, les pertes de charges générées augmentent alors ce qui a pour effet de diminuer la vitesse de circulation. A noter que les vitesses débitantes obtenues pour les distributeurs tangentielle et membranaire demeurent très voisines quel que soit le facteur de vitesse considéré.

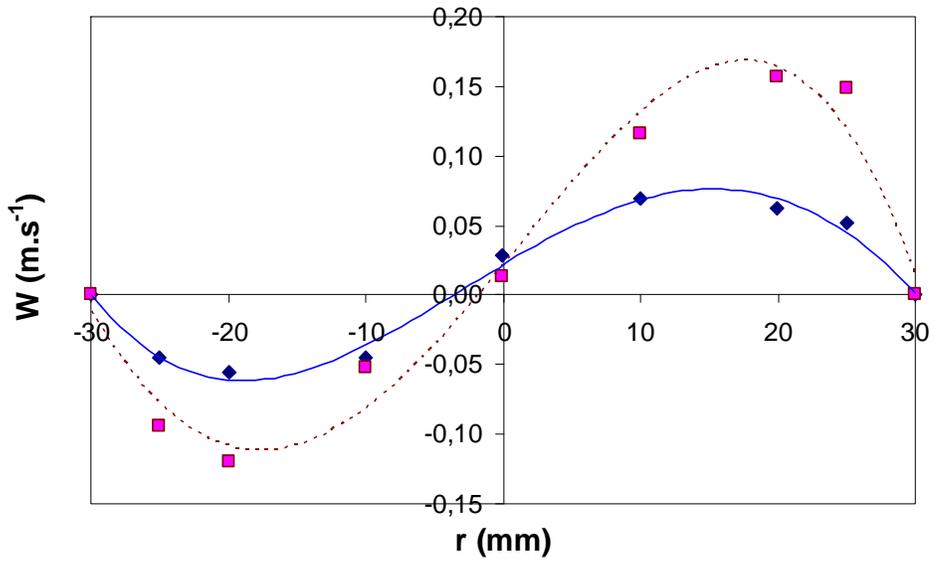
L'ensemble des données permet de conclure que les distributeurs tangentielle et membranaire génèrent des vitesses débitantes du même ordre de grandeur et plus élevées que les distributeurs centraux.

Tableau IV.2 : Vitesse débitante obtenue pour chaque type d'injecteur d'air, pour un débit d'air fixé (Qg = 0,74 Nl.min<sup>-1</sup>).

Vitesse débitante (m.s <sup>-1</sup> )	FV1	FV2	FV4	FV9
CEN x = 500 mm		0,062	0,026	
CEN		0,082	0,033	
MBR	0,132		0,036	0,021
TAN	0,126	0,100	0,039	0,025



(a)



(b)

Figure IV.16 : Exemples de profils radiaux (selon le rayon  $r$  du tube) des composantes axiale ( $U$ ) (a) et ( $W$ ) tangentielle (b) aux positions axiales  $x = 150$  mm ( $\square$ ) et  $850$  mm ( $\diamond$ ). Configuration : Distributeur tangentiel, FV4, débit d'air de  $1,6$   $\text{NI}\cdot\text{min}^{-1}$ .

---

### *II.2.3 Conclusion*

En se basant uniquement sur le critère de la vitesse débitante, les résultats précédents conduisent à conserver l'ensemble des distributeurs d'air (CEN, CEN x = 500 mm, MBR et TEN).

D'un point de vue faisabilité technique et au regard de l'encrassement et des dépôts générés, une utilisation du distributeur tangential pour le prototype semble préférable. Néanmoins, cette position n'est pas définitive et pourrait être révisée, notamment suite aux études de transferts de matière gaz-liquide (distributeur TAN et MBR). En conséquence, seuls les distributeur membranaire (MBR) et tangential (TAN) seront retenus pour la suite des études.

## **II.3 Influence du facteur de vitesse et longueur de tube**

### *II.3.1 Caractérisation du mouvement tourbillonnaire*

Le mouvement tourbillonnaire étant tridimensionnel, il n'est rigoureusement décrit qu'avec les trois composantes de vitesse : la composante axiale U, la composante radiale V et la composante tangentielle W. Les mesures de PIV étant réalisées dans des plans (r, x) (Cf. Chapitre II), seules les composantes U et W seront accessibles après reconstruction des données.

Dans le photobioréacteur étudié, ce mouvement tourbillonnaire est généré via les brides et les facteurs de vitesse qu'elles définissent (Equation III.1). L'intensité tourbillonnaire va donc être conditionnée par le facteur de vitesse mis en place, mais aussi par le débit d'air injecté.

### **Profils radiaux des composantes U et W de vitesse**

La Figure IV.16 illustre l'allure générale des profils radiaux des composantes axiale et tangentielle de vitesse.

Les profils de composante axiale (Figure IV.16.a) mettent en évidence que la vitesse est plus élevée en proche paroi qu'au centre et que la zone centrale présente même une

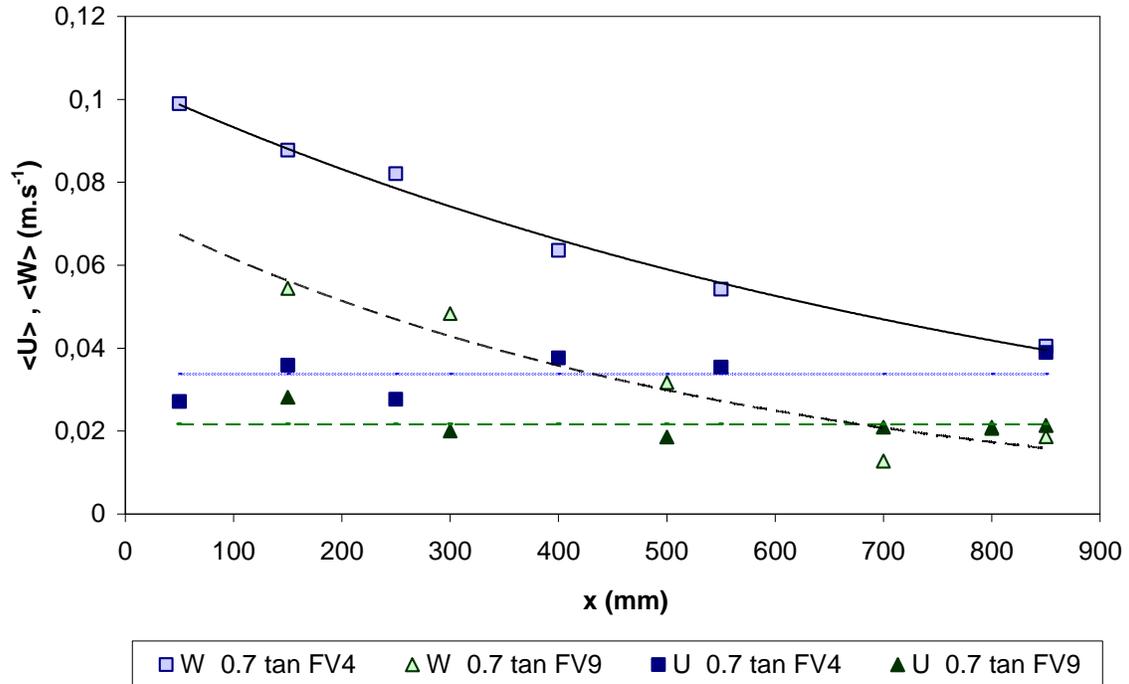


Figure IV.17 : Composantes axiale  $\langle U \rangle$  (symboles noirs) et tangentielle  $\langle W \rangle$  (symboles gris) de vitesse moyennées sur la section du tube en fonction de la position axiale ( $x$ ) du tube pour les facteurs de vitesse FV4 ( $\square$ ) et FV9 ( $\Delta$ ) (configuration : distributeur tangentiel,  $0,74 \text{ NI}\cdot\text{min}^{-1}$ ).

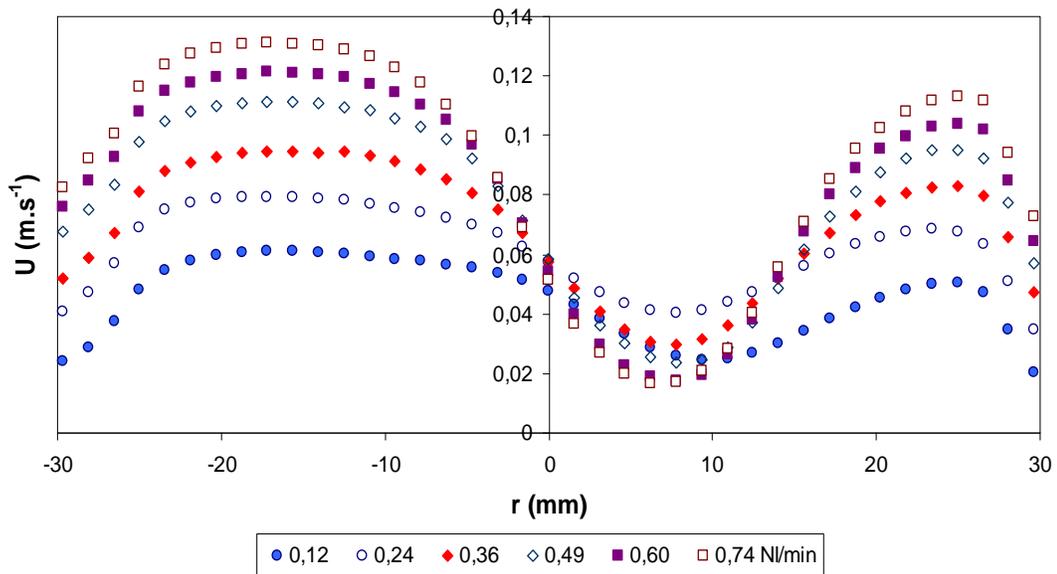


Figure IV.18 : Profils radiaux (selon le rayon  $r$  du tube) de la composante axiale ( $U$ ) pour différents débits d'air  $Q_g$  :  $0,12$  ( $\bullet$ ) ;  $0,24$  ( $\circ$ ) ;  $0,36$  ( $\blacklozenge$ ) ;  $0,49$  ( $\diamond$ ) ;  $0,60$  ( $\blacksquare$ ) ;  $0,74$  ( $\square$ )  $\text{NI}\cdot\text{min}^{-1}$ . (configuration : distributeur tangentiel, FV2,  $x = 850 \text{ mm}$ ).

---

recirculation ou remontée du liquide (vitesse négative) décalée par rapport à l'axe du tube.

La recirculation au centre s'atténue au fur et à mesure que la distance axiale ( $x$ ) à la sortie de la bride augmente. Pour  $x = 850$  mm (fond de tube descendant), aucune remontée du fluide n'est observée ( $U > 0$ ) même si les survitesses en proche paroi existent toujours. A noter également, l'asymétrie de  $U$  par rapport au plan médian ( $r = 0$ ).

Cette allure de profil (survitesse en proche paroi) est retrouvée sur toute la longueur de tube considérée.

Les profils radiaux de la composante tangentielle  $W$  (Figure IV.16.b) mettent en évidence des extrema de signes opposés en proches parois, et des valeurs quasi-nulles au centre, décrivant ainsi l'allure d'un « S » horizontal.

Les maxima de vitesse, en valeurs absolues, ne sont pas égaux de part et d'autre de l'axe de symétrie du tube. De plus, ils tendent à diminuer lorsque  $x$  augmente (aplatissement de la courbe). Ce type de profil s'explique principalement par la forme hélicoïdale de l'écoulement et par son caractère non entretenu, le mouvement de rotation s'atténuant avec  $x$ .

La Figure IV.17 présente l'évolution des moyennes (sur la section du tube) des composantes axiale et tangentielle en fonction de la longueur du tube. Elles ont été calculées par simple intégration des profils radiaux et ne sont, pour la composante tangentielle, qu'une approximation du fait de l'asymétrie des profils. La vitesse débitante est logiquement conservée quelle que soit la longueur, les différences obtenues étant à mettre en regard de l'hypothèse d'intégration (écoulement axisymétrique). Quant à la composante tangentielle, une exponentielle décroissante est observée ; en fin de tube la vitesse tangentielle moyenne est de même ordre de grandeur que la vitesse axiale moyenne.

Ces résultats montrent que la principale caractéristique de ce type d'écoulement est la présence de vitesses tangentielles élevées en proches parois. Dans le cadre d'une application photobioréacteur, c'est l'objectif recherché pour limiter les dépôts en paroi et éviter l'encrassement des tubes (Pruvost 2000).



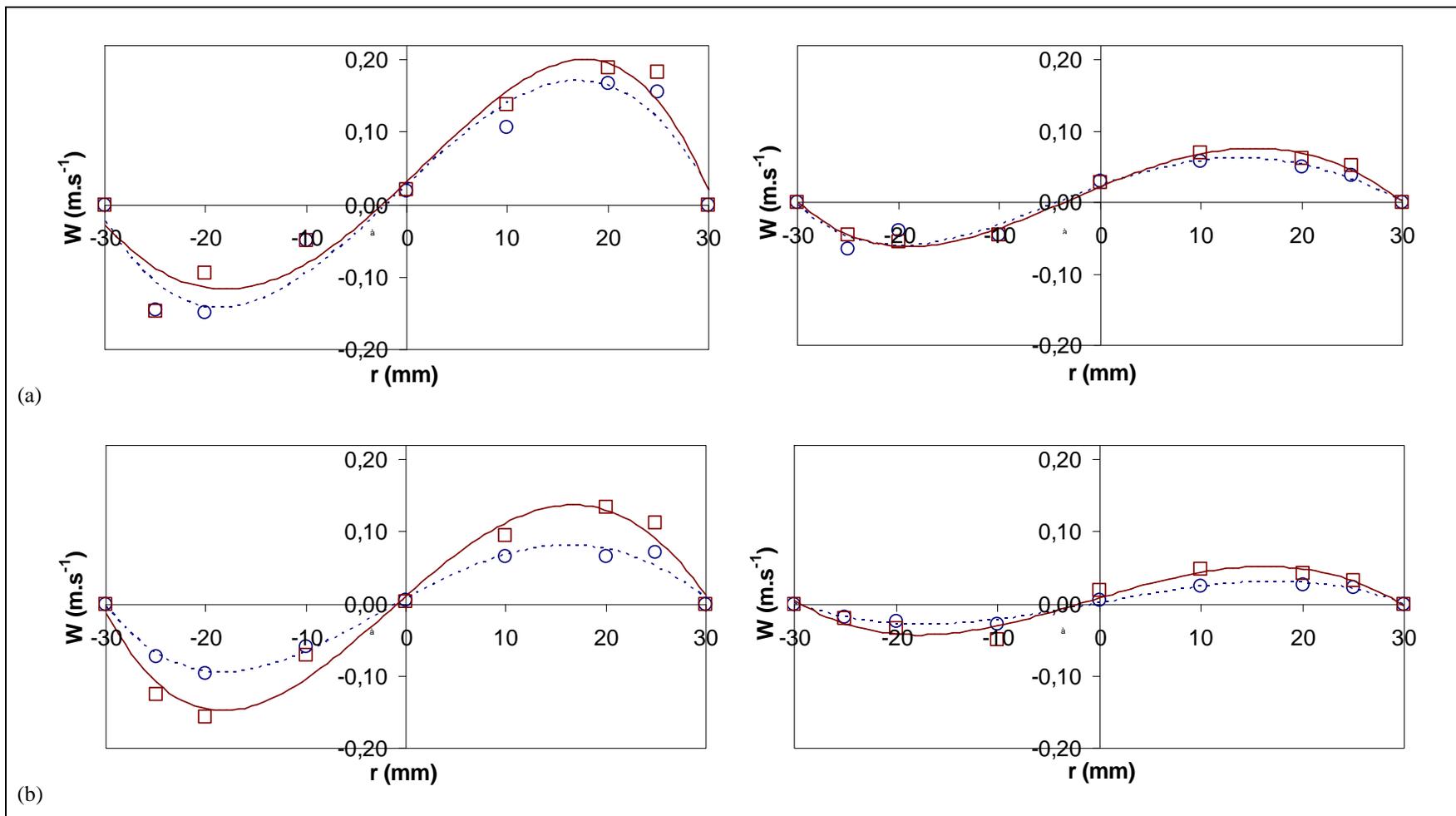


Figure IV.19 : Profils radiaux (selon le rayon  $r$  du tube) de la composante tangentielle ( $W$ ) pour deux débits d'air  $Q_g$  : 0,74 ( $\square$ ) et 1,6 (o) NL $\cdot$ min $^{-1}$ . Configuration : distributeur tangential, FV4 (a) et FV9 (b), pour  $x = 50$  mm (figures de gauche) et  $x = 850$  mm (figures de droite).



---

**Influence du débit d'air et du facteur de vitesse**

L'intensité du mouvement tourbillonnaire est conditionnée par le débit d'air appliqué, moteur de la circulation. Ceci est illustré par la Figure IV.18 : plus le débit d'air ( $Q_g$ ) est grand, plus la composante axiale augmente en valeur absolue, en particulier en proche paroi. De plus, la dépression tourbillonnaire centrale est davantage accentuée lorsque le débit d'air est important : par exemple, à  $x = 850$  mm, le minimum de vitesse associé passe de 4 à 2  $\text{cm.s}^{-1}$  aux débits respectifs de 0,24 et 0,74  $\text{Nl.min}^{-1}$  ( $r = 7$  mm).

Quels que soient le facteur de vitesse et la position radiale, le débit d'air a une légère influence sur la composante tangentielle de vitesse (Figure IV.19) : la forme des profils radiaux est conservée, la composante tangentielle a tendance à diminuer (en valeurs absolues) pour des débits d'air croissants.

Enfin, notons qu'à même débit d'air ( $Q_g$ ), une augmentation du facteur de vitesse ne génère pas des composantes tangentielles plus fortes : les extrema sont, en valeurs absolues, plus grands avec FV4 qu'avec FV9 (Figure IV.19). La même tendance avait été observée sur les valeurs moyennées sur la section (Figure IV.17). Ce résultat est très probablement lié aux différences de pertes de charges et donc de vitesses débitantes générées selon le facteur de vitesse (Tableau IV.2). Une comparaison directe entre les deux facteurs de vitesse est délicate dans la mesure où les vitesses en entrée de bride pour un même débit d'air sont différentes selon le facteur de vitesse (Figure IV.15). En complément, il est à noter qu'un phénomène d'engorgement est observé en haut de colonnes et uniquement avec FV9. Se traduisant visuellement par une accumulation de bulles au niveau des entrée et sortie de la bride, il est susceptible de créer une gêne au passage du liquide dans la bride et donc à la libre génération du mouvement tourbillonnaire.

Ces premiers résultats illustrent les corrélations entre les composantes axiale et tangentielle de vitesse et le débit d'air. Les mêmes tendances ont été également constatées en photobioréacteur annulaire en présence d'un écoulement tourbillonnaire généré par différents facteurs de vitesse et différents débits liquides (Pruvost 2000).

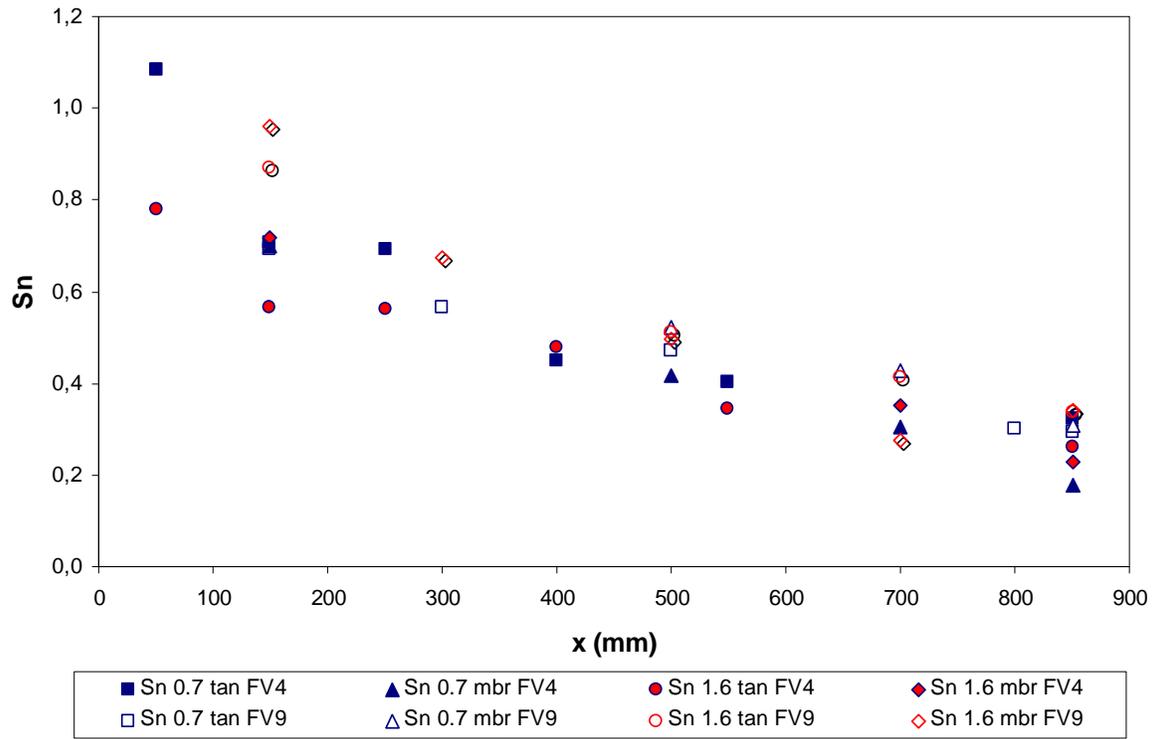


Figure IV.20 : Intensité tourbillonnaire ( $S_n$ ) en fonction de la position axiale  $x$  (Configurations :  $Q_g = 0,7$  et  $1,6 \text{ NL}\cdot\text{min}^{-1}$ , FV4 et FV9, distributeurs membranaire et tangentielle).

**Intensité tourbillonnaire (Sn)**

L'intérêt est ici d'acquérir un autre outil d'aide à la conception du pilote : il est basé sur la quantification de l'atténuation de l'intensité du mouvement tourbillonnaire. Cette dernière est calculée, selon l'Equation IV.2 (Pruvost 2000), à partir des profils radiaux de composantes axiale U et tangentielle W de vitesse et à différentes longueurs (x) de tube.

$$Sn = \frac{\int_{-R}^R U.W.r^2 dr}{2R \int_{-R}^R U^2.r dr}$$

**Equation IV.2**

où R est le rayon du tube (0,03 m).

De façon générale, l'intensité tourbillonnaire (Sn) est importante en début de tube (Figure IV.20 gauche, x = 50 mm) et d'autant plus que les débits d'air sont forts. Elle décroît ensuite rapidement lorsque la position axiale (x) augmente.

Quel que soit le facteur de vitesse, à x = 850 mm, la composante tangentielle est réduite presque de moitié par rapport à x = 50 mm (Figure IV.19). Cette atténuation du mouvement tourbillonnaire est confirmée ici puisque, pour x = 50 mm, Sn est de l'ordre de 1 et pour x = 850 mm, elle chute autour de 0,3.

Ainsi, au bout d'un mètre, quelle que soit la configuration considérée, les intensités tourbillonnaires (Sn) convergent vers les mêmes valeurs (0,2 à 0,4) : la rapide atténuation du mouvement est mise en évidence.

Cette décroissance de l'intensité tourbillonnaire avec la position axiale (x) est classiquement modélisée (Pruvost 2000) :

$$Sn = a.exp^{\frac{-bx}{2R}}$$

**Equation IV.3**

où la constante a quantifie l'intensité tourbillonnaire initiale et la constante b la décroissance du mouvement.

Tableau IV.3 : Constantes a et b associées à la loi de décroissance de l'intensité tourbillonnaire ( $S_n$ ) et nombres de Reynolds associés ( $Re$ ) (Configurations : FV4/FV9, distributeur TAN/MBR).

CONFIGURATION	TAN			MBR		
	a	b	<i>Re</i>	a	b	<i>Re</i>
FV4						
0,74 Nl.min <sup>-1</sup>	0,96	0,023	2332	0,983	0,030	2170
1,6 Nl.min <sup>-1</sup>	0,76	0,022	3351	1,05	0,027	3155
FV9						
0,74 Nl.min <sup>-1</sup>	0,84	0,020	1281	1,12	0,025	1199
1,6 Nl.min <sup>-1</sup>	1,04	0,022	1598	1,14	0,028	1819

Le Tableau IV.3 synthétise les résultats obtenus, le nombre de Reynolds (Re) y est également mentionné et défini selon :

$$Re = \frac{2R \langle U \rangle \rho}{\mu_L},$$

**Equation IV.4**

avec,  $\rho$  la masse volumique de l'eau de mer égale ( $1000 \text{ g.l}^{-1}$ ),  $\mu_L$  la viscosité du liquide ( $10^{-3} \text{ Pa.s}^{-1}$ ) et  $\langle U \rangle$  la vitesse débitante ( $\text{m.s}^{-1}$ ).

La constante  $a$  est directement liée à l'intensité tourbillonnaire initiale et donc à la section de l'entrée tangentielle. Ainsi, elle augmente logiquement avec le facteur de vitesse et ce quelle que soit la configuration (sauf Tan- FV4). Globalement les valeurs de  $b$  demeurent assez proches les unes des autres. Cependant, une légère tendance de  $b$  à diminuer avec l'augmentation du débit (donc avec le nombre de Reynolds) peut être décelée en FV4 : le mouvement persisterait un peu plus loin dans le tube sous l'effet d'un débit d'air croissant (c.a.d. le mouvement serait moins rapidement atténué).

Des études similaires réalisées sur une géométrie annulaire, équipée d'une injection tangentielle génératrice de l'écoulement tourbillonnaire (Pruvost 2000), donnent un mouvement tourbillonnaire d'intensité initiale relativement importante ( $a = 1,98$ ) mais également rapidement atténué par les frottements exercés sur les parois externes et internes des tubes. Pruvost (2000) obtient une valeur de décroissance tourbillonnaire ( $b$ ) de 0,033.

L'ensemble de ces résultats démontrent que : (i) l'allure décroissante de l'intensité tourbillonnaire est globalement peu différente d'une configuration à l'autre (mis à part dans les premiers centimètres de tube) ; (ii) le mouvement tourbillonnaire est quasiment atténué dès le premier mètre.

Ainsi, d'un point de vue conception du photobioréacteur, l'utilisation de tubes de deux mètres serait à exclure : l'entretien du mouvement tourbillonnaire sur toute leur longueur n'y serait pas assurée au regard des gammes retenues de débits d'air et de facteurs de vitesse.

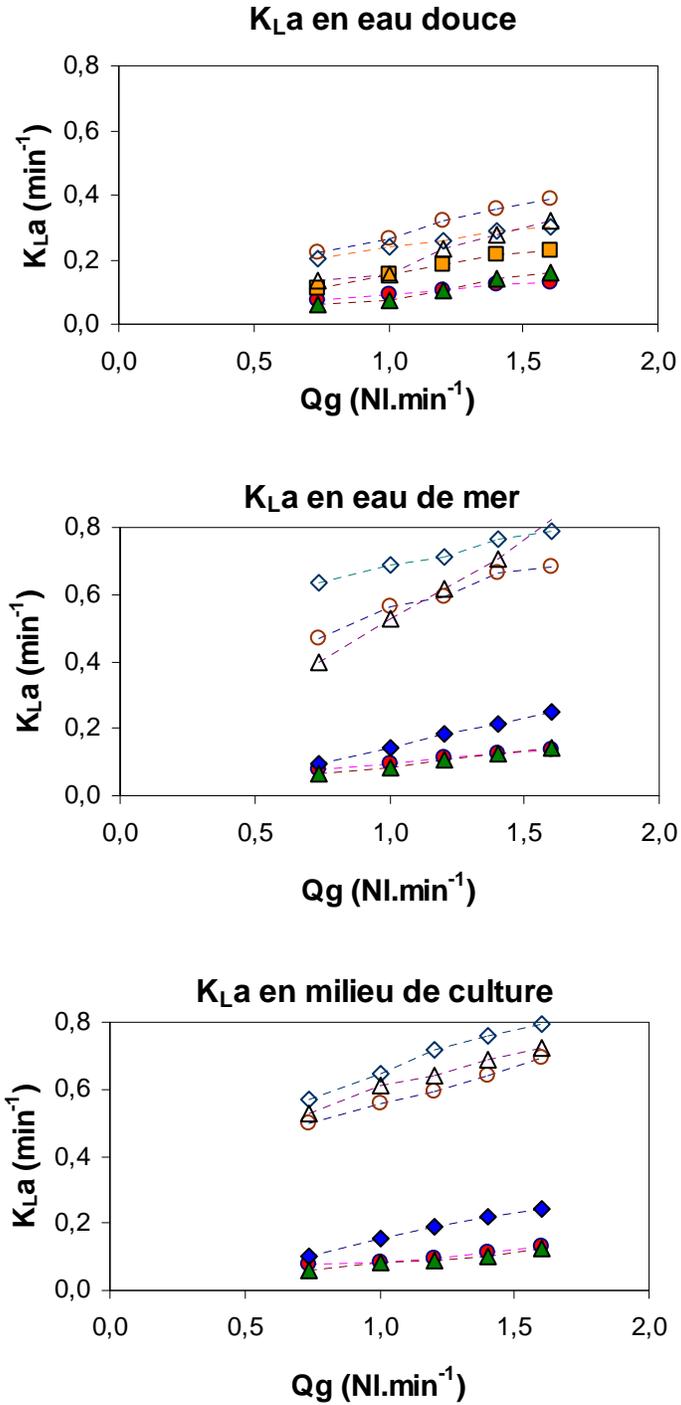


Figure IV.21 : Variation du coefficient de transfert gaz-liquide  $k_{La}$  ( $\text{min}^{-1}$ ) en fonction de débit d'air ( $Qg$ ) dans le cas où la phase liquide est l'eau douce (a), l'eau de mer (b) et le milieu de culture (c). Les mesures expérimentales de  $k_{La}$  sont réalisées à 25°C sous 1 atm. Configurations : FV4-TAN (♦), FV9-TAN (▲), FV1-TAN (●), FV4-MBR (◇), FV9-MBR (△), et FV1-MBR (○).

---

### II.3.2 Conclusion

Ces études ont démontré que les brides telles que conçues conduisent bien à la génération d'un mouvement tourbillonnaire et que son atténuation est significative au bout d'un mètre (Figure IV.20), et ce quelle que soit la configuration considérée. En conséquence, l'utilisation de tubes de deux mètres de long est à exclure : le futur photobioréacteur sera donc équipé avec des tubes de 1 m de long.

A ce stade de l'étude, le choix définitif du facteur de vitesse à mettre en œuvre (FV4 ou FV9) serait prématuré. Cependant, il a été montré qu'en comparaison avec FV4, le facteur de vitesse FV9 ne génère, ni un mouvement tourbillonnaire plus intense, ni des composantes tangentielles de vitesse plus fortes. Ces deux paramètres étant a priori ceux susceptibles de réduire l'encrassement des tubes, il ne semble pas de ce fait justifié de privilégier FV9. Ceci est renforcé par le fait qu'il induit un phénomène d'engorgement potentiellement dommageable aux cultures biologiques.

## II.4 Etudes des transferts de matière gaz-liquide

Cette étude a pour but de caractériser les échanges gazeux (transferts de matière gaz-liquide) au sein de la maquette afin de quantifier les performances d'aération du photobioréacteur.

Le coefficient volumique de transfert d'oxygène  $k_{La}$  a été déterminé pour différents débits d'air, types de distributeur d'air et facteurs de vitesse. Les mesures de référence (en vue d'une comparaison avec la littérature) se font en eau douce, les propriétés physico-chimiques de l'eau de mer et du milieu de culture modifiant ces propriétés de transfert. Les expériences dont les résultats sont présentés ici, ont été réalisées par B. Aubry au cours de son stage de 1<sup>ère</sup> année de Master Génie des Procédés de l'Université de Nantes (Aubry 2006).

### II.4.1 Coefficient volumique de transfert d'oxygène $k_{La}$

Les valeurs de  $k_{La}$  obtenues sont rassemblées sur la Figure IV.21 pour les configurations suivantes : deux distributeurs d'air (tangentielle et membranaire), trois facteurs de vitesse

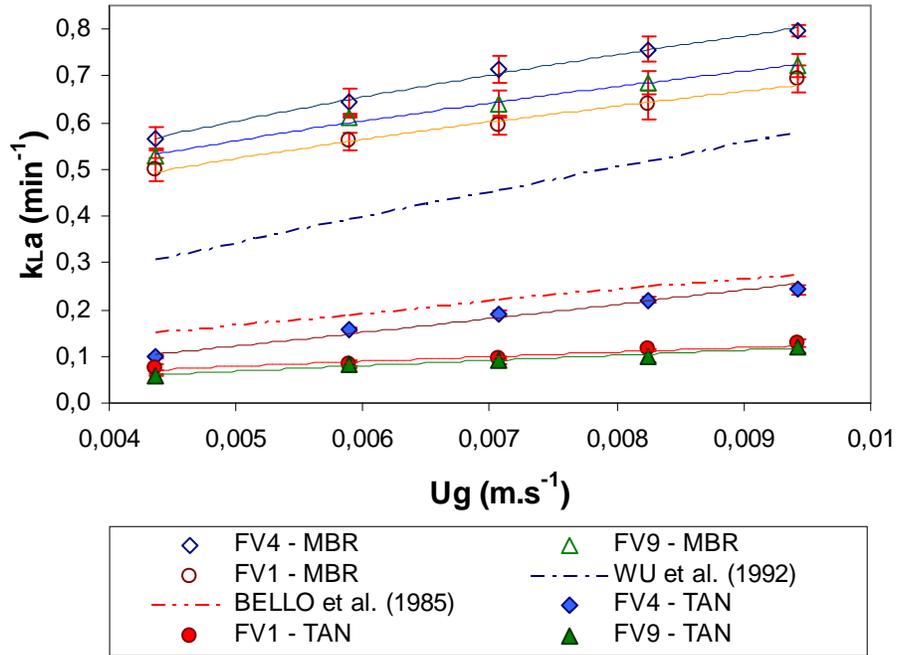


Figure IV.22 : Evolution du coefficient volumique de transfert gaz-liquide ( $k_{La}$ ) en fonction de la vitesse d'injection ( $U_g$ ) de l'air dans le cas où la phase liquide est le milieu de culture.

(FV1, FV4 et FV9), trois phases liquide (eau douce, de mer et milieu de culture) et cinq débits d'air.

En tout premier lieu, il est à noter que, quels que soient le milieu liquide, le facteur de vitesse ou le type de distributeur d'air, les faibles vitesses superficielles de gaz sont inférieures à quelques  $\text{cm.s}^{-1}$ , le régime d'écoulement est donc plutôt homogène. Dans ces conditions, la relation liant le  $k_L a$  à la vitesse superficielle du gaz  $U_g$  s'exprime classiquement sous la forme suivante (Wu *et al.* 1992) :

$$k_L a = \alpha U_g^\beta, \text{ avec, } U_g = \frac{Qg}{\pi R^2}$$

**Equation IV.5**

Dans le cas où la phase liquide est le milieu de culture, la variation de  $k_L a$  avec  $U_g$  est représentée sur la Figure IV.22. A titre indicatif, ces résultats ont été comparés avec les corrélations suivantes obtenues en réacteurs :

- airlift de type interne (Wu *et al.* 1992) :

$$k_L a = 36.3 U_{gr}^{0.83}$$

**Equation IV.6**

où,  $k_L a$  est exprimé en  $\text{min}^{-1}$  et  $U_g$  en  $\text{cm.s}^{-1}$  (dans la colonne ascendante).

- airlift de type interne et externe (Bello *et al.* 1985) :

$$k_L a = 0.76 U_{gr}^{0.8} (1 + A_d / A_r)^{-2}$$

**Equation IV.7**

où,  $A_r$  la section de la partie ascendante (ici  $A_r = A_d$ ), et  $A_d$  la section de la partie descendante.

Sur toute la gamme de débits, et indépendamment de la phase liquide, les valeurs de  $k_L a$  prédites avec ces corrélations sous-estiment les valeurs obtenues en injection membranaire et surestiment celles en injection tangentielle. Ceci n'est pas très surprenant dans la mesure où (i) les précédentes corrélations sont particulièrement simplistes au regard de la complexité des phénomènes mis en jeu, (ii) les distributeurs de gaz sont différents (ces auteurs utilisent des poreux ou des plaques percées) et (iii) dans notre cas,

Tableau IV.4 : Coefficients  $\alpha$  et  $\beta$  caractérisant l'évolution du  $k_L a$  ( $\text{min}^{-1}$ ) en fonction de la vitesse superficielle du gaz ( $\text{m.s}^{-1}$ ) dans le cas où la phase liquide est le milieu de culture

Type	alpha	beta
MBR, FV4	6,45	0,45
MBR, FV9	4,65	0,39
MBR, FV1	4,67	0,41
TAN, FV4	59,19	1,16
TAN, FV1	3,35	0,70
TAN, FV9	6,55	0,86

---

la présence du mouvement tourbillonnaire modifie significativement les mécanismes de formation de bulles et donc l'aire interfaciale générée.

En complément, le Tableau IV.4 présente les valeurs des coefficients  $\alpha$  et  $\beta$  issus de l'équation ( $k_L a = \alpha U_g^\beta$ ).

Il est très difficile de tirer des conclusions quantitatives de ce tableau pour les raisons précédemment évoquées. Cependant, il est intéressant de remarquer, que pour un même type de distributeur,  $\beta$  demeure constant (~0,42 pour MBR et ~0,90 pour TAN).

De manière globale, la Figure IV.22 montre qu'un distributeur membranaire offre un meilleur transfert gaz-liquide qu'un distributeur tangentiel : en eau de mer et en milieu de culture, le  $k_L a$  est de 4 à 7 fois supérieure en injection membranaire qu'en injection tangentielle. Cela s'explique par le fait que cette injection génère des bulles beaucoup plus petites en taille et beaucoup plus nombreuses, augmentant ainsi l'aire d'échange.

Effectivement, une augmentation de la rétention gazeuse  $\epsilon_G$  (rapport entre le volume de gaz et le volume total) est observée visuellement en injection membranaire. Elle est estimée globalement (méthode des différences de hauteurs de liquide avec et sans gaz) autour de 0,1 avec le distributeur membranaire et autour de 0,08 avec le distributeur tangentiel.

D'autre part, les valeurs de  $k_L a$  mesurées en injection membranaire en eau douce sont presque de moitié inférieures aux valeurs enregistrées en eau de mer ou en milieu de culture (Annexe N°4). Cela est dû à la différence de propriétés physico-chimiques entre l'eau douce et l'eau de mer, et plus spécifiquement de tension superficielle (non mesurée ici). L'eau de mer semble jouer ici un rôle d'inhibiteur de coalescence des bulles d'air, engendrant une augmentation de l'aire interfaciale pour une même condition opératoire (facteur de vitesse, distributeur, débit) : les bulles sont, en eau de mer, de petites tailles et nombreuses tandis qu'en eau douce, elles présentent une plus large distribution en tailles et sont moins nombreuses. Même si aucune mesure précise ni de taille de bulles ni de rétention gazeuse n'a été réalisée dans cette étude, ces tendances sont flagrantes par simple comparaison visuelle.

Il est également intéressant de remarquer que le mouvement tourbillonnaire créé par le facteur de vitesse FV4 améliore les capacités de transfert : en injection tangentielle et dans chaque type de milieu liquide, les valeurs de  $k_L a$  sont de l'ordre de  $0,09-0,25 \text{ min}^{-1}$  avec le facteur de vitesse FV4 alors qu'elles sont dans la gamme de  $0,07-0,13 \text{ min}^{-1}$  avec le FV1 et de  $0,06-0,16 \text{ min}^{-1}$  avec le FV9.

Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait que le mouvement tourbillonnaire provoque un meilleur mélange et une meilleure disponibilité des surfaces des bulles au transfert d'oxygène par rapport à un simple écoulement axial (FV1). Ainsi, il semblerait qu'une configuration alliant un facteur de vitesse FV4 et un distributeur membranaire soit la plus performante en terme de capacités de transfert. Quant au facteur de vitesse FV9, le rétrécissement est vraisemblablement trop étroit, de fortes pertes de charge sont générées, une recirculation en haut du tube ascendant, voire un engorgement apparaît et perturbe négativement le mouvement tourbillonnaire et donc son efficacité en terme de transfert d'oxygène.

A noter cependant que pour des débits de gaz très élevés (Figure IV.21 et Annexe N°4) dans les cas eaux douce ou de mer et distributeur membranaire, le facteur de vitesse FV9 a un impact très positif sur le transfert.

## II.4.2 Conclusion

Cette étude a montré que, quel que soit le type de distributeur, les performances d'aération au sein du réacteur étudié se traduisent par des coefficients volumétriques de transfert compris entre  $0,1$  et  $0,8 \text{ min}^{-1}$  (en milieu de culture et pour FV4). La quantité d'oxygène qui peut être transférée du gaz vers la phase liquide s'exprime selon :

$$N_{O_2} = k_L a V_{\text{réacteur}} (C_{O_2}^* - C_{O_2 \text{ résiduel}})$$

**Equation IV.8**

Des études réalisées au laboratoire PBA (Aubry 2006) ont montré que, dans une enceinte à condition contrôlée de type OXYLAB (Hansatech), la production d'oxygène photosynthétique par t-Iso est de  $6.10^{-10} \mu\text{mol d'oxygène.cell}^{-1}.\text{min}^{-1}$  pour une irradiance de  $250 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Dans ces conditions de lumière, la concentration de biomasse mesurée est de  $4,5.10^{10} \text{ cell.l}^{-1}$ , ce qui donne une production en oxygène de  $27 \mu\text{mol}$

---

d'oxygène.min<sup>-1</sup>.l<sup>-1</sup>. Si cette production est ramenée au volume de la maquette (V= 6,1 L), une production approximative de 164,7 μmol d'oxygène.min<sup>-1</sup> peut être estimée soit 5,27 mg d'oxygène.min<sup>-1</sup>.

Il est intéressant de comparer cette quantité approximative d'oxygène produit photosynthétiquement à la capacité de transfert du réacteur. Dans le pire des cas (lorsque le plus petit k<sub>L</sub>a obtenu est considéré : k<sub>L</sub>a = 0,1 min<sup>-1</sup>) et en considérant C<sub>O<sub>2</sub></sub> résiduel=0 g.l<sup>-1</sup>, V= 6,1 L, C\*<sub>O<sub>2</sub>,25°C, eau de mer</sub> = 6,9 mg.l<sup>-1</sup>), la quantité d'oxygène transférable dans le réacteur (Equation IV.8) est de 0,69 g d'oxygène.min<sup>-1</sup>. Ceci est bien supérieur aux 5,27.10<sup>-3</sup> g d'oxygène.min<sup>-1</sup> estimé produits photosynthétiquement (rapport ~ 130). En conséquence, ce calcul rapide montre que la maquette a largement les capacités d'évacuer cet oxygène issu de la photosynthèse, la croissance des microalgues t-Iso ne sera donc pas limitée par ce facteur.

## **II.5 Conclusion sur les études hydrodynamiques**

L'ensemble de ces études hydrodynamiques a permis de définir une gamme de débits d'air usuels. Le débit d'air minimal de 0,3 Nl.min<sup>-1</sup> permet une mise en circulation du milieu et le maximal de 2,0 Nl.min<sup>-1</sup> correspond à un maximum toléré au sein de la maquette (effet d'engorgement) et respecte la fragilité des cultures de microalgues.

Les résultats privilégient l'utilisation des distributeurs d'air de type tangentiel et membranaire sur des critères basés sur la vitesse débitante, l'intensité tourbillonnaire et les transferts de matière gaz-liquide. Une préférence est cependant portée sur le distributeur tangentiel au regard de sa simplicité technologique, de sa facilité de mise en œuvre et de son faible coût.

L'étude hydrodynamique permet de s'orienter vers une longueur de tube de un mètre avec les facteurs de vitesse FV4 et FV9. Cependant, une préférence semble se dégager pour FV4 dans la mesure où (i) FV9 ne génère ni une intensité tourbillonnaire plus intense ni des composantes tangentielles plus fortes et (ii) qu'un phénomène d'engorgement est observé en haut de colonne avec FV9.



---

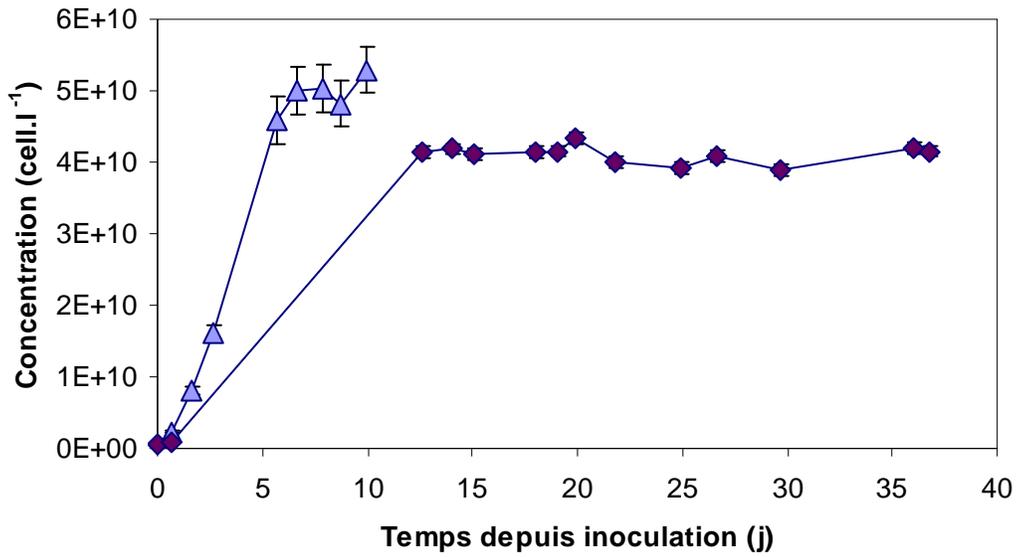
### ***Chapitre III CARACTERISATION DES PERFORMANCES BIOLOGIQUES : CULTURES EN CONTINU DE T-ISO***

Ce chapitre a pour but d'étudier le comportement de la maquette lors de la mise en œuvre en continu de cultures de la microalgue aquacole t-Iso. En particulier, un accent sera porté sur la comparaison des configurations FV1 (écoulement purement axial) et FV4 (écoulement tourbillonnaire) ; à cet effet, des cultures en continu (mode chemostat) d'une durée de dix jours à un mois seront réalisées dans des conditions expérimentales identiques (en terme de pH, de température et de flux incident de lumière), seul le facteur de vitesse sera modifié. Les objectifs visés sont dans un premier temps, de déterminer la productivité réelle du réacteur et dans un second temps, d'apprécier le gain apporté par un écoulement tourbillonnaire, notamment en terme d'encrassement des tubes.

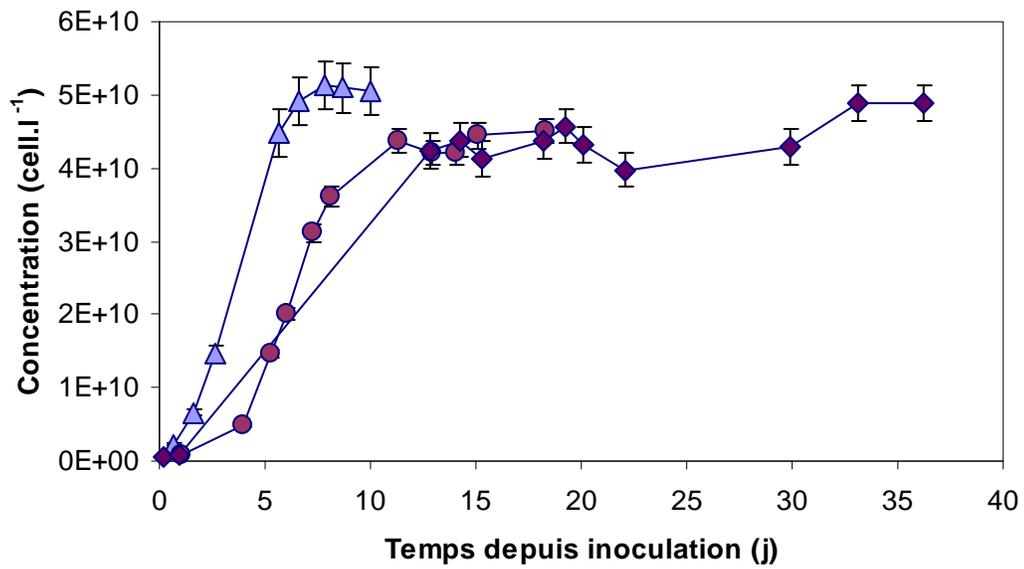
#### ***III.1 Préambule***

Pour que l'impact de la géométrie du photobioréacteur sur la productivité des cultures puisse être réellement étudié, il est nécessaire que l'irradiance soit le seul facteur limitant pour le taux de croissance, la réponse de la culture ne devant pas être biaisée par des paramètres environnementaux contrôlables en laboratoire (température, pH, débit d'air, nutriments). Les paramètres suivants de culture sont contrôlés : la température est réglée à 27°C et le pH de 7,2 par injection de CO<sub>2</sub>. D'après Zittelli *et al.* (2000), la productivité est alors conditionnée uniquement par l'irradiance reçue et par la quantité de nutriments disponible pour chaque cellule.

Dans le cas présent, la croissance est expérimentalement photolimitée : l'irradiance est le seul paramètre limitant au regard du flux incident de lumière imposé et de son atténuation au sein du photobioréacteur (Figure IV.1). D'après le modèle à deux flux l'irradiance  $G$  est de l'ordre de  $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  en fond de réacteur ( $z = 60 \text{ mm}$ ) pour un flux incident  $q_0$  de  $210 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (Figure IV.1). Ainsi, il n'y a pas de zone sombre et on demeure bien en deçà du seuil de photoinhibition.



(a)



(b)

Figure IV.23 : Culture continu de t-Iso en mode chemostat (essai 1 (Δ), essai 2 (○) et essai 3 (◇) pour les facteurs de vitesse FV1 (a) et FV4 (b). Conditions opératoires : milieu de Conway C\*<sub>3</sub>, distributeur d'air tangentielle, débit d'air 1,4 NI.min<sup>-1</sup>, Irradiance de 250-260 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95%.

---

Expérimentalement, pour s'assurer qu'aucune limitation en nutriments n'existe, des essais biologiques ont été effectués dans lesquels la concentration en nutriments du milieu de Conway est fournie à une dose de  $3 \text{ ml.l}^{-1}$  (notée  $C^*_3$ , avec  $S_{\text{Ni}^*3} = 3,53 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$  et  $S_{\text{Pi}^*3} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ , respectivement les concentrations initiales en azote et phosphate), soit trois fois la dose habituellement apportée ( $C^*_1 = 1 \text{ ml.l}^{-1}$ , avec  $S_{\text{Ni}^*1} = 1,18 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$  et  $S_{\text{Pi}^*1} = 1,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ) (Annexe N°2).

Le milieu de culture au sein du réacteur (soumis quotidiennement à un suivi des concentrations résiduelles en nutriments) révèle des quantités en azote quasi nulles ou bien indétectables par la méthode utilisée. La limitation par l'azote de t-Iso ayant lieu à priori à un seuil très faible, il pourrait être en dessous du seuil de détection de  $8 \cdot 10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$  du DIONEX (pour  $\text{NO}_3^-$ ). Cette détection en  $\text{NO}_3^-$  a été observée sur les 21 premiers jours à l'équilibre.

En revanche les phosphates sont toujours détectés en quantité significative. Ce résultat montre que le premier nutriment épuisé est l'azote et donne à supposer que les cellules cultivées peuvent être en condition limitante en azote.

Pour vérifier cette hypothèse, au 32<sup>ème</sup> jour des cultures (essai 3 en FV1 et FV4), une augmentation de la concentration en nutriments a été réalisée, passant d'un apport  $C^*_3$  à un apport  $C^*_4$  (c'est-à-dire une concentration en azote multipliée par quatre via le milieu de Conway fourni, où  $S_{\text{Ni}^*4}$  est de  $4,71 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$  d'azote).

Les résultats obtenus (Figure IV.23) sont comparés par paire : FV1 vs. FV4. Lors de l'essai 3 la concentration cellulaire reste stable avec  $(4,34 \pm 0,19) \cdot 10^{10} \text{ cell.l}^{-1}$  avant et après le passage en  $C^*_4$ , ce que confirme le suivi des absorptions à 680 et 800 nm. A la suite de cet enrichissement, la concentration résiduelle en azote augmente légèrement et reste ensuite stable à une valeur de  $4 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ .

A partir de ces constatations, il est raisonnable de penser que les cellules ne sont pas dans des conditions limitantes en nutriments et donc que les effets observés concernant la productivité sont bien uniquement liés à une limitation par la lumière, puisque aucune modification de croissance n'est observée.

Tableau IV.5 : Productivité et variance  $\sigma$  associée ( $\text{cell.l}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) en configurations FV1 et FV4 (Distributeur tangentiel,  $1,4 \text{ NI.min}^{-1}$ ).

	FV1	FV4
Essai 1	$1,7614.10^{10}$	$1,724.10^{10}$
$\sigma$	$1,25.10^9$	$1,28.10^9$
Essai 2	n.d.	$1,361.10^{10}$
$\sigma$		$2,69.10^9$
Essai 3	$1,418.10^{10}$	$1,469.10^{10}$
$\sigma$	$2,52.10^9$	$2,83.10^9$

---

### **III.2 Productivités sur une période courte**

La pertinence des conditions de culture vérifiées, l'analyse des cultures en continu conduites dans les maquettes peut être réalisée afin de quantifier la productivité obtenue et d'apprécier le gain apporté par la génération d'un écoulement tourbillonnaire (FV4) par opposition à un écoulement purement axial (FV1). A noter que les productivités et encrassements en conditions réelles sont associés à la durée des cultures en continu : dans les cas considérés, elle n'excède pas 40 jours.

Ces résultats ont révélé que la maquette assure une productivité moyenne de  $(1,59 \pm 0,19) \cdot 10^{10} \text{ cell.l}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$  avec le facteur de vitesse FV1 et de  $(1,52 \pm 0,26) \cdot 10^{10} \text{ cell.l}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$  avec FV4 (Tableau IV.5), pour un taux de dilution de  $0,36 \text{ j}^{-1}$  et un flux incident de  $260 \mu\text{mol.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

L'analyse de variance des productivités permet de conclure qu'il n'y a pas de différence significative entre les réplicats de culture pour une même configuration du photobioréacteur. De même, cette analyse statistique montre qu'il n'existe pas de gain significatif de productivité, au niveau de confiance 95%, en configuration FV4 par rapport à la configuration FV1.

La différence observée entre la productivité expérimentale obtenue et la valeur prédite (pour  $D = 0,36 \text{ j}^{-1}$  et  $q_0 = 250 \mu\text{mol.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) voisine de  $2,8 \cdot 10^{10} \text{ cell.l}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$  s'explique par des approximations utilisées dans le modèle : flux incident réel non collimaté, propriétés optiques non rigoureusement démontrées (calculées à partir de données bibliographiques).

Ce résultat entre FV1 et FV4 était attendu dans la mesure où la productivité dans un photobioréacteur, en limitation de lumière, est uniquement conditionnée par l'apport de lumière, et donc par le produit flux incident par surface éclairée, et ce quelle que soit la géométrie et l'hydrodynamique (Pruvost *et al.* 2007). La seule exception survient lorsque les cellules sont sensibles à l'alternance zone éclairée/zone sombre (L/D) ; dans ce cas précis, la conversion instantanée du flux capté peut être modifiée et donc le rendement de conversion biologique et au final la productivité du photobioréacteur (Janssen *et al.* 2001). Janssen *et al.* (2001) montrent dans leurs études sur les microalgues

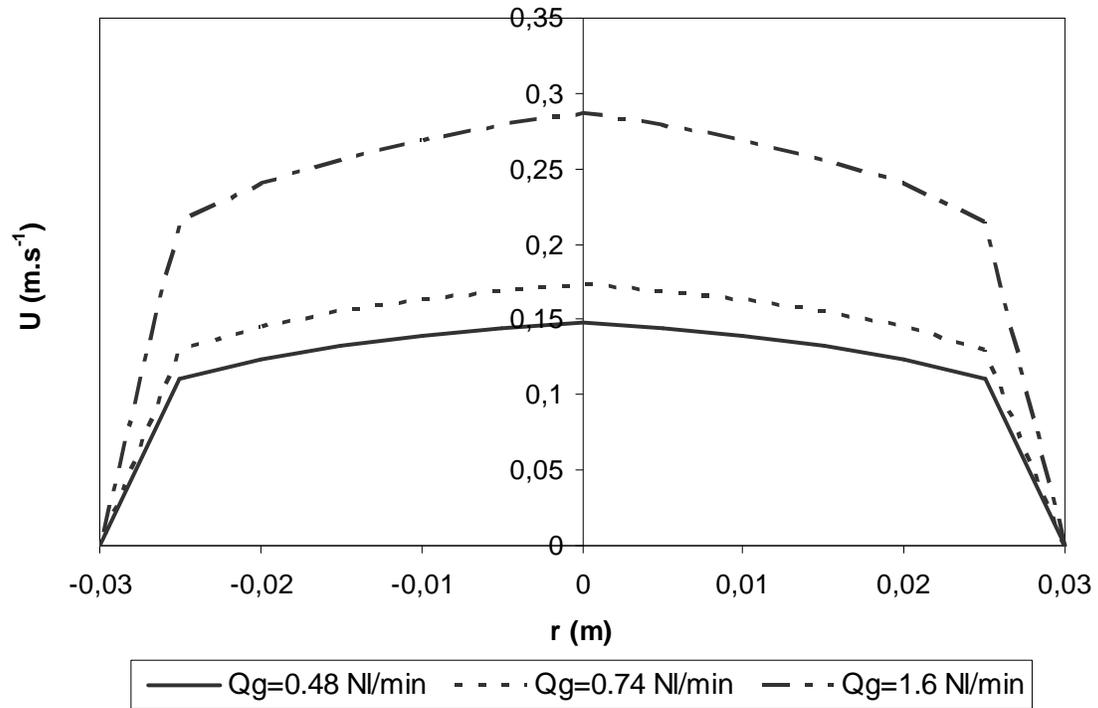


Figure IV.24 : Prédiction des profils radiaux (selon le rayon  $r$  du tube) de la composante axiale ( $U$ ) de vitesse en écoulement purement axial turbulent au sein de la maquette d'étude (FV1, distributeur d'air tangentielle).

---

*Chlamydomonas reinhardtii* et *Dunaliella tertiolecta* que, par comparaison à une culture soumise à un éclairage continu ( $440\text{-}455 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), une alternance L/D avec une période de 97 ms améliore le rendement, contrairement à un cycle de période de 3 s qui le dégrade. Dans la présente maquette d'étude, ce phénomène n'est à priori pas présent à cause des faibles éclairagements appliqués, ou tout simplement d'une faible sensibilité de *t-Iso* à de tels effets.

### **III.3 Encrassement sur une période longue**

A long terme, il est communément observé en photobioréacteur une diminution de la productivité à cause de l'encrassement des parois. En effet, la présence de biofilm rend les parois plus opaques, réduisant ainsi progressivement le flux incident de lumière. C'est précisément pour pallier ce défaut qu'un écoulement tourbillonnaire a été mis en œuvre dans cette étude, son intérêt potentiel étant d'autant plus important dans le contexte aquacole où les cultures sont lancées sur une période longue (deux à trois mois). En effet, comme il a été montré dans les paragraphes précédents, le mouvement tourbillonnaire crée non seulement de la turbulence mais génère aussi une composante tangentielle de vitesse importante à proximité des parois et donc du frottement pariétal.

Ce sont ces caractéristiques qui sont susceptibles de limiter la formation de biofilm, de soutenir sur une longue période la même productivité microalgale et donc d'assurer de la meilleure manière les besoins nutritifs larvaires.

Ces caractéristiques hydrodynamiques ne sont pas retrouvées dans le cas d'un écoulement purement axial (tel que généré par le facteur de vitesse FV1) puisque seule une composante axiale de vitesse existe par définition (les composantes tangentielle et radiale étant nulles), le frottement pariétal y est donc plus faible.

A titre illustratif, la Figure IV.24 présente une prédiction des profils radiaux de la composante axiale de vitesse en écoulement purement axial (facteur de vitesse FV1), pour un distributeur d'air tangentielle et à différents débits d'air. Ils ont été calculés à partir de l'équation suivante classiquement utilisée pour des écoulements turbulents en conduite (Bird *et al.* 2002) :

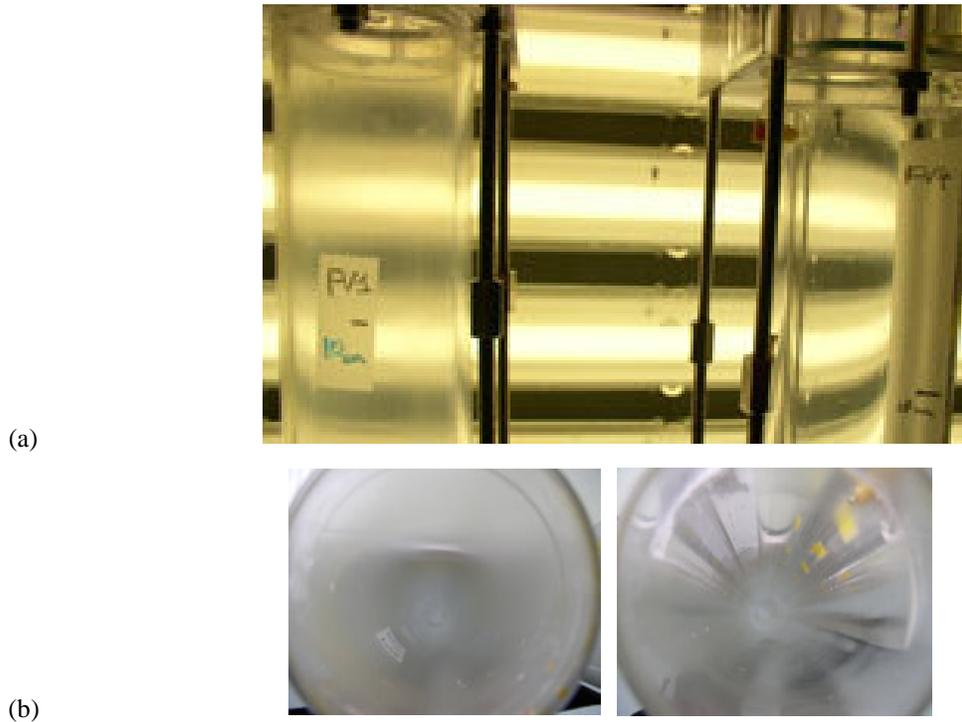


Figure IV.25 : Photographies de l'encrassement des tubes descendants dans les maquettes d'étude après vidange du réacteur : vues externe (a) et interne (b) prises à une position axiale comprise entre  $0 < x < 100$  mm. Les photographies à gauche correspondent au facteur de vitesse FV1 (écoulement axial) et à droite au FV4 (écoulement tourbillonnaire). Les conditions opératoires associées aux cultures sont un distributeur d'air tangentielle et un débit d'air de  $1,4 \text{ NL} \cdot \text{min}^{-1}$ .



Figure IV.26 : Photographies de biofilm sur les tubes descendants des maquettes d'étude dans le cas de FV1 (gauche) et de FV4 (droite), prises à une position axiale comprise entre  $0 < x < 100$  mm. Configurations : distributeur tangentielle, débit d'air de  $1,4 \text{ NL} \cdot \text{min}^{-1}$ .

$$\frac{U(r)}{U_{\max}} = \left(1 - \frac{r}{R}\right)^{1/n}$$

**Equation IV.9**

où,  $U$  est la composante axiale de vitesse (moyennée dans le temps),  $U_{\max}$  sa valeur maximale au centre de la conduite,  $n$  un indice fonction du nombre de Reynolds (ici  $n = 6,16-6,20$ ). Etant a priori non connu,  $U_{\max}$  est déterminée itérativement en assurant la convergence entre vitesse moyenne déduite du profil et vitesse débitante expérimentale.

Cette figure montre qu'en écoulement axial, les profils radiaux de composante axiale de vitesse sont quasi plats, contrairement à ceux en écoulement tourbillonnaire où des survitesses en proche paroi sont présentes (Figure IV.16).

Les photographies présentées sur les Figures IV.25 et IV.26 ont été réalisées après 40 jours de culture, soit la moitié de l'objectif de durée des cultures en continu en écloséries.

Elles offrent une comparaison qualitative de l'encrassement des parois en présence d'un écoulement axial (FV1) et d'un écoulement tourbillonnaire (FV4). Une diminution notable de dépôt de biofilm sur les parois des tubes est visuellement détectable en configuration FV4, même si celle-ci n'a pu être quantifiée (Figure IV.26).

### **III.4 Conclusion**

La productivité sur une courte période (un mois) reste identique quelle que soit la configuration :  $(15,4 \pm 2,5) \cdot 10^9 \text{ cell.l}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ . En considérant un volume de photobioréacteur de 100 L, la production théorique serait alors de  $1,54 \cdot 10^{12} \text{ cell.j}^{-1}$ , elle permet donc bien de couvrir le besoin des écloséries estimés à  $1,15 \cdot 10^{12} \text{ cell.j}^{-1}$ . De plus, il a été visuellement observé une limitation de l'encrassement des parois du photobioréacteur en présence d'un écoulement tourbillonnaire (FV4) par comparaison avec un écoulement purement axial. Même si aucune quantification de ce phénomène n'a été réalisée, ces observations concrètes et visibles dès le premier mois de culture démontrent à elles seules l'intérêt du mouvement tourbillonnaire, à savoir d'éviter ou du moins de limiter l'encrassement des tubes dans le temps. Le gain pour les écloséries est incontestable dans la mesure où une conservation sur plusieurs mois d'une productivité adéquate pourra être assurée dans le photobioréacteur pilote (Annexe N°5) construit à l'issue de ces travaux.

Le but initial fixé dans le cahier des charges stipulait de réaliser et de conduire une culture en continu de t-Iso sur deux mois ; à l'issue de ces résultats il peut être raisonnablement envisagé de dépasser cet objectif initial sans perte de performances.

Une comparaison entre les résultats obtenus et ceux de la littérature reste difficile car les espèces considérées sont différentes de t-Iso et à cause du manque d'informations concernant les conditions de culture (irradiance utilisée, taux de renouvellement appliqué, pH...).

Le photobioréacteur de chez Cell Pharm (anciennement connus sous le nom de Biofence), dédié principalement à l'aquaculture, est le seul donnant des indications suffisantes pour une comparaison des productivités. Les cultures en continu de l'espèce aquacole t-Iso y sont réalisées en intérieur, éclairées de manière artificielle par des tubes fluorescents (flux incident non mentionné) : des productivités de  $8,2 \cdot 10^9$  et  $12,0 \cdot 10^9$   $\text{cell.l}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$  (soit 0,06 et 0,09  $\text{g.l}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ ) sont atteintes pour des taux de renouvellement respectifs de 0,34 et de 0,5  $\text{j}^{-1}$  (taux de dilution permettant une productivité optimale) (Cell Pharm Bioactive Product <http://home.bt-webworld.com/cellpharm/>). Il est intéressant de noter que pour ces deux taux de renouvellement, la maquette de mise au point permet d'atteindre des productivités supérieures ( $\sim 15 \cdot 10^9$   $\text{cell.l}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ ) à celles annoncés par le photobioréacteur concurrent de Cell Pharm.

---



---

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Depuis quelques années, les écloseries de mollusques bivalves connaissent un développement très sensible de leurs activités. Leur production en France est essentiellement centrée sur le naissain de *Crassostrea gigas*. Dans ce contexte porteur, ces écloseries sont demandeuses de nouvelles méthodes et de procédés innovants, susceptibles d'accroître leur productivité et de renforcer leur rentabilité. Un axe d'amélioration passe par l'optimisation de la quantité et de la qualité du phytoplancton produit dans ces écloseries pour élever et nourrir les larves.

Les travaux réalisés, lors de cette thèse, ont eu pour objectif la conception, le développement et la mise au point d'un prototype de photobioréacteur destiné à la production de biomasse microalgale : cet outil fonctionne selon le principe de la culture en continu et répond aux contraintes d'exploitation spécifiques du secteur des écloseries de mollusques.

Pour la prise en compte de ces contraintes, un premier temps a été consacré à la conduite d'une enquête, auprès de l'ensemble des écloseries françaises, afin de déterminer leurs pratiques usuelles en matière de culture de phytoplancton. Cette enquête a notamment mis en valeur la disparité, selon les structures, des besoins quantitatifs en microalgues et a permis de répertorier les espèces de microalgues principalement utilisées par les écloseries. Elle a conduit à identifier une microalgue incontournable en élevage larvaire, *Isochrysis affinis galbana*, qui a été utilisée dans l'ensemble des études relatives à ce projet.

Dans un deuxième temps, la définition des caractéristiques géométriques générales du photobioréacteur a été effectuée à partir d'une analyse de la littérature scientifique sur le sujet. Elle a permis de dégager les atouts et inconvénients spécifiques à chacun des deux grands types de géométrie, plane ou cylindrique.

La synthèse des éléments issus de la littérature et de l'enquête a conduit au choix d'une géométrie de type tubulaire verticale. Celle-ci permet d'envisager des performances de

culture élevées et répond à la notion de modularité exigée par la disparité des besoins des écloseries ainsi qu'à leur préoccupation d'un encombrement minimal.

Dans la géométrie tubulaire, un fonctionnement en continu sur une période de plusieurs mois entraînerait des risques de colonisation des parois optiques qui atténuerait la productivité du système. Ceci a conduit à rechercher des gradients de vitesse pariétaux élevés à l'aide d'une hydrodynamique de type tourbillonnaire, générée par injection tangentielle de la culture dans les tubes constitutifs du photobioréacteur.

Une autre contrainte, est de s'affranchir des difficultés liées aux changements d'échelle souvent rencontrées lors de l'extrapolation des résultats. Pour y pallier, les études physiques et biologiques ont été réalisées sur une maquette représentant un module élémentaire du futur photobioréacteur.

Une première étude a consisté à déterminer le diamètre des tubes du prototype représentant un bon compromis entre les gains de productivité, les coûts d'investissement et de fonctionnement du photobioréacteur. Pour cela, un modèle prédictif de la productivité du système, en fonction du flux incident de lumière et du diamètre de tube, a été établi. Celui-ci est basé sur l'utilisation du modèle à deux flux, développé par Pottier (2005), adapté à la géométrie tubulaire et à la microalgue t-Iso. A cette fin, les propriétés optiques de t-Iso ont été déterminées ainsi que son modèle de croissance en fonction de l'irradiance. A l'issue de cette étude, un diamètre de tube de soixante millimètres a été retenu.

Les études hydrodynamiques, conduites en utilisant les techniques de traçage conductimétrique et de PIV, ont permis de caractériser les propriétés des écoulements au sein du photobioréacteur en fonction de différentes configurations (facteurs de vitesse, débit d'air, type de distributeur). Il a ainsi pu être montré que :

- Le gain induit par le facteur de vitesse FV9, en terme d'intensité tourbillonnaire et de composante tangentielle de vitesse, n'est pas significatif par rapport au facteur FV4. Comme en FV9, des phénomènes d'engorgement en tête de tube ont de plus été observés, cette option ne paraît pas justifiée et le facteur de vitesse FV4 a été privilégié pour les travaux sur le futur photobioréacteur.

- L'intensité du mouvement tourbillonnaire importante en début de tube, diminue au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la bride mais sans différences notables entre les facteurs de vitesse FV4 ou FV9. Du fait de cette déperdition de vitesse, une longueur de tube de un mètre est préconisée pour le prototype car au-delà le mouvement est trop atténué pour être efficace.
- L'allure des profils des composantes axiales et tangentielles est caractéristique de l'absence d'axisymétrie du mouvement induit par les brides d'injection. Ces profils mettent en évidence des vitesses plus élevées en proche paroi (survitesse) qu'au niveau de la zone centrale où une recirculation des particules peut être observée.

Différents types d'injecteurs de gaz ont également été testés, et ont démontré l'intérêt des distributeurs de type membranaire ou tangentiel. Le distributeur tangentiel a été retenu pour équiper le photobioréacteur en raison de sa simplicité de mise en œuvre et de son coût.

L'étude des débits de gaz a montré un seuil critique de mise en régime de la boucle de  $0,3 \text{ NL}\cdot\text{min}^{-1}$  en deçà duquel la circulation du milieu liquide n'est pas assurée. Au delà d'un débit de  $2 \text{ NL}\cdot\text{min}^{-1}$ , des effets d'engorgement induisent un mauvais fonctionnement de la boucle airlift. Il est à noter que dans cette gamme, les débits d'air les plus élevés n'entraînent pas d'effets délétères sur les cultures de t-Iso.

Par ailleurs, les études relatives aux performances d'aération ont confirmé les bonnes propriétés de transfert de matière gaz-liquide, et ce quelle que soit la configuration utilisée : les coefficients volumiques de transfert de matière ( $k_L a$ ) obtenus assurent un dégazage largement suffisant de l'oxygène produit photosynthétiquement.

Dans une étape finale, l'intérêt du mouvement tourbillonnaire (FV4) sur la productivité et la colonisation des surfaces optiques a été étudié par comparaison à une configuration classique d'écoulement purement axial (FV1). Les résultats des cultures en continu de t-Iso ont clairement mis en évidence que l'écoulement tourbillonnaire ne procure pas de gain de productivité significatif. Néanmoins une productivité moyenne de  $1,536 \cdot 10^{10} \pm$

$0,245 \cdot 10^{10}$  cell.l<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> (soit 0,12 g.l<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>) est atteinte dans la maquette pour un taux de renouvellement fixé à 0,36 j<sup>-1</sup> et une irradiance incidente de 260 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>.

En revanche, bien que le phénomène n'ait pu être quantifié dans le cadre de cette thèse, l'impact de l'écoulement tourbillonnaire semble très prometteur pour diminuer l'encrassement des parois optiques du photobioréacteur. Il semble que par l'augmentation des gradients de vitesse pariétale, l'écoulement tourbillonnaire permet de minimiser la formation de biofilm. Ce procédé devrait donc conduire à un allongement de la durée des cultures continues possible tout en préservant la qualité. Par voie de conséquence, les besoins en main d'œuvre pour l'entretien du photobioréacteur seront limités.

A l'issue de ces travaux, une unité pilote de 120 L, composée de dix-huit modules élémentaires, a été réalisée. Elle permet sur la base des productivités enregistrées de répondre au besoin quotidien de  $1,15 \cdot 10^{12}$  cellules fixé dans le cahier des charges initial.

Pour la suite, une étape clé sera l'intégration de ce prototype de photobioréacteur dans une éclosérie, partenaire du projet, afin de valider sur le terrain la pertinence des procédés et technologies mis en œuvre. Celle-ci va permettre de conforter l'intérêt de la technique de production en continue du phytoplancton, et de vérifier la justesse du modèle économique : qualité de la biomasse algale obtenue, production à coûts maîtrisés, gain de temps et de main d'œuvre.

Plus tard ou en parallèle, il sera nécessaire d'élargir les possibilités de production du photobioréacteur à d'autres espèces de microalgues, telle que la diatomée *Chaetoceros gracilis*, qui intervient également dans le régime alimentaire bispécifique des larves, afin que cette nouvelle technologie représente une solution globale pour les écloséries.

Pour exploiter pleinement ce nouveau procédé, les *preferendum* écophysologiques des microalgues aquacoles (*Chaetoceros calcitrans*, *C. gracilis*, *Skeletonema marinoï*, *Pavlova lutheri*, *Thalassiosira pseudonana*...) devront être déterminés et les conditions de culture maîtrisées afin d'optimiser la production de biomasse au sein du photobioréacteur.

Au niveau scientifique strict, cette technologie alternative de culture ouvre des voies nouvelles. Elle devrait conduire à une meilleure maîtrise de la qualité de la biomasse

microalgale produite tant sur le plan biochimique que sur les aspects bactériologiques. Ces possibilités d'action sur le métabolisme et la composition biochimique des microalgues offrent un cadre particulièrement approprié pour l'étude des besoins nutritifs des larves de mollusques, qui restent aujourd'hui encore mal connus.

Le photobioréacteur permettant une culture maîtrisée (température, irradiance, pH, nutriments...) et en continu des microalgues facilitera des approches nouvelles de recherches dont les résultats pourront être mis en application et transférés en écloséries.

Même si ce photobioréacteur a été développé et conçu pour les besoins spécifiques des écloséries, ses caractéristiques de modularité, de production en continu et de maîtrise des paramètres externes en font un outil de production phytoplanctonique pouvant être utilisé par des secteurs autres que celui de l'aquaculture.







---

**BIBLIOGRAPHIE**

- Abu Rezaq, T. S., Al Musallam, L., Al Shimmari, J. and Dias, P. (1999). "Optimum production conditions for different high-quality marine algae." Hydrobiologia **403**. 97-107.
- Acien Fernandez, F. G., Camacho García, F. G. F., Sánchez Pérez, J. A., Fernández Sevilla, J. M. and Molina Grima, E. (1997). "A model for light distribution and average solar irradiance inside outdoor tubular photobioreactors for the microalgal mass culture." Biotechnology and Bioengineering **55** (5). 701-714.
- Acien Fernandez, F. G., Sevilla, J. M. F., Perez, J. A. S., Grima, E. M. and Chisti, Y. (2001). "Airlift-driven external-loop tubular photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of design and performance." Chemical Engineering Science **56** (8). 2721-2732.
- Akkerman, I., Janssen, M., Rocha, J. and Wijffels, R. H. (2002). "Photobiological hydrogen production: photochemical efficiency and bioreactor design." International Journal of Hydrogen Energy **27** (11-12). 1195-1208.
- Albentosa, M., Perez Camacho, A., Fernandez Reiriz, M. J. and Labarta, U. (2002). "Wheatgerm flour in diets for Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, spat." Aquaculture **212** (1-4). 335-345.
- Allen, E. J. and Nelson, E. W. (1910). "On the artificial culture of marine plankton organisms." Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. **8**. 421-474.
- Andrews, J. F. (1968). "A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates." Biotechnology and Bioengineering **10**. 707-723.
- Aubry, B. (2006) "Rapport de stage 1<sup>ère</sup> année Master Génie des Procédés de l'Université de Nantes: "Etude des transferts de gaz dans un photobioréacteur"." *Ifremer*, Nantes. pp. 41.
- Auby, I., Maurer, D., Cassam- Chenai, Y., Neaud-Masson, N., D'Amico, F. and Rumèbe, M. (2004) "Rapport: "Reproduction de l'huître creuse dans le bassin d'Arcachon"." *Ifremer - Arcachon : Affaires maritimes de la Gironde*, Arcachon. N° référence : 66658. pp. 203.
- Barbosa, M. J. (2003). "Microalgal photobioreactors: scale up and optimisation." Wageningen Universtateit, Nederland. 90-5808-898-7. pp. 168.
- Barnabé, G. (1990). Aquaculture. Chichester, England, Ellis Horwood ISBN 0-13044-108-2. pp. 630.
- Bello, R. A., Campbell, W., Robinson, Murray and Moo-Young (1985). "Gas holdup and overall volumetric oxygen transfer coefficient in airlift contactors." Biotechnology and Bioengineering **27** (3). 369-381.
- Bird, R. B., Stewart, W. E. and Lightfoot, E. N. (2002). Transport phenomena. John Wiley & Sons Inc. 0-471-41077-2. pp. 885.
- Borowitzka, M. A. (1996). "Closed algal photobioreactors: Design considerations for large-scale systems." Journal of Marine Biotechnology **4**. 185-191.

- Borowitzka, M. A. (1997). "Microalgae for aquaculture: Opportunities and constraints." Journal of Applied Phycology **9**. 393–401.
- Bosma, R. and Wijffels, R. H. (2003). "Marine biotechnology in education: a competitive approach." Biomolecular Engineering **20** ((4-6) SI). 125-131.
- Bougaran, G., Le Dean, L., Lukomska, E., Kaas, R. and Baron, R. (2003). "Transient initial phase in continuous culture of *Isochrysis galbana* affinis *Tahiti*." Aquatic Living Resources **16** (4). 389-394.
- Bougaran, G., Megrier, C., Le Déan, L., Kaas, R., Olivo, E. and Cadoret, J.-P. (2007). "Experimental factorial design as a tool for optimization of microalgal cultivation conditions", in: *Biotechnology of Microalgae 7th European Workshop*, Nuthetal, Germany.
- Brown, M. R., Dunstan, G. A., Jeffrey, S. W., Volkman, J. K., Barrett, S. M. and LeRoi, J.-M. (1993). "The influence of irradiance on the biochemical composition of the prymnesiophyte *Isochrysis* sp. (Clone T-iso)." Journal of Phycology **29** (5). 601-612.
- Brown, M. R., Jeffrey, S. W., Volkman, J. K. and Dunstan, G. A. (1997). "Nutritional properties of microalgae for mariculture." Aquaculture **151**. 315-331.
- Brown, M. R., McCausland, M. A. and Kowalski, K. (1998). "The nutritional value of four Australian microalgal strains fed to Pacific oyster *Crassostrea gigas* spat." Aquaculture **165** (3-4). 281-293.
- Brown, M. R. (2002). "Nutritional Value and Use of Microalgae in Aquaculture". Avances en Nutrición Acuícola VI. Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G. and Simoes, N. Cancún, Quintana Roo, México, Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 281-292.
- Brown, M. R. and Robert, R. (2002). "Preparation and assessment of microalgal concentrates as feeds for larval and juvenile Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)." Aquaculture **207** (3-4). 289-309.
- Chisti, Y. (1989). Airlift Bioreactors. London, England, Elsevier Applied Science ISBN 1-85166-320-7. pp. 355.
- Chisti, Y. and Moo-Young, M. (2001). "Bioreactors Encyclopedia of Physical Science and Technology" Meyers, R. A. New York, USA, Academic Press. 247-271.
- Chrétiennot-Dinet, M.-J. (1990). "Atlas du phytoplancton marin. Volume III- Chlorophycées, Cryptophycées, Euglénophycées, Eustigmatophycées, Prasinophycées, Prymnésiophycées et Tribophycées." Paris, France, CNRS.
- Copin-Montégut, G. (2002). "Propriétés physiques de l'eau de mer." Techniques de l'ingénieur. **K1** (70). 1-20.
- Cornet, J.-F., Dussap, C. G., Gros, J.-B., Binois, C. and Lasseur, C. (1995). "A simplified monodimensional approach for modeling coupling between radiant light transfer and growth kinetics in photobioreactors." Chemical Engineering Science **50** (9). 1489-1500.
- Coutteau, P. and Sorgeloos, P. (1992). "The use of algal substitutes and the requirement for live algae in hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey." Journal of Shellfish Research **11**. 467–476.

- 
- Csogor, Z., Herrenbauer, M., Perner, I., Schmidt, K. and Posten, C. (1999). "Design of a photo-bioreactor for modelling purposes." Chemical Engineering and Processing **38** (4-6). 517-523.
- Degen, J., Uebele, A., Retze, A., Schmid Staiger, U. and Trösch, W. (2001). "A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect." Journal of Biotechnology **92** (2). Special Iss. 89-94.
- Eriksen, N. T., Poulsen, B. R. and Iversen, J. J. L. (1998). "Dual sparging laboratory-scale photobioreactor for continuous production of microalgae." Journal of Applied Phycology **10** (4). 377-382.
- Fabregas, J., Herrero, C., Abalde, J. and Cabezas, B. (1985). "Growth, chlorophyll *a* and protein of the marine microalga *Isochrysis galbana* in batch cultures with different salinities and high nutrient concentrations." Aquaculture **50** (1-2). 1-11.
- Falkowski, P. G., Dubinsky, Z. and Wyman, K. (1985). "Growth-irradiance relationships in phytoplankton." Limnology and Oceanography **30** (2). 311-321.
- Food and Agriculture Organization (2004). "Statistiques des pêches. Production de l'aquaculture." FAO yearbook /annuaire/ anuario **98** (2).
- García Camacho, F., Gomez, A. C., Sobczuk, T. M. and Molina Grima, E. (2000). "Effects of mechanical and hydrodynamic stress in agitated, sparged cultures of *Porphyridium cruentum*." Process Biochemistry **35** (9). 1045-1050.
- Gourich, B., Vial, C., El Azher, N., Belhaj Soulami, M. and Ziyad, M. (2006). "Improvement of oxygen mass transfer estimation from oxygen concentration measurements in bubble column reactors." Chemical Engineering Science **61** (18). 6218-6222.
- Green, E. J. and Carritt, D. E. (1967). "New tables for oxygen saturation of seawater." Journal of Marine Research **25** (2). 140-147.
- Green, J. C. and Leadbeater, B. S. C. (1994). The Haptophyte algae. Oxford, England, The Systematics Association special volume ISBN 0-198-57772-9. pp. 446.
- Grobbelaar, J. U. and Kurano, N. (2003). "Use of photoacclimation in the design of a novel photobioreactor to achieve high yields in algal mass cultivation." Journal of Applied Phycology **15** (2-3). 121-126.
- Gudin, C. and Chaumont, D. (1983). "Solar biotechnology study and development of tubular solar receptors for controlled production of photosynthetic cellular biomass." in: *Proceedings of the workshop and EC contractors's meeting*, Capri, Italy., Reidel Publ.Co., Dordrecht.
- Hébrard, G., Bastoul, D. and Roustan, M. (1996). "Influence of the gas sparger on the hydrodynamic behaviour of bubble columns." Tran. Ichem E. **74** (A ). 406-414.
- Hu, Q. and Richmond, A. (1996). "Productivity and photosynthetic efficiency of *Spirulina platensis* as effected by light intensity, algal density and rate mixing in a flat plate photobioreactor." Journal of Applied Phycology **8**. 139-145.
- Hu, Q., Faiman, D. and Richmond, A. (1998a). "Optimal tilt angles of enclosed reactors for growing photoautotrophic microorganisms outdoors." Journal of Fermentation and Bioengineering **85** (2). 230-236.
- Hu, Q., Kurano, N., Kawachi, M., Iwasaki, I. and Miyachi, S. (1998b). "Ultrahigh-cell-density culture of a marine green alga *Chlorococcum littorale* in a flat-plate photobioreactor." Applied Microbiology and Biotechnology **49** (6). 655 - 662.
-

- Hudinaga, M. (1942). "Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate." Japanese Journal of Zoology **10**. 305-393.
- Ingham, J., Dunn, I. J., Heinzle, E. and Prenosil, J. E. (1994). Chemical Engineering Dynamics, Modelling with PC simulation. New York, USA, VCH publishers Inc. ISBN 3-527-28577-6. pp. 127.
- Janssen, M., Slenders, P., Tramper, J., Mur, L. R. and Wijffels, R. H. (2001). "Photosynthetic efficiency of *Dunaliella tertiolecta* under short light/dark cycles." Enzyme and Microbial Technology **29** (4-5). 298-305.
- Jaouen, P., Vandanjon, L. and Quemeneur, F. (1999). "The shear stress of microalgal cell suspensions (*Tetraselmis suecica*) in tangential flow filtration systems: the role of pumps." Bioresource Technology **68** (2). 149-154.
- Jeffrey, S. W. and Wright, S. W. (1994). "Chp 6. Photosynthetic pigments in the Haptophyta". The Haptophyte algae. Oxford, England, Green, J.C. and Leadbeater, B.S.C. **51**. 446.
- Kain, J. M. and Fogg, G. E. (1958). "Studies on the growth of marine plankton. II. *Isochrysis galbana*." Journal of Marine Biology Association (UK) **37**. 781-788.
- Knauer, J., Barrett, S. M., Volkman, J. K. and Southgate, P. C. (1999). "Assimilation of dietary phytosterols by Pacific oyster *Crassostrea gigas* spat." Aquaculture Nutrition **5** (4). 257-266.
- Kojima, E. and Lin, B. (2004). "Effect of partial shading on photoproduction of hydrogen by *Chlorella*." Journal of Bioscience and Bioengineering **97** (5). 317-321.
- Labarta, U., Fernandez Reiriz, M. and Perez Camacho, A. (1999). "Dynamics of fatty acids in the larval development, metamorphosis and post-metamorphosis of *Ostrea edulis* (L.)." Comparative Biochemistry and Physiology: a Molecular and Integrative Physiology **123** (3). 249-254.
- Laing, I. and Utting, S. D. (1980). "The influence of salinity on the production of two commercially important unicellular marine algae." Aquaculture **21** (1). 79-86.
- Le Déan, L. and Gautier, F. (1991) "Rapport: "Détection automatique par visionique des *Dinophysis spp.* contenus dans des échantillons d'eau de mer"." *Ifremer*, Nantes. Rapport interne IFREMER DRO 91.03.MR. pp. 36.
- Loubière, K. (2002). "Croissance et détachement de bulles générées par des orifices rigides et flexibles dans des phases liquides newtoniennes: étude expérimentale et modélisation." Thèse de doctorat : Génie des procédés et de l'environnement. Institut national des sciences appliquées (INSA), Université de Toulouse, France. Num. national de thèse : 2002ISAT0025. pp. 329-[350].
- Loubière, K. and Hebrard, G. (2003). "Bubble formation from a flexible hole submerged in an inviscid liquid." Chemical Engineering Science **58** (1). 135-148.
- Luo, H. P. and Al Dahhan, M. H. (2004). "Analyzing and modeling of photobioreactors by combining first principles of physiology and hydrodynamics." Biotechnology and Bioengineering **85** (4). 382-393.
- McCausland, M. A., R. Brown, M., Barrett, S. M., Diemar, J. A. and Heasman, M. P. (1999). "Evaluation of live microalgae and microalgal pastes as supplementary food for juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*)." Aquaculture **174**. 323-342.
- Merchuk, J. C., Ladwa, N., Cameron, A., Bulmer, M. and A., P. (1994). "Concentric-tube airlift reactors : effects of geometrical design on performance." Journal Chemical Engineering Research and Development **40** (7). 1105-1117.

- 
- Miquel, P. (1893). "De la culture artificielle des Diatomées." Le Diatomiste **I**. 73-165.
- Molina Grima, E., Fernandez Sevilla, J. M., Sanchez Perez, J. A. and García Camacho, F. (1996). "A study on simultaneous photolimitation and photoinhibition in dense microalgal cultures taking into account incident and average irradiances." Journal of Biotechnology **45** (1). 59-69.
- Molina Grima, E., Garcia Camacho, F., Sanchez Perez, J. A., Acien Fernandez, F. G. and Fernandez Sevilla, J. M. (1997a). "Evaluation of photosynthetic efficiency in microalgal cultures using averaged irradiance." Enzyme and Microbial Technology **21** (5). 375-381.
- Molina Grima, E., García Camacho, F., Sanchez Perez, J. A., Acien Fernández, F. G. and Fernandez Sevilla, J. M. (1997b). "Growth yield determination in a chemostat culture of the marine microalga *Isochrysis galbana*." Journal of Applied Ecology **8**. 529-534.
- Molina Grima, E., Belarbi, E. H., Acien Fernández, F. G., Robles Medina, A. and Chisti, Y. (2003). "Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics." Biotechnology Advances **20**. 491-515.
- Montecino, V., Molina, X., Martinez, G., Olmedo, M. I., Retamal, L., Hannach, G. and Orellana, M. V. (2001). "Ecophysiological strategies in response to UV-B radiation stress in cultures of temperate microalgae isolated from the Pacific coast of South America." Revista Chilena De Historia Natural **74** (2). 293-311.
- Morineau-Thomas, O., Jaouen, P. and Legentilhomme, P. (2002). "The role of exopolysaccharides in fouling phenomenon during ultrafiltration of microalgae (*Chlorella sp.* and *Porphyridium purpureum*): Advantage of a swirling decaying flow." Bioprocess and Biosystems Engineering **25** (1). 35-42.
- Mortensen, S. H., Borsheim, K. Y., Rainuzzo, J. and Knutsen, G. (1988). "Fatty acid and elemental composition of the marine diatom *Chaetoceros gracilis* Schutt. Effects of silicate deprivation, temperature and light intensity." Journal of Experimental Marine Biology and Ecology **122** (2). 173-185.
- Ogbonna, J. C., Soejima, T. and Tanaka, H. (1999). "An integrated solar and artificial light system for internal illumination of photobioreactors." Journal of Biotechnology **70** (1-3). 289-297.
- Ogbonna, J. C. (2003). "Photobioreactors." Recent Advances in Marine Biotechnology. Vol 9. 315-348.
- Olaizola, M. (2000). "Commercial production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using 25,000-liter outdoor photobioreactors." Journal of Applied Phycology **12** (3-5). 499-506.
- Olaizola, M. (2003). "Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace." Biomolecular Engineering **20 Special Iss.** (4-6). 459-466.
- Parrish, C. C., Wells, J. S., Yang, Z. and Dabinett, P. (1998). "Growth and lipid composition of scallop juveniles, *Placopecten magellanicus*, fed the flagellate *Isochrysis galbana* with varying lipid composition and the diatom *Chaetoceros muelleri*." Marine Biology **133** (3). 461-471.
- Pernet, F., Tremblay, R., Demers, E. and Roussy, M. (2003). "Variation of lipid class and fatty acid composition of *Chaetoceros muelleri* and *Isochrysis sp.* grown in a semicontinuous system." Aquaculture **221** (1-4). 393-406.
-

- Petkov, G. D. (2000). "Absorber tower as a photobioreactor for microalgae." Russian Journal of Plant Physiology **47** (6). 786-788.
- Phatarpekar, P. V., Sreepada, R. A., Pednekar, C. and Achuthankutty, C. T. (2000). "A comparative study on growth performance and biochemical composition of mixed culture of *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans* with monocultures." Aquaculture **181** (1-2). 141-155.
- Pinter, I. J. and Provasoli, L. (1963). "Nutritional characteristics of some chryomonads." in: *Symposium on Marine Microbiology*, Springfield, MA, Thomas Publisher.
- Ponis, E., Robert, R. and Parisi, G. (2003). "Nutritional value of fresh and concentrated algal diets for larval and juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*)." Aquaculture **221** (1-4). 491-505.
- Ponis, E., Probert, I., Veron, B., Le Coz, J. R., Mathieu, M. and Robert, R. (2006). "Nutritional value of six Pavlovophyceae for *Crassostrea gigas* and *Pecten maximus* larvae." Aquaculture **254** (1-4). 544-553.
- Pottier, L. (2005). "Modélisation de l'effet de l'hydrodynamique sur l'accès à la lumière : application à la croissance photosynthétique dans un réacteur de géométrie torique". Thèse de doctorat. École doctorale mécanique, thermique et génie civil., Université de Nantes, France. Num. national de thèse : 2005NANT2078. pp. 221.
- Pottier, L., Pruvost, J., Deremetz, J., Cornet, J.-F., Legrand, J. and Dussap, C. G. (2005). "A fully predictive model for one-dimensional light attenuation by *Chlamydomonas reinhardtii* in a torus photobioreactor." Biotechnology and Bioengineering **91** (5). 569-582.
- Pruvost, J. (2000). "Influence d'un écoulement tourbillonnaire sur l'accès à la lumière des microalgues : conception d'un photobioréacteur et modélisation de la croissance d'une culture de *Porphyridium purpureum*". Thèse de doctorat : Sciences biologiques fondamentales et appliquées. Université de Nantes, France. Num. national de thèse : 2000NANT2044. pp. 301.
- Pruvost, J., Legrand, J., Legentilhomme, P. and Muller Feuga, A. (2002). "Lagrangian trajectory model for turbulent swirling flow in an annular cell: comparison with residence time distribution measurements." Chemical Engineering Science **57** (7). 1205-1215.
- Pruvost, J., Legrand, J. and Legentilhomme, P. (2004a). "Numerical investigation of bend and torus flows-- Part I : Effect of swirl motion on flow structure in U-bend." Chemical Engineering Science **59** (16). 3345-3357.
- Pruvost, J., Legrand, J., Legentilhomme, P. and Rosant, J. M. (2004b). "Numerical investigation of bend and torus flows--Part II : Flow simulation in torus reactor." Chemical Engineering Science **59** (16). 3359-3370.
- Pruvost, J., Pottier, L. and Legrand, J. (2006). "Numerical investigation of hydrodynamic and mixing conditions in a torus photobioreactor." Chemical Engineering Science **61** (14). 4476-4489.
- Pruvost, J., Cornet, J. F. and Legrand, J. (2007). "Hydrodynamics influence on light conversion in photobioreactors: an energetically consistent analysis." AIChE Journal (Soumis).
- Pulz, O., Gerbsch, N. and Buchholz, R. (1995). "Light energy supply in plate-type and light diffusing optical fiber bioreactors." Journal of Applied Phycology **7**. 145-149.

- 
- Pulz, O. and Scheibenbogen, K. (1998). "Photobioreactors: Design and performance with respect to light energy input." Advances in Biochemical engineering **59**. 123-152.
- Pulz, O. (2001). "Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms." Applied Microbiology and Biotechnology **57** (3). 287-293.
- Pulz, O. and Gross, W. (2004). "Valuable products from biotechnology of microalgae." Applied Microbiology and Biotechnology **65**. 635-648.
- Renaud, S. M., Thinh, L. V., Lambrinidis, G. and Parry, D. L. (2002). "Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures." Aquaculture **211** (1-4). 195-214.
- Rice, R. G. and Tupperainen, J. M. I. (1981). "Dispersion and gas hold up in bubble columns. Comparison of rigid and flexible spargers." Canadian Journal of Chemical Engineering **59** 677.
- Richmond, A. (2000). "Microalgal biotechnology at the turn of the millennium: A personal view." Journal of Applied Phycology **12** (3-5). 441-451.
- Richmond, A. and Cheng Wu, Z. (2001). "Optimization of a flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis sp.* outdoors." Journal of Biotechnology **85** (3). 259-269.
- Rico-Villa, B., Le Coz, J. R., Mingant, C. and Robert, R. (2006). "Influence of phytoplankton diet mixtures on microalgae consumption, larval development and settlement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg)." Aquaculture **256** (1-4). 377-388.
- Rivero Rodriguez, S., Beaumont, A. R. and Lora Vilchis, M. C. (2007). "The effect of microalgal diets on growth, biochemical composition, and fatty acid profile of *Crassostrea corteziensis* (Hertlein) juveniles." Aquaculture **263** (1-4). 199-210.
- Robert, R., Chrétiennot-Dinet, M., Kaas, R., Martin-Jézéquel, V., Moal, J., Le Coz, J., Nicolas, J., Bernard, E., Connan, J., Le Déan, L., Le Gourrierec, G., Leroy, B. and Quéré, C. (2004) "Amélioration des productions phytoplantoniques en éclosérie de mollusques : caractérisation des microalgues fourrage." *Ifremer Brest/Argenton*. Rapport interne DRV/RST/RA/LPI/2004-05. pp. 149.
- Roustan, M. (2003). Transferts gaz-liquide dans les procédés de traitement des eaux et des effluents gazeux. INSA ISBN 2-7430-0605-6. pp.
- Sahle Demessie, E., Bekele, S. F. and Pillai, U. R. (2003). "Residence time distribution of fluids in stirred annular photoreactor." Catalysis Today **88** (1-2). 61-72.
- Sanchez Miron, A., Gomez, A. C., Camacho, F. G., Molina Grima, E. and Chisti, Y. (1999). "Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae." Journal of Biotechnology **70** (1-3). 249-270.
- Sanchez Miron, A., Camacho, F. G., Gomez, A. C., Molina Grima, E. and Chisti, Y. (2000). "Bubble-column and airlift photobioreactors for algal culture." AIChE Journal **46** (9). 1872-1887.
- Saoudi-Helis, L., Dubacq, J. P., Marty, Y., Samain, J. F. and Gudin, C. (1994). "Influence of growth rate on pigment and lipid composition of the microalga *Isochrysis aff. galbana* clone T.iso." Journal of Applied Phycology **6**. 315-322.
- Schuster, A. (1905). "Radiation through a foggy atmosphere." Astrophysician Journal **21**. 1-22.
- Sea Salter Shellfish Co. (1996). Fish Farming International. February. pp. 7.
-

- Suh, I. S. and Lee, S. B. (2003). "A light distribution model for an internally radiating photobioreactor." Biotechnology and Bioengineering **82** (2). 180-189.
- Sukenik, A. and Wahnon, R. (1991). "Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition. I. *Isochrysis galbana*." Aquaculture **97** (1). 61-72.
- Toonen, R. (1997). "A Brief History of Marine Invertebrate Culture." Reef Aquarium Farming News **March** (3). 2.
- Tredici, M. R. and Materassi, R. (1992). "From open pond to vertical alveolar panels: the italian experience in the development of reactors for the mass cultivation of phototrophic microorganisms." Journal of Applied Phycology **4**. 221-231.
- Tredici, M. R. and Zittelli, G. C. (1998). "Efficiency of sunlight utilization: Tubular versus flat photobioreactors." Biotechnology and Bioengineering **57**. 187-197.
- Tredici, M. R. (1999). "Bioreactors, photo." Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis and Bioseparation. Flickinger, M. C. and Drew, S. W. New York, USA, John Wiley & Sons. 395-419.
- Tredici, M. R. (2004). "Mass production of microalgae: Photobioreactors". Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Richmond, A., Blackwell. 178-214.
- Tsygankov, A. A. (2001). "Laboratory Scale Photobioreactors." Applied Biochemistry and Microbiology **37** (4). 333-341.
- Tzovenis, I., De Pauw, N. and Sorgeloos, P. (2003). "Optimisation of T-ISO biomass production rich in essential fatty acids I. Effect of different light regimes on growth and biomass production." Aquaculture **216** (1-4). 203-222.
- Valenzuela Espinoza, E., Millan Nunez, R. and Nunez Cebrero, F. (2002). "Protein, carbohydrate, lipid and chlorophyll alpha content in *Isochrysis aff. galbana* (clone T-Iso) cultured with a low cost alternative to the f/2 medium." Aquacultural Engineering **25** (4). 207-216.
- Vandanjon, L., Rossignol, N., Jaouen, P., Robert, J. M. and Quemeneur, F. (1999). "Effects of shear on two microalgae species. Contribution of pumps and valves in tangential flow filtration systems." Biotechnology and Bioengineering **63** (1). 1-9.
- Walne, P. R. (1966). "Experiments in the large scale culture of the larvae of *Ostrea edulis*." L.Fish. Invest. Ministr.Agric. Fish. Food. (GB) Ser.II, XXV ((4)). 53.
- Watanabe, Y., de la Noüe, J. and Hall, D. O. (1995). "Photosynthetic performance of an helical tubular photobioreactor incorporating the Cyanobacterium *Spirulina platensis*." Biotechnology and Bioengineering **47** (2). 261-269.
- Whyte, J. N. C. (1987). "Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves." Aquaculture **60** (3-4). 231-241.
- Whyte, J. N. C., Bourne, N. and Hodgson, C. A. (1989). "Influence of algal diets on biochemical composition and energy reserves in *Patinopecten yessoensis* (Jay) larvae." Aquaculture **78**. 333-347.
- Wu, W. T., Wu, J. Y. and Jong, J. Z. (1992). "Mass transfer in an airlift reactor with a net draft tube." Biotechnology Progress **8** (5). 465-468.
- Zhang, K., Miyachi, S. and Kurano, N. (2001). "Evaluation of a vertical flat-plate photobioreactor for outdoor biomass production and carbon dioxide bio-fixation: effects of reactor dimensions, irradiation and cell concentration on the biomass

- 
- productivity and irradiation utilization efficiency." Applied Microbiology and Biotechnology **55** (4). 428-433.
- Zhu, C. J., Y.K.Lee and Chao, T. M. (1997). "Effects of temperature and growth phase on lipid and biochemical composition of *Isochrysis galbana* TK1." Journal of Applied Phycology **9**. 451-457.
- Zittelli, G. C., Pastorelli, R. and Tredici, M. R. (2000). "A Modular Flat Panel Photobioreactor (MFPP) for indoor mass cultivation of *Nannochloropsis sp* under artificial illumination." Journal of Applied Phycology **12** (3-5). 521-526.
- Zittelli, G. C., Rodolfi, L., Biondi, N. and Tredici, M. R. (2006). "Productivity and photosynthetic efficiency of outdoor cultures of *Tetraselmis suecica* in annular columns." Aquaculture **261** (3). 932-943.
- Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M. and Van T'Riet, K. (1990). "Modeling of the bacterial growth curve." Applied and Environmental Microbiology **56** (6). 1875-1881.







---

## ANNEXES

### *ANNEXE N°1 : QUESTIONNAIRE DE L'ENQUETE*

NOM DE L'ECLOSERIE:

NOM DU RESPONSABLE:

SITE/ ADRESSE:

TEL :

NOTE : Ce guide est destiné à conduire l'entretien lors des visites des écloseries. Il réunit un ensemble de questions permettant d'obtenir une éventuelle information qui sera tenue confidentielle à l'égard de la concurrence ceci afin de protéger les spécificités et savoir-faire de chaque écloserie (Clause de confidentialité remise pendant les visites). Les questions seront posées au cours de la conversation, après avoir établi un climat de confiance avec les interlocuteurs.

#### LA PRODUCTION D'ALGUES

##### INSTALLATIONS

Quelle est la nature de la lumière (artificielle, solaire, blanche, bleu...) et le type d'éclairage utilisés ? Si celle-ci est solaire : est-elle utilisée toute l'année ?

Quelle est la température de la salle de culture d'algues ?

Avez-vous un mode de régulation thermique et si oui : par un refroidissement à l'air ? À l'eau?

Vos salles sont-elles équipées d'une arrivée de CO<sub>2</sub> ?

Combien avez-vous de bacs et quelle en est leur capacité (nombre de litres)?

Quelle est la surface occupée au sol?

## ESPECES

Quelles sont les espèces d'algues cultivées ?

- Isochrysis affinis galbana* (t-Iso) ;
- Chaetoceros gracilis* ;  *Chaetoceros calcitrans* ;
- Pavlova lutheri* ;
- Thalassiosira pseudonana* (clone 3H) ;  *Skeletonema marinoi*

Souhaiteriez-vous produire d'autres cultures d'algues ?

## TECHNIQUE (milieu, mode de culture)

### *Milieu*

D'où provient votre eau pour les cultures d'algues? (eau de mer, forage...)?

Quel traitement réalisez-vous sur l'eau (si traitement : vapeur, filtration, UV, pasteurisation et/ou élimination...)?

Faites-vous un enrichissement particulier ? (Enrichissement nutritif utilisé: Conway, autre?)

### *Mode de culture*

Utilisez-vous un moyen de réguler le pH et si oui lequel ?

Quel est le mode de production pour chaque espèce (extensif, batch, continu....)?

Quelle est la procédure de « montée » en volume d'un inoculum ?

Quelle est la quantité d'algues nécessaire par jour (en fonction des espèces)?

Utilisez-vous vos cultures à un âge donné ou seulement en fonction des besoins journaliers (abaques)?

Quelle est la concentration de microalgues que vous atteignez avant distribution aux mollusques ?

---

Les besoins en algues sont-ils constants au cours d'un élevage larvaire ?

Arguments : cette question est nécessaire pour dimensionner un photobioréacteur car les besoins en certaines algues ne sont pas les mêmes et donc il faut sûrement des photobioréacteurs de volumes différents.

Est-ce que vous mesurez la concentration d'algues à la sortie des bacs afin d'appréhender la consommation réelle pour les trois niveaux (larves, post larves, juvéniles)?

### GESTION DU TEMPS

Quel est le temps personnel consacré à l'écloserie ? à la production d'algues ?

Avez-vous des astreintes de semaines ? Des astreintes de week-end ?

### GESTION SANITAIRE

Quel est le mode (vapeur, javel, acide) ? Et la fréquence ? Du nettoyage et/ou stérilisation des enceintes de production d'algues ?

Réalisez-vous un vide sanitaire par mise à sec ? Fréquence ?

Comment gérez-vous la perte d'un bac de production d'algues (quelle qu'en soit l'origine) ? la culture est utilisée ou jetée ? (Si oui : Est-ce un problème pour vous ?)

La production de naissain est-elle constante tout au long de l'année ou existe-il des mois ou périodes sans production ? (Dus au vide sanitaire, à un manque de demande, autre ?)

### PRODUCTION DE NAISSAIN (Questions générales)

Comment se pratique l'élevage au cours de l'année ?

Comment sont distribuées les algues (par pompage ?) et fréquence ?

Est-ce que vous trouveriez des avantages ou des inconvénients à installer un photobioréacteur dans la salle larvaire plutôt que dans une salle d'algues ?

La production est-elle bi-, tri-spécifique, ou autre ?

#### ENVIRONNEMENT/ ECOLOGIE

Pensez-vous que la quantité de sels nutritifs non consommés par les algues pose un problème ?

Y'a t'il un traitement des eaux en sortie des bacs mollusques ? Si oui, lequel ?

Avez-vous du surplus d'algues ? Si oui, qu'en faites-vous ? (Jeté à la poubelle ?)

#### ECONOMIE

A combien estimez-vous la part de la production d'algues dans le coût du naissain :

120%      130%      140%      150% ?

Quel est le rapport entre le prix de vente du naissain capté et celui du naissain produit dans votre écloserie ?

L'écloserie est-elle amenée à s'agrandir à court ou moyens termes ?

#### REFLEXION

Est-ce que vous pensez qu'une distribution continue des algues, aux mollusques, présenterait un intérêt ? Et pourquoi ?

Améliorations apportées à votre système depuis le départ ? Pourquoi ? Pour quels progrès ?

#### PARTICULARITES DE L'ECLOSERIE

Pensez vous avoir des particularités liées : à votre site d'implantation ? à la source d'eau ? Autres ?



Tableau 1 : Concentration en milieu de Conway et quantité de  $\text{NO}_3^-$  et  $\text{HPO}_4^{2-}$  associés

	CONWAY ( $\text{ml.l}^{-1}$ )	$\text{NO}_3^-$ ( $\text{mol.l}^{-1}$ )	$\text{HPO}_4^{2-}$ ( $\text{mol.l}^{-1}$ )
$\text{C}^*_1$ (standard)	1	$1,18.10^{-3}$	$1,67.10^{-4}$
$\text{C}^*_2$ (double)	2	$2,35.10^{-3}$	$3,33.10^{-4}$
$\text{C}^*_3$ (triple)	3	$3,53.10^{-3}$	$5,00.10^{-4}$
$\text{C}^*_4$ (quadruple)	4	$4,71.10^{-3}$	$6,67.10^{-4}$

---

**ANNEXE N°2 : MILIEU DE CONWAY (Walne 1966)**

Composition utilisée pour les expériences d'écophysiologie au laboratoire PBA pour un litre d'eau osmosée :

**Éléments principaux**

FeCl <sub>3</sub> , 6H <sub>2</sub> O	1,3 g
MnCl <sub>2</sub> , 4H <sub>2</sub> O	0,36 g
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	33,6 g
Na <sub>2</sub> -EDTA, 2H <sub>2</sub> O	49,8 g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 2H <sub>2</sub> O	26 g
NaNO <sub>3</sub>	100 g

**Métaux**

ZnCl <sub>2</sub>	0,021 g
CoCl <sub>2</sub> , 6H <sub>2</sub> O	0,02 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> , 4H <sub>2</sub> O	0,009 g
CuSO <sub>4</sub> , 5H <sub>2</sub> O	0,02 g

**Vitamines**

B1 (thiamine aneurine hydrochloride)	0,2 g
B12 (cyanocobalamine)	0,01 g

Le milieu est stérilisé par autoclavage.

Les doses utilisées en culture de microalgue standard sont de 1 ml de milieu de Conway (noté C\*<sub>1</sub>) par litre d'eau de mer. Elles peuvent être multipliées par 2, 3 ou 4 (Tableau 1).

Tableau 2 : Exemple de résultats pour une culture de t-Iso à  $16,5.10^6 \text{ cell.ml}^{-1}$ .

Lugol (50 $\mu\text{l}$ )	Tare (g)	Tare+ MS (g)	MS (g)	Concentration ( $\text{g.l}^{-1}$ )
L1	0,2788	0,2822	0,0034	0,136
L2	0,2389	0,2419	0,0030	0,120
L3	0,2375	0,2406	0,0031	0,124
L4	0,2486	0,2517	0,0031	0,124
MOYENNE				0,126

---

**ANNEXE N°3 : MESURE DE MATIERE SECHE (MS)**

Une mise au point du protocole de dosage de la matière sèche pour t-Iso est réalisée car la méthode classique utilisant des filtres GF/C et GF/F pose des problèmes de colmatage et de reproductibilité des résultats. En définitive, le protocole reste identique mais les cellules de t-Iso sont légèrement fixées au lugol.

A partir de 500 ml ou 1 litre de culture de t-Iso, la culture est homogénéisée aléatoirement avec le cône de pipette. Quatre volumes de 25 ml de culture sont prélevés et répartis dans quatre tubes à centrifuger.

Un volume de 50  $\mu$ L de lugol est ajouté à chaque tube qui est ensuite centrifugé 10 min à soit 2218 g.

Deux rinçages sont effectués : le surnageant est éliminé ; le culot repris dans 25 ml de formiate d'ammonium 34 g.l<sup>-1</sup> et centrifugé à 2218 g pendant 5 min (deux fois).

Le surnageant du dernier rinçage est éliminé et le culot est repris dans 2 ml de formiate d'ammonium avant d'être versé sur des coupelles qui seront séchées à l'étuve pendant 24 h (minimum) à 70°C.

Chaque coupelle aura été séchée au préalable une heure minimum et stockée dans un dessiccateur avant d'effectuer la tare par une pesée à froid.

Une fois passées à l'étuve, les coupelles sont mises sous dessiccateur pour effectuer la pesée à froid de la matière sèche.

En couplant la valeur moyenne de masse sèche et le dénombrement, la masse moyenne d'une cellule est calculée et vaut 7,64 pg (Tableau 2).



**ANNEXE N°4 : VALEUR DE  $K_{La}$  ( $MIN^{-1}$ ) EN EAU DOUCE, EAU DE MER ET MILIEU DE CULTURE.**

<b>EAU DOUCE</b>							
<b>Ug</b>	<b>vitesse</b>	<b>Qg</b>	<b>débits</b>				
<b>(m/s)</b>		<b>(NL/min)</b>		<b>FV4-MBR</b>	<b>IC95</b>	<b>FV1-MBR</b>	<b>IC95</b>
						<b>FV9-MBR</b>	<b>IC95</b>
0,00436	0,74			0,200	0,008	0,224	0,004
0,00589	1,00			0,239	0,007	0,267	0,011
0,00707	1,20			0,261	0,011	0,319	0,006
0,00825	1,40			0,287	0,010	0,355	0,008
0,00943	1,60			0,302	0,010	0,389	0,013
				<b>FV4-TAN</b>	<b>IC95</b>	<b>FV1-TAN</b>	<b>IC95</b>
0,00436	0,74			0,109	0,004	0,074	0,004
0,00589	1,00			0,154	0,006	0,092	0,005
0,00707	1,20			0,182	0,006	0,106	0,005
0,00825	1,40			0,213	0,005	0,120	0,006
0,00943	1,60			0,227	0,006	0,127	0,010
<b>EAU DE MER</b>							
<b>Ug</b>	<b>vitesse</b>	<b>Qg</b>	<b>débits</b>				
<b>(m/s)</b>		<b>(NL/min)</b>		<b>FV4-MBR</b>	<b>IC95</b>	<b>FV1-MBR</b>	<b>IC95</b>
						<b>FV9-MBR</b>	<b>IC95</b>
0,00436	0,74			0,633	0,017	0,467	0,030
0,00589	1,00			0,685	0,035	0,564	0,023
0,00707	1,20			0,713	0,030	0,591	0,017
0,00825	1,40			0,767	0,039	0,662	0,027
0,00943	1,60			0,787	0,040	0,682	0,020
				<b>FV4-TAN</b>	<b>IC95</b>	<b>FV1-TAN</b>	<b>IC95</b>
0,00436	0,74			0,092	0,016	0,078	0,003
0,00589	1,00			0,143	0,010	0,096	0,005
0,00707	1,20			0,183	0,013	0,112	0,002
0,00825	1,40			0,216	0,014	0,122	0,003
0,00943	1,60			0,250	0,014	0,134	0,004
<b>MILIEU DE CULTURE</b>							
<b>Ug</b>	<b>vitesse</b>	<b>Qg</b>	<b>débits</b>				
<b>(m/s)</b>		<b>(NL/min)</b>		<b>FV4-MBR</b>	<b>IC95</b>	<b>FV1-MBR</b>	<b>IC95</b>
						<b>FV9-MBR</b>	<b>IC95</b>
0,00436	0,74			0,566	0,023	0,498	0,024
0,00589	1,00			0,646	0,028	0,560	0,017
0,00707	1,20			0,715	0,030	0,594	0,021
0,00825	1,40			0,757	0,025	0,638	0,031
0,00943	1,60			0,797	0,013	0,692	0,030
				<b>FV4-TAN</b>	<b>IC95</b>	<b>FV1-TAN</b>	<b>IC95</b>
0,00436	0,74			0,099	0,004	0,075	0,006
0,00589	1,00			0,156	0,006	0,082	0,007
0,00707	1,20			0,191	0,005	0,094	0,005
0,00825	1,40			0,219	0,006	0,115	0,002
0,00943	1,60			0,243	0,011	0,128	0,009

CONFIDENTIEL

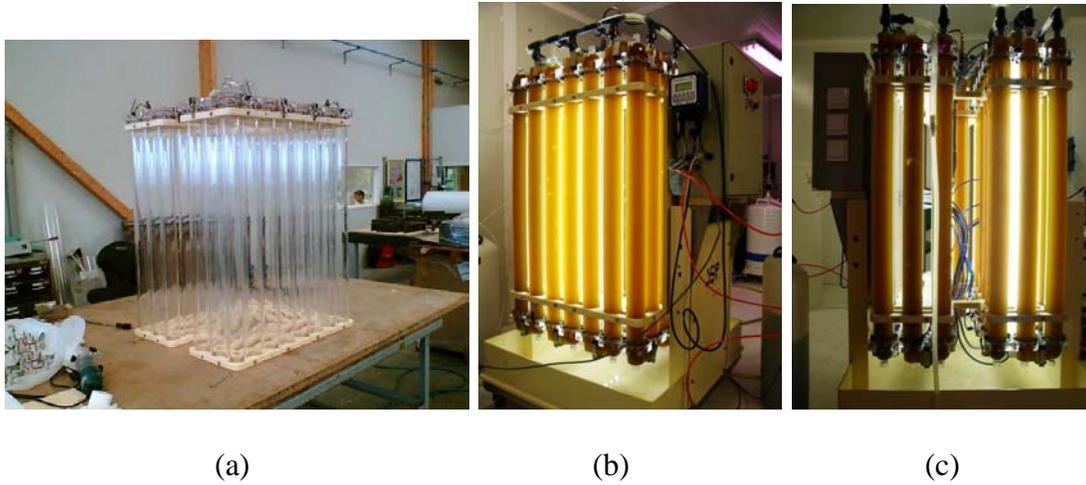


Figure 0.1 : Châssis en U du photobioréacteur pilote (a) et assemblage des tubes (b, c).

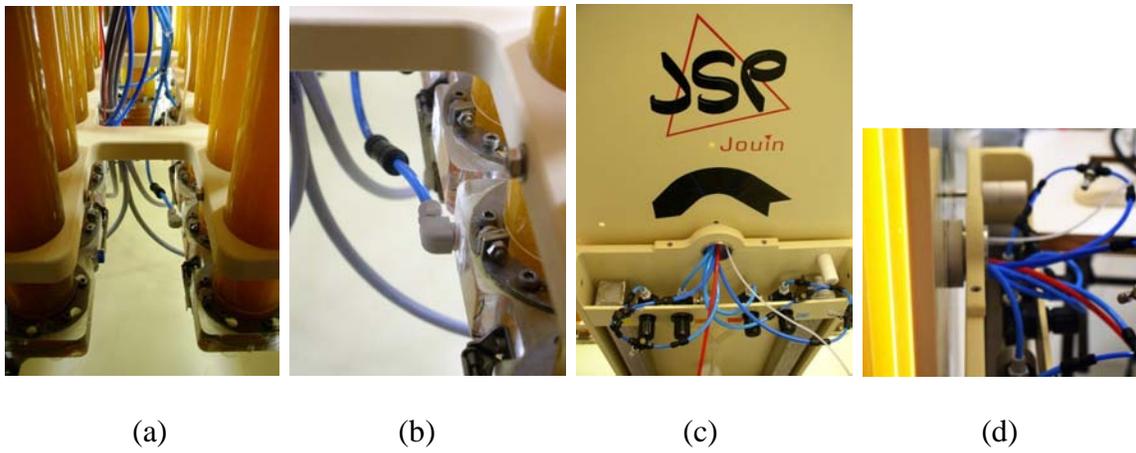


Figure 0.2 : Répartition des injecteurs d'air (a) ; détail d'un injecteur (b) ; tubulure passant par l'axe de rotation du photobioréacteur (c, d).

---

## ***ANNEXE N°5 : DESCRIPTION DU PROTOTYPE***

Le prototype conçu est une succession de modules élémentaires (boucles airlift) composés de deux tubes connectés, en haut et en bas, par des brides. Leur agencement a été conçu de façon à prendre le moins d'espace possible au sol, à faciliter son entretien (nettoyage, accessibilité des pièces à changer...), et à mettre en œuvre aisément des cultures en continu (stérilisation, alimentation et soutirage, régulation pH et température).

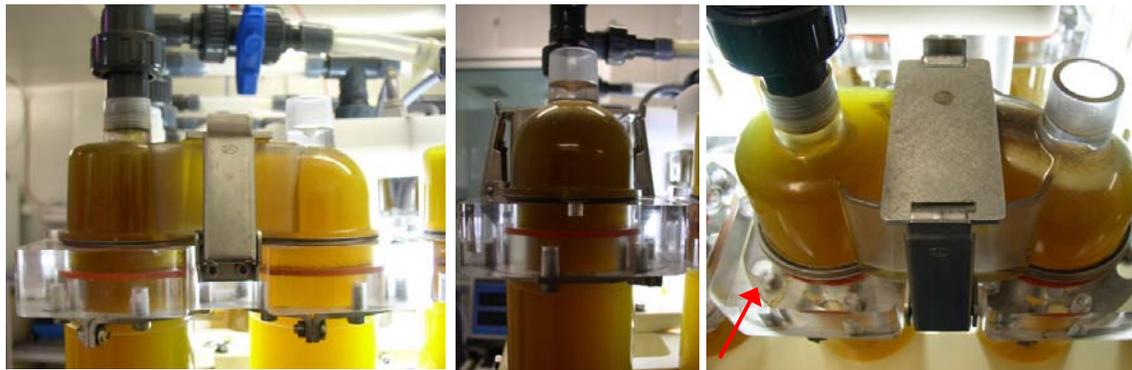
### ***1. Agencement des tubes***

Le corps du photobioréacteur est constitué de 18 modules élémentaires, soit un total de 36 tubes (de 1 m de long et de 30 mm de rayon) et de 36 brides de connexion. Son volume est de 120 litres.

Les tubes sont assemblés et compactés le plus possible pour établir au final un châssis de forme parallélépipédique de 1,65 m de haut, 1 m de large et 1,10 m de long (Figure 0.1). L'agencement des tubes a été réalisé en adoptant une forme de U (en vue de dessus). L'encombrement au sol est alors restreint au minimum.

Les injections d'air sont réalisées tous les six tubes afin de mettre en mouvement la culture, d'entretenir le mouvement tourbillonnaire et d'assurer que le débit d'air injecté ne provoque (par son volume) une dépression amenant la bride supérieur à être engorgée (accumulation d'air au sommet du tube ascendant).

Les tubulures (Figure 0.2.a) amenant l'air jusqu'aux points d'injections (Figure 0.2.b) passent par le centre de l'axe de rotation (Figure 0.2.c et d) permettant au photobioréacteur de pivoter, facilitant ainsi le nettoyage mais également la stérilisation totale de l'ensemble des pièces (tubes, brides et tubulures de récolte).



(a)

(b)

(c)

Figure 0.3 : Bride d'injection composée de deux parties supérieure et inférieure, fixées à l'aide de sauterelles (a, b) et équipés d'un détrompeur (c).



(a)

(b)



(c)

Figure 0.4 : Système d'éclairage (a, b) rassemblant les tubes fluorescents par quatre (c).

---

## **2. Brides**

Un dépôt de brevet concernant la géométrie des brides est en cours. Chaque bride est composée de deux parties s'ajustant l'une sur l'autre, une supérieure et une inférieure fixée aux tubes.

Un premier assemblage est réalisé fixant le socle de chaque bride (partie inférieure) à l'extrémité des tubes. Ensuite, pour faciliter le montage de la partie supérieure de chaque bride sur son socle, des détrompeurs (relief indiquant le sens de montage, Cf. flèche Figure 0.3.c) ont été façonnés dans le moule.

Des fixations rapides et faciles ont été conçues pour assembler les brides : la partie supérieure est maintenue à l'aide de deux sauterelles fixées de part et d'autre d'une pièce intermédiaire montée sur le dessus de la bride (Figure 0.3.a). L'étanchéité est réalisée à l'aide d'un joint torique (rouge).

## **3. Appareils périphériques**

Les périphériques du photobioréacteur sont adaptés pour des cultures en continu, c'est-à-dire qu'ils fonctionnent à l'aide d'automates pour les mesures jugées indispensables telles que la régulation pH et la mesure de la température. D'autres automates optionnels sont envisagés pour compléter l'équipement du photobioréacteur et faciliter son utilisation.

### **Système d'éclairage**

Le système d'éclairage est installé entre les tubes (Figure 0.4) du photobioréacteur, afin de garantir une utilisation maximale de l'irradiance.

L'éclairage est composé de 20 tubes fluorescents (SYLVANIA, LuxlinePlus, FHE 28W/T5/865), choisis pour leur faible coût (~5,5 €) et leur fort rendement. Grâce à des interrupteurs, il est possible d'actionner l'ensemble des tubes fluorescents soit un tube sur deux pour chaque assemblage, permettant ainsi de diminuer l'intensité lumineuse pour débiter les cultures.



Figure 0.5 : Régulateur pH et de température



Figure 0.6 : Cuve de vidange

---

### **Alimentation électrique**

Une armoire électrique (Figure 0.5), fixée latéralement sur le bâtiment regroupe les différents organes électriques du photobioréacteur (interrupteurs, coupe-circuit, pH mètre, ballastes électroniques des tubes fluorescents...).

### **Régulation pH/ température**

Un boîtier (LTH Electronics LTD., HPT63) permet la régulation (Figure 0.5) et le suivi en ligne de la température et du pH (via une injection de CO<sub>2</sub> ponctuelle).

### **Alimentation en milieu de culture**

A l'heure actuelle le milieu de culture est stockée dans une cuve de réserve mais des études parallèles ont montré que cette solution entraîne des risques élevés de contamination du photobioréacteur (apparition d'autres microalgues et de vibrios).

Ainsi, un automate permettant la fabrication en ligne de milieu de culture est en train d'être mis au point au laboratoire PBA dans le but d'être couplé au photobioréacteur pilote.

## **4. Facilité de mise en œuvre et entretien**

### **Système simple d'entretien et encombrement**

L'ensemble du système de culture est fixé à un châssis particulier qui est :

- monté sur roulettes, permettant ainsi un déplacement aisé du photobioréacteur (même une fois rempli)
- monté sur un axe pivotant, afin de simplifier le nettoyage de l'ensemble des tubes. Ce dispositif permet en outre, par basculement du photobioréacteur, d'assurer une stérilisation efficace du collecteur de gaz à l'aide d'une solution d'acide peroxyacétique à 5%.

Les dimensions du photobioréacteur, réduites à une hauteur de 1,40 m et une largeur d'une porte standard (70 cm sans l'armoire électrique), permettent de le manipuler facilement dans une salle d'écloserie.

Il est équipé d'un bac placé sous les tubes, ce qui permet une vidange commode (Figure 0.6).

Si nécessaire, un ajout de modules élémentaires (2 tubes +2 brides) est possible, ce qui a l'avantage de rendre le photobioréacteur flexible en volume de culture.

### **Soutirage**

Des orifices sont percés au point le plus haut des brides pour permettre à la fois les évacuations des gaz et du milieu de récolte (soutirage).

Les diamètres sont assez larges (30 mm de diamètre) pour s'affranchir d'une éventuelle obstruction par de la mousse (Figure 0.3).

La récolte est ainsi réalisée par surverse, à un débit égal à celui du milieu de culture injecté par la pompe péristaltique et fixé par le taux de renouvellement appliqué. Pour se faire, tous les orifices des brides supérieures sont connectés à un même tube collecteur (Figure 0.4)

## **Résumé :**

Cette thèse porte sur la conception et l'étude d'un photobioréacteur à vocation aquacole. L'état de l'art et les contraintes technico-économiques aquacoles ont orienté les choix vers un réacteur simple, modulable en volume, peu onéreux et fiable pour la culture en continu sur le long terme. Son module élémentaire est composé de deux colonnes verticales, reliées par des brides, dans lesquelles le fluide est mis en circulation par une injection d'air située en bas de colonne (airlift). Afin de minimiser la formation de biofilm en paroi, un écoulement tourbillonnaire est généré. La maquette d'étude conçue (6,1 litres) a servi de base aux études de transferts radiatifs, hydrodynamiques et biologiques. Le couplage entre, d'une part, un modèle de transferts radiatifs (modèle à deux flux), et, d'autre part, la courbe de croissance  $\mu(G)$  de la microalgue aquacole *Isochrysis affinis galbana*, a permis de prédire la productivité dans le photobioréacteur pour différentes conditions opératoires (flux de lumière incident, taux de dilution, diamètre de colonne). La recherche d'un compromis entre productivité et coûts a conduit à retenir un diamètre de colonne de 60 mm. Les études hydrodynamiques (traçage conductimétrique, vélocimétrie à images de particules) ont donné accès aux profils radiaux des composantes axiale et tangentielle de vitesse, aux vitesses débitantes et à l'intensité tourbillonnaire. Différents débits d'air, distributeurs d'air et facteurs de vitesse ont été testés. La rapide atténuation du mouvement tourbillonnaire (au bout d'un mètre de colonne) a été notamment mise en évidence. En complément, les performances d'aération du réacteur ont été déterminées ( $k_L a$ ), confirmant la capacité du réacteur à dégazer l'oxygène produit photosynthétiquement. Enfin, les cultures en continu ont révélé que les productivités atteintes dans ce photobioréacteur étaient identiques quel que soit le type d'écoulement, tourbillonnaire ou purement axial. L'intérêt observé du mouvement tourbillonnaire réside dans une limitation des dépôts en paroi. L'ensemble de ces études a amené les éléments de choix nécessaires à la conception et au dimensionnement d'un photobioréacteur pilote (18 modules élémentaires, 120 litres), innovant, fonctionnant en continu et présentant des caractéristiques adaptées au secteur industriel des écloséries de mollusques.

*Mots-clés : aquaculture, photobioréacteur, culture continue, airlift, écoulement tourbillonnaire, Isochrysis affinis galbana*

---

## ***Conception and study of a photobioreactor for continuous microalgal production in aquaculture***

### **Abstract:**

This thesis describes the conception and the study of a continuous photobioreactor dedicated to aquaculture. The state-of-art and the aquacultural technico-economic constraints led to the choices to a simple reactor, volume variable, cheap to produce and reliable for continuous cultures. The elementary module is made of two vertical columns connected by flanges where the liquid circulation is ensured by an air injection located (airlift). A swirling flow circulation is generated in order to minimize the biofilm development on walls. A pilot of 6.1 liters is conceived for radiative transfer, hydrodynamic and biological studies. The coupling of a radiative transfer model (two flux model) with the light-growth curve of the aquacultural microalgae *Isochrysis affinis galbana* enables the productivity to be predicted for different experimental conditions (incident flux, dilution rate, column diameter). A compromise between productivity and costs is obtained for a 60 mm diameter column. Hydrodynamic studies (conductimetric method, particle image velocimetry technique) give access to radial profiles of the axial and tangential velocity components, circulation velocity and swirl intensity. Different air flow rates, air injection types and flange's velocity factors are tested. The swirl attenuation of the swirl motion (after one meter from the injection) is displayed prominently. To complete, the aeration performances of the reactor are determined ( $k_L a$ ) and confirm the capacity of the photobioreactor to evacuate the oxygen produced by photosynthesis. Finally, the continuous cultures reveal that the productivity reached inside the photobioreactor is similar whatever the flow type, swirl flow or axial flow. The swirl motion benefit lies into limiting the biofouling on walls. This study enables the principal features of the prototype design to be chosen (18 elementary modules, 120 liters). This novel study project, specifically dedicated to mollusk hatcheries gives them opportunity to run microalgae continuous cultures.

*Keywords: aquaculture, photobioreactor, continuous culture, airlift, swirl flow, Isochrysis affinis galbana*

**Discipline : Génie des Procédés**