

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et  
de la Recherche Scientifique

*Ecole Nationale Polytechnique*



وزارة التعليم العالي  
والبحرث العلمي  
المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات

**DEPARTEMENT GENIE ELECTRIQUE**

***OPTION : AUTOMATIQUE***

**PROJET DE FIN D'ÉTUDES**

**MODÉLISATION ET RÉGULATION  
D'UN PROCESSUS D'ABSORPTION DU PHÉNOL  
PAR LA PSEUDOMONAS AERUGINOSA**

**Présenté par :** AFRIT Abd Elouahab  
TSABET Walid

**Dirigé par :** Mr R.ILLOUL

**Promotion : 2006 – 2007**

Ecole Nationale Polytechnique : 10, Avenue Hassen Badi BP182 El-Harrach

## Dédicaces uahab

Ma famille : ma mère, mon père, mes sœurs, mon frère, mes tantes, mes oncles et tout mes cousins.

Mes amis :

Du lycée et Bab Djajaire : boulahia, chérifiri, lauer, mdaoui, hantit, les deux krimou, ...

De la fac : midoune, samir, omar, mourad, ...

De monponti : smisha, khirou, penman, bouriss, kabanana, batata, to pap, mdiguizi, algha, ben turki, rabie,

De poly et le cous : hadia, M L, fougi, krimou, Adal, nassiba, uafa, nadir, faty, ...

Mes camarades : toute la promo Auto 2007, amina, nina, abed, et toute l'olep, ...

*Dédicaces valid*

*A Ma Famille*

*A Mes Proches*

*A Mes Amis(es)*

## *Remerciements*

*Nous remercions tout les enseignants d'automatique en particulier notre promoteur M<sup>r</sup> iloulo.*

*Tout les chercheurs du laboratoire environnement de l'école nationale polytechnique en particulier M<sup>r</sup> namano  
et M<sup>lle</sup> ali.*

*Toute la personne de la bibliothèque pour leur effort et compréhension.*

*Tout les gens qui nous aider a terminer ce travail.*

النمذجة وتنظيم عملية امتصاص الفينول عن طريق البسودوموناز أيروجينوزا.

ملخص:

الهدف من هذا العمل هو دراسة طريقة بيولوجية بالتفاصيل العملية الأنهياري البيولوجي للفينول عن طريق البسودوموناز أيروجينوزا لمفاعل حيوي من النوع متقطع من خلال تجارب عديدة ان تؤدي الى نموذج لغرض التحكم. تتألف المرحلة الاولى في إيجاد نموذج لمفاعل حيوي من النوع متقطع بإدخال نفوذه مع الحرارة والتهويه ودرجة الحموضة وذلك من خلال تجارب انجزت في ادارة البيئة. المرحلة الثانية تنقل النموذج لمفاعل حيوي من النوع متقطع الى متقطع شبه مستمرة او مستمرة سواء بإدخال تدفق من بدء فقط او تدفق من بدء وبين الخروج. جزء التحكم اختارنا التحكم PI أو التحكم عودة الحالة حيث التعليمه هي القضاء على أكبر قدر ممكن من الفينول. جميع النتائج التي حصلت عليها المحاكاه التي تستخدم اساليب رنجي - كوتا.

كلمات أساسية : التكنولوجيا الحيوية ، الفينول ، البسودوموناز أيروجينوزا ، والكتلة الحيوية ركيزه ، ودفعه قدام ، شبه عملية متواصلة ومستمرة ، PI، واعادة تنظيم الحالة ، ومحاكاة التجارب رنجي - كوتا.

Modélisation et régulation d'un processus d'absorption du phénol par la *Pseudomonas aeruginosa*.

Résumé:

L'objectif de ce travail est l'étude d'un procédé biologique en détaille à savoir la biodégradation du phénol par la *Pseudomonas aeruginosa* dans un bioréacteur de type discontinu à travers plusieurs expériences pour aboutir à un model en vue de la commande.

La première étape consiste à trouver un modèle du bioréacteur batch en introduisant son influence par la température, l'aération et le pH et cela a partir des expériences déjà faites au sein du département du génie de l'environnement. La deuxième étape est de translater le modèle en discontinu vers le semi-continu ou le continu soit en introduisant uniquement un débit d'entrée soit un débit d'entre et de sortie. Pour la partie commande on a choisi le PI et le retour d'état où la consigne est d'éliminer le plus possible de phénol. Tous nos résultats sont obtenus par des simulations qui utilisent Les méthodes de Runge-Kutta.

Mots clés : biotechnologie, phénol, *Pseudomonas aeruginosa*, biomasse, substrat, Procédé batch, procédé semi-continu, procédé continu, régulation PI, retour d'état, simulation des expériences, Runge-Kutta.

Modeling and regulation of a process of absorption of phenol by *Pseudomonas aeruginosa*.

Summary:

The objective of this work is the study of a biological process details some with knowing the biological breakdown of phenol by *Pseudomonas aeruginosa* in a bioreactor of the discontinuous type through several experiments to lead to a model for the order.

The first stage consists in finding a model of the bioreactor batch by introducing his influence by the temperature, ventilation and the pH and that from the experiments already made within the department of the genius of the environment. The second stage is to relocate the model into discontinuous towards the semi-continuous one or the continuous one either by introducing only one flow of entry or a flow among and of exit. For the part one orders chose pi and the return of state where the instruction is to eliminate as much as possible from phenol. All our results are obtained by simulations which use the methods of Runge-Kutta.

Key words: biotechnology, phenol, *Pseudomonas aeruginosa*, biomass, substrate, Proceeded batch, semi-continuous process, continuous process, regulation pi, return of state, simulation of the experiments, Runge-Kutta.

## Table des matières

Introduction générale.....	1
<b>Chapitre I : Définitions et Généralités</b>	
I-1- Procédés biologiques .....	4
I-2- Microorganisme.....	4
I-3- Biomasse.....	4
I-4- Substrat.....	4
I-5- Enzyme.....	4
I-6- Biotechnologie.....	5
I-7- Fermentation .....	5
I-8- Fermenteur.....	6
I-8-a- Fermentation en mode discontinu (Batch) .....	6
I-8-b- Fermentation semi continue (Fed-batch) .....	6
I-8-c- Fermentation continue .....	7
I-9- Croissance microbienne.....	8
I-9-1- Phases de croissance microbienne .....	8
I-9-1-a- Phase de latence.....	9
I-9-1-b- Phase d'accélération.....	9
I-9-1-c- Phase exponentielle.....	9
I-9-1-d- Phase de décélération.....	10
I-9-1-e- Phase stationnaire.....	10
I-9-1-f- Phase de déclin.....	10
I-9-2- Facteurs de croissance microbienne.....	11
I-9-2-a- Eau.....	11
I-9-2-b- Source d'énergie et carbone.....	11
I-9-2-c- Azote.....	11
I-9-2-d- Oxygène.....	12
I-9-2-e-pH.....	12
I-9-2-f- Température.....	12
I-10- La biodégradation.....	13

I-10-1- Définition.....	13
I-10-2- Principe de la biodégradation.....	13

## **Chapitre II : Biodégradation du phénol**

II-1- Historique et définition.....	16
II-2- Principales sources de pollution.....	16
II-3- Pathologie et toxicologie.....	17
II-3-1- Intoxication aiguë.....	17
II-3-2- Intoxications chroniques.....	17
II-4- Les procédés de traitement des rejets phénoliques.....	18
II-5- Biodégradation du phénol.....	19
II-5-1- En aérobiose.....	20
II-5-2- En anaérobiose.....	20
II-5-3- Biodégradation du phénol par <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> .....	20
II-6- <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> .....	20
II-6-1- Classification classique.....	21
II-6-2- Pathogène.....	22
II-6-3- Conditions de culture.....	22
II-6-4- Habitat.....	22
II-7- Conclusion.....	22

## **Chapitre III : Résultats et expériences**

III-1- Résultats.....	24
III-1-1- Mesure de la biomasse microbienne.....	24
III-1-1-a- Etalonnage.....	25
III-1-1-b- Technique.....	25
III-1-2- Mesure de la concentration du phénol.....	27
III-1-2-a- Etalonnage.....	27
III-1-2-b- Dosage du phénol.....	28
III-2- Expériences.....	28

III-2-1- Influence des paramètres opératoires sur la dégradation du phénol par <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> en fermenteur.....	28
III-2-1-a- Influence du milieu.....	29
III-2-1-b- Influence de l'agitation.....	31
III-2-1-c- Influence de l'aération.....	31
III-2-1-d- Influence de la température.....	32
III-2-1-e- Influence de la concentration du phénol.....	35
III-2-2- Conclusion.....	37

#### **Chapitre IV : Modélisation mathématique et simulation en boucle ouverte**

IV-1- Modélisation.....	39
IV-1-1- Modélisation des cinétiques de réaction .....	39
IV-1-1-a- Vitesses de réaction .....	39
IV-1-2- Modélisation des vitesses spécifiques .....	40
IV-1-2-a- Taux de croissance de la biomasse .....	40
IV-1-2-b- Taux de mortalité de la biomasse .....	42
IV-1-2-c- Taux de dégradation du substrat .....	42
IV-1-3- Modélisation des procédés .....	42
IV-1-3-a- Conservation de la matière .....	43
IV-1-3-b- Modèle de croissance de la biomasse .....	43
IV-1-3-c- Modèle de consommation du substrat .....	44
IV-1-3-d- Volume.....	45
IV-1-3-e- Procédé discontinu type batch .....	46
IV-1-3-f- Procédé continu .....	46
IV-1-3-g- Procédé discontinu type Fed-batch.....	47
IV-2- Simulations .....	49
IV-2-1- Commandabilité et observabilité .....	49
IV-2-2- Etude de la stabilité et simulation.....	50
IV-2-2-a-Etude du système de type continu.....	50
IV-2-2-a1- Stabilité du système en boucle ouverte.....	50



IV-2-2-a2- Simulation en boucle ouverte.....	53
IV-2-2-a3- Interprétation des résultats.....	55
IV-2-2-b- Etude du système de type Fed-batch.....	56
IV-2-2-b1- Stabilité du système en boucle ouverte.....	57
IV-2-2-b2- Simulation en boucle ouverte.....	60
IV-2-2-b3- Interprétation des résultats.....	61
IV-3- Validation du modèle.....	63
IV-3-1- Validation du modèle en variant $O_2$ .....	63
IV-3-2- Validation du modèle en variant pH.....	64
IV-3-3- Validation du modèle en variant $T^\circ$ .....	65
IV-4- Conclusion.....	66

## Chapitre V : Commande

V-1- La commande PID.....	69
V-2-Commande par retour d'état.....	70
V-3-1-Bioréacteur Fed-batch.....	70
V-3-1-1-La commande PI d'un bioréacteur Fed-batch.....	72
V-3-1-2-La commande par retour d'état d'un bioréacteur Fed-batch.....	73
V-3-2-Bioréacteur continu.....	73
V-3-2-1-La commande PI d'un bioréacteur continu.....	74
V-3-2-2 La commande par retour d'état d'un bioréacteur continu.....	75
V-4-Conclusion.....	76
Conclusion générale.....	78

Annexes

Bibliographie

## Liste des figures

Figure I-1: Schéma de principe d'un bioréacteur.....	4
Figure I-2 : Schéma d'un procédé discontinu (batch).....	5
Figure I-3 : Schéma d'un procédé semi- continu (Fed-batch) .....	6
Figure I-4 : Schéma d'un procédé continu .....	6
Figure I-5 : Croissance typique d'une bactérie en milieu liquide [GOU-02], [ROQ-80].....	7
Figure II-1 : Les différentes techniques de traitements des eaux résiduaires phénoliques....	17
Figure III-1 : Courbe d'étalonnage de la croissance bactérienne.....	23
Figure III-2 : Courbe d'étalonnage du phénol.....	24
Figure III-3 : Influence de la variation du milieu sur la cinétique bactérienne et la biodégradation du phénol.....	27
Figure III-4 : Influence de la variation de l'aération sur la cinétique bactérienne et la biodégradation du phénol.....	29
Figure III-5 : Influence de la variation de la température sur la cinétique bactérienne et la biodégradation du phénol.....	31
Figure III-6 : Influence de la variation de la concentration sur la cinétique bactérienne et la biodégradation du phénol.....	33
Figure IV-1 : principe d'un système en boucle ouverte.....	44
Figure IV-2 : Evolution des variables d'état pour $u = 5 \text{ h}^{-1}$ (continu).....	49
Figure IV-3 : Evolution des variables d'état pour $u = 0.01 \text{ h}^{-1}$ (continu).....	50
Figure IV-4 : Evolution des variables d'état pour $u = 5 \text{ h}^{-1}$ (fed-batch).....	55
Figure IV-5 : Evolution des variables d'état pour $u = 0.01 \text{ h}^{-1}$ (fed-batch).....	56
Figure IV-6 : Exemple d'évolution de $\mu$ et $u$ pendant le temps.....	57
Figure IV-7 : Validation du modèle en variant $O_2$ .....	58
Figure IV-8 : Validation du modèle en variant pH .....	59
Figure IV-9 : Validation du modèle en variant $T^\circ$ .....	60
Figure V-1 : Schéma fonctionnel de la commande PID.....	62
Figure V-2 : Evolution des variables d'état X, S et V en boucle ouverte (fed-batch).....	64
Figure V-3 : Evolution des variables d'état pour la commande PI (fed-batch).....	65

Figure V-4 : Evolution des variables d'état pour la commande par retour d'état (fed- batch).....	66
Figure V-5 : Evolution des variables d'état X, S et V en boucle ouverte (continu).....	67
Figure V-6 : Evolution des variables d'état pour la commande PI (continu).....	68
Figure V-7 : Evolution des variables d'état pour la commande par retour d'état (continu).....	68

## Liste des tableaux

Tableau I .1 : Valeurs du taux de croissance ( $\mu$ ) pendant les différentes phases de la croissance bactérienne.....	10
Tableau I .2 : Classification des microorganismes en fonction de leur température de développement.....	11
Tableau II .2 : Classement de toxicité .....	15
Tableau II .2 : Classification classique des microorganismes de type Pseudomonas.....	19
Tableau III-1 : Composition des milieux de culture.....	26
Tableau III-2 : Les conditions opératoires en cas de l'introduction de l'aération.....	28
Tableau III-3 : Conditions opératoires en cas de variation de température.....	30
Tableau III-4 : Conditions opératoires en cas de variation de concentration.....	32

## Nomenclature

$\alpha$  : Coefficient de proportionnalité.  
 $\mu$  : taux de croissance ( $h^{-1}$ ).  
 $\mu_{\max}$  : Taux maximal de croissance de la biomasse ( $h^{-1}$ ).  
 $d$  : longueur du trajet optique (cm).  
 $I_0$  : intensité lumineuse du rayon incident (A).  
 $I_1$  : intensité du rayon transmis en l'absence de biomasse (A).  
 $I_2$  : intensité du rayon transmis en présence de biomasse (A).  
 $K_i$  : Constante d'inhibition (mg/l).  
 $K_m$  : Constante de saturation ou Michaelis (mg/l).  
 $K_S$  : Constante de saturation (mg/l).  
lpm : litre par minute  
ms : matière sèche  
ps : pré culture de *Pseudomonas aeruginosa*  
 $t$  : durée de dégradation (h).  
 $T$  : Température absolue (k).  
tg : temps de génération(h).  
 $D$  : Coefficient de conversion du substrat (mg/mg) ou (g/g)  
 $g$  : Gramme  
 $h$  : Heure  
 $l$  : Litre  
 $M$  : Masse  
PID : Régulateur  
 $Q$  : Débit d'alimentation  
 $Q_S$  : Débit de soutirage  
 $Q_E$  : Débit d'alimentation en substrat  
 $r_S$  : Vitesse de dégradation du substrat  
 $r_P$  : Vitesse de production de produit  
 $r_X$  : Vitesse de croissance de la masse cellulaire  
 $S$  : Concentration en substrat  
 $S_{in}$  : Concentration du substrat d'alimentation  
 $u$  : Commande  
 $V$  : Volume du bioréacteur

$X$  : Concentration en biomasse

$y$  : Sortie

$y_d$  : Sortie désirée

$\mu$  : Taux de croissance

$\mu_{\max}$  : Taux de croissance maximal

$\varepsilon$  : Erreur

$B$  : taux de mortalité

# Introduction générale

La civilisation moderne améliore considérablement la qualité de la vie, mais malheureusement elle est accompagnée de rejets de toutes sortes et de toutes formes qui rendent notre environnement de plus en plus nocif et dangereux.

La pollution et ses conséquences sur la qualité de l'air, de l'eau, du sol, ou encore sur le réchauffement de notre planète, constituent de nos jours l'une des préoccupations majeures de l'humanité qui a fait de la lutte contre cet important phénomène sa priorité. De nombreuses recherches en vue d'éliminer ou de réduire cette pollution sont en effet menées dans tous les domaines, mais il est certain que la charge polluante de la terre ne pourra diminuer tant que l'on ne changera pas de mode de vie pour apprendre à vivre autrement au sein d'une nouvelle société consciente et responsable, une société de recyclage et de savoir faire.

La lutte contre la pollution en général et celle de l'eau en particulier, élément vital au cœur déjà de nombreux conflits régionaux, nécessite des mesures drastiques qui outre une utilisation rationnelle et économique de cette ressource, devront également impliquer le traitement et l'utilisation des eaux usées ou polluées au lieu de procéder à leur rejet systématique.

La récupération de l'eau revêt en effet une importance considérable. Aussi et pour pallier à cette pollution de plus en plus envahissante, différents procédés de traitement ont pu être élaborés durant ce dernier siècle, dont la biodégradation par des agents biologiques (généralement microbiens tel que : *Pseudomonas aeruginosa*) des matières polluantes tel que le phénol dans des bioréacteurs

L'automatisation de la biodégradation est l'un des soucis majeurs des biochimistes et des biologistes, d'où les nombreuses expériences en vue de décrire parfaitement le comportement des bioréacteurs, une tâche qui s'est cependant révélée très difficile, les bioréacteurs étant fortement non linéaires.



L'étude que nous avons menée consiste à rechercher un modèle plus proche de la réalité, et cela, en nous basant sur des expériences effectuées au sein du laboratoire des sciences techniques et environnementales de l'Ecole Nationale Polytechnique (ENP).

Dans ce cadre, nous avons organisé notre plan de travail en cinq chapitres qui se résument comme suit :

- Chapitre I : sera consacré a la collecte d'information d'ordre générale sur tout ce nouveaux domaine a nos yeux, dont les définitions et les généralités.
- Chapitre II : s'intéressera beaucoup plus au phénomène de la biodégradation et ces principales acteurs. ce qui va nous attirer vers plus de détails et va nous confronter aux spécialistes du domaine.
- Chapitre III : sera voué uniquement à l'étude et l'interprétation des expérience déjà effectuées dans le laboratoire des sciences techniques et environnementales de l'Ecole Nationale Polytechnique.
- Chapitre IV : c'est l'essentiel de notre travail la grande parti du moins, la on va essayer d'établir le model du bioréacteur et comparer les résultats obtenues aux expériences déjà étudiées.
- Chapitre V : Le dernier chapitre sera voué uniquement à la simulation et à l'analyse des résultats obtenus.

Nous effectuerons des simulations du type fed-batch, et du type continu avec deux commandes différentes :

- Commande par retour d'état telle que la concentration du milieu fixée à sa sortie nulle.
- Commande PID ou on aura comme consigne « la sortie doit être nulle ».

# Chapitre I

## Définitions et généralités

*Quand nous avons commencé notre travail nous avons eu quelques soucis quant aux notions de biotechnologie.*

*C'est pour cela que nous désirons commencer ce mémoire par un brève mais essentiel chapitre sur les généralités, les définitions et les différentes notations de la biotechnologie.*

Nous avons choisi d'introduire les Définitions et généralités d'une façon liée pour faciliter leur assimilation.

### **I-1-Procédés biologiques**

Ou traitement biologique basé sur des réactions chimiques des micro-organismes, celles-ci conduisant à la formation de biomasse, production de produits de synthèse et dégradation de matières.

### **I-2-Microorganisme**

Organisme visible uniquement à travers un grossissement.

### **I-3-Biomasse**

1. Masse cellulaire produite par une population d'organismes vivants.
2. Matière organique qui peut être utilisée en tant que source d'énergie ou pour ses composants chimiques.
3. Toutes les matières organiques qui proviennent de la conversion photosynthétique de l'énergie solaire.

### **I-4-Substrat**

1. Composé altéré par une enzyme.
2. Source alimentaire pour la croissance des cellules ou des microorganismes.
3. Matériel sur lequel vit et se développe un organisme sédentaire.

### **I-5-Enzyme**

Protéine qui, à de très faibles concentrations, catalyse des réactions chimiques spécifiques sans être consommée par elles. Les enzymes sont classées en six groupes principaux (1-6), en fonction du type de réaction qu'elles catalysent :

1. oxydoréductases.
2. transférases.
3. hydrolases.
4. liasses.
5. isomérases.
6. ligases.

Les enzymes sont généralement nommées en additionnant le suffixe **-ase** au nom de leur substrat, et sont classifiées par un système numérique standard : le numéro attribué par l'«Enzyme Commission» (EC).

### I-6-Biotechnologie

Toute application technologique qui utilise des systèmes biologiques, des organismes vivants, ou des dérivés de ceux-ci, pour réaliser ou modifier des produits ou des procédés à usage spécifique.

### I-7-Fermentation

Un procédé biologique qui consiste à faire croître, dans des conditions d'environnement favorable, une population microbienne afin de produire un ou plusieurs métabolites 'produit formé exemple, l'éthanol' à partir de la biodégradation d'un substrat carboné. La grande diversité des fermentations a amené les biochimistes à les classer selon plusieurs critères d'ordre physiologique, selon la nature des produits formés ou selon des corrélations existantes entre les diverses réactions, (croissance, dégradation et production). La façon dont le substrat est apporté au milieu de culture caractérise le mode de fonctionnement de la fermentation [DAN-89], [DUV-88], [LIE-98], [SCR-00].

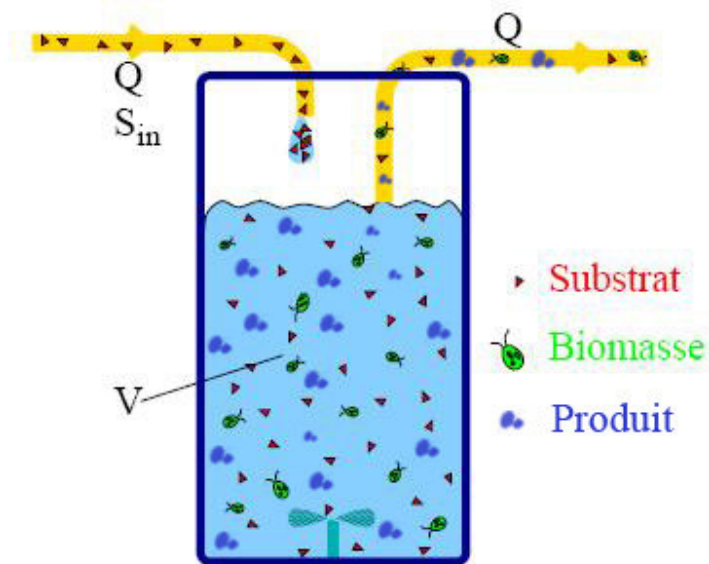


Figure I-1 : Schéma de principe d'un bioréacteur.

### I-8-Fermenteur

Ou bioréacteur cuve dans laquelle les cellules, les extraits cellulaires ou les enzymes effectuent une réaction biologique. Ce terme s'applique souvent à un récipient de fermentation de cellules ou de microorganismes. Il doit permettre d'établir les conditions environnementales (température, pH, oxygène, nutriments limitants, etc...) optimales pour l'obtention d'une croissance rapide, ainsi qu'une formation efficace de produits. Il existe trois types de bioréacteur selon les modes d'alimentation et de soutirage [QUE-90], [DUV-88] :

#### I-8-a-Fermentation en mode discontinu (Batch)

Le substrat nécessaire à la formation d'une certaine quantité de produits est apporté en début de manipulation dans un réacteur préalablement rempli etensemencé. Le fermenteur estensemencé par une concentration en biomasse initiale  $X_0$  dans un milieu de concentration en substrat  $S_0$  et de volume  $V$ . La fermentation se déroule jusqu'à l'épuisement du substrat (figure I.2).

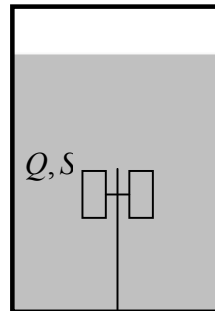


Figure I.2 : Schéma d'un procédé discontinu (batch)

- un taux de croissance de la biomasse variable.
- diminution de la concentration en biomasse, dès que le substrat est totalement consommé

#### I-8-b-Fermentation semi continue (Fed-batch)

Un procédé semi continu peut être schématisé par la (figure I.3). Le fermenteur est préalablementensemencé par une concentration en biomasse initiale  $X_0$  dans un milieu de concentration en substrat  $S_0$  et de volume  $V_0$ , il est alimenté ensuite en substrat de concentration  $S_{in}$  avec un débit d'entrée  $Q$ .

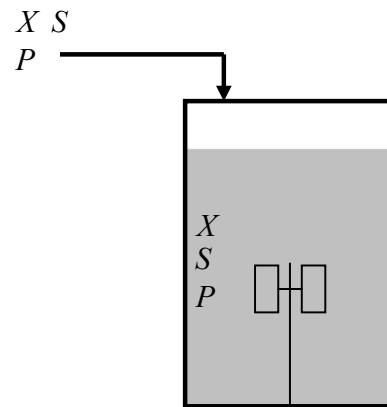


Figure I.3 : Schéma d'un procédé semi- continu (Fed-batch)

contrôler la concentration du substrat à tout instant.

### I-8-c-Fermentation continue

Le fermenteur est soumis à un apport de substrat et de milieu frais et à un débit de soutirage (figure I.4). Le flux d'alimentation et le flux de soutirage sont égaux à  $Q$ . Après une période transitoire qui dépend des conditions opératoires, le processus se stabilise en régime permanent.

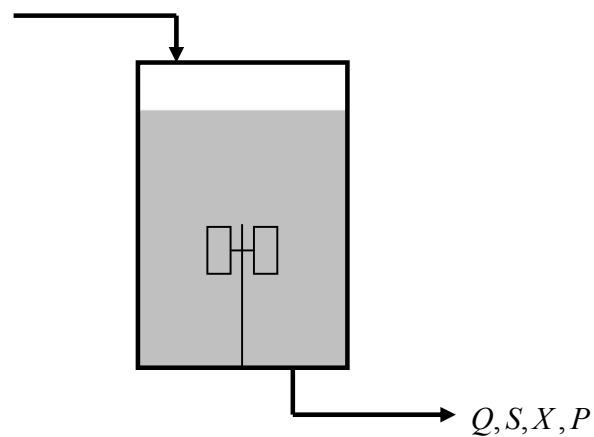


Figure I.4 : Schéma d'un procédé continu

- une concentration cellulaire constante.
- une production constante du métabolite recherché.
- un taux de croissance de la biomasse constant.

**I-9-Croissance microbienne**

Dans un milieu liquide contenant les besoins nutritifs adéquats, la plupart des bactéries ont une croissance bactérienne homogène. On peut de façon simple suivre cette évolution en mesurant la concentration cellulaire générée par le milieu.

Cette croissance peut être schématisée par la courbe de croissance. Cette courbe comporte six (6) phases successives (Figure I.5).

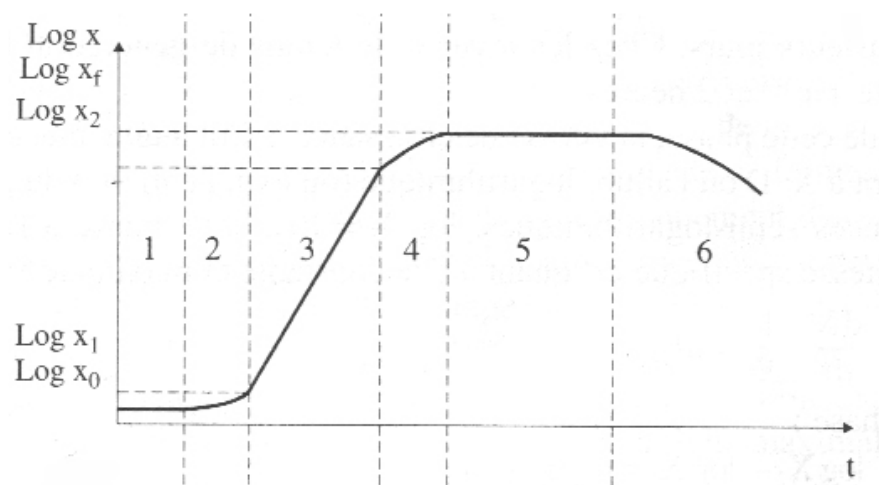


Figure I.5 : Croissance typique d'une bactérie en milieu liquide [GOU-02], [ROQ-80].

Avec :

X : nombre de bactéries ;

X0 : inoculum ;

X1 : nombre de bactéries en fin de phase d'accélération ;

X2 : nombre de bactéries en fin de phase exponentielle ;

Xf : nombre de bactéries finales.

**I-9-1-Phases de croissance microbienne**

Comme le montre la figure I.5 ci-dessus, la croissance microbienne se déroule en six (6) phases successives :

**I-9-1-a-La phase de latence**

C'est la période comprise entre l'ensemencement et le début du développement bactérien, dans laquelle on remarque une augmentation de la taille des bactéries sans la division de ces dernières :  $X=X_0$ . Au cours de cette phase qui ne dépasse pas deux ou trois heures (courte), les cellules synthétisent les enzymes qui vont leur être nécessaires pour utiliser les substrats du milieu. Pendant cette période, le taux de croissance est nul ( $\mu=0$ ) [SCR-99], [MOH-93], [CEG].

**I-9-1-b-La phase d'accélération**

Durant cette phase on remarque un phénomène d'accélération de la croissance de la population dont on mesure la rapidité par le temps mis par une bactérie pour se diviser (temps de génération), mais qui correspond aussi au temps que met une population bactérienne pour doubler (temps de doublement). Le taux de croissance correspond à l'inverse d'un temps de génération. ( $\mu=1/T_g$  ; avec  $T_g$  : temps de génération) [SCR-99], [MOH-93], [CEG].

Cette phase est caractérisée par :

- Une augmentation du taux de croissance  $\mu$ .
- Une augmentation de la concentration en biomasse  $X$ .
- Une diminution du temps de génération  $T_g$ .

**I-9-1-c-La phase exponentielle**

Elle correspond au moment où la vitesse de reproduction cellulaire atteint son maximum. Pendant cette phase les bactéries se reproduisent, le taux de croissance  $\mu$  est constant et maximal. Cette phase est relativement courte. Cela est dû à l'accumulation de déchets métaboliques dans le milieu de culture et à la disparition des éléments nutritifs disponibles, les microorganismes étant très sensibles aux conditions défavorables pendant cette phase [SCR-99], [MOH-93], [CEG].



**I-9-1-d-La phase de décélération**

Il arrive un moment où la courbe présente un point d'inflexion qui correspond, du point de vue biochimique, à l'épuisement du milieu de culture suite à la disparition d'un ou de plusieurs composés nécessaires à la croissance bactérienne (C, N, P, etc...). Le taux de croissance de croissance va diminuer progressivement pour s'annuler à la fin [SCR-99], [MOH-93], [CEG].

**I-9-1-e-La phase stationnaire**

C'est la phase au cours de laquelle la croissance est maximale et stationnaire. Cette phase, brève pour certaines bactéries, alors que pour d'autres elle peut durer plusieurs heures et même plusieurs jours, se caractérise par :

- Un déséquilibre du milieu de culture marqué par l'apparition de changements morphologiques chez les bactéries (gonflement ou allongement).

- Une pollution du milieu et un épuisement des éléments nutritifs ce qui conduit à la phase de décroissance.

- Un arrêt de la reproduction, les bactéries vivent sur leurs réserves [SCR-99], [MOH-93], [CEG].

**I-9-1-f-La phase de décroissance exponentielle ou de déclin**

Au cours de cette phase on constate que :

- Le nombre de bactéries qui meurent dépasse le nombre de nouvelles bactéries.

- Les bactéries survivantes diminuent selon une progression géométrique en fonction du temps.

- Un petit nombre de bactéries particulièrement résistantes continuent à se développer en puisant dans les éléments nutritifs libérés par les bactéries mortes et lysées (cannibalisme).

- La décroissance perd alors son allure exponentielle [SCR-99], [MOH-93], [CEG].

Le tableau ci après récapitule les valeurs du taux de croissance ( $\mu$ ) pendant les différentes phases de la croissance bactérienne. (Tableau I.1) [SCR-99], [CEG], [LOB-91].

Les différentes phases de la croissance	Valeurs de $\mu$
Phase de latence	$\mu=0$
Phase d'accélération	$\mu$ augmente
Phase exponentielle	$\mu= \mu_{\max}=\text{cste}$
Phase de ralentissement	$\mu$ diminue
Phase stationnaire	$\mu=0$
Phase de déclin	$\mu < 0$

**Tableau I.1** : Valeurs de taux de croissance ( $\mu$ ) pendant les différentes phases de la croissance bactérienne.

### I-9-2-Facteurs de croissance microbienne

Il est difficile de tenir compte de l'ensemble des facteurs qui peuvent avoir une influence sur les microorganismes. Ces facteurs se différencient selon les conditions nécessaires à leurs croissances ainsi que leurs besoins en éléments nutritifs.

#### I-9-2-a-Eau

L'eau est indispensable aux microorganismes pour que la croissance de ceux-ci soit effective. Il faut qu'un seuil d'humidité relative, exprimé par l'activité de l'eau, soit atteint [RAE-01].

#### I-9-2-b-Source d'énergie et carbone

Les microorganismes organotrophes, qui représentent la majorité des microorganismes utilisés industriellement, ont recours à la dégradation de composés organiques pour leurs besoins énergétiques. Les microorganismes photosynthétiques et la plupart des chemolithotrophes sont capables d'utiliser directement le gaz carbonique de l'air pour leurs besoins énergétiques.

#### I-9-2-c-Azote

L'azote provient partiellement de substances organiques (protéines ou minérales).

**I-9-2-d-Oxygène**

Vital pour beaucoup de microorganismes, il peut parfois se révéler toxique. En fait, il existe deux sortes de fermentations :

-Aérobie : où les microorganismes ont besoin d'oxygène pour leur développement.

-Anaérobie : le besoin en oxygène n'est pas nécessaire pour le développement (anaérobie facultatif), et peut être inhibiteur (anaérobie strict).

**I-9-2-e-pH**

La croissance des microorganismes exige une valeur optimale de pH. La plupart des bactéries croissent en milieu neutre, alors que les champignons, levures et bactéries lactiques préfèrent un milieu acide.

**I-9-2-f-Températures**

La température exerce une influence déterminante sur l'ensemble de l'activité cellulaire microbienne, cette dernière peut être totalement inhibée aux basses températures. Dans l'intervalle des températures physiologiques, la croissance microbienne est accélérée par une augmentation de la température. Le taux de croissance atteint sa valeur maximale dans la zone relativement étroite des températures optimales [SCR-99], [BIO].

On distingue classiquement en fonction des limites de température entre lesquelles prolifèrent les microorganismes trois groupes (Tableau **I.2**).

Microorganismes	Température de développement en °C		
	Minimum	Optimum	Maximum
Psychrophiles	-5	+5 à +10	+20
Mésophiles	+10	+30 à +40	+45
Thermophiles	+40	+50 à +60	+75

**Tableau I.2 :** Classification des microorganismes en fonction de leur température de développement

## 1-10-La Biodégradation

### 1-10-1-Définition

Le terme **biodégradation** généralement retenu dans la littérature scientifique correspond à une action de dégradation d'un composé organique par des agents biologiques (généralement microbiens) avec comme seuls rejets, des produits simples tels que H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>..., mais encore des produits organiques simples (métabolites) tels que des acides organiques. Si la biodégradation du substrat organique est totale, c'est-à-dire formation uniquement de produits inorganiques tels H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>,... on parle de **minéralisation** [GOU-02], [BLI-04].

Le terme **biotransformation** implique la notion de transformation incomplète d'un substrat organique métabolisé qui n'aboutit pas forcément à une assimilation totale. Il peut s'agir par exemple d'une oxydation partielle du substrat qui se traduit par un rejet de produits intermédiaires (métabolites) dans le milieu [GOU-02].

La pollution importante des eaux exige de nos jours une épuration de préférence biologique pour éviter que les effluents pollués ne provoquent une destruction totale des écosystèmes aquatiques [BOE-99].

### 1-10-2-Le principe de biodégradation

Le moteur de toute dégradation de substances organiques est, en fait, les enzymes secrétées par les bactéries.

On distingue les **enzymes extracellulaires** qui provoquent la destruction des structures moléculaires trop complexes pour pénétrer au sein des capsules bactériennes, et les **enzymes intracellulaires**, qui assurent l'assimilation et, par conséquent sont à l'origine des phénomènes vitaux pour la prolifération des cellules [BOE-99].

Selon que la combustion intracellulaire, ou oxydation, se produit aux dépens de l'oxygène dissous dans l'eau (processus aérobie) ou que, au contraire, il y a transfert de l'hydrogène du combustible brûlé, à un accepteur d'hydrogène autre que l'oxygène moléculaire (processus anaérobie), la nature des produits de dégradation élémentaires ou déchets sera différente :  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$  ou  $\text{NO}_3$  en aérobiose ;  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  et acides gras en anaérobiose.

Il faut considérer que, quoique théoriquement l'épuration biologique des eaux usées puisse s'effectuer par voie aérobie ou anaérobie, c'est la première de ces techniques qui est universellement utilisée à cause de sa supériorité évidente, tout au moins pour de faibles concentrations polluantes des effluents à traiter.

En effet, du fait du caractère beaucoup plus exothermique du métabolisme aérobie, le processus est plus rapide et plus complet, avec comme contrepartie, la production d'une masse cellulaire beaucoup plus importante [BOE-99].

Nous avons essayé dans ce chapitre de faire un petit résumé sur les différents ouvrages que nous avons consulté pour construire une base assez solide dans la biotechnologie et nous apporterons affure et a mesure d'autre éclaircissements a d'autre points si c'est indispensable et cela au cours des chapitres suivants.

# Chapitre II

## La Biodégradation du Phénol

*La deuxième contrainte après la construction d'une base solide dans ce vaste domaine est de se plonger dans les travaux qui utilisent des bioréacteurs pour nous permettre de bien connaître les vrais variables et paramètres de ce dernier d'un point de vue automatique. La biodégradation du phénol c'est ce que nous a été proposé dans le laboratoire de l'environnement que nous allons essayer de le détailler dans ce chapitre.*

### II-1- Historique et définition

Dès le début du XIXe siècle, les chimistes avaient réussi à isoler des huiles moyennes du goudron de houille, d'où un composé bouillant à 175° C et cristallisant par refroidissement pour fondre de nouveau aux environs de 40° C. En raison de la nature du procédé d'extraction, on considérait ce composé comme un acide carboxylique, puis acide phénique.

Lorsqu'il fut établi qu'il ne se comportait pas, comme la plupart des acides organiques alors connus, un groupe carboxylique dans sa structure, Gerhardt proposa de l'appeler « **phénol** », nom qui a peu à peu détrôné celui d'acide phénique encore partiellement en usage en 1930. Le mot « phénol » est tout à fait conforme à la nomenclature officielle [ENC-00], en effet, le phénol résulte du remplacement dans le benzène d'un hydrogène par un hydroxyle [ENC-00], [GAU-69].

Le phénol est le plus simple des dérivés hydroxylés d'un noyau benzénoïde. D'autres phénols sont présents dans les huiles essentielles, par exemple le thymol de l'essence de thym, la vanilline des gousses de vanille, l'eugénol des clous de girofle, et l'acide gallique de la noix de galle [ENC-00], [BRO-99].

### II-2-Principales sources de pollution

La présence du phénol dans l'environnement provient des eaux résiduaires et des flux d'air rejetés lors de la production, de la transformation ou de l'utilisation du phénol. Les échappements des moteurs thermiques, la dégradation photochimique du benzène, la décomposition de déchets organiques divers, le métabolisme humain et animal sont également responsables de la présence de phénol dans l'environnement. Il en est de même des usines de torréfaction et de carbonisation à basses températures, de la combustion du bois et du tabac [BIS-03].

### II-3-Pathologie et toxicologie

Le phénol est un produit toxique dangereux, il peut pénétrer dans l'organisme par voie cutané, par inhalation ou accidentellement par ingestion, il exerce à la fois une action locale sur la peau et les muqueuses et une action générale sur l'organisme [INR-97].

Les métabolites des phénols peuvent également être très toxiques.

#### II-3-1-Intoxication aigue

La toxicité aigue est expérimentée sur des animaux (en général les rats) et se mesure par la DL (dose létale) ; elle s'exprime en mg ingéré par kg de poids de l'animal. La DL est la quantité intégrée qui provoque la mort [GOS-00].

Le tableau (Tableau II.1) nous donne le classement de toxicité selon la valeur de la DL.

DL (mg/kg)	Classement
<25	Très toxique
25 à 200	Toxique
200 à 2000	Substances dangereuses
>2000	Non toxique

**Tableau II .1** : Classement de toxicité [GOS-00].

#### II-3-2-Intoxications chroniques

L'absorption de phénol par petites doses de façon répétée est susceptible de provoquer des troubles digestifs, de l'irritation de voies respiratoires et des troubles nerveux (vertiges). Ces symptômes sont connus sous le nom de marasme phénique. Ils peuvent s'accompagner de troubles cutanés (érythèmes, eczémas) [INR-97], [SCH-95].



Une étude de mortalité par *pathologie cardio-vasculaire* a été menée sur une population de 1282 salariés dans l'industrie de caoutchouc et du pneu. Les salariés sont exposés à 25 solvants différents. Le suivi a été réalisé sur une période de 15 ans. Un lien entre la mortalité par maladie cardio-vasculaire et l'exposition au phénol a pu être établi. Cependant cette étude n'a pas pris en compte les habitudes tabagiques, les cas d'hypertension artérielle et d'hypercholestérolémie [INR-97], [BIS-03].

#### **II-4-Les procédés de traitement des rejets phénoliques**

Pour éviter les effets toxiques des substances phénoliques rejetés dans l'eau, il convient de procéder à un traitement approprié de ces substances avant leur rejet dans le milieu naturel.

On distingue deux grandes catégories de méthodes d'épuration :

La première comprend les procédés ayant pour but la récupération des phénols, alors que la seconde catégorie s'intéresse à leur destruction [MEI-77].

Le choix de la méthode est essentiellement pratique et économique (moyens disponibles et volume des eaux phénoliques rejetées journallement). Pour les petites exploitations ou les volumes des eaux phénoliques n'atteint que quelques m<sup>3</sup> par jour, la récupération n'est ni rentable ni même recommandable pour des raisons techniques, car les installations nécessaires à cette fin sont coûteuses et exigent une surveillance spéciale [MEI-77].

Pour les exploitations importantes, la récupération des phénols ne produit qu'une épuration partielle des eaux résiduaires, alors ces dernières ne sont pas totalement exemptes de phénol mais renferment encore de petites quantités et sont encore les plus souvent fortement polluées par des substances d'accompagnement, pour cette raison on combine très souvent dans les installations de traitement des eaux résiduaires de ces usines ; les opérations de récupération et les méthodes de destruction des phénols [MEI-77].

Les procédés de traitement des rejets phénoliques sont présentés dans la figure qui suit, ou nous remarquons l'existence de deux branches :

-La récupération : extraction, évaporation et adsorption.

-L'épuration : physico-chimique et biologique.

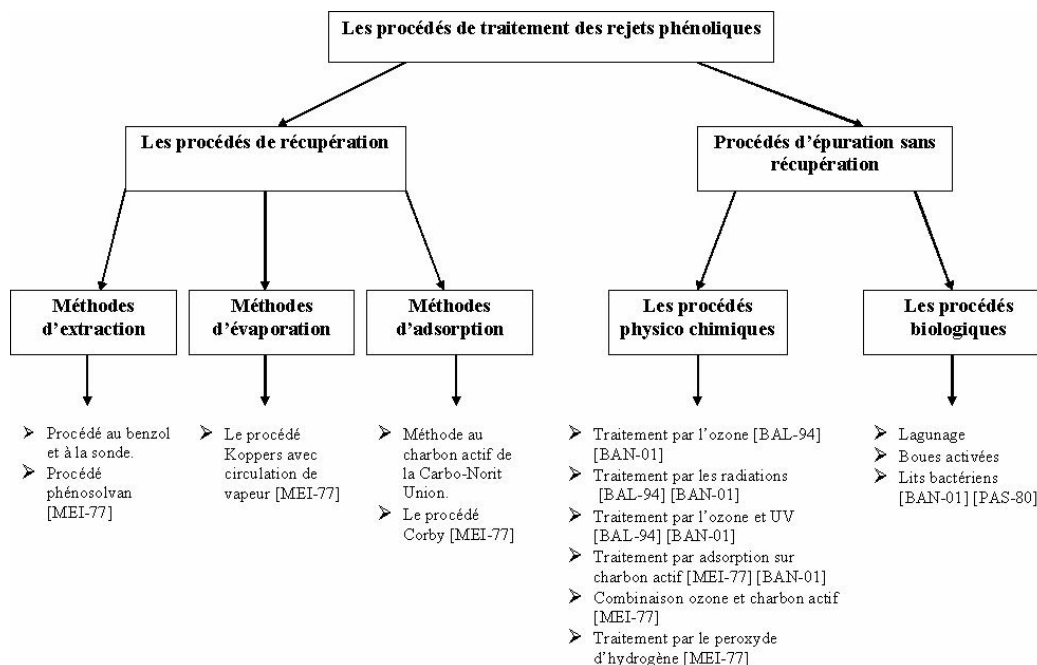


Figure II-1 : Les différentes techniques de traitement des eaux résiduaires phénoliques.

## II-5-Biodégradation du phénol

La biodégradation des phénols est en général très bonne, de sorte qu'une accumulation dans la flore ou la faune est peu probable. La dégradation par des bactéries est intégrale jusqu'à formation de dioxyde de carbone (gaz carbonique). Dans le sol, une condensation avec formation d'acide humique peut se produire. En revanche, la dégradation des phénols synthétiques est plus faible, car nombre d'entre eux ont une action bactéricide. Plus les phénols contiennent d'atomes de chlore ou d'azote, plus leur toxicité est forte, ainsi, le « pentachlorophénol » est le plus toxique des chlorophénols, et le « trinitrophénol » (acide picrique) est le plus toxique des nitrophénols [SCH-95].

La biodégradation du phénol en eaux souterraines et de surface a été examinée par Vaishnav et Babeu en 1987. Les concentrations en phénol étaient de 0,8-1,6 et 3,2 mg/l. La biodégradation était de 60% (eau de rivière), 45% (eaux souterraines) après 20 jours et 88% (eaux portuaires) après 15 jours [BIS-03].

La biodégradation du phénol peut se faire par deux voies :

### **II-5-1-En aérobiose :**

Plusieurs bactéries et champignons aérobies [SEM-96] peuvent utiliser le phénol comme source unique de carbone et d'énergie (*Pseudomonas*, *Vibrion*, *Entérobactéries*) [KIM-02], [YAN-75], [MUR-03], [WHI-01], [AKS-98], [REA-02], [KNO-85] ; une collection de 700 bactéries obtenue par une installation de remédiation de traitement industrielle des composés phénoliques a été faite pour choisir des contraintes potentielles en tant que biodétecteurs microbiens. Les *Pseudomonas* étaient le groupe le plus abondant, dont 48 souches sélectionnées de liquide ou de suspension solides pour leur réponse physiologique à l'identification du polluant phénolique [KIM-02], [BIS-03].

### **II-5-2-En anaérobiose :**

La biodégradation du phénol en anaérobiose est faites par diverses bactéries, la croissance de ces derniers dépendait de la présence de CO<sub>2</sub>. Les groupes de bactéries de fermentation convertissent le phénol en benzoate [BRE-00], [HER-00].

Dans notre étude, la biodégradation du phénol est faite par des bactéries du genre *Pseudomonas aeruginosa* en aérobiose.

### **II-5-3-Biodégradation du phénol par Pseudomonas Aeruginosa**

Le phénol peut représente le substrat de la *Pseudomonas Aeruginosa* alors une description détailler de celle-ci s'avère nécessaire.

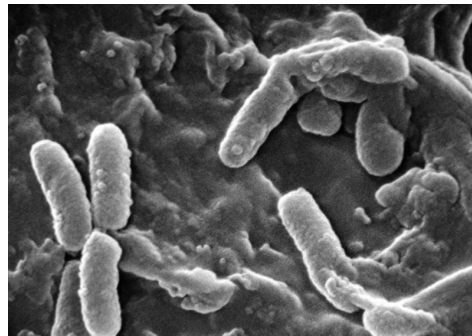
### **II-6-Pseudomonas Aeruginosa**

Autrement connue sous le nom de **bacille pyocyanique** peuvent être définies par :

- Bacilles (une bactérie de forme allongée dite « en bâtonnet ») à Gram négatif (apparaît roses au microscope).

- Aérobie stricts ;
- Dégradant le glucose par respiration aérobie ou inerte vis-à-vis du glucose. Ils n'attaquent pas les sucres ou les attaquent par voie oxydative et non fermentative ;
- Généralement mobiles ;
- Peu exigeantes, cultivant à 30 °C.

Ce genre comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires dont l'espèce type est *Pseudomonas aeruginosa* généralement dénommé Bacille pyocyanique.



### II-6-1-Classification classique

Règne	Bacteria
Division	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonadaceae
Genre	Pseudomonas

**Tableau II-2** : Classification classique des microorganismes de type *Pseudomonas*

**II-3-2 Pathogène**

Chez l'homme, l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* (appelé aussi bacille pyocyanique) intervient fréquemment comme pathogène opportuniste. Elle se retrouve en flore de transit sur la peau et les muqueuses et cause des surinfections de plaies ou brûlures. Chez des individus immunodépressifs elle peut être la cause de divers infections cutanés et viscérales voir même de septicémie. Elle comporte un risque particulièrement élevé d'infections nosocomiales (contracté par l'intermédiaire de soins en milieu hospitalier).

**II-3-3 Conditions de culture**

Les *Pseudomonas* sont des germes peu exigeants, l'immense majorité des espèces n'exigent aucun facteur de croissance et sont capables d'utiliser comme seule source de carbone et d'énergie un large spectre de substrats carbonés simples et variés. Ils se développent sur tous les milieux usuels, même les plus simples.

Il possèdent aussi une grande tolérance dans les gammes de température environnante, bien qu'ayant une température optimale de croissance située entre 30 et 35°C (mésophile), elle sont capables de pousser à des températures entre 4 et 42°C en ralentissant leur métabolisme. Leur croissance n'est donc pas totalement entravée par les locaux réfrigérés et les incubateurs.

Elle résiste à de nombreux inhibiteurs bactériens, particulièrement aux agents chimiques. Elles continuent leur développement des certaines solutions antiseptiques (notamment le cétrimide) et sont résistantes à de nombreux antibiotiques.

**II-3-4- Habitat**

Ces bactéries, largement répandues dans l'environnement, vivent en saprophytes (capable de se nourrir de matière organique en décomposition.) dans le sol et l'eau. Elles se retrouvent sur les plantes, les denrées alimentaires.

Dans les habitations humaines, elles se retrouvent dans les siphons d'évier et les réservoirs d'eaux de pluie qui, lorsque qu'elles sont utilisées pour l'arrosage des plantes, peuvent provoquer des maladies sur les plantes.

**II-4- conclusion**

Ici se termine la partie biologique dans la quelle on a introduit tous les termes et définition obligatoires pour pouvoir suivre la suite de notre travail.

# Chapitre III

## Résultats et expériences

*Cette partie va traiter des essais et expériences menées par les spécialistes en vue de comprendre la dynamique de la biodégradation du phénol par la PM et cela en variant tout les paramètres possibles.*

Il y a plusieurs paramètres influant sur la biodégradation les expériences et résultats d'écrit ci-après vont être utilisé pour le choix et la validation du model.

Les travaux expérimentaux effectués par les spécialistes du domaine ont pour but d'optimiser les conditions de dégradation du phénol en fermenteur en utilisant une souche bactérienne dite *Pseudomonas aeruginosa*.

### III-1- Résultats

Avant d'optimiser les conditions de dégradation du phénol, nous préférons expliquer le protocole expérimental suivi qui est le suivant :

- Stériliser le fermenteur contenant le milieu de culture à l'autoclave à 120°C pendant 20mn.
- La préculture est préparée 24h ou 48h avant l'expérience ;  
     Dans la zone stérile :
- Ajouter respectivement  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{FeSO}_4$  et la solution du phénol d'une concentration connue par filtration stérilisante au fermenteur ;
- Ajouter la préculture d'un inoculum de 1% au fermenteur.
- Fixer les conditions opératoires sur le fermenteur (aération, agitation, température...).

Pour déterminer les concentrations de la biomasse microbienne et du substrat (phénol), la procédure qui suit.

#### III-1-1-Mesure de la biomasse microbienne

La mesure de l'opacification du milieu de culture est une technique très prisée pour mesurer la biomasse, c'est à la masse bactérienne sèche présente par unité de volume. Il est en effet possible d'utiliser une loi, exprimant la proportionnalité entre la contribution bactérienne à l'absorbance du milieu A et la biomasse B présente en solution,

$$A = \text{Log}(I_0/I_2) - \text{Log}(I_0/I_1) = \text{Log}(I_1/I_2) = \alpha.d.B \quad \text{III-1}$$

Où :

$I_0$  : intensité lumineuse du rayon incident.

$I_1$  : intensité du rayon transmis en l'absence de biomasse.

$I_2$  : intensité du rayon transmis en présence de biomasse.

$d$  : longueur du trajet optique.

$\alpha$  : coefficient de proportionnalité.

L'absorbance est rapportée conventionnellement à un trajet optique de 1cm pour définir la densité optique (DO) du milieu :

$$DO = (1/d) \cdot \text{Log} (I_1/I_2) = \alpha \cdot B \quad \text{III-2}$$

Cette relation empirique a été vérifiée expérimentalement par de nombreux auteurs [JEA-91], [WAN-99].

### III-1-1-a-Etalonnage

La détermination de la matière sèche cellulaire est la méthode la plus rigoureuse. La biomasse microbienne est récupérée généralement par centrifugation, lavée afin d'éliminer le milieu de culture retenu entre les cellules et séchée à 105°C jusqu'à poids constant. Cette technique s'applique aux suspensions assez denses et dans lesquelles les microorganismes sont les seuls particules en suspension [SCR-99], [LEV-93].

### III-1-1-b-Technique

-200 ml de culture bactérienne sont centrifugés puis lavés avec de l'eau distillée 3 fois.

-Le culot est remis en suspension dans 60 ml d'eau distillée.

-La DO est lue au UV –visible à 600nm.

-50 ml de cette suspension est séchée à 105°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant ( $m - m_0$ )

$$C_0 = (m - m_0)/50 \text{ ml} \quad \text{III-3}$$

-Le reste (10 ml) est utilisé pour la préparation des dilutions. Pour chaque dilution, la prise de DO est effectuée à 600 nm.

-La courbe des DO en fonction des concentrations est établie comme le montre la figure III-1



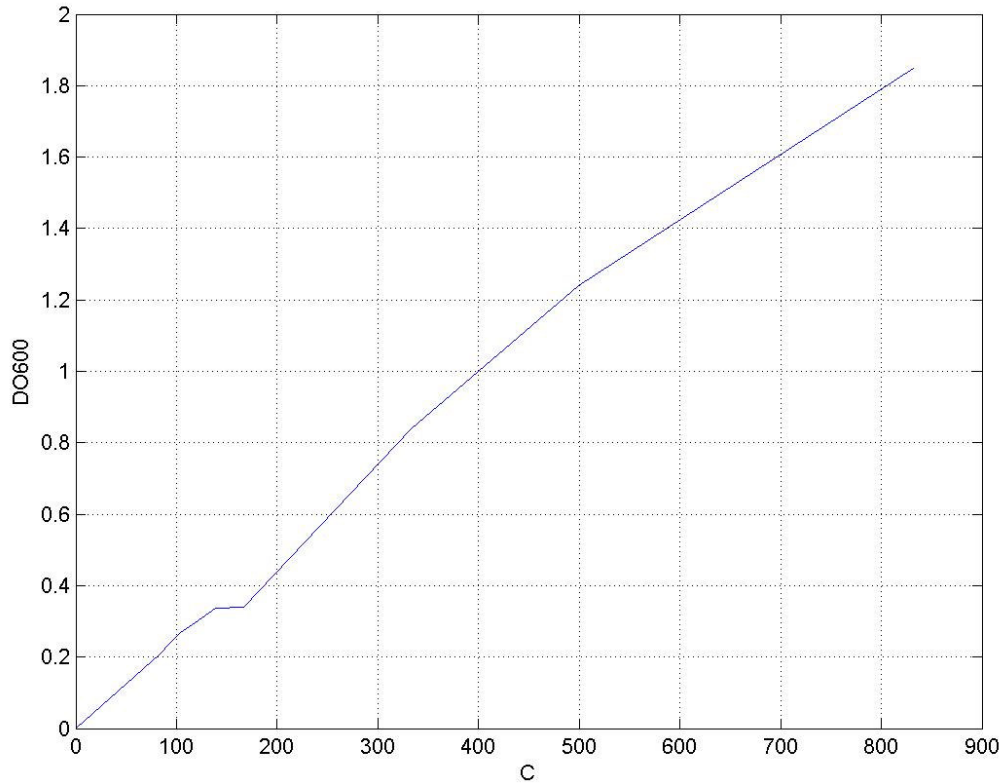


Figure III-1 : Courbe d'étalonnage de la croissance bactérienne

L'allure de la courbe obtenue est une droite. Par le biais de cette courbe d'étalonnage, nous pourrions déterminer les concentrations inconnues (matière sèche) ; c'est-à-dire qu'elles sont calculées à partir de l'équation suivante :

$$X \text{ (mg /l)} = 434,78 \text{ DO (à 600 nm)} \quad \text{III-4}$$

### III-1-2-Mesure de la concentration du phénol

#### III-1-2-a-Etalonnage

-A partir de la solution mère du phénol à 1 g/l préparée par dilution, de manière à obtenir des solutions étalons contenant respectivement 0 – 0,5 – 1 – 1,5 – ...5mg/l.

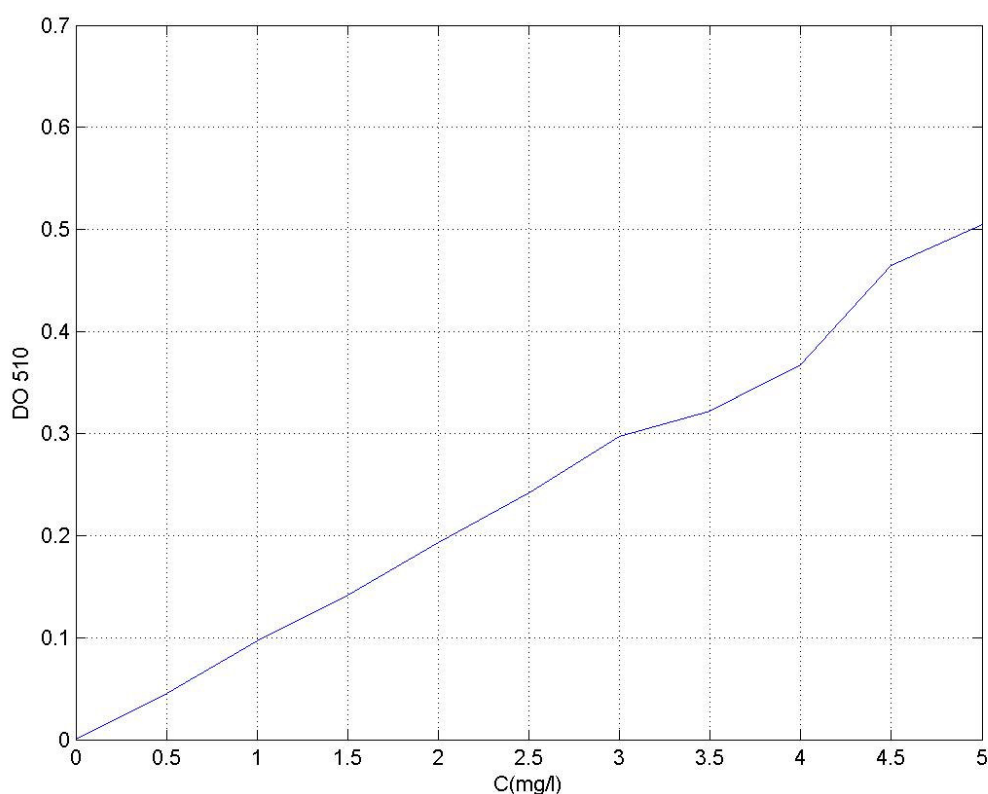
-Prélever 100 ml de chacune de ces solutions, ajuster le pH à 9,5 à l'aide de la solution tampon (5ml).

-Introduire 1 ml de la solution de 4-amino-antipyrine ; mélanger le tout immédiatement.

-Ajouter 2 ml de solution de ferricyanure de potassium ; mélanger de nouveau.

- Laisser reposer pendant 5 min pour permettre le développement de la coloration (à température ambiante). Celle-ci reste stable pendant 2 à 3 h.

La courbe exprimant la relation entre la DO à 510 nm et la concentration en phénols (mg/l) est représentée par la figure **III-2**.



**Figure III-2** : Courbe d'étalonnage du phénol.

### III-1-2-b-Dosage du phénol

- Prélever un échantillon (10 ml) du fermenteur à l'aide d'une pipette stérile de 10 ml, dans la zone stérile.
- Centrifuger l'échantillon (vitesse de 5770 tours /min, durée de 30 min) [GHI-99].
- Filtrer l'échantillon centrifugé et récupérer le surnageant.
- Préparer la dilution à partir du surnageant, en utilisant une fiole jaugée de 100 ml toute en tenant compte de la limite de détection du phénol de la méthode (5 mg/l).
- Dans un bêcher de 125 ml contenant 100 ml de la solution à doser ajouter 5 ml de tampon a fin d'ajuster le pH de la solution à 9,5.
- Ajouter 1 ml de la solution de 4-amino-antipyrine ; agiter immédiatement.
- Ajouter 2 ml de la solution de ferricyanure de potassium ; agiter.
- Laisser la coloration se développer à température ambiante pendant 5 min.
- Enfin ; déterminer l'absorbance de la solution à 510 nm au spectrophotomètre et par le biais de cette courbe d'étalonnage, la concentration inconnue du phénol est calculée à partir de l'équation suivante :

$$[\text{Phénol}] = 10,214 \text{ DO (à 510 nm)}$$

III-5

## III-2- Expériences

### III-2-1-Influence des paramètres opératoires sur la dégradation du phénol par *Pseudomonas aeruginosa* en fermenteur

Les microorganismes sont capables d'effectuer une grande diversité de réactions biochimiques qui se traduisent par une production de biomasse, et par la dégradation, la transformation ou la production de substances organiques ou minérales.

Pour leur vie (entretien ou maintenance), pour leur développement (croissance et multiplication), pour l'expression de leurs propriétés (mobilité, luminescence,...), les microorganismes ont besoin d'énergie et d'éléments nutritifs.

Les différents paramètres opératoires, tel que la température, le pH ou l'oxygène, jouent un rôle très important dans la biodégradation du phénol et dans la croissance microbienne ; c'est pour cela, et afin d'optimiser ces paramètres, plusieurs expériences ont été effectuées.

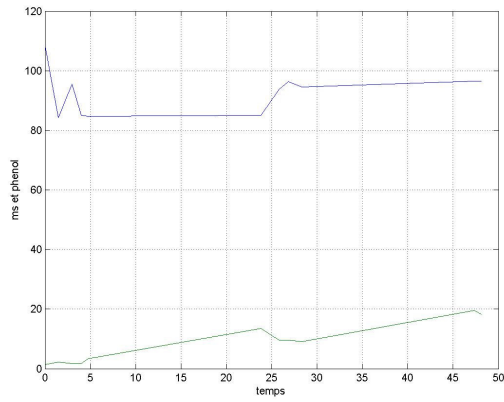
**III-2-1-a-Influence du milieu**

Pour voir l'effet de chaque constituant du milieu sur la biodégradation du phénol et la croissance bactérienne, différents milieux sont composés, en maintenant les autres conditions opératoires constantes pour chaque cas, comme le montre le tableau **III-1**.

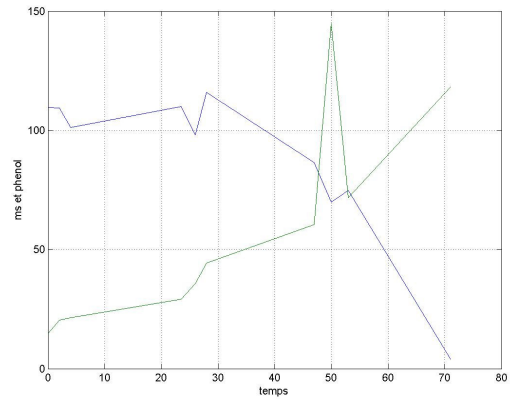
Milieux	Concentration initiale du phénol	Composition du milieu	Conditions opératoires
<b>M1</b>	+100 mg/l	Eau distillée	+1% de pré culture (Ps) à T (°C)=30 Pas d'agitation et pas d'aération
<b>M2</b>		Eau distillée+0,5 mg/l glucose	
<b>M3</b>		Eau distillé+extrait de levure	
<b>M4</b>		Eau distillée+minéraux	
<b>M5</b>		Milieu complet Eau distillé+glucose+minéraux Extrait de levure	

**Tableau III-1** : Composition des milieux de culture.

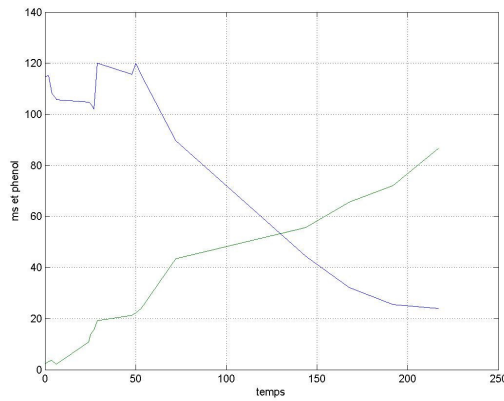
Les courbes de l'évolution de la cinétique bactérienne et de la biodégradation du phénol pour chaque milieu sont représentées sur les figures **III-3**.



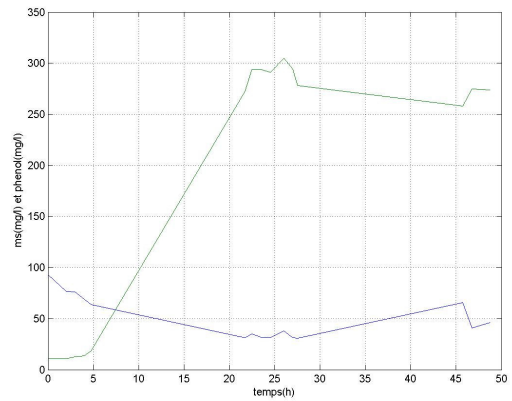
M1



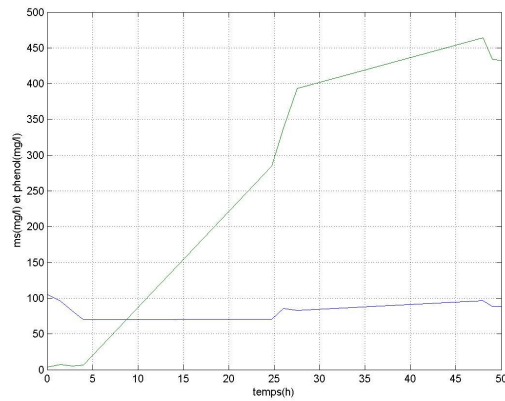
M2



M3



M4



M5

Figure III-3 : Influence de la variation du milieu sur la cinétique bactérienne et la biodégradation du phénol.

Pour la suite des expériences, le milieu utilisé est le milieu complet.

### III-2-1-b-Influence de l'agitation

Généralement l'agitation facilite l'homogénéisation du milieu et c'est l'opération qui accélère le contact entre la biomasse et les substrats nutritifs [SCR-99] mais lorsqu'elle dépasse une certaine limite elle gêne le contact bactérie/substrat [MOH-93], alors l'agitation est introduite avec une vitesse minimale de 70 à 71 tour/min.

### III-2-1-c-influence de l'aération

L'aération sert non seulement à combler les besoins en oxygène des bactéries entre autre pour oxyder le polluant mais aussi à agiter le milieu, à éloigner les produits de la fermentation du voisinage immédiat des cellules et à apporter de nouvelles substances nutritives. L'aération influence ainsi positivement la croissance des bactéries [MOH-93], [LAB-03].

Pour mieux voir l'effet de l'aération sur la biodégradation du phénol, le tableau **III-2** regroupe les différentes conditions opératoires choisies.

Composition du milieu	Concentration initiale du phénol	Débit d'oxygène	Les conditions opératoires
Milieu complet « M5 »	+100 mg/l	0 l/min d'O <sub>2</sub>	+ 1% de pré culture (Ps) Température (°C)=30 Agitation=70 tour/min
		0,21 l/min d'O <sub>2</sub>	
		0,42 l/min d'O <sub>2</sub>	
		0,63 l/min d'O <sub>2</sub>	

**Tableau III-2** : Les conditions opératoires en cas de l'introduction de l'aération.

Les courbes de l'évolution de la cinétique bactérienne et de la biodégradation du phénol pour chaque cas sont représentées sur les figures **III-4**.

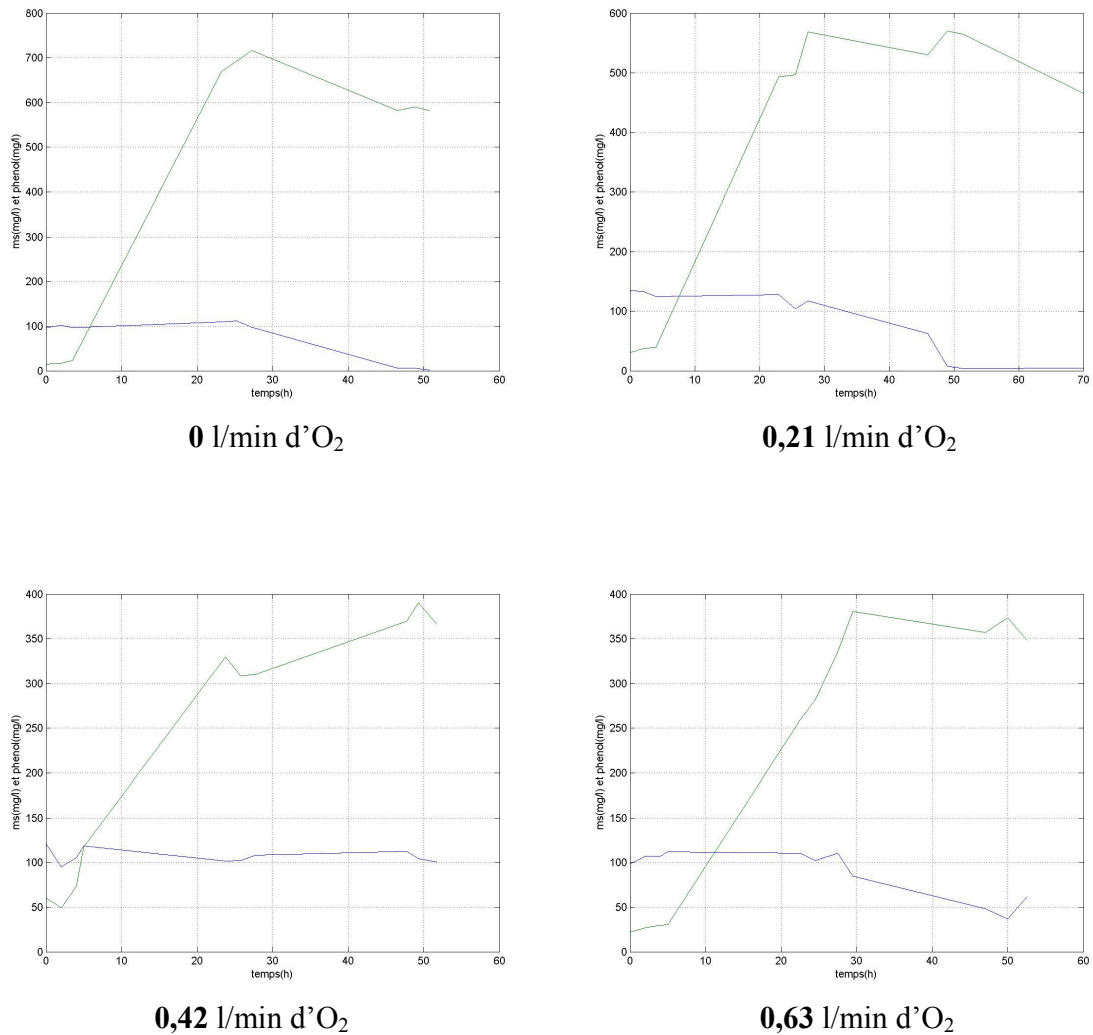


Figure III-4 : Influence de la variation de l'aération sur la cinétique bactérienne et la biodégradation du phénol.

### III-2-1-d-Influence de la température

Afin de voir l'effet de la température sur la biodégradation du phénol et la croissance bactérienne, différents essais sont effectués, en faisant varier la température tout en gardant les autres paramètres fixes, comme le montre le tableau III-3

Composition du milieu	Concentration initiale du phénol	Température (°C)	Les conditions opératoires
Milieu complet « M5 »	+100 mg/l	30	+ 1% de pré culture (Ps) Agitation=70 tour/min Aération=0,210 l/min
		37	
		40	
		45	
		50	

**Tableau III-3** : Conditions opératoires en cas de variation de température.

Les courbes de l'évolution de la cinétique bactérienne et de la biodégradation du phénol pour chaque cas de variation de température sont représentées sur les figures **III-5**.



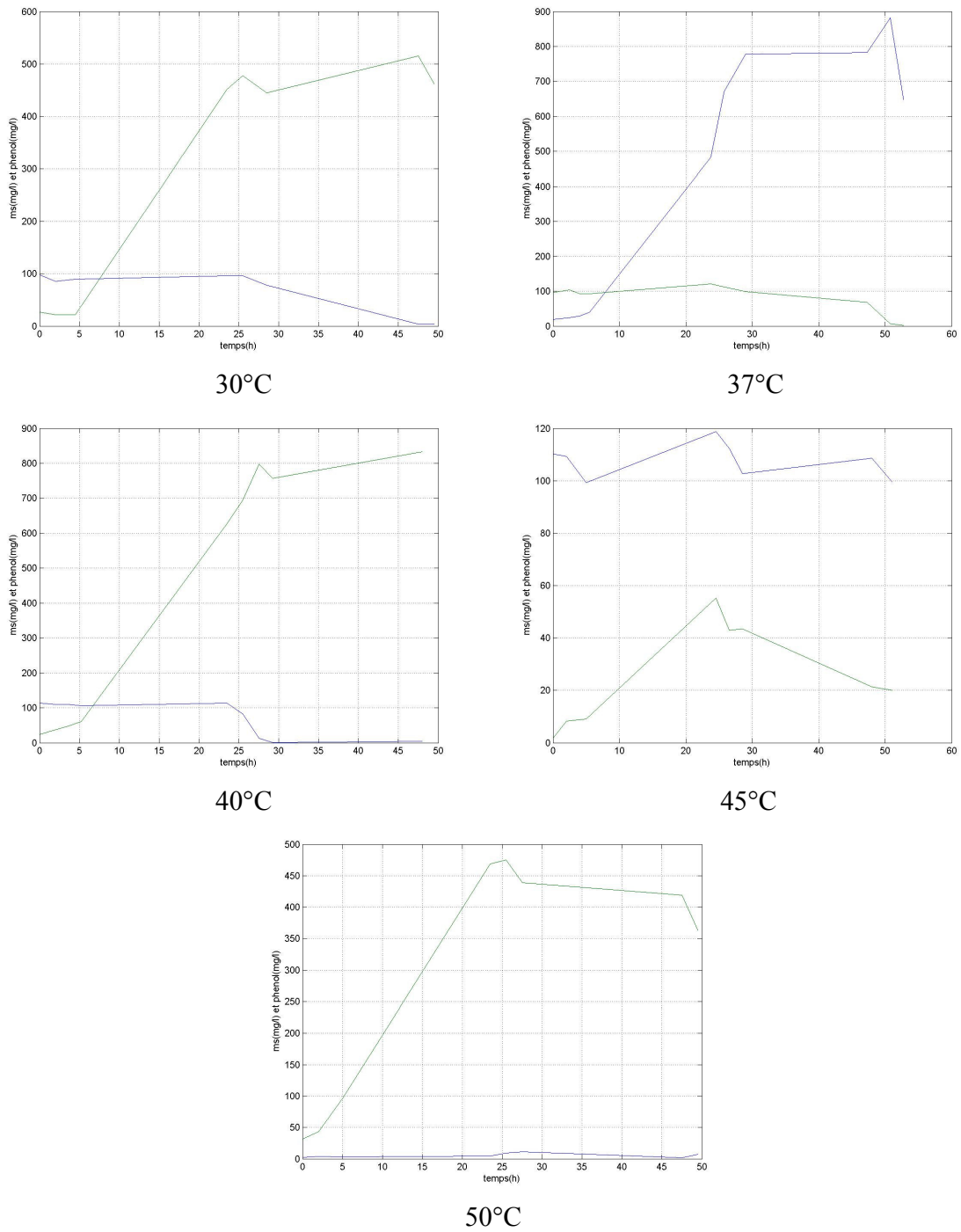


Figure III-5 : Influence de la variation de la température sur la cinétique bactérienne et la biodégradation du phénol.

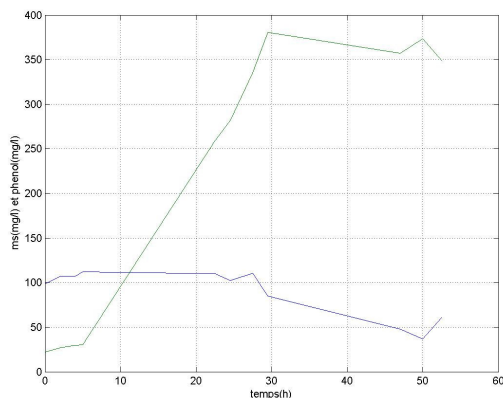
**III-2-5-Influence de la concentration du phénol**

Dans ce cas, c'est la concentration du phénol qui varie, les autres paramètres sont fixes comme le montre le tableau III-4.

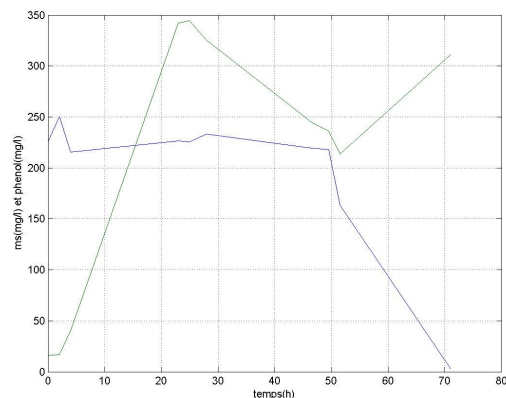
Composition du milieu	Concentration initiale du phénol	Concentration (mg/l)	Les conditions opératoires
Milieu complet « M5 »	+100 mg/l	0	+ 1% de pré culture (Ps) Agitation=70 tour/min Aération=0,210 l/min Température (°C)=30
		100	
		200	
		300	
		400	
		500	
		600	
		800	

**Tableau III-4** : Conditions opératoires en cas de variation de concentration.

Les courbes de l'évolution de la cinétique bactérienne et de la biodégradation du phénol pour chaque cas de variation de concentration du phénol sont représentées sur les figures III-6.



0 (mg/l)



100 (mg/l)

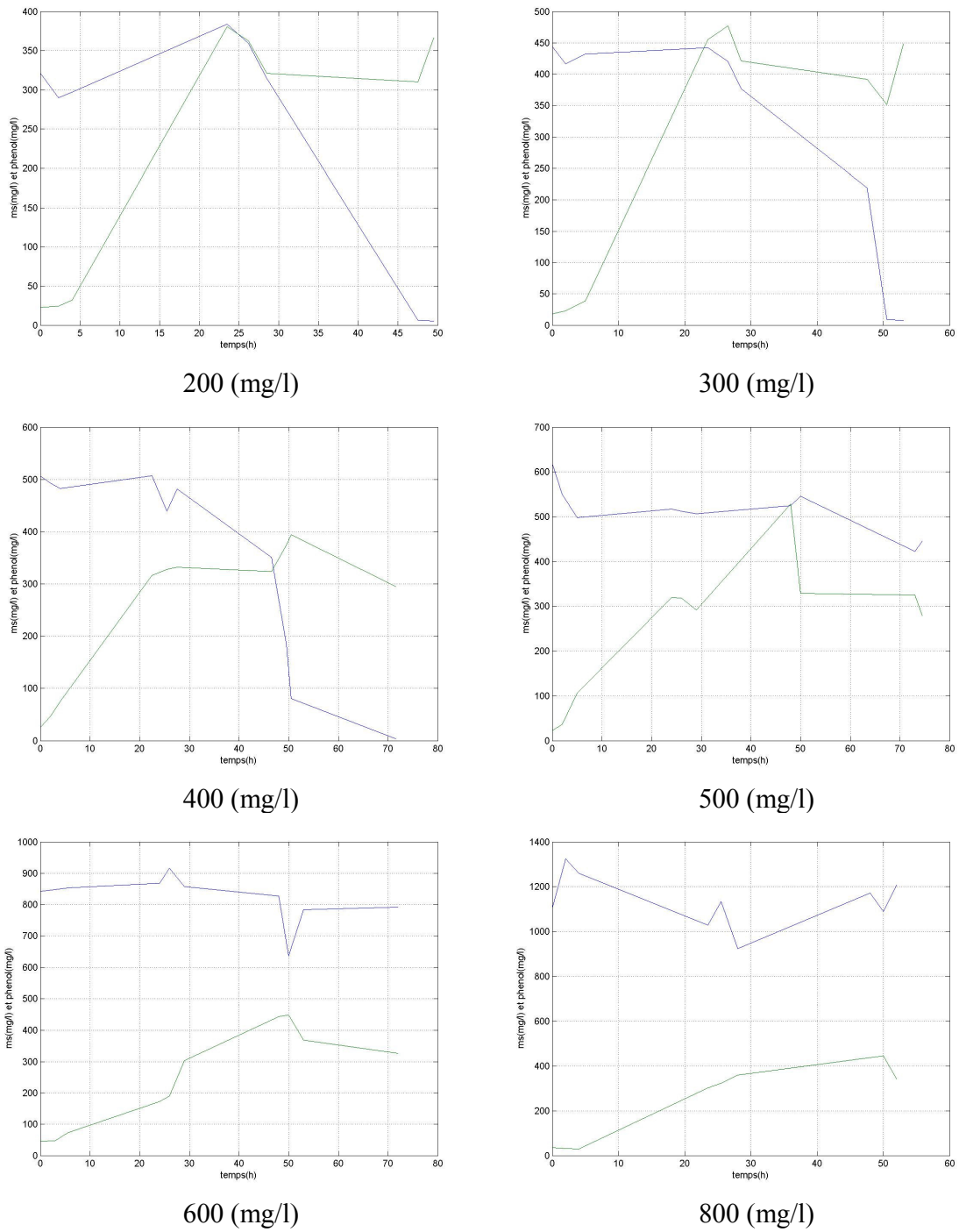


Figure III-6 : Influence de la variation de la concentration sur la cinétique bactérienne et la biodégradation du phénol.

**III-2-2-Conclusion**

Les conditions optimales de la biodégradation du phénol sont :

Concernant le milieu, le choix s'est porté sur le milieu complet car il offrait une dégradation de 70% du phénol au bout de 25heures cependant le milieu minéral a donné un rendement de 96%du phénol au bout de 72heures.

La température optimale pour la croissance de la bactérie est de 37°C avec un rendement d'élimination du phénol de 96,60% au bout de 48 heures cependant le rendement d'élimination du phénol est maximal 99,95% à la température de 45°C (T° optimum de dégradation) au bout de 30 heures.

L'augmentation de la température entre 37°C et 45°C n'a pas un effet significatif sur le rendement d'élimination du phénol lui-même, mais a un effet sur la diminution de la durée de la dégradation totale du phénol.

L'aération optimale est de 0,42 l d'O<sub>2</sub> /min avec un rendement d'élimination de 99% au bout de 48 heures, et l'amélioration de l'aération au-delà de ce taux n'améliore pas significativement le rendement d'élimination du phénol.

En ce qui concerne les concentrations initiales en phénol, nous avons pu constater une inhibition par excès de substrat qui est de (500 mg/l) dans nos conditions opératoires.

# Chapitre IV

## Modélisation mathématique et simulation en boucle ouverte

*Nous voilà dans la partie la plus importante de notre travail où après l'interprétation des expériences nous allons essayer de trouver un modèle qui en le simulant va nous donner des résultats très proches de la réalité.*

Avant d'entamer la modélisation les spécialistes ont attiré notre attention sur le fait que les systèmes biologique ont une très grande contrainte a savoir ils sont jamais reproducteur car chaque cellule est unique.

Donc notre travaille va être le premier d'une longue série de travaux menés conjointement entre nos deux départements.

### IV-1-Modélisation

L'établissement du modèle mathématique d'un processus biotechnologique comprend deux phases bien distinctes [DUV-88], [QUE-90], [SCR-00] :

- La première concerne la détermination des diverses vitesses de réaction qui rendent compte de la façon dont la biomasse se développe, le substrat se dégrade et le produit se fabrique.
- La deuxième étape permet de déterminer les équations d'état du système à partir des équations établissant le bilan de matière relatif à la biomasse, au substrat et au produit.

Dans notre étude les variables d'état considérées sont les concentrations de biomasse X, de substrat S et le volume V.

#### IV-1-1-Modélisation des cinétiques de réaction

##### IV-1-1-a-Vitesses de réaction

La vitesse de croissance de la masse cellulaire est proportionnelle à la concentration en microorganisme X à chaque instant, ce que l'on peut expliciter par la formule suivante [QUE-90], [DUV-88] :

$$r_x = \mu \cdot X \text{ (g l}^{-1} \text{ h}^{-1}\text{)} \quad \text{IV-1}$$

En prenant en compte le phénomène de mortalité des microorganismes l'équation IV-1 devient :

$$r_x = (\mu - B) \cdot X \text{ (g l}^{-1} \text{ h}^{-1}\text{)} \quad \text{IV-2}$$

Avec :

- $\mu$  : Taux de croissance des microorganismes.
- $B$  : Taux de mortalité des microorganismes.

De la même manière on définit  $v_s$  le taux de dégradation (le substrat consommé est utilisé pour le maintien de la biomasse dans un état viable). Ces deux paramètres représentent les vitesses spécifiques de la réaction relatives à la biomasse. On peut définir la vitesse de dégradation du substrat  $r_s$  par l'équation suivante :

$$r_s = v_s \cdot X \quad \text{IV-3}$$

**Remarque :** Dans le cas général d'une fermentation on définit  $v_p$  le taux de production (production et croissance sont fortement corrélées). La vitesse de production est définie par l'équation suivante :

$$r_p = v_p \cdot X \quad \text{IV-4}$$

### IV-1-2-Vitesses spécifiques

#### IV-1-2-a-Taux de croissance de la biomasse

La croissance microbienne dépend d'un grand nombre de facteurs physiques et chimiques (température, pH, aération...). Dans notre étude, le modèle du taux de croissance est en fonction des paramètres suivants : substrat, température, aération et concentration initiale du phénol. Ainsi le modèle de croissance de la biomasse est défini par l'équation suivante :

$$\mu = \mu(S) \cdot \mu(T) \cdot \mu(\text{pH}) \cdot \mu(\text{O}_2) \quad \text{IV-5}$$

Avec :

$$\mu(S) = \mu_0 \frac{S}{\left(K_s + S + \frac{S^2}{K_i}\right)} \quad \text{IV-6}$$

$$\mu (T) = \exp(-r_1 \cdot (T - T_{\text{opt}})^2) \quad \text{IV-7}$$

$$\mu (O_2) = \exp(-r_2 \cdot (O_2 - O_{2\text{opt}})^2) \quad \text{IV-8}$$

$$\mu (C) = \exp(-r_3 \cdot (\text{pH} - \text{pH}_{\text{opt}})^2) \quad \text{IV-9}$$

### Détermination des différents paramètres :

$$\mu_0 = \mu_{\text{max}} \left( 1 + 2 \sqrt{\frac{K_s}{K_i}} \right) \quad \text{IV-10}$$

Avec :

$\mu_{\text{max}}$  : taux de croissance maximal ( $\text{h}^{-1}$ ).

$K_s$  : constante de saturation ( $\text{mg/l}$ ).

$K_i$  : constante d'inhibition ( $\text{mg/l}$ ).

Pour la détermination des constantes des constantes cinétiques ( $K_s$ ,  $\mu_{\text{max}}$  et  $K_i$ ) nous avons eu recours à la forme linéarisée des deux équations suivantes dites respectivement de Monod et d'Haldane :

$$\mu (S) = \mu_{\text{max}} \frac{S}{K_s + S} \quad \text{IV-11}$$

$$\mu (S) = \mu_0 \frac{S}{\left( K_s + S + \frac{S^2}{K_i} \right)} \quad \text{IV-12}$$

Les formes linéarisées des ces deux équations sont respectivement :

$$\frac{1}{\mu} = \frac{k_s}{\mu_{\text{max}}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{\text{max}}} \quad \text{IV-13}$$

$$\frac{1}{\mu} = \frac{k_s}{\mu_{\text{max}} \cdot S} + \frac{1}{\mu_{\text{max}}} + \frac{S}{k_i \cdot \mu_{\text{max}}} \quad \text{IV-14}$$

$\frac{k_s}{\mu_{\text{max}} \cdot S}$  Cette fraction tend vers zéro quand  $S \gg k_s$ .



La représentation de l'inverse de la vitesse d'élimination du substrat  $1/\mu$  en fonction de l'inverse de la concentration du substrat  $1/S$  permet la détermination de  $\mu_{\max}$  et  $k_s$  à partir de la pente et de l'ordonnée à l'origine de la droite (forme linéarisée de l'équation de Monod).

La représentation de  $1/\mu$  en fonction de  $S$  pour le cas du modèle de Haldane permet de déterminer la constante d'inhibition  $k_i$  qui est à l'origine de la droite.

#### IV-1-2-b-Taux de mortalité de la biomasse

La mortalité des microorganismes dépend aussi de plusieurs facteurs physiques et chimiques (température, pH, substrat...) mais la prise en compte de toutes ces variables, dites d'environnement compliquerait le modèle. Pour cela on va considérer que le taux de mortalité dépend uniquement du substrat à consommer selon l'équation suivante :

$$B = \frac{b}{S} \quad \text{IV-15}$$

#### IV-1-2-c-Taux de dégradation du substrat

Le taux de dégradation est relatif à la quantité de substrat consommé pour le maintien de la biomasse dans un état viable. On exprime alors le taux de dégradation par :

$$v_s = \frac{\mu}{D_x} + m \quad \text{IV-16}$$

Avec :

$D_x$ : Rendement de conversion du substrat en biomasse.

$m$ : Coefficient de maintenance, n'est généralement pas pris en considération dans les modèles, pouvant être négligé devant le premier terme de l'expression de  $v_s$ .

#### IV-1-3-Modélisation des procédés

Quel que soit le mode de fonctionnement des bioréacteurs, la modélisation est faite à partir des équations établissant le bilan de matière relatif à la biomasse et au substrat ; en écrivant que la

variation des quantités correspondantes pendant  $dt$  est égale à la somme de ce qui est apporté et créé, diminuée de ce qui est dégradé et soutiré.

#### IV-1-3-a-Conservation de la matière

D'après la loi fondamentale de Lavoisier sur la conservation de la matière rien ne se crée et rien ne se perd, mais tout se transforme. Ainsi la masse exprimée en gramme se conserve en dépit des transformations [SCR-00], [SIM-70], [LIE-98].

La variation de la quantité de masse dans le bioréacteur est résumé comme suit :

$$\frac{dM}{dt} = M_e - M_s + R_g - R_c \quad \text{IV-17}$$

Avec :

M : quantité de matière relative à la biomasse et au substrat (g).

- Relatif à la biomasse :

$$M = V \cdot X \quad \text{IV-18}$$

- Relatif au substrat :

$$M = V \cdot S \quad \text{IV-19}$$

$M_e$  (g) : quantité de matière entrante 'alimentation'.

$M_s$  (g) : quantité de matière sortante 'soutirage'.

$R_g$  (g) : quantité de matière produite au cours de la réaction.

$R_c$  (g) : quantité de matière consommée au cours de la réaction.

#### IV-1-3-b-Modèle de croissance de la biomasse

$$\frac{d[V \cdot X]}{dt} = \text{quantité de biomasse produite} - \text{quantité de biomasse décédée} - \text{quantité de}$$

biomasse soutirée

Ainsi :

$$\frac{d[V \cdot X]}{dt} = \mu \cdot V \cdot X - B \cdot X \cdot V - Q_s \cdot X \quad \text{IV-20}$$

⇒

$$X \cdot \frac{dV}{dt} + V \cdot \frac{dX}{dt} = \mu \cdot V \cdot X - B \cdot X \cdot V - Q_s \cdot X. \quad \text{IV-21}$$

⇒

$$\frac{dX}{dt} = -\frac{X}{V} \cdot \frac{dV}{dt} + \mu \cdot X - B \cdot X - \frac{Q_s}{V} \cdot X. \quad \text{IV-22}$$

Avec :

$Q_s$  : débit de soutirage ( $\text{h}^{-1}$ ).

$V$  : volume du mélange (biomasse+substrat) dans le bioréacteur (l).

$X$  : concentration de la biomasse (g/l).

$B$  : Taux de mortalité ( $\text{h}^{-1}$ ).

$\mu$  : Taux de croissance ( $\text{h}^{-1}$ ).

#### IV-1-3-c-Modèle de consommation du substrat

$$\frac{d[V.S]}{dt} = -\text{Quantité de substrat consommée} - \text{quantité de substrat} + \text{quantité ajoutée au substrat}$$

(alimentation).

On suppose que la quantité de substrat consommée est proportionnelle à la quantité de biomasse créée [DUV-88], [SCR-00].

Soit  $y$  le rendement de conversion :

$$D = \left| \frac{dX}{dS} \right| = \left| \frac{\mu \cdot X \cdot V - B \cdot X \cdot V}{dS} \right| \quad \text{IV-23}$$

⇒

$$dS = -\frac{\mu \cdot X \cdot V - B \cdot X \cdot V}{D}. \quad \text{IV-24}$$

Donc :

$$\frac{d[V.S]}{dt} = -\frac{\mu}{D} \cdot X \cdot V + \frac{B}{D} \cdot X \cdot V - Q_s \cdot S + Q_e \cdot S_{in}. \quad \text{IV-25}$$

⇒

$$S \cdot \frac{dV}{dt} + V \cdot \frac{dS}{dt} = -\frac{\mu}{D} \cdot V \cdot X + \frac{B}{D} \cdot V \cdot X - Q_s \cdot S + Q_e \cdot S_{in}. \quad \text{IV-26}$$

⇒

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu}{D} \cdot X + \frac{B}{D} \cdot X + \frac{Q_e}{V} \cdot S_{in} - \frac{Q_s}{V} \cdot S - \frac{S}{V} \cdot \frac{dV}{dt}. \quad \text{IV-27}$$

Avec :

$Q_e$  : débit d'alimentation en substrat ( $h^{-1}$ ).

$Q_s$  : débit de soutirage ( $h^{-1}$ ).

$V$  : volume du mélange (biomasse+substrat) dans le bioréacteur (l).

$X$  : concentration de la biomasse (g/l).

$S$  : concentration du substrat (g/l).

$B$  : Taux de mortalité ( $h^{-1}$ ).

$\mu$  : Taux de croissance ( $h^{-1}$ ).

$S_{in}$  : concentration de substrat ajoutée au bioréacteur (g/l).

$D$  : rendement de transformation (substrat  $\longrightarrow$  biomasse).

#### IV-1-3-d-Volume

$$\frac{dV}{dt} = \text{Débit d'alimentation en substrat} - \text{débit de soutirage.}$$

$$\frac{dV}{dt} = Q_e - Q_s. \quad \text{IV-28}$$

Pour un fermenteur de volume variable  $V$ , et en prenant en compte que les concentrations de la biomasse et du substrat, le modèle d'état est le suivant :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dX}{dt} = -\frac{X}{V} \cdot \frac{dV}{dt} + \mu \cdot X - B \cdot X - \frac{Q_s}{V} \cdot X. \\ \frac{dS}{dt} = -\frac{\mu}{D} \cdot X + \frac{B}{D} \cdot X + \frac{Q_e}{V} \cdot S_{in} - \frac{Q_s}{V} \cdot S - \frac{S}{V} \cdot \frac{dV}{dt}. \\ \frac{dV}{dt} = Q_e - Q_s. \end{array} \right. \quad \text{IV-29}$$

$$\Leftrightarrow \begin{cases} \frac{dX}{dt} = \mu.X - B.X - \frac{Q_s}{V}.X - \frac{X}{V}.(Q_e - Q_s). \\ \frac{dS}{dt} = -\frac{\mu}{D}.X + \frac{B}{D}.X + \frac{Q_e}{V}.S_{in} - \frac{Q_s}{V}.S - \frac{S}{V}.(Q_e - Q_s). \\ \frac{dV}{dt} = Q_e - Q_s. \end{cases} \quad \text{IV-30}$$

Dans notre cas la concentration du substrat est considérée comme la sortie du système d'état à étudier.

#### IV-1-3-e-Procédé discontinu type batch

Dans ce type de procédé ; les débits d'entrée et de sortie sont nuls, le volume dans le bioréacteur reste constant, donc :

$$\frac{dV}{dt} = 0.$$

Le modèle (IV-25) devient :

$$\Leftrightarrow \begin{cases} \frac{dX}{dt} = \mu.X - B.X . \\ \frac{dS}{dt} = -\frac{\mu}{D}.X + \frac{B}{D}.X . \\ \frac{dV}{dt} = 0. \\ Y = S. \end{cases} \quad \text{IV-31}$$

#### IV-1-3-f-Procédé continu

La première étape consiste àensemencer le bioréacteur renfermant un volume du milieu qui reste constant [DUV-89], [SCR-00], [SIM-70]. Une fois que la phase de croissance exponentielle est obtenue,

$$\dot{x} = f(x) + g(x).u$$

On peut alors maintenir un état d'équilibre dans la cuve de fermentation alimentée et soutirée en continu ( $Q_e = Q_s = Q$ ). Il sera décrit par les équations (IV-27), qui sont obtenues par considération sur le bilan de masse et en supposant que la croissance de la biomasse est dans la phase exponentielle.

$$\Leftrightarrow \begin{cases} \frac{dX}{dt} = \mu \cdot X - B \cdot X - \frac{Q}{V} \cdot X. \\ \frac{dS}{dt} = -\frac{\mu}{D} \cdot X + \frac{B}{D} \cdot X + \frac{Q}{V} \cdot S_{in} - \frac{Q}{V} \cdot S. \\ \frac{dV}{dt} = 0. \\ y = S. \end{cases} \quad \text{IV-32}$$

Dans ce type de fonctionnement, les cellules sont approvisionnées en substrat de façon continue, tout en soutirant en continu un volume égal du mélange biomasse milieu liquide, de façon à maintenir le volume dans le bioréacteur constant. La croissance de la biomasse, sera de ce fait, toujours dans sa phase exponentielle [BOU-02], [DAN-89], [DUV-88], [SCR-00].

**Remarque :** ce système d'équations est non linéaire sur l'état, linéaire sur la commande. Il s'exprime sous la forme :

$$\dot{x} = f(x) + g(x) \cdot u$$

Avec :

x: vecteur d'état.

u: commande du système.

f et g : fonctions non linéaire de l'état.

#### IV-1-3-g-Procédé discontinu type fed-batch

La différence entre le mode continu et le mode fed-batch et qu'il n'y a pas de soutirage dans le deuxième cas ( $Q_s=0$ ), le volume est donc variable. Ce type de fonctionnement est similaire à celui de type batch, à la différence qu'une alimentation en substrat est présente. Ce qui rend le volume variable en fonction du débit d'alimentation [BOU-02], [DAN-89], [DUV-88], [SCR-00], [ADM-03].

Le modèle obtenu donc pour ce type de procédé est le suivant :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dX}{dt} = \mu \cdot X - B \cdot X - \frac{Q}{V} \cdot X. \\ \frac{dS}{dt} = -\frac{\mu}{D} \cdot X + \frac{B}{D} \cdot X + \frac{Q}{V} \cdot S_{in} - \frac{Q}{V} \cdot S. \\ \frac{dV}{dt} = Q. \\ y = S. \end{array} \right. \quad \text{IV-33}$$

Ainsi, nous aboutissons aux équations unifiées qui peuvent être appliquées aux trois modes déjà étudiés :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dX}{dt} = \mu \cdot X - B \cdot X - \frac{Q_s}{V} \cdot X - \frac{X}{V} \cdot (Q_e - Q_s). \\ \frac{dS}{dt} = -\frac{\mu}{D} \cdot X + \frac{B}{D} \cdot X + \frac{Q_e}{V} \cdot S_{in} - \frac{Q_s}{V} \cdot S - \frac{S}{V} \cdot (Q_e - Q_s). \\ \frac{dV}{dt} = Q_e - Q_s. \\ y = S. \end{array} \right. \quad \text{IV-34}$$

Où :

$Q_s$  : le débit sortant du bioréacteur « soutirage ».

$Q_e$  : le débit entrant « alimentation ».

- Si  $Q_e = Q_s = 0$  on se place dans le mode batch.
- Si  $Q_e = Q_s = Q$ , on se place dans le mode continu.
- Si  $Q_s = 0$  « sans soutirage », on se place dans le mode fed-batch.

On notera par la suite, le taux de dilution qui est égal à  $\frac{Q}{V}$  par  $u$  :

$$u = \frac{Q}{V} \quad \text{IV-35}$$

## IV-2-Simulations

Avant de commencer les simulations on a choisi de passer par l'étude du système.

La commande en boucle ouverte d'un système consiste à introduire à l'entrée un signal  $u(t)$  constant. Le signal  $s(t)$  obtenu, nous renseigne sur le fonctionnement du système [KAI-80], [MAR-87]. Figure IV-1.

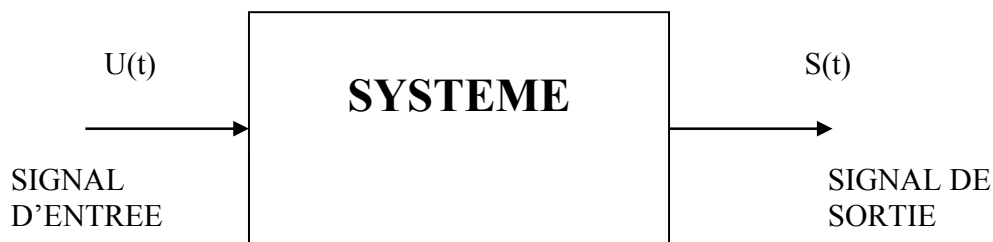


Figure IV-1 : principe d'un système en boucle ouverte

### IV-2-1-Commandabilité et observabilité

Considérons le système non linéaire défini dans un domaine  $U$  :

$$\dot{x} = f(x) + g(x)u$$

Ce système est commandable si, «étant donné un état initial  $x_0$ , quels que soient deux points  $x_1$  et  $x_2$  de  $U$ , il existe une entrée  $u$  admissible telle que le système passe de l'état  $x_1$  à l'état  $x_2$  en un temps fini  $T$ .

La commandabilité de ce système peut être étudiée en procédant à une linéarisation de celui-ci et en étudiant la matrice de commandabilité.

Toutefois, cette démarche n'est pas toujours concluante car un système non linéaire peut être commandable alors que son approximation linéaire ne l'est pas. Il est donc nécessaire d'introduire d'autres notions plus complexes.

L'observabilité est définie par l'existence d'une commande  $u$  définie sur  $[0, T]$  telle que pour deux conditions initiales différentes, on aboutit à deux sorties également différentes sur  $[0, T]$ .



**IV-2-2-Etude de la stabilité et simulation**

On va la détailler pour chaque type bioréacteur avant de faire ces simulations

**IV-2-2-a-Etude du système de type continu**

Considérons le modèle dynamique d'un bioréacteur de type continu décrit par les équations d'état suivantes :

$$\Leftrightarrow \begin{cases} \frac{dX}{dt} = \mu \cdot X - B \cdot X - u \cdot X. \\ \frac{dS}{dt} = -\frac{\mu}{D} \cdot X + \frac{B}{D} \cdot X + u \cdot (S_m - S). \\ \frac{dV}{dt} = 0. \\ y = S. \end{cases} \quad \text{IV-36}$$

Notre système d'équations est un système non linéaire de la forme :

$$\begin{cases} \dot{x} = f(x) + g(x) \cdot u. \\ y = h(x). \end{cases} \quad \text{IV-37}$$

On considère les variables d'état comme étant, la concentration en biomasse (X), la concentration en substrat (S).

Et comme sortie du système, la concentration en substrat (S).

La commande appliquée au système est représentée par le taux de dilution u.

La simulation de notre système en boucle ouverte est effectuée en appliquant différentes valeurs de la commandes u, afin d'étudier le comportement du système.

**IV-2-2-a1- Stabilité du système en boucle ouverte**

Selon les ingénieurs du procédé, il est souvent avantageux de faire fonctionner les bioréacteurs

près des conditions d'équilibre correspondant à  $\frac{dX}{dt} = \frac{dS}{dt} = 0$ . Il faut donc rechercher ces

conditions d'équilibre en trouvant les valeurs  $X_e$  et  $S_e$  qui sont telles que les 2 équations de bilans (IV-36) sont égales à zéro [COU-01], [NAJ1-87], [PHA-99].

Pour l'étude de la stabilité, nous allons considérer le taux de mortalité  $B$  égal à une constante.

#### Détermination des points d'équilibre

D'après le système (IV-36), on peut reformuler sous la forme suivante :

$$\begin{cases} \dot{X} = (\mu - B - u).X \\ \dot{S} = -(\mu + B). \frac{X}{D} + u.(S_{in} - S) \end{cases} \quad \text{IV-38}$$

Pour déterminer le point d'équilibre, il suffit de poser :

$$\dot{X} = 0 \quad \text{et} \quad \dot{S} = 0 \quad \text{IV-39}$$

D'après (IV-38) l'équilibre est atteint quand le taux de dilution est égal à la valeur  $(\mu - B)$

Si à partir de cet état d'équilibre, on augmente le débit, le volume restant constant, on aura donc une augmentation du taux de dilution, on a alors  $u > \mu - B$ . En conséquence, la concentration cellulaire dans la cuve tend à diminuer, ce qui entraîne une augmentation de la concentration en substrat, mais si  $S$  augmente, cela entraîne l'augmentation de  $\mu$ . Le système va donc se stabiliser dans un nouvel état d'équilibre où  $u = \mu - B$  caractérisé par de nouvelles concentrations en biomasse et en substrat.

Si au contraire, toujours à partir de l'état d'équilibre, le taux de dilution diminue du fait d'une diminution du débit, alors  $u < (\mu - B)$ , la concentration cellulaire augmente ce qui provoque la diminution de la concentration en substrat et on aboutit à un nouvel état d'équilibre où  $u = \mu - B$ . En conclusion, on voit que dans la fermentation continue, on a pour chaque valeur de  $u$  une position d'équilibre stable correspondant à  $u = \mu - B$ . On cherchera donc à ajuster  $u$  de manière à avoir  $u = \mu_{opt} - B$ . Ces positions d'équilibre ne peuvent exister que si  $u < \mu_{max} - B$ . Si  $u > \mu_{max} - B$  le seul point d'équilibre possible est  $S = S_{in}$  et  $X = 0$ , cela correspond à une quantité totale de biomasse nulle puisque  $V$  est constant [SCR-00].

On peut étudier la stabilité du système en boucle ouverte, par la méthode de 'Isodori' [FOS-94]. Elle consiste à transformer le système à sa forme normale puis étudier sa stabilité à

travers la stabilité de dynamique des zéros. Pour cette dernière la méthode de linéarisation est suggérée (car il suffit d'assurer la Stabilité).

Le modèle d'état peut être transformé en une autre forme plus adéquate pour l'étude de la stabilité du système, soit la forme normale [FOS-94]. Cette forme est obtenue en faisant un changement de variable  $X=Z=\Phi(\eta, \varepsilon)$ .

La linéarisation des systèmes est basées sur des notions de géométrie différentielle et de dynamique des zéros pour l'étude de la stabilité ; ces notions sont détaillées dans l'annexe 1.

Le degré relatif du système  $r=1$  et par conséquent on définit la transformation  $Z= \Phi(x)$  comme suit :

$$\begin{cases} Z_1 = h(x) = x_2 \\ Z_2 = \lambda_1(x) \end{cases} \quad \text{IV-40}$$

$$\text{Telles que : } L_g \lambda_1(x) = 0 \quad \text{IV-41}$$

$$\text{Et que } \Phi \text{ doit être un diffeomorphisme c'est-à-dire } \left| \frac{\partial \Phi}{\partial x} \right| \neq 0 \quad \text{IV-42}$$

Pour cela on prend :

$$\lambda_1(x) = \frac{x_1}{S_{in} - x_2}. \text{ il vient que } \left| \frac{\partial \Phi}{\partial x} \right| \neq 0 \quad \text{IV-43}$$

Alors  $\Phi$  est un diffeomorphisme avec :

$$\begin{cases} Z_1 = x_2 = \eta_1 \\ Z_2 = \frac{x_1}{S_{in} - x_2} = \varepsilon_1 \Rightarrow x_1 = \varepsilon_1 \cdot (S_{in} - Z_1) \end{cases} \quad \text{IV-44}$$

$$\varphi = L_f \lambda_1(x) = \frac{\partial \lambda_1}{\partial x_1} \cdot f_1 + \frac{\partial \lambda_1}{\partial x_2} \cdot f_2. \quad \text{IV-45}$$

$\Rightarrow$

$$\varphi = \frac{1}{S_{in} - x_2} \cdot (\mu - B) \cdot x_1 - \frac{x_1}{(S_{in} - x_2)^2} \cdot (\mu + B) \cdot \frac{x_1}{D} \quad \text{IV-46}$$

Avec :

$$\mu = \mu_0 \cdot \frac{S}{k_s + S + \frac{S^2}{k_i}} \quad \text{et} \quad B = cste. \quad \text{IV-47}$$

Donc :

$$\varphi = \frac{1}{S_{in} - x_2} \cdot \left( \mu_0 \cdot \frac{x_2}{k_s + x_2 + \frac{x_2^2}{k_i}} - B \right) \cdot x_1 - \frac{x_1}{(S_{in} - x_2)^2} \cdot \left( \mu_0 \cdot \frac{x_2}{k_s + x_2 + \frac{x_2^2}{k_i}} + B \right) \cdot \frac{x_1}{D} \quad \text{IV-48}$$

La forme normale est la suivante : IV-49

$$\begin{cases} \dot{\eta} = A \cdot \eta + B \cdot v \\ y = C \cdot \eta \\ \dot{\varepsilon} = \frac{1}{S_{in} - \eta_1} \cdot \left( \mu_0 \cdot \frac{\eta_1}{k_s + \eta_1 + \frac{\eta_1^2}{k_i}} - B \right) \cdot \varepsilon_1 \cdot (S_{in} - \eta_1) - \frac{\varepsilon_1 \cdot (S_{in} - \eta_1)}{(S_{in} - \eta_1)^2} \cdot \left( \mu_0 \cdot \frac{\eta_1}{k_s + \eta_1 + \frac{\eta_1^2}{k_i}} + B \right) \cdot \frac{\varepsilon_1 \cdot (S_{in} - \eta_1)}{D} \end{cases}$$

Par la méthode de linéarisation [FOS-94], [FOS-95], l'étude de stabilité d'un système non linéaire se ramène à l'étude de la stabilité de sa partie linéaire autour de son point d'équilibre (Stabilité).

Pour étudier la stabilité du système non linéaire il faut étudier la dynamique des zéros.

La dynamique des zéros  $\dot{\varepsilon} = \psi(\varepsilon)$  est obtenue en posant  $\eta = 0$  [FOS-94] et donc :  $\dot{\varepsilon} = \psi(\varepsilon) = \psi(0, \varepsilon)$ .

Donc d'après l'équation IV-49 et en prenant  $\eta_1 = 0$  on aura :

$$\dot{\varepsilon} = -B \cdot \varepsilon_1 - \frac{B}{D} \cdot \varepsilon_1^2 \quad \text{IV-50}$$

En utilisant la méthode de Lyapunov indirecte le système est L stable.

#### IV-2-2-a2-Simulation en boucle ouverte

\*\*\* Condition initiale :

$$\mu_0 = 0.254 \text{ h}^{-1}$$

$$k_s = 40.59 \text{ g/l}$$

$$k_i = 491.56 \text{ g/l}$$

$$S_0 = 2 \text{ g/l}$$

$$X_0 = 10 \text{ g/l}$$

$$V_0 = 1.5 \text{ l}$$

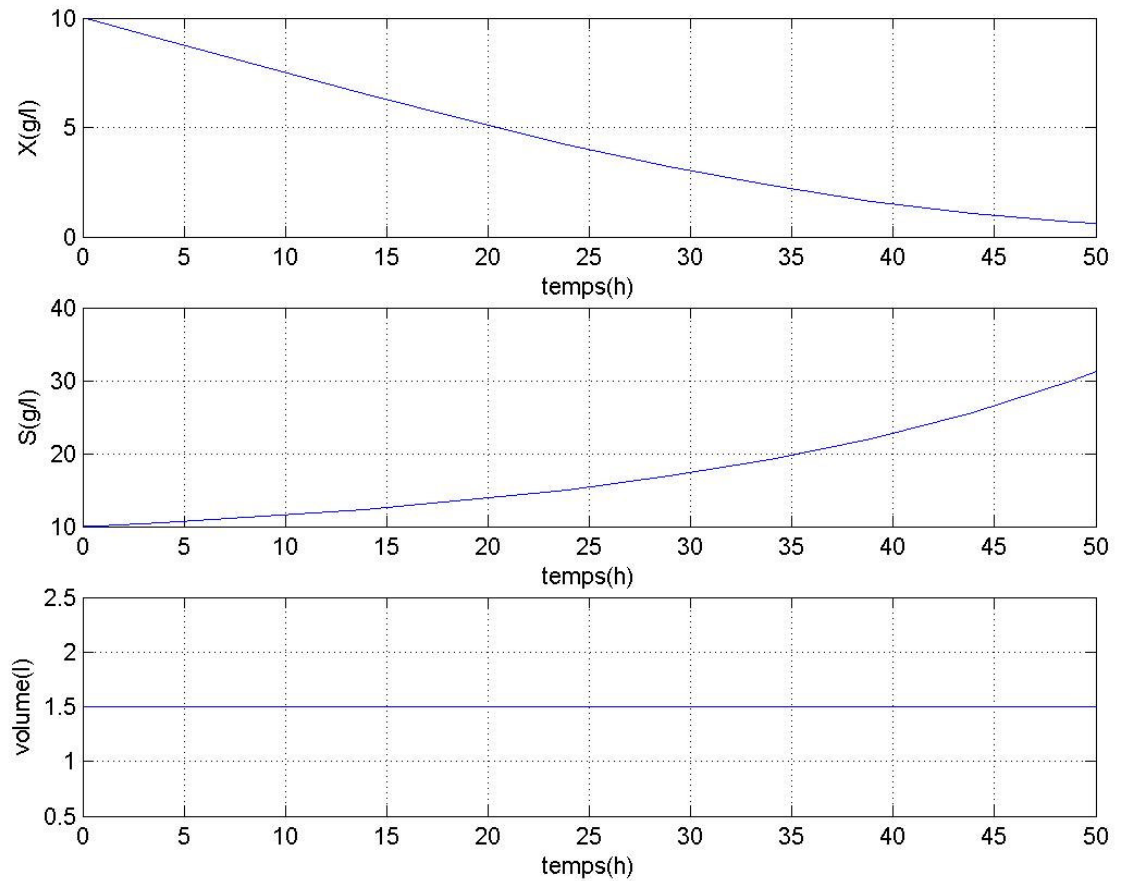
**Simulation pour  $u = 5 \text{ h}^{-1}$** 

Figure IV-2 : Evolution des variables d'état pour  $u = 5 \text{ h}^{-1}$   
(continu)

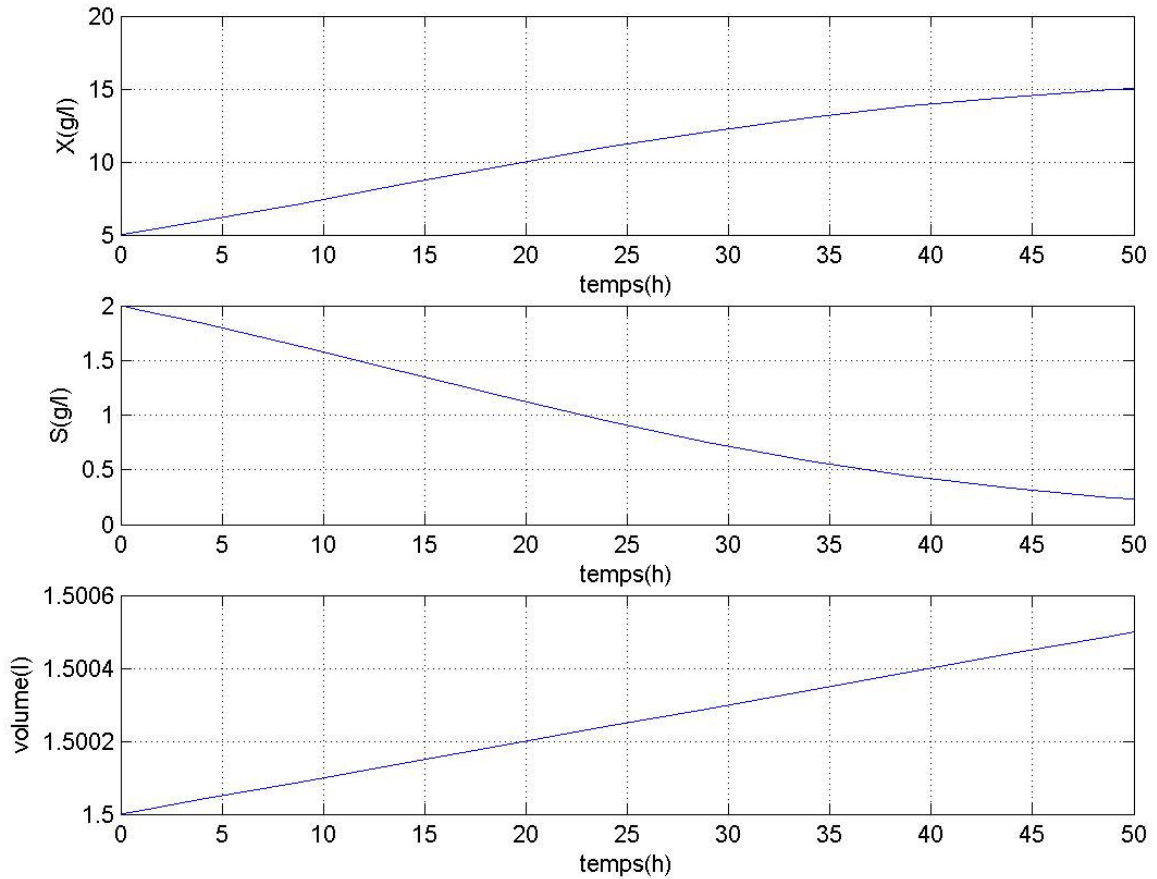
**Simulation pour  $u = 0.01 \text{ h}^{-1}$** 

Figure IV-3 : Evolution des variables d'état pour  $u = 0.01 \text{ h}^{-1}$   
(continu)

**IV-2-2-a3-Interprétation des résultats**

Dans la première partie de simulation nous avons appliqué un taux de dilution ( $u$ ) constant et supérieur à la valeur de  $\mu_0$ . On remarque que la concentration de la biomasse diminue et tend vers son point d'équilibre qui est  $X_0 = 0 \text{ g/l}$ . Figure (IV-2-1)

Celle-ci est due au taux de dilution qui est supérieur à la valeur de  $\mu_0$ , l'emportant largement sur l'accroissement de la biomasse.

La concentration du substrat quant à elle, converge vers son point d'équilibre  $S_0=30\text{g/l}$ . cela est dû à l'absence de micro-organisme causé par l'effet de dilution qui a engendré une consommation nulle du substrat. Figure (IV-2-2)

Lorsque  $u_0$  est supérieure à  $\mu$ , le système converge vers son point d'équilibre  $(x_0, s_0)$ , on dit qu'il est asymptotiquement stable.

Dans la deuxième partie de simulation, nous avons pris une valeur de  $u$  inférieure à la valeur de  $\mu_0$ . Comme nous le montre les résultats, on remarque que la concentration de la biomasse augmente. Figure (IV-3-1).

Cependant, la concentration du substrat décroît jusqu'à atteindre une valeur nulle. Figure (IV-3-2).

Le volume reste toujours constant quelque soit la valeur de  $u$  puisqu'on est dans le cas continu.

En résumé, si  $u$  est un inférieur à la valeur de  $\mu_0$ , le système a tendance à produire de la biomasse ; mais si c'est le contraire, le système a tendance à détruire de la biomasse ( $X \longrightarrow 0$ ).

#### IV-2-2-b-Etude du système de type fed-batch

Considérons le modèle dynamique d'un bioréacteur de type fed batch décrit par les équations d'état suivantes :

$$\Leftrightarrow \begin{cases} \frac{dX}{dt} = \mu \cdot X - B \cdot X - u \cdot X. \\ \frac{dS}{dt} = -\frac{\mu}{D} \cdot X - \frac{B}{D} \cdot X + u \cdot (S_{in} - S). \\ \frac{dV}{dt} = u \cdot V. \\ y = S. \end{cases} \quad \text{IV-51}$$

Notre système d'équations est un système non linéaire de la forme :

$$\begin{cases} \dot{x} = f(x) + g(x)u . \\ y = h(x). \end{cases} \quad \text{IV-52}$$

On considère les variables d'état comme étant, la concentration en biomasse (X), la concentration en substrat (S) et le volume du bioréacteur (V).

Et comme sortie du système, la concentration en substrat (S).

#### IV-2-2-b1- Stabilité du système en boucle ouverte

Selon les ingénieurs du procédé, il est souvent avantageux de faire fonctionner les bioréacteurs près des conditions d'équilibre correspondant à  $\frac{dX}{dt} = \frac{dS}{dt} = \frac{dV}{dt} = 0$ . Il faut donc rechercher ces conditions d'équilibre en trouvant les valeurs  $X_e$ ,  $S_e$  et  $V_e$  qui sont telles que les 3 équations de bilans (IV-51) sont égales à zéro [COU-01], [NAJ1-87], [PHA-99].

#### Détermination des points d'équilibre

D'après le système (IV-51), on peut reformuler sous la forme suivante :

$$\begin{cases} \dot{X} = (\mu - B - u) \cdot X \\ \dot{S} = -(\mu + B) \cdot \frac{X}{y} + u \cdot (S_{in} - S) \\ \dot{V} = u \cdot V \end{cases} \quad \text{IV-53}$$

Pour déterminer le point d'équilibre, il suffit de poser :

$$\dot{X} = 0 \quad , \quad \dot{S} = 0 \quad \text{et} \quad \dot{V} = 0 \quad \text{IV-54}$$

D'après l'équation IV-54 le point d'équilibre est en :

$$X = 0 \quad , \quad S = S_{in} \quad \text{et} \quad V = 0 \quad \text{IV-55}$$



Pour étudier la stabilité du système IV-51 on utilise la méthode de linéarisation.

Le degré relatif du système  $r=1$  et par conséquent on définit la transformation  $Z = \Phi(x)$  comme suit :

$$\begin{cases} Z_1 = h(x) = x_2 \\ Z_2 = \lambda_1(x) \\ Z_3 = \lambda_2(x) \end{cases} \quad \text{IV-56}$$

$$\text{Telles que : } \begin{cases} L_g \lambda_1(x) = 0 \\ L_g \lambda_2(x) = 0 \end{cases} \quad \text{IV-57}$$

$$\text{Et que } \Phi \text{ doit être un difféomorphisme c'est-à-dire } \left| \frac{\partial \Phi}{\partial x} \right| \neq 0 \quad \text{IV-58}$$

Pour cela on prend :

$$\begin{cases} \lambda_1(x) = x_1 + x_3 \\ \lambda_2(x) = \frac{x_1}{S_{in} - x_2} \end{cases} \quad \text{il vient que } \left| \frac{\partial \Phi}{\partial x} \right| \neq 0 \quad \text{IV-59}$$

Alors  $\Phi$  est un difféomorphisme avec :

$$\begin{cases} Z_1 = x_2 = \eta_1 \\ Z_2 = x_1 + x_3 = \varepsilon_1 \Rightarrow x_3 = \varepsilon_1 - \varepsilon_2 \cdot (S_{in} - \eta_1) \\ Z_3 = \frac{x_1}{S_{in} - x_2} = \varepsilon_2 \Rightarrow x_1 = \varepsilon_2 \cdot (S_{in} - \eta_1) \end{cases} \quad \text{IV-60}$$

$$\begin{cases} \varphi_1 = L_f \lambda_1(x) = \frac{\partial \lambda_1}{\partial x_1} \cdot f_1 + \frac{\partial \lambda_1}{\partial x_2} \cdot f_2 + \frac{\partial \lambda_1}{\partial x_3} \cdot f_3 \\ \varphi_2 = L_f \lambda_2(x) = \frac{\partial \lambda_2}{\partial x_1} \cdot f_1 + \frac{\partial \lambda_2}{\partial x_2} \cdot f_2 + \frac{\partial \lambda_2}{\partial x_3} \cdot f_3 \end{cases} \quad \text{IV-61}$$

$$\begin{cases} \varphi_1 = (\mu - B) \cdot x_1 \\ \varphi_2 = \frac{(\mu - B) \cdot x_1}{S_{in} - x_2} - \frac{\left( \frac{(\mu + B)}{D} \right) \cdot x_1^2}{(S_{in} - x_2)^2} \end{cases} \quad \text{IV-62}$$

Avec

$$\mu = \mu_0 \cdot \frac{S}{k_s + S + \frac{S^2}{k_i}} \quad \text{et} \quad B = cste. \quad \text{IV-63}$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \varphi_1 = \left( \mu_0 \cdot \frac{x_2}{k_s + x_2 + \frac{x_2^2}{k_i}} - B \right) \cdot x_1 \\ \varphi_2 = \frac{1}{S_{in} - x_2} \cdot \left( \mu_0 \cdot \frac{x_2}{k_s + x_2 + \frac{x_2^2}{k_i}} - B \right) \cdot x_1 - \frac{1}{(S_{in} - x_2)^2} \cdot \left( \mu_0 \cdot \frac{x_2}{k_s + x_2 + \frac{x_2^2}{k_i}} + B \right) \cdot \frac{x_1^2}{D}. \end{array} \right. \quad \text{IV-64}$$

La forme normale est la suivante : IV-65

$$\left\{ \begin{array}{l} \dot{\eta} = A \cdot \eta + B \cdot v \\ y = C \cdot \eta \\ \dot{\varepsilon}_1 = \varepsilon_2 \cdot \left( \mu_0 \cdot \frac{\eta_1}{k_s + \eta_1 + \frac{\eta_1^2}{k_i}} - B \right) \cdot (S_{in} - \eta_1) \\ \dot{\varepsilon}_2 = \frac{1}{S_{in} - \eta_1} \cdot \left( \mu_0 \cdot \frac{\eta_1}{k_s + \eta_1 + \frac{\eta_1^2}{k_i}} - B \right) \cdot \varepsilon_2 \cdot (S_{in} - \eta_1) - \frac{1}{(S_{in} - \eta_1)^2} \cdot \left( \mu_0 \cdot \frac{\eta_1}{k_s + \eta_1 + \frac{\eta_1^2}{k_i}} + B \right) \cdot \frac{\varepsilon_2^2 \cdot (S_{in} - \eta_1)^2}{D}. \end{array} \right.$$

Par la méthode de linéarisation [FOS-94], [FOS-95], l'étude de stabilité d'un système non linéaire se ramène à l'étude de la stabilité de sa partie linéaire autour de son point d'équilibre (L-Stabilité).

Pour étudier la stabilité du système non linéaire il faut étudier la dynamique des zéros.

La dynamique des zéros  $\dot{\varepsilon} = \psi(\varepsilon)$  est obtenue en posant  $\eta = 0$  [FOS-94] et donc :  $\dot{\varepsilon} = \psi(\varepsilon) = \psi(0, \varepsilon)$ .

Donc d'après l'équation IV-65 et en prenant  $\eta_1 = 0$  on aura :

$$\left\{ \begin{array}{l} \dot{\varepsilon}_1 = -B \cdot S_{in} \cdot \varepsilon_2 \\ \dot{\varepsilon}_2 = -B \cdot \varepsilon_2 - \frac{B}{D} \cdot \varepsilon_2^2 \end{array} \right. \quad \text{IV-66}$$

En utilisant la méthode de Lyapunov indirecte le système est L stable.

#### IV-2-2-b2-Simulation en boucle ouverte

\*\*\* Condition initiale :

$$\mu_0 = 0.254 \text{ h}^{-1}.$$

$$k_s = 40.59 \text{ g/l}.$$

$$k_i = 491.56 \text{ g/l}.$$

$$S_0 = 2 \text{ g/l}.$$

$$X_0 = 5 \text{ g/l}.$$

$$V_0 = 0.3 \text{ l}.$$

Simulation pour  $u = 5 \text{ h}^{-1}$

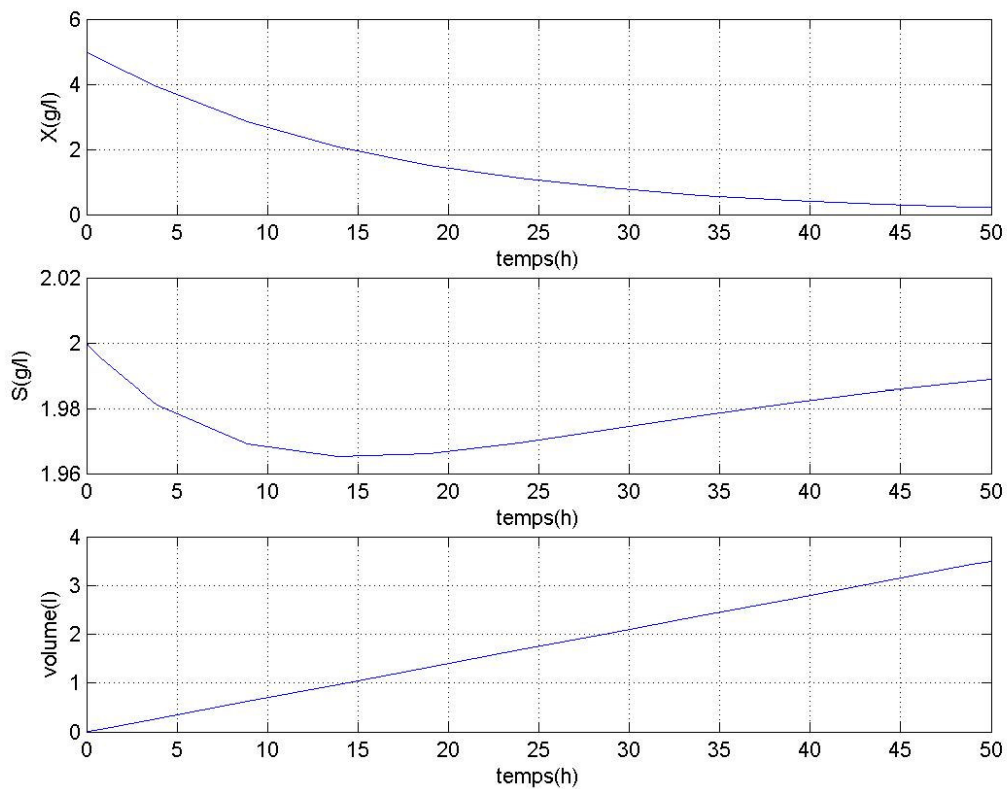


Figure IV-4 : Evolution des variables d'état pour  $u = 5 \text{ h}^{-1}$   
(Fed-batch)

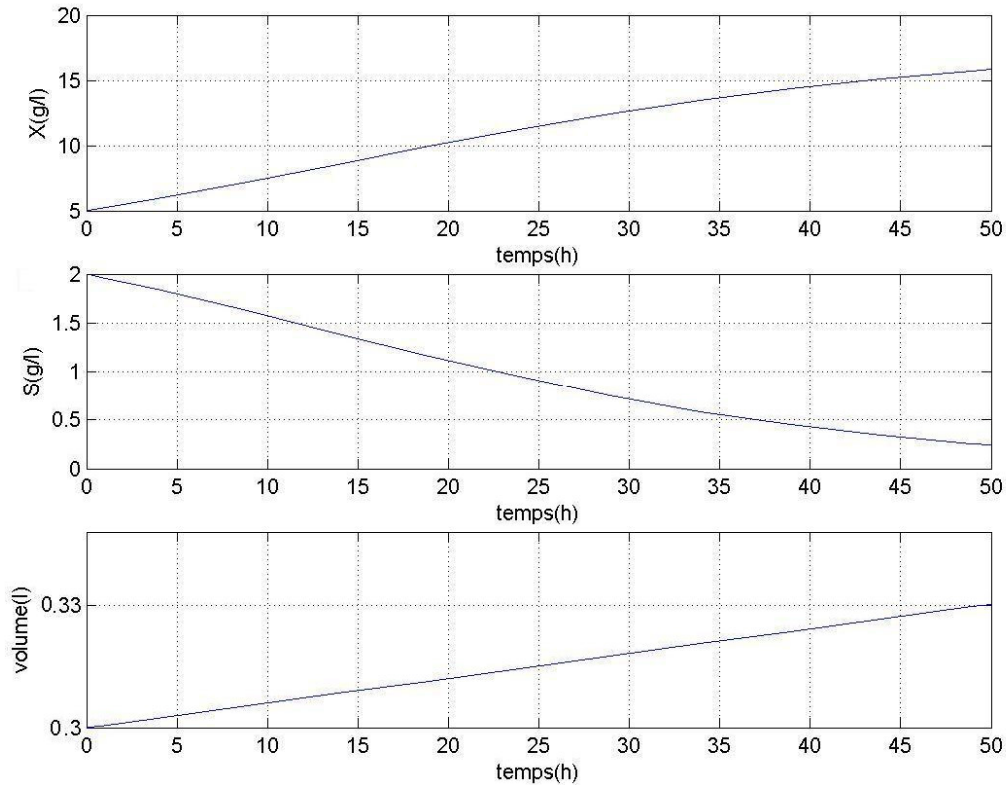
**Simulation pour  $u = 0.01 \text{ h}^{-1}$** 

Figure IV-5 : Evolution des variables d'état pour  $u = 0.01 \text{ h}^{-1}$   
(Fed-batch)

**IV-2-2-b3-Interprétation des résultats**

Dans la première partie de simulation nous avons appliqué un taux de dilution ( $u$ ) constant et supérieur à la valeur de  $\mu_0$ . On remarque que la concentration de la biomasse diminue et tend vers son point d'équilibre qui est  $X_0 = 0 \text{ g/l}$ . Figure (IV-4-1)

Celle-ci est due au taux de dilution qui est supérieur à la valeur de  $\mu_0$ , l'emportant largement sur l'accroissement de la biomasse.

La concentration du substrat quant à elle, converge vers son point d'équilibre  $S_0 = 2 \text{ g/l}$ . cela est dû à l'absence de micro-organisme causé par l'effet de dilution qui a engendré une consommation nulle du substrat. Figure (IV-4-2)

Lorsque  $u_0$  est supérieure à  $\mu$ , le système converge vers son point d'équilibre  $(x_0, s_0)$ , on dit qu'il est asymptotiquement stable.

Par contre, le volume dans le bioréacteur augmente ; Cela est du à la valeur du taux de dilution  $u$ . La variation du volume  $v$  est en fonction de  $u$  figure (IV-4-3), elle est donnée par la relation :

$$\frac{dV}{dt} = u \cdot v$$

Dans la deuxième partie de simulation, nous avons pris une valeur de  $u$  inférieure à la valeur de  $\mu_0$ . Comme nous le montre les résultats, on remarque que la concentration de la biomasse augmente. Figure (IV-5-1).

Cependant, la concentration du substrat décroît jusqu'à atteindre une valeur nulle. Figure (IV-5-2).

Pour le volume, on a toujours une augmentation mais elle est faible cela est dû à la valeur du taux de dilution. Figure (IV-5-3).

En résumé, si  $u$  est un inférieur à la valeur de  $\mu_0$ , le système a tendance à produire de la biomasse ; mais si c'est le contraire, le système a tendance à détruire de la biomasse ( $X \longrightarrow 0$ ).

Donc, d'après les deux cas étudié, la convergence ou la divergence des variables d'état dépend essentiellement de la valeur du taux de dilution par rapport ( $u$ ) par rapport à la valeur du taux de croissance ( $\mu$ ) comme le montre la figure IV-6.

ZONE DE DIVERGENCE

ZONE DE CONVERGENCE

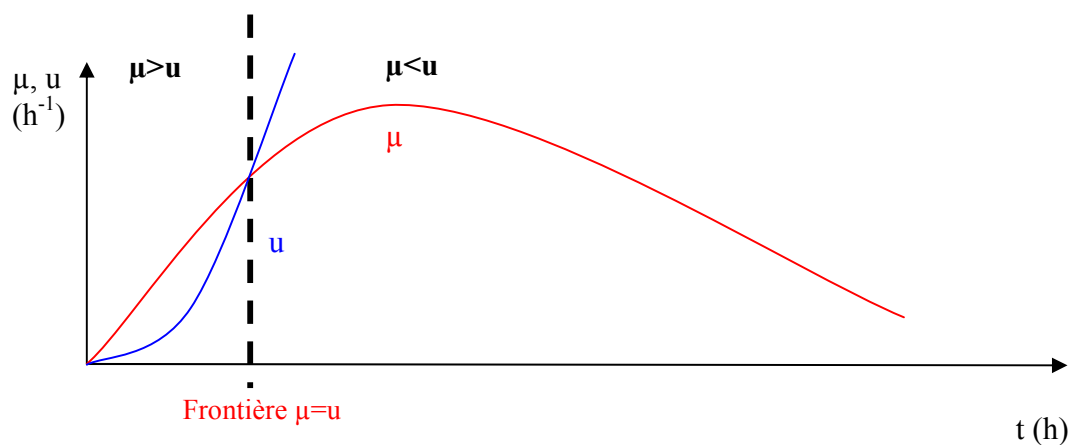


Figure IV-6 : Exemple d'évolution de  $\mu$  et  $u$  durant le temps

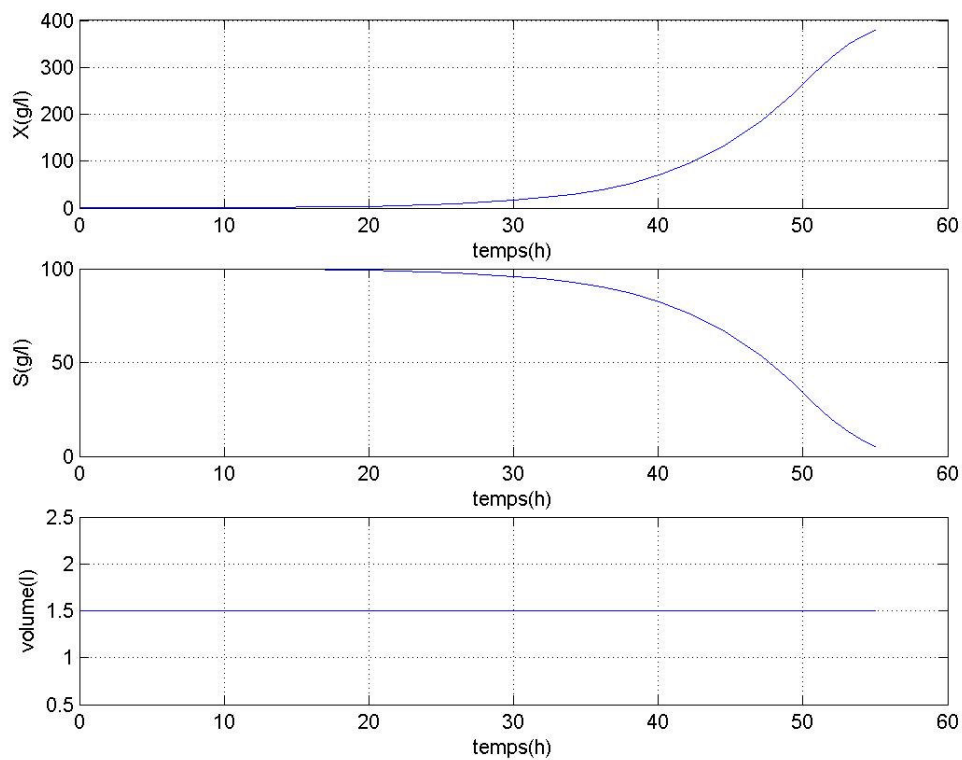
### IV-3-Validation du modèle

Pour la validation de notre modèle, nous allons comparer les courbes obtenues par simulation à ceux obtenues expérimentalement par les spécialistes du domaine.

Ainsi nous allons comparer les courbes de simulation du modèle IV-5, en variant chaque fois un des paramètres, aux courbes obtenues expérimentalement.

La variation de la concentration de la biomasse et du phénol pour chaque paramètre est représentée dans les figures suivantes.

#### IV-3-1-Validation du modèle en variant $O_2$



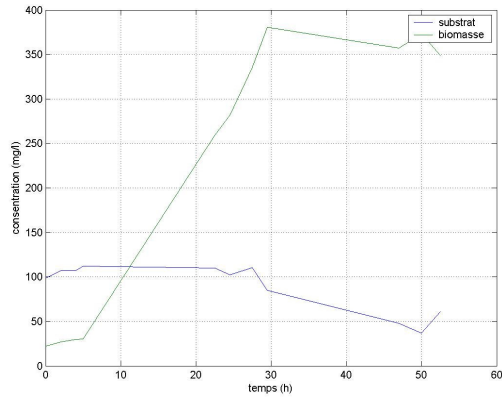
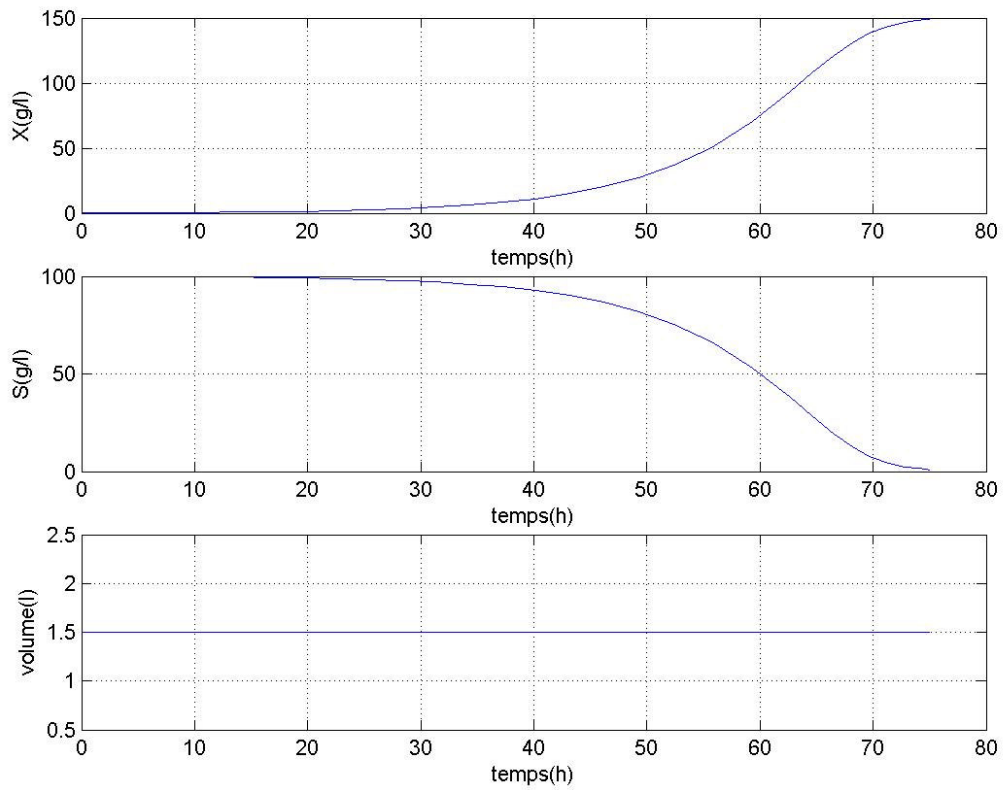


Figure IV-7 : Validation du modèle en variant O<sub>2</sub>

**IV-3-2-Validation du modèle en variant pH**



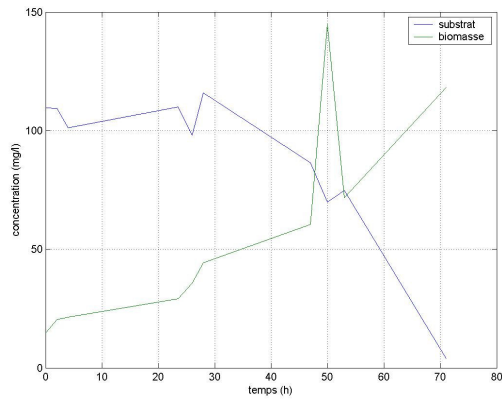
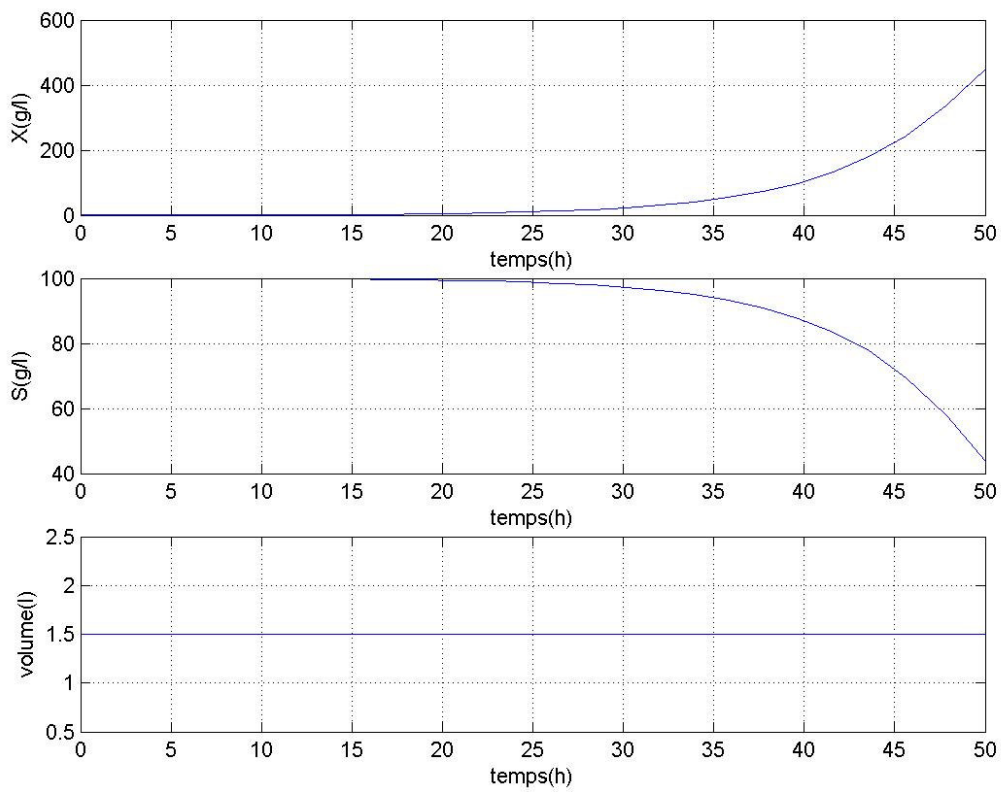


Figure IV-8 : Validation du modèle en variant pH.

IV-3-3-Validation du modèle en variant T°





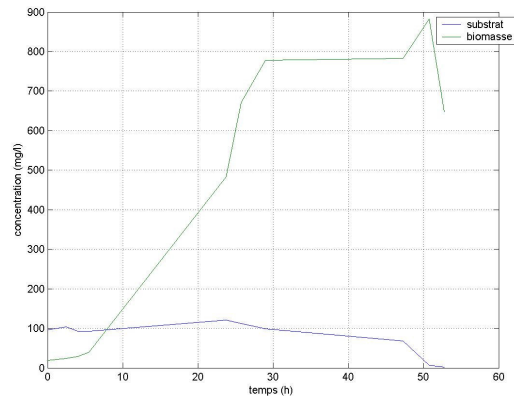


Figure IV-9 : Validation du modèle en variant  $T^\circ$ .

D'après les figures (IV-7), (IV-8), (IV-9), on peut conclure que notre modèle est valide puisqu'on remarque bien que les courbes obtenues par simulation sont similaires à ceux obtenues expérimentalement.

#### IV-4-Conclusion

Nous avons présenté dans ce chapitre, les principales équations établissant les bilans de matières relatives à la biomasse et au substrat. De là nous avons tiré en détail des modèles d'état des différents types de bioréacteurs qui existent, en fonction de leur mode de fonctionnement. Un modèle d'état plus général a été proposé regroupant tous les types de bioréacteurs quelque soit leur mode, tout en tenant compte du taux de mortalité de la biomasse.

Nous avons aussi présenté le modèle du taux de croissance bactérienne qui est en fonction de plusieurs paramètres (substrat, aération, pH, ...).

Nous avons étudié en détail le comportement du système en boucle ouverte dans les deux modes du bioréacteurs (continu et fed-batch).

Ensuite nous avons validé notre modèle et ce, en se basant sur les courbes obtenues expérimentalement.

Dans notre étude nous avons négligé deux points :

-la variation du taux de mortalité en fonction des paramètres d'environnement et ce pour alléger le model.

-la constante de la phase de latence ( $\lambda$ ) car on a pas trouver comment définir sa variation.

Dans le chapitre suivant, nous allons synthétiser des lois de commande qui permettront de stabiliser la concentration du substrat à la valeur  $S$  désirée.

# Chapitre V

## Commandes

*Après que notre principal but était atteint nous nous sommes posés le problème de la commande et pour cela nous avons choisi deux commandes : la commande PI et la commande par retour d'état.*

Notre choix a été exprimé après l'étude de ce système et de ce qui se fait en industrie actuellement.

Donc on va voir que pour chaque type de bioréacteur son modèle déjà trouvé en suit les essais en boucle ouverte et avec un régulateur PID et enfin le réglage par retour d'état

### V-1- La commande PID

C'est la commande la plus utilisée dans l'industrie car elle est simple à réaliser et d'un autre côté ses performances en robustesse vont nous permettre de commander un tel système qui à chaque instant change de paramètres.

L'algorithme PID est un régulateur standard pour la commande des procédés. La version classique de l'algorithme peut s'écrire sous la forme

$$u(t) = K_p \varepsilon(t) + K_i \int \varepsilon(t) dt + K_v \frac{d\varepsilon(t)}{dt} \quad \text{V-1}$$

Dans laquelle  $u$  est la variable de commande,  $\varepsilon$  représente l'erreur définie par :

$$\varepsilon = y_d - y$$

$y_d$  et  $y$  étant respectivement la valeur désirée de la sortie et la valeur réelle.

Le diagramme fonctionnel pour ce type de commande est représenté par la figure suivante :

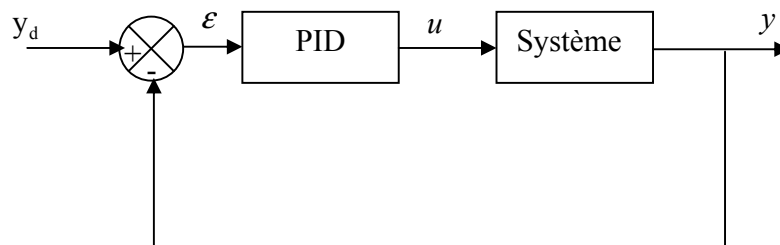


Figure V.1 : Schéma fonctionnel de la commande PID

Dans les systèmes biologique ou chimique le régulateur PI est très utilisé et donne de bons résultats.

### V-2-Commande par retour d'état

Cette technique consiste à mesurer la quantité du substrat, afin de construire une commande telle que la concentration du substrat  $Y_d$  soit toujours constante.

Maintenir cette concentration constante revient à poser

$$\frac{dS}{dt} = 0 \quad \text{V-2}$$

Ainsi en prenant

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{D} \cdot \mu \cdot X + u \cdot (S_{in} - S) \quad \text{V-3}$$

Et pour maintenir l'équilibre on aura :

$$-\frac{1}{D} \cdot \mu \cdot X + u \cdot (S_{in} - Y_d) = 0 \quad \text{V-4}$$

⇒

$$u = \frac{\mu \cdot X}{D(S_{in} - Y_d)} \quad \text{V-5}$$

### V-3-1-Bioréacteur Fed-batch

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dX}{dt} = \mu X - X u \\ \frac{dS}{dt} = -\frac{1}{D} \mu X + u (S_0 - S) \\ \frac{dV}{dt} = u V \\ y = S \end{array} \right. \quad \text{V-6}$$

$$\text{Avec : } \mu(S) = \frac{\mu_0 S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_I}} - \frac{B}{S} \quad \text{V-7}$$

B : le taux de mortalité.

D : le taux de conversion du substrat en biomasse.

Les systèmes biologiques sont des systèmes très lents et c'est ce qu'on trouve dans les courbes suivantes. On voit très clairement que les réponses prennent plus de 50 heures.

L'évolution de la concentration de la biomasse (X) est en relation avec l'évolution de la concentration du substrat (S) dans la cuve, et le volume est proportionnel au taux de dilution.

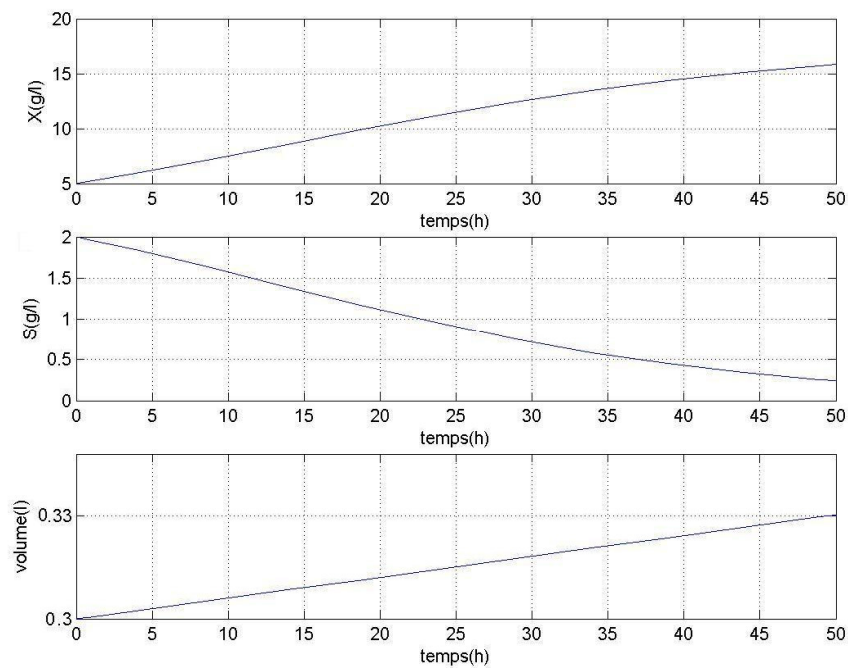


Figure V-2 : Evolution des variables d'état X, S et V en boucle ouverte  
(Type Fed-batch)

### V-3-1-1-La commande PI d'un bioréacteur Fed-batch

Le choix des paramètres de PI va nous permettre d'obtenir les réponses désirées. Pour cela, nous avons opté pour les valeurs suivantes :

$$K_p = 0.0001, K_i = 0.000001.$$

La figure montre l'évolution de la concentration de substrat pour une valeur de consigne égale à  $0 \text{ g/l}$ . On remarque que la sortie tend vers la consigne, et se stabilise autour de sa valeur mais après plus  $50 \text{ h}$ .

Le volume du bioréacteur reste constant au début car, la commande  $u$  est nulle.

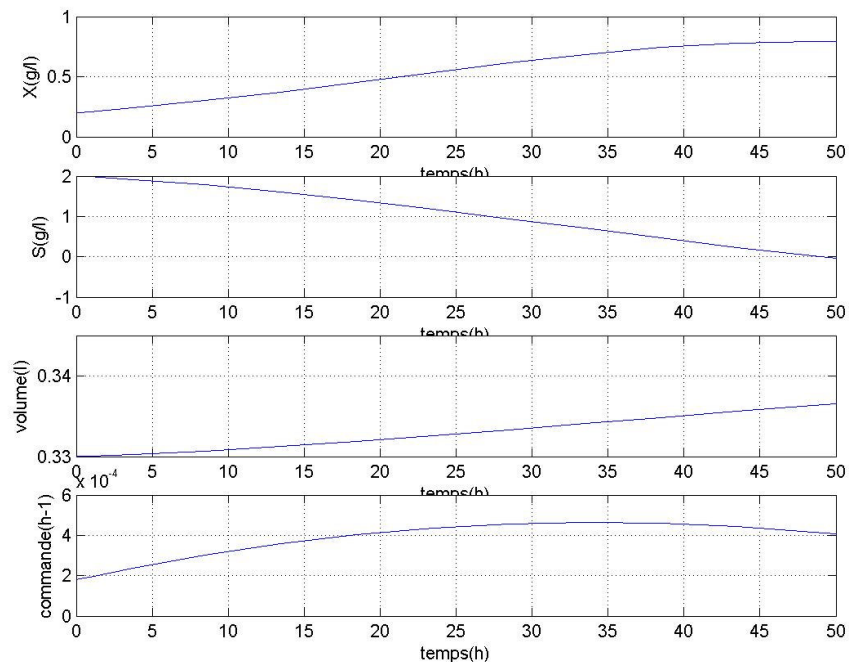


Figure V-3 : Evolution des variables d'état pour la commande PI  
(Type Fed-batch)

**V-3-1-2-La commande par retour d'état d'un bioréacteur Fed-batch**

Le retour d'état est plus rapide que le PI mais la quantité de substrat éliminée reste très petite.

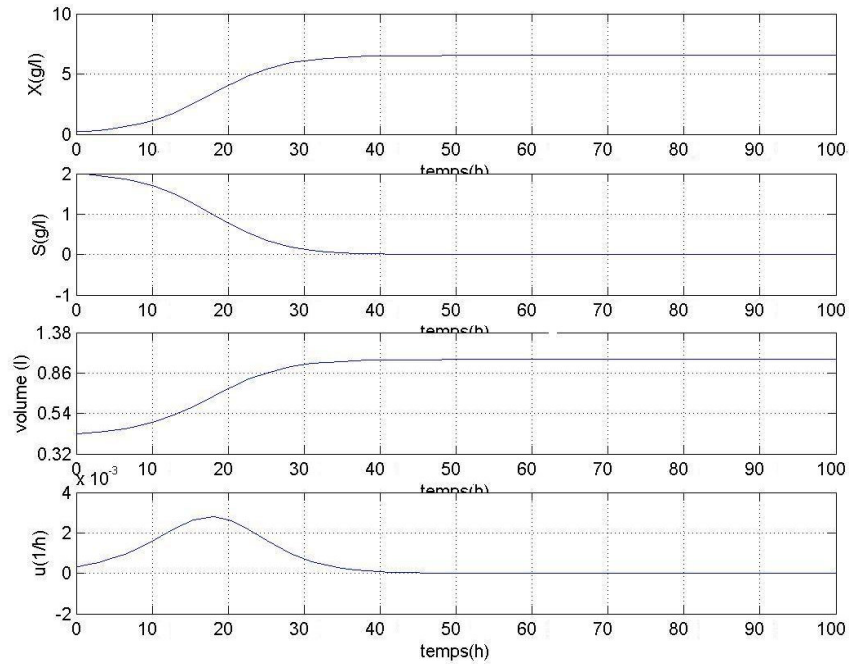


Figure V-4 : Evolution des variables d'état pour la commande par retour d'état (Type Fed-batch)

**V-3-2-Bioréacteur continu**

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dX}{dt} = \mu X - Xu \\ \frac{dS}{dt} = -\frac{1}{D} \mu X + u(S_0 - S) \\ \frac{dV}{dt} = 0 \\ y = S \end{array} \right. \quad \text{V-8}$$



$$\text{Avec : } \mu(S) = \frac{\mu_0 S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_I}}$$

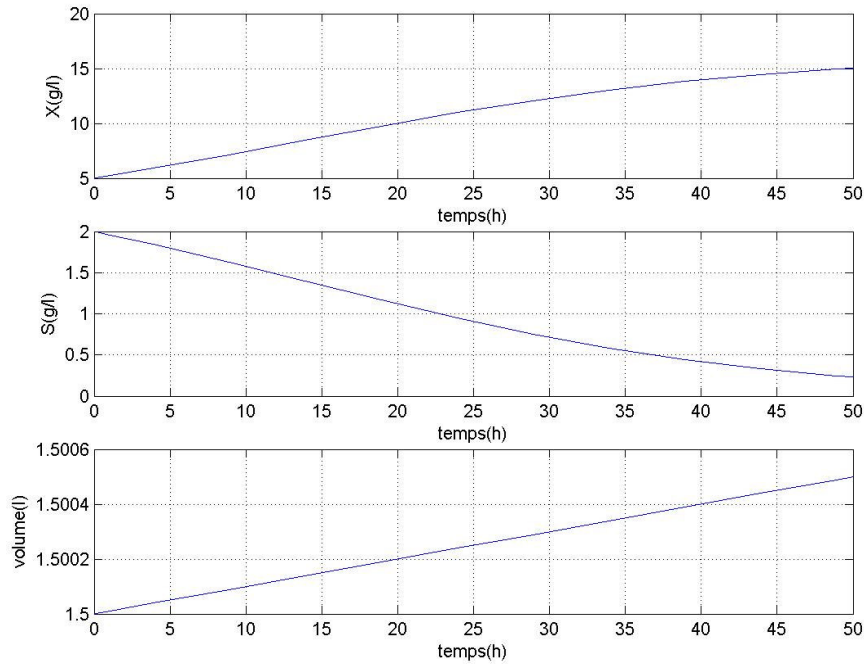


Figure V-5 : Evolution des variables d'état X, S et V en boucle ouverte  
(Type continu)

### V-3-2-1-La commande PI d'un bioréacteur continu

La commande et la grandeur à réguler sont les mêmes que pour le bioréacteur Fed-batch.

va nous permettre d'obtenir les réponses désirées. Pour cela, nous avons opté pour les valeurs suivantes :

$K_p = 0.001$ ,  $K_i = 0.0001$ . Nous pouvons remarquer que le contrôleur PI stabilise la concentration du substrat à sa valeur désirée avec une bonne précision. La concentration de la biomasse tend vers une valeur constante.

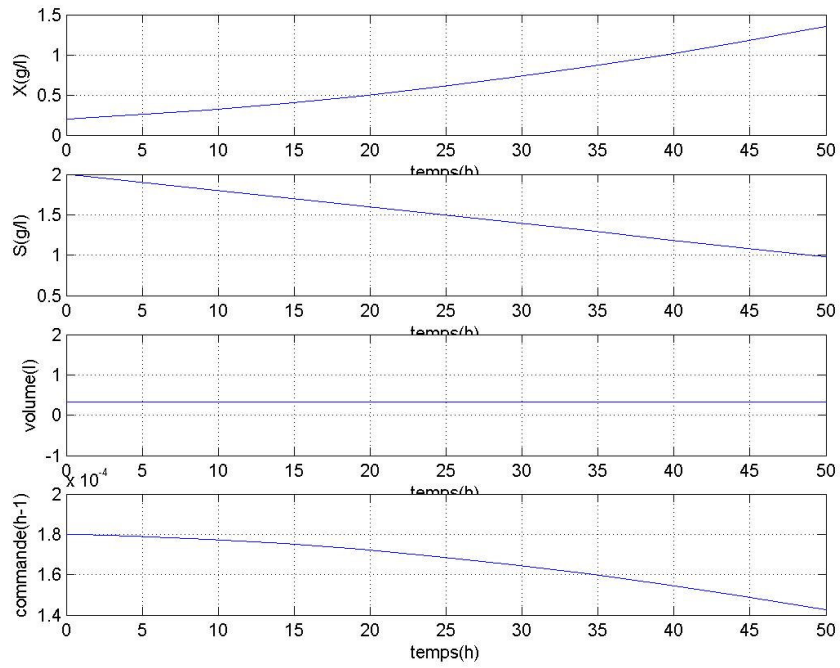


Figure V-6 : Evolution des variables d'état pour la commande PI  
(Type continu)

**V-3-2-2 La commande par retour d'état d'un bioréacteur continu**

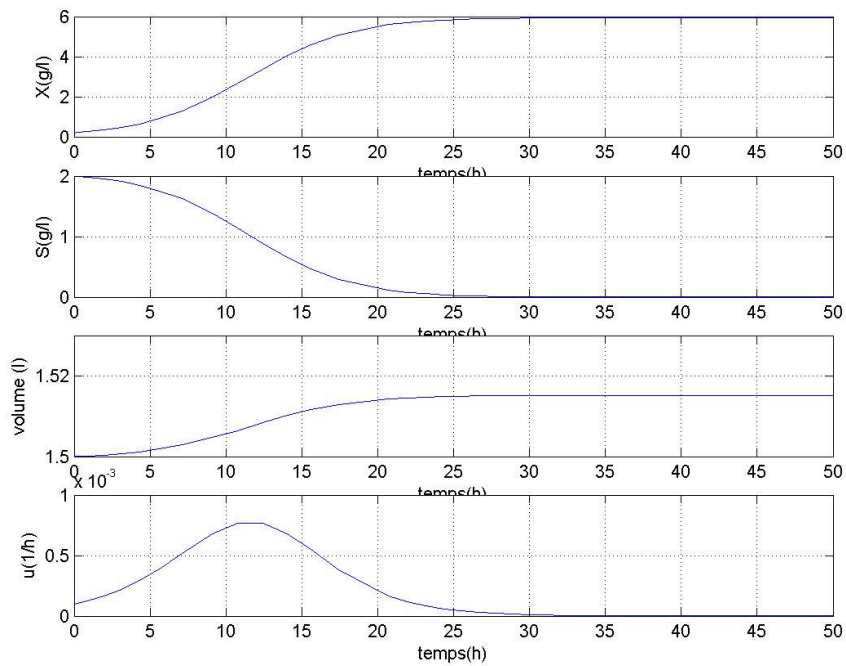


Figure V-7 : Evolution des variables d'état pour la commande par retour d'état  
(Type continu)

Comme pour le Fed-batch le retour d'état est rapide mais toujours il reste peu rentable.

#### **V-4-Conclusion**

Nous avons essayé de commander les deux types de bioréacteurs commandables le Fed-batch et le continu avec deux commandes classiques les résultats étaient attendus car les deux commandes ont une grande robustesse qui permet une convergence très précise vers la consigne.

Cependant le régulateur PI montre un léger retard qui n'est pas du à ces performances mais à l'astuce utilisée dans le retour d'état.

# Conclusions generales

Notre travail est de modéliser et pouvoir commander un bioréacteur qui est un système biologique, donc fortement non-linéaire, mais après s'être durement et longuement documenté sur ces systèmes, le département du génie de l'environnement nous a proposé des expériences, qu'une étudiante a effectué, en vue de comprendre le procédé de la biodégradation du phénol dans un bioréacteur type batch.

Donc nous avons pu analyser et interpréter les résultats de leur expériences, alors nous avons calculer les paramètres du bioréacteur et étudier l'influence des grandeur tel que : la température, le pH et l'aération sur ce dernier.

Ensuite, pour pouvoir le commander, nous avons changer le type de bioréacteur, du batch vers le fed batch ou le continu, en introduisant soit une entrée seule soit une entrée et une sortie, et pour la commande nous avons choisi le PI et le retour d'état. Pour les deux cas nous nous sommes donnés comme consigne d'éliminer le substrat le plus possible.

Nos résultats sont assez bien, mais nous pensons pouvoir faire d'autres améliorations, surtout dans la partie modélisation, car à travers les expériences, nous avons constaté un paramètre, nommé taux de mortalité, qui ne figure pas dans l'études des biologiste, mais quand a nous autant qu'automaticien, il est très important de pouvoir l'estimer avec précision car on l'a juste vérifié qu'il était proportionnel à l'inverse de la concentration du substrat.

Enfin, pour la commande, on se donne comme perspective d'essayer d'appliquer des commandes avancées, mais pour cela il faut créer un grand climat de partenariat entre les chercheur du G.environnement et ceux du G.électrique.

# Annexes

# Annexe I

## NOTIONS DE GEOMETRIE DIFFERENTIELLE

On considère les systèmes non linéaires de la forme :

$$\begin{cases} \dot{x} = f(x) + g(x) \cdot u \\ y = h(x) \end{cases} \quad \text{de degré } n \quad (\text{I.1})$$

### I-1-DÉRIVÉE DE LIE

La dérivée d'une fonction  $\lambda(x)$  dans la direction du champ des vecteurs  $f$  est définie par :

$$L_f \lambda(x) = \sum_{i=1}^n \frac{\partial \lambda}{\partial x_i} f_i(x) = \left\langle \frac{\partial \lambda}{\partial x}, f(x) \right\rangle \quad (\text{I.2})$$

Cette dérivée est appelée dérivée de Lie et joue un rôle très important en commande non linéaire.

En effet, la dérivée temporelle de la sortie s'exprime en fonction de dérivées de Lie :

$$\frac{dy}{dt} = \sum_{i=1}^n \frac{\partial h}{\partial x_i} \cdot \frac{\partial x_i}{\partial t} = L_f h(x) + L_g h(x) \cdot u \quad (\text{I.3})$$

On peut faire des dérivations successives de  $\lambda$  dans la direction de  $f$  puis dans la direction de  $g$ , ce qui donne :

$$L_g L_f \lambda(x) = \frac{\partial L_f \lambda}{\partial x} \cdot g(x) \quad (\text{I.4})$$

Ou encore dériver  $\lambda$ ,  $k$  fois dans la direction de  $f$  :

$$L_f^k \lambda(x) = \frac{\partial L_f^{k-1} \lambda}{\partial x} f(x) \quad \text{avec : } L_f^0 \lambda(x) = \lambda(x) \quad (\text{I.5})$$

- Crochet de Lie : Il est défini par :

$$[f, g] = \frac{\partial g}{\partial x} f(x) - \frac{\partial f}{\partial x} g(x) \quad (\text{I.6})$$

Où :  $\frac{\partial f}{\partial x}$  est la matrice jacobienne de  $f$  telle que :



$$\frac{\partial f}{\partial x} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1} & \dots & \frac{\partial f_1}{\partial x_n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_n}{\partial x_1} & \dots & \frac{\partial f_n}{\partial x_n} \end{bmatrix} \quad (I.7)$$

Il est possible de répéter l'opération sur le crochet de Lie et on utilisera dans ce cas la notation suivante :

$$ad_f^k g(x) = [f, ad_f^{k-1} g(x)] \quad \text{avec : } ad_f^0 g(x) = g(x) \quad (I.8)$$

## I-2-DEGRE RELATIF D'UN SYSTEME NON LINEAIRE

Appelé aussi indice caractéristique, il est défini par le plus petit entier  $r$  pour lequel :

$$Lg L_f^{r-1} h(x) \neq 0 \quad (I.9)$$

Le degré relatif peut ne pas être strictement défini en  $x^*$  (le point d'équilibre du système), mais le sera dans tout le voisinage  $U$ . Car, parfois la première dérivée de Lie de la suite (I.9) peut être accidentellement nulle en  $x^*$ .

En d'autres termes, le degré relatif est égal au nombre de dérivations de la sortie  $y$  nécessaires pour faire apparaître explicitement l'entrée  $u$ .

$$\text{Si } Lg L_f^k h(x) = 0 \quad \text{pour tout } k \quad (I.10)$$

Alors la sortie n'est pas affectée par l'entrée de commande  $u$ .

## I-3-CHANGEMENT DE COORDONNEES

### I-3-1-Définitions

Une fonction  $\Phi$  de  $\mathbb{R}^n$  dans  $\mathbb{R}^n$ , définie sur un domaine  $U$  est appelée un difféomorphisme si elle possède des dérivées partielles continues d'ordre quelconque et si son inverse  $\Phi^{-1}$  existe et a les mêmes propriétés que  $\Phi$ .

Le difféomorphisme est donc un changement de coordonnées non linéaire qui possède les propriétés énumérées précédemment. Il permet de transformer un système non linéaire en un autre système non linéaire défini en fonction de nouveaux états.

Étant donné le système non linéaire mono variable (I.1) de degré relatif  $r$ , posons :

$$\begin{aligned}\phi_1(x) &= h(x) \\ \phi_2(x) &= L_f h(x) \\ &\vdots \\ \phi_r(x) &= L_f^{r-1} h(x)\end{aligned}\tag{I.11}$$

Si  $r < n$ , il est possible de trouver  $(n-r)$  fonctions  $\phi_{r+1}(x) \dots \phi_n(x)$  telle que l'application :

$$\phi(x) = \begin{pmatrix} \phi_1(x) \\ \vdots \\ \phi_n(x) \end{pmatrix}\tag{I.12}$$

ait sa matrice jacobienne non singulière et constitue donc un changement de coordonnées possible.

La valeur des fonctions  $\phi_{r+1}(x) \dots \phi_n(x)$  est sans importance et ces fonctions peuvent être choisies telles que :

$$L_g \phi_i(x) = 0\tag{I.13}$$

Et ceci est valable pour tout  $(r+1 \leq i \leq n)$  et pour tout  $x$  dans l'espace.

### I-3-2-FORME NORMALE

Le système non linéaire (I.1) peut être décrit dans les nouvelles coordonnées :

$$z_i = [y, \dot{y}, \dots, y^{(r-1)}] = \phi_i(x) \quad t.q : i = 1, \dots, n\tag{I.14}$$

A partir des relations (I.12) on obtiendra :

$$\begin{aligned}
 \frac{dz_i}{dt} &= \frac{\partial \phi_1}{\partial x} \frac{\partial x}{\partial t} = L_f h(x(t)) = \phi_2(x(t)) = z_2(t) \\
 &\vdots \\
 \frac{dz_{r-1}}{dt} &= \frac{\partial \phi_{r-1}}{\partial x} \frac{\partial x}{\partial t} = L_f^{r-1} h(x(t)) = \phi_r(x(t)) = z_r(t) \\
 \frac{dz_r}{dt} &= \frac{\partial \phi_r}{\partial x} \frac{\partial x}{\partial t} = L_f^r h(x(t)) + L_g L_f^{r-1} h(x(t)) \cdot u(t)
 \end{aligned} \tag{I.15}$$

L'expression de  $\dot{z}_r(t)$  doit être transformée en fonction de  $z(t)$  en utilisant la relation  $x(t) = \Phi^{-1}(z(t))$ , ce qui donne :

$$\begin{aligned}
 \frac{dz_r}{dt} &= L_f^r h(\phi^{-1}(z(t))) + L_g L_f^{r-1} h(\phi^{-1}(z(t))) \cdot u(t) \\
 &= b(z(t)) + a(z(t)) \cdot u(t)
 \end{aligned} \tag{I.16}$$

En posant :

$$\begin{aligned}
 a(z(t)) &= L_g L_f^{r-1} h(\phi^{-1}(z(t))) \\
 b(z(t)) &= L_f^r h(\phi^{-1}(z(t)))
 \end{aligned} \tag{I.17}$$

Il est possible de choisir les coordonnées suivantes  $z_i$ , ( $r < i \leq n$ ), de telle sorte que  $L_g \phi_i(x) = 0$ , ce qui fournit :

$$\begin{aligned}
 \frac{dz_i}{dt} &= \frac{\partial \phi_i}{\partial x} \frac{\partial x}{\partial t} = L_f \phi_i(x(t)) \\
 &= L_f \phi_i(\phi^{-1}(z(t)))
 \end{aligned} \tag{I.18}$$

Et si on pose :

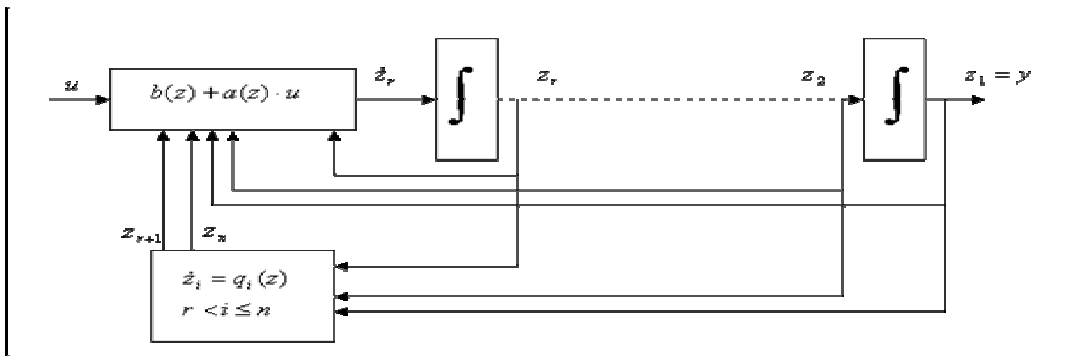
$$q_i(z(t)) = L_f \phi_i(\phi^{-1}(z(t))) \quad r < i \leq n \tag{I.19}$$

En reprenant l'ensemble des équations, on obtient la forme normale :

$$\begin{aligned}
 \dot{z}_1 &= z_2 \\
 &\vdots \\
 \dot{z}_r &= b(z) + a(z)u(t) \\
 \dot{z}_{r+1} &= q_{r+1}(z) \\
 \dot{z}_n &= q_n(z)
 \end{aligned} \tag{I.20}$$

$$A \text{ laquelle on ajoute l'équation de la sortie : } y = h(x) = z_1 \tag{I.21}$$

On peut symboliser ce résultat sur le diagramme de bloc suivant :



**Figure I.1** : description de la forme normale

La condition  $L_g \phi_i(x) = 0$  peut être difficile à remplir, parce que cette condition correspond à la résolution d'un système de  $(n-r)$  équations aux dérivées partielles. Pour définir un changement de coordonnées, il peut être suffisant de trouver ces fonctions de telle sorte que la matrice  $\Phi$  soit simplement non singulière.

# Annexe II

**Cette annexe a été tirée de la thèse de mademoiselle ALI  
magister génie environnement 2005**

## **La Biodégradation**

### **1- Définitions**

Le terme **biodégradation** généralement retenu dans la littérature scientifique correspond à une action de dégradation d'un composé organique par des agents biologiques (généralement microbiens) avec comme seuls rejets, des produits simples tels que H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>, Cl<sup>-</sup>..., mais encore des produits organiques simples (métabolites) tels que des acides organiques. Si la biodégradation du substrat organique est totale, c'est-à-dire formation uniquement de produits inorganiques tels H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>, on parle de **minéralisation** [39,40].

Le terme **biotransformation** implique la notion de transformation incomplète d'un substrat organique métabolisé qui n'aboutit pas forcément à une assimilation totale. Il peut s'agir par exemple d'une oxydation partielle du substrat qui se traduit par un rejet de produits intermédiaires (**métabolites**) dans le milieu [39].

La pollution importante des eaux exige de nos jours une épuration de préférence biologique pour éviter que les effluents pollués ne provoquent une destruction totale des **écosystèmes** aquatiques [41].

### **2 Le principe de biodégradation :**

Le moteur de toute dégradation de substances organiques est, en fait, les enzymes secrétées par les bactéries et qui sont des catalyseurs organiques se transformant et se régénérant au cours des processus mis en œuvre.

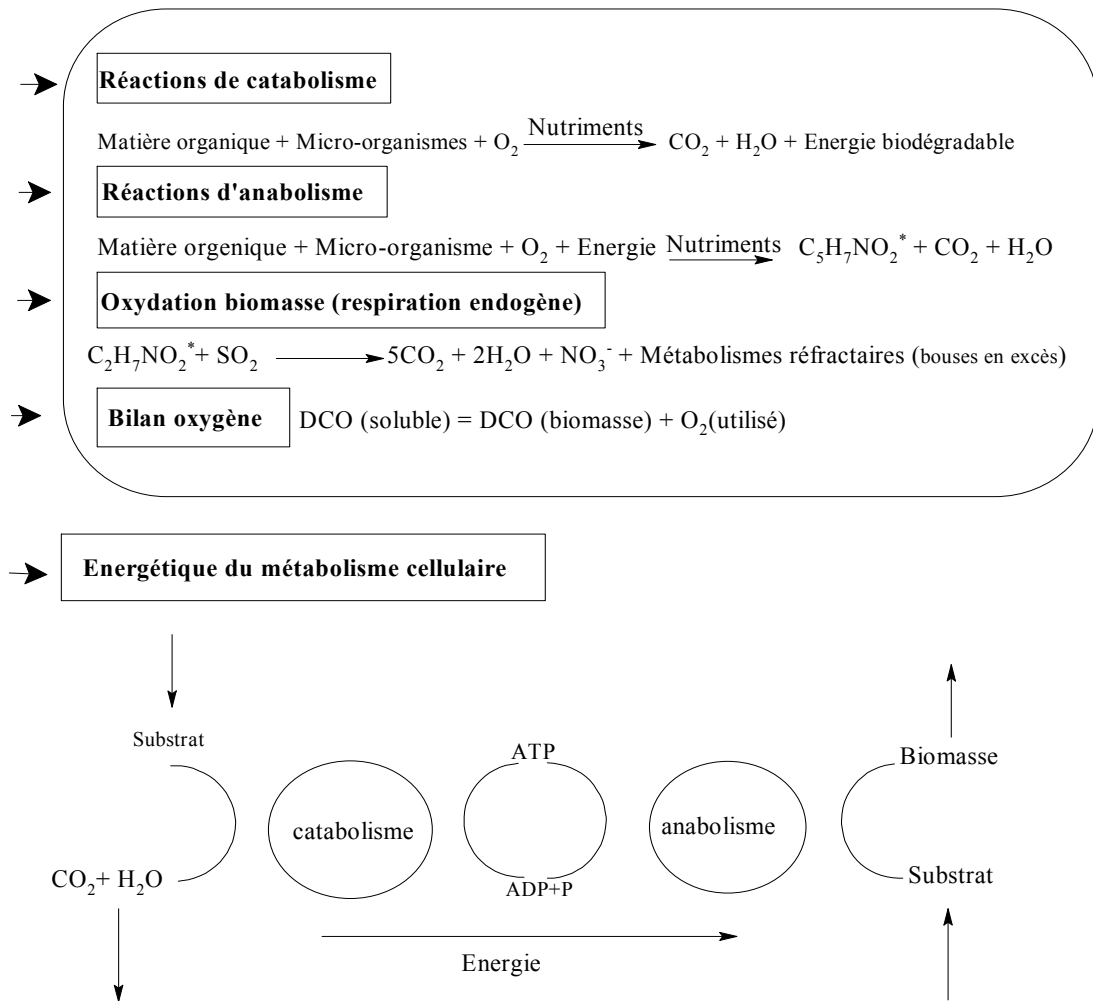
On distingue les **enzymes extracellulaires** qui provoquent la destruction des structures moléculaires trop complexes pour pénétrer au sein des capsules bactériennes, et les **enzymes intracellulaires**, qui assurent l'assimilation et, par conséquent sont à l'origine des phénomènes vitaux pour la prolifération des cellules [41].

Selon que la combustion intracellulaire, ou oxydation, se produit aux dépens de l'oxygène dissous dans l'eau (**processus aérobie**) ou que, au contraire, il y a transfert de l'hydrogène du combustible brûlé, à un accepteur d'hydrogène autre que l'oxygène moléculaire (**processus anaérobie**), la nature des produits de dégradation élémentaires ou déchets sera différente : CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, NH<sub>3</sub> ou NO<sub>3</sub> en aérobiose ; CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> et acides gras en anaérobiose.

Il faut considérer que, quoique théoriquement l'épuration biologique des eaux usées puisse s'effectuer par voie aérobie ou anaérobie, c'est la première de ces techniques qui est universellement utilisée à cause de sa supériorité évidente, tout au moins pour de faibles concentrations polluantes des effluents à traiter.

En effet, du fait du caractère beaucoup plus exothermique du métabolisme aérobie, le processus est plus rapide et plus complet, avec comme contrepartie, la production d'une masse cellulaire beaucoup plus importante[41].

Le schéma représenté sur la figure II-1 nous montre clairement les réactions de catabolisme et d'anabolisme qui donnent les différents métabolites que nous retrouverons dans le milieu, ainsi qu'un accroissement de la biomasse.



(\*)C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub> formule qui décrit la composition élémentaire de la matière vivante des bactéries

**Figure1 : Mécanismes réactionnels de la métabolisation aérobie de la pollution carbonée [41]**

### 3 Biodégradation des hydrocarbures mono aromatique :

#### 3-1 En aérobiose :

Les hydrocarbures mono aromatiques ainsi que les composés cycliques sont, d'une façon générale, accessible aux attaques bactériennes. Les *Pseudomonas*, *Vibrions*, *Achromobacterae*, et *Mycobacterium*... constituent des artisans fréquents de cette dégradation. De nombreux travaux leur ont été consacrés [42, 43].

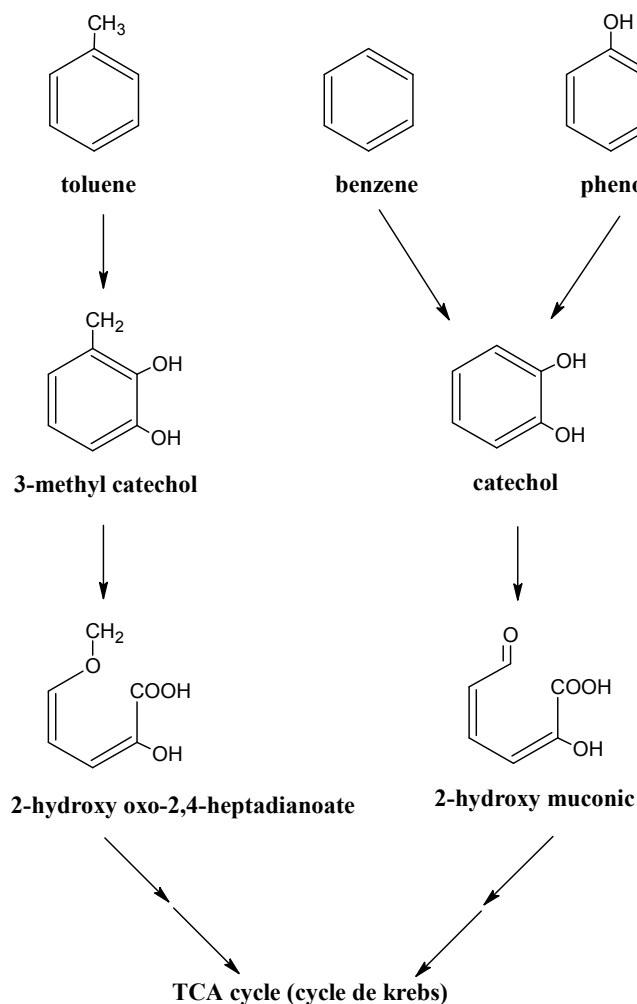
La dégradation est initiée soit par des mono-oxygénases (hydroxylases) agissant sur les substituants alkylés du cycle aromatique ou sur le cycle lui-même, soit par des dioxygénases



agissant directement sur le cycle aromatique. Le mode d'attaque dépend des groupements alkyles substituant (figure II-2) [43,14].

Pour un même composé ce mode dépend, également, de la souche bactérienne (Cinq ont été répertoriés dans le cas du toluène étudié de façon quasi exhaustive, figure II-3) [43, 44].

Un mode d'attaque très utilisé, par une dioxygénase sur le noyau aromatique est illustré dans la figure (II-4) où le *Cis*-dihydrodiol produit est déshydrogéné en catéchol ou en un de ses dérivés [43].



**Figure2 : les voies du catabolisme du phénol, toluène et benzène par *Pseudomonas putida F1* [14]**

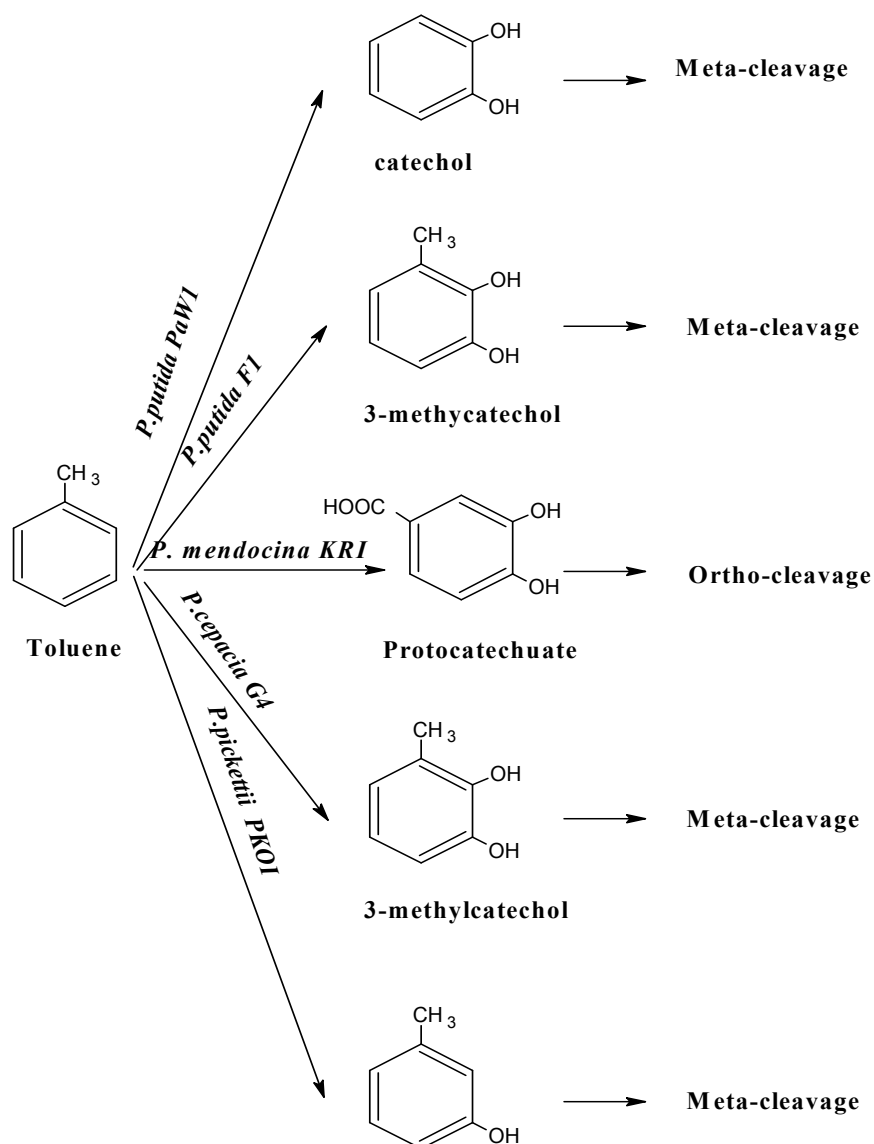
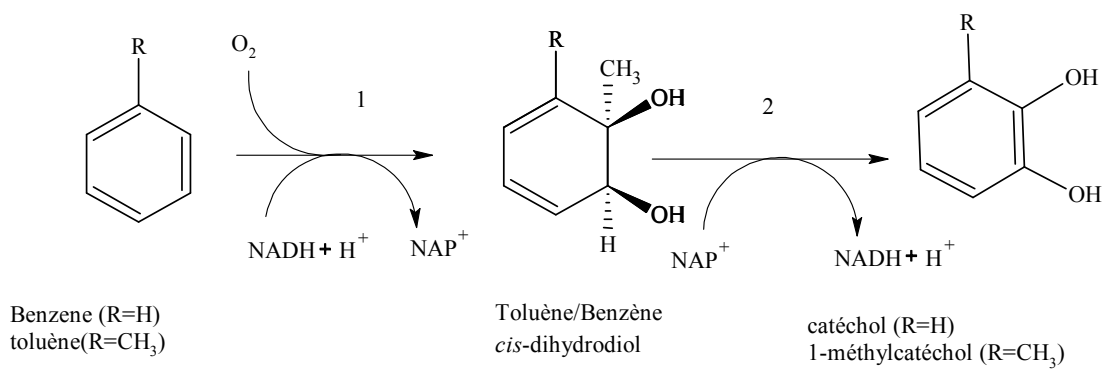


Figure 3 : Les voies aérobies de la biodégradation du toluène [44]  
m-cresol

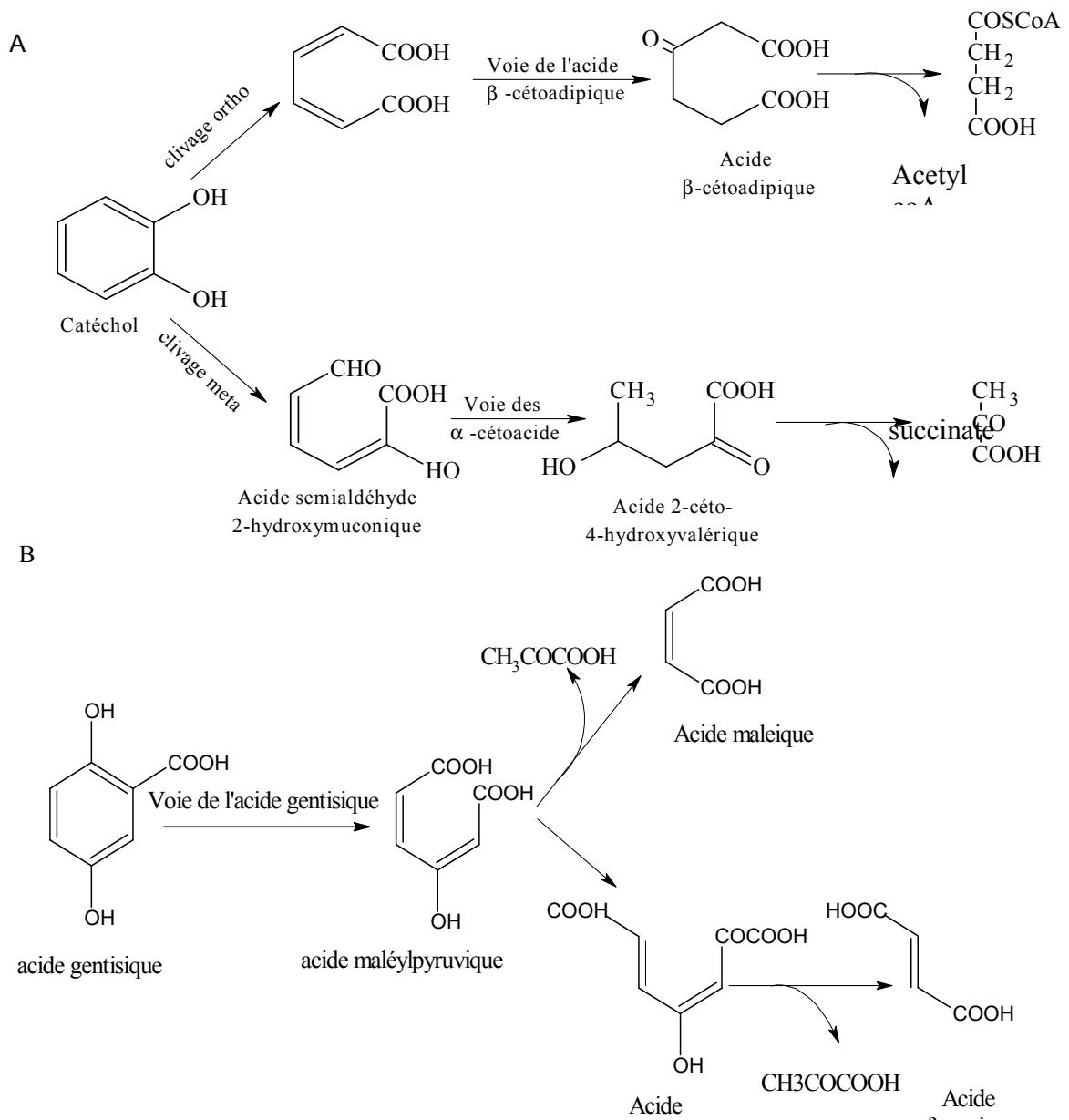


1: benzène/toluène dioxygénase  
2: cis-dihydrodiol déshydrogénase

Figure 4 : Hydroxylation du monoaromatique [43]

Les systèmes enzymatiques impliqués ont été étudiés, ils présentent des analogies avec les systèmes bactériens d'hydroxylation des alcanes, c'est au niveau du catéchol ou de ses dérivés que s'effectue l'ouverture du cycle aromatique par des dioxygénases.

Deux modes d'attaque sont possibles, selon les composés et les bactéries concernés, ils sont dits clivage ortho et clivage méta (Voir figure II-5).



**Figure 5 : Schéma général de la dégradation du noyau**

A : voies de l'acide  $\beta$ -cétoadipique et des  $\alpha$ -cétoacides.

B : voie de l'acide gentisique.

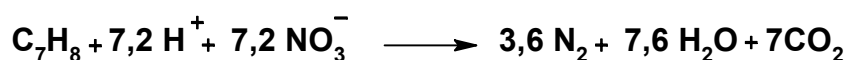
Les voies suivies aboutissent à la formation des composés du cycle citrique, en règle générale la présence de deux groupements hydroxyles sur le cycle aromatique est nécessaire pour l'ouverture du cycle, leur disposition doit être en ortho (cas du catéchol) ou en para. On suit dans ce dernier cas la voie dite de l'acide gentisique (figure II-3). La dégradation des BTEX (benzène, toluène, éthylène, xylène) chez les *P.putida* a fait l'objet d'études très détaillées [43]

3-2 En anaérobiose :

La dégradation anaérobie de composés aromatiques issus de l'attaque de la lignine (acides vanillique, syringique, benzoïque) est connue depuis un certain temps mais celle des hydrocarbures aromatiques a été plus récemment mise en évidence (Holiger et Zehnder, 1996; Iovlely, 1997). En sachant que la lignine représente ce que le règne végétal possède de plus résistant à la biodégradation.

Dans les conditions dénitrifiantes, la dégradation des BTEX a été observée dans l'ordre suivant : toluène, *p*- et *m*-xylènes, éthylbenzène et xylène.

Le bilan correspond à une minéralisation de l'hydrocarbure telle que nous le montre l'équation chimique :



La dénitrification apparaît comme le système le plus efficace thermodynamiquement, mais d'autres accepteurs d'électrons fonctionnant à des potentiels plus bas peuvent également dégrader certains hydrocarbures mono aromatiques. C'est le cas pour les bactéries sulfato-réductrices (réduction de  $\text{SO}_4^{2-}$  en  $\text{H}_2\text{S}$ ) qui peuvent minéraliser le toluène puis le *p*-xylènes, et enfin le *o*-xylène.

D'autres bactéries utilisent le  $\text{Fe}^{3+}$  comme accepteur d'électrons et le réduisent en  $\text{Fe}^{2+}$  avec minéralisation du toluène. Enfin, des groupes de bactéries dans des conditions de méthanogenèse peuvent également minéraliser le toluène en produisant du  $\text{CO}_2$  et du  $\text{CH}_4$ . Les voies métaboliques de dégradation anaérobie sont encore mal connues mais elles sont supposées analogues à celles étudiées pour des composés comme le benzoate [43, 45].

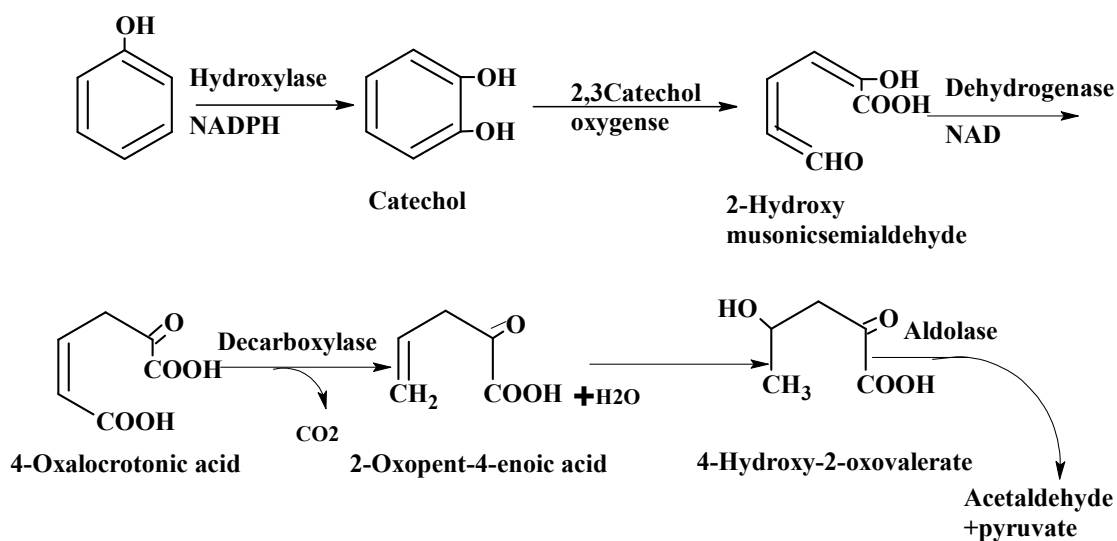
#### -4-La biodégradation du phénol

##### 4-1 En aérobiose

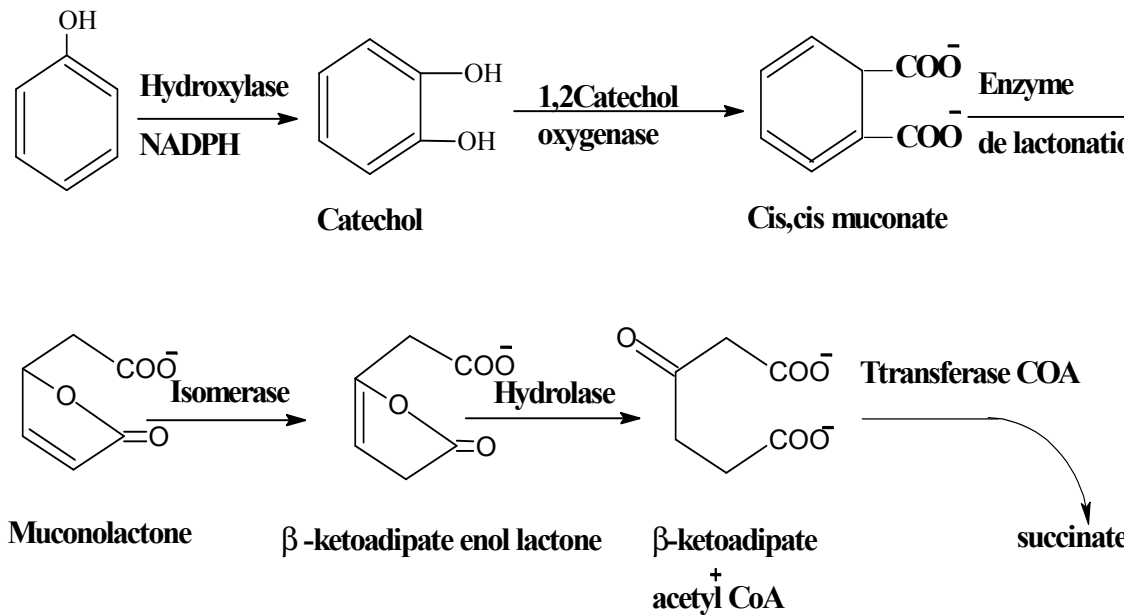
Plusieurs bactéries et champignons aérobies [5] peuvent utiliser le phénol comme source unique de carbone et d'énergie (les *Pseudomonas*, *Vibrions*, *Enterobacteries*) [3, 6, 7, 18, 20, 46-48] ; une collection de 700 bactéries obtenue par une installation de remédiation de traitement industrielle des composés phénoliques a été faite pour choisir des contraintes potentielles en tant que biodétecteurs microbiens. Les *pseudomonas* étaient le groupe le plus abondant, dont 48 souches sélectionnées de liquide ou de suspension solides pour leur réponse physiologique à l'identification du polluant phénolique [3,29].

Une voie métabolique typique de la dégradation du phénol est celle de l'hydroxylation du cycle aromatique pour obtenir un dérivé du catéchol, puis le cycle est ouvert par une ortho ou une meta oxydation, comme illustré dans la figure II-6.

*Pseudomonas putida* utilise le phénol par la voie meta. Dans la voie méta, le 2,3 oxygénase est un système d'induction où le phénol peut jouer le rôle d'inducteur [18, 6, 47].



La voie meta(*pseudomonas putida*)



**La voie ortho(Trichosporon cutaneum)**  
**Figure 6 : les voies métaboliques du phénol [6]**

Le phénol, l'acide benzoïque, l'acide anthranilique oxydés conduisent au catéchol, ce produit est lui même repris et transformé en acide muconique, betha-cétoadipique par des *Pseudomonas* (*P.aeruginosa* est capable d'oxyder rapidement le catéchol et bien d'autres composés de ce groupe) et des vibrions [42, 43].

#### 4-2 En anaérobiose :

On a observé la croissance anaérobie sur le phénol pour diverses bactéries ; Dans tous les cas étudiés, le phénol a semblé être carboxylé en 4-hydroxybenzoate et la croissance sur celui-ci dépendait de la présence de  $\text{CO}_2$ .

Les groupes de bactéries de fermentation convertissent le phénol en benzoate et décarboxyle le 4-hydroxybenzoate en phénol [49, 9].

# Bibliographie

## Bibliographie

---

- [ADM-03] Admane M., Commande d'un processus de fermentation application à la production de la levure de boulangerie, PFE, ENP 2003
- [AKS-98] Aksu.Z, investigation of the combined effects of external mass transfer and biodegradation rates on phenol removal using immobilized, 1998.
- [ALI-05] Ali O, Etude de l'influence des paramètres opératoires sur la dégradation du phénol par *Pseudomonas aeruginosa* en fermenteur, Magister, ENP, 2005.
- [BIO] ([http://bilmserv.univlyon.fr/wiki/dbdcoursd1/moin.cgi/bact\\_e9rioG\\_e9n\\_e9/croissanceBact\\_e9rienneNiveau1](http://bilmserv.univlyon.fr/wiki/dbdcoursd1/moin.cgi/bact_e9rioG_e9n_e9/croissanceBact_e9rienneNiveau1)).
- [BIS-03] Bisson M, Diderich R, phénol, fiche de données toxicologique et environnementale des substances chimiques, INERIS, 2003.
- [BLI-04] Bliefert C, Perraud R, Chimie de l'environnement (air, eau, sol, déchet), De Boeck, 2004.
- [BOE-99] Boeglin J-C, Traitement biologique des eaux résiduaires, technique de l'ingénieur, 1999.
- [BOU-02] Bourat G., Fermentations : propriétés et utilisations des microorganismes, Document technique d'ingénieur J 6002.
- [BRE-00] Breinig.S, Genes involved in anaerobic metabolism of phenol in the bacterium *thauera aromatic*; 2000.
- [BRO-99] Brown.E, traité de chimie organique, les phenols, Ellipses, 1999.
- [CEG] <http://tic.cegep-chicoutimi.qc.ca/depttab/martine/258,2>, croissance microbienne, division microbienne.
- [COU-01] Corriou J.P., Automatique et procédés chimique, Hermes 2001.
- [DAN-89] Dantigny P., Cinétique, modélisation de la croissance de *saccharomyces cerevisiae*. Thèse de doctorat, INPL Nancy, 1989.



## Bibliographie

---

- [DUV-88] Duvivier E., Optimisation des procédés semi continus de fermentation par programmation dynamique, thèse Toulouse 1988.
- [ENC-00] Encyclopaedia universalis France, phenols, Cd Rom, 2000.
- [GAU-69] Gautier J.A, Mioeque M, précis de chimie organique, Masson et C<sup>ie</sup>, Paris, 1969
- [GON-03] Gonnet I, Réduction d'un modèle complexe d'un bio procédé, PFE
- [GOU-02] Gourdon R, Aide à la definition des déchets dits biodégradables, Fermentescible, méthanisable, compostable, 2002.
- [GOS-00] Gosselin C, Extraction de produits aromatiques des goudrons de houille, Technique de l'ingénieur, 2000.
- [HER-00] Herbert.H.P, Degradation of phenol and p-cresol in reactors, 2000.
- [INR-97] INRS, Phénol, fiche toxicologique N°15, Paris, 1997.
- [ISI-89] Isidori A., Nonlinear control systems. Springer-verlag, Berlin, 1989.
- [JEA-91] Jean.R, Re.Lobry; re-évaluation du modèle de croissance de Monod, effet des antibiotiques sur l'énergie de maintenance, doctorat; univ Claude Bernard, Lyon, 1991.
- [KAI-80] Kailath T., Linear Systems, Prentice-Hall, 1980.
- [KIM-02] Kim.J-H , K.Oh, S-T.Lee, Biodégradation of phenol and cholophenols with defined mixed culture in shake-flashks and packed bed reactors, 2002.
- [LAB-03] Labrecque M-H, Etude de la capacité de deux souches de levure à dégrader le xylène maîtrise en microbiologie agricole, université de Laval, Québec, 2003.
- [LAP-99] Lapreste J.T., Introduction à MATLAB, Ed ellipses 1999.
- [LEV-93] Leveau J-Y, Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel, TEC et DOC- LAVOISIER, Paris, 1993.

## Bibliographie

---

- [LIE-98] Lieto J., Le génie chimique à l'usage des chimistes. Ed Tec & Doc [Lavoisier], 1998.
- [LIN-00] Linden G., transformation des produits alimentaires par les enzymes, Document technique d'ingénieur, F3700.
- [MAR-87] Maret L., Régulation automatique, Ed Presses polytechnique Romandes, 1987.
- [MEI-77] Meinck F, Stoof H, Les eaux résiduaires industrielles, MASSON, Paris, 1977.
- [MOH-93] Mohammadi.S, contribution à l'étude de *Bacillus thuringiensis* ; pouvoir entomocide et croissance sur 2 substrat carbonés de quelques souches isolées localement, magister, (U .S.T.H.B), 1993.
- [MUR-03] Murialdo.S.E , degradation of phenol and chlorophenols by mixed and pure cultures, 2003.
- [NAJ1-87] Najim K., Muratet G., Optimisation et commande en génie des procédés, Ed MASSON 1987.
- [NAM-06] Namane A, Adsorption-biodégradation du phénol *Pseudomonas aeruginosa* immobilisé sur du charbon actif en grain, Thèse de Doctorat, ENP, 2006.
- [PHA-99] Pham Thi Bich Hop , Modelling and control of fed-batch processes. Master Thesis, Royal Institute of Technology (Stockholm), 1999.
- [RAE-91] Lobry R, re-évaluation du modèle de croissance de Monod. Effet des antibiotiques sur l'énergie de maintenance, Thèse de Doctorat, LyonI, 1991.
- [REA-02] Reardon F-K, Mosteller D, Biodégradation kinetics of aromatic hydrocarbon mixtures by pure and mixed bacterial cultures, Environmental Health Perspectives, 2002.
- [RIV-01] Rivoire M., Ferrier J-L, .MATLAB SIMULINK STATEFLOW. Ed technip 2001

## Bibliographie

---

- [ROQ-80] Roques.H, fondamentes théoriques du traitement biologique des eaux TEC 1980.
- [SCR-00] Scriban R., Biotechnologie, TECH et DOC, Paris, 1999.
- [SCR-00] Scriban R., Biotechnologie. Ed Tec & Doc. Lavoisier, 2000.
- [SIM-70] Simon R., Meunier R., microbiologie industrielle et génie biochimique. Ed Masson et Cie, 1970.
- [TAD-06] Tadjine M., Cours en automatique avancée, cinquième années automatique, ENP 2006.
- [WAN-99] Wang.S-J, Modeling the role of metabolic intermediates in kinetics of phenol biodegradation, 1999.
- [WHI-01] Whiteley.A-S, bacterial community structure and physiological state withing an industrial phenol bioremediation system, 2000.
- [YAN-75] Yang.R.D, Humpfrey.A.E, dynamic and steady studies of phenol biodegradation in pure and mixed culture, 1975.