



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

[M] 1992 PASCAL, F. 92 INPL089N

Institut National Polytechnique de Lorraine

Thèse
présentée pour obtenir le titre de
Docteur de l'Institut National Polytechnique de Lorraine

Option
Chimie physique et génie des procédés

Frédéric PASCAL
Ingénieur de l'Ecole Supérieure de Chimie Industrielle de Lyon



Intitulée

**Modélisation de bioprocédés dans le cadre
d'un simulateur de procédés chimiques**
Application à la simulation statique et dynamique
d'un atelier industriel de fermentation alcoolique

Soutenue publiquement le 15 octobre 1992
devant la commission d'examen

Jury

Président :	M. J.-P. CORRIOU
Rapporteurs :	M. J.-B. GROS M. B. KOEHRET
Examineurs :	Mme A. BONAMOUR M. J.-M. ENGASSER M. Y. JOUANNIC M. H. PINGAUD

Remerciements

Le travail présenté dans ce mémoire a été effectué dans le cadre de l'Action de Recherche Concertée "Modélisation des Procédés Biotechnologiques" entre le Laboratoire des Sciences du Génie Chimique (ENSIC Nancy), le Laboratoire de Génie Chimique Biologique (Université Blaise Pascal Clermont-Ferrand), le Laboratoire d'Analyse et d'Etude des Procédés (ENSIGC Toulouse). Je remercie Monsieur GRAVELLE, directeur du PIRSEM, d'avoir soutenu cette action, ainsi que Madame A. BONAMOUR, responsable au département agriculture, forêt, biomasse de l'ADEME (ex AFME).

Je remercie Monsieur Daniel TONDEUR, directeur du Laboratoire des Sciences du Génie Chimique, de m'avoir accueilli dans son établissement.

Je remercie vivement Monsieur le Professeur Jean-Pierre CORRIOU pour l'honneur qu'il a bien voulu me faire en acceptant de présider ce jury et l'aide qu'il m'a témoignée pendant les trois années nécessaires à la réalisation de ce travail.

Monsieur le Professeur J.B. GROS, Professeur à l'Université Blaise Pascal et Monsieur le Professeur B. KOEHRET, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure d'Ingénieurs de Génie Chimique, ont accepté d'examiner ce mémoire et de siéger au jury de thèse. Je tiens à leur exprimer mes remerciements les plus sincères.

Je remercie Monsieur le Professeur J.M. ENGASSER, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires, de m'avoir formé aux biotechnologies et d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Je remercie Madame A. BONAMOUR, responsable au département agriculture, forêt, biomasse de l'ADEME, d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Je remercie Monsieur M. JOUANNIC, Ingénieur responsable de la production à la sucrerie-distillerie de Lillers, de nous avoir accueillis sur le site et d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Je tiens à témoigner ma profonde reconnaissance à Monsieur H. PINGAUD, coordinateur de l'Action de Recherche Concertée "Modélisation des Procédés Biotechnologiques" d'avoir suivi de près ce travail et d'avoir accepté de participer à ce jury.

Enfin, je tiens à associer à ces remerciements les chercheurs du Laboratoire et particulièrement Monsieur Christophe DAGOT pour les précieux moments passés ensemble, ainsi que le personnel des différents services pour leur aide de tous les instants.

*A Marie-Pierre qui m'a
toujours soutenu avec amour.*

*A mes parents pour toutes les nuits blanches
que je leur ai fait passer.*

*"L'abeille confond par la structure de
ses cellules de cire l'habileté de plus
d'un architecte. Mais ce qui distingue dès
l'abord le plus mauvais architecte de
l'abeille la plus experte,
c'est qu'il a construit la cellule dans
sa tête avant de la construire dans la ruche."*

K.Marx, Le Capital, I, 428.

plan

Introduction générale.	1
Chapitre n°1 :	3
Le "flowsheeting".	
Chapitre n°2 :	15
Modélisation des cinétiques biologiques.	
Chapitre n°3 :	45
Modélisation des procédés fermentaires.	
Chapitre n°4 :	73
Simulation d'un procédé fermentaire. <i>(fermentation alcoolique)</i>	
Chapitre n°5 :	103
Modélisation des coefficients de transfert de matière.	
Chapitre n°6 :	127
Simulation de fermenteurs diphasiques.	
Conclusion générale.	147
Notations.	
Références.	
Annexes.	

Introduction générale.

Depuis la généralisation des quotas à tous les produits agricoles, la recherche de débouchés non-alimentaires est un des principaux soucis de l'industrie agroalimentaire (Florentin J., 1985).

L'industrie sucrière n'échappe pas à cette tendance. Elle investit dans la production d'éthanol, une des voies les plus répandues de transformation des produits sucrés. L'utilisation de l'éthanol pour des usages pharmaceutiques, cosmétologiques ou alimentaires (alcools de bouche) est courante (Lourdier J.-P., 1985). Son emploi dans les carburants est une nouvelle voie fort controversée (Molle J.-F., 1986). Les produits concurrents sont nombreux et souvent liés à l'industrie pétrolière.

Depuis la montée des mouvements écologistes et la crise du Golfe (janvier 1991), le biocarburant est de plus en plus en vogue, mais la loi du marché international empêche son réel développement (Garinois G., 1990; Garinois G., 1991).

La réforme de la Politique Agricole Commune de la Communauté Economique Européenne donne de nouveaux arguments en faveur de l'éthanol carburant, de même les nouvelles mesures gouvernementales pour la détaxation de ces carburants (Garinois G., 1992).

Dans ce contexte, l'éthanol revêt un intérêt nouveau. Notre étude s'inscrit dans ce cadre en recherchant à appliquer les outils du "flowsheeting" aux ateliers de production d'alcool à partir de mélasses de betterave. Les nouvelles contraintes de production pourront être prises en compte et la conception de nouvelles unités de grosse capacité de production (5.000 hl/j) sera facilitée par la conception assistée par ordinateur (Morand P., 1992).

Le procédé "éthanol" est pris en tant que procédé pilote de l'industrie agroalimentaire. L'application de notre étude ne se cantonne néanmoins pas à ce seul procédé. Les modules de calcul créés sont beaucoup plus généraux et peuvent s'adapter à d'autres types de fermentation comme nous le verrons dans notre exposé.

Après une brève présentation du "flowsheeting", nous analyserons la modélisation en biotechnologie afin de décrire une méthodologie de construction de modèles susceptibles d'être intégrés dans un simulateur de procédés. Nous créerons ensuite un module de simulation au sein du simulateur de procédés chimiques ProSim.

La généralisation à l'ensemble des procédés de fermentation nécessitait la réalisation de bilans diphasiques. Une étude de la modélisation des transferts de matière dans les réacteurs polyphasiques a été réalisée et nous a conduits à étendre notre module de simulation monophasique aux réacteurs gaz-liquide.

Le "flowsheeting".

Introduction.	4
I. Les méthodes du "flowsheeting".	6
I.1. Les différents éléments définissant un problème.	7
I.1.a. Les opérations unitaires.	7
I.1.b. Les équations de connexion.	8
I.1.c. Les équations de spécification.	8
I.1.d. Les Réseaux Cycliques Maximaux.	8
I.2. Les méthodes de calcul.	9
I.3. Les différents types de logiciels.	10
I.3.a. L'approche modulaire séquentielle.	10
I.3.b. L'approche globale.	11
I.3.c. L'approche modulaire simultanée.	11
I.3.d. Positionnement de ProSim.	12
II. La simulation des procédés agroalimentaires.	12
II.1. Généralités.	12
II.2. Les objectifs.	12
II.3. Conclusion.	13

- ## Introduction.

grammes de calcul de procédé. Des modèles de plus en plus rigoureux assortis de banques de données thermodynamiques et de modèles de calcul des propriétés correspondantes font leur apparition (Rosen E.M., 1962).

- Dans les années 1970, l'idée du "flowsheeting" fait vraiment son apparition dans les bureaux d'étude. Les calculs sont suffisamment fiables pour aider les ingénieurs dans leur travail de conception (Motar R.L. et coll., 1975).

Depuis, les programmes de "flowsheeting" ont des capacités accrues, tant sur le plan des modèles d'opération unitaire ou de calcul des propriétés physiques, que sur le plan de leur accessibilité aux utilisateurs non expérimentés (Robertson J.L., 1989).

La structure d'un simulateur s'organise autour d'un certain nombre d'éléments toujours identiques. Pour traiter un problème, il faut mettre en place une interface avec l'utilisateur qui doit être la plus conviviale possible, un support informatique capable de gérer l'interface et de formuler le problème sous une forme standardisée, une bibliothèque d'algorithmes de calculs et de modèles permettant de résoudre les problèmes. Ces différentes parties sont regroupées dans la figure n°2 (Evans L.B., 1982).

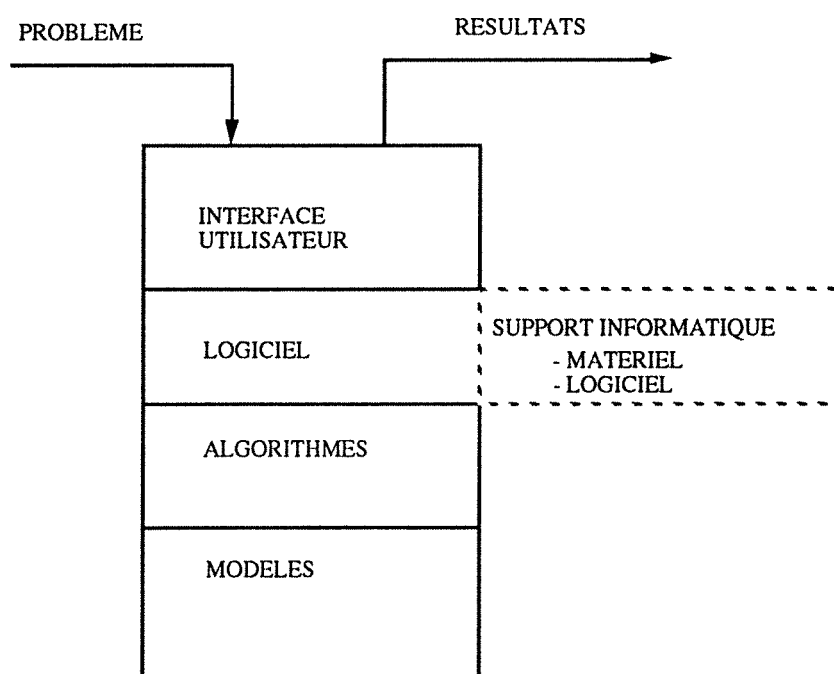


Figure n°2: Structure d'un programme général de simulation (Evans L.B., 1982).

Plus généralement, un programme de simulation est composé des éléments représentés dans la figure n°3 suivant la hiérarchie présentée dans cette même figure.

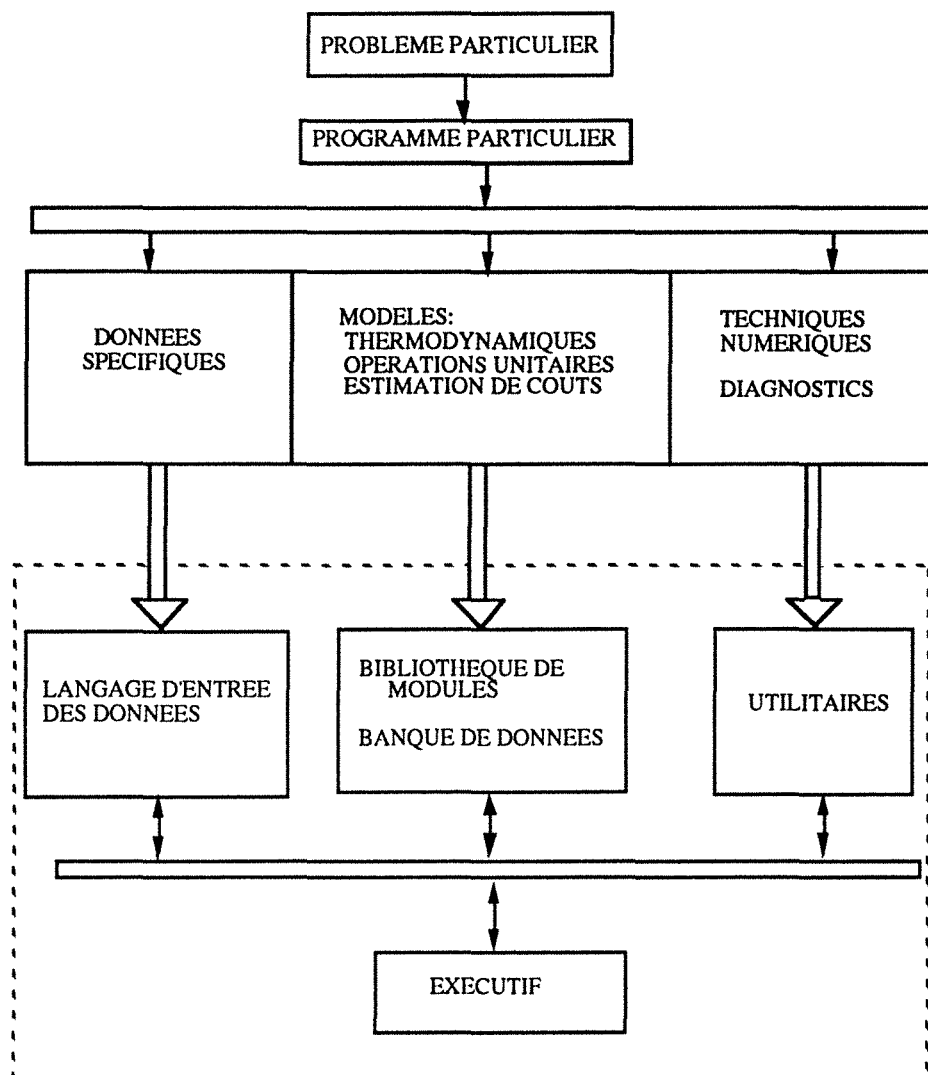


Figure n°3: Eléments d'un programme général de simulation (Westerberg A.W. et coll., Ch1, 1979).

De nombreux logiciels ont vu le jour depuis la conception du premier simulateur de procédés chimiques. Nous rappelons quelques dates et le nom des logiciels correspondants.

- Flexible Flowsheet Program (Kesler M.G., Kessler M.M, 1958),
- FLOWTRAN (Rosen E.M. et Pauls A.C., 1977),
- ASPEN (Evans B.L. et coll., 1979),
- PROCESS (Brannock N.F., 1979),
- SPEEDUP (Hernandez et coll, 1979).

Les discussions à propos du meilleur type de logiciel sont encore d'actualité. Suivant les études que l'ingénieur doit réaliser, tel ou tel type de logiciel est plus approprié. Il n'est pas rare de voir l'utilisation de plusieurs logiciels de simulation dans une même société.

I. Les méthodes du "flowsheeting".

I.1. Les différents éléments définissant le problème.

La simulation de procédés chimiques à l'état stationnaire correspond à la résolution d'un système d'équations plus ou moins important du type :

$$f[X] = 0$$

Ce système se compose de plusieurs types de sous-systèmes possédant des caractéristiques bien définies.

I.1.a. Les opérations unitaires.

Les équations du modèle d'une opération unitaire s'écrivent sous forme d'une équation vectorielle dépendant des caractéristiques des flux entrants et sortants, des paramètres de fonctionnement et des caractéristiques de l'appareillage.

Généralement en simulation, les caractéristiques des flux sortants sont les inconnues qui doivent être calculées en fonction de toutes les autres données du problème. En conception, d'autres jeux d'inconnues peuvent être utilisés : dimensions de l'installation, débit de matière ou de chaleur (Joulié X., 1987).

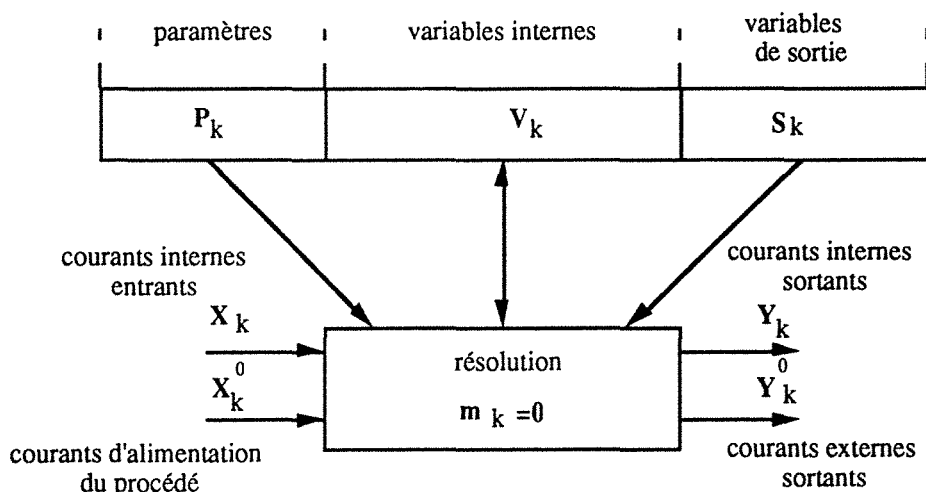


Figure n°4: Flux d'information dans un module (Koehret B., 1987)

Le système m_k se présente sous la forme:

$$m_k[X_k, X_{0k}, Y_k, Y_{0k}, P_k, V_k, S_k] = 0, \quad k = 1, \dots, nu$$

où,

X_k : vecteurs des courants entrants internes au procédé,

X_k^0 : vecteur des courants entrants externes au procédé,

Y_k : vecteur des courants sortants internes au procédé,

Y_k^0 : vecteur des courants sortants externes au procédé,

P_k : vecteur des paramètres du modèle de l'opération unitaire,

V_k : vecteur de variables internes au procédé,

S_k : vecteur des variables externes au procédé.

Ces variables correspondent à des contraintes agissant sur l'opération unitaire non liées aux caractéristiques des flux matière : quantité de chaleur, puissance à un arbre de pompe.

Les données internes sont celles issues du procédé étudié, *a contrario* pour les données externes.

Les paramètres définissant le fonctionnement d'un module sont rangés de la manière présentée ci-dessus par l'interpréteur.

I.1.b. Les équations de connexion.

Ces équations définissent la topologie du procédé. Elles représentent les égalités entre les flux sortants d'une opération unitaire et entrants dans une autre.

Ces équations sont ajoutées à l'ensemble des n_u sous-systèmes issus des opérations unitaires pour former le système global représentant le procédé.

$$m = \{m_k\} = 0, \quad k = 1, \dots, n_u;$$

pour n_u opérations unitaires dans le procédé.

Elles sont généralement de la forme.

$$X_{k2,i} = Y_{k1,j}$$

où,

$X_{k2,i}$ est le courant i entrant dans l'unité k_2 ,

$Y_{k1,j}$ est le courant j sortant de l'unité k_1 .

I.1.c. Les équations de spécification.

Dans le cas d'un problème avec contraintes, l'utilisateur ajoute un ensemble d'équations supplémentaires permettant de définir les spécifications requises sur le procédé. La forme générale de ce type d'équation est la suivante:

$$d_p[X, X_o, Y, Y_o, P, V, S] = 0 \quad p = 1, \dots, n_s;$$

avec n_s spécifications.

où,

$X = [X_k]$; $V = [V_k]$; $Y = [Y_k]$ et $S = [S_k]$ $k = 1, \dots, n_u$ n_u est le nombre d'opérations unitaires dans le procédé.

Ces équations de spécification concernent généralement la performance du procédé : débit, pression imposée à des courants, quantité de chaleur échangée.

I.1.d. Les Réseaux Cycliques Maximaux.

Les différentes stratégies de résolution de ce type de problème font appel à des procédures de décomposition du système d'équation global en sous-systèmes.

La méthode la plus simple est de réduire en sous-systèmes indépendants le système global et de réaliser le calcul (Ledet W.P. et coll., 1970).

La décomposition la plus naturelle correspond à celle définie par les opérations unitaires et la topologie du procédé (Friedmann F et coll., 1973). Ces sous-systèmes forment lors de leur résolution par l'algorithme de calcul des boucles itératives qui devront converger successivement. Ces sous-systèmes se dénomment généralement les Réseaux Cycliques (RC).

Un Réseau Cyclique Maximal (RCM) est l'ensemble des appareils appartenant à un réseau cyclique non inclus dans un autre réseau cyclique et formant un bloc irréductible. Lorsque des sous-systèmes sont liés entre eux par des équations de connexion correspondant à un recyclage ou par des équations de spécification, ils forment alors un réseau cyclique. Si ce réseau cyclique n'est pas inclus dans un autre réseau cyclique (RC), il forme alors un réseau cyclique maximal (RCM). Un procédé complexe peut posséder plusieurs RCM (Koehret B., 1987).

Le début de cette séquence de calcul est l'initialisation du ou des courants coupés : un courant coupé est le premier courant qui précède le premier module de calcul dans la séquence du RCM. Le calcul des équations de recyclage ou de spécification est résolu au niveau du RCM.

En l'absence de recyclage et de spécification, la simulation d'un procédé peut aisément être réalisée de façon séquentielle. Si des courants de recyclage ou des spécifications existent, la résolution séquentielle n'est pas suffisante.

I.2. Les méthodes de calcul.

Les méthodes de résolution numérique les plus couramment employées sont celles effectuant un calcul *via* linéarisation. Nous nous rapporterons à l'article de W.D. Seider (Seider W.D. et coll., 1991)

L'opération est la suivante :

$$f[X] = f[X_0] + M[X_0](X - X_0)$$

Ces méthodes itératives donnent une estimation de la solution X telle que $f[X]$ à partir d'un point courant X_0 après le calcul de l'opérateur $M[X_0]$.

Suivant les caractéristiques de cet opérateur, les méthodes sont différentes. Nous rappellerons les caractéristiques de $M[X_0]$ pour deux méthodes:

$M[X_0] = J[X_0]$, $J[X_0]$ est la matrice Jacobienne, c'est la méthode de Newton-Raphson.

$M[X_0] = I$, I est la matrice identité, c'est la méthode de substitution successive.

L'ensemble des différentes méthodes numériques implantées dans ProSim est repris en annexe n°1 (Joulia X., 1987).

I.3. Les différents types de logiciel.

Une fois le système d'équations décrit et la méthode de calcul choisie, il reste à définir l'approche de calcul.

Trois types d'approche sont possibles (Westerberg A.W. et coll., 1979):

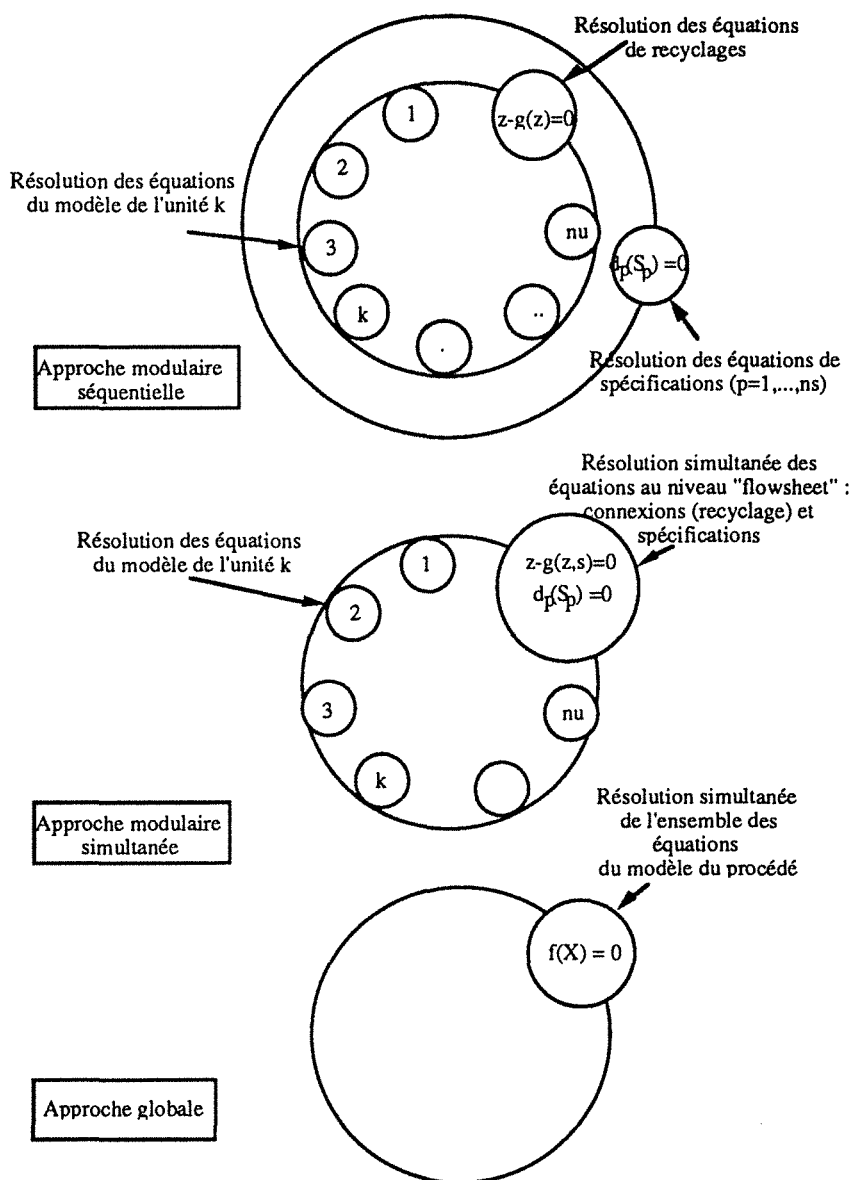


Figure n° 5: Différentes approches de calcul (Joulia X., 1987)

I.3.a. L'approche modulaire séquentielle.

Cette méthode est la plus simple. Les équations de connexion et de spécification sont

résolues séparément (Pierucci S.J. et coll., 1982). Les sous-systèmes correspondant aux n_u $[m_k]$ opérations unitaires sont résolus séquentiellement en tenant compte de la topologie du procédé. Les équations de connexion provenant des courants recyclés et les équations de spécification sont alors traitées. L'ensemble du calcul est poussé jusqu'à convergence sur ces dernières.

L'avantage de cette approche réside dans la facilité de description du système d'équations représentant le procédé.

L'inconvénient de cette méthode est que l'on ne peut pas traiter des problèmes globaux comme l'optimisation. L'ajout de spécification entraîne l'ajout de boucles de calcul et augmente la complexité de l'algorithme de calcul.

I.3.b. L'approche globale (orientée équations).

Dans cette méthode, toutes les équations sont traitées simultanément dans un seul système qui pourra être décomposé suivant des critères purement mathématiques (Shacham M. et coll., 1986). La démarche de calcul est assez éloignée de l'ordre défini par la topologie du procédé.

L'avantage de cette technique est la possibilité de traiter des problèmes d'optimisation avec des spécifications multiples sans trop compliquer la description du système.

L'inconvénient est qu'une fois le problème posé, il est souvent difficile de savoir quelle équation est mal conditionnée. L'analogie entre le calcul et la topologie du procédé n'existe plus. Les méthodes de décomposition du système d'équations ne sont plus liées à la topologie du procédé, mais à des règles mathématiques.

I.3.c. L'approche modulaire simultanée.

Cette dernière méthode fait un compromis entre les deux méthodes précédentes :

- d'un côté, la description des modules d'opérations unitaires évite à l'utilisateur de concevoir un modèle qui pourrait être mal conditionné,
- d'un autre côté, l'algorithme construit le système d'équations global afin de permettre la résolution simultanée des équations du modèle du procédé.

L'ensemble des n_u sous-systèmes $[m_k]$, les équations de connexion, les recyclages et les équations de spécification sont calculés dans la même boucle de calcul de façon séquentielle. Toutes les spécifications sont satisfaites à convergence (Koehret B., 1987).

Nous noterons qu'il existe ici deux niveaux de résolution :

- l'un au niveau des opérations unitaires,
- l'autre au niveau procédé.

Le premier calcul génère une approximation de la matrice de sensibilité du procédé: matrice

exprimant la relation entre les variables d'entrée du procédé et les variables de sortie. Cette matrice est utilisée au niveau global pour calculer la valeur des variables de sortie en tenant compte de toutes les contraintes du problème. La matrice de sensibilité permet de linéariser le système pour permettre la résolution au niveau "flowsheet".

I.3.d. Positionnement de ProSim.

ProSim est un simulateur modulaire simultané. L'analyse de la topologie du procédé et la décomposition en RC sont les premières étapes du calcul (Koehret B., 1987).

A l'inverse d'autres logiciels, la topologie du procédé n'est pas séparée de la description des modules d'opération unitaire. Le logiciel analyse la cohérence du "flowsheet". Les deux niveaux de description sont confondus dans le langage de l'interface.

II. La simulation des procédés agroalimentaires.

II.1. Généralités.

Les objectifs d'un logiciel général de simulation de procédés sont l'aide à la conception et l'analyse rigoureuse (Harris R.E., 1972), voire l'optimisation (Challand T.B., 1983) du comportement d'une installation par la résolution des bilans matière et énergie, le calcul des caractéristiques des courants en tous points et l'obtention des éléments de calcul complets de l'ensemble des appareils. L'avantage d'un tel outil informatique par rapport aux programmes de simulation spécifique réside dans son applicabilité à d'autres cas par l'utilisation de bibliothèques de programmes d'estimation de propriétés physiques, de modèles d'opérations unitaires et de techniques de résolution numérique (Koehret B., 1985).

Conçu et réalisé au sein du Laboratoire d'Analyse Fonctionnelle des Procédés de l'ENSIGC (Toulouse - France), ProSim est un système modulaire de simulation des procédés de transformation de la matière continu en régime permanent. Il appartient à la famille des programmes de "flowsheeting" modulaires simultanés (ASPEN, Process) développée essentiellement sur des procédés des industries pétrolières et chimiques.

L'utilisation extensive des simulateurs de procédés chimiques a conduit à un accroissement de capacité aussi bien au plan de la taille des systèmes d'équations traités qu'au plan des aptitudes de ces logiciels à exécuter des calculs de plus en plus complexes.

Des applications en validation de modèles ou de données sont couramment réalisées (Stephenson G.R., 1986; Serth R.W. et coll., 1986), le calcul de la précision des mesures faisant suite à ces études (Almasy G.A. et coll., 1984).

II.2. Les objectifs.

L'extension de ces simulateurs aux procédés de l'industrie agroalimentaire, comme la fermentation, entraîne l'adjonction de modules d'opérations unitaires spécifiques aux bio-industries, de modèles d'équilibre et de cinétique propres aux milieux biologiques (Jackson J.A. et coll.,

1985, ; Drown D.C. et coll., 1985; Petrides D. et coll.,1989). La spécificité des relations microorganisme/milieu/produits est une difficulté majeure à la généralisation des modèles biologiques et leur résolution par un simulateur (Badreddine A.A., 1989).

Les principales transformations de ces simulateurs de procédés chimiques pour les rendre aptes à simuler les procédés biologiques sont :

- L'extension des capacités de la structure de ces simulateurs aux procédés discontinus. Cette étude ne fait pas partie de notre travail.
- Le développement de modèles rigoureux de simulation d'opérations unitaires qui constituent le coeur du simulateur. Malheureusement de tels modèles ne semblent pas être disponibles à cause du manque de données fiables sur les comportements des micro-organismes et sur les procédés industriels mis en oeuvre.

La réalisation de ces transformations va permettre de réaliser des études de cas industriels. La fermentation acétonobutanolique a fait l'objet de calculs de coût d'installation (Lenz T.G. et coll., 1980; Marlatt J.A. et coll., 1986). L'étude de différents types de fonctionnement de procédé de fermentation alcoolique a été réalisée hors simulateur avec des programmes spécifiques (Maiorella B.L. et coll., 1984). De même, des études comparatives de différentes lois cinétiques sur un même procédé ont été réalisées (Warren R.K. et coll.,1990). La réconciliation de données pourra faciliter des études en éliminant les erreurs de mesure. Ces études sont réalisées actuellement hors logiciel de simulation (Wang N.S. et coll.,1983).

L'établissement du bilan matière est à la base de cette transformation et conditionne totalement le cadre de notre étude.

II.3. Conclusion.

L'objet de ce rapport est de présenter la méthodologie générale d'introduction d'un module de fermentation dans le simulateur de procédés ProSim. Ce travail nécessite la conception d'une structure de modèle entièrement définie par rapport aux bilans élémentaires et généralisable pour bénéficier des capacités d'un tel outil.

Une approche détaillée des mécanismes élémentaires de transformation où l'on caractérise les différentes étapes par des cinétiques adaptées est encore peu éprouvée et n'est pas trop complexe pour être intégrée dans un programme général de simulation.

Modélisation des cinétiques biologiques.

Introduction.	16
I. Rappels sur les réactions chimiques.	16
I.1. Ordre d'une réaction.	17
I.2. Etude théorique des réactions chimiques.	17
II. Analyse des cinétiques enzymatiques.	18
II.1. Théorie de Michaelis - Menten.	18
II.2. Etude de différents types d'inhibitions.	19
II.2.a. Etude de l'inhibition compétitive.	19
II.2.b. Etude de l'inhibition "incompétitive".	19
II.2.c. Etude de l'inhibition non-compétitive.	20
II.2.d. Autres facteurs pouvant influencer la réaction.	21
III. Notions de cinétiques microbiennes.	22
III.1. Approche stoechiométrique.	23
III.1.a. Ecriture matricielle de la stoechiométrie de la réaction.	23
III.1.b. Application des bilans par éléments à la simulation.	24
III.2. Vue d'ensemble sur les modèles.	25
III.3. Modèles non structurés.	26
III.3.a. Base théorique de l'approche non-structurée.	26
III.3.b. Loi hyperbolique (loi de Monod).	26
III.3.c. Loi exponentielle (loi de Teissier).	27
III.3.d. Loi polynômiale (loi de Ghose-Tyagi).	27
III.3.e. Loi cinétique simple.	28
III.3.f. Conclusion.	29
III.4. Les modèles compartimentaux.	30
III.5. Les modèles structurés.	32
III.6. Les modèles à plusieurs populations.	34
III.7. Dynamique des populations.	36
III.8. Modélisation de la mortalité.	38
III.9. Cas des inhibitions.	39
Conclusion.	41

Introduction.

Les débuts de la chimie moderne ont eu lieu au XVIII^e siècle, suite aux travaux de savants français, Lavoisier et Gay-Lussac (Pasteur L., 1860). L'étude des réactions fermentaires n'a été entreprise qu'un siècle plus tard, avec les travaux de L. Pasteur. Ces travaux se établissent les fondements de la description des nombreuses réactions cellulaires et ont jeté les bases des biotechnologies modernes. Il a fallu attendre encore un siècle pour voir apparaître les premiers essais de modélisation de ces réactions avec Monod et Tessier (Monod J. 1949, Tessier G. 1942), alors que la modélisation des réactions chimiques était réalisée depuis une cinquantaine d'années.

L'imprécision des expériences, le manque de connaissance, les besoins différents des expérimentateurs (modélisation ou commande du phénomène) ainsi que la jeunesse de ce type de modélisation expliquent la diversité des modèles. Leur variété inclut des expressions purement mathématiques, utilisées par les automaticiens et des règles qualitatives.

Nous nous proposons de présenter les formes de modélisation rencontrées habituellement dans la littérature. Afin de mieux juger ces différentes représentations, nous commencerons par des rappels de cinétique chimique, puis nous appliquerons ces principes aux réactions enzymatiques qui représentent la base des phénomènes biologiques et dont la compréhension est à ce jour, assez approfondie. Nous pourrions alors présenter les diverses formes de modélisation en gardant toujours présents à notre esprit deux faits importants:

- le principe de la conservation des éléments,
- la volonté de décrire le phénomène avec un modèle nécessitant le moins de paramètres (Wei j., 1975).

La présentation de ces modèles commencera par des notions de stoechiométrie appliquée à la réaction biologique et par les problèmes spécifiques aux systèmes incomplètement observés. Les modèles non-structurés, les modèles compartimentaux et les modèles structurés seront présentés. Leurs avantages et leurs inconvénients seront mis en valeur pour faciliter leur comparaison. D'autres types de modélisation tels ceux de la mortalité et des inhibitions, seront présentés ; leur finalité est plus la compréhension que la quantification des phénomènes.

I. Rappels sur les réactions chimiques.

Les méthodes d'étude des mécanismes réactionnels, lorsque la réaction n'a pas d'ordre simple font appel à certains principes:

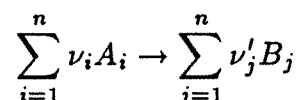
- la loi de Van't Hoff suivie par les réactions simples qui composent la réaction étudiée,
- la théorie du complexe activé qui s'applique aux intermédiaires réactionnels inclus dans

les réactions simples.

L'ordre apparent d'une réaction complexe peut être simple dans certaines conditions, suite à une dégénérescence de l'ordre de la réaction. L'étude en est alors simplifiée.

I.1. Ordre d'une réaction.

Une réaction chimique est définie par un mécanisme et une stoechiométrie représentés de la manière suivante:



La plupart des lois cinétiques des réactions simples peut être décrite par la loi de Van't Hoff définie comme suit:

$$v = k \prod_{i=1}^n [A_i]^{\alpha_i} \text{ avec } \alpha_i \text{ quelconque.}$$

où $[A_i]$ représente la concentration en composé i s'étendant à tous les réactifs, ν_i le coefficient stoechiométrique du composé i pour la réaction considérée, k la constante de vitesse de la réaction.

Si $\alpha_i = \nu_i$ alors la loi suit la loi de Van't Hoff et la réaction est dite simple.

Certaines réactions ne suivent pas cette loi. Elles ont un ordre complexe. L'identification des paramètres de la loi cinétique nécessite des approximations successives en étudiant des conditions opératoires où la loi cinétique de la réaction est simple.

I.2. Etude théorique des réactions chimiques.

La première étape de la modélisation d'une cinétique chimique est la décomposition de la réaction étudiée en réactions élémentaires. La théorie du complexe activé et le principe de l'état stationnaire de Bodenstein aux intermédiaires réactionnels sont appliqués ; les réactions élémentaires suivent la loi de Van't Hoff.

Les postulats sont les suivants:

- il existe au moins un complexe activé dont l'énergie est maximale sur le diagramme (énergie potentielle, coordonnées de la réaction: réactif-produit). La vitesse de la réaction dépend fortement de l'évolution dans le temps de la concentration en complexe activé,
- ce complexe activé est instable. La variation de sa concentration au cours du temps est nulle $v(X) = 0$, X étant la concentration en complexe activé.

L'approche par le bilan élémentaire permet de définir un jeu de réactions hypothétiques qui devra être justifié expérimentalement, *a posteriori*.

II. Analyse des cinétiques enzymatiques.

L'étude des cinétiques enzymatiques fut au commencement l'oeuvre de chimistes exportant leurs connaissances vers la biochimie. Les techniques les plus fines, telles la mise en contact rapide ou les variations d'équilibres aujourd'hui largement employées sont issues des méthodes de cinétique chimique.

L'influence des théories de la cinétique chimique sur l'étude des cinétiques enzymatiques est présentée au travers de la théorie de Michaëlis-Menten.

II.1. Théorie de Michaëlis-Menten (Briggs-Haldane).

Cette théorie élaborée au début du siècle par L. Michaëlis et M.L. Menten a été modifiée par Briggs et Haldane en introduisant la notion d'état stationnaire. Une réaction est décrite comme suit:



où S , P , E , ES et I représentent respectivement le substrat, le produit, l'enzyme, le complexe activé enzyme-substrat et l'inhibiteur.

Les concentrations seront notées entre crochets. Dans le cadre de la théorie de Michaëlis-Menten, nous écrivons que $\frac{dN_{ES}}{dt}$ est égal à zéro, d'où l'équation suivante:

$$[ES] = k_1[E] \frac{[S]}{(k_{-1} + k_2)}$$

Les bilans sur les espèces présentes dans le milieu réactionnel nous permettent d'écrire les relations suivantes:

$$r = v_{\max}[E_o] \frac{[S]}{(K_m + [S])}$$

où K_m est égal à $\frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$.

Les k_j sont les constantes des réactions considérées. Les constantes K_m et K_i sont respectivement les valeurs des constantes de Michaëlis et d'inhibition.

L'hypothèse du complexe activé n'est pas toujours vérifiée et la modification de cette égalité peut changer la relation, notamment dans le cas des inhibitions.

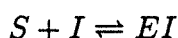
La théorie de Michaëlis-Menten a été généralisée par Haldane. En présence de grandes quantités de produit, la réaction $ES \rightarrow P + E$ peut devenir réversible. Cette propriété est utilisée pour la recherche de nouvelles voies de synthèse de composés organiques (Jones B.J., 1986).

II.2. Etude de différentes inhibitions.

L'action des inhibiteurs modifie essentiellement l'écriture du bilan sur l'enzyme et donc la loi de Michaëlis-Menten.

II.2.a. Etude de l'inhibition compétitive.

L'inhibiteur réagit avec l'enzyme pour former une espèce en équilibre mais qui ne possède plus les propriétés catalytiques de l'enzyme native.



La constante d'équilibre est K_i , I étant l'inhibiteur.

Nous obtenons l'équation de conservation suivante:

$$[E_o] = [E] + [ES] + [EI],$$

$$\text{avec } [ES] = \frac{[E][S]}{K_m} \text{ et } [EI] = \frac{[E][I]}{K_i}$$

La loi de vitesse devient alors:

$$r = v_{\max} [E_o] \frac{[S]}{(K_m(1 + \frac{[I]}{K_i}) + [S])}$$

L'inhibiteur affecte l'affinité de l'enzyme pour son substrat. La mise en évidence expérimentale est présentée en annexe n°2.

II.2.b. Etude de l'inhibition "incompétitive".

L'inhibiteur se fixe sur le complexe enzyme-substrat de façon réversible, avec une constante d'équilibre K_i . L'équation de conservation s'écrit alors:

$$[E_o] = [ES] + [ESI] + [E]$$

$$\text{avec } [ES] = \frac{[E][S]}{K_m} \text{ et } [ESI] = \frac{[ES][I]}{K_i} = \frac{[E][S][I]}{K_m K_i}$$

La loi cinétique s'écrit alors:

$$r = v_{max}[E_o] \frac{[S]}{(K_m + [S](1 + \frac{[I]}{K_i}))}$$

Nous définissons une vitesse maximale et une constante maximale de Michaëlis en présence d'inhibiteur sous la forme suivante:

$$v_{max}^* = \frac{v_{max}}{(1 + \frac{[I]}{K_i})}$$

$$K_m^* = \frac{K_m}{(1 + \frac{[I]}{K_i})}$$

La loi cinétique devient alors:

$$r = v_{max}[E_o] \frac{[S]}{(K_m^* + [S])}$$

Dans ce cas la vitesse maximale et la constante de Michaëlis sont affectées par la présence de l'inhibiteur. Une représentation graphique des constatations expérimentales figure en annexe n°3.

II.2.c. Etude de l'inhibition non-compétitive.

L'inhibiteur se fixe à la fois sur l'enzyme et sur le complexe. La loi de conservation est transformée comme suit:

$$[E_o] = [E] + [ES] + [EI] + [ESI]$$

$$\text{avec } [ES] = \frac{[E][S]}{K_m} ; [EI] = \frac{[E][I]}{K_i}$$

$$\text{et } [ESI] = \frac{[ES][I]}{K_i} = \frac{[E][S][I]}{K_i K_m}$$

La loi cinétique devient alors:

$$r = v_{max}[E_o] \frac{[S]}{(K_m + [S])(1 + \frac{[I]}{K_i})}$$

Nous notons que, seule la vitesse maximale de consommation du substrat est affectée par la présence de l'inhibiteur. La description graphique des constatations expérimentales est présentée en annexe n°4.

Dans le cas de l'inhibition par le substrat, une démonstration similaire à celles effectuées pour les différentes inhibitions peut être utilisée. La cinétique est de la forme:

$$r = v_{\max}[E_o] \frac{[S]}{(K_m + [S] + \frac{[S]^2}{K_i})}$$

Cette formule peut être approximée par le produit de la loi de Michaëlis-Menten et d'une loi d'inhibition non-compétitive:

$$r = v_{\max}[E_o] \frac{[S]}{(K_m + [S])(1 + \frac{[S]}{K_i})}$$

II.2.d. Autres acteurs pouvant influencer la réaction.

+ *Le pH.*

Lors de l'étude de la structure des enzymes, le pH peut jouer un rôle important. Les différents groupes fonctionnels des chaînes latérales formant la structure primaire de l'enzyme (groupements: glutamyl, histidyl, tryptophane) voient leurs propriétés physico-chimiques modifiées lors de la variation de la valeur du pH. Ils participent à la modification du site actif de l'enzyme, aux changements de sa conformation dans l'espace et de son affinité pour le substrat.

Plusieurs cas se présentent:

- Un seul type de groupement est ionisable, alors une seule zone de pH favorise l'activité enzymatique,
- deux types de groupement sont ionisables, l'enzyme aura un maximum d'activité à une valeur de pH proche de la neutralité. Cette zone est plus ou moins large.

Une représentation de ces courbes est faite en annexe n°5.

+ *La température.*

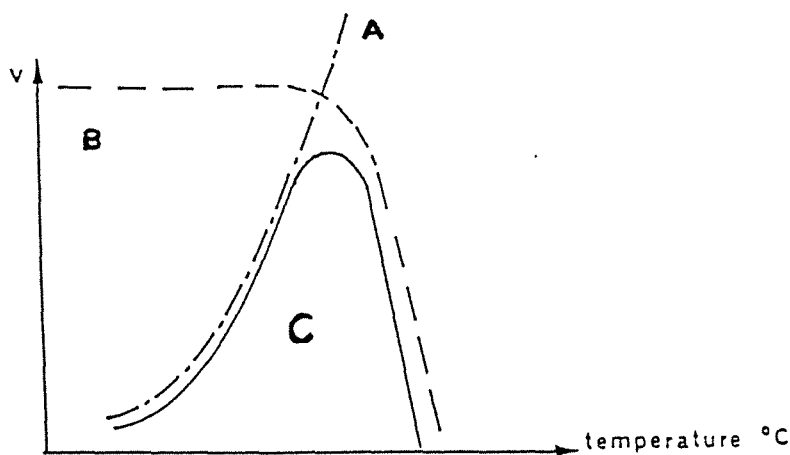


Figure n° 1: influence de la température (Richard H., 1984).

La vitesse de réaction augmente selon la température suivant la loi d'Arrhénius (courbe A). Par ailleurs, la température active la vitesse de dénaturation de l'enzyme (courbe B). On observe donc une compétition entre ces deux phénomènes. Il existe une zone où les deux effets sont équilibrés (courbe C).

+ La teneur en eau (a_w).

Des groupement lipophiles ou des sites récepteurs de cations modifient la sensibilité de la chaîne protéique des enzymes à des effets de relargage d'eau ("salting out") (Scope R.K., 1982).

En utilisant des principes simples, il est possible d'établir des lois cinétiques sur les réactions enzymatiques incluant des facteurs tel que pH, température et teneur en eau (a_w). Cette mise en équations rend assez bien compte des phénomènes observés lors de la mise en oeuvre d'enzymes en solution. Par contre, lors de réactions mettant en jeu des enzymes supportées, les phénomènes de diffusion sont généralement prépondérants. La théorie conçue pour la catalyse hétérogène par Langmuir suffit alors pour expliquer les faits. Dans le cas des enzymes dans des milieux polyphasiques où l'interface joue un rôle important, les limitations diffusionnelles sont les facteurs prépondérants.

L'élaboration des lois cinétiques décrivant les systèmes enzymatiques respecte la conservation des espèces chimiques et ne nécessite pas de nombreux paramètres cinétiques.

Les réactions en chaîne du type du maltage (transformation par action enzymatique dans le grain d'orge des chaînes de dextrine en dimères de glucose) sont représentées par des systèmes d'équations expliquant l'évolution des différentes espèces en présence.

III. Notions de cinétique microbienne.

Les lois cinétiques représentant les croissances microbiennes sont très diverses. Elles ne peuvent pas aussi facilement être formulées que celles des enzymes par des approches ne

faisant appel qu'aux théories de cinétique chimique.

III.1. Approche stoechiométrique de la réaction biologique.

Le nombre important de réactions élémentaires mises en jeu dans une cellule rend difficile la compréhension de la cinétique de la réaction biologique. L'approche de la modélisation peut être souvent simplifiée car le métabolisme principal est celui de la production de l'énergie nécessaire à la croissance et à la survie de la cellule dans le milieu de culture (Gancedo C., Serrano R., 1989). Nombre de modélisations en biologie représentent uniquement ces voies métaboliques principales et ne tiennent pas compte des autres voies, sauf si elles conduisent à des composants recherchés.

Un recouvrement voisin de 90 % des bilans carbone et électronique (bilan sur les degrés d'oxydation) est souvent satisfaisant, surtout s'ils ne peuvent mesurer que quelques métabolites (Oura E., 1977).

Si nous cherchons à compléter les mesures effectuées sur un système biologique (système souvent sous-observé), il faut alors utiliser les bilans élémentaires (carbone, azote, oxygène, hydrogène et électrons disponibles) pour obtenir ces informations supplémentaires (Tsai S.P., 1988).

Le système est décomposé en flux observés et non-observés (De Kok E.H., Roels J.A., 1980). Les flux observés sont ceux que nous pouvons mesurer avec une bonne précision (flux de substrat carboné, d'oxygène, de gaz carbonique et de produits principaux de la voie énergétique du métabolisme cellulaire). Les flux non-observés sont ceux de tous les autres composés difficilement dosables par les méthodes analytiques habituelles ou ceux dont nous ne possédons pas de méthode de mesure précise.

L'utilisation de cette décomposition en flux mesurables et observés, et flux non-mesurables ou non-observés permet l'estimation des flux manquants. L'observabilité du système en est accrue et la correction des valeurs des flux réels par des méthodes statistiques devient possible.

III.1.a. Ecriture matricielle de la stoechiométrie de la réaction.

Pour chaque élément, carbone, azote, oxygène, hydrogène et électrons disponibles, nous écrivons la conservation entre les flux entrants et les flux sortants de la cellule. Lors de l'écriture du bilan en électrons disponibles, les degrés d'oxydation généralisés sont définis de la façon suivante: oxygène (-2), hydrogène (+1), azote (-3), et carbone (+4) (Rajab A., 1986). Ce bilan permet le calcul de l'énergie produite lors de la réaction biologique par réduction de l'oxygène suivant le couple O_2/H_2O .

L'écriture du bilan se résume alors au système d'équations suivant: (en écriture matricielle)

$$\underline{C} = \underline{F}S + \underline{F}'S'$$

où $\underline{C}$ est le vecteur correspondant aux variations de l'état du système, S et S' sont respectivement les matrices de coefficients donnant la composition d'un composé en éléments (carbone, azote, oxygène, hydrogène et électrons disponibles) en unités utilisateur, $\underline{F}$ et $\underline{F}'$ sont les flux de chaque produit : flux observés et non-observés.

Nous pouvons par ce biais corriger le bilan par espèce afin de minimiser l'écart entre les valeurs mesurées et les valeurs estimées. Cette méthode d'estimation est couramment utilisée en génie biologique (Erickson L.E., Minkevich I.G., Erosin V.K., 1978).

La cellule est considérée comme un volume fermé (Perret C.J., 1960) (théorie du sac à enzymes). A l'état stationnaire, la somme des flux entrants est égale à la somme des flux sortants. Cette approche par éléments permet de prendre en compte des polymères ou des produits complexes comme la biomasse et de compléter l'information acquise par la mesure sur un système sous-observé.

Une autre méthode fondée sur la description des voies métaboliques connues permet d'obtenir par construction, les bilans présentés ci-dessus en établissant les différents chemins réactionnels définis par les voies métaboliques (Tsai S.P., Lee Y.H., 1989). L'ajout de connaissances spécifiques du métabolisme cellulaire permet de diminuer le nombre de mesures nécessaires à la description du phénomène.

III.2.b. Application des bilans par éléments à la simulation.

Le but d'un modèle en simulation est d'augmenter la capacité de prédiction. L'utilisation des seuls bilans stoechiométriques et même de l'extension de ces bilans avec des contraintes métaboliques ne suffit pas. Il faudra adjoindre des lois cinétiques correspondant à la réaction à simuler. Cette loi doit être sélectionnée avec attention afin de bénéficier au maximum des informations acquises (Cooney C.L., Wang H.Y., Wang D.I.C., 1977).

Les flux circulants dans le système défini par la cellule sont décomposés en flux modélisés et flux non-modélisés. Un flux modélisé est mesurable et une loi cinétique a été étudiée et définie pour le constituant qui le compose. On peut donc par une analyse du nombre de degrés de liberté du système connaître le nombre de flux à modéliser. Le nombre de flux à modéliser doit, afin de rendre la tâche de modélisation possible, être au plus égal au nombre de flux réellement mesurables.

Une telle approche est un complément à d'autres méthodes tant en identification qu'en simulation. Elle permet par une analyse correcte du système étudié d'augmenter grandement son observabilité.

III.2. Vue d'ensemble des modèles.

Après l'approche stoechiométrique en biologie, nous présenterons les différents types de modélisation des cinétiques microbiennes rencontrés dans la littérature (Roels J.A., Kossen N.W.F., 1978) (figure n°2).

Les **modèles descriptifs** sont des modèles décrivant les phénomènes sous une forme mathématique et dont les paramètres sont obtenus expérimentalement dans un domaine fixé.

Les **modèles structurés** visent à décrire l'évolution des phénomènes transitoires par la compréhension des mécanismes internes à la base des réactions du métabolisme.

La formulation des modèles peut être verbale alors, la description des faits observés est qualitative.

La formulation peut aussi être non-verbale et elle correspond à une mise en équation du phénomène. Le modèle est déterministe s'il décrit une population de plus de 10^{+4} individus. L'utilisation des fonctions statistiques permet la simplification des lois sous la forme de moyenne, on travaille alors sur la population globale.

Le modèle pourra être stochastique (moins de 10^{+4} individus). Il vise alors à étudier chaque individu, la forme mathématique du modèle étant continue ou discrète.

L'ensemble de ces différenciations donne un aperçu de l'étendue des types de modélisations.

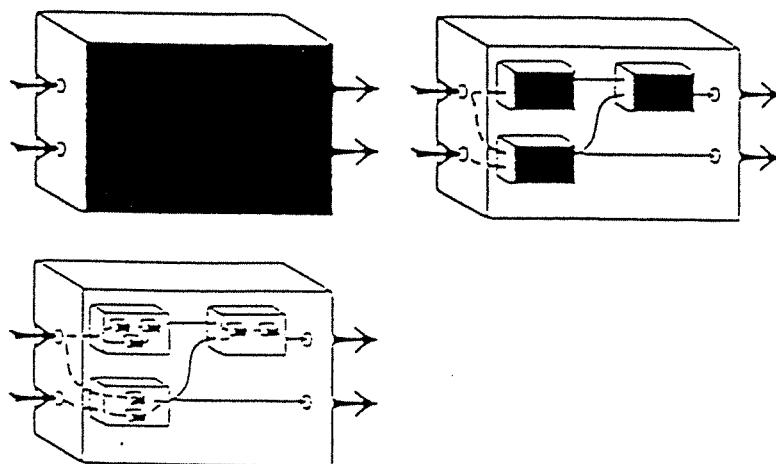


Figure n°2: les différents niveaux d'étude de la cellule (Roels J.A., Kossen N.W.F., 1978).

Nous présenterons respectivement les modèles non-structurés, les modèles compartimentaux, les modèles structurés et enfin les modèles faisant appel à plusieurs états ou populations. Ces modèles forment une extension des modèles compartimentaux. Les phénomènes de mortalité et d'inhibition seront alors analysés en fonction des connaissances acquises sur leurs interactions au niveau cellulaire: inhibition des enzymes incluses dans le métabolisme et fluidification des membranes.

III.3. Les modèles non-structurés.

III.3.a. Base théorique de l'approche non-structurée.

La cellule est considérée comme un composé unique, de formule chimique globale connue, catalysant une ou plusieurs réactions autocatalytiques.

Un parallèle entre les réactions enzymatiques et les réactions biologiques est réalisé. On suppose qu'il existe un complexe activé SX formé de la biomasse X et du substrat S . Ce complexe peut se dissocier en formant le produit de la réaction P ou de la biomasse X :



La loi qui représente un tel mécanisme suit la loi proposée par Michaëlis et Menten. On lui donne le nom de "loi de Monod" lorsqu'elle est écrite sous la forme de vitesse spécifique (Monod J., 1942).

$$\mu = q_x = q_{x\max} \frac{[S]}{(K_s + [S])}$$

et,

$$q_p = q_{p\max} \frac{[S]}{(K_{sp} + [S])}$$

où $q = \frac{r}{[X]}$, q et r sont respectivement les vitesses spécifique et volumique de la réaction biologique.

Cette méthode ne fait en aucun cas appel aux principes de conservation par éléments. Les cinétiques sont basées sur la conservation des espèces: substrat, produit et biomasse. Cette loi simple rend compte des phénomènes globaux rencontrés lors des réactions biologiques. Dans le cadre de cette théorie, d'éventuelles inhibitions peuvent être prises en compte. Les formes mathématiques utilisées pour représenter les inhibitions sont encore plus diverses. De nouvelles formulations mathématiques utilisées dans des modèles non-structurés seront alors présentées. Elles ne sont qu'un mode de description d'une réalité souvent complexe et dont la connaissance ne permet pas encore l'utilisation de lois universelles.

III.3.b. Loi hyperbolique (Monod J., 1949).

La première forme de modèle non-structuré utilisée peut être présentée par la formulation précédemment exposée. Les lois de type Monod sont les plus simples. D'autres auteurs ont créé des variantes qui font appel à des modifications de l'ordre du polynôme dénominateur de la fonction:

Loi de Monod

$$\mu = \mu_{\max} \frac{[S]}{(K_s + [S])}$$

Loi de Moser

$$\mu = \mu_{\max} \frac{[S]}{(K_s + [S]^n)}$$

Loi de Contois

$$\mu = \mu_{\max} \frac{[S]}{(K_s[X] + [S])}$$

S est la concentration en substrat et X celle de la biomasse, μ est la vitesse spécifique de croissance. On définit suivant la même approche des lois tenant compte des inhibitions par le substrat, le produit et même la biomasse. Des constantes d'inhibition sont définies pour chacun de ces composés.

Cette construction des lois cinétiques rend complexe la loi et nécessite un nombre élevé de paramètres. Cette augmentation du nombre des paramètres ne donne souvent pas plus d'informations sur le déroulement réel de la réaction ; l'ajustement de ces paramètres permet seulement de représenter l'évolution des comportements microbiens dans le domaine étudié.

III.3.c. Loi exponentielle (Teissier G., 1942).

Les lois exponentielles constituent une autre forme de modélisation non-structurée. Elles découlent des lois employées en biométrie. La modélisation suppose l'existence du même état intermédiaire SX .

La plus connue est la loi de Teissier:

$$\mu = \mu_{\max} (1 - \exp(-\frac{[S]}{K_s})).$$

Ce type de loi est souvent utilisé pour modéliser les inhibitions.

Pour établir théoriquement cette formulation, il faut supposer l'existence d'une infinité de complexes activés ayant la même affinité pour le substrat ou l'inhibiteur.

La limite de la série correspond à une fonction exponentielle.

III.3.d. Loi polynômiale (Ghose T.K., Tyagi R.D., 1979).

Dans ce cas, l'ensemble de complexes activés ayant une affinité différente pour le substrat n'est pas infini (de même pour l'inhibiteur). Nous ne pouvons pas transformer la série ainsi

créée en une fonction connue. Si l'influence de l'agent extérieur étudié sur la loi cinétique est faible, un développement limité du dénominateur de la fonction de type Monod obtenue et la transformation en une loi polynômiale peuvent être effectués. L'ajustement des paramètres justifie *a posteriori* la loi.

La loi la plus connue est la suivante:

$$\mu = \mu_{\max} \left(1 - \frac{[S]}{K_s}\right)$$

Cette dernière formulation est très utilisée par les automaticiens. En représentant les cinétiques microbiennes sous cette forme, ils utilisent des concepts qui leur sont familiers et dont ils savent aisément identifier les paramètres. Une telle formulation est facilement incorporée dans un algorithme de régulation (Sevely Y., 1982).

III.3.e. Loi cinétique simple.

On classe dans cette rubrique les lois fondées sur les rendements estimés ou obtenus expérimentalement mais aussi, les lois fondées sur les seules variations des concentrations en substrat et en produit. Ces lois ne représentent en général pas la croissance microbienne comme le modèle de Bovee (Bovee J.P., Strehaiano P., Goma G., Sevely Y., 1984). Elles peuvent représenter la variation des concentrations de la biomasse et du produit (Pirt S.J., 1965) en ne prenant en compte que la variation de la concentration du substrat.

Ces méthodes ne considèrent pas les phénomènes d'inhibition et les variations possibles du métabolisme dus à d'autres agents que les inhibiteurs.

La loi de Pirt utilise un terme appelé maintenance. Il désigne l'ensemble des phénomènes vitaux de la cellule pour survivre dans son milieu. Beaucoup de modèles utilisent ce type de concept. La mise en forme mathématique de ces pertes en énergie dues au maintien des activités cellulaires est encore difficile. Les causes physiologiques sont mal connues. Citons quelques exemples de ces pertes: les pompes ioniques (K^+ , Na^+), les phénomènes de transport avec ou sans ions, les diffusions passives (alcools, sels) qui peuvent endommager les fonctions de la cellule en faisant varier sa teneur en ces composants.

Ces lois simples sont souvent appliquées lorsque la compréhension du métabolisme et la connaissance de la composition du substrat sont difficiles (substrats complexes: mélasse, hydrolysats de déchets végétaux). L'utilisation de ce type de loi cinétique, après un ajustement correct donne de bonnes prévisions de l'évolution de la réaction dans des conditions identiques.

III.3.f. Conclusion.

Dans cette partie, les différentes formes de modélisation non-structurée ont été présentées.

Elles représentent souvent sous diverses formes l'extension des cinétiques enzymatiques, aux cinétiques microbiennes. Elles sont très employées lorsque les mécanismes régissant la réaction microbiologique sont peu connus (Han K., Levenspiel O., 1988).

L'existence d'un seul complexe activé peut être satisfaisante pour les cinétiques microbiennes (cas de la cinétique de Monod) mais l'utilisation non pas d'un, mais de plusieurs complexes permet d'accéder à une formulation plus proche de la réalité (Sauvageaud M.A., Voit E.O., 1982).

Leur domaine d'application est réduit. De nombreux modèles non-structurés ont été élaborés pour la fermentation alcoolique avec la levure (Dourado A., Goma.G., Albuquerque U., Sevely Y., 1987) mais leur utilisation se limite à la fermentation anaérobie stricte.

L'extension de tels modèles à la synthèse de P.O.U. (Protéines d'Organismes Unicellulaires) nécessite la description de l'influence de l'oxygène. Les modèles proposés ci-dessus ne tiennent pas toujours compte d'autres métabolites qui sont produits en faible quantité lors de la fermentation alcoolique, mais qui ont un rôle primordial dans l'équilibre redox de la réaction biologique: glycérol, acétate, succinate. Leur incorporation dans les bilans carbone, oxygène, hydrogène et électronique permet de les rendre cohérents. L'introduction du dioxyde de carbone, de l'azote sous forme ammoniacal et de l'eau donne des informations sur le bilan global de la réaction (Oura E. 1977).

L'adjonction des principes de conservation augmente le flux d'informations obtenu à partir d'un modèle de ce type.

La modélisation plus fine des phénomènes biologiques fait appel à d'autres types de modèle. Les modèles à compartiments sont axés sur la recherche d'une forme mathématique pouvant décrire toutes les situations rencontrées lors des variations des conditions de culture et lors de l'adaptation du métabolisme à ces conditions.

Les modèles structurés sont conçus dans une optique beaucoup plus fondamentale. Ils comportent une élaboration théorique du modèle à partir du flux d'Adénosine TriPhosphate, des réserves de composés énergétiques: tréaloses, polyphosphates, polyhydroxybutyrates et glycogène.

La généralisation de l'approche compartimentale conduit à la conception de modèles "physiologiques". Ils correspondent à une différenciation des comportements suivant d'hypothétiques états physiologiques, qui peuvent être mis en évidence à l'aide d'un "chémostat" (réacteur où le taux de croissance est lié à la concentration d'un facteur limitant dans la chambre de culture). Une généralisation plus poussée de ces méthodes entraîne des démarches encore plus proches des modèles utilisés en biométrie (Fick M., 1986).

III.4. Les modèles compartimentaux.

La construction de ce type de modèle débute par la mise sous forme de diagramme bloc

des différentes voies métaboliques. Les modes de régulation et les interactions qui orientent le métabolisme cellulaire vers une voie optimale en fonction des nutriments disponibles sont décrites. Une représentation de ce type de diagramme est le "flowsheet" d'une unité de production où l'occupation des installations est maximale en fonction des stocks disponibles. Si une denrée devient manquante, la fabrication s'oriente vers une nouvelle production.

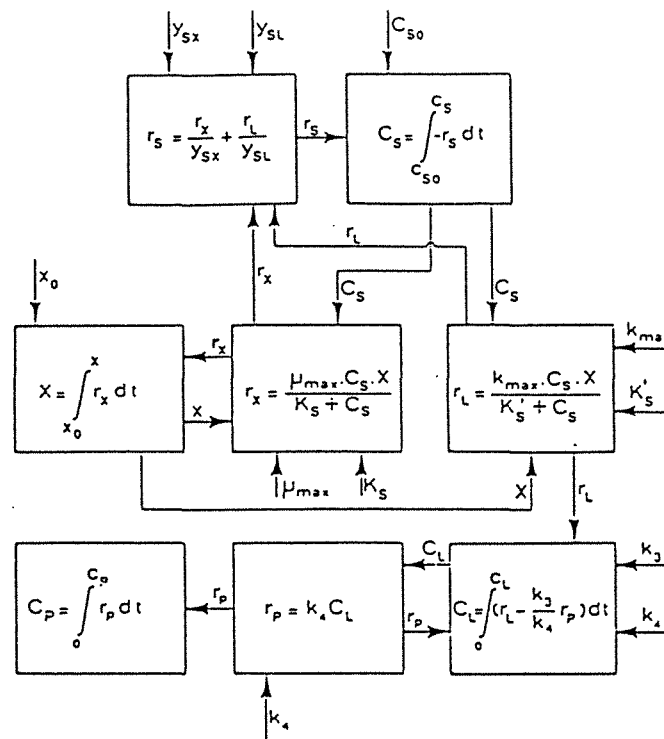


Figure n°3: diagramme bloc de la fermentation glucuronique (Koga S. et al., 1967)

La représentation des métabolites primaires par ce type de modèle est assez aisée (Sonnleitner B., Käppeli O., 1986).

Dans le cas des métabolites secondaires, la loi de Pirt prend toute son importance. De nombreux modèles incluant un terme de maintenance ont été mis au point pour représenter les phénomènes liés à cette production.

D'autres mises en équations mettent en jeu soit des mécanismes correspondant à la constitution de réserves, soit plusieurs populations qui correspondent à des états "physiologiques" afin de décrire les faits observés lors de la production des métabolites secondaires.

L'utilisation des diagrammes blocs ne demande pas *a priori* la connaissance de la stoechiométrie de la réaction. Les bilans élémentaires seront équilibrés par la suite comme dans le cas des modèles non-structurés. Certains paramètres du modèle peuvent être obtenus par

construction. Le flux d'information produit par les lois établies pour les composés principaux de notre diagramme bloc peut être alors augmenté.

Ces modèles correspondent pour la levure, à une réalité génétique en ce qui concerne les mitochondries (Alexander M.A., Jeffries T.W., 1990). Ils rendent bien compte des adaptations rapides du métabolisme à des variations de concentration dans les alimentations. La comparaison de plusieurs modèles montre la supériorité de ce type de modélisation dans la représentation de phénomènes transitoires (Sweere A.P.J. et al., 1988). La production d'acide glucuronique (Koga S. et al., 1967) ou la dénitrification ont été modélisé avec ce type de modèle.

Une autre formulation est fondée sur la comparaison de la cellule à un seul réacteur où une série de réactions a lieu à la fois successivement et simultanément. Un ajustement des paramètres de ces équations de type cinétique chimique permet d'obtenir une bonne représentation de l'évolution dynamique du système biologique étudié. Cette démarche est assez peu imprégnée des connaissances acquises sur la biologie du micro-organisme. Pour cette raison, ce type de modèle est peu utilisé (Perret C.J., 1960).

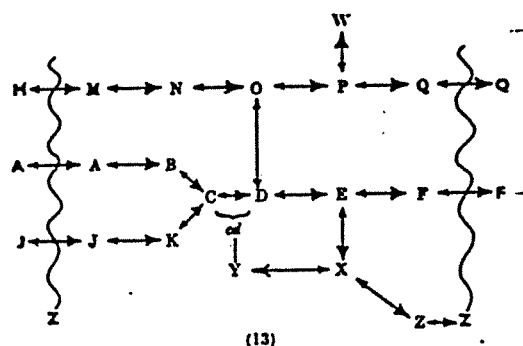


Figure n°4: schéma hypothétique d'une réaction biologique à un compartiment
(Perret C.J., 1960).

Cette approche est malgré tout satisfaisante lorsque l'ensemble des réactions impliquées dans le processus n'est pas trop important. On suppose alors que les phénomènes observés correspondent à l'utilisation des nutriments sans variation de volume de la cellule, ni *a priori* du nombre de ces dernières.

Ces deux types de modèles sont particulièrement bien adaptés à la simulation de procédés dynamiques. Lorsque le but est la simulation de phénomènes stationnaires, les équations sont beaucoup plus simples et l'utilisation de ce type de modèle devient complexe pour un faible apport d'informations.

L'utilisation d'un tel modèle sans modification permet de simuler à la fois une cuve aérée

où les conditions de culture sont prévues pour favoriser la croissance cellulaire et une cuve de fermentation où la production de métabolites est l'objectif principal.

Les modèles compartimentaux restent suffisamment simples pour que l'identification de leurs paramètres par des méthodes usuelles soit possible.

III.5. Les modèles structurés.

Les modèles structurés tiennent compte des phénomènes internes à la cellule. Ils ajoutent aux lois cinétiques des contraintes en fractionnant le métabolisme du micro-organisme en réactions unitaires interconnectées par les échanges de molécules spécifiques de l'énergétique cellulaire (Hall R.J., Barford J.P., 1981). Ces molécules sont l'Adénosine Tri-Phosphate (ATP), le Nicotinamide Adénosine Dinucléotide⁺ (NAD⁺)-Nicotinamide Adénosine DinucléotideH₂⁺ (NADH₂⁺), la Flavine Adénosine Dinucléotide (FAD)-Flavine Adénosine DinucléotideH₂ (FADH₂), la Ferredoxine (Fd)-FerredoxineH₂ (FdH₂), mais aussi les réserves d'énergie sous forme de polyphosphates, polyhydroxybutyrates et de glycogène.

Ces modèles ont des formulations plus complexes. Etant donné la difficulté de l'identification de leurs paramètres et leur faible domaine d'application, ils ne sont pas utilisés industriellement.

Leur utilisation en recherche fondamentale est très importante et peut aider à la justification de certaines hypothèses simplificatrices utilisées dans d'autres modèles. Certains phénomènes d'oscillation observés au laboratoire et souvent inobservables à l'échelle de l'unité industrielle ne peuvent être expliqués que par ce type de modèle (Heinzle E., Dunn I.J., Furukawa K., Tanner R.D., 1982).

Deux formes de modèles semblables à celles présentées précédemment existent dans la littérature. La première fait intervenir la production de NADH₂⁺ et d'ATP lors des processus respiro-fermentaires; elle correspond au type de modèles utilisé par Perret (Barford J.P. et Hall R.J., 1981). L'autre reprend les mêmes processus, mais y adjoint un compartiment d'accumulation des sources d'énergie (Hall R.J. et Barford J.P., 1981).

Le modèle présenté par Koga fait aussi intervenir la production d'ATP et de NADH₂⁺, toujours pour la production d'acide glucuronique.

La stoechiométrie et les équations du modèle sont liées dans sa formulation. Le nombre de relations cinétiques rend difficile l'omission des relations de conservation.

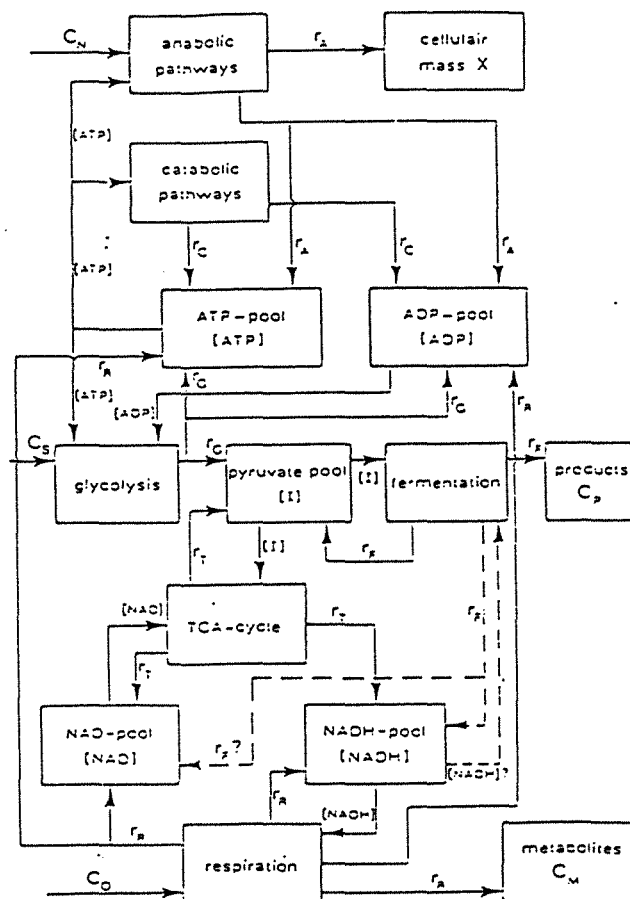


Figure n°5: diagramme bloc incluant le bilan énergétique et les flux d'ATP et NAD⁺ (Koga S. et al., 1967).

Un seul problème subsiste: les dépenses énergétiques de la cellule pour lutter contre l'environnement ne sont toujours pas modélisées par une relation simple en fonction de la composition du milieu. Un terme de maintenance subsiste dans le modèle de Hall (Hall R.J. et Barford J.P., 1981).

La modélisation de la production de composés définis comme des métabolites primaires a été présentée. Ces composés sont liés au métabolisme énergétique. S'ils ne sont pas liés à la croissance, un terme de maintenance est alors utilisé dans la modélisation, ce qui est aussi le cas pour les métabolites secondaires rarement liés au métabolisme énergétique.

Les modèles compartimentaux structurés mettent en jeu non seulement les composés utilisés par la cellule pour le transport et le stockage de l'énergie mais encore les polymères d'acides nucléiques: Acide Désoxy riboNucléique (ADN), Acide RiboNucléique messager (ARNm) et Acide RiboNucléique de transfert (ARNt) (Nikolajsen K., Nielsen J., Villardsen J., 1991). L'acquisition des paramètres de ces modèles relève souvent de longues années d'étude. Ces modèles sont pour la plupart difficilement exploitables à l'échelle industrielle (Imanaka et al., 1972).

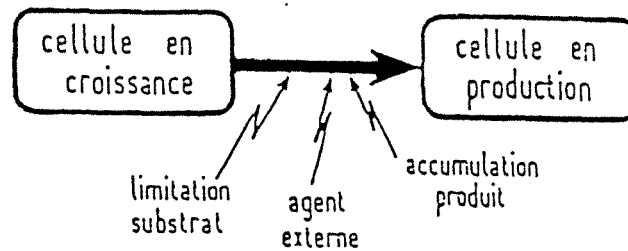


Figure n°6: facteurs influençant la transition entre la phase de croissance et la phase de production (Engasser J.M., 1984).

La production des antibiotiques ne peut pas être entièrement expliquée par des modèles de ce type. Des termes supplémentaires sont alors additionnés pour rendre compte des observations. Ces produits sont en effet souvent issus de métabolismes tardifs des souches.

L'utilisation des modèles structurés est souvent très difficile. Elle nécessite l'identification de paramètres correspondant à des grandeurs difficilement mesurables: ATP produit et consommé, NADH_2^+ intracellulaire et le rapport P/O (nombre d'ATP phosphorylé par rapport à l'oxygène consommé) (Barford J.P., 1990).

L'emploi des modèles structurés dépasse très largement le cadre de l'étude d'un cas industriel. L'utilisation, lorsque cela sera possible, de modèles compartimentaux simples est préférable ; ils permettent de couvrir de larges domaines de conditions opératoires sans compliquer la formulation du modèle.

III.6. Les modèles à plusieurs populations.

Les modèles à plusieurs populations découlent du type de modélisation précédemment présenté. Lorsque les connaissances permettant la modélisation du phénomène biologique ne sont acquises que par les mesures effectuées à l'extérieur de la cellule, il est absolument impossible de réaliser un modèle structuré. En revanche, un modèle à compartiments peut être mis au point. Ce modèle est basé sur l'hypothèse qu'il existe dans une population microbienne plusieurs comportements métaboliques. Le modèle décrit alors l'évolution d'une population microbienne non homogène où les micro-organismes ont des comportements différents suivant leur appartenance à une classe définie par des aptitudes métaboliques particulières. On définit alors une population mixte dont les règles d'évolution sont fondées sur la modification de la production de différents métabolites caractéristiques de chaque classe. De tels modèles ont été appliqués à la fermentation aérobie de la levure (Rajab A., 1986)

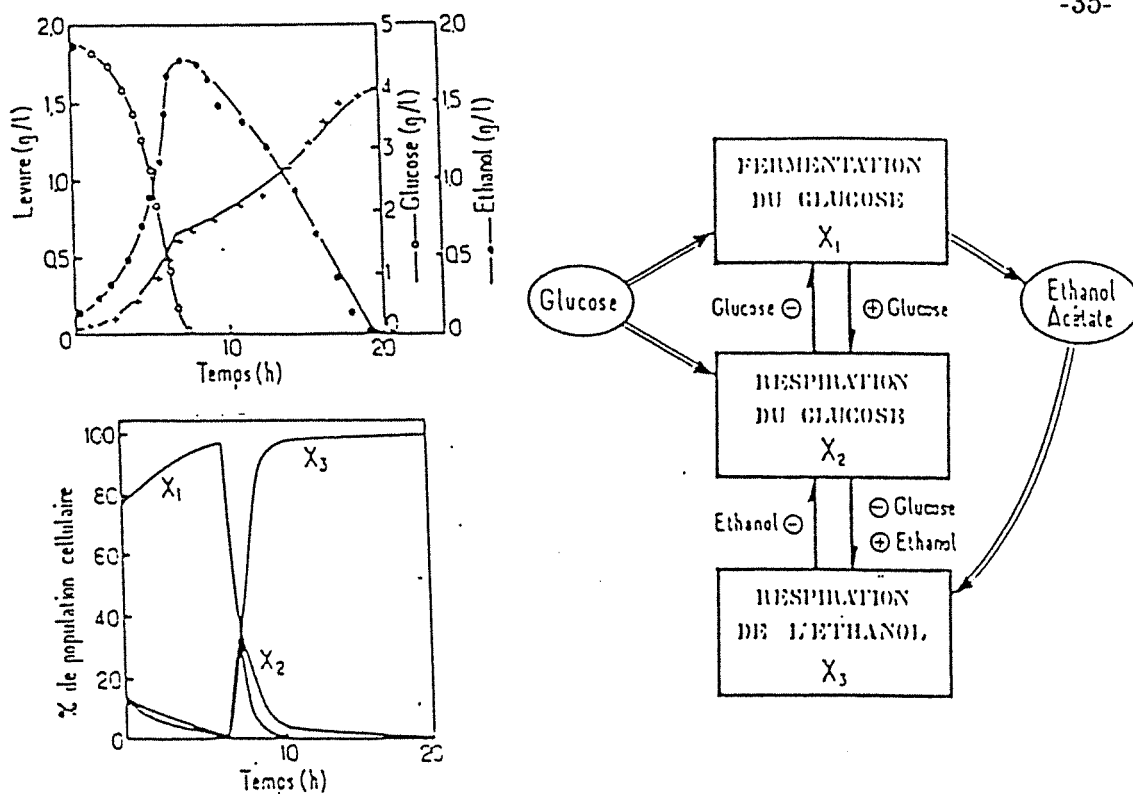


Figure n°7: modélisation de la croissance de *Saccharomyces cerevisiae* (Rajab A. 1986).

ou à la fermentation acéto-butanolique (Fick M., 1986).

Ce type de modélisation rend l'identification des paramètres plus facile à condition de réaliser une série d'expériences en "chémostat". Il est possible alors de différencier les "états physiologiques" par la mesure des productions de leurs métabolites spécifiques, et donc d'obtenir de façon sélective les paramètres correspondants. Ces différents états peuvent dans le meilleur des cas, être corrélés à un changement morphologique observable (Fick M., 1986).

Ce type de modélisation a le même avantage que les modèles compartimentaux. Il permet une bonne compréhension des cultures discontinues. Comme dans les cas précédents, modèles à compartiments ou modèles structurés, les cinétiques sont simples par rapport à la complexité des phénomènes décrits par le modèle. Les effets que l'on cherche à représenter par l'augmentation du nombre des paramètres sont inclus dans la description des liaisons entre les différentes formes du métabolisme.

La mise en équations du bilan lors de l'utilisation de modèles physiologiques est plus complexe étant donné l'augmentation du nombre des populations microbiennes. Il faut alors faire des bilans partiels, puis réunir l'ensemble de ces bilans. L'approche compartimentale est beaucoup plus simple. Dans le cas des modèles structurés, l'identification des paramètres est l'étape limitante de leur application à des fermentations sur des substrats complexes.

III.7. Dynamique des populations.

La modélisation des cultures mixtes fait appel aux mêmes principes que la modélisation compartimentale. Toutefois, ce n'est pas parce qu'il existe effectivement une différence taxonomique entre les différents germes présents dans la culture qu'il est facile d'observer ces différences. L'illustration de ce problème est présentée par une culture de bactéries appartenant à la même classe de Gram, ayant des morphologies identiques et qui ne peuvent être différenciées que par la production de gaz carbonique ou d'hydrogène (Organismes homo-fermentaire "non production de gaz carbonique" et hétéro-fermentaires" production de gaz carbonique"). Les deux populations sont d'abord caractérisées séparément, puis la culture mixte est réalisée. Le seul moyen de différencier les deux types de population est la mesure des vitesses de production d'un métabolite spécifique. La mise en forme mathématique est identique à celle des modèles physiologiques. La généralisation des classes définies par des comportements métaboliques différents conduit aux notions utilisées en dynamique des populations.

La modélisation d'une population mixte fait appel à des notions de coopération avec ou sans prédation entre espèces, de compétition ou d'indifférence. Si le potentiel biotique du milieu n'est pas suffisant pour permettre la croissance de plusieurs populations, les interactions entre populations sont alors prépondérantes; le développement des contaminants peut être étudié par cette méthode. Il ne faut donc pas faire abstraction de ces phénomènes de limitation nutritionnelle, même dans une culture homogène d'une seule espèce de micro-organisme. Dans certains cas de carence, il est possible qu'il y ait réutilisation des micro-organismes morts par leur semblables afin de pallier les déficiences du milieu de culture. Une approche qualitative de ce problème lié au potentiel biotique du milieu a été réalisée (Pavlou S., Fredrickson A.G., 1989, Baltzis B.C., Frederickson A.G., 1988).

Lors de l'utilisation totale des sous-produits créés par la lyse des micro-organismes, la réutilisation devient de plus en plus difficile en raison de leur faible potentiel énergétique (Roels J.A., 1980). Le système évolue vers un minimum d'énergie suivant le gradient lié à la consommation optimale des sources d'énergie présentes dans le milieu de culture. Lors d'une fermentation discontinue avec des levures sur un substrat de type jus sucré, on observe la consommation séquentielle du sucre puis de l'éthanol, si les conditions d'aération sont suffisantes (Rajab A., 1986).

La croissance microbienne n'est pas alors considérée comme un phénomène mécanique, mais comme l'évolution d'un système vers un point d'énergie minimale défini par les contraintes du milieu de culture. Dans cette évolution, la croissance est le phénomène prépondérant (Van der Aar P.C., Van Verseveld H.W., Southamer A.H., 1990).

Parmi les voies métaboliques possibles (partition de l'ensemble des produits formés par

le micro-organisme), le comportement du micro-organisme suit la voie qui satisfait aux contraintes du milieu (conservation des espèces atomiques et création d'entropie minimale, second principe de la thermodynamique) et qui lui permet d'obtenir la valeur maximale de croissance. Une telle approche réalise la synthèse des diverses formes de modélisation utilisées en microbiologie afin d'orienter le métabolisme vers la production d'un ou de plusieurs métabolites (Alexander M.A., Jeffries T.W., 1990).

L'aspect cinétique n'est absolument pas inclus dans l'approche précédente, une représentation globale de cette approche est la loi logistique. Cette loi est très utilisée dans l'étude de l'évolution des populations en écologie. On définit un domaine compris entre l'évolution exponentielle du système où aucune limitation n'est observée et la loi logistique où une limitation est définie. Ce domaine est appelée résistance du milieu. Cette résistance n'est autre que le gradient de croissance lié à la consommation optimale des sources d'énergie disponibles (Dajoz R., 1974).

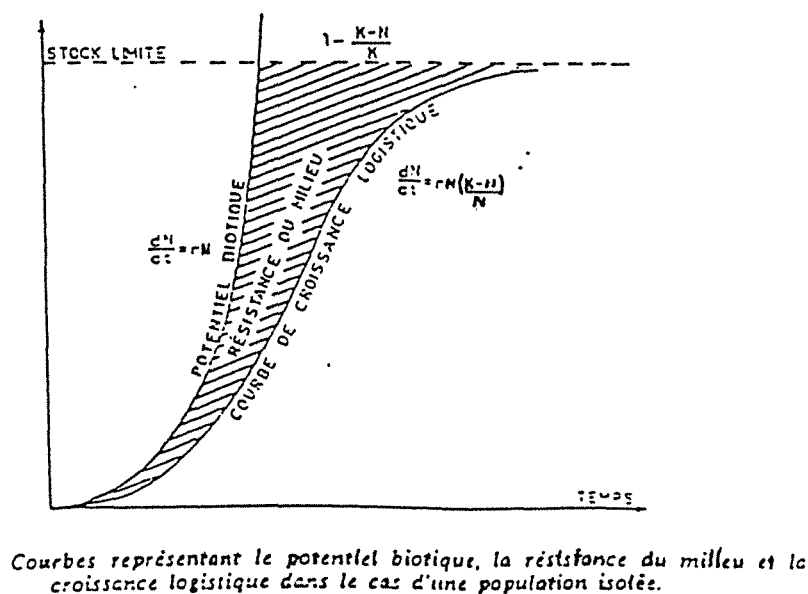


Figure n° 8: représentation de la croissance microbienne en fonction du potentiel biotique et la résistance du milieu (Dajoz R., 1974)

La mise en forme mathématique de l'évolution des populations microbiennes est d'autant plus difficile que les variables liées au problème sont complexes.

Il est assez difficile de quantifier le potentiel biotique d'une solution de nutriments utilisés pour la culture d'un micro-organisme.

L'étude de l'évolution de ces systèmes consiste principalement en l'optimisation des coefficients stoechiométriques de la réaction globale représentant l'ensemble des réactions qui composent le métabolisme de la cellule (Noorman H.J., Heijnen J.J., Luyben Ch.A.M.,

1991). Il s'agit d'une suite de réactions à la fois parallèles et successives dont la stoechiométrie globale peut varier en fonction des conditions de culture (Hamer J.W., 1989).

Ce type d'approche commence à apparaître dans la littérature à propos des systèmes experts. L'orientation des voies métaboliques est modulée suivant les conditions de culture (Seressiotis A., Bailey J.E., 1988). On introduit alors non pas des chemins définis *a priori*, mais des chemins possibles qui satisfont aux contraintes. On recherche alors la séquence optimale permettant le maximum de croissance en tenant compte de la conservation des éléments et des combinaisons de produits observées (Van der Aar P.C., Van Verseveld H.W., Southamer A.H., 1990). Ceci se rapproche des techniques utilisant les bilans fermentaires en vue d'optimiser les conditions de culture (Papoutsakis E.Y., 1984).

III.8. Modélisation des phénomènes liés à la mortalité.

Les phénomènes de mortalité et d'inhibitions sont reliés à des observations souvent difficiles à quantifier. Bien qu'elle soit exprimée sous des formes mathématiques déjà présentées plus haut: loi de Monod, loi de Teissier ou loi de Ghose-Tyagi, la relation entre la valeur des paramètres inclus dans le modèle et une réalité physiologique n'est souvent pas expliquée. La présentation qui va suivre va donc laisser une grande place à des descriptions qualitatives. Les lois ont des fondements liés plus à l'observation qu'à une élaboration théorique.

Les phénomènes de mortalité sont difficiles à modéliser et à mettre en évidence. Les méthodes utilisées pour faire la distinction entre les organismes morts et les organismes vivants sont souvent fondées sur l'exclusion par une coloration sélective, puis par comptage au microscope optique. Ces méthodes permettant la distinction entre les micro-organismes morts et vivants sont un complément à celles utilisées pour connaître la concentration totale en micro-organismes.

Il est couramment convenu que ces méthodes donnent une information qualitative qui est dans certains cas la seule accessible.

Le manque de connaissance sur les agents entraînant le début ou l'aggravation de la mortalité oblige le plus souvent le chercheur à ajouter *a posteriori* un terme relatif à la mortalité du micro-organisme (Bailey J.E., 1981). De nombreux auteurs ont proposé des modes de modélisation des phases précoces de la culture: phase de latence et phase exponentielle, mais peu ont réalisé une modélisation des phases tardives: fin de la phase exponentielle et déclin de la culture. Une approche souvent utilisée est encore un parallèle entre les cinétiques enzymatiques et les cinétiques microbiennes. En effet, dans le cas des enzymes la loi de Michaëlis peut être complétée par un terme de désactivation de l'enzyme par des agents chimiques ou physiques. La difficulté d'interprétation de ces phénomènes impose le plus souvent l'utilisation de lois simples dépendant du temps ou des concentrations.

La population microbienne peut être décomposée en trois sous-ensembles (Ciftci T., Green-

field P.F., Wang S.S., 1983): le premier est celui des cellules ayant suffisamment d'énergie pour croître, la production de métabolite étant un moyen d'obtenir cette énergie ; le deuxième est composé des cellules ne pouvant pas obtenir assez d'énergie pour croître mais assez pour survivre et le troisième comprend les cellules ne pouvant pas obtenir assez d'énergie pour survivre.

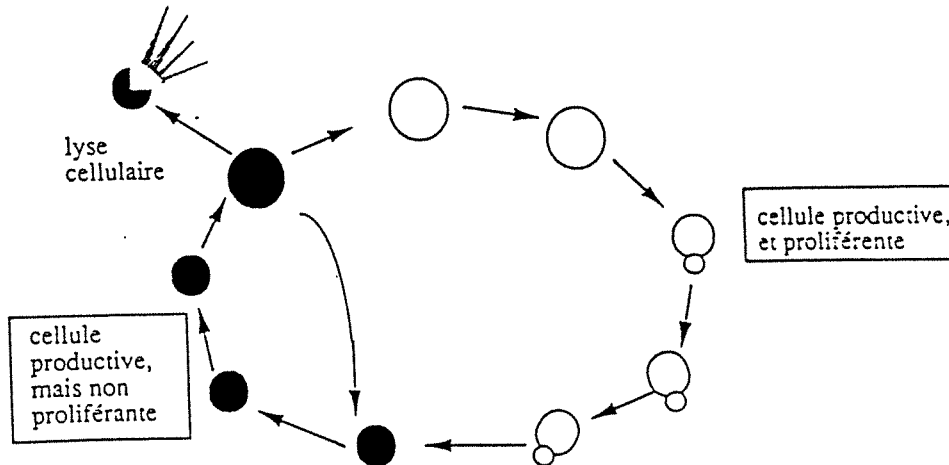


Figure n° 9: cycle cellulaire: zone de prolifération, zone de production et zone où les cellules meurent.

Cette décomposition en trois classes permet de réunir à la fois les contraintes liées au milieu (potentiel biotique) et l'utilisation de compartiments où les cellules réagissent suivant un comportement spécifique. Cette approche fait appel à une fonction de transition entre états dépendant de différentes interactions avec le milieu.

Cette notion de contraintes sur la croissance ou la non-croissance, voire à la mortalité dues au milieu est liée à la présence d'un inhibiteur. Elle est sous-jacente dans l'article de Pavlou (Pavlou S., Fredrickson A.G., 1989).

III.9. Cas des inhibitions.

La recherche des composés inhibiteurs commence par le dénombrement des produits présents dans le milieu de culture. Une opération de criblage facilite alors une sélection entre ces composés. Une étude quantifie leur action inhibitrice sur le métabolisme de la cellule.

Dans le cas de la levure, les inhibitions par le sucre, l'éthanol et même la biomasse ont fait l'objet de nombreuses études (Jones R.P., 1989). D'autres inhibitions ont été mises en évidence comme les inhibitions par les alcools supérieurs: propanol, isobutanol, alcools isoamylique et amylique (Leão C., Van Uden N., 1982) ou l'osmolarité, mesure reliée à la pression osmotique du milieu (a_w) (Jones R.P., Greenfield P.F., 1986).

Le phénomène d'inhibition par le produit est souvent lié à la quantité présente dans le milieu mais aussi à la durée d'exposition (Dasari G., Worthe M.A. Connor M.A., Pamment

N.B., 1990). Dans le cas de l'éthanol deux explications sont données et conduisent à la même conclusion: l'éthanol accumulé dans la cellule provoque des modifications dans le métabolisme (D'amore T., Panchal C.J., Russell I., Stewart G.G., 1988). La première explication suppose une résistance à la diffusion des produits vers le milieu extérieur (Jones R.P., Greenfield P.F., 1985). Cette résistance provoque l'accumulation de ces produits dans l'espace intra-membranaire. La deuxième suppose que l'effet inhibiteur est cumulatif et que la durée d'exposition à l'agent inhibiteur doit être prise en compte dans la mesure de l'effet (Nanba A., Nishizawa Y., Tsuchiya Y., Nagai S., 1987).

Une explication peut être donnée en étudiant les phénomènes de relargage de l'eau au niveau des molécules biologiques et plus particulièrement des enzymes (Scopes R.K., 1982). L'accumulation d'alcools ou d'acides dans l'espace intra-membranaire affecte l'ensemble des étapes du métabolisme par l'inactivation de chaque enzyme y participant (Do D.D., Weiland R.H., 1980).

Les phénomènes similaires sont observés dans l'inhibition par le substrat.

Les excès en produit et en substrat inhibent la croissance et la production microbienne en modifiant la valeur de l'osmolarité du milieu. L'influence de la pression osmotique est directement liée à la concentration en sucre ou en alcool. L'étude de substrat complexe comme les mélasses, demande de prendre en compte ce nouveau paramètre. Dans les substrats naturels, la présence de composés en faible quantité, dont la diversité est grande, augmente la valeur de l'osmolarité du milieu indépendamment de la concentration en sucre ou en éthanol (Rose D.J., 1972, Rose D.J., 1976). Les sels sont en grande quantité et modifient ce paramètre. L'ensemble de ces composés regroupant entre autre les aminoacides est souvent appelé "non-sucre". Leur présence peut modifier le métabolisme de la levure (de Miniac, 1987). La mise en évidence de ces effets est par contre difficile car l'expression de l'osmolarité en fonction des concentrations présentes dans le milieu n'est pas linéaire pour les électrolytes (Jones R.P., Greenfield P.F., 1986). L'osmolarité est décrite dans la littérature sous la forme de lois exponentielles, variant en fonction des concentrations des solutés les plus représentés: sucre et alcool (Letourneau F., Villa P., 1987 ; Wolniewicz E., Essia Ngang J.J., Letourneau F., Villa P., 1990).

Les faits observés sont le plus souvent exprimés de manière quantitative sous forme d'une équation de Monod généralisée (Han K., Levenspiel O., 1988) ou de formulations classiques type Teissier ou Ghose-Tyagi.

Les inhibitions et les phénomènes de mortalité ont été présentés. Leurs effets bien qu'observés sont souvent mal compris. Les inhibitions provoquent une diminution de l'efficacité des voies métaboliques sur le plan énergétique (rendement énergétique par unité de substrat) qui entraîne alors l'augmentation des difficultés de la cellule à survivre dans le milieu de culture entraînant la mort du micro-organisme.

Le micro-organisme renouvelle continuellement les enzymes et les différentes molécules qui sont impliquées dans les réactions en son sein. Une part importante de l'énergie fournie par le catabolisme est consommée à cette fin.

D'autre part, les produits et les substrats en grande quantité dans le milieu de culture augmentent la vitesse de désactivation des molécules biologiques et limitent donc les capacités de la cellule à puiser l'énergie dans le milieu. Le résultat de ces deux effets est de provoquer une limitation non seulement de la production mais aussi de la croissance. Le milieu s'appauvrit en nutriments, l'inhibition ne dépend que du temps et de la concentration en inhibiteur.

Conclusion.

Dans le cas des cinétiques enzymatiques, une dizaine de paramètres sont nécessaires pour définir les lois cinétiques. Environ cinq de ces paramètres sont réellement nécessaires pour effectuer un calcul de dimensionnement d'un réacteur enzymatique.

Dans le cas des réactions biologiques, le nombre d'étapes de transformation entre le substrat et le produit est beaucoup plus élevé. Ces étapes se déroulent de manière séquentielle et parfois parallèle avec des effets de compétition entre les séquences.

Au début nous avons vu que des modèles déterministes non-structurés pouvaient être les modèles les plus satisfaisants dans des domaines restreints où les comportements des micro-organismes conduisent à la formation de certains produits dans des proportions connues. C'est le cas de la fermentation alcoolique de la levure où sont produits principalement: l'éthanol, le gaz carbonique, le glycérol et la biomasse. Il est connu que la production de glycérol dépend de la production de biomasse (Oura E., 1977) ce qui minimise l'accumulation de cofacteur réduit. La production d'acétate et de succinate est aussi favorisée lorsque la quantité d'oxygène disponible est plus élevée. Ces méthodes s'apparentent aux bilans fermentaires utilisés par Papoutsakis et Tsai pour optimiser les conditions de fermentation (Papoutsakis E.Y, 1984; Tsai S.P., Lee Y.H., 1988).

La production de glycérol, d'acétate et de succinate ne représente généralement que 10 pour cent de la conversion du substrat carboné (Gancedo C., Serrano R., 1989), le produit principal étant l'éthanol. De ce fait, de nombreux modèles ne tiennent pas compte de la production de ces produits secondaires (Dourado A., Goma.G., Albuquerque U., Sevely Y., 1987).

Une seule voie métabolique est considérée, les rendements de conversion sont alors constants, seules les lois cinétiques sont explicitées, il n'y a pas de matrice de stoechiométrie explicite.

La séparation de la formulation des lois cinétiques des rendements de conversion correspond à une distinction entre les lois cinétiques des réactions de conversion et les relations de stoechiométrie correspondantes (Frederikson A.G., Ramkrishna D., Tsuchiya H.M., 1970).

L'approche compartimentale réalise cette distinction (Sonnleitner B., Käppeli O, 1986). La production de biomasse est la somme des diverses productions dues aux différentes voies métaboliques: fermentaire et respiratoire. La production réelle de biomasse tient compte à la fois de la vitesse de transformation du substrat et du mode de transformation qui lui, dépend des conditions de culture imposées par le milieu. L'approche de Käppeli (Sonnleitner B., Käppeli O., 1986) prend surtout en compte la quantité d'oxygène disponible et le type de substrat consommé par la levure: flux de glucose ou d'éthanol. Par cette adaptation des rendements aux conditions de culture, il a été possible d'accroître le domaine d'utilisation du modèle.

Les modèles déterministes structurés considèrent la production d'ATP (Adénosine Tri-Phosphate). Leur inconvénient est la difficulté à fournir une loi de consommation de l'ATP produit par les réactions mises en jeu dans le métabolisme. Certes, la production d'ATP permet de faire un choix quant à la voie métabolique dont le gain énergétique est maximal pour le micro-organisme, mais la production de cofacteur réduit comme le NADH_2^+ ou le FADH_2 ne conduit pas toujours à la même quantité d'ATP (Van der Aar P.C., Van Verseveld H.W., Southamer A.H., 1990).

Le rapport P/O (taux de phosphorylation par rapport à l'oxygène consommé) n'est pas constant. Il varie suivant les souches et l'âge de la culture entre une valeur de 3 et une valeur de 1 (Barford J.P., 1990). Ce rapport est directement lié à la structure de la chaîne respiratoire, ensemble d'enzymes incluses dans la membrane de la mitochondrie chez les Eucaryotes (cellules animales, levures, champignons) (Alexander M.A., Jeffries T.W., 1990) et dans la membrane cytoplasmique chez les Procaryotes (bactéries).

Chez ces organismes, l'oxydation des cofacteurs réduits peut être réalisée par d'autres enzymes membranaires (catalase, oxydoréductase). On ne peut donc pas connaître avec précision le mécanisme de conversion du NADH_2^+ et du FADH_2 en ATP.

Chez la levure, d'autres mécanismes peuvent entrer en jeu pour équilibrer le bilan cofacteur réduit-cofacteur oxydé, comme la production de glycérol, vue précédemment (Fiechter A., Fuhrmann G.F., Käppeli O., 1981).

Ces modèles supposent des hypothèses sur les réactions de conversion des cofacteurs et sur l'utilisation de l'ATP produit difficiles à vérifier. De plus, la mise au point de ces modèles est effectuée sur des milieux synthétiques (Hall R.J., Barford J.P., 1981) et leur généralisation, voire leur utilisation avec des milieux complexes comme la mélasse sont difficilement envisageables (Alard G., de Miniac M., 1985).

Une approche identique aux modèles à compartiment a été utilisée avec les modèles physiologiques (Rajab A., 1986). Dans ce type de modélisation, chaque état physiologique correspond à un jeu de rendement différent, la cinétique restant d'autre part identique.

La conclusion de cette revue sur les méthodes de modélisation est qu'il est nécessaire de faire la distinction entre les voies de transformation et les lois cinétiques de conversion. Les modèles de type compartimental semblent s'adapter à cette contrainte tout autant qu'à celles des simulateurs de procédés chimiques existants.

Modélisation des procédés fermentaires.

I.Approche théorique de la modélisation d'une réaction biologique.	46
I.1. Construction de la matrice de stoechiométrie.	46
I.1.a. Méthode des bilans macroscopiques.	46
I.1.b. Méthode des "voies métaboliques".	47
I.1.c. Méthode de modélisation complète.	48
I.2. Elaboration des lois cinétiques.	49
I.2.a. Influences élémentaires.	49
I.2.b. Influences cumulées.	50
II. Modélisation de la fermentation alcoolique.	50
II.1. Comportement fermentaire de la levure.	51
II.1.a. Transformation des sucres.	51
II.1.b. Métabolisme de l'azote.	54
II.1.c. Phénomènes d'inhibition par l'éthanol en anaérobiose.	55
II.1.d. Activité de l'eau.	56
II.1.e. Effet de l'oxygène dissous.	56
II.1.f. Cinétique de la fermentation.	57
II.2. Matériel et méthodes.	57
II.2.a. Matériel.	57
II.2.b. Prélèvements.	58
II.2.c. Analyses.	58
II.2.d. Méthodes de calcul.	62
II.3. Construction du modèle.	62
II.3.a. Justification expérimentale du modèle réactionnel.	62
II.3.b. La fermentation alcoolique.	65
II.3.c. Généralités.	67
II.3.d. Construction de la matrice de stoechiométrie.	68
II.3.e. Expression cinétique des vitesses spécifiques.	70
Conclusion.	71

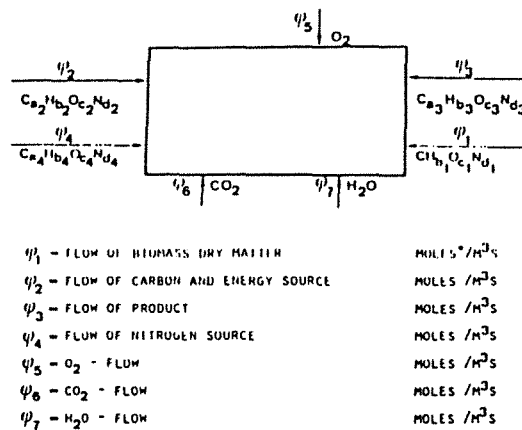
I. Approche théorique de la modélisation d'une réaction biologique.

I.1. Construction de la matrice de stoechiométrie.

Les méthodologies d'élaboration des stoechiométries biologiques utilisent soit les bilans macroscopiques, soit les chemins métaboliques. Nous allons présenter ces deux méthodes et montrer leur intérêt dans notre étude.

I.1.a. Méthode des bilans macroscopiques.

Le bilan macroscopique (Roels J.A., 1983) conduit à définir un ensemble de F espèces chimiques réagissant lors d'une réaction biologique. La connaissance du nombre de flux indépendants est nécessaire pour estimer le degré d'observabilité de la réaction biologique, c'est-à-dire le nombre de mesures nécessaires pour obtenir une représentation complète de la réaction. Il est égal à $F - 4$ si l'on utilise les bilans élémentaires (C, H, N, O) et à $F - 2$ si seuls, les bilans carbone et le degré de réduction généralisé (Rajab A., 1986) sont utilisés.



* ONE MOLE OF BIOMASS IS DEFINED TO BE THE AMOUNT CONTAINING ONE GRAMMOTON OF CARBON

Figure n° 1: Bilan fermentaire macroscopique (Roels J.A., 1981).

Le bilan de la réaction s'écrit :

$$\sum_{i=1}^F A_{ij} N_i = 0, \quad j = 1, \dots, 2 \text{ ou } 4$$

soit sous forme matricielle :

$$\underline{A} \underline{N} = \underline{0}$$

où A_{ij} , élément courant de $\underline{A}$, est le coefficient définissant la composition en élément j du composant i et N_i , coordonnée de $\underline{N}$, le flux intra-cellulaire du composant i .

Le rang de la matrice $\underline{A}_{(F, 2 \text{ ou } 4)}$ dépend du nombre de degrés de liberté du système (Noorman

H.J. et coll., 1991). Les flux des substances carbonées sont définis en équivalent C-mole. Lors de réactions complexes faisant intervenir plusieurs réactifs et produits, la méthode des bilans macroscopiques ne permet pas de saturer le nombre de degrés de liberté du système. Une autre méthode peut être employée: la méthode des "voies métaboliques".

I.1.b. Méthode des "voies métaboliques".

La méthode des "voies métaboliques" ajoute un certain nombre de contraintes issues de la connaissance spécifique des biotransformations (Tsai S.P. et coll., 1988). Lorsque les intermédiaires métaboliques sont connus, l'utilisation de cette méthode est possible.

Il faut définir R réactions linéairement indépendantes mettant en jeu les S espèces chimiques intervenant dans le phénomène.

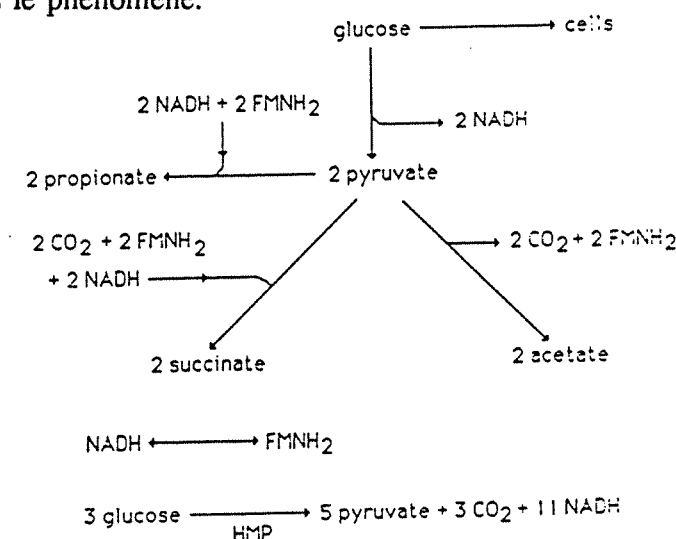


Figure n°2: Exemple de schéma métabolique (Tsai S.P. et coll., 1988).

Le bilan réactionnel s'écrit:

$$\sum_{i=1}^S \nu_{ij} S_i = 0, \quad j = 1, \dots, R$$

soit sous forme matricielle :

$$\underline{\nu} \underline{S} = \underline{0}$$

où ν_{ij} est le coefficient stoechiométrique de l'espèce i dans la réaction j ; par convention, il est positif pour un produit et négatif pour un réactif i . S_i est la coordonnée i du vecteur des flux métaboliques.

Soit K le nombre d'intermédiaires réactionnels des chemins métaboliques ; le nombre d'espèces à prendre en compte dans la construction des réactions métaboliques est alors:

$S = F - 2 + K$ si l'on utilise les seuls bilans carbone et degré de réduction généralisé et $S = F - 4 + K$ si le bilan élémentaire est utilisé.

On définit l'ensemble des flux réactionnels comme suit:

$$N_i = \sum_{j=1}^R \nu_{ij} X_j, \quad j = 1, \dots, S$$

soit sous forme matricielle :

$$\underline{N} = [\nu_{ij}]^T \underline{X}$$

où $\underline{N}$ est le vecteur des flux réactionnels N_i , $\underline{X}$ le vecteur des vitesses des "voies métaboliques" X_j .

Les flux des K intermédiaires sont supposés nuls d'après la théorie du complexe activé. Le nombre de degrés de liberté du système est $R - K$. La méthode des chemins métaboliques conduit à un nombre de degrés de liberté toujours plus faible que celui de la méthode macroscopique. Cependant, cette méthode nécessite une connaissance plus fine du comportement métabolique du micro-organisme. Sa généralisation est plus difficile.

I.1.c Méthode de modélisation complète.

Dans le cas d'une fermentation industrielle sur milieu complexe non parfaitement défini, il n'est possible de mesurer qu'un nombre restreint d'espèces chimiques. Pour cette raison, nous cherchons à modéliser de manière précise un ensemble de réactions biologiques mettant en jeu S espèces chimiques dont Q sont recensées, mesurables et de comportement cinétique étudié.

Le nombre de degrés de liberté du système est $d = S - 4$ en faisant un bilan élémentaire complet.

Dans notre cas, le nombre de contraintes additionnelles nécessaires à la description du système est $c = S - 4 - Q$.

Trois cas sont possibles :

- $c \geq 0$, le système est indéterminé. Il faut alors ajouter P contraintes telles que $c - P = 0$.
- $c = 0$, le système est parfaitement déterminé.
- $c \leq 0$, le système est sur-déterminé. Il y a redondance des informations, le modèle pourrait être élargi à d'autres espèces chimiques.

La connaissance du phénomène biologique issue d'expérimentations permet de saturer les degrés de liberté du système, c'est à dire d'extraire un ensemble de contraintes

supplémentaires. Le choix de ces contraintes est subjectif (bilan entropique cellulaire, données sur le métabolisme, etc).

La méthode pour saturer le nombre de degrés de liberté proposée par Tsai/Papoutsakis est fondée sur l'utilisation des intermédiaires réactionnels du métabolisme et l'application de la théorie du complexe activé (Tsai S.P., 1988; Papoutsakis E.Y., 1984). Une bonne connaissance des voies métaboliques est nécessaire. Cette méthodologie n'est plus adaptée lorsque le substrat de la réaction est complexe et mal défini ; cette méthode est applicable à des micro-organismes dont les voies métaboliques sont connues.

Le concepteur pourra choisir un certain nombre de contraintes qui lui permettront de définir de façon univoque la stoechiométrie de la réaction.

I.2. Elaboration des lois cinétiques.

Les lois cinétiques doivent être modulaires afin de rendre compte des diverses limitations et inhibitions lors de la culture.

I.2.a. Influence élémentaire.

Chaque influence élémentaire d'un constituant sur une réaction peut être définie par une des formulations non-structurées existantes. La forme la plus générale est la loi de Monod généralisée (Levenspiel O., 1980; Han K., Levenspiel O., 1988).

$$\frac{r_i}{X} = K(1 - \frac{[R]}{[R^*]})^n$$

où $[R]$ est la concentration en réactif, $[R^*]$ est la concentration critique en réactif, K et n des constantes et $\frac{r_i}{X}$ la vitesse spécifique de la réaction.

Les autres formes telles que les lois de Moser, Andrews, Tessier et Luong donnent un grand choix de représentations satisfaisant de nombreux cas de limitation ou d'inhibition.

loi de Monod	$\mu = \mu_{max} \frac{[S]}{K_s + [S]}$
loi de Moser	$\mu = \mu_{max} \frac{[S]}{K_s + [S]^n}$
loi de Tessier	$\mu = \mu_{max}(1 - \exp(-\frac{[S]}{K_s}))$
loi de Andrews	$\mu = \mu_{max} \frac{[S]}{K_s + [S] + \frac{[S]^2}{K_i}}$
loi de Aiba	$\mu = \mu_{max}(1 - \exp(-\frac{[S]}{K_i}))$
loi de Luong	$\mu = \mu_{max}(1 - (\frac{[S]}{K_i})^n), n \geq 0$

tableau n°1: différents types de loi cinétique.

où μ et μ_{max} sont respectivement la vitesse spécifique et la vitesse spécifique maximale

de la réaction. $[S]$ est la concentration en substrat. K_s , K_i et n sont des constantes des modèles.

I.2.b. Influence cumulée.

L'élaboration d'une loi cinétique globale représentant l'ensemble des influences peut se réaliser de plusieurs manières.

L'utilisation de la loi puissance (Sauvageau A., Voit E.O., 1982) permet de décrire les synergies entre les différentes réactions et influences.

$$r_i = \alpha_i \prod_{j=1}^{\text{nocomp}} [X_j]^{g_i} - \beta_i \prod_{j=1}^{\text{nocomp}} [X_j]^{h_i}$$

où r_i est la vitesse. α_i et β_i sont des constantes. $[X_j]$ sont les concentrations des constituants. g_i et h_i sont des constantes du modèle.

Dans notre cas, les interactions entre les différentes réactions sont représentées par la matrice de stoechiométrie qui contiendra d'autant plus d'éléments que les réactions pourront interagir. L'utilisation des concepts présentés par Pavlou ou Mankad (Pavlou S. et coll., 1989; Mankad T., Nauman E.B., 1992) suffit pour représenter la loi cinétique. Les termes de la loi cinétique sont définis de la façon suivante:

$$G_{ij} = G_i G_j \quad \text{pour deux composants}$$

où G_i et G_j sont des influences élémentaires définies au paragraphe précédent, et dans le cas de l constituants influençant la cinétique:

$$G_{1...l} = \prod_{m=1}^l G_m$$

On peut donc définir une influence multiconstituants sur la cinétique sans employer une formulation trop complexe.

II. Modélisation de la fermentation alcoolique.

De nombreux modèles traitant de la fermentation éthanolique sont proposés dans la littérature, mais leur transposition *in extenso* est difficilement possible dans le cadre de la simulation d'un atelier de fermentation industrielle.

Le substrat utilisé est de composition complexe (diversité des sources de carbone et d'azote) et variable (traitement en aval). La représentation des productions de co-métabolites

(glycérol, acides organiques, alcools lourds, etc) est prise en compte essentiellement en vinification ou fermentation brassicole et n'est pas traitée dans les modèles spécifiques (haute productivité, forte concentration cellulaire) (Dourado A. et coll., 1987).

L'influence des gaz est généralement traitée de manière spécifique dans les articles en rapport avec la production de biomasse ; dans ce cas, l'aération est toujours prépondérante (Rajab A., 1986).

Le métabolisme de l'azote n'est pas intégré dans la plupart des modèles de représentation car sa concentration dans le milieu est considérée comme excédentaire. Cette dernière contrainte est souvent prise en compte de manière uniquement stoechiométrique (Sonnleitner B. et coll., 1986).

D'autres approches réalisent des bilans fermentaires exhaustifs, mais ne font pas cas du bilan de l'azote. Il est nécessaire d'y adjoindre les cinétiques relatives aux réactions présentées (Papoutsakis E.Y., 1984). Elles sont difficilement transposables aux réactions dans les milieux mal définis (Roels J.A., 1983). Leur généralisation aux milieux de fermentation industriels demanderait la connaissance complète de leur composition.

D'autres articles proposent une organisation de la structuration de modèles mais leur applicabilité au système étudié se heurte à la difficulté d'identifier les paramètres (modèles structurés en général), la définition des cinétiques et leur intégration simple dans un simulateur de procédé continu (Sonnleitner B., 1986). Leur loi cinétique est définie avec des fonctions dont les dérivées ne sont pas continues.

Par contre, la méthode des bilans fermentaires (Papoutsakis E.Y., 1984) couplée avec la dynamique de flux proposée par Moser (Moser A., 1990) répond complètement à notre cahier des charges. Cette combinaison permet d'utiliser des lois cinétiques modulaires (Pavlou S. et coll., 1989) et une matrice de stoechiométrie parfaitement définie.

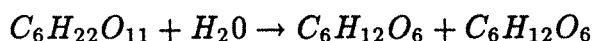
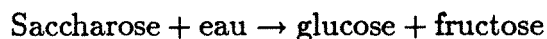
II.1. Comportements fermentaires de la levure.

La transformation du saccharose de la mélasse, sous-produit sucré de l'agriculture, en éthanol par la levure (Oura E., 1977 ; Genevois L., 1950) est un mécanisme complexe mettant en jeu des voies biochimiques diverses et interconnectées. Un aperçu rapide des principales réactions de dégradation effectuées dans le métabolisme de la levure va être présenté en insistant sur les mécanismes de régulation et les changements de métabolisme qu'ils peuvent entraîner.

II.1.a. Transformation des sucres.

Le saccharose est hydrolysé généralement hors de la cellule par une enzyme (l'invertase). Il peut dans certains cas être transporté par une maltose-perméase et hydrolysé dans la cellule par une maltase (Gancedo C. et Coll., 1989).

Le résultat de l'hydrolyse fournit à la cellule des quantités équimolaires de fructose et de glucose selon :

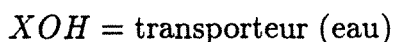
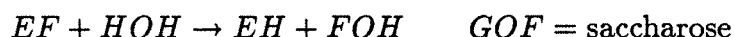


Ces deux molécules sont transportées à l'intérieur de la cellule et transformées dans le catabolisme en produisant de l'énergie nécessaire à la cellule.

+ *L'invertase*.

L'invertase (β -D fructofuranoside fructohydrolase ; E3.2.1.26) est une glycoprotéine de masse molaire de 270000 daltons avec une partie glucidique d'environ 50% composée de mannanes phosphorylés.

Elle catalyse l'hydrolyse des sucres possédant un résidu terminal non-substitué β -D fructofuranosyle (cas du saccharose) selon les étapes suivantes (Combes D., 1981) :



Le modèle classique de représentation de l'action de l'invertase libre est une loi de saturation avec une inhibition par excès de substrat:

$$r = V_{max} \frac{[S]}{(K_m + [S] + \frac{[S]^2}{K_i})}$$

où V_{max} est la vitesse maximale d'hydrolyse, S est la concentration en substrat, K_m est la constante de saturation, K_i est la constante d'inhibition.

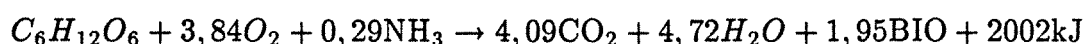
La viscosité du milieu, la température, le pH et la concentration en eau ont un effet sur la vitesse d'hydrolyse.

Aux faibles concentrations en saccharose, le glucose exerce une inhibition non compétitive partielle et le fructose une inhibition compétitive. La structure du saccharose est modifiée lors du passage des faibles aux fortes concentrations par la création de liaisons hydrogène (Combes D., 1981; Vitolo M., 1985).

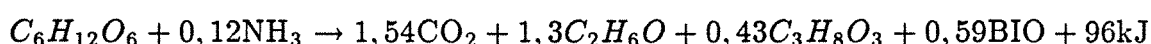
+ *Transformation des hexoses.* (Gancedo et coll., 1989)

Saccharomyces cerevisiae est une levure anaérobie facultative. La source de carbone cellulaire est produit par la voie des pentoses. Le pyruvate, source d'énergie cellulaire, est synthétisé par la voie de la glycolyse. En présence d'air, le glucose est respiré, transformé en pyruvate qui entre dans l'anabolisme par le cycle de l'acide citrique. Le glucose peut aussi être transformé en acide oxaloacétique et en acide α -acétoglutarique pour synthétiser des acides aminés.

L'équation globale est (Leveaux J.Y. et coll., 1986) :



En l'absence d'aération, la fermentation des hexoses conduit à l'éthanol et au glycérol.



+ *La voie glycolytique.*

Les hexoses sont transportés à l'intérieur de la cellule par un système de perméases. Il existe plusieurs systèmes de transport du glucose : l'un avec une forte affinité pour le substrat, un autre avec une affinité moyenne et enfin un dernier, avec une faible affinité (Postma E, 1988). Des valeurs des constantes d'affinité pour le fructose pourront être trouvées dans la littérature (Barnett J.A., 1976).

Les systèmes de transport du glucose (mais aussi du galactose et du maltose) sont inactivés par une carence en ammonium. Les sucres intracellulaires sont phosphorylés par 3 enzymes différentes :

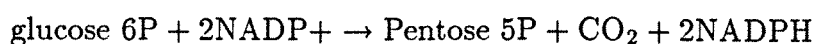
- Hexokinase A (PI) phosphoryle le fructose 2,5 fois plus vite que le glucose (E2.7.1.1),
- Hexokinase B (PII) dont la vitesse de phosphorylation est égale pour les 2 sucres (E2.7.1.1),
- Glucokinase n'agissant que sur le glucose (E2.7.1.2).

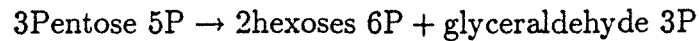
Le glucose-6-Phosphate, point de départ métabolique de la glycolyse et de la voie des pentoses dont la biosynthèse de polysaccharides conduit essentiellement au pyruvate.

Le pyruvate en aérobose entre dans le cycle de Krebs fournissant les différents produits de synthèse. Les voies anapérotiques (shunt du glyoxylate ou fixation du CO_2) permettent la régénération des intermédiaires de ce cycle.

+ *La voie des pentoses.*

Cette voie aboutit à la formation de deux produits importants, le NADPH (réducteur) et les pentoses phosphates (précurseur des nucléotides) et se divise en une partie oxydante irréversible et une partie oxydante réversible :





+ *La dynamique de la glycolyse et régulation du métabolisme.*

La vitesse de la glycolyse est généralement comprise entre 100 et 300 mmoles d'hexose $\text{min}^{-1} \text{h}^{-1}$ (Gancedo C. et Coll, 1986). Cette vitesse est limitée par l'action de la phospho-fructokinase et les procédures de transport.

II.1.b. Métabolisme de l'azote.

La consommation de l'azote est très importante dans notre étude puisque les acides aminés sont précurseurs des alcools lourds (figure n°3) (Hough J.S. et coll., 1971). Malheureusement, peu d'auteurs se sont intéressés aux cinétiques de leur métabolisation.

Les acides aminés, les amines, les purines et les pyrimidines sont absorbés par les cellules et incorporés directement dans les constituants cellulaires (Jones M. et coll., 1965) ou dégradés dans la cellule où l'azote est libéré *via* l'ammonium et le glutamate.

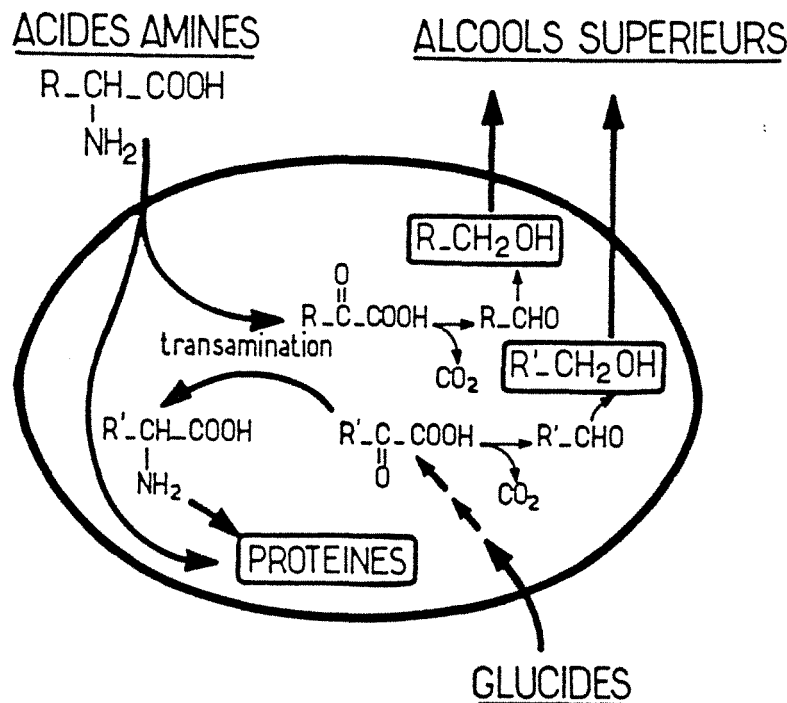


Figure n°3: Métabolisme de l'azote, (Marc I., 1986).

Trois classes de transporteurs des acides aminés ont été détectées (Ramos-Jennhomme C. et coll., 1979) :

- Transporteurs non spécifiques *GAP* à faible affinité et réprimé par NH_3 avec une vitesse d'entrée élevée.
- Transporteurs spécifiques de classes d'acides aminés à vitesse d'entrée réduite et actifs sur NH_3 .

- Transporteurs spécifiques d'un acide aminé contrôlé par rétroinhibition.

Ces différentes classes sont représentées dans les tableaux suivants (Ramos-Jeunhomme C. et coll, 1979):

perméase commune	perméase 1	perméase 2
ARG - LYS	ARG	LYS
GLU - ASP	THR	ASP
THR - SER	LEU	GLU
PHE - TYR	SER	MET
		VAL
		HIS
		PHE

tableau n°2: Système de transport des acides aminés chez Saccharomyces cerevisiae.

L'utilisation des acides aminés est hautement régulée et hiérarchisée:

Groupe	Acides aminés	Caractéristiques d'absorption
I	ASP GLU ASN-GLN THR SER ARG LYS	Absorbés immédiatement complètement
II	VAL MET LEU ILE HIS	Absorbés avec retard et graduellement
III	GLY PHE TYR ALA NH ₃ TRP	Absorbés lentement et après disparition des acides aminés du groupe I
IV	PRO AMB	Pas absorbés

tableau n°3: caractéristiques d'absorption et ordre d'entrée des amino acides.

L'ammoniaque est absorbé après la disparition de certains acides aminés et inhibe certaines perméases. Il exerce une répression catabolique sur l'assimilation des autres sources azotées. Cette répression correspond à une induction enzymatique qui facilite une adaptation rapide à la source d'azote disponible.

La vitesse maximale du système transporteur de l'azote est réduite de manière exponentielle lorsque la concentration en éthanol augmente. L'éthanol interagit avec les systèmes de transport dans les régions hydrophobes de la membrane plasmique (Leão C. et coll., 1984).

II.1.c. Phénomènes d'inhibition par l'éthanol en anaérobiose .

L'éthanol est un inhibiteur dont l'action se fait ressentir sur les niveaux suivants (Jones R.P. et Coll, 1986):

- La modification du rendement cellulaire.

Une baisse de 50% à 54 g/l d'éthanol et de 97% à 150g/l est observée. Jones R.P. propose

un modèle de variation du rendement suivant:

$$Y_{\frac{x}{s}} = Y_{\frac{x}{s}max}(1 - k[E])\exp(k'[E])$$

où k et k' sont les constantes d'inhibition, E est la concentration en éthanol. La concentration seuil à partir de laquelle un phénomène d'inhibition est observé varie entre 15 et 26 g/l à 20° et est proche de 10 g/l d'éthanol à 30°.

- La mortalité.

Elle est négligeable de 70 à 80 g/l d'éthanol. Elle est de 50% entre 90 et 100 g/l et augmente jusqu'à 90% à 150 g/l d'éthanol.

- La croissance.

A 25° et 50 g/l elle est normale ; il n'y a plus de division à 100 g/l d'éthanol.

- Les métabolites.

Des concentrations supérieures à 25 g/l abaissent les concentrations internes de *Glucose 6P* déshydrogénase, d'alcool déshydrogénase et d'isocitratélyase

- La membrane.

Les caractéristiques de la membrane varient, notamment les concentrations des lipides suite à une forte concentration en alcools.

- La sensibilité aux toxiques.

Une augmentation de la sensibilité aux autres toxiques est favorisée par la présence d'alcools.

- L'assimilation de l'azote.

Le métabolisme de l'azote est inhibé au niveau des transporteurs

II.1.d. Activité de l'eau (a_m).

L'inhibition par l'éthanol est due en partie à la baisse de l'activité de l'eau (Jones R.P. et coll., 1986, Rose D., 1976). L'activité de l'eau reste constante pendant la phase exponentielle de croissance malgré les variations des concentrations en substrat S et produits P , puis elle baisse en fin de culture.

D'après Jones R.P., l'activité de l'eau est une variable plus intéressante à suivre que la concentration en éthanol ou en sucres pour comprendre les phénomènes d'inhibitions. Elle est en relation avec l'osmolarité. *Saccharomyces cerevisiae* répond à une baisse de l'activité de l'eau par une production de glycérol (Agarwall G.P., 1990).

II.1.e. Effet de l'oxygène dissous.

L'oxygène dissous stimule la croissance aux forts taux d'aération. Sa présence, même en faible quantité favorise la synthèse des stérols et des acides gras insaturés nécessaires au maintien des propriétés mécaniques de la membrane (Marc I., 1986). Le minimum d' O_2

requis pour une bonne conservation des souches, même en anaérobiose est de 1 ppm dans le milieu. On admet généralement le chiffre de 0,0015 mg/g de biomasse (Leveaux J.-Y. et coll., 1986).

II.1.f. Cinétique de la fermentation alcoolique.

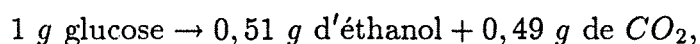
On distingue généralement à l'aide des courbes d'évolution des différentes concentrations en fonction du temps en réacteur discontinu, deux phases correspondant à des comportements métaboliques distincts (Rajab A., 1986) :

- une première phase où le glucose est fermenté et où l'éthanol s'accumule dans le milieu.
- une deuxième phase où la levure métabolise l'éthanol accumulé durant la première phase. Cette deuxième phase n'est observée qu'en fermentation aérobie.

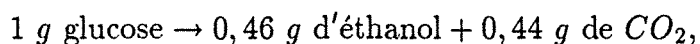
Les deux phases sont séparées par un temps d'adaptation de la souche au deuxième substrat (diauxie).

Les vitesses spécifiques sont différentes pour chacune des deux phases et sont fonction de la concentration initiale en glucose. Dans la première phase, l'éthanol est produit non seulement lorsque les levures croissent mais aussi quand les cellules sont en état de "survie". Sa production n'est pas liée à la croissance. La production d'éthanol s'accompagne d'un fort dégagement de CO_2 et d'une production de métabolites secondaires dans des quantités faibles et variables. Le bilan fermentaire observé en anaérobiose est légèrement différent du bilan théorique en raison de la production de sous-produits (Leveau J.-Y. et coll., 1986) :

bilan théorique,



bilan observé,



Les différents effets recensés dans la littérature sont reportés en annexe n°6. Les sous-produits de la fermentation sont recensés en annexe n°7.

II.2. Matériel et méthodes.

II.2.a. Matériel.

Le dispositif expérimental utilisé au laboratoire et sur site industriel est composé essentiellement d'une cuve de 3 litres en inox qui sert de cuve d'échantillonnage sur l'installation industrielle et de cuve de fermentation au laboratoire. Des bossages sur cette cuve en facilite sa connexion aux piquages du bar de prélèvement et sa vidange ; ils permettent aussi d'y installer un capteur à volatils et une sonde de température. Le capteur est relié à un

chromatographe à ionisation de flamme. Le principe de ce capteur est rappelé dans la partie "méthodes" de ce paragraphe. Cette installation est présentée sur la figure n°4. Au laboratoire, la connexion avec les cuves industrielles n'est pas à prendre en compte.

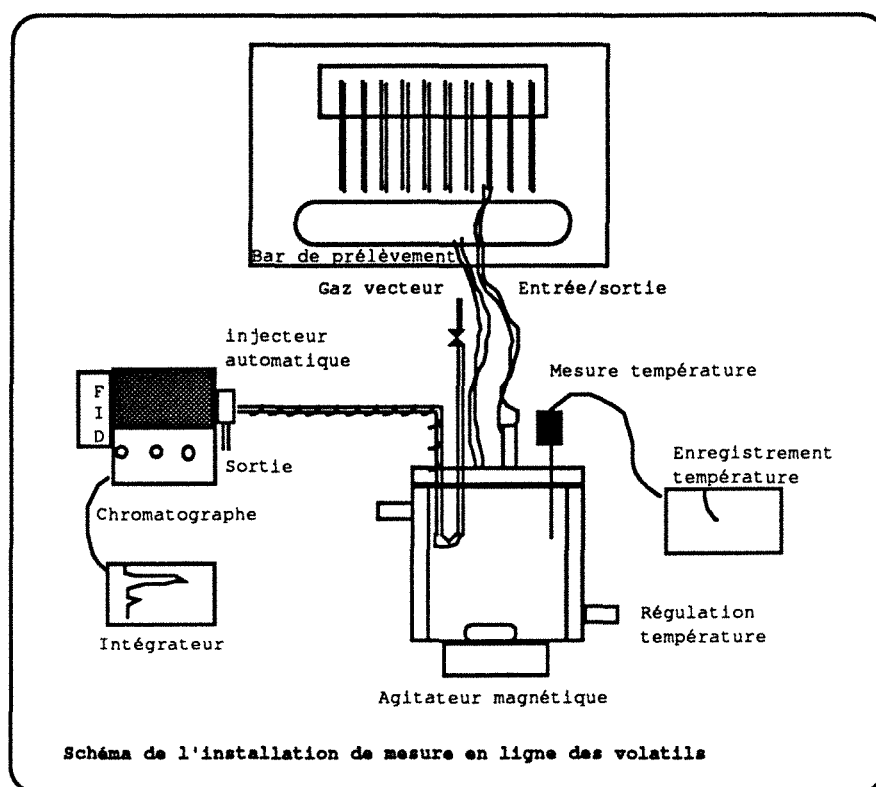


Figure n°4: Dispositif expérimental.

II.2.b. Prélèvements.

Au laboratoire, les fermentations ont été effectuées sur un petit fermenteur de 3 litres. Des échantillons de la phase liquide ont été centrifugés et traités pour doser les sucres et les alcools produits. Nos investigations ont porté sur des milieux de fermentation à base de mélasses diluées à 5%, 10% et 15% en volume. Ces concentrations sont voisines de celles habituellement rencontrées sur site industriel.

Sur site industriel, les prélèvements liquides ont été effectués au bar de prélèvement (cuve mère, cuve n°1 à n°8, vins, moût lourd et léger), à l'atelier de centrifugation (1^{ère} et 2^{ème} séparation), bacs de mélange et des flegmes.

II.2.c. Analyses.

50 ml d'échantillon sont prélevés au bar et apportés au laboratoire d'analyse où sont mesurés le pH et l'acidité (dosage des acides présents dans le milieu définis en gramme d'équivalent acide sulfurique) par titrage à la soude. L'échantillon est fractionné.

- Comptage des cellules.

1 ml de suspension est dilué au 100^{ème}. On rajoute une goutte de bleu de méthylène acide. Le comptage par exclusion s'est fait au microscope optique sur cellule de Thomas lors des deux premières campagnes puis de Malassez au laboratoire et lors de la campagne semi-continue. Les levures mortes apparaissent en bleu foncé. Lors de la campagne semi-continue, des comptages sur boîte de Petri ont permis de réduire les erreurs de comptage de 50% à moins de 30%.

Une relation liant le nombre de cellules comptées à la masse de micro-organismes présents a été utilisée. La levure est considérée comme un ellipsoïde de 8 μ m de long (A) et 4 μ m de diamètre dans sa plus grande largeur (B). Son volume est calculé suivant la formule :

$$V = \Pi \frac{AB^2}{6}$$

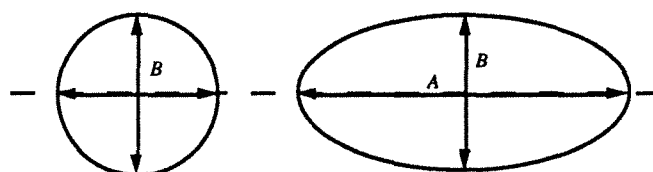


Figure n°5: Schéma de la levure.

La masse volumique de la levure sèche est de 1700 kg/m³ et la fraction d'eau dans la levure humide est d'environ 75%. La relation suivante en est déduite:

$$m = 2,8510^{-11} \times n$$

où, m = levure sèche (g/l) et, n = nombre de levures par unité de volume (nbr/l)

Au laboratoire, une mesure de la densité optique à 640 nm donne en plus du comptage, une valeur de la concentration en biomasse (spectroscopie LKB Biochrom, Novaspec II).

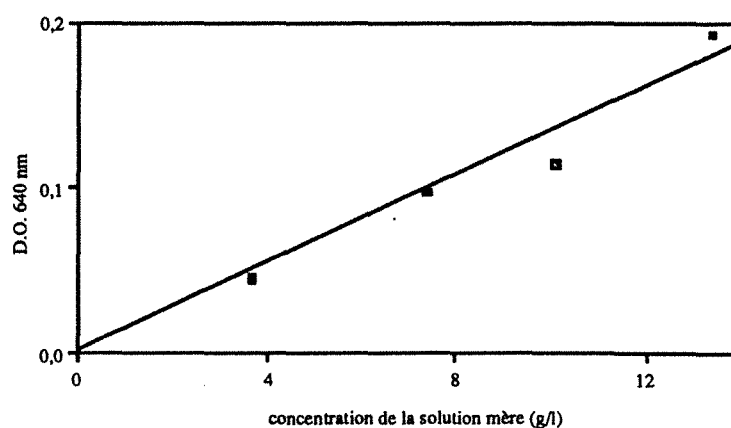


Figure n°6: Courbe DO poids sec, Levure "fala verte", Lesaffre.

- Matières sèches totales (uniquement sur site industriel).

Environ 1,5 g de suspension est soumis à une dessiccation par infrarouge. Le résultat est directement donné en différence pondérale.

- Analyse de la phase liquide.

Sur site, 10 ml de suspension sont centrifugés à 3000 tr/mn pendant 3 mn dans des tubes gradués et tarés. On en déduit une masse volumique approchée, la hauteur et la masse du culot pour 10ml de suspension. Le surnageant est utilisé pour les différents dosages.

Au laboratoire, 10 ml de milieu sont centrifugés à 4000 tr/mn pendant 4 mn. Le surnageant sert de "blanc" pour la mesure de densité optique et pour les différents dosages.

Les sucres, les alcools et les acides organiques.

Les sucres résiduels totaux sont dosés sur le surnageant de centrifugation par un analyseur automatique par méthode enzymatique et colorimétrique (YSI 21) et par kit enzymatique (Boehringer Ma. n°139041, n° 139106, n° 148270). Ils seront aussi dosés par CLHP Waters (spectromètre UV LC spectrometer 481 et refractomètre R401; Colonne d'analyse des hydrates de carbone à température ambiante, phase mobile acétonitrile-eau 80-20 (v/v), débit 2ml/mn ; colonne polypore H à une température de 65° Celsius, H_2SO_4 0,04 N, débit 0,1 ml/mn). Le système chromatographique inclut une vanne d'injection automatique Millipore Waters 721 WISP et un ordinateur Compam⁺ réalisant l'intégration des pics.

Les volatils.

La richesse alcoolique (teneur en éthanol) sur site industriel nous a été fournie par le laboratoire d'analyse (méthode oxydante), confirmée par chromatographie en phase gazeuse au laboratoire et dosée en ligne grâce au capteur.

Le système de chromatographie phase gazeuse est composé d'un chromatographe DELSI FL 121 équipé d'une colonne de 4 mètres remplie de Chromosorb à 10% de carbowax (température de l'injecteur et du détecteur 180° Celsius ; température du four 150° Celsius ; les pressions des gaz azote, air et hydrogène sont respectivement 2,0 bar, 1,2 bar et 1,0 bar).

Lors des manipulations au laboratoire, seuls la CLHP et le capteur à volatils sont utilisés.

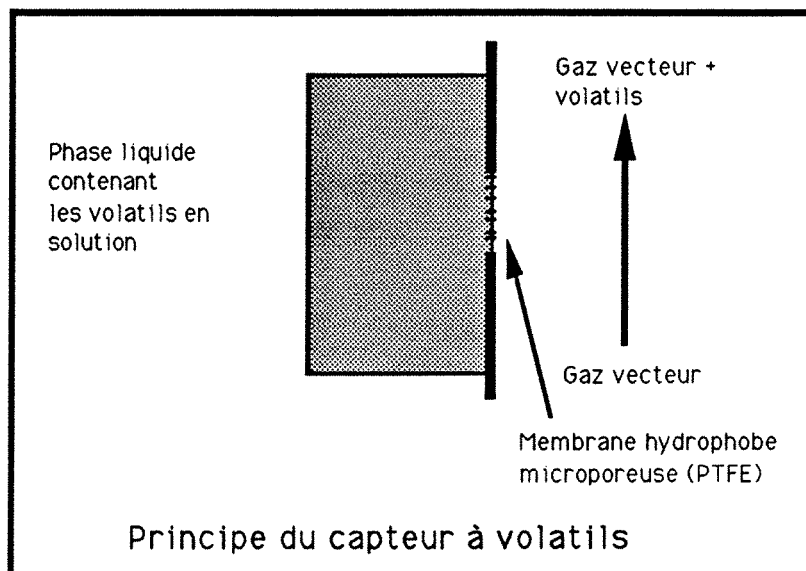


Figure n° 7: Capteur à volatils.

Le capteur à membrane dont le principe est représenté ci-dessus, connecté à un chromatographe phase gazeuse a permis d'analyser en ligne quelques composés volatils. Nous dosons ainsi *in situ* l'éthanol, l'acétaldéhyde, l'acétate d'éthyl et de méthyl, le propanol, l'isobutanol, l'alcool isoamylique et le méthanol s'ils sont présents dans le milieu de fermentation et si les conditions de séparation chromatographique le permettent (Groboillot A., 1989). La teneur totale en corps cétoniques est déduite de la teneur en amino acides précurseurs des alcools lourds dosés. Ces teneurs sont respectivement: 4% pour la valine et 13% pour la leucine et l'isoleucine combinées.

L'ammoniaque est dosé à l'aide d'une sonde spécifique Orion 9512. L'ammoniaque est libéré par déplacement de l'équilibre acido-basique par un volume identique de soude 0,1 N.

Les minéraux sont dosés par absorption atomique et résine échangeuse d'ions (anions et cations principaux). Le système est composé d'un spectroscope à absorption atomique (Spectra AA 20, Varian) et d'un chromatographe d'échange d'ions (Dionex 4000 I, colonne AS4A, solvant carbonate/bicarbonate, 2 ml/mn).

L'azote total est dosé par la méthode Kjeldhal (appareil Büchi).

Les protéines sont dosées par la méthode colorimétrique au bleu brillant de coomassie, kit Biorad.

La composition en amino-acides de la mélasse et du jus de betterave est mesurée au moyen d'un analyseur Beckman (high performance analyzer, system 7300). Les résultats sont reportés en annexe n°8.

Analyses	méthode	incertitude
saccharose	kit enzymatique et CLHP	5%
biomasse	comptage de cellules et DO	20%
éthanol	CPG et CLHP	5%
glycérol	kit enzymatique et CLHP	10%
sucres	kit enzymatique et CLHP	5%
alcools lourds	GPC <i>in situ</i>	15%
MST (Matière Sèche Totale)	séchage	10%
pH	sonde spécifique	5%
Azote total	Kjeldahl	15%
protéines	kit Bio-Rad	10%
ammoniaque	sonde spécifique	10%

tableau n°4: erreurs sur les mesures.

II.2.d. Matériel et méthodes de calcul.

Les calculs ont été effectués sur des stations de travail Sun SparcI de Sun microsystem munies de 16 Mo de RAM. La version du compilateur Fortran et du système d'exploitation sont respectivement les 1.4 et 4.1.1.. La version du logiciel ProSim utilisée est la 93.0D.

Les simulations des campagnes discontinues et des fermentations discontinues sont effectuées avec les sous programmes de calcul de l'ODEPACK (Hindmarsh A., 1983 ; Petzold L.R., 1983 ; Hiebert K.L., Shampine L.F., 1980): LSODAR et LSODA, permettant de résoudre les systèmes différentiels simples (LSODA) et les systèmes différentiels avec des contraintes (LSODAR). Ces deux logiciels sont fondés sur l'utilisation de la méthode de Gear C.W. (Gear C.W., 1967; Gear C.W. et coll., 1984).

Les simulations des campagnes continues ont été effectuées hors ProSim avec le programme de résolution de systèmes d'équations non-linéaires CONLES (Shacham M., 1985). Ce programme combine une méthode de Newton-Raphson et une méthode de continuation à pas variable. La taille des pas est calculée par la méthode de Levenberg-Maquardt. La matrice jacobienne peut être estimée numériquement ou calculée analytiquement. Ces simulations sont réalisées sans tenir compte des courants du recyclage de l'installation.

Lors des simulations avec le logiciel ProSim (Koehret B., 1987), le calcul est fondé sur l'utilisation d'une méthode de résolution Newton-Raphson avec une méthode de relaxation numérique afin de maintenir les variables dans le domaine physique pour les modules de calcul (Joulié X. 1987). Les recyclages sont calculés par approche modulaire simultanée avec les méthodes de résolution implantées dans ProSim.

II.3. Construction du modèle.

II.3.a. Justification expérimentale du modèle réactionnel.

Au laboratoire, une série d'expériences à pH 5,0 et 30° Celsius a été réalisée dans des

réacteurs de 3 litres discontinus parfaitement agités dans des conditions voisines de celles du site industriel, afin de connaître le comportement de la levure sur la mélasse utilisée. Les concentrations initiales en mélasse ont varié de 5 à 15% (v/v). Les courbes simulées sont portées sur les figures n°8 et n°9 ; les points correspondent aux mesures. Le métabolisme du carbone se décompose en plusieurs phases (dilution à 10%) :

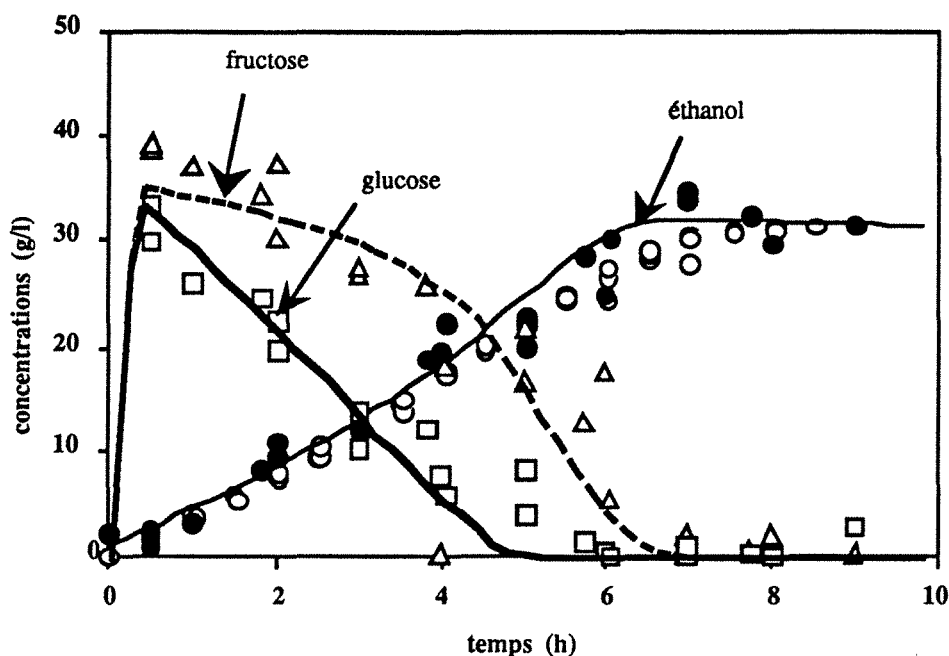


Figure n°8: Métabolisme du carbone.

- les 70 g/l de saccharose sont hydrolysés en moins d'une heure pour fournir glucose et fructose en quantités équimolaires,
- le glucose est consommé préférentiellement au fructose pour produire principalement de l'éthanol,
- la concentration en biomasse évolue faiblement ; la production d'éthanol n'est pas liée à la croissance.

Le métabolisme de l'azote n'a pas pu être étudié directement sur le site industriel. La bibliographie nous indique que la production des alcools lourds lui est étroitement liée (Ramos- Jeunhomme C. et coll., 1979). La figure n°9 montre que l'azote provenant des amino-acides est utilisé dans la formation de la biomasse, les résidus carbonés des acides aminés formant l'ensemble des alcools lourds.

La concentration d'ammoniaque libre dans le milieu évolue très faiblement ($\approx 0,5$ mM).

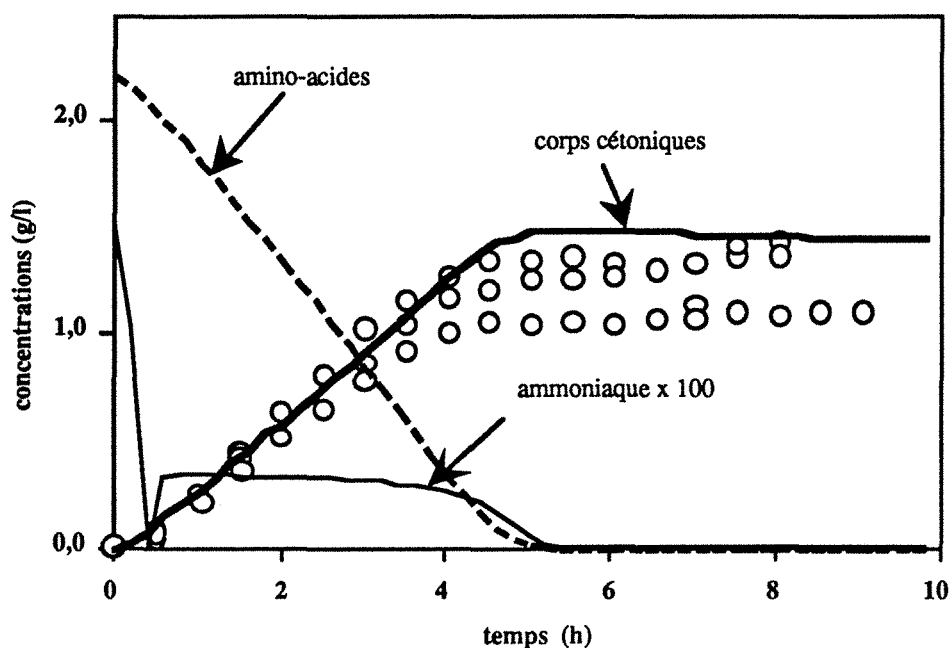


Figure n°9: Métabolisme de l'azote.

Le rendement de conversion saccharose-éthanol ainsi que celui du glycérol et des alcools lourds, sont à peu près constants dans le domaine de dilution de la mélasse étudié, (tableau n°5 et n°6).

dilution des mélasses	saccharose	glucose	fructose	éthanol	glycérol	biomasse
15%(v/v)	105,0	52,5	52,5	52	4,2	9,2
10%(v/v)	70,0	35,0	37,0	32,0	3,5	7,5
5%(v/v)	35,0	5,0	10,0	16,0	2,5	5,5

tableau n°5: concentrations maximales en g/l des différents composés lors de fermentations discontinues.

L'ajout d'ammoniaque sous forme de $\text{Na}(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ en début de fermentation a provoqué une diminution significative de la production en discontinu d'alcools lourds. Par contre, l'ajout d'acide phosphorique ne modifie pas ces productions. L'ammoniaque réprime la production d'alcools lourds qui proviennent de la consommation des acides aminés. (tableau n°7). Certains amino-acides inhibent le transporteur d'ammoniaque. La complexité des mécanismes d'assimilation des différents acides aminés, ainsi que les mécanismes de régulation de transport et de consommation des composés azotés sont des handicaps à la conception d'un modèle relativement simple. Le modèle présenté intègre ces mécanismes de façon globale en fonction des résultats expérimentaux obtenus. Les coefficients de rendement ainsi que les valeurs de vitesses maximales mesurés sur site sont confirmés par les expériences en laboratoire.

dilution des mélasses	éthanol	glycérol	biomasse
15%(v/v)	0,49	0,04	0,04
10%(v/v)	0,46	0,057	0,043
5%(v/v)	0,47	0,07	0,057

tableau n°6: rendements en g/g de saccharose lors de fermentations discontinues.

dilution des mélasses	propanol	isobutanol	amylique et isoamylique
15%(v/v)	38,0	98,0	200,0
10%(v/v)	29,0	49,0	150,0
5%(v/v)	6,0	32,0	80,0
addition d' H_3PO_4 10%(v/v)	25,0	50,0	150,0
addition d' $(NH_4)_2PO_4$ 10%(v/v)	39,0	35,0	90,0

tableau n°7: concentrations maximales des alcools lourds en mg/l lors de fermentations discontinues.

Trois fermentations à 5%, 10% et 15% (v/v) sont présentées en annexes n°9, n°10 et n°11.

II.3.b. La fermentation alcoolique.

La formalisation du modèle cinétique intégrant les productions d'éthanol et des différents produits susceptibles d'intervenir en distillation, nécessite la définition d'un nombre minimum de réactions élémentaires ou de combinaisons de réactions élémentaires. Cette formalisation doit minimiser le nombre de paramètres et faciliter l'étude de sensibilité ultérieure en vue de définir une méthodologie de conception de modèle répondant à la philosophie du simulateur de procédés.

La difficulté de définition exhaustive de la composition du substrat industriel a orienté notre choix vers les modèles non-structurés au sens de Bailey et Ollis (Bailey J.E., Ollis D.F., 1986).

Nous avons choisi 11 composants indispensables à la simulation de l'atelier : saccharose, glucose, fructose, oxygène, ammoniac (NH_3), éthanol, glycérol, succinate, CO_2 , biomasse ($CH_{1,79}N_{0,15}O_{0,57}$), H_2O et 2 pseudo-constituants: amino-acides ($NH_2 - CH(-R) - COOH$) et dérivés décarboxylés et désaminés des amino-acides correspondant aux alcools lourds ($R - CH_2OH$).

Nous avons choisi 6 composants clés (saccharose, glucose, fructose, O_2 , ammoniac et amino-acides) sur lesquels 6 réactions de transformation et les cinétiques sont définies.

Le métabolisme de l'azote est intégré. Nous avons 4 bilans élémentaires (C, H, N, O).

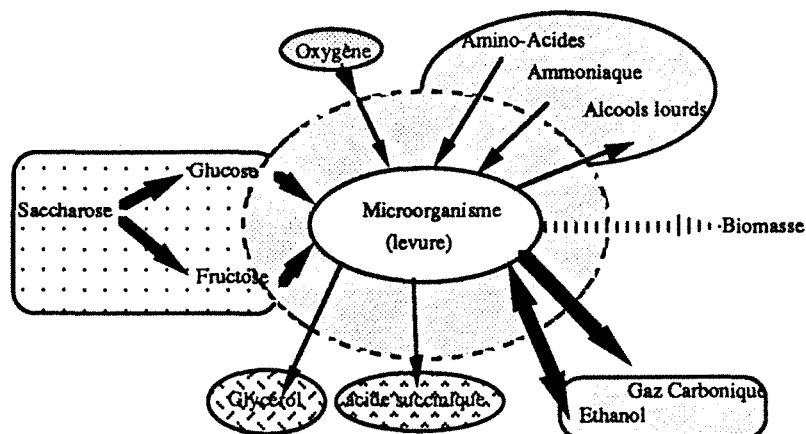


Figure n° 10: Fermentation des jus sucrés par la levure.

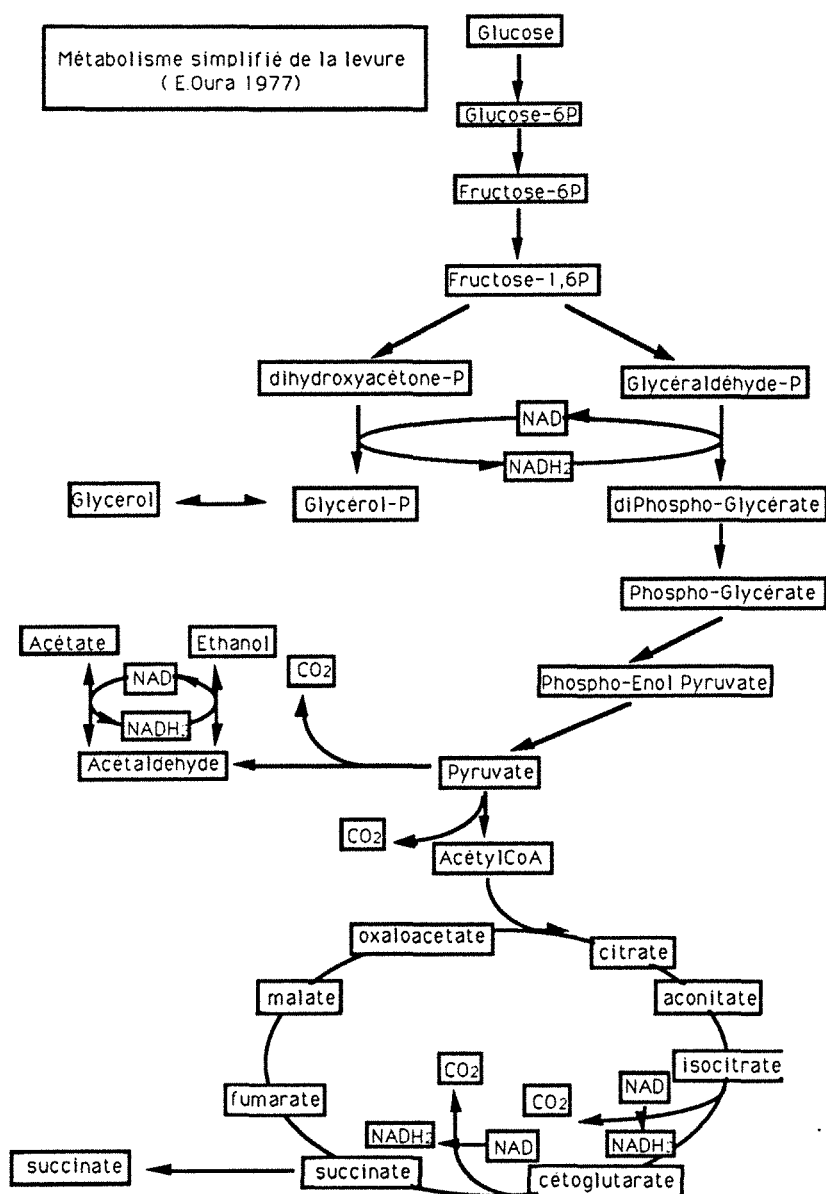


Figure n° 11: Fermentation des jus sucrés par la levure.

Afin de saturer le nombre de degrés de liberté, nous avons introduit 3 contraintes métaboliques:

$$S = 13, \quad Q = 6, \quad c = S - Q - 4 = 3.$$

- la sélectivité de la production de glycérol (Oura E., 1977),
- le rendement maximum théorique de conversion d'hexose en biomasse en aérobiose (Sonnleitner B., 1986) ,
- une contrainte de production de CO_2 suivant le schéma métabolique de Oura E. reproduit dans la figure n°11.

La réunion des réactions fournit les vitesses de production ou de consommation de chacun des composants entrants et sortants du procédé. Les vitesses spécifiques des réactions sont déterminées à partir du produit des influences des composants considérés sur une réaction donnée par la valeur maximale de la vitesse spécifique de la réaction. Ces influences sont représentées par les fonctions mathématiques adimensionnelles et normées dérivées du modèle de Monod. Ces vitesses représentent le flux net de composant clé de chaque réaction élémentaire.

II.3.c. Généralités.

L'observation de la fermentation de jus sucrés par la levure met en évidence la production principale de trois corps en dehors de l'eau qui est le solvant de la réaction: l'éthanol, le gaz carbonique et la levure ainsi que d'autres produits mis en évidence comme le glycérol, l'acide succinique et les volatils (Genevois L., 1950).

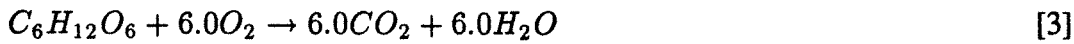
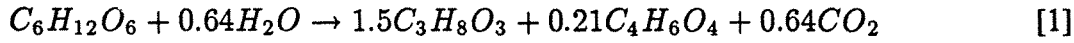
Les cuves de fermentation étant faiblement aérées (1 v.v.h.), nous avons décrit les réactions de production de biomasse en aérobiose et anaérobiose. Le sucre le plus présent quantitativement dans la mélasse est le saccharose dont la réaction d'hydrolyse est prise en compte. La réaction de transamination est le premier maillon du métabolisme azoté et aboutit à une classe de dérivés dont font partie les alcools lourds. L'étude de la conversion des hexoses issus de l'hydrolyse du saccharose présente plusieurs voies d'utilisation qui correspondent à des mécanismes complexes. Les produits obtenus sont l'éthanol, le glycérol, l'acide succinique, le gaz carbonique et la biomasse.

La production de CO_2 est incluse dans la description de ces réactions. La composition élémentaire de la biomasse est considérée constante et égale à la composition moyenne suivante: $CH_{1.79}N_{0.15}O_{0.57}$

Une justification du choix de cette composition élémentaire est faite à l'aide de l'annexe n°12.

L'ensemble de ces réactions est défini comme suit:

Réactions mettant en jeu le substrat carboné et l'oxygène:



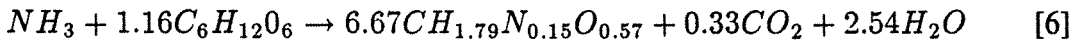
Réactions mettant en jeu les amino-acides: (formation des corps cétoniques B.B.)



Réaction mettant en jeu le saccharose: (formation de glucose et de fructose)



Réaction mettant en jeu l'ammoniaque: (avec production de biomasse)



II.3.d. Construction de la matrice de stoechiométrie.

La combinaison de ces réactions donne une représentation des phénomènes observés lors de la fermentation. Leur séquence de fonctionnement dans la cellule est fonction des coefficients de sélectivité. La réaction correspondant à la production d'éthanol à partir des hexoses est prépondérante. Elle représente plus de 90 % (mol/mol) de la conversion du substrat carboné.

Pour les autres réactions, la compétition se fait au niveau de la disponibilité en eau, la réaction donnant du glycérol et du succinate étant généralement observée (E.Oura, 1977). La réaction de désamination des amino-acides est la réaction limitante de la croissance en absence d'oxygène. En présence d'oxygène, une limite maximale de transformation du substrat carboné en présence de micro-organismes est observée. Dans ces conditions, la voie de transformation préférentielle est celle du substrat carboné en biomasse.

Afin de réduire le nombre d'expressions cinétiques, une combinaison linéaire des équations de production de glycérol, de succinate et d'éthanol à partir d'un hexose a été utilisée ; de même pour la production de biomasse en présence d'oxygène.

L'utilisation de la sélectivité de production du glycérol (α) nous conduit aux calculs suivants:

$$\alpha = \frac{Y_{\frac{Eth}{Hex}}}{(Y_{\frac{Eth}{Hex}} + Y_{\frac{Gly}{Hex}})}$$

où $Y_{\frac{Gly}{Hex}}$ est le rendement de formation de glycérol à partir des hexoses et $Y_{\frac{Eth}{Hex}}$ le rendement de formation d'éthanol à partir des hexoses en mole par mole d'hexose. La valeur d' α est

égale à 0.95.

$$(CetD) = \alpha[2] + (1 - \alpha)[1]$$

Dans cette réaction, la production la plus importante est celle de l'éthanol. Elle représente 90% (mole/mole) de la conversion des hexoses. Les autres réactions sont régies par la quantité d'eau disponible (Oura E., 1977).

En présence d'oxygène, la croissance est limitée par la conversion des hexoses en biomasse. Cette limite dépend de l'espèce de levure utilisée .

Dans notre cas, la conversion des hexoses en biomasse est la voie métabolique active. La valeur de ce rendement est de 3.5 en mole par mole d'hexose (Sonnleitner B. et coll., 1986).

$$\beta = Y_{\frac{bio}{Hex}} \frac{1.16}{6.67}$$

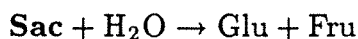
où $Y_{\frac{bio}{Hex}}$ est le rendement de formation de biomasse à partir des hexoses en conditions aérobies. La valeur de β est égale à 0.609 (sélectivité entre la respiration du glucose et son incorporation dans la cellule).

$$(F) = \beta[6] + (1 - \beta)[3]$$

Les coefficients stoechiométriques sont normés pour s'assurer que le coefficient stoechiométrique de l'oxygène est égal à 1,0.

Le jeu de réactions utilisé est le suivant (les constituants clés sont écrits en caractères gras):

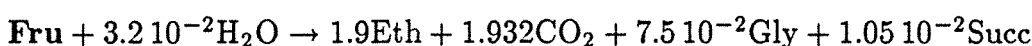
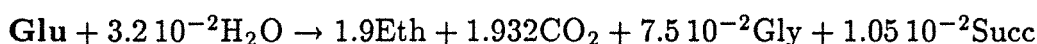
Formation de glucose et de fructose: (A)



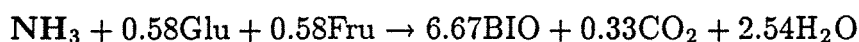
Réaction de trans-amination des amino-acides: (B)



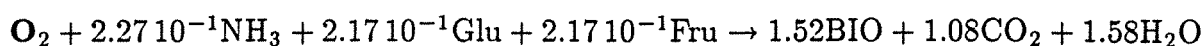
Réaction de formation d'éthanol à partir du glucose et du fructose: (C et D)



Réaction de formation de biomasse en absence d'oxygène: (E)



Réaction de formation de biomasse en présence d'oxygène: (F)



Sac : saccharose, Glu : Glucose, Fru : fructose, A.A. : amino-acides,

B.B. : corps cétonique des amino-acides, *Eth* : éthanol, *Gly* : Glycérol,

Succ : acide succinique , *BIO* : biomasse de formule élémentaire $CH_{1.79}N_{0.15}O_{0.57}$.

II.3.e. Expression cinétique des vitesses spécifiques des réactions.

Les hypothèses cinétiques établies d'après les études expérimentales en réacteur discontinu sont les suivantes :

- la vitesse d'hydrolyse du saccharose suit une loi de Monod et est proportionnelle à la quantité de micro-organismes,
- la production d'éthanol et la croissance sont découplées,
- le glucose inhibe la métabolisation du fructose,
- NH_3 inhibe la métabolisation des acides aminés,
- la quantité des différents alcools lourds est proportionnelle à la concentration en substrat et donc à la quantité d'acides aminés précurseurs présents dans le substrat,
- la faible fraction carbonée des acides aminés n'est pas consommée.

Les six lois cinétiques adoptées sont les suivantes:

réaction A

$$r_A = Q_{max_{saccharose}} C_{biomasse} \frac{C_{saccharose}}{(C_{saccharose} + K_{saccharose})}$$

réaction B

$$r_B = Q_{max_{AA}} C_{biomasse} \frac{C_{AA}}{(C_{AA} + K_{AA})} \frac{K_{iNH_3}}{(C_{NH_3} + K_{iNH_3})}$$

réaction C

$$r_C = Q_{max_{glucose}} C_{biomasse} \frac{C_{glucose}}{(C_{glucose} + K_{glucose})}$$

réaction D

$$r_D = Q_{max_{fructose}} C_{biomasse} \frac{C_{fructose}}{(C_{fructose} + K_{fructose})} \frac{K_{iglucose}}{(C_{glucose} + K_{iglucose})}$$

réaction E

$$r_E = Q_{max_{NH_3}} C_{biomasse} \frac{C_{NH_3}}{(C_{NH_3} + K_{NH_3})}$$

réaction F

$$r_F = Q_{max} O_2 C_{biomasse} \frac{C_{O_2}}{(C_{O_2} + K_{O_2})} \frac{C_{NH_3}}{(C_{NH_3} + K_{sNH_3})}$$

Les valeurs des paramètres utilisés sont les suivantes:

composant clé	$Q_{max}(j)$	$K_s(j)$	$K_s(j)$ or $K_i(j)$
	mol/Cmol.h	mol/l	mol/l
Suc	$85 \cdot 10^{-3}$	(Suc) $33 \cdot 10^{-3} (*)$	
AA	$18 \cdot 10^{-4} (*)$	(AA) $1 \cdot 10^{-3} (*)$	$(NH_3, K_i) 15 \cdot 10^{-3}$
Glu	$75 \cdot 10^{-3} (*)$	(Glu) $9 \cdot 10^{-3} (*)$	
Fru	$15 \cdot 10^{-2} (*)$	(Fru) $17 \cdot 10^{-3} (*)$	$(Glu, K_i) 2 \cdot 10^{-2}$
NH ₃	$37 \cdot 10^{-3} (*)$	(NH ₃) $3 \cdot 10^{-2}$	
O ₂	$2 \cdot 10^{-1} (*)$	(O ₂) $2 \cdot 10^{-5} (*)$	$(NH_3, K_s) 3 \cdot 10^{-2}$

tableau n°8: valeur des paramètres.

(*) Les valeurs des paramètres sont prises dans la littérature (Barnett J.A., 1976; Combes D., 1981; Postma E., 1988; Rajab A., 1986; Ramos-Jeunnhomme C., 1976; Sonnleitner B., 1986; Fiechter A., 1981)

Les autres valeurs des paramètres sont ajustés manuellement sur les valeurs des concentration en ammoniacque, biomasse et saccharose mesurées sur site. La valeur de la constante d'inhibition de la consommation de fructose est ajustée sur les valeurs obtenues en fonctionnement discontinu au laboratoire.

Conclusion

La construction d'un modèle de cinétique biologique possédant une stoechiométrie et une cinétique modulaire nous a conduits à définir un nombre nécessaire et suffisant de contraintes pour saturer le nombre de degrés de liberté du système d'équations représentant le modèle cinétique.

L'application à la fermentation alcoolique de cette démarche nous a permis à partir d'expériences menées en laboratoire, de construire un modèle prenant en compte onze constituants et deux pseudo-composants. Six lois cinétiques sont définies. Elles correspondent aux constituants clés des six réactions définies par leur stoechiométrie. Les stoechiométries sont construites à partir des bilans élémentaires et des contraintes additionnelles nécessaires.

Les manipulations sur site industriel sont présentées dans le chapitre suivant.

Simulation d'un procédé fermentaire.

fermentation alcoolique

Introduction.	74
I. Description du procédé industriel.	74
I.1. Analyse des substrats.	74
I.1.a. Valeurs moyennes.	74
I.1.b. Mesures effectuées.	76
I.2. Description physique du procédé.	76
I.3. Mise en oeuvre du procédé fermentaire.	78
I.3.a. Paramètres de fonctionnement.	78
I.3.b. Campagnes de mesure sur site.	78
I.3.c. Fonctionnement continu n°1.	79
I.3.d. Fonctionnement continu n°2.	80
I.3.e. Ateliers connexes.	81
I.3.f. Fonctionnement de l'atelier semi-continu.	84
I.4. Résumé des résultats des campagnes de mesure.	87
I.5. Remarques sur le fonctionnement de l'installation.	88
Conclusion.	89
II. Simulation des ateliers.	90
II.1. Module de simulation.	90
II.1.a. Système d'équations.	90
II.1.b. Description du langage ProSim.	91
II.1.c. Exemple de résultats.	93
II.2. Simulation de la campagne continue n°1.	95
II.3. Simulation de la campagne semi-continue, suivi n°2.	97
II.4. Utilisation de l'outil de simulation.	99
II.4.a. Influence du recyclage.	99
II.4.b. Influence de la répartition des alimentations.	100
Conclusion.	102

I. Description du procédé industriel.

I.1. Analyse du substrat.

I.1.a Valeurs moyennes.

La mélasse est un résidu de la chaîne de cristallisation du sucre extrait de la betterave. Ce produit est fortement concentré (80% de matière sèche) ; il est dilué avant sa fermentation pour obtenir environ 15 % de glucides. Les mélasses contiennent une forte proportion de non-sucre (minéraux et organiques). Leur composition entraîne une forte augmentation de la pression osmotique dans les moûts (≈ 2.0 Osmole)(Mc Ginnis R.A. 1982 ; Cejka A., 1985 ; Mc Ginnis R.A., 1978).

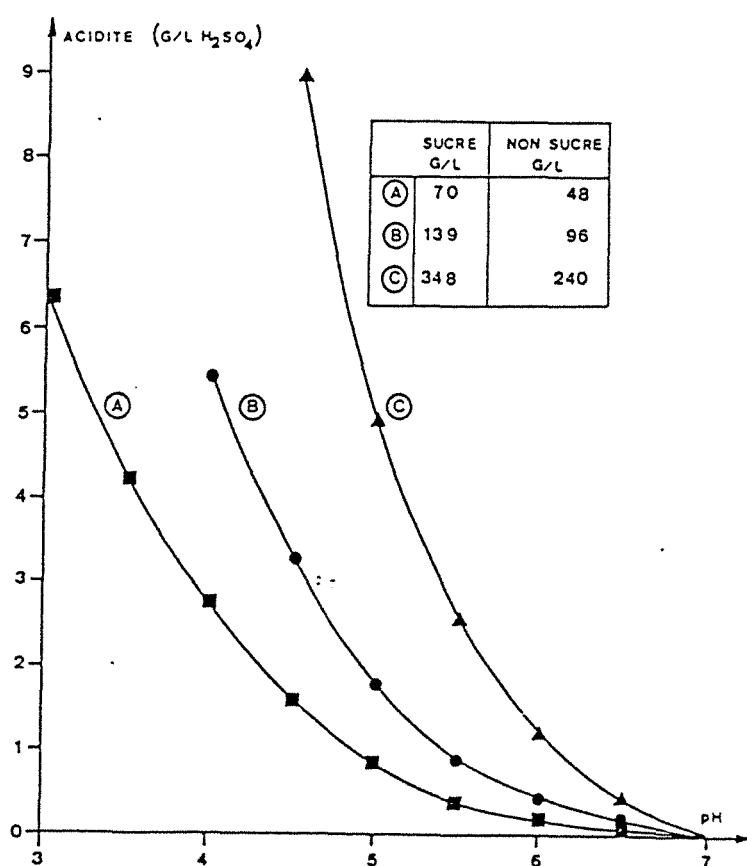


Figure n° 1: Evolution de l'acidité d'un moût mélassé en fonction du pH pour différentes concentrations.

Le jus vert provient de la diffusion du sucre de betteraves dans l'eau chaude. Il est hautement fermentescible et peu toxique mais ne se conserve pas à l'inverse de la mélasse. Il est couramment additionné de formol pour éviter les proliférations bactériennes.

Composé	mélasses (%p)	Moût lourd à 28% (g/l)	jus vert (g/l)
Azote total	1,8	5,04	1,0
Azote Protéique	11,25	31,5	6,0
MST	80,0		
MS non sucre	30,0		
Non sucre	30,0		
Pureté	30,0		
Saccharose	50,0	140,0	140,0
Cendres	5,0	14,0	3,0
Potassium	3,0	8,4	1,3
Sodium	0,7	2,0	
Magnésium	0,7	1,4	

tableau n°1: Composition moyenne des mélasses.

I.1.b Mesures effectuées.

Les divers substrats de fermentation ont été analysés afin de définir leur composition exacte. La composition en amino-acides est présentée en annexe n°8.

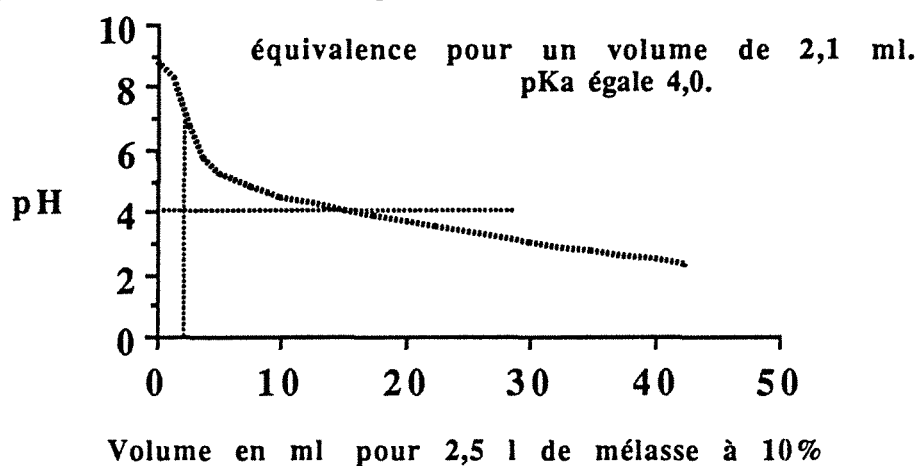


Figure n°2: Dosage pH métrique d'un moût à 10% (v/v).

Composé	Jus vert	Moût lourd
Azote total (g/l)	0,91	7,04
Protéines (mg/l)	339,7	382,5
Ammoniaque (mM)	0,85	2,5
pH	3,5	5,0
Acidité	2,0	3,2
MST (%)	16,0	30,0
Saccharose (g/l)	149	220
Sucres résiduels (g/l)	0,91	1,4

tableau n°2: Composition des substrats de fermentation de la campagne continue n°1

Le moût léger est un moût de faible concentration en mélasse par opposition au moût lourd.

Composé	Moût léger	Moût lourd
Azote total (g/l)	0,77	5,6
Protéines (mg/l)	60	238
Ammoniaque (mM)	0,36	2,5
pH	3,62	4,87
Acidité	1,9	3
MST (%)	3,4	27,4
Saccharose (g/l)	31	174
Sucres résiduels (g/l)	≤1,0	≤1,0

tableau n°3: Composition des substrats de fermentation de la campagne °2.

Composé	suivi n°1	suivi n°2
Azote total (g/l)	6,2	6,2
Protéines (mg/l)	226	226
Ammoniaque (mM)	2,07	2,2
pH	4,77	4,7
Acidité	3,4	3,71
MST (%)	28,0	29,11
Saccharose (g/l)	183	197
Sucres résiduels (g/l)	≤1,0	≤1,0

tableau n°4: Composition du moût lourd lors des fermentations de la campagne semi-continue.

La composition du jus vert est considérée identique pour la campagne continue n°1 et la campagne discontinue

I.2. Description physique du procédé.

L'atelier de fermentation de la sucrerie distillerie de Lillers se décompose en 4 parties.

- Une cuve mère de 300 m³ de volume utile où se fait l'enrichissement en levures.
- Une cascade de 8 cuves de 130 m³ de volume utile chacune, où s'effectuent normalement d'une part l'enrichissement en éthanol dans les 4 premières cuves, et d'autre part, l'épuisement en sucres résiduels, dans les 4 cuves suivantes.
- Un atelier de 4 centrifugeuses continues. Une première centrifugation dans 2 centrifugeuses fonctionnant en parallèle sépare le vin des levures tandis qu'une troisième centrifugeuse épaissit le moût après lavage à l'eau. Cette centrifugeuse est lavée toutes les 24 heures pendant deux heures. La quatrième centrifugeuse remplace une des deux premières toutes les deux heures. Le fonctionnement de cet atelier de traitement des levures ne sera pas modifié tout au long de cette étude. Un bac de mélange est intercalé entre les deux étages de centrifugation.

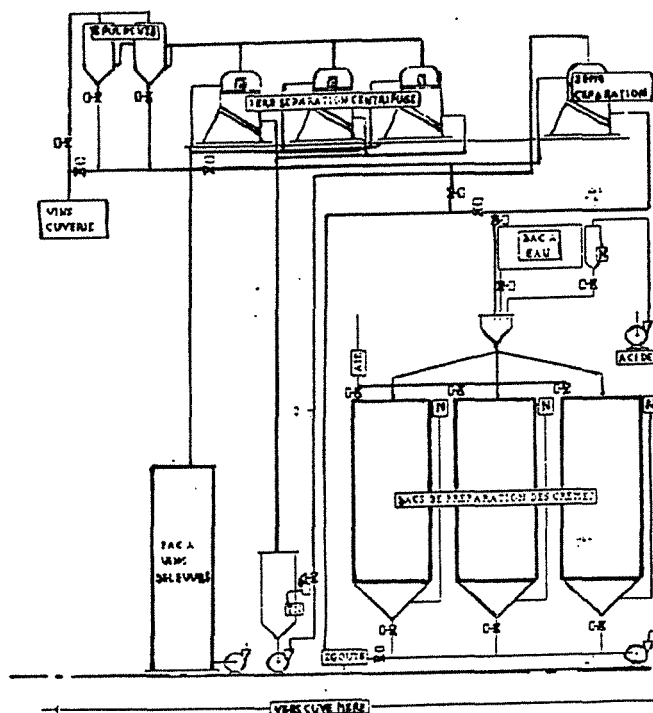


Figure n°3: Atelier de séparation.

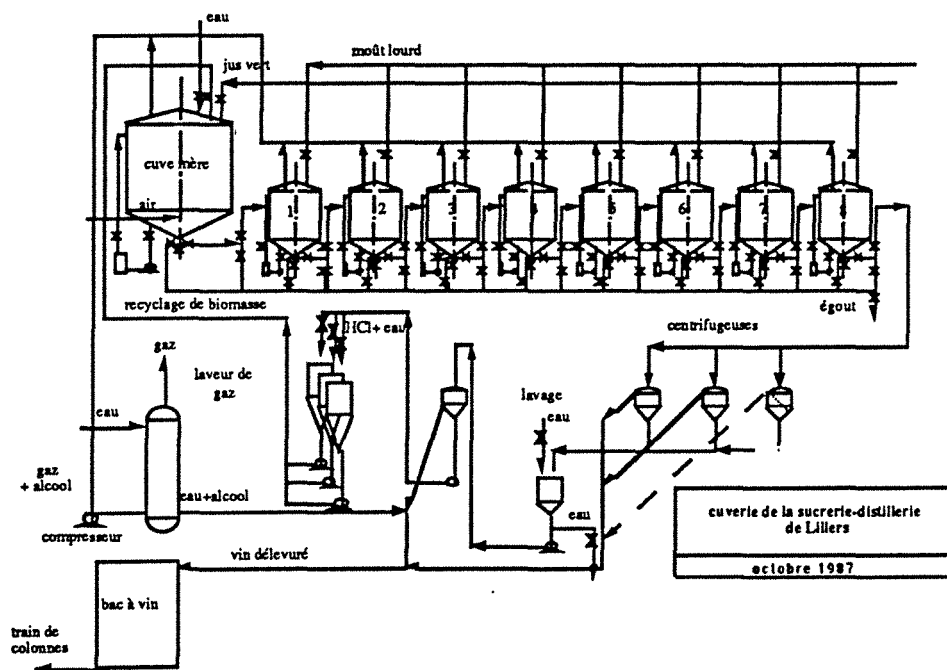


Figure n°4: Installation industrielle.

- Un atelier de dilution et d'acidification constitué de 3 bacs tampons où sont mélangés, la crème, l'eau et l'acide pour former le levain. Lorsque les conditions atmosphériques le permettent, les gaz issus des fermenteurs sont collectés et lavés afin de récupérer l'éthanol

entraîné lors de la désorption.

I.3. Mise en oeuvre du procédé fermentaire.

I.3.a. Paramètres de fonctionnement.

Les valeurs moyennes des conditions de fonctionnement sont reprises en annexes n°13 et n°14 (de Miniac M., 1991).

- **Teneur en sucre.**

Elle est élevée dans les premières cuves alimentées. Le débit d'alimentation doit être suffisant pour permettre l'enrichissement en éthanol mais ne doit pas être inhibiteur.

- **Acidité du moût.**

La limitation de la contamination est maîtrisée par un rapport entre le pH et l'acidité. A 2,5 g eq H_2SO_4/l d'acidité pour un pH de 5,0 le taux de croissance des levures est supérieur à celui des bactéries.

- **Taux de non-sucre.**

Il inhibe la croissance. Le recyclage des égouts permet de diminuer les non-sucre.

- **L'aération.**

Elle permet d'augmenter la viabilité des levures. Un optimum entre une bonne viabilité et une production d'éthanol correcte est mis en évidence vers 0,2 à 0,5 v.v.h..

- **Le degré alcoolique.**

L'inhibition de la croissance est sensible à partir de 5° GL. On doit jouer sur la possibilité de la levure de produire de l'éthanol sans croissance.

- **La contamination.**

Elle doit être faible. Cependant, les bactéries peuvent apporter des facteurs de croissance aux levures.

- **Les produits secondaires.**

Le glycérol est un osmorégulateur. Sa production provoque une perte sur la productivité en alcool.

Les alcools supérieurs proviennent des acides aminés présents dans la mélasse.

L'acide succinique provient en partie de l'acide glutamique. Il est un intermédiaire du métabolisme de l'azote.

Les aldéhydes et esters dont l'acétaldéhyde précurseur de l'éthanol sont des polluants.

I.3.b. Campagnes de mesures sur site.

Deux types de fonctionnement sont décrits sur l'atelier de fermentation de Lillers:

- une fermentation continue multi-étagée,
- une fermentation semi-continue.

La première campagne d'acquisition de valeurs expérimentales à Lillers s'est déroulée du 4 décembre 1989 au 8 décembre 1989. L'installation fonctionnait déjà depuis octobre et était en phase de fin de campagne sucrière. Habituellement, en fin de campagne la charge en substrat est augmentée ; les stocks de mélasses sont au maximum.

La seconde campagne de mesures sur l'atelier de fermentation de la sucrerie-distillerie de Lillers s'est déroulée entre les 26 et 30 mars 1990. A cette époque de l'année, les fermenteurs sont exclusivement alimentés en mélasses plus ou moins diluées. La fermentation ayant été contaminée par des bactéries une quinzaine de jours avant notre campagne d'analyses, un nouvel ensemencement a été fait avant notre arrivée. Pour maintenir la production alcoolique au maximum, l'installation était pilotée au jour le jour, sans état stationnaire stable. Cette campagne de mesure ne sera donc pas utilisée dans les simulations.

La campagne de mesures sur l'atelier de fermentation fonctionnant en procédé discontinu s'est déroulée du 1 au 5 octobre 1990. Les huit cuves fonctionnaient sur mélasses avec un pied de cuve provenant de la cuve mère en régime continu alimentée en jus vert.

I.3.c. Fonctionnement continu n°1.

La cuve mère est alimentée par le jus vert issu de la diffusion RT avec un débit de 12 m³/h. Un débit équivalent de levain tamponné y est adjoint. Cette cuve est aérée à un taux de dilution de 1 v.v.h.. Son volume utile est de 300 m³.

Le volume utile des cuves n°1 à n°8 est de 130 m³.

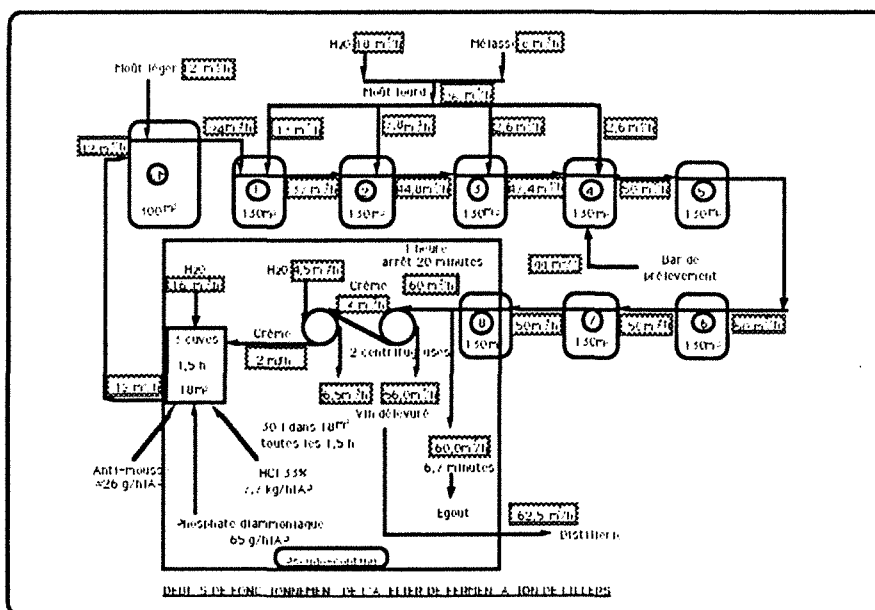


Figure n°5: Débits de l'installation.

Les cuves n°1 à n°4 sont alimentées par le moût lourd constitué de mélasse (8 m³/h) et

d'eau ($18 \text{ m}^3/\text{h}$). Cette mélasse a un degré de pureté de 65%. Habituellement, la pureté de la mélasse est plus proche de 60% dans les installations de sucrerie sans fermentation. Les $26 \text{ m}^3/\text{h}$ de mélasse diluée sont répartis dans les cuves n°1 à n°4 dans les proportions suivantes: 50%, 30%, 10% et 10%. La cuve n°4 reçoit également le mélange du bar de prélèvement qui réunit les différents piquages de l'installation.

Les 4 cuves suivantes fonctionnent sans autre alimentation que la sortie de la cuve précédente.

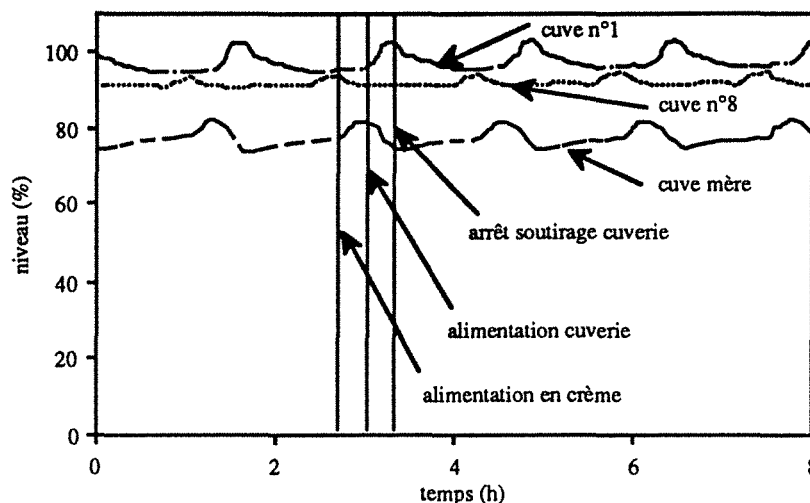


Figure n°6: Fonctionnement pseudo-continu : campagne continue n°1.

A partir de la sortie de la cuve n°8, le régime de fonctionnement n'est plus un régime continu. Les valeurs des débits nous ont été fournies par les utilisateurs. Les débits de fonctionnement de cette partie de l'installation sont assujettis au variation du niveau du bac à vin afin d'éviter toutes variations de débit en alimentation du train de colonnes.

I.3.c. Fonctionnement continu n°2.

La cascade fonctionne uniquement sur mélasses, la cuve mère est alimentée avec un moût extrêmement dilué (environ $1/20^{\text{ème}}$ v/v) à un débit de $15,8 \text{ m}^3/\text{h}$ et un levain à un débit de $5,2 \text{ m}^3/\text{h}$. Cette cuve est aérée au taux de dilution de $1,3 \text{ v.v.h.}$. Son volume utile est plus faible que lors de la campagne précédente (220 m^3).

Les cuves n°1 à n°6 sont alimentées avec un moût plus concentré ($1/3^{\text{ème}}$ v/v). Ces cuves sont non aérées et ont un volume utile de 130 m^3 chacune. Le débit d'alimentation en substrat est de $21 \text{ m}^3/\text{h}$. La répartition est supposée uniforme, d'après les utilisateurs.

Les deux dernières cuves de volume utile identique ne sont pas alimentées.

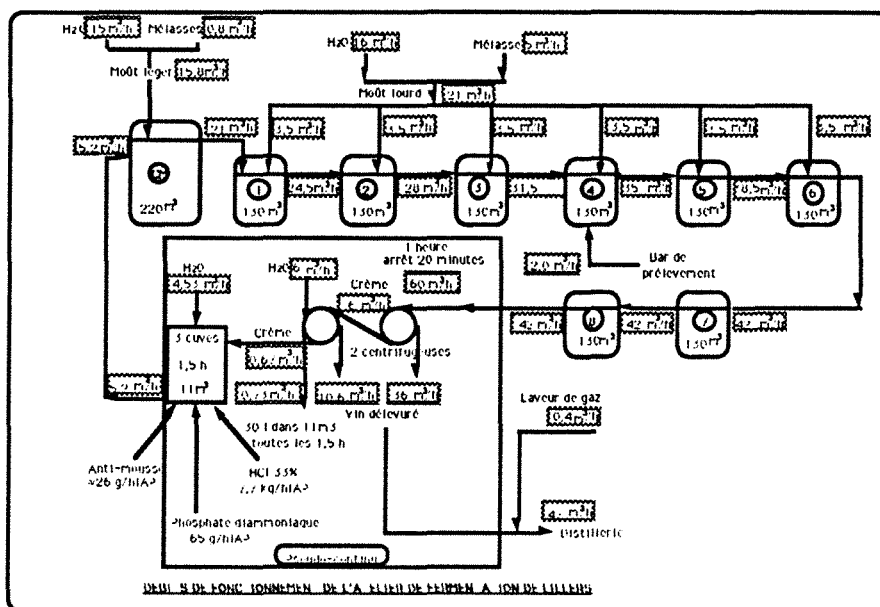


Figure n°7: Débits de l'installation.

La commande et la régulation du fonctionnement de l'installation se font au niveau de la répartition du moût lourd sur les cuves alimentées, du recyclage et de l'alimentation en moût léger.

I.3.e. Ateliers connexes.

+ L'atelier de séparation.

- Lors de la première campagne, les débits moyens de soutirage journalier de la dernière cuve et d'alimentation de la première centrifugeuse sont de $50 \text{ m}^3/\text{h}$ (rappelons que ces débits sont fractionnés en périodes de soutirage de 75 minutes et en périodes d'arrêt de 20 minutes correspondant aux variations de niveau du bac à vin).

$46 \text{ m}^3/\text{h}$ de vin délevuré de première séparation sont envoyés en distillerie tandis que $4 \text{ m}^3/\text{h}$ de crème de levure diluée avec $4,5 \text{ m}^3/\text{h}$ d'eau sont soumis à une deuxième séparation dont on extrait $6,5 \text{ m}^3/\text{h}$ de vin délevuré et $2 \text{ m}^3/\text{h}$ de crème de levure. Ceux-ci sont envoyés pendant 60 minutes dans les bacs de traitement dilués avec $16 \text{ m}^3/\text{h}$ d'eau.

Les taux de rétention volumique de la biomasse dans l'effluent entrant et sortant de l'atelier de séparation lors de cette campagne sont les suivants:

$$\beta_1 = \frac{340,44 \cdot 10^3}{1700 \cdot 12 \cdot 10^3} = 0,0167 \quad \text{entrée cuve mère}$$

$$\beta_2 = \frac{340,0 \cdot 10^3}{1700 \cdot 50 \cdot 10^3} = 0,0004 \quad \text{sortie cuve n°8}$$

$$\tau = \frac{\beta_1}{\beta_2} = 4,17$$

Ce taux est supérieur à celui trouvé par la mesure du poids du culot ($\tau = 3,2$) ou à celui correspondant à la fraction volumique du culot ($\tau = 3,59$). Le rapport τ donne la valeur du facteur de concentration de la crème de levures dans l'atelier de séparation.

- Lors de la deuxième campagne, les débits moyens de soutirage journalier de la dernière cuve et d'alimentation de la première centrifugeuse sont de 42 m³/h.

36 m³/h de vin délevuré de première séparation sont envoyés en distillerie tandis que 6 m³/h de crème de levure diluée avec 6 m³/h d'eau sont soumis à une deuxième séparation d'où on extrait 10,6 m³/h de vin délevuré et 0,67 m³/h de crème de levure. Ceux-ci sont envoyés pendant 60 minutes dans les bacs de traitement et dilués avec 4,53 m³/h d'eau.

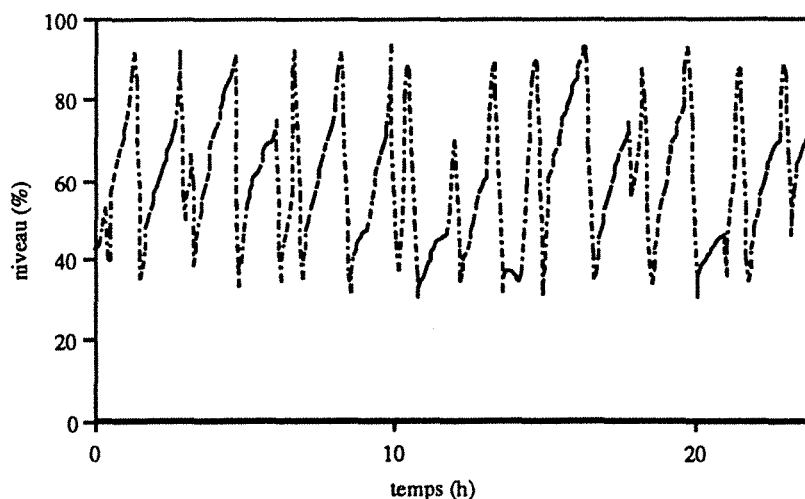


Figure n°8: Niveau du bac à vin, campagne continue n°2.

Il n'y a pas de perte au niveau des épulpeuses situées en aval des centrifugeuses. Les épulpeuses sont des filtres cylindriques à lames raclantes servant à retenir les grosses particules susceptibles d'endommager les centrifugeuses. Par contre, le colmatage des buses de sortie des centrifugeuses entraîne des variations de débits ajustées par les temps de pompage. Le temps de soutirage de la cuve n° 8 varie de deux heures à deux heures et demie avec

ensuite un arrêt de 15 à 20 minutes, sauf une fois par jour où le soutirage varie entre une heure et une heure et demie mais sans arrêt. Cette variation correspond au simple "turbinage", lors du nettoyage de la deuxième centrifugeuse.

Le vin issu de la première séparation est envoyé dans le bac à vin tandis que la crème de levure est injectée en continu dans un bac de lavage des levures. Le crème de levure est diluée à raison d'un volume d'eau pour un volume de crème de levures. Ce bac est aéré et de l'antimousse est ajouté au mélange. Il sert au "dégorgeage" des levures.

La crème de levure diluée est conduite au deuxième "turbinage". Le vin délevuré est pompé vers le bac à vin, abaissant légèrement la teneur en alcool du vin de première génération. La crème de levure est pompée vers les bacs de traitement où elle est diluée, alimentée en azote (65 g/hl AP de phosphate diammoniaque), en antimousse (26 g/hl AP), 0,5 kg de magnésie en fed batch, acidifiée (7,7 kg/hl AP de HCl 33 %) et recyclée dans la cuve mère (AP : Alcool Produit).

L'ensemble du procédé discontinu est régulé grâce à deux sondes de niveau situées dans les bacs de traitement et dans la cuve à vin.

Les niveaux dans ces cuves sont astreints à des valeurs de consigne.

Le niveau de consigne du bac de levures étant atteint avant celui du bac à vin, le vin issu de la cuve 8 et de la deuxième centrifugation est toujours dirigé vers son bac de stockage tandis que les levures extraites court-circuitent l'installation de traitement et sont expédiées en cuverie.

Le soutirage de la cuve n° 8 dure environ 2h15 avec 15 minutes de purge. Il est entièrement arrêté pendant 15 autres minutes de telle façon que le niveau de liquide atteigne son maximum et permette le rinçage à l'eau des installations de centrifugation.

Ce système n'est pas permanent. Une fois par jour le deuxième "turbinage" est court-circuité afin de permettre le lavage de la deuxième centrifugeuse. Les levures issues du "turbinage" primaire sont alors directement expédiées vers les bacs de traitement et recyclées en cuve mère.

Le recyclage des levures vers la cuve mère est également discontinu (niveau maximum toutes les 1h 45).

+ bar de prélèvement.

Les débits de sortie des conduites d'échantillonnage aboutissant au bar de prélèvement ont été mesurés. Le débit moyen de sortie réintroduit dans la cuve n°4 est de 2 m³/h à 2,5 m³/h. Cet effluent contient en moyenne 40 g/l de saccharose, 20 g/l d'éthanol, 3 g/l de biomasse totale, 4 g/l de glucose et 7 g/l de fructose. Ce débit n'est peut-être pas à négliger dans nos bilans.

+ laveur de gaz.

Les mesures effectuées sur cet appareil lors de la deuxième campagne sont reproduites en annexe n°16 et les caractéristiques du compresseur en annexe n°15.

Les gaz sont piégés dans le ciel du fermenteur et entraînés vers le laveur de gaz par une légère dépression induite par un compresseur. Signalons que ce système mélange les sorties de gaz de toutes les cuves et n'est pas étanche, entraînant une fraction d'air de l'extérieur. La pression partielle en oxygène n'est pas nulle à l'interface gaz-liquide dans le ciel des réacteurs.

Les gaz sont lavés avec de l'eau à un débit de 400 l/h (550 l/h en semi-continu). La solution de lavage contenant 5 à 6 °GL d'éthanol est recyclée dans le bac à vin.

I.3.f. Fonctionnement de l'atelier semi-continu.

Les huit cuves de fermentation fonctionnent en série pendant 24 heures avec un décalage d'environ 3 heures entre elles. La pompe d'alimentation en mélasses est asservie par des sondes de niveaux situées dans les cuves qui envoient un signal au régulateur toutes les 10 minutes. Dans les cuves proches de la pompe (n°4 et n°5 puis, n°3 et n°6), l'alimentation en fonction du temps est relativement linéaire. Par contre, on relève des palliers dans l'alimentation dus à la fermeture et à l'ouverture maximales des vannes. Pour remédier à ce problème, les vannes ont été bridées à 15 % d'ouverture minimale.

Les pertes de charge entre les cuves n°4 et n°5, et n°1 et n°8, provoquent également des distorsions dans le débit d'alimentation. Lorsque les cuves n°4 et n°5 sont alimentées à plein régime, les cuves n°1 et n°8 ne peuvent plus être alimentées. Chaque cuve est aérée à 500 l/h, ce que nous négligerons dans nos simulations.

+ Fonctionnement de la cuve mère.

La cuve mère est alimentée en continu par du jus vert provenant de la diffusion RT à un débit de 15 m³/h.

La crème de levure est recyclée en cuve mère à un débit moyen de 11 m³ toutes les 3 heures. Ce débit correspond à la vidange d'un des 3 bacs de traitement.

Le cycle de fonctionnement dans la cuve mère est de 1 soutirage vers un pied de cuve pour 2 recyclages des cuves de traitement. Lorsqu'il n'y a qu'un recyclage, le niveau est maintenu par une charge plus forte en jus vert.

La concentration d'éthanol en sortie de cuve mère est en moyenne de 5 °GL. La cuve est aérée (1 v.v.h. pour un volume de 300 m³).

+ Fonctionnement d'une cuve de production.

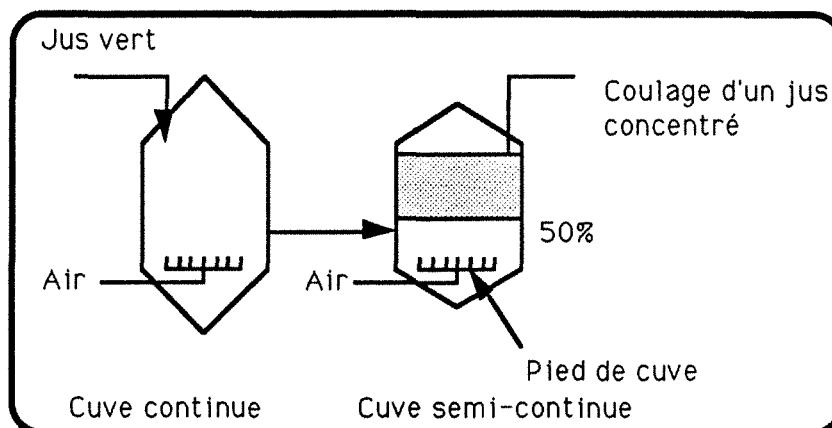


Figure n°9: Fonctionnement de l'installation discontinue.

Une cuve a un volume total de 150 m^3 pour un volume utile de 135 m^3 . Le pied de cuve injecté en 5 à 10 minutes a un volume de 60 m^3 .

La coulée commence immédiatement à un débit de $6 \text{ m}^3/\text{h}$ de mélasses et de $19 \text{ m}^3/\text{h}$ d'eau pendant 14 à 15 heures. Ces paramètres de fonctionnement ont été modifiés légèrement (augmentation de la concentration en mélasses) lors du deuxième cycle d'analyses. L'effluent issu du bar de prélèvement (jus vert + moût lourd) est mélangé au moût lourd.

Le temps de chute nécessaire à l'épuisement en sucre est théoriquement de 6 heures. La vidange de la cuve se fait en 3 heures, temps correspondant à 3 fois le remplissage du bac à vin.

Opération	temps	volume
Pied de cuve	5mn à 10mn	60 m^3
Coulage	14h	70 m^3
Chute	6h	
Vidange	3h	
Lavage	qq minutes	
Rinçage	qq minutes	
Synchronisation	qq minutes	

tableau n°5: Politique de coulée.

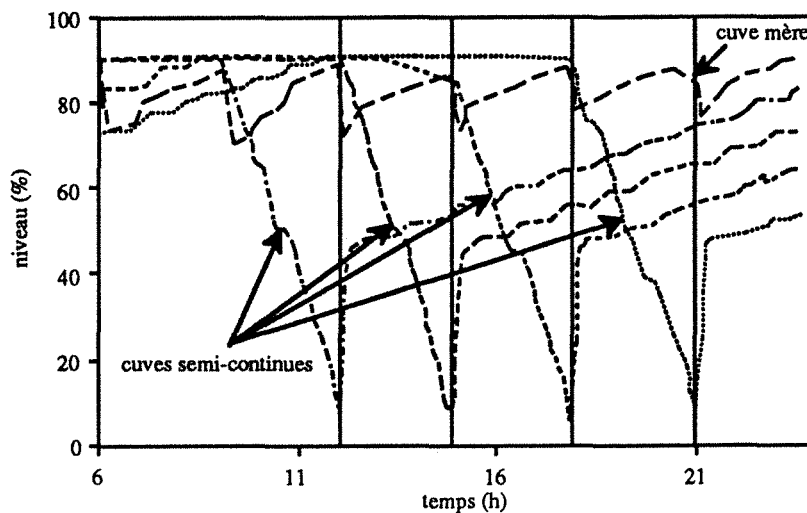


Figure n° 10: *Fonctionnement des cuves discontinues (cuve mère).*

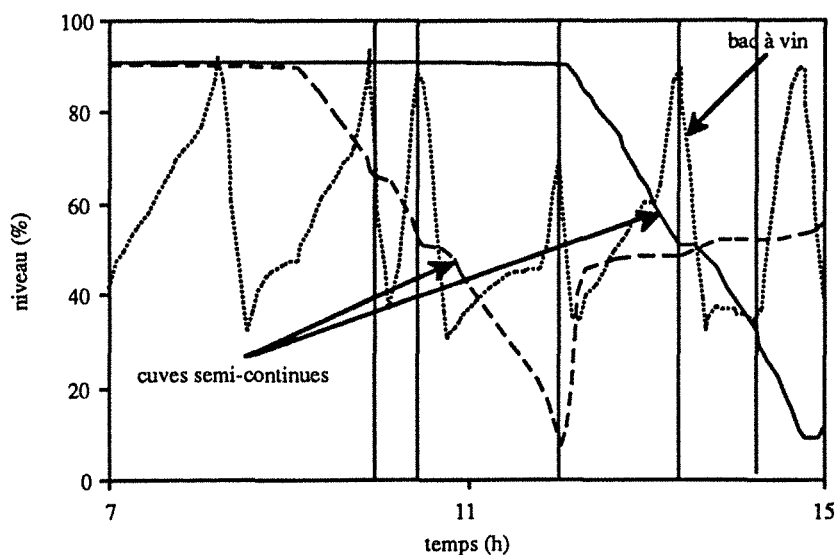


Figure n° 11: *Fonctionnement des cuves discontinues (bac à vin).*

La recirculation permettant le mélange et le refroidissement de la culture est en marche du début de l'injection du pied de cuve jusqu'à la fin du temps de chute mais pas pendant la vidange.

Lorsqu'il ne reste plus que 10% du volume dans la cuve, les parois de la cuve et l'échangeur sont prélevés pendant 2 minutes chacun ; l'eau résiduaire est envoyée au bac à vin. A 0% de volume, cuve et échangeur sont rincés. L'eau de lavage est envoyée à l'égout.

Le taux de purge correspond à la somme de la purge due aux centrifugeuses (non mesurable), au début de la vidange (5 minutes) et à la fin de la vidange (à 10% du volume).

Les suivis des deux fermentations semi-continues sont reportés en annexe n°17.

I.3. Résumé des résultats des campagnes de mesure.

Les bilans carbones des différentes campagnes ont été synthétisés sous forme de diagrammes circulaires décrivant la proportion du carbone entrant converti dans les différents produits de la fermentation.

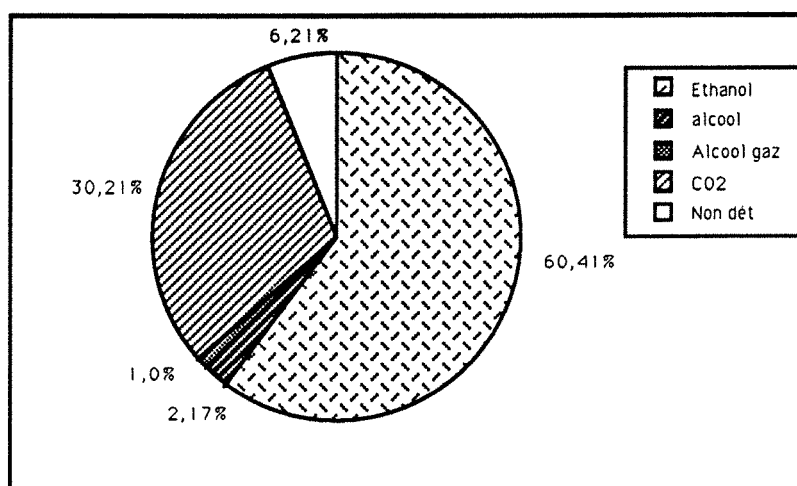


Figure n ° 12: Bilan campagne continue n° 1.

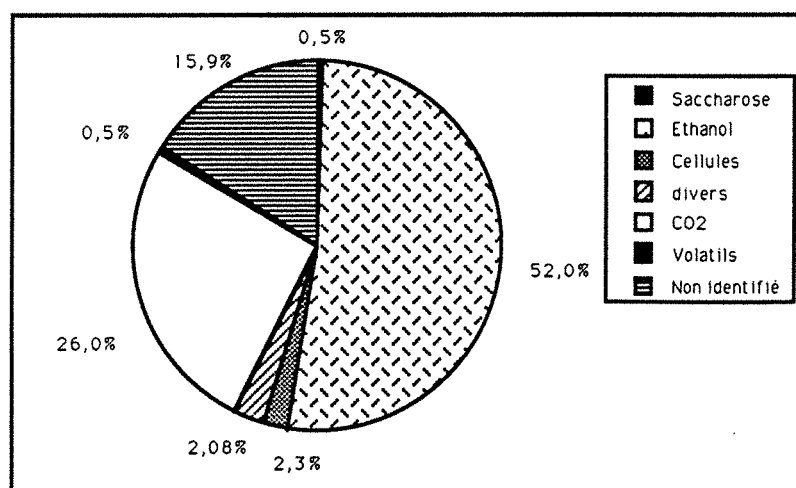


Figure n ° 13: Bilan campagne continue n° 2.

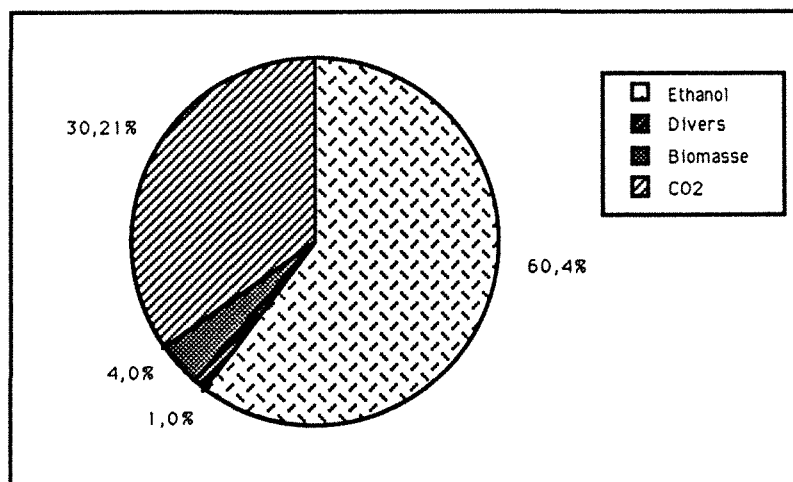


Figure n° 14: Bilan campagne semi-continue n° 1.

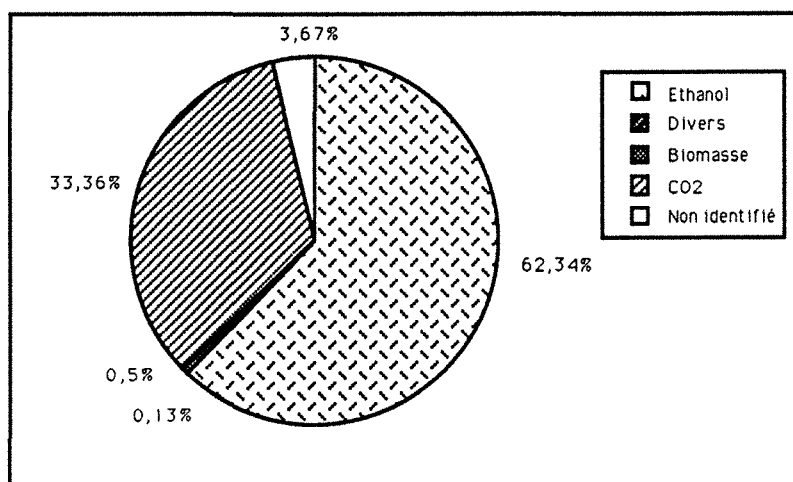


Figure n° 15: Bilan campagne semi-continue n° 2.

La campagne continue n°1 et les deux campagnes semi-continues donnent des taux de recouvrement compris entre 95% et 100%. La campagne continue n°2 donne un taux de recouvrement de 84% seulement. Nous n'avons donc pas tenu compte de cette campagne dans notre étude. Les résultats observés sont regroupés dans l'annexe n°18.

I.4. Remarques sur le fonctionnement de l'installation.

L'exploitation des résultats des analyses sur le site pendant trois campagnes nous a amenés à examiner le fonctionnement de l'installation. Plusieurs points nous ont semblé susceptibles d'amélioration.

Les débits dans l'atelier de séparation, bien que ce dernier soit asservi à un système de contrôle de niveau, sont imparfaitement connus. Le colmatage des buses, l'arrêt fréquent des centrifugeuses (pour le nettoyage ou pour panne), le court-circuit de la deuxième centrifugeuse une fois par jour entraînent des fluctuations de débits et de composition de

l'effluent. La purge de levure s'effectue à ce niveau. Rappelons qu'en recyclage partiel le taux de purge fixe le taux de croissance. Ce taux de purge n'est pas mesuré précisément, il est la résultante de plusieurs phénomènes.

Nous n'avons pas analysé les réactions intervenant dans les bacs intermédiaires. Si le pH bas dans les cuves de traitement doit limiter les réactions, nous ne connaissons pas le métabolisme des levures dans le bac de "dégorgeage". Le temps de séjour dans celui-ci est de 2 à 3 heures, dans un milieu "propre" et fortement aéré. Le temps de doublement des levures en aérobiose étant d'environ une heure, les levures croissent en épuisant les substances de réserve qu'elles ont accumulées soit dans les dernières cuves de la cascade soit pendant la phase de chute. Aucune étude n'a été faite sur l'état de la levure à l'entrée du recyclage.

Les acides aminés n'ont pas été dosés dans la recirculation. La concentration totale en protéines et acides aminés est supérieure à la sortie de la cuve n°8 malgré les lavages successifs. Un relargage des acides aminés ou de protéines dû à une lyse cellulaire apporte de l'azote en quantité non négligeable qui est sans doute à l'origine de la formation d'alcools lourds.

Le fonctionnement de la cuve mère ne semblait pas optimal. La faible purge de levure (10 à 15%), la faible concentration en substrat et une forte concentration en levure rendent la cuve mère inefficace. Elle ne produit pas de levure mais de l'éthanol. Son fonctionnement est limité par la concentration en saccharose résiduel.

Si la politique de fonctionnement est d'éliminer les sucres et de favoriser la croissance au sein de cette cuve, il nous semble nécessaire de revoir sa conception en augmentant la purge et en diminuant le recyclage. On peut également diminuer son volume.

La conséquence d'un tel fonctionnement sera probablement une diminution de la production d'éthanol dans la cuve mère, mais aussi une augmentation de la stabilité par le renouvellement plus important des levures. Une baisse du rendement de conversion du saccharose en éthanol est observée dans la cuve mère au profit d'une bonne croissance. Cette perte est compensée par la longévité du levain qui permet un gain sur les frais de production.

Le modèle que nous avons conçu devrait permettre d'établir une politique de coulée optimale aussi bien en continu (répartition des mélasses sur les cuves alimentées) qu'en fonctionnement semi-continu (alimentation non-linéaire en fonction du temps). Il reste cependant à vérifier que tous les paramètres sont bien pris en considération (notamment le rapport pH/acidité).

Conclusion.

Les campagnes de mesures ont été fondamentales à plusieurs niveaux :

- établissement de bilans cohérents.

- compréhension du fonctionnement pratique d'une installation industrielle,
- confrontation entre la théorie du laboratoire et la pratique industrielle,
- mise au point d'une méthodologie transportable d'analyses,
- acquisition d'un nombre important d'informations sur lesquelles vont s'étayer les hypothèses de notre modèle,
- études cinétiques et calcul de paramètres (vitesses, rendements, présence ou absence d'inhibition...),

II. Simulation des ateliers.

II.1. Module de simulation.

II.1.a. Système d'équations.

+ vitesses de réaction.

Les vitesses de réactions sont écrites de façon à être compatibles avec l'écriture des bilans dans ProSim et avec les habitudes des utilisateurs.

Les vitesses des constituants clés sont définies comme suit (en mol/h):

$$r_i(X) = qmax_i x_{bio} \prod_i V v_{mel}, \quad i = 1, noclés$$

Cette formulation est équivalente pour l'utilisateur à:

$$r_i(X) = qmax_i C_{bio} \prod_i V, \quad i = 1, noclés$$

$$\text{avec,} \quad \prod_i = \prod_{k=1}^{nocomp} \Phi(type(i, k), C_k)$$

$$\text{ou,} \quad \prod_i = \prod_{k=1}^{nocomp} \Psi(type(i, k), x_k)$$

valeur de type (j,k)	0	1	2	
Φ	1	$\frac{C_k}{(K_{sk} + C_k)}$	$\frac{K_{jk}}{(K_{jk} + C_k)}$	
Ψ	1	$\frac{x_k}{(K_{sk} v_{mel} + x_k)}$	$\frac{K_{jk} v_{mel}}{(K_{jk} v_{mel} + x_k)}$	

tableau n°6: différents types de loi cinétique.

où q_i est la vitesse spécifique du composant clé i , q_{max_i} est la vitesse maximale du composant clé i , x_{bio} et C_{bio} sont respectivement la fraction molaire de la biomasse et la concentration de la biomasse, V est le volume du réacteur, v_{mel} est le volume molaire du mélange. Il est pris égal à celui de l'eau dans nos simulations.

De même, on peut définir la vitesse d'un constituant quelconque par:

$$R_j(X) = \sum_{i=1}^{n_{clés}} \nu_{ij} r_i(X), \quad j = 1, n_{comp}$$

où ν_{ij} est le coefficient stoechiométrique du constituant j dans la réaction i .

+ description du bilan monophasique.

L'étude du nombre de degrés de liberté du bilan monophasique est réalisée comme suit (Westerberg A.W. et coll., 1979):

description des équations	nombre d'équations	inconnues calculées
bilan phase liquide: $\frac{d(U_L x_i)}{dt} = L_{in} x_{i,in}^L - L x_i + R_i(X), i = 1, n_{comp}$	nocomp	x_i
équation de sommation: $S^L = 1 - \sum_{i=1}^{n_{comp}} x_i$	1	L
vitesses de réaction: $R_i = \sum_{j=1}^{n_{clés}} \nu_{ij} r_j$	nocomp	définies

où U_L est la rétention molaire dans le fermenteur, x_i est la fraction molaire du composé i . $\frac{d(U_L x_i)}{dt}$ est le terme d'accumulation de l'espèce i dans le fermenteur ; ce terme est nul lorsque les simulations se rapportent à une unité en fonctionnement continu. L_{in} est le flux molaire phase liquide entrant, $x_{i,in}^L$ est la fraction molaire du constituant i dans le flux liquide entrant, L est le flux molaire phase liquide sortant, $R_i(X)$ est la vitesse de réaction du constituant i définie au paragraphe précédent.

Cette étude permet la construction d'un module de calcul incorporable dans le simulateur de procédé ProSim. Ce bilan décrit de façon univoque le système d'équations à résoudre.

II.1.b. Description du langage ProSim.

Le langage de description du module de simulation est le suivant:

#MODU

*REAC CUVEM EN=ALIMENTATION

SO=DEVERSE PIQUAGE

PAR=

NRC=6

NRCC=6

TYPE= RAC

VOLU= 300.'M3

BIO= 1

PBIO= 1

TAUX= 0.009

STOE=

0 -1 0 1 1 0 0 0 0 0 0 0 -1

0 0 -1 0 0 1 0 0 0 0 1 1 -1

0 0 0 -1 0 0 0 1.9 7.5E-02 1.05E-02 0 1.932 -3.2E-02

0 0 0 0 -1 0 0 1.9 7.5E-02 1.05E-02 0 1.932 -3.2E-02

6.67 0 0 -0.58 -0.58 -1 0 0 0 0 0 0.367 2.54

1.52 0 0 -2.17E-01 -2.17E-01 -2.27E-01 -1 0 0 0 0 1.08 1.58

MODL=

0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

0 0 1 0 0 2 0 0 0 0 0 0 0

0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0

0 0 0 2 1 0 0 0 0 0 0 0 0

0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0

0 0 0 0 0 1 1 0 0 0 0 0 0

VMAX= 0.85E-01

1.8E-03

0.75E-01

0.15

3.7E-02

0.2

AKS= 3.3E-02

1.0E-03 1.50E-02

9.0E-03

20.0E-03 1.70E-02

3.0E-02

3.0E-02 2.0E-05

IMP=1

METH=NUM

NRC=	: nombre de réactions biologiques définie.
NRCC=	: nombre de réactions contrôlées.
TYPE=(RAC)	: type du réacteur, toujours RAC.
BIO=	: nombre de populations microbiennes. 1 par défaut.
PBIO=	: indice des populations microbiennes. dans la liste des constituants.
TAUX=	: taux de partage dans le deuxième courant liquide sortant.(%)
STOE=	: matrice de stoechiométrie (nrc,nc)
MODL=	: matrice des influences sur les cinétiques (nrc,nc) La liste des valeurs de MODL est présentée en annexe n°19.
VMAX=	: vitesses spécifiques maximales dans l'ordre des nrc réactions. (mole/Cmole h)
AKS=	: constantes cinétiques dans l'ordre des nrc × nc MODL. (mole/l)
IMP=	: indicateur d'impression : 0- pas d'impression, 1- impression du facteur de relaxation et du critère de convergence à chaque itération, 2- impression comme en 1 avec les valeurs des fonctions des résidus. Le 3 et le 4 peuvent permettre d'obtenir l'indice de la variable impliquant la relaxation et les valeurs des coefficients de la matrice jacobienne.
METH=	: type du calcul: NUM numérique, ANA analytique.

II.1.c. Exemple de résultats.

Une simulation a été réalisée. Les résultats sont présentés de la façon suivante lors de l'impression du module:

MODULE CUVEM DE TYPE *REAC

1 COURANTS ENTRANTS ALIMENTATION
3 COURANTS SORTANTS DEVERSE PIQUAGE

REACTEUR ISOTHERME - 6 REACTION(S)

TYPE DE REACTEUR SPECIFIE : REACTEUR AGITE CONTINU (RAC)

TEMPERATURE = 303.150 (K)
PRESSION = 0.986923 (ATM)
TAUX DE VAPORISATION EN SORTIE = 0.00000
VOLUME DU REACTEUR = 300.000 (M3)

6 REACTION(S) CONTROLEE(S)

VITESSES DE REACTION (KMOL/HR)

BIOMASSE	0.92506E+00
SACCHARO	-0.48589E+01
AMINO ACID	-0.14071E+00
GLUCOSE	0.59943E-01
FRUCTOSE	0.57176E-01
AMMONIAC	0.20387E-02
OXYGENE	-0.24383E-01
ETHANOL	0.17928E+02
GLYCEROL	0.70768E+00
SUCCINATE	0.99076E-01
DERIVE	0.14071E+00
DIOXYDE CARBONE	0.18446E+02
EAU	-0.49249E+01

SOMME DES VITESSES DE REACTION MOLAIRES: 0.28416E+02

FRACTIONS MOLAIRES : CONCENTRATIONS MOLAIRES :
MOL/L

BIOMASSE	0.10892E-01	0.59518E+00
SACCHARO	0.29324E-03	0.16024E-01
AMINO ACID	0.15892E-04	0.86844E-03
GLUCOSE	0.92416E-04	0.50501E-02
FRUCTOSE	0.90341E-04	0.49367E-02
AMMONIAC	0.11577E-04	0.63262E-03
OXYGENE	0.12996E-07	0.71015E-06
ETHANOL	0.15137E-01	0.82715E+00
GLYCEROL	0.77588E-03	0.42398E-01
SUCCINATE	0.74294E-04	0.40598E-02
DERIVE	0.10545E-03	0.57622E-02
DIOXYDE CARBONE	0.14004E-02	0.76525E-01
EAU	0.97111E+00	0.53066E+02

II.2. Simulation de la campagne continue n°1.

Cette simulation a été réalisée hors (Pascal F. et coll., 1991) et dans ProSim (Pascal F. et coll., 1991). Les résultats de la simulation sont comparés avec succès aux valeurs expérimentales. Seules les simulation avec ProSim sont présentées dans les figures n°16 et n°17. Le modèle cinétique est présenté précédemment.

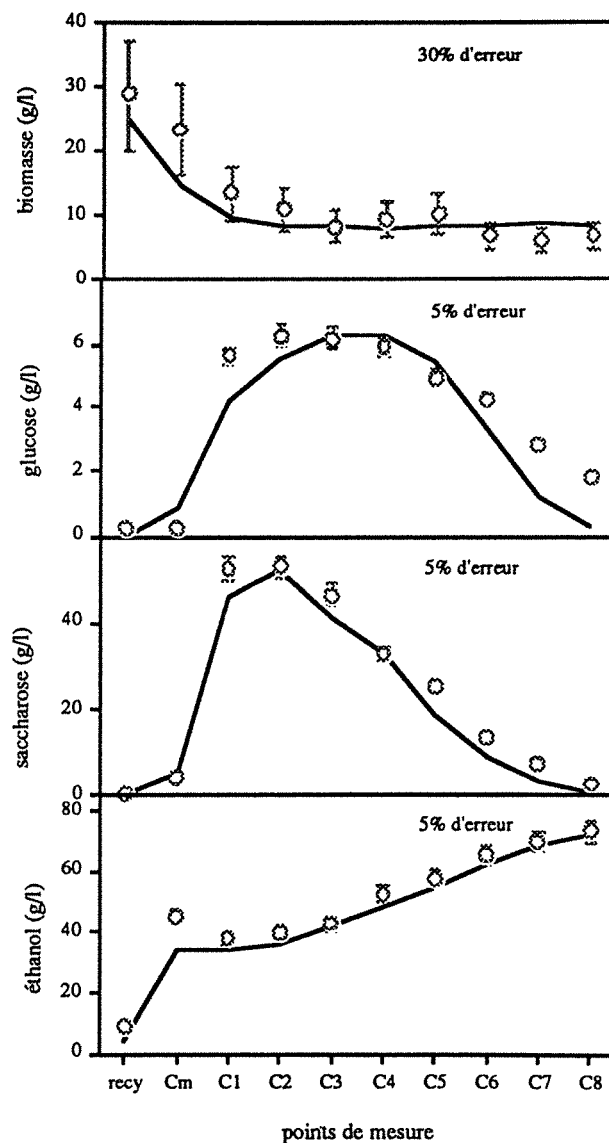


Figure n° 16: Simulation de la campagne continue n° 1.

Les écarts observés entre les mesures et la simulation sur les courbes de concentration du glucose sont dus aux débits non constants dans l'installation et aux faibles valeurs des concentrations rendant plus importante l'imprecision sur les mesures.

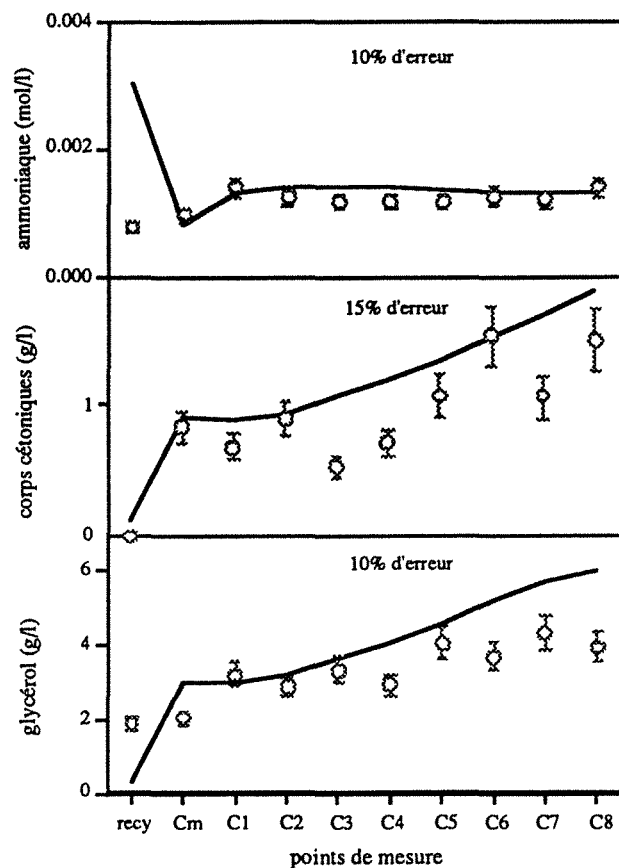


Figure n° 17: Simulation de la campagne continue n° 1.

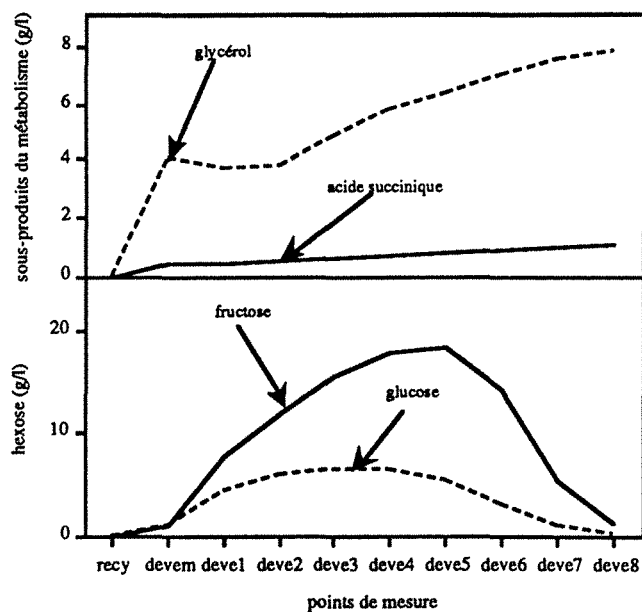


Figure n° 18: Simulation de la campagne continue n° 1.

Notre module nous a permis de simuler la production et la consommation du fructose et de l'acide succinique, composés que nous n'avons pas pu doser (figure n°18).

II.3. Simulation de la campagne semi-continue, suivi n°2.

La campagne de mesure sur l'atelier de fermentation en fonctionnement discontinu a donné lieu à deux séries de mesures. La deuxième série a été simulée. Les résultats de simulation ont été comparés avec succès aux mesures effectuées sur site. Ces comparaisons sont représentées sur les figures n°19, n°20 et n°21.

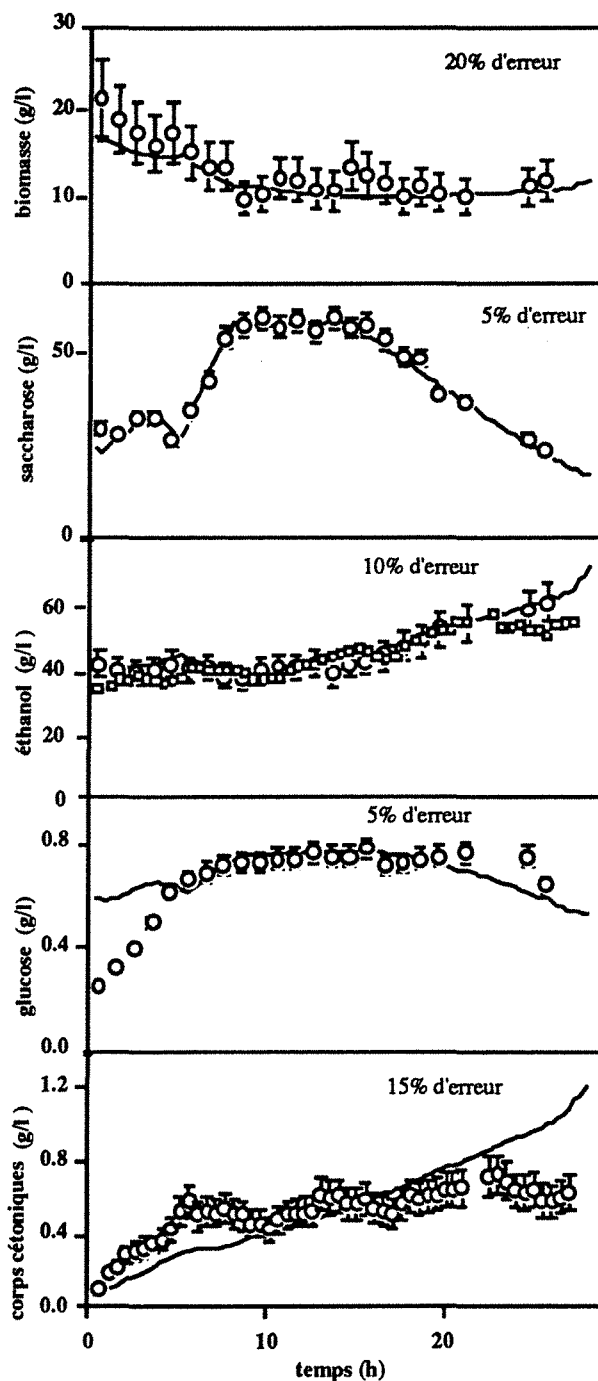


Figure n° 19: Simulation de la fermentation semi-continue n°2.

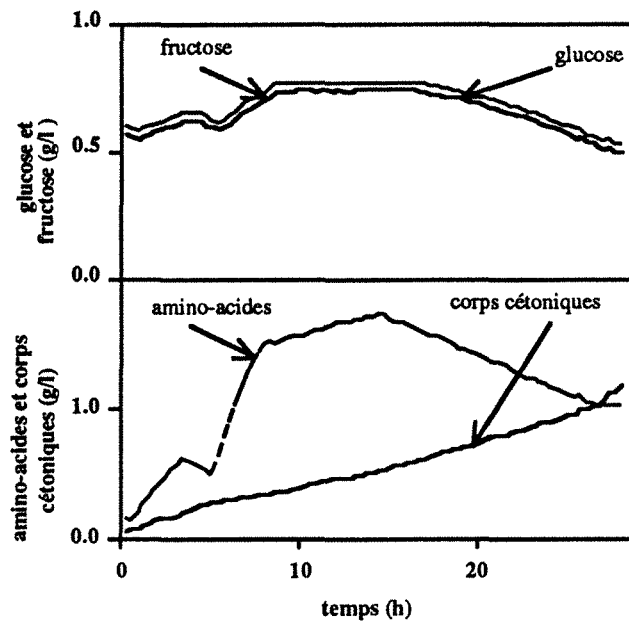


Figure n°20: Simulation de la fermentation semi-continue n°2.

Le volume utile du fermenteur est calculé séparément du système différentiel correspondant à la réaction de fermentation. Une baisse de l'activité de l'invertase et de l'affinité du *GAP* pour les amino-acides a été observée. Les valeurs du $Q_{max}(\text{Saccharose})$ et du $K_i(\text{NH}_3)$ sont respectivement 3.10^{-1} mol/l et 15.10^{-4} mol/l . Une étude du fonctionnement de l'atelier semi-continu dans son ensemble a été entreprise (Pascal F., Daubas B. et coll., 1992).

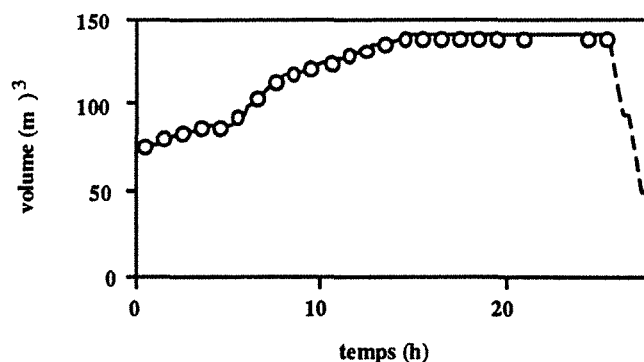


Figure n°21: Simulation de la fermentation semi-continue n°2.

Le fonctionnement de la cuve mère est régulé par les alimentations de levain et de jus vert. Suivant l'instant où le pied de cuve est versé dans une cuve de production, les concentrations initiales varient beaucoup. Les écart les plus importants sont observés sur la simulation de la concentration du glucose et des alcools lourds. Ils sont expliqués par les faibles teneurs qui

rendent les mesures difficiles et par l'éventuelle difficulté de ce modèle à rendre compte des comportements de la levure dans des fermentations semi-continues (adaptation, évolution de nombreux paramètres influant sur le métabolisme). La simulation correcte des fermentations semi-continues montre la capacité du modèle à décrire le comportement fermentaire de la levure.

II.4. Utilisation de l'outil de simulation.

II.4.a. Influence du recyclage.

Une autre utilisation du logiciel est l'aide à l'amélioration des conditions de fonctionnement des procédés. Nous avons donc étudié l'influence du taux de recyclage lors d'une répartition des alimentations identique à celle de la campagne continue n°1. La valeur usuelle est de 80,5%. Nous avons utilisé deux autres valeurs: 80,0% et 81,0%. Nous avons comparé les différentes simulations représentées sur les figures n°22 et n°23. Ce sont les taux de récupération molaire à la deuxième centrifugeuse.

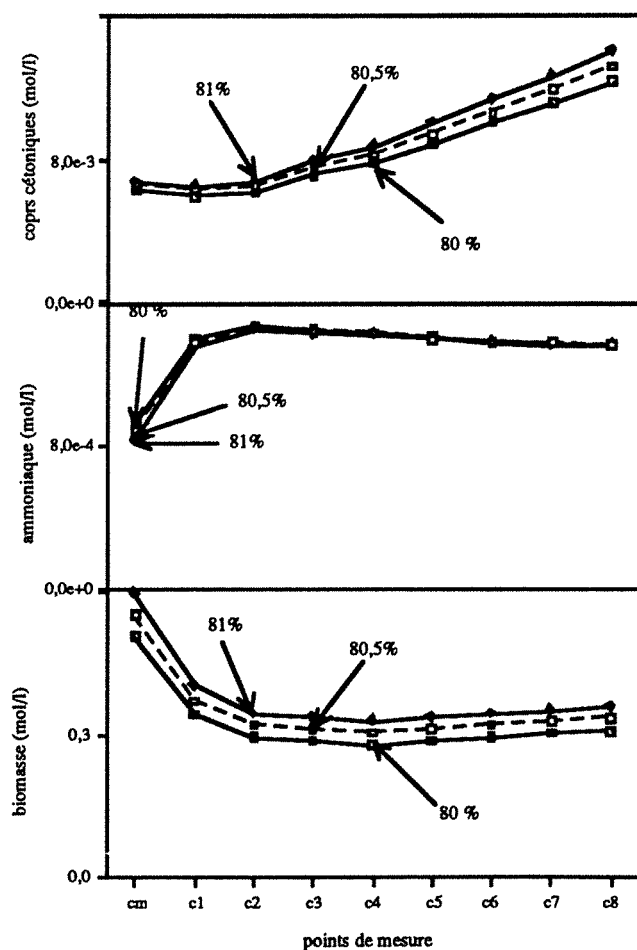


Figure n° 22: Comparaison de différents taux de recyclage.

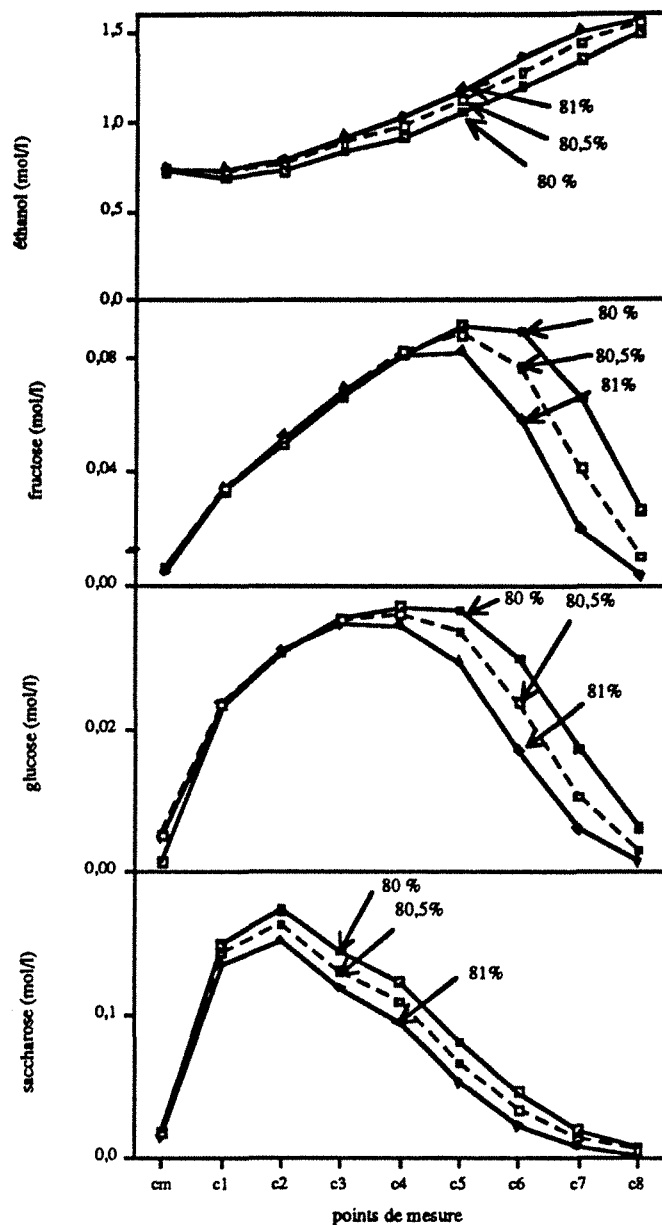


Figure n°23: Comparaison de différents taux de recyclage.

Les concentrations dans chaque cuve sont comparées. Une augmentation du taux de recyclage diminue l'importance de l'utilisation des cuves de chute. Les sucres sont consommés avant la fin de la cascade. La productivité n'est pas affectée dans le cas d'une cascade de fermenteurs. Elle est directement reliée à la quantité de substrat dans l'alimentation.

II.4.b. Influence de la répartition des alimentations.

L'étude de la répartition du substrat sur les quatre cuves a été réalisée. La répartition est définie par les taux de partage volumique de l'alimentation en moût lourd. Cinq types de répartition ont été utilisés:

- 10%, 10%, 30%, 50%; exponentielle croissante (A).

- 10%, 20%, 30%, 40%; linéaire croissante (B);
- 25%, 25%, 25%, 25%; équirépartie (C);
- 40%, 30%, 20%, 10%; linéaire décroissante (D);
- 50%, 30%, 10%, 10%; exponentielle décroissante (E);

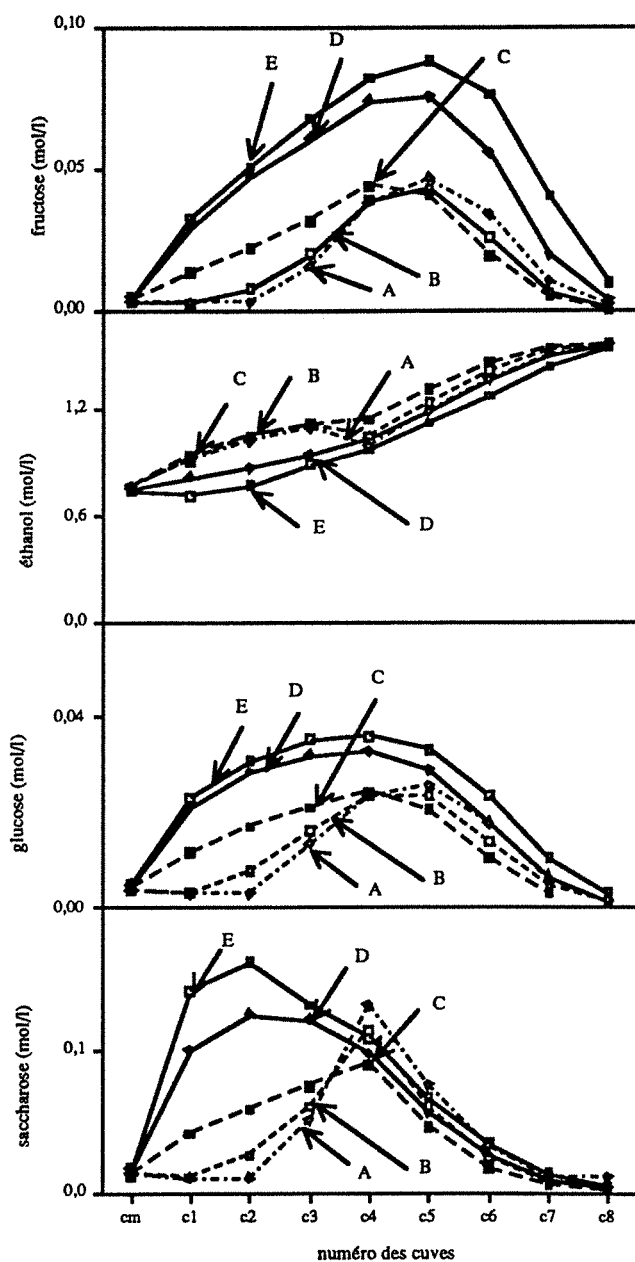


Figure n° 24: Comparaison de différentes politiques de répartition.

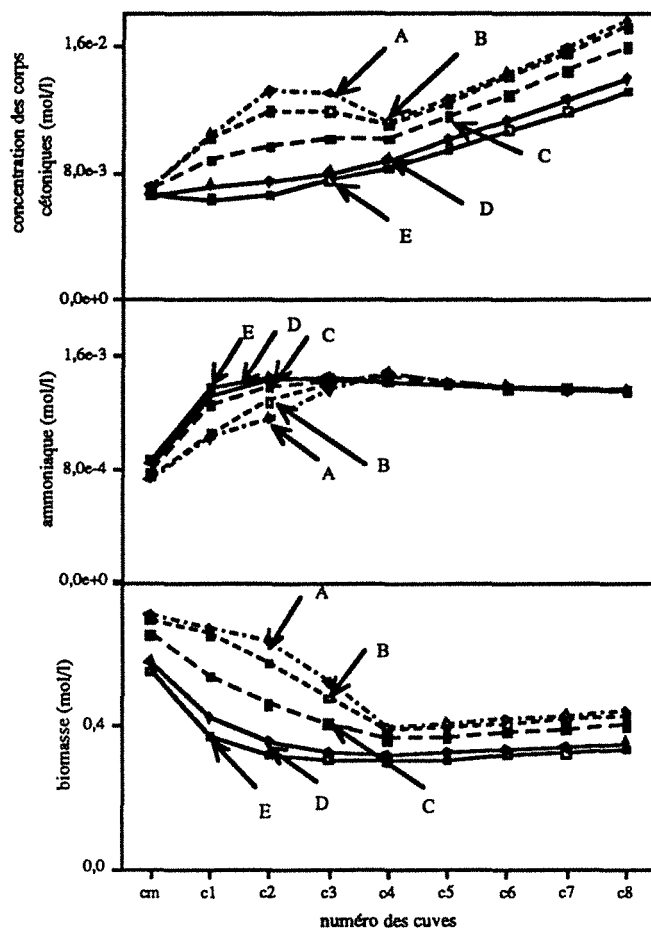


Figure n° 25: Comparaison de différentes politiques de répartition.

L'équirépartition semble permettre d'éviter une trop grande concentration en sucre sans augmenter trop rapidement la teneur en alcool (figures n°24 et n°25). Cette politique évite une baisse de l'efficacité des systèmes enzymatiques de la levure par une trop forte osmolarité due aux sucres et aux alcools. Ce mode de répartition semble intéressant pour la conduite d'une cascade de fermenteurs.

Conclusion.

Lors de ces études, nous avons montré comment construire un modèle possédant une stoechiométrie issue de contraintes de type non-structuré. Ce modèle fondé sur des lois cinétiques modulaires s'adapte aux habitudes des biotechnologistes en respectant la philosophie des simulateurs de procédés chimiques existants. L'utilisation de ces outils peut aider les biotechnologistes dans leur travail: aide au diagnostic d'erreur, aide à l'amélioration des conditions de fonctionnement, autant en ce qui concerne la répartition des substrats que le recyclage de la biomasse. La campagne de mesure en fonctionnement continu n°2 pourra faire l'objet d'une étude de réconciliation de données lorsque les outils utilisés en industrie chimique seront adaptés aux biotechnologies (Meyer M. et coll., 1990 ; Meyer M. et coll., 1992).

Modélisation des coefficients de transfert de matière.

Introduction.	104
I. Estimation des propriétés de transfert.	106
I.1. Estimation de la viscosité des milieux fermentaires.	106
I.2. Estimation de la diffusivité.	108
I.2.a. Cas des mélanges binaires.	108
I.2.b. Diffusion dans les mélanges multiconstituants.	109
I.3. Estimation de la tension de surface.	110
Conclusion.	111
II. Calcul de la taille des bulles.	112
III. Estimation du taux de rétention volumique de la phase gazeuse.	117
IV. Calcul de l'aire interfaciale.	119
V. Calcul du coefficient de transfert, kl .	120
VI. Calcul du coefficient de transfert volumique, kla .	121
VII. Remarque sur le facteur d'activation du transfert gaz-liquide.	122
Conclusion.	123

Introduction.

Dans les réacteurs biologiques, le facteur limitant la réaction biologique est souvent l'apport de nutriments sous forme gazeuse essentiellement l'oxygène. Cette limitation peut être recherchée comme dans le cas de la fermentation alcoolique où l'oxygène provoque une perte de production lorsqu'il est présent en grande quantité dans le milieu. Cette limitation peut être le goulot d'étranglement principal du procédé lors de la production de biomasse. Ce goulot est un bon moyen de commander le procédé.

Les différentes étapes pouvant limiter les phénomènes fermentaires ont été décrites lors de l'étude des cinétiques microbiennes. Dans le cas de micro-organismes non agrégés l'étape limitante du transfert est principalement le transfert entre l'interface gaz-liquide et le liquide (figure n°1). Plus généralement le phénomène de transfert dans les "slurries", réacteurs catalytiques triphasiques, est décrit par les équations suivantes pour un composé donné (Beenackers A.A.C.M., Van Swaaij W.P.M., 1986):

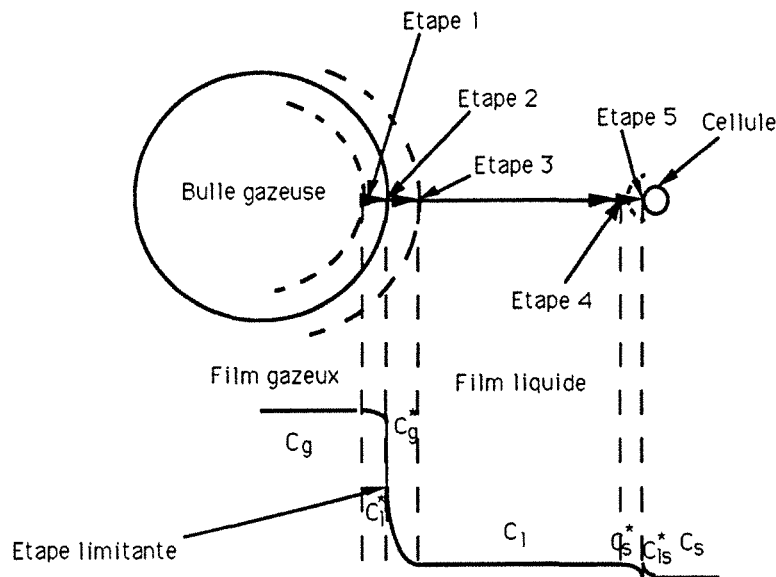


Figure n° 1: Les étapes du transfert gazeux (Leveau J.-Y., Bouix M., 1984).

$$n' = k_g a (c_g - c_g^*)$$

$$n' = k_l a (c_l^* - c_l)$$

$$n' = k_l d_p (c_l - c_{ls}^*)$$

$$n' = k_s d_p (c_s^* - c_s)$$

avec

n' : nombre de moles transférées par unité de temps entre deux phases ;

$k_g a$: coefficient de transfert gaz-liquide pour la phase gaz ;

$k_l a$: coefficient de transfert gaz-liquide pour la phase liquide ;

$k_l d_p$: coefficient de transfert liquide-solide pour la phase liquide ;

$k_s d_p$: coefficient de transfert liquide-solide pour la phase solide.

$$c_g = x_g \frac{P_i}{R.T} ; c_l = \gamma_l x_l ; c_s = \gamma_s x_s.$$

γ est le coefficient d'activité du composé dans la phase considérée.

Aux interfaces, les équations d'équilibre thermodynamique sont :

$$\frac{x_g^*}{c_l} = H ; \quad \frac{x_g}{c_l^*} = H ; \quad \frac{c_s^*}{c_s} = K ; \quad \frac{c_l}{c_s^*} = K ;$$

Les constantes H et K sont respectivement la constante de Henry et la constante d'absorption pour le composé considéré. Nous obtenons alors:

$$\frac{dn}{dt} = \frac{1}{\left(\frac{1}{k_g a \cdot H} + \frac{1}{k_l a} + \frac{1}{k_l d_p} + \frac{K}{k_s d_p}\right)} \left(\frac{c_g}{H} - K \cdot c_s\right)$$

Dans le cas des réacteurs biologiques, la taille des particules solides est très petite. Nous pouvons donc négliger la résistance au transfert des solutés du liquide vers le solide ainsi que la diffusion dans le solide (A. Moser, 1984). Nous pouvons écrire que $c_s \approx c_l$.

La vitesse de transfert est écrite sous la forme suivante: (les phases solide et liquide forment une phase pseudo-homogène (H.Van Landeghem, 1980)).

$$\frac{dn}{dt} = \frac{1}{dt} = \frac{1}{\left(\frac{1}{k_g a \cdot H} + \frac{1}{k_l a}\right)} \left(\frac{c_g^*}{H} - c_l\right)$$

Nous noterons K_{la} le terme $\frac{1}{\left(\frac{1}{k_g a \cdot H} + \frac{1}{k_l a}\right)}$.

Les ordres de grandeur relatifs des deux termes étudiés dans les systèmes biologiques conduisent à considérer $K_{la} \approx k_{la}$.

$$1 - \frac{k_{la}}{K_{la}} < .05$$

Le problème dans notre cas se réduit au calcul d'un réacteur diphasique, pour des phases biotiques non floculantes, ne croissant pas sous forme de pelotes ou sous une forme incluse. Nous devons considérer plusieurs cas suivant la puissance fournie, le type de fermentation et le type de réacteur:

- la puissance peut être fournie par un système de pales (réacteurs agités), par un diffuseur de gaz (colonne à bulle) ou par la désorption d'un gaz produit (gaz carbonique, hydrogène),
- selon le type de la fermentation, celle-ci peut produire ou non des gaz qui entraînent le phénomène de désorption,
- le type de réacteur peut induire par sa géométrie des phénomènes d'agitation particuliers au sein des phases en présence, cas des fermenteurs cylindro-coniques (Knudsen F.B., 1979).

Suivant le cas considéré, le comportement hydrodynamique des phases est variable. Plus généralement, la phase liquide est parfaitement agitée. La phase gaz peut être en écoulement piston (colonne à bulles) ou en régime parfaitement agité (réacteur agité). Les phénomènes de dispersion axiale peuvent être pris en compte suivant le rapport longueur sur diamètre (colonne à bulles). Nous nous rapporterons à une classification décrite pour les colonnes à bulles par Deckwer W.D. (Deckwer W.-D., 1986).

Suivant les dimensions du système, l'utilisation d'une succession de compartiments où les deux phases seront considérées comme parfaitement agitées permet la simulation des réacteurs polyphasiques. Dans chacun de ces compartiments, la valeur du coefficient de transfert de masse volumique varie avec les caractéristiques du système (Belfares L., 1991).

I. Estimation des propriétés de transfert.

Les phénomènes de transfert de matière sont notre principale préoccupation dans le cas du calcul des fermenteurs. Les réactions se déroulant à des températures voisines de la température ambiante, les phénomènes de transfert de chaleur sont souvent négligeables. Nous allons nous intéresser au calcul et à l'estimation des propriétés de transfert de matière dans les milieux de fermentation et mettre en évidence les difficultés rencontrées.

I.1. Estimation de la viscosité des milieux de fermentation.

La viscosité peut être estimée par une loi log-additive du type (Ely-Hanley) en ne considérant que les composants sous une forme liquide ou gazeuse dans les conditions opératoires de la fermentation ; les solides dissous ne sont pas directement pris en compte.

$$\ln(\eta) = \sum_{i=1}^{nocomp} (x_i \ln(\eta_i))$$

Un facteur de correction peut être additionné à cette loi log-additive (Grunberg L., 1949).

$$\ln(\eta) = \sum_{i=1}^{nocomp} (x_i \ln(\eta_i)) + \sum_{i \neq j} \sum (x_i x_j G_{ij}).$$

La méthode de Grunberg et Nissan est facile d'emploi. Le terme G_{ij} peut être ajusté sur des données expérimentales ou estimé à l'aide des contributions de groupes (Reid R.C. et coll., Ch 9, 1986):

$$G_{ij} = \sum \Delta_i - \sum \Delta_j + W$$

Dans notre cas, W sera toujours égal à zéro. Le facteur correctif G_{ij} dépend également de la température suivant la loi proposée par Isdale:

$$G_{ij}(T) = 1 - ([1 - G_{ij}(298)] \left[\frac{573 - T}{275} \right])$$

Le problème réside alors dans l'obtention d'une valeur de la viscosité des solides dans les conditions opératoires. Nous nous référerons à l'état standard défini pour ces corps et nous utiliserons la viscosité calculée correspondante avec si possible, une correction en fonction de la température. Cette remarque se rapporte principalement aux solutions sucrées.

Bien que Reid et coll. préconisent de ne pas utiliser cette corrélation dans les milieux aqueux, elle est plus facile d'utilisation dans notre cas. Le terme G_{ij} permet de rendre compte facilement de résultats expérimentaux sur cette propriété.

Dans la pratique, le solvant a une place prépondérante dans ce calcul. Les termes correspondant aux viscosités des corps purs ont peu d'influence sauf pour le solvant ; en revanche, l'influence du terme correctif prend toute son importance.

Pour les fermentations mettant en jeu des micro-organismes filamenteux ou de fortes concentrations en biomasse (ultra-fermenteur), la viscosité doit tenir compte des écarts observés par rapport à l'eau. Les fluides sont alors non newtoniens et peuvent être représentés par des relations de la forme:

$$\tau = A \left(\frac{d\gamma}{dt} \right)^\beta;$$

$$\eta = \tau \left(\frac{d\gamma}{dt} \right)^{-1} = A \left(\frac{d\gamma}{dt} \right)^{(\beta-1)};$$

où A est une fonction de la concentration en agent modifiant la viscosité du solvant, terme déjà inclus dans la relation précédente (Blanch H.W., 1976).

L'erreur avec la corrélation de Grunberg et Nissan est voisine de 10%.

I.2. Estimation de la diffusivité.

I.2.a. Cas des mélanges binaires.

La diffusion d'un composé A dans un solvant B à dilution infinie implique que le composé A diffuse dans B pur. Dans notre cas, le solvant étant généralement l'eau, le problème du calcul de la diffusivité est à la fois simplifié (il n'y a qu'un coefficient par composant entrant dans le procédé) et plus complexe (le solvant s'associe avec les solutés par des interactions de type: liaisons hydrogène, liaisons ioniques) et limite le nombre de corrélations disponibles en vue de la prédiction de la diffusivité.

Un autre problème majeur est la connaissance souvent incomplète de la composition exacte du milieu fermentaire. Deux corrélations proposées par Reid R.C. et coll. (Reid R.C. et coll., Ch11, 1986) peuvent être retenues pour calculer la diffusivité des solutés à dilution infinie (D_{AB}°).

La corrélation d'Hayduk et Minhas peut être appliquée aux systèmes aqueux (Hayduk W., Minhas B.S, 1982):

$$D_{AB}^\circ = 1,25 \cdot 10^{-8} (V_A^{0,19} - 0,292) T^{1,52} \eta^{\epsilon^*},$$

$$\text{avec } \epsilon^* = \left(\frac{9,58}{V_A} - 1,12 \right).$$

de même la corrélation de Nakanishi (Nakanishi K., 1982):

$$D_{AB}^\circ = \left(\frac{9,97 \cdot 10^{-8}}{(I_A V_A)^{\frac{1}{3}}} + \frac{(2,4 \cdot 10^{-8} A_B S_B V_B)}{(I_A S_A V_A)} \right) \frac{T}{\eta_B}.$$

I_A , S_A , S_B et A_B sont des facteurs prédéfinis.

Remarque: S_B et S_A sont généralement égaux à 1 sauf dans le cas des paraffines pour lesquelles

$$5 \leq n \leq 12.$$

Les deux corrélations sont comparées pour des systèmes de solvant aqueux, les écarts entre les valeurs calculées et les valeurs mesurées sont voisins de 10%.

Ces deux corrélations tiennent compte de la variation de la viscosité du milieu. Le passage de la diffusivité à dilution infinie à la diffusivité (D_{AB}) se fait par l'utilisation de la relation de Vignes (Vignes A., 1966).

$$D_{AB} = [(D_{AB}^\circ)^{x_B} (D_{BA}^\circ)^{x_A}]^\alpha$$

ou d'une manière plus complète,

$$D_{AB}\eta = [(D_{AB}^\circ\eta_B)^{x_B}(D_{BA}^\circ\eta_A)^{x_A}]^\alpha$$

$$\alpha = 1 + \frac{d \ln \gamma_A}{d \ln x_A}$$

Cette corrélation donne une erreur d'environ 10% sur la diffusivité dans le solvant. Lorsque les corps purs sont associés dans le mélange, il n'y a pas de bonne corrélation pour prédire leur diffusivité. La variation de la diffusivité en fonction de la viscosité et de la température est souvent corrélée de la façon suivante, B étant le solvant:

$$\frac{D_{AB}^\circ\eta_B}{T} = \text{constante}$$

Plus généralement,

$$D_{AB} \text{ ou } D_{AB}^\circ = A \exp\left(\frac{-B}{T}\right)$$

ce qui conduirait uniquement à calculer la diffusivité à la température de référence puis à calculer sa variation en fonction de la température. Dans le cas des fermentations, cette variation sera de faible importance en raison de la faible variabilité des températures opératoires.

I.2.b. Diffusion dans un mélange multiconstituants.

Dans le cas des milieux de fermentation, la propriété de transfert la plus importante reste la viscosité.

Le calcul de la diffusivité ne considèrera pas les interactions entre les solutés, mais seulement leur diffusivité dans l'eau. Le problème peut se résoudre de façon plus précise en utilisant la relation de Cullinan pour un ternaire puis un mélange multiconstituants. Cette relation n'est applicable qu'aux mélanges de corps purs ne s'associant pas. La corrélation de Perkins et coll. (Perkins L.R., Geankophis C.J., 1969) peut être utilisée, mais les effets dus aux interactions entre les solutés sont mineurs par rapport à celui de la viscosité du mélange.

$$D_{Am}^\circ\eta_m^{0,8} = \sum_{j=1}^n x_j D_{Aj}^\circ\eta_m^{0,8}$$

On peut dans le cas du gaz carbonique améliorer cette corrélation en la modifiant (Takahashi M., 1982), mais la même remarque s'impose.

$$D_{CO_2m}^{\circ} \left(\frac{\eta_m}{V_m} \right)^{\frac{1}{3}} = \sum_{j=1; j \neq CO_2}^n x_j D_{CO_2m}^{\circ} \left(\frac{\eta_j}{V_j} \right)^{\frac{1}{3}}$$

La prédiction de la diffusivité dans les milieux de fermentation est limitée par le manque de données de la littérature et par les difficultés d'obtenir une corrélation qui prendra en compte les effets associatifs entre le solvant et les solutés habituellement rencontrés: polyalcools, protéines et sels.

L'effet majeur est la variation de la diffusivité avec la concentration et la viscosité. La relation de Vignes sous la forme suivante satisfait à ces exigences (Cullinan H.T. Jr., 1967):

$$D_{AB}\eta = D_{AB}^{\circ}\eta_s(\rho_s\bar{V}_s)^{-1} \left(1 + m \frac{\partial \ln \gamma_{\pm}^+}{\partial m} \right)$$

Pour la diffusion des sels dans les solutions aqueuses, nous nous rapporterons aux ouvrages de Miller ou Wendt (Miller D.G., 1966; 1967; Wendt R.P., 1965)

Lors de la diffusion des ions chargés, les champs électrostatiques engendrés provoquent des phénomènes d'accélération consécutifs à la modification de l'électroneutralité locale. Si les ions diffusent par paires, le formalisme de cette dernière relation correspond assez à celle de Vignes (Cullinan Jr. H.T., 1970 ; Siddigi, M.A. and K. Lucas, 1986).

Dans la pratique, les calculs sont réalisés en prenant en compte uniquement le solvant, l'eau. Le calcul pour le mélange multiconstituants n'est pas effectué. Toutefois, la présence de solutés ioniques peut entraîner des erreurs importantes. Il faut alors prendre en compte les phénomènes électrostatiques qui accroissent fortement les diffusivités des espèces ioniques dans un milieu dissociant.

I.3. Estimation de la tension de surface

Dans les milieux fermentaires une loi linéaire en fonction des compositions ne peut pas être appliquée. En effet, de nombreux composants, polyalcools, protéines et tensioactifs ont des concentrations beaucoup plus élevées à la surface en raison de leur caractère amphiphile (Marrucci G., 1969).

Peu de corrélations adaptées à notre cas ont été développées, la concentration à la surface étant peu accessible à la mesure.

Dans le cas de mélanges multiconstituants, les corrélations existantes ne sont pas applicables. Il n'est donc pas possible dans l'état actuel des connaissances de proposer une corrélation pour estimer la tension de surface d'un mélange de corps purs dans un milieu de fermentation.

La connaissance de la composition des milieux complexes est souvent incomplète: il n'est

pas possible de tenir compte de tous les constituants. Certains de ces derniers, bien qu'en faible quantité, peuvent avoir des effets non négligeables sur cette propriété (figure n°2).

La seule information utilisable pour connaître les propriétés de coalescence du milieu concerne la stabilité des mousses et plus particulièrement celle des films. Notons que la présence de micro-organismes modifie aussi la valeur de la tension de surface en augmentant la stabilité des mousses, la concentration locale en biomasse pouvant être importante à la surface.

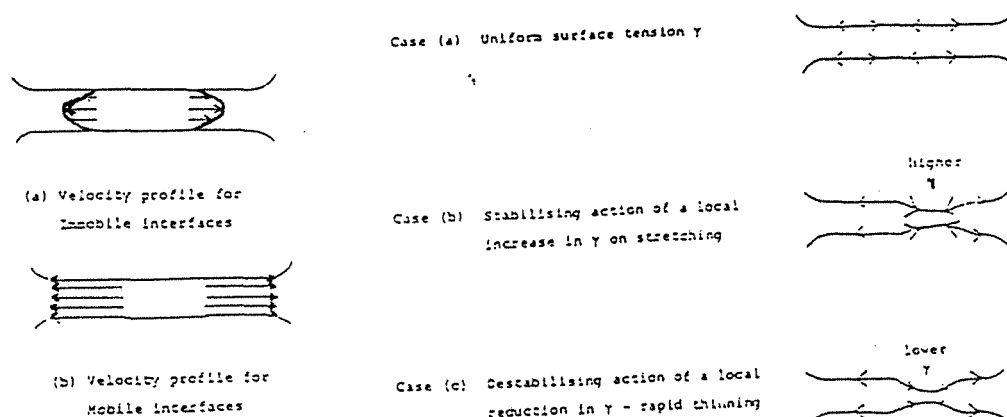


Figure n°2: Effet de la tension de surface sur la stabilité du film (Lee J.C., Tynan K.J., 1988)

Dans le cas des milieux de fermentation, peu d'auteurs utilisent des corrélations incluant la tension de surface de par la difficulté d'obtenir une valeur correspondant à la réalité.

Conclusion.

Les propriétés de transfert ne sont pas correctement estimées dans les milieux de fermentation, notamment en ce qui concerne la tension de surface. Dans ce cas, le comportement est généralement dicté par les agents anti-mousses dès que leur concentration est supérieure à 0,01 g/l, quelle que soit la concentration en protéines (Lee J.C., K.J. Tynan, 1988).

Dans la pratique, les propriétés de transfert calculables sont la viscosité et la diffusivité avec l'eau comme solvant.

- L'estimation de la viscosité est faite pour des fluides newtoniens ; dans les autres cas, une étude particulière devra être menée.
- La diffusivité dépend fortement de la viscosité et de la composition.
- La tension de surface ne peut pas être déduite des propriétés des corps purs.

Nous ne pouvons donc estimer de manière correcte que la viscosité et éventuellement la diffusivité.

II. Calcul de la taille des bulles.

La taille des bulles est la grandeur la plus difficile à calculer et à mesurer. De nombreux modèles ont été développés afin de prédire à partir des propriétés physico-chimiques le comportement et la taille des bulles. Les études sont effectuées pour un diffuseur simple et leur généralisation à un système de diffuseur multiple se fait assez facilement si les bulles interagissent peu entre elles. Le diamètre moyen des bulles ou diamètre de Sauter est défini par la relation suivante:

$$d_{Sauter} = \frac{\sum_{i=1}^n \nu_i d_{Bi}^3}{\sum_{i=1}^n \nu_i d_{Bi}^2}$$

Ces études (Kumar R., Kuloor N.R., 1970) tiennent compte de l'énergie injectée dans le système sous forme mécanique (agitation, injection de gaz) mais pas de la production de gaz. Elles décrivent le bilan des forces au niveau de la bulle sans interaction avec ses voisines, ce qui est vrai pour les fluides non-coalescents aux faibles débits de gaz.

Les débits gazeux dans les fermenteurs industriels se situent dans une gamme correspondant aux faibles débits définis par Kumar. La valeur de la vitesse superficielle du gaz est inférieure à 0,05 m/s dans ces fermenteurs en raison de leur taille et des contraintes techniques.

En revanche, dans le cas de forte production gazeuse, la formation de bulles par désorption de gaz dans le milieu obéit non seulement aux phénomènes décrits précédemment mais aussi aux phénomènes de nucléation des bulles dans le milieu (Mesler R., 1986).

Dans la gamme de débits usuels, l'influence de la tension de surface n'est pas négligeable par rapport à la poussée d'Archimède et aux forces d'interactions visqueuses. Une étude plus poussée de la taille des bulles fait appel à la théorie de Kolmogoroff (figure n°3). La valeur de l'énergie dissipée localement comme dans le cas des phénomènes d'agglomération provoque la rupture de grosses bulles, la poussée d'Archimède tendant à provoquer le même effet alors que la tension de surface fait coalescer les bulles de petite taille jusqu'à une taille critique où ces forces s'équilibrent (Kawase Y, Moo-Young M., 1990 ; Lee J.C., K.J. Tynan, 1988; Villiermaux J., 1986).

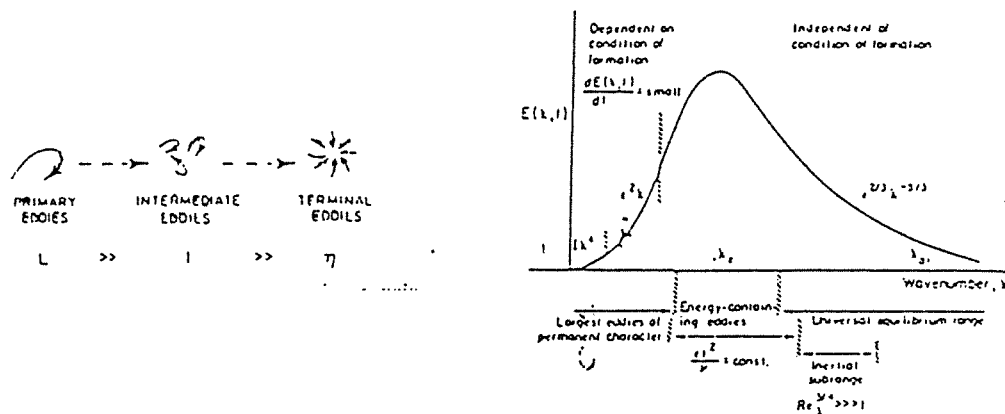


Figure n°3: Energie dissipée, taille des turbulences, (Kawase Y, Moo-Young M., 1990).

Un nombre adimensionnel, le nombre de Weber d'écoulement dans un orifice, rend compte de l'équilibre entre les forces dues à la tension de surface et la puissance due à l'injection de gaz au niveau du diffuseur lors de la rupture des bulles:

$$We = \Delta P d_B^3 / D^2 \sigma \quad \frac{\text{forces d'inertie}}{\text{tension de surface}}$$

La valeur du nombre de Weber qui correspond à une rupture en deux bulles identiques est de 2 (Dodd P.W., Pandit A.B., Davidson J.F., 1988). Dans les colonnes à bulles, lorsque l'influence du diffuseur devient négligeable par son éloignement de la zone d'écoulement, le nombre de Weber d'écoulement est utilisé et rend compte de cet équilibre:

$$We = \rho v_G^2 d_B / \sigma \quad \frac{\text{forces d'inertie}}{\text{tension de surface}}$$

Dans le cas des cuves agitées, le nombre de Weber n'est pas utilisé.

Le nombre de Froude,

$$Fr = N^2 d_{ag} / g \quad \frac{\text{forces d'inertie}}{\text{forces gravitationnelles}}$$

le nombre de Reynolds,

$$Re = N d_{ag}^2 \rho / \eta \quad \frac{\text{forces d'inertie}}{\text{force de viscosité}}$$

et le nombre d'aération,

$$Ar = Q_G / N d_{ag}^3 \quad \frac{\text{débit d'aération}}{\text{débit de pompage}}$$

sont utilisés simultanément et permettent de quantifier ces comportements, les forces visqueuses étant plus fortes (figure n°4). Ces nombres adimensionnels permettent de quantifier aussi l'engorgement des mobiles d'agitation et donc leur efficacité à mélanger les deux phases (Ninow, A. W., Wisdom D.J., Middleton J.C., 1977). Le nombre d'aération définit l'écart des réacteur agités par rapport au comportement d'une colonne à bulles (Nishikawa M., Nakamura M., Yagi H., Hashimoto K, 1981; Laine J., Söderman J., 1988).

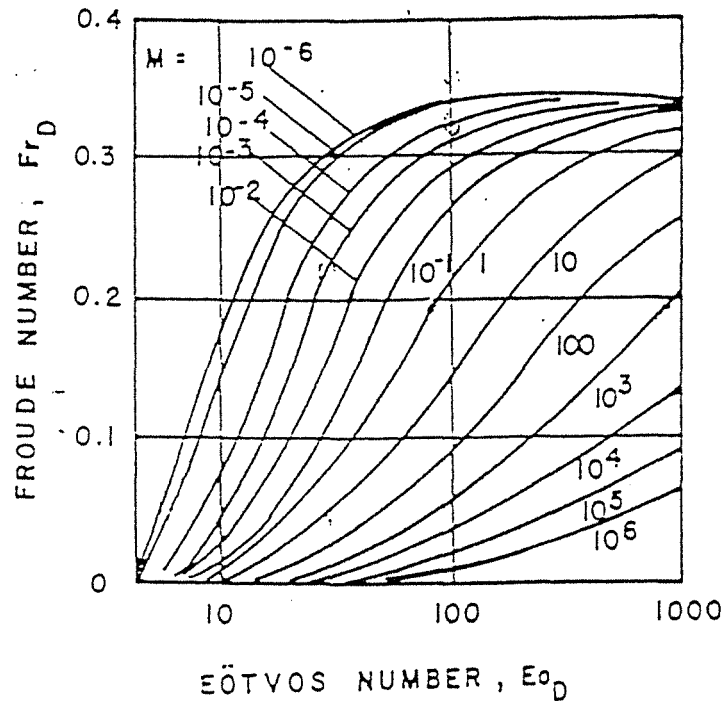


Figure n°4: Corrélation entre le nombre de Froude et le nombre de Eötvös (J.R. Grace, T.Wairegi, 1986).

Le nombre d'Eötvös est défini de la manière suivante (figure n°5 et figure n°6)):

$$Eo = \Delta \rho g d_B^2 / \sigma \quad \frac{\text{poussée d'Archimède}}{\text{tension de surface}}$$

Un autre nombre est défini, le groupe de propriété du fluide:

$$M = g \eta^4 \Delta \rho / \rho^2 \sigma^3$$

Le manque d'informations sur la valeur de la tension de surface rend difficile le calcul de la taille des bulles. Il est possible de définir les quatre domaines de comportement des bulles sur la figure n°5 (J.R. Grace, T. Wairegi, 1986):

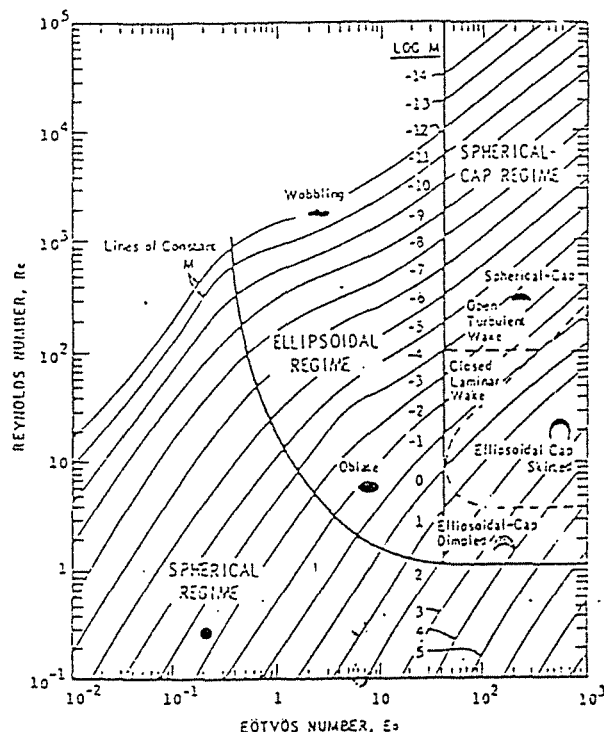


Figure n°5: Corrélation entre le nombre de Reynolds et le nombre de Eötvös (J.R. Grace, T.Waigri, 1986) (montée de bulle isolée).

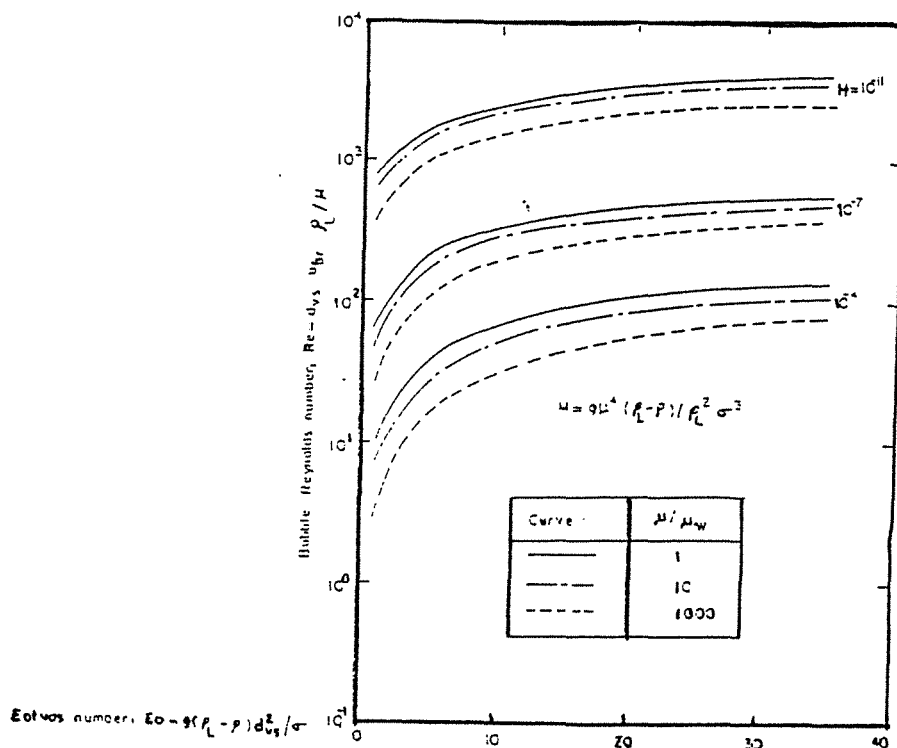


Figure n°6: Corrélation entre le nombre de Reynolds et le nombre de Eötvös pour un système eau-air (K.Viswanathan, 1986).

D'après ces graphiques, nous pouvons noter l'importance des propriétés de transfert sur le comportement des bulles. Nous pouvons définir quatre domaines suivant la taille des bulles:

- régime de Stock, bulles sphériques:

$$d_B < 2.10^{-4},$$

- régime de Van Allen, bulles ovoïdes:

$$2.10^{-4} < d_B < 1.10^{-3},$$

- régime de Newton, bulles déformées:

$$1.10^{-3} < d_B < 1,5.10^{-2},$$

- régime de Newton, bulles sous forme de calotte:

$$1,5.10^{-2} < d_B.$$

Le calcul de la valeur de la vitesse limite ascensionnelle dans chacune de ces zones est présenté sur la figure n°7. Cette valeur tend vers une limite, la phase liquide étant entraînée.

$$(0.25\text{m/s} < \overline{v_b}^\infty < 0.27\text{m/s})$$

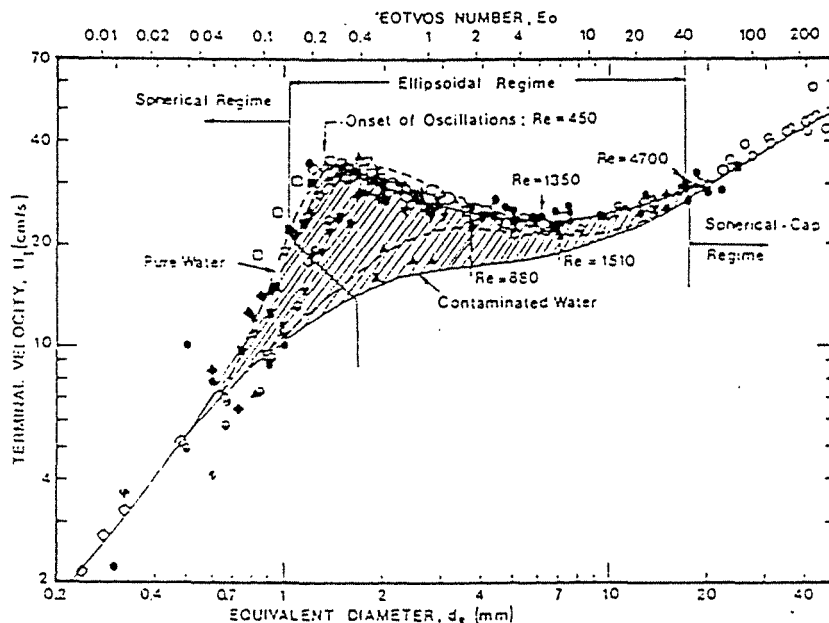


Figure n°7: Comparaison des vitesses terminales ascensionnelles prédites et calculées en fonction du diamètre équivalent des bulles (J. R. Grace, Tom Wairegi, 1986).

Le calcul de l'influence de la tension de surface est prépondérant en ce qui concerne la taille des bulles et donc de l'aire interfaciale. Il ne faut pas oublier l'effet de la viscosité et de la masse volumique des deux phases (Kudrewizki F., Rabe P., 1987)

III. Estimation du taux de rétention volumique de la phase gazeuse.

La définition de ce taux est le rapport entre le volume de gaz et le volume total dans le réacteur.

$$\epsilon_G = V_G/V_T$$

Une autre manière d'estimer ϵ_G est :

$$\epsilon_G = v_G/(\bar{v}_b^\infty + v_L)$$

v_G est la vitesse superficielle du gaz, et $\bar{v}_b^\infty$ est la vitesse moyenne ascensionnelle maximale, v_L est la vitesse de la phase liquide, $v_L \approx 0$ lorsque le régime est homogène.

ϵ_G est une des grandeurs facilement accessibles à la mesure, en effet on peut aisément mesurer la variation du volume de liquide avec et sans diffusion de gaz s'il n'y a pas formation de mousse.

Toutefois, nombre de corrélations de la littérature (Shah Y.T., Kelkar B.G., Godbole S.P., Deckwer W.-D., 1982) ne donnent pas satisfaction dans notre cas car leur calcul inclut la tension de surface (Trambouze P., van Landeghem H., Wauquier J-P., 1984).

Une présentation des différentes corrélations est faite ci-dessous en fonction de leur domaine d'utilisation.

Plusieurs corrélations sont proposées pour les écoulements homogènes:

(Hughmark G.A., 1962)

$$v_G/\bar{v}_b^\infty = \epsilon_G,$$

(Iordache O., Muntean O.I., 1981)

$$v_G/\bar{v}_b^\infty = \epsilon_G/(1 - \epsilon_G^{1/3}),$$

(Akita K., Yoshida F, 1973)

$$v_G/\bar{v}_b^\infty = \epsilon_G/(1 - \epsilon_G)^4,$$

Par ailleurs, Heigen J.T. et Van't Riet (Heigen J.T., Van't Riet, 1982) utilisent une corrélation qui dérive de celle de Iordache en prenant une valeur de 0,25 m/s pour vitesse limite ascensionnelle des bulles de diamètre compris entre 1 et 10 mm. Le taux de rétention volumique est donc bien proportionnel à la vitesse de surface du gaz dans le liquide.

Une autre corrélation pour les grosses bulles en régime hétérogène peut se déduire de la connaissance de v_L :

$$(v_L \propto (v_G)^{0,3})$$

$$0,6(v_G)^{0,7} = \epsilon_G$$

Dans les systèmes avec recirculation, la vitesse superficielle du gaz et la vitesse ascensionnelle moyenne sont fortement influencées par la vitesse du liquide, ce qui revient à prendre en compte la puissance injectée par unité de volume (Trambouze P., Van Landeghem H., Wauquier J.-P., 1984, p278)

Pour les réacteurs agités (Trambouze P., Van Landeghem H., Wauquier J.-P., 1984, p286-287), le taux de rétention volumique est fonction de la puissance injectée par unité de volume de réacteur et des forces d'interaction dues à la tension de surface.

Le calcul du taux de rétention volumique est assez difficile surtout lorsque l'on ne peut pas s'affranchir de l'estimation de la tension de surface (figure n°8). Ce calcul n'a d'utilité que dans les colonnes à bulles où l'augmentation du taux de rétention volumique de la phase gazeuse caractérise le système d'écoulement. Ce dernier varie d'un écoulement gazeux dans du liquide (où le liquide est la phase continue) à un écoulement liquide dans du gaz.

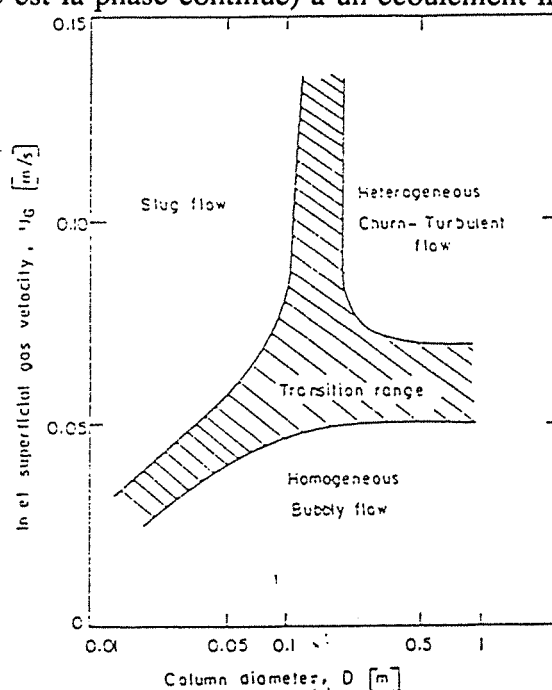


Figure n°8: Détermination du régime d'écoulement en fonction du diamètre de la colonne et de la vitesse superficielle du gaz (Viswanathan K., 1986).

$v_G < 5,0$ cm/s écoulement homogène,

$v_G > 7,0$ cm/s écoulement hétérogène.

Ces zones sont représentées sur la figure n°8 par les limites des zones de transition. On remarque l'influence du diffuseur sur la rétention gazeuse aux faibles vitesses superficielles (figure n°9).

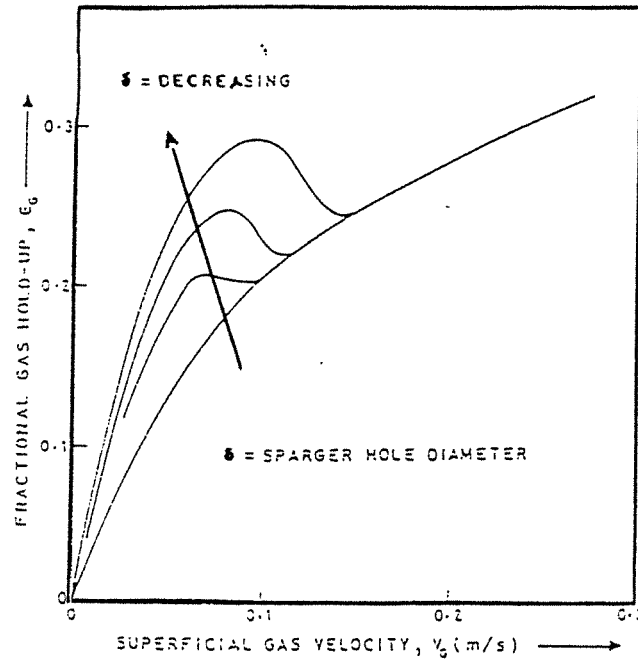


Figure 9: Effet du diffuseur sur la rétention gazeuse (Joshi J.B., Pandit A.B., Raghav Rao K.S.M.S., 1986).

Dans les systèmes agités, l'énergie injectée sous forme mécanique empêche d'atteindre ces régimes. Le taux de rétention volumique est défini comme suit (Van't Riet K, 1975) :

$$\epsilon_G = 0,13(P_G/V)^{0,3}(v_G)^{0,67}$$

Les auteurs ne modélisent pas le taux de rétention volumique mais directement l'aire interfaciale en prenant en compte la puissance dissipée en présence de gaz par unité de volume (Joshi J.B., Pandit A.B., Sharma M.M., 1982).

IV. Calcul de l'aire interfaciale.

Elle est définie comme le rapport suivant:

$$a = 6\epsilon_G/d_{(Sauter)}$$

Le problème réside dans le peu de connaissances de la valeur du diamètre des bulles. De nombreuses études font appel à des techniques photographiques, polarographiques ou chimiques (Denis A., Thibault J., Leduy A., 1990; Erdogan A., Deckwer W.-D., Danckwerts P.V., 1980; Oyevaar M.H., Westerterp K.R., 1989) pour mesurer cette grandeur.

Les corrélations trouvées dans la littérature sont difficiles à utiliser et demandent la connaissance de la tension de surface (Kumar R., Kuloor N.R.,1970).

Les corrélations expriment l'aire interfaciale en fonction des quantités mesurables. Les plus simples font intervenir la puissance dissipée par unité de volume et donnent l'aire interfaciale sous la forme suivante:

$$a = K \prod_{i=1}^n (P_i/V)^{\beta_i}$$

où P_i est la puissance hydraulique injectée par l'un des modes suivants: désorption d'un gaz, injection d'un gaz, recirculation du liquide, agitation mécanique en présence ou non de gaz ou expansion du gaz dans le réacteur (Trambouze P., Van Landeghem H., Wauquier J.-P., 1984). Le calcul de la puissance prend en compte la viscosité apparente du mélange gaz-liquide.

Pour les systèmes agités, P_G est définie comme la puissance absorbée en présence de gaz.

Ce deuxième type de corrélation convient parfaitement aux cuves agitées et permet d'estimer l'aire interfaciale mais aussi le diamètre des bulles et donne des informations sur le régime d'écoulement du gaz dans le liquide.

L'estimation de l'aire interfaciale est la difficulté majeure rencontrée, beaucoup d'auteurs corrélaient-ils directement l'aire interfaciale aux propriétés des fluides et à leur hydrodynamique.

Plus souvent, la corrélation donnera non pas l'aire interfaciale mais le coefficient de transfert de matière en h^{-1} côté phase liquide en fonction des propriétés des fluides et de leur dynamique.

V. Calcul du coefficient de transfert, kl .

De nombreuses corrélations sont présentées dans la littérature. La corrélation de Calderbank et Moo Young donne dans notre cas, des résultats corrects (Shaftlein R.W., Russel T.W.,1968; Van Landeghem .,1980). Bien que dans notre cas le solide ne soit pas considéré, il participe à la modification des propriétés du milieu de fermentation.

La valeur du diamètre des bulles calculée à partir de l'aire interfaciale permet de connaître le domaine d'application de la corrélation pour le coefficient de transfert kl (Calderbank P.H., Moo-Young M.,1961).

pour $d_B < 2,5 \cdot 10^{-3}$ m,

$$kl(S_c)^{2/3} = 0,31 \left(\frac{\Delta \rho \eta_c g}{\rho_c^2} \right)^{1/3}$$

pour $d_B > 2,5 \cdot 10^{-3}$ m,

$$kl(S_c)^{1/2} = 0,42 \left(\frac{\Delta \rho \eta_c g}{\rho_c^2} \right)^{1/3}$$

où:

$$S_c = \eta_c / \rho_c D_{\text{tube}}$$

Par ailleurs, le calcul peut s'effectuer dans le cas des réacteurs agités.

$$kl(S_c)^{1/2} = 0,13 \left(\frac{(P_G/V) \eta_c g}{\rho_c^2} \right)^{1/4}$$

P_G/V est la puissance dissipée par l'agitateur par volume de phase continue. Lors du calcul de P_G/V il faut prendre en compte la rétention gazeuse (Trambouze P., Van Landeghem H., Wauquier J.-P., 1984).

Dans la pratique, ces corrélations sont assez peu utilisées. Le coefficient de transfert volumique kla est directement corrélé avec les propriétés des fluides et leur hydrodynamique (Shah Y.T., Kelkar B.G., Godbole S.P., Deckwer W.-D., 1982).

La valeur du kl est du même ordre de grandeur que le coefficient de diffusion du composé dans le milieu. Le kla est donc estimé par les formulations simples que nous allons présenter (Heigen J.T., Van't Reid K., 1982).

VI. Calcul du coefficient de transfert volumique, kla .

La méthode consiste à réunir les différents termes calculés précédemment et à obtenir le résultat recherché. Ce calcul mené avec les propriétés de transfert dont nous connaissons les difficultés d'estimation, peut donner des résultats erronés.

Dans les cas des phénomènes de désorption, le calcul du coefficient de transfert volumique kla est effectué différemment, les phénomènes d'expansion des bulles étant prépondérants (Renger R.S., Luyben K.Ch.A.M., 1988).

Remarquons l'influence des propriétés des fluides en présence sur la valeur de l'aire interfaciale et donc sur le coefficient de transfert phase liquide. La figure n°10 donne un aperçu de cette influence sur ce coefficient de transfert.

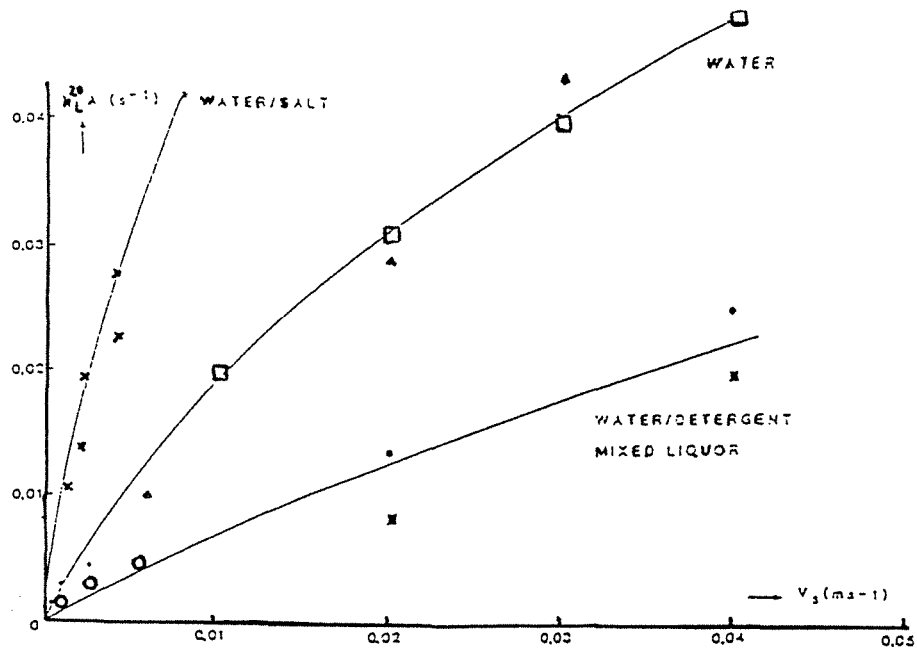


Figure n° 10: influence des propriétés des fluides (Heigen J.T., Van't Riet, 1982).

Une approche plus globale consiste à calculer le kla et à obtenir directement sa valeur pour un système ayant des propriétés fixées. Une analyse des calculs effectués précédemment nous conduit à remarquer que le kla peut être formulé sous la forme suivante:

$$kla = K \prod_{i=1}^n (P_i/V)^{\beta_i},$$

kl/d_B variant peu en fonction des propriétés du milieu, P_i a la même signification que précédemment (Trambouze P., Van Landeghem H., Wauquier J.-P., 1984).

Une autre approche est celle proposée par Botton (Botton R., Cosserat D., Charpentier J.C., 1980). La puissance injectée par unité de volume est la somme des puissances dissipées dans le système: injection de gaz, recirculation, agitation et désorption de gaz. Cette somme est alors incluse dans une corrélation qui donne directement le kla sous la forme suivante:

$$kla = K(P/R)^{\beta_i}$$

où $P = \sum_{i=1}^n P_i$, P_i étant la puissance hydraulique injectée par unité de volume dans le système par un des facteurs cités au dessus. On se reportera au graphique n°10.

VII. Remarque sur le facteur d'activation du transfert gaz- liquide.

De nombreux auteurs remarquent une augmentation de la valeur du rapport entre le kla

mesuré par une méthode chimique et le $k_L a$ mesuré par une méthode physique en présence d'un catalyseur solide lorsque la concentration de ce dernier augmente (figure n° 11) (Alper E., Wichtendahl B., Deckwer W.-D., 1980)

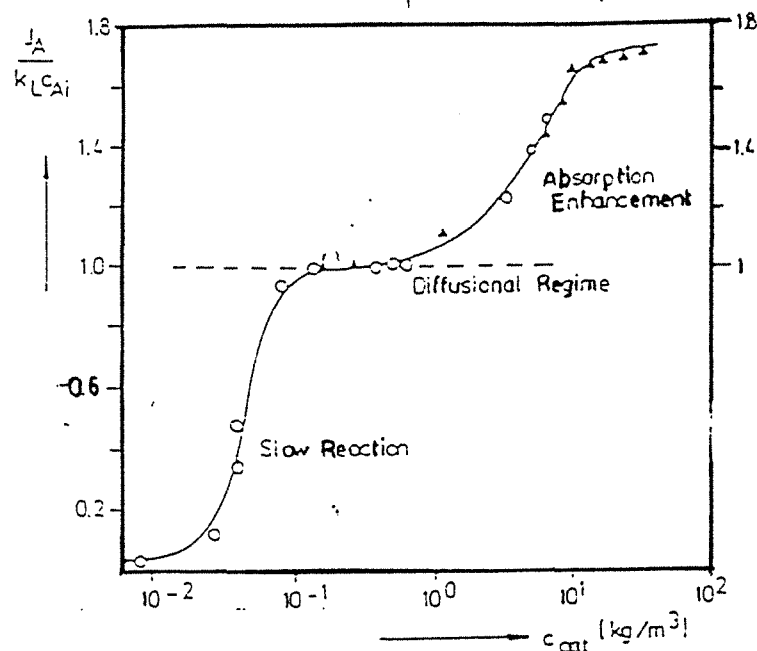


Figure n° 11: *facteur d'activation du transfert de matière (Alper E., Wichtendahl B., Deckwer W.-D., 1980).*

Ce phénomène se produit surtout lorsque les particules de catalyseur ont des diamètres voisins de la dimension du film diffusionnel. Cette activation du transfert de matière a été fortement discutée dans le cas des réactions biologiques (Sobotka M., Prokop A., 1974; Yagi H. Yoshida F., 1975).

Ce facteur est important dans des systèmes avec aération de surface (Merchuk J.C., 1977) et correspond à une accumulation des micro-organismes dans le voisinage de l'interface gaz-liquide, surtout en présence d'agents tensioactifs (Yagi H. Yoshida F., 1975).

Dans le cas des réactions chimiques, le facteur d'activation correspond à la modification de l'ordre global de la réaction en fonction de l'épuisement de la phase gazeuse et de la présence de catalyseur (Oyevaar M.H., Westerterp K.R., 1989).

Lorsque l'ordre de la réaction est voisin de 1, le facteur d'activation est constant et proche de 1 (Alper E., Deckwer W.-D., Danckwerts P.V., 1980). Dans le cas des réactions biologiques l'ordre apparent de la réaction est voisin de 1.

Conclusion.

La prédiction des propriétés de transfert dans les milieux biologiques est difficile. Aussi l'estimation des coefficients de transfert de matière s'avère être rapidement une tâche ardue

ou tout au moins vouée à produire un résultat erroné, avec plus de 50% d'erreur dans certains cas.

Nous préférons dans notre cas utiliser des corrélations permettant le calcul du kla en fonction des grandeurs dynamiques du système: vitesse d'agitation, débit gazeux, débit de recirculation, désorption d'un gaz et des propriétés de transfert qui en dépend directement (la viscosité) (Kossen N.W.F., Oosterhuis N.M.G.O., 1984, Griot M., Saner U., Heinzle E., Dunn I.J., Bourne J.R., 1988; Nishikawa M., Nakamura M., Yagi H. Hashimoto K., 1981).

Un calcul séparé du coefficient de transfert kl et de l'aire interfaciale a permettrait une amélioration des estimations fournies par ces corrélations.

- La valeur de kl est estimée à partir de la corrélation du type de celle de Calderbank et Moo-Young.
- La valeur de l'aire interfaciale a est obtenue à partir d'une corrélation identique à celle proposée par Trambouze (Trambouze P., Van Landeghem H., Wauquier J.-P., 1984) (annexes n°20 à n°23).

Ce calcul est intéressant lors de fermentations anaérobie hétérofermentaires où la production de gaz est le seul facteur influençant l'aire interfaciale (Renger R.S., Luyben K.Ch.A.M., 1988).

Une fois le calcul du coefficient de transfert effectué dans les conditions d'utilisation, nous pouvons établir les bilans diphasiques.

Un découpage en étages de transfert théorique permet de discrétiser le calcul du phénomène. Dans chacun de ces compartiments, la variation de pression est négligeable, la valeur de cette dernière sera prise égale à la valeur moyenne. La taille de l'étage est telle que les deux phases peuvent être considérées comme parfaitement mélangées.

La distinction se fera au niveau du calcul du coefficient de transfert de matière. Dans notre étude, il sera considéré constant dans une portion de réacteur. L'utilisateur aura à fournir le cas échéant une corrélation de calcul pour son application.

L'utilisateur devra donc fournir pour son système le jeu de coefficients nécessaires au calcul. Cette approche sera d'autant plus satisfaisante que les calculs de coefficients de transfert en génie biochimique sont faits au cas par cas, surtout pour des systèmes non-Newtoniens.

L'utilisateur définira quel type de fermenteur il utilise, quel type de modèle de kla il désire et quelles sont les variables influençant le kla . Il sera alors possible de calculer sa valeur sous la forme d'une loi puissance.

Le découpage des grands fermenteurs en portions dépendant de leur caractéristiques géométriques permet de discrétiser le calcul. Cette méthode donne une approche modulaire à partir de la définition d'éléments de base: la colonne à bulles, le fermenteur de désorption et le fermenteur à mobile d'agitation (Belfares L., 1991).

Dans chacun de ces modules, seuls diffèrent les calculs des coefficients de transfert ; les bilans élémentaires sont d'autre part toujours identiques. La généralisation du module de calcul est plus simple.

L'intégration de ce module de calcul dans une structure simulant une colonne classique peut être envisagée et rapidement permettre la simulation des fermenteurs de grande taille.

Simulation de fermenteurs diphasiques.

Introduction.	128
I. Ecriture des bilans diphasiques.	128
I.1. Théorie du transfert multiconstituants.	128
I.2. Application à un réacteur polyphasique.	128
II. Présentation du module de simulation.	129
II.1. Ecriture des termes de transfert de matière.	129
II.2. Description des bilans.	130
II.3. Langage ProSim.	133
II.4. Résultats des calculs.	134
III. Simulation d'une cuve aérée.	137
III.1. Comparaison mesure-simulation.	137
III.2. Limite du calcul en diphasique.	137
III.3. Influence de la valeur du coefficient de transfert volumique.	138
III.3.a. Cas du dioxyde de carbone.	138
III.3.b. Cas de l'oxygène.	139
Conclusion.	139
IV. Simulation de réacteurs imparfaitement agités.	140
IV.1. Cas de la cuve mère.	141
IV.2. Cas de la cuve n°1.	143
Conclusion.	145

Introduction.

La réalisation du module de simulation de réacteurs biologiques nécessite son extension à la résolution de bilans diphasiques (Knudsen F.B., 1978). Deux approches ont été utilisées pour la définition de ce module:

- une approche simple, où le bilan monophasique est résolu dans un premier temps. Les flux gazeux entrants sont considérés comme des courants standard. Le flux gazeux sortant est déduit des taux de partage entre les phases qui sont fournis par l'utilisateur.
- Une approche plus complexe, où les flux gazeux entrants sont des flux particuliers qui sont sommés séparément. Le flux gazeux sortant est calculé par un bilan diphasique complet avec transfert inter-phase. Dans ce dernier cas, nous utilisons les remarques faites au chapitre précédent concernant les modèles de coefficient de transfert de matière.

Après une étude de l'écriture des bilans diphasiques multiconstituants, une application au cas de réacteurs polyphasiques est présentée. La description de la construction du bilan dans le cas d'un bilan diphasique complet est explicitée. Le module ProSim ainsi élaboré est décrit.

Dans notre étude, seul un étage de transfert avec réaction biologique a été décrit. Les systèmes plus importants peuvent être décomposés en systèmes plus petits (Trambouze P., 1990).

I. Ecriture des bilans diphasiques.

I.1. Théorie du transfert multiconstituants.

La théorie du transfert multiconstituants a été étudiée en particulier par Krishnamurty R. et Taylor R. (Krishnamurty R. et coll., 1985). Dans le cas le plus général, cette théorie utilise des coefficients de transfert entre l'interface et le milieu. Ces coefficients sont souvent difficiles à mesurer, aussi utiliserons nous des coefficients de transfert globaux. Dans le cas des milieux fortement dilués et dans des configurations hydrodynamiques proches des colonnes à bulles, les coefficients de transfert globaux sont proches des coefficients de transfert côté liquide.

La construction du bilan diphasique se fait donc sur la base de celle proposée par Krishnamurty R. en ne décrivant pas le terme de transfert côté gaz. Les fractions molaires réelles à l'interface sont remplacées par les fractions molaires qui existeraient à l'interface si le liquide était en équilibre avec la phase gazeuse. Ces fractions molaires sont notées x^* . Elles doivent vérifier les propriétés des fractions molaires au même titre que les fractions molaires dans la phase liquide ou gazeuse.

I.2. Application à un réacteur polyphasique.

Dans un réacteur polyphasique, plusieurs types de constituants sont présents. Certains sont décrits comme des incondensables, d'autres comme des volatils et d'autres encore comme

des solides solubles ou non dans la phase liquide.

Nous avons dû faire la distinction entre ces différents composants afin de ne décrire les bilans complets que pour les incondensables et les volatils. Ceci nous a conduit à définir deux classes de composants : ceux qui peuvent transférer et les autres. Pour les premiers, une constante d'équilibre entre phase et un coefficient de transfert de matière sont définis.

Les termes de réaction ne sont définis que dans la phase liquide. La même description des termes de réaction est faite pour le module monophasique et le module diphasique.

La description de l'étage diphasique avec réaction biologique est identique à celle présentée par Kaibel G. (Kaibel G. et coll., 1979). Nous avons ajouté à cette description les termes de transfert définis par Krishnamurty R. et Taylor R. (Krishnamurty R. et coll., 1985).

II. Présentation du module de simulation.

II.1. Ecriture des termes de transfert de matière.

La définition des bilans diphasiques nécessite l'écriture des équations d'équilibre liquide-vapeur. Ces équations ne peuvent être décrites que pour certains constituants. La fraction molaire des constituants qui ne sont pas présents dans la phase gazeuse aux températures de travail est nulle. Leur fraction molaire dans la phase liquide en équilibre avec la phase gazeuse est égale à la fraction molaire dans la phase liquide.

+ *Les équations d'équilibre.*

- pour les constituants incondensables ou volatils:

$$y_i = K_i x_i^*, \quad i = 1, n_{\text{inco}}$$

$$\text{avec,} \quad K_i = K_i(T, P, x^*, y^G)$$

où:

y_i est la fraction molaire du constituant i dans la phase vapeur;

x_i^* est la fraction molaire du constituant i dans la phase liquide en équilibre avec la phase gazeuse;

T est la température; P est la pression;

x^* est le vecteur de coordonnée x_i^* ;

y^G est le vecteur de coordonnée y_i ;

n_{inco} nombre de constituants faisant l'objet d'un bilan diphasique.

- pour les autres constituants:

$$x_i = x_i^*, \quad i = n_{\text{inco}} + 1, n_{\text{comp}}$$

où,

x_i^* est la fraction molaire du constituant i dans la phase liquide en équilibre avec la phase gazeuse;

x_i est la fraction molaire du constituant i dans la phase liquide;

n_{ocomp} est le nombre total de constituants.

+ *Les termes de transfert de matière entre phases.*

La définition usuelle des termes globaux de transfert de matière est écrite avec les concentrations dans la phase liquide et les concentrations qui existeraient à l'interface si le liquide était en équilibre avec la phase gazeuse.

$$T_i^L = kla_i(C_i^* - C_i)V, \quad i = 1, n_{inco}$$

avec,

C_i^* concentrations qui existeraient à l'interface si le liquide était en équilibre avec la phase gazeuse;

C_i concentration dans la phase liquide;

T_i^L nombre de moles de constituant i transférées côté phase liquide;

kla_i coefficient de transfert de matière volumique;

V volume de la phase liquide dans le fermenteur.

Nous avons redéfini l'écriture afin de faciliter l'intégration dans un simulateur de procédés chimiques dont les variables itératives sont des fractions molaires.

- pour les constituants incondensables ou volatils:

$$T_i^L = kla_i(x_i^* - x_i)\frac{V}{v_{mel}^L}, \quad i = 1, n_{inco}$$

où:

v_{mel}^L est le volume molaire de mélange phase liquide.

- pour les autres constituants:

$$T_i^L = 0, \quad i = n_{inco} + 1, n_{ocomp}$$

Cet ensemble de définitions est complété par l'écriture des vitesses de réaction présentée précédemment dans le module monophasique.

II.2. Description des bilans.

L'analyse du nombre de degrés de liberté du système d'équations (Westerberg A.W., 1979) nous a conduits à séparer le calcul du terme de transfert pour le solvant de celui des autres constituants faisant l'objet d'un bilan diphasique complet.

Le solvant est le constituant majoritaire dans la phase considérée, dans notre cas la phase

liquide. Sa fraction molaire est la plus grande des fractions molaires de tous les constituants présents dans la phase.

$$x_{\text{solvant}}^L = \max_{1, \text{nocomp}} \{x_i^L\}$$

description des équations	nombre d'équations	inconnues calculées
bilan phase liquide: $\frac{d(U_L x_i)}{dt} = L_{in} x_{i,in}^L - L x_i + R_i(X) + T_i^L(X)$ $i=1, \text{nocomp}$	nocomp	x_i
bilan phase gazeuse: $\frac{d(U_G y_i)}{dt} = G_{in} y_{i,in}^G - G y_i + T_i^G,$ $i=1, n_{inco}$	n_{inco}	y_i
équations de sommation: $S^L = 1 - \sum_{i=1}^{\text{nocomp}} x_i$	1	L
$S^G = 1 - \sum_{i=1}^{n_{inco}} y_i$	1	G
$S^* = 1 - \sum_{i=1}^{\text{nocomp}} x_i^*$	1	T_{solvant}^G
équations d'équilibre: . pour les constituants incondensables ou volatils: $P_i = y_i - K_i x_i^*, \quad i=1, n_{inco}$ $K_i = K_i(T, P, x^*, y^G)$	n_{inco}	x_i^*
. pour les autres constituants: $P_i = x_i - x_i^* \quad i=n_{inco}+1, \text{nocomp}$	nocomp- n_{inco}	x_i^*
équations de transfert: $N_i = T_i^G + T_i^L, \quad i=1, n_{inco}-1$	$n_{inco}-1$	T_i^G
termes de transfert côté liquide: . pour les constituants incondensables ou volatils: $T_i^L = k l a_i (x_i^* - x_i) \frac{V}{v_{mel}^L},$	n_{inco}	définies
. pour les autres constituants: $T_i^L = 0$	nocomp- n_{inco}	définies
vitesses de réaction: $R_i = \sum_{j=1}^{\text{noclés}} \nu_{ij} r_j$	nocomp	définies

où:

U_L est la rétention molaire dans le fermenteur pour la phase liquide; x_i est la fraction molaire

du composé i .

$\frac{d(U_L x_i)}{dt}$ est le terme d'accumulation de l'espèce i dans la phase liquide du fermenteur ; ce terme est nul lorsque les simulations se rapportent à une unité en régime permanent.

$nocomp$ est le nombre de composants; n_{inco} est le nombre de composants faisant l'objet d'un bilan diphasique complet;

L_{in} est le flux molaire phase liquide entrant,

$x_{i,in}^L$ est la fraction molaire du constituant i dans le flux liquide entrant,

L est le flux molaire phase liquide sortant,

U_G est la rétention molaire dans le fermenteur pour la phase gazeuse,

y_i est la fraction molaire du composé i .

$\frac{d(U_G y_i)}{dt}$ est le terme d'accumulation de l'espèce i dans la phase gazeuse du fermenteur ; ce terme est nul. La phase gazeuse est toujours supposée à l'état stationnaire.

G_{in} est le flux molaire phase gazeuse entrant,

$y_{i,in}^G$ est la fraction molaire du constituant i dans le flux gazeux entrant,

G est le flux molaire phase gazeuse sortant,

$K_i = K_i(T, P, x^*, y^G)$ est la constante d'équilibre définie par les modèles thermodynamiques,

P est la pression dans le fermenteur,

T est la température dans le fermenteur,

y^G est le vecteur de coordonnée y_i ,

x^* est le vecteur de coordonnée x_i^* ,

x_i^* est la fraction molaire du composant i en équilibre avec la phase gazeuse,

T_i^L est le terme de transfert de matière côté phase liquide pour le constituant i ,

V est le volume de la phase liquide dans le réacteur,

v_{mel}^L est le volume molaire de la phase liquide,

T_i^G est le terme de transfert de matière côté phase gazeuse pour le constituant i ,

$R_i(X)$ est la vitesse de réaction du constituant i définie pour le module monophasique.

A convergence, les termes de transfert de matière côté phase liquide sont égaux aux termes de transfert côté phase gazeuse.

II.3. Langage ProSim.

```

#MODU
*REAC CUVEM          EN=ALIMGAZ  ALIMENTATION
                      SO=EVENT    DEVERSE      PIQUAGE
                      NRC=6
                      NRCC=6
                      TYPE=        RAC
                      VOLU=        300.'M3
                      BIO=          1
                      PBIO=         1
                      TAUX=         0.009
                      GAZ=          1
                      INCO=         7 8 11 12 13 14
                      AKI=          25.E+3 0.9469 0.8874 2.5E+3 0.042 1.E+5
                      KLA=          0.1 0.1 0.1 0.1 0.1 0.1
                      ! INCO=       9 11 12 13
                      ! VAP=        6.0E-4 6.0E-4 0.9 6.0E-4
                      ! ALPHA =     0.7
                      ! BETA  =     0.4
                      ! PUIS =      10.0'KW
STOE=                0 -1 0 1 1 0 0 0 0 0 0 0 -1
                    0 0 -1 0 0 1 0 0 0 0 1 1 -1
                    0 0 0 -1 0 0 0 1.9 7.5E-02 1.05E-02 0 1.932 -3.2E-02
                    0 0 0 0 -1 0 0 1.9 7.5E-02 1.05E-02 0 1.932 -3.2E-02
                    6.67 0 0 -0.58 -0.58 -1 0 0 0 0 0 0.367 2.54
                    1.52 0 0 -2.17E-01 -2.17E-01 -2.27E-01 -1 0 0 0 0 1.08 1.58
MODL=                0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
                    0 0 1 0 0 2 0 0 0 0 0 0 0
                    0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0
                    0 0 0 2 1 0 0 0 0 0 0 0 0
                    0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0
                    0 0 0 0 0 1 1 0 0 0 0 0 0
VMAX=                0.85E-01
                    1.8E-03
                    0.75E-01
                    0.15
                    3.7E-02
                    0.2
AKS=                 3.3E-02
                    1.0E-03 1.50E-02
                    9.0E-03
                    20.0E-03 1.70E-02
                    3.0E-02
                    3.0E-02 2.0E-05
IMP=1

```

Les mots clés qui ont déjà été définis dans le module monophasique ne sont pas réexpliqués. Les ligne précédées d'un ! ne sont pas utilisées lors de la simulation. La signification des mots clés figurant sur ces lignes est fournie. Les mots clés en italique sont des mots clés dont l'utilisation correspond à l'implantation d'un module utilisateur afin de décrire des modèles hydrodynamiques de coefficient de transfert. Il conviendra lors de cette utilisation de forcer le calcul de manière numérique, la matrice jacobienne ne pouvant pas être calculée analytiquement de façon générale.

GAZ=	Nombre de courants gazeux entrant dans le fermenteur. Ce nombre est compris entre 1 et le nombre de courants entrants maximum moins un. Un courant liquide au moins doit être spécifié.
INCO=	Indice des constituants faisant l'objet d'un bilan diphasique complet dans la liste des constituants.
AKI=	Constantes d'équilibre liquide-vapeur pour les n_{inco} constituants définis dans INCO.
KLA=	Coefficients de transfert de matière volumique pour les n_{inco} constituants définis dans INCO.
! INCO=	Indice des constituants faisant l'objet d'un bilan diphasique complet dans la liste des constituants.
! VAP=	taux de partage liquide-vapeur entre le flux sortant pour les n_{inco} constituants définis dans INCO.
! ALPHA =	Coefficient de la corrélation *.
! BETA =	Coefficient de la corrélation *.
! PUIS =	Puissance d'agitation fournie à l'arbre *.

* La corrélation est une loi puissance définie généralement de la façon suivante (nous nous rapporterons au chapitre précédent):

$$kla_i = kla_{i0} (Puis_0)^\alpha \left(\frac{G v_{mel}^G}{S} \right)^\beta$$

avec, kla_i : coefficient de transfert global de matière calculé par la loi; kla_{i0} : constante de la loi fournie par l'utilisateur, $Puis_0$: fonction de la puissance à l'arbre *PUIS* fournie par l'utilisateur, G : débit molaire de la phase gazeuse sortante, v_{mel}^G : volume molaire du mélange phase gazeuse, S : section droite du fermenteur qui est égale à $\frac{V_{ferm}}{H}$, V_{ferm} : volume du fermenteur, H : hauteur, α et β : coefficients de la loi puissance.

Cette extension du module de calcul diphasique n'est pas encore complètement intégrée.

II.4. Résultats des calculs.

MODULE CUVEM DE TYPE *REAC

2 COURANTS ENTRANTS	ALIMGAZ	ALIMENTATION	
3 COURANTS SORTANTS	EVENT	DEVERSE	PIQUAGE

REACTEUR ISOTHERME - 6 REACTION(S)

TYPE DE REACTEUR SPECIFIE : REACTEUR AGITE CONTINU (RAC)

TEMPERATURE = 303.150 (K)

PRESSION = 0.986923 (ATM)

TAUX DE VAPORISATION EN SORTIE = 0.00000

VOLUME DU REACTEUR = 300.000 (M3)

6 REACTION(S) CONTROLEE(S)

VITESSES DE REACTION (KMOL/HR)

BIOMASSE	0.96151E+00
SACCHARO	-0.48601E+01
AMINO ACID	-0.14286E+00
GLUCOSE	0.11635E+00
FRUCTOSE	0.11346E+00
AMMONIAC	-0.12834E-02
OXYGENE	-0.72505E-02
ETHANOL	0.17712E+02
GLYCEROL	0.69915E+00
SUCCINATE	0.97880E-01
DERIVE	0.14286E+00
DIOXYDE CARBONE	0.18213E+02
EAU	-0.49279E+01
AZOTE	0.00000E+00

SOMME DES VITESSES DE REACTION: 0.28117E+02

FLUX DE TRANSFERT INTER-PHASE (KMOL/HR)

BIOMASSE	0.00000E+00
SACCHARO	0.00000E+00
AMINO ACID	0.00000E+00
GLUCOSE	0.00000E+00
FRUCTOSE	0.00000E+00
AMMONIAC	0.00000E+00
OXYGENE	0.71150E-02
ETHANOL	-0.33427E+00
GLYCEROL	0.00000E+00
SUCCINATE	0.00000E+00
DERIVE	-0.23122E-02
DIOXYDE CARBONE	-0.98723E+01
EAU	0.10199E+02
AZOTE	0.32236E-02

SOMME DES FLUX DE TRANSFERT MOLAIRE: -0.75292E-13

suite page suivante .../...

FRACTIONS MOLAIRES :				
	LIQUIDE	GAZEUSE	PSEUDOEQUILIBRE	
BIOMASSE		0.10788E-01	0.00000E+00	0.10788E-01
SACCHARO		0.28853E-03	0.00000E+00	0.28853E-03
AMINO ACID		0.16148E-04	0.00000E+00	0.16148E-04
GLUCOSE		0.89189E-04	0.00000E+00	0.89189E-04
FRUCTOSE		0.87023E-04	0.00000E+00	0.87023E-04
AMMONIAC		0.12222E-04	0.00000E+00	0.12222E-04
OXYGENE		0.34778E-08	0.10859E+00	0.43436E-05
ETHANOL		0.14556E-01	0.13590E-01	0.14353E-01
GLYCEROL		0.76025E-03	0.00000E+00	0.76025E-03
SUCCINATE		0.72518E-04	0.00000E+00	0.72518E-04
DERIVE		0.10735E-03	0.94008E-04	0.10594E-03
DIOXYDE CARBONE		0.61827E-02	0.40138E+00	0.16055E-03
EAU		0.96704E+00	0.40877E-01	0.97326E+00
AZOTE		0.23883E-05	0.43547E+00	0.43547E-05
SOMME DES PSEUDO FRACTIONS A L EQUILIBRE :				0.10000E+01

COEFFICIENT GLOBAL DE TRANSFERT*	
	1/HEURE
BIOMASSE	0.00000E+00
SACCHARO	0.00000E+00
AMINO ACID	0.00000E+00
GLUCOSE	0.00000E+00
FRUCTOSE	0.00000E+00
AMMONIAC	0.00000E+00
OXYGENE	0.10000E+00
ETHANOL	0.10000E+00
GLYCEROL	0.00000E+00
SUCCINATE	0.00000E+00
DERIVE	0.10000E+00
DIOXYDE CARBONE	0.10000E+00
EAU	0.10000E+00
AZOTE	0.10000E+00

* Ces valeurs sont celles fournies par l'utilisateur. Dans le cas d'un calcul de la valeur du coefficient de transfert de matière par un module utilisateur, ces valeurs sont celles des coefficients de transfert de matière à convergence.

III. Simulation d'une cuve aérée.

III.1. Comparaison mesure-simulation.

La première étude que nous avons réalisée est la simulation de la seule cuve aérée du procédé. Les résultats de simulation sont comparés avec les valeurs expérimentales obtenues lors de la campagne continue n°1.

Nous avons simulé cette cuve avec ProSim. Les modèles monophasique et diphasique ont été employés. La comparaison des valeurs mesurées et calculées montre que la cuve mère est la cuve la plus difficile à simuler compte tenu de son fonctionnement. Elle est située après l'atelier de séparation fonctionnant en discontinu et en tête de la cascade qui elle, fonctionne en pseudo-continu. Les erreurs de mesure sur les concentrations en sortie de la cuve mère sont dues à la variabilité des alimentations et des sorties.

composant	mesure	monophasique	diphasique	Δ_1	Δ_2
biomasse (g/l)	23,4	14,87	14,74	0,36	0,37
saccharose (g/l)	4,02	5,48	5,39	0,36	0,34
glucose (g/l)	0,28	0,91	0,88	2,25	2,13
ammoniaque (mmol/l)	1,0	0,63	0,68	0,37	0,33
éthanol (g/l)	45,3	38,1	36,6	0,16	0,19
glycérol (g/l)	2,05	4,07	3,99	0,98	0,95
corps cétoniques (g/l)	0,85	0,8	0,815	0,06	0,04

tableau n°1: Comparaison entre les différentes simulations de la cuve mère.

où:

Δ_1 est défini par $\frac{\text{valeur mesurée} - \text{valeur calculée par le modèle monophasique}}{\text{valeur mesurée}}$ et

Δ_2 est défini par $\frac{\text{valeur mesurée} - \text{valeur calculée par le modèle diphasique}}{\text{valeur mesurée}}$.

Les valeurs des écarts entre les mesures et les calculs sont assez élevées sur la cuve mère. Ces mesures sont fortement entachées d'erreur par rapport à celles effectuées sur l'ensemble de l'installation. De plus, les valeurs mesurées sont dans la gamme des imprécisions des méthodes de mesure. Les écarts très faibles sur l'éthanol et les corps cétoniques sont dus à des mesures plus fiables. Trois méthodes de mesure différentes sont utilisées. Le modèle rend bien compte des évolutions de leurs concentrations sur l'installation complète.

Seuls, les écarts sur les concentrations du glucose et du glycérol ne sont pas acceptables. La raison en est leur faible teneur et la difficulté à les doser.

Plus généralement, une erreur sur la mesure de la biomasse dans le courant d'alimentation de la cuve mère peut justifier les écarts sur la concentration du saccharose et de la biomasse.

III.2. Limite du calcul en diphasique.

L'étude des domaines d'utilisation du module de calcul diphasique permet de connaître

l'aptitude de l'algorithme de calcul à simuler un fermenteur dans le domaine de validité du modèle de transfert.

Nous avons fait varier à kla constant (0.1 h^{-1}) le taux d'aération en v.v.h..

L'algorithme n'a pas pu converger pour des taux d'aération inférieurs à 0,05 v.v.h.. Ce taux correspond pour la cuve mère à un débit de $15 \text{ m}^3/\text{h}$.

taux d'aération (v.v.h.)	10,0	5,0	1,0	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01
convergence	C	C	C	C	C	NC	NC	NC

tableau n°2: Recherche de la limite de convergence du modèle (10,0 à 0,0,1 v.v.h.).

C signifie que l'algorithme a convergé , NC qu'il n'a pas convergé.

A ce débit d'aération, les modèles de transfert décrits dans le module ne sont plus applicables. Le transfert du gaz carbonique de la phase liquide vers la phase gazeuse est le phénomène prépondérant. Nous avons donc borné le débit molaire gazeux entrant dans le module.

La valeur choisie pour ce débit minimal est de 0.1 v.v.h., soit :

$$\frac{G_{in} v_{mel}^G}{V_{ferm}} \geq 0,1 \text{ v.v.h}$$

où:

G_{in} est le débit molaire gazeux entrant dans le fermenteur diphasique en kmol/h,

v_{mel}^G est le volume molaire du mélange gazeux en m^3/mol ,

V_{ferm} est le volume du fermenteur en m^3 . Dans la pratique, nous avons pris le volume de la phase liquide, le taux de rétention volumique de la phase gazeuse étant négligeable dans notre cas. La définition de ce taux est une des extensions possibles du module.

III.3. Influence de la valeur du coefficient de transfert volumique.

Nous avons étudié l'influence de la variation de kla pour deux incondensables : l'oxygène et le dioxyde de carbone.

II.3.a. Cas du dioxyde de carbone.

Les évolutions du rapport entre le flux molaire sortant dans la phase gazeuse ainsi que le flux molaire sortant dans la phase liquide et la fraction sortant dans la phase gazeuse sont calculées.

$kla \text{ h}^{-1}$	$\frac{G_{CO_2}}{L_{CO_2}} \text{ (mol/mol)}$	$\frac{G_{CO_2}}{(L_{CO_2} + G_{CO_2})} \text{ (mol/mol)}$
0,1	1,19	0,54
0,2	2,35	0,7
0,3	3,47	0,78
0,4	4,55	0,82
0,5	5,58	0,85
0,7	7,6	0,88
0,9	9,4	0,9

tableau n°3: Influence de la variation du kla_{CO_2} .

où:

L_{CO_2} est le flux molaire du dioxyde de carbone sortant dans la phase liquide et G_{CO_2} est le flux molaire du dioxyde de carbone sortant dans la phase gazeuse.

II.3.b. Cas de l'oxygène.

Les évolutions de la quantité d'oxygène transférée et la fraction sortant dans le flux gazeux liquide sont calculées.

$kla \text{ h}^{-1}$	$\frac{G_{O_2}}{G_{in,O_2}} \text{ (mol/mol)}$	$\frac{L_{O_2}}{(L_{O_2} + G_{O_2})} \text{ (mol/mol)}$
0,1	0,997	$1,74 \cdot 10^{-6}$
0,2	0,995	$3,63 \cdot 10^{-6}$
0,3	0,992	$5,35 \cdot 10^{-6}$
0,4	0,989	$7,26 \cdot 10^{-6}$
0,5	0,987	$9,25 \cdot 10^{-6}$
0,7	0,982	$13,46 \cdot 10^{-6}$
0,9	0,977	$18,01 \cdot 10^{-6}$

tableau n°4: Influence de la variation du kla_{O_2} .

où:

G_{in,O_2} est le flux molaire d'oxygène entrant dans le fermenteur dans le flux gazeux, G_{O_2} est le flux molaire de l'oxygène sortant dans la phase gazeuse et L_{O_2} le flux molaire de l'oxygène sortant dans la phase liquide.

Conclusion.

Ces calculs mettent en évidence une prépondérance du transfert du dioxyde de carbone. La production de gaz carbonique au sein de la phase liquide par la levure est pour une partie indépendante de l'oxygène transféré. Sa production n'est pas liée à la consommation d'oxygène. Le dioxyde de carbone est donc en excès et dilue rapidement l'oxygène présent dans la phase gazeuse. Le potentiel de transfert devient très faible pour l'oxygène. Le transfert est alors négligeable.

D'autre part, nous observons une faible influence de la valeur du kla sur le transfert de

l'oxygène qui confirme ces observations.

Le gaz carbonique est donc fortement transféré. Par contre, l'oxygène est dilué et ne se transfère que faiblement. Les taux de transfert sont proches de ceux donnés dans la littérature pour l'oxygène (Kossen N.W.F. et coll., 1984).

IV. Simulation de réacteurs imparfaitement agités.

Une autre application du modèle de simulation diphasique est la simulation de réacteurs imparfaitement agités.

Nous avons réalisé la simulation de la cuve mère et de la cuve n°1. Le découpage du fermenteur est déduit de la discrétisation de modèle présenté par Juvekar V.A. (Juvekar V.A. et coll., 1977).

Les hypothèses suivantes sont utilisées:

- la phase liquide est parfaitement mélangée dans un étage,
- la phase gazeuse est globalement en écoulement piston.

Dans nos simulations, les valeurs de kla sont prises égales à 0.1 h^{-1} . Les étages théoriques sont dimensionnés en prenant leur hauteur égale au demi-diamètre des cuves. Nous avons donc pris un modèle formé de quatre étages pour la cuve mère et la cuve n°1.

Les calculs sont les suivants:

$$H_{\text{étage}} = \frac{D}{2}$$

$$N_{\text{étage}} = \frac{H}{H_{\text{étage}}}$$

$$V_{\text{étage}} = \frac{V_{\text{ferm}}}{N_{\text{étage}}}$$

$$L_{in,\text{étage}} = \frac{L_{in}}{N_{\text{étage}}}$$

où: $H_{\text{étage}}$ est la hauteur d'un étage théorique, D est le diamètre du fermenteur, $N_{\text{étage}}$ est le nombre d'étages théoriques, H est la hauteur du fermenteur, $V_{\text{étage}}$ est le volume d'un étage théorique, V_{ferm} est le volume du fermenteur, $L_{in,\text{étage}}$ est le flux molaire entrant dans un étage théorique, L_{in} est le flux molaire entrant dans le fermenteur.

L'alimentation gazeuse est dans le cas de la cuve mère de 1 v.v.h. d'air (azote 80% (mol/mol); oxygène 20% (mol/mol)) pour un volume de 300 m^3 .

Il n'y a pas d'alimentation dans le cas de la cuve n°1.

IV.1. Cas de la cuve mère.

La décomposition de la cuve mère est présentée ci-dessous:

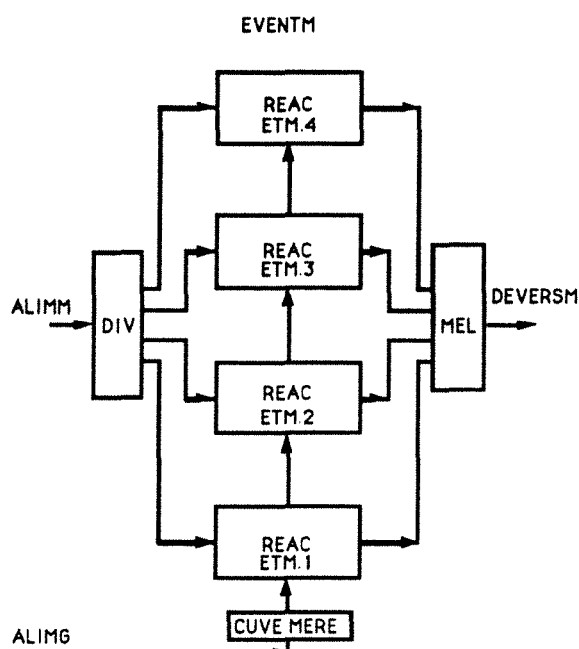


Figure n° 1: Description des fermenteurs multiétapés type cuve mère.

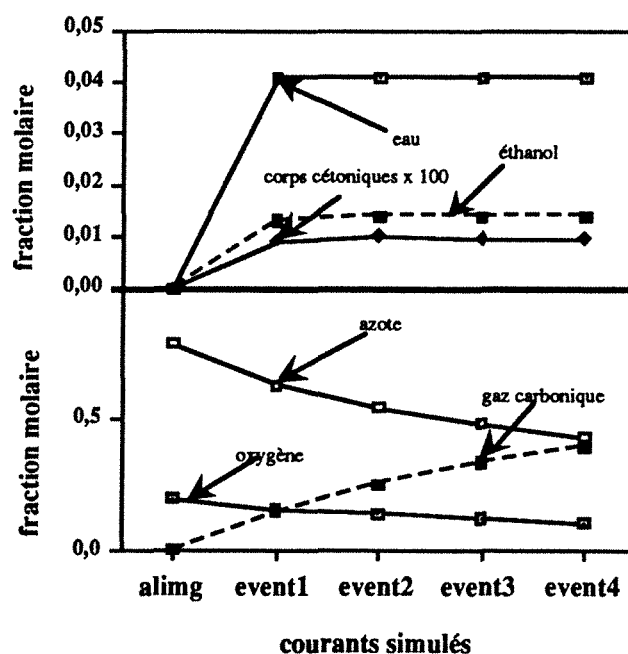


Figure n° 2: Simulation des courants gazeux dans la cuve mère.

Les courants sont notés ALIMG, ALIMM, EVENTM, DEVERSM. Les modules de calcul sont tous du type diphasique. Ils sont notés REAC. Les deux autres modules sont des modules standards de ProSim DIV et MEL.

Les courants internes sont notés $devers_n$ et $event_n$.

Nous avons représenté la variation des teneurs dans la phase gazeuse et dans la phase liquide en fonction de l'étage théorique.

La teneur dans la phase gazeuse en dioxyde de carbone augmente en fonction de la hauteur dans le fermenteur. L'inverse se produit pour l'azote et l'oxygène.

La diminution des teneurs en oxygène et en azote n'est pas due seulement au transfert de matière. Le phénomène de dilution par le dioxyde de carbone en est la principale cause.

Les concentrations dans la phase liquide varient peu en fonction de la hauteur sauf pour l'azote et l'oxygène qui se transfèrent à partir de la phase gazeuse.

Une différence de comportement est observée entre les volatils (éthanol, corps cétoniques et l'eau) et les incondensables (dioxyde de carbone, oxygène et azote). Le comportement est soumis soit aux équilibres liquide-vapeur (volatils), soit aux transferts gaz-liquide.

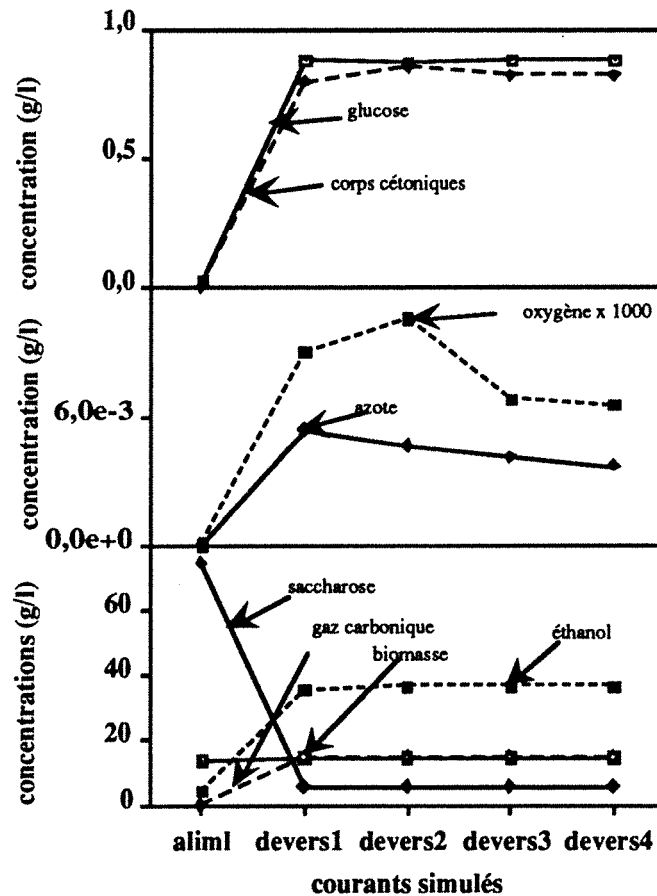


Figure n°3: Simulation des courants liquides dans la cuve mère.

Les pertes en éthanol sont calculables à partir de la connaissance du flux gazeux global et de la fraction molaire de l'éthanol dans la phase gazeuse.

$$Q_{eth}^G = x_{eth}^G Q_{out}^G$$

où Q_{eth}^G est le débit molaire d'éthanol sortant dans la phase gazeuse, x_{eth}^G sa fraction molaire et Q_{out}^G le débit molaire gazeux global.

La valeur de x_{eth} ne dépend que de l'équilibre liquide-vapeur.

IV.2. Cas de la cuve n°1.

La décomposition de la cuve n°1 est la suivante:

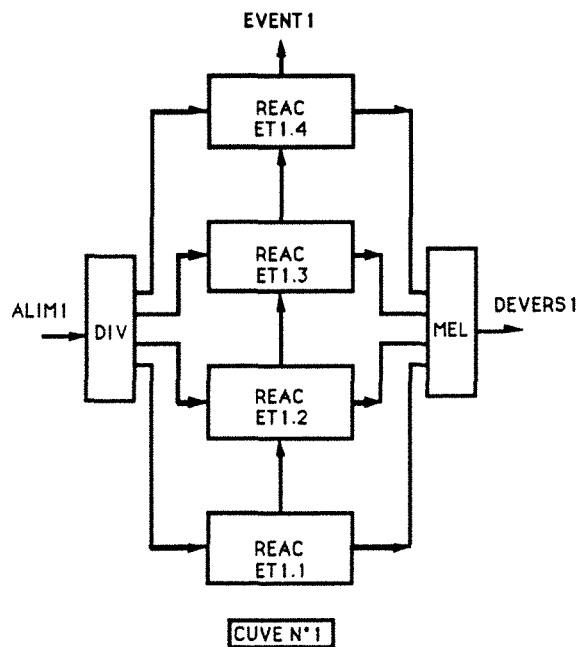


Figure n° 4: Description des fermenteurs multiétagés type cuve n° 1.

Les courants sont notés ALIM1, EVENT1, DEVERS1. Les modules de calcul sont tous du type diphasique, sauf le premier qui est un module de calcul monophasique. Ils sont notés REAC. Les deux autres modules sont des modules standards de ProSim DIV et MEL.

Les courant internes sont notés $devers_n$ et $event_n$.

Les teneurs dans la phase gazeuse de tous les composants augmentent en fonction de la hauteur dans le fermenteur , sauf pour l'oxygène (l'échelle est très importante).

Les mêmes différences de comportement sont observées sauf pour le dioxyde de carbone. Sa fraction molaire dans la phase gazeuse est élevée et entraîne une limitation du transfert en raison de l'équilibre liquide-vapeur défavorable au transfert.

$$x_{CO_2}^G \geq 0,95$$

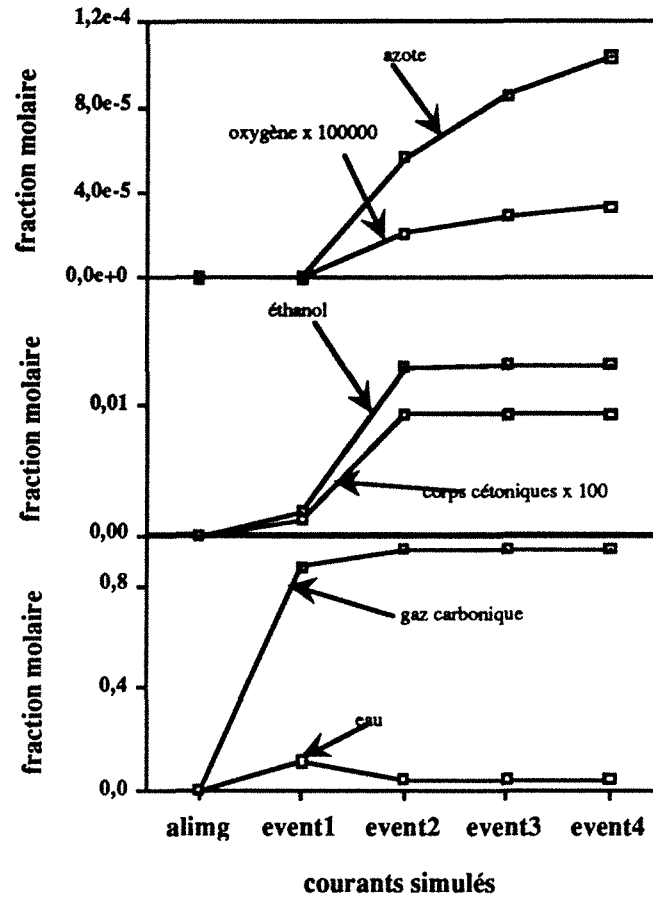


Figure n°5: Simulation des courants gazeux dans la cuve n°1.

Les pertes en éthanol peuvent être calculées directement à partir de la production en éthanol dans la phase liquide. Elles sont proportionnelles à la production en éthanol.

$$r_{CO_2}^L \approx r_{eth}^L$$

$$r_{CO_2}^L = Q_{CO_2}^G$$

$$Q_{eth}^G = \frac{x_{eth}^G}{x_{CO_2}^G} r_{eth}^L$$

où Q_{eth}^G est le débit molaire d'éthanol sortant, x_{eth}^G sa fraction molaire dans la phase gazeuse et r_{eth}^L la vitesse de production molaire de l'éthanol dans la phase liquide de même pour le gaz carbonique.

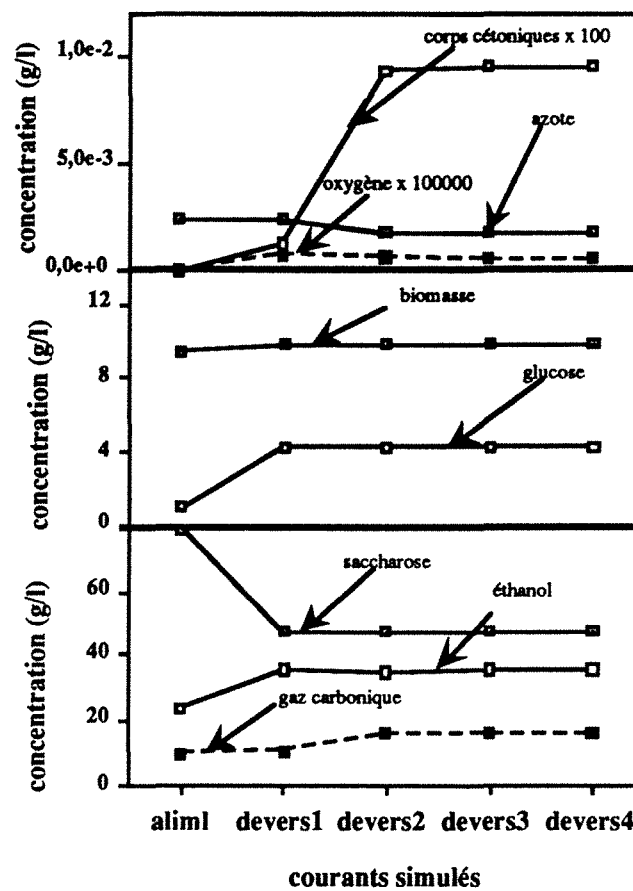


Figure n°6: Simulation des courants liquides dans la cuve n°1.

Les concentrations dans la phase liquide varient peu en fonction de la hauteur.

Conclusion.

Les résultats de la simulation avec le module de calcul diphasique sont en accord avec les résultats de la simulation avec le module de calcul monophasique à condition d'estimer le flux gazeux transféré. Le module de calcul monophasique considère le flux gazeux entrant comme un flux quelconque. La comparaison des valeurs expérimentales et des résultats de simulation est peu satisfaisante (tableau n°1). Les mesures effectuées sur la cuve mère sont largement entachées d'erreur en raison du fonctionnement complexe de cette cuve.

Le module de calcul diphasique est apte à simuler les fermenteurs aérés dans le domaine d'application des bilans avec transfert décrits dans les bilans.

Dans le cas de la fermentation alcoolique, la simulation des transferts diphasiques met en évidence la prépondérance du transfert du dioxyde de carbone par rapport aux autres transferts.

Pour la mise en oeuvre d'un module de simulation diphasique, le cas de la fermentation alcoolique n'est pas correctement choisi dans l'état actuel des connaissances. Les modèles de transfert adaptés aux configurations hydrodynamiques des fermenteurs cylindro-coniques

anaérobies ne sont pas disponibles. On ne peut donc pas vraiment simuler les cuves non aérées de la cascade de fermenteurs.

L'extension des outils du "flowsheeting" à la simulation de fermenteurs imparfaitement agités permet de calculer les évolutions des teneurs dans la phase gazeuse en volatils et en incondensables. Ces évolutions sont en accord avec les constatations expérimentales courantes.

Conclusion générale.

Durant cette étude destinée à simuler des réacteurs biologiques, nous avons d'abord analysé les différents types de modélisation des réactions biologiques.

Cette analyse nous a conduits à définir un type de modèle où sont décrits, une matrice de stoechiométrie et un jeu de lois cinétiques définissant complètement la réaction biologique étudiée en ce qui concerne le nombre de degrés de liberté.

Nous proposons une méthodologie de construction de ces deux éléments.

- Une matrice de stoechiométrie est construite par l'analyse du nombre de degrés de liberté du système constitué par les composants impliqués dans la réaction, leur composition élémentaire et un certain nombre de contraintes définies par l'utilisateur.
- Les lois cinétiques élémentaires définissant la réaction biologique en question sont choisies dans un ensemble de formes mathématiques présentes dans la littérature. Cette combinaison vise à représenter les diverses limitations et inhibitions.

Ce modèle a servi de base au nouveau module de simulation de procédés biologiques implanté dans le simulateur de procédés chimiques ProSim.

A l'aide de ce module, nous avons validé ce modèle en régime continu sur l'installation industrielle du site de la sucrerie-distillerie de Lillers. Le même modèle a été validé sur le même atelier en fonctionnement semi-continu.

Le module de simulation a été étendu aux fermenteurs aérés après une étude des méthodes de modélisation des transferts gaz-liquide et l'analyse de la modélisation des coefficients de transfert de matière.

Pendant ce travail, l'utilisation des outils du "flowsheeting" a permis de mieux comprendre le fonctionnement d'une cascade de fermenteurs en régime continu par rapport à deux paramètres de fonctionnement: le taux de recyclage de la biomasse et le mode de répartition des alimentations.

Les mêmes outils nous ont permis d'analyser le comportement de la phase gazeuse dans deux réacteurs de la cascade: la cuve mère, fermenteur aéré et la cuve n°1, fermenteur non-aéré.

Ces études ont mis en évidence des différences de comportement entre les volatils et les incondensables dans la phase gazeuse en fonction de la hauteur du fermenteur:

- les premiers ont un transfert fortement limité par leur volatilité,
- les seconds ne sont influencés que par le transfert du dioxyde de carbone qui est prépondérant dans ce type de fermentation.

Pour le régime permanent, l'évolution de ce travail passe avant tout par une implantation définitive dans le simulateur de procédés chimiques ProSim.

Lorsque le simulateur pourra traiter les opérations discontinues et les ateliers discrets discontinus, toutes les utilisations des modules mono et diphasiques seront possibles en agro-alimentaire.

Une autre étape du développement d'un simulateur de procédés biologiques est le traitement des solides en tant que constituants possédant des propriétés particulières. Les centrifugeuses sont actuellement décrites par des séparateurs simples.

Nous regrettons que le procédé choisi ne permette pas réellement d'effectuer une validation du modèle de transfert. Le procédé éthanol est un procédé anaérobie.

De plus, le développement de modèles de transfert dans les cuves cylindro-coniques reste à réaliser.

La méthodologie de construction pourrait bénéficier des travaux de conception assistée par ordinateur de modèles de cinétiques biologiques: autant pour la stoechiométrie (Meyer M. et coll., 1992) que pour la cinétique (Garrido-Sanchez L. et coll., 1991). Un important travail d'amélioration reste à effectuer ; il permettra de prendre en compte des contraintes de type structuré (description des évolutions des métabolites énergétiques de la cellule) au sein de la stoechiométrie et de la cinétique.

Notations :

Chapitre n°1.

$f[X]$: fonction vectorielle représentant le système d'équations.
 m_k : sous-système d'équations correspondant à une opération unitaire.
 X_k : vecteurs des courants entrants internes au procédé.
 X_{0k} : vecteur des courants entrants externes au procédé.
 Y_k : vecteur des courants sortants internes au procédé.
 Y_{0k} : vecteur des courants sortants externes au procédé.
 P_k : vecteur des paramètres du modèle de l'opération unitaire,
 V_k : vecteur de variables internes au procédé.
 S_k : vecteur des variables externes au procédé.
 $X_{k2,i}$ est le courant i entrant dans l'unité k_2 .
 $Y_{k1,j}$ est le courant j sortant de l'unité k_1 .
 d_p : équation de spécification.
 X : vecteur de coordonnée X_k .
 V : vecteur de coordonnée V_k .
 Y : vecteur de coordonnée Y_k .
 S : vecteur de coordonnée S_k .
 n_u : nombre d'opérations unitaires.
 n_s : nombre d'équations de spécification.
 $f[X_0]$: fonction vectorielle au point X_0 .
 $M[X_0]$: matrice de l'opérateur au point X_0 .
 X_0 : vecteur de coordonnée X_{0k} .
 $J[X_0]$: matrice Jacobienne au point X_0 .

Chapitre n°2.

v : vitesse de réaction (mol/h).
 k : constante de vitesse (mol/l).
 A_i : composant i .
 S : substrat de la réaction.
 $[S]$: concentration du substrat de la réaction (mol/l).
 E : enzyme.
 $[E]$: concentration de l'enzyme (mol/l).
 ES : complexe activé avec le substrat.
 $[ES]$: concentration en complexe activé avec le substrat (mol/l).
 P : produit de la réaction.
 $[P]$: concentration en produit de la réaction (mol/l).
 EI : complexe activé avec l'inhibiteur.

$[EI]$: concentration en complexe activé avec l'inhibiteur (mol/l).

ESI : complexe activé avec le substrat et l'inhibiteur.

$[ESI]$: concentration en complexe activé avec le substrat et l'inhibiteur (mol/l).

K_m : constante de Michaëlis (mol/l).

$v_{\max}$: vitesse maximale de la réaction enzymatique (mol/h U; U : unité d'enzyme).

K_i : constante d'inhibition (mol/l).

$[E_o]$: concentration initiale en enzyme (mol/l).

$\underline{C}$: vecteur des flux réactionnels.

$\underline{F}$: vecteur des flux observés.

S : matrice de stoechiométrie des réactions observées.

$\underline{F}'$: vecteur des flux non-observés.

S' : matrice de stoechiométrie des réactions non-observées.

$[X]$: concentration en biomasse (mol/l).

q : vitesse spécifique de production ou de consommation (mol/h $(C_{eq} \text{ mol})^*$; * biomasse).

ATP : Adénosine TriPhosphate.

NAD^+ : Nicotinamide Adénosine Dinucléotide.

$NADH_2^+$: Nicotinamide Adénosine Dinucléotide H_2 .

FAD : Flavine Adénosine Dinucléotide.

$FADH_2$: Flavine Adénosine Dinucléotide H_2 .

Fd : Ferredoxine.

FdH_2 Ferredoxine H_2 .

ADN : Acide DesoxyriboNucléique.

ARN : Acide RiboNucléique.

ARN_m : Acide RiboNucléique messenger.

ARN_t : Acide RiboNucléique de transfert.

$\frac{P}{O}$: Rapport entre le nombre de phosphorylation et le nombre de molécules d'oxygène réduites.

lettres grecques :

μ : vitesse spécifique de production de biomasse (1/h).

π : vitesse spécifique de production ou de consommation du composant autre que la biomasse (mol/ h $(C_{eq} \text{ mole})^*$; * biomasse).

Chapitre n°3.

F : nombre d'espèces chimiques.

A_{ij} : coefficient définissant la composition en élément j du composant i .

A : matrice des compositions en éléments

N_i : coordonnée i du vecteur des flux des constituants.

$\underline{N}$: vecteur des flux des constituants.

S_i : coordonnée i du vecteur des flux métaboliques.

$\underline{S}$: vecteur des flux métaboliques.

- X_j : coordonnée i du vecteur des vitesses des "voies métaboliques".
 $\underline{X}$: vecteur des vitesses des "voies métaboliques".
 S : nombre d'espèces intervenant dans le phénomène.
 K : nombre d'intermédiaires réactionnels.
 R : nombre de réactions.
 Q : nombre d'espèces recensées, mesurables et de comportement cinétique étudié.
 C : nombre de contraintes additionnelles.
 $[S]$: concentration en espèce S (mol/l).
 $[S^*]$: concentration critique en espèce S (mol/l).
 K_s : constante de limitation (mol/l).
 K_i : constante d'inhibition (mol/l).
 $[E]$: concentration en espèce E (mol/l).
 Q_{max} : vitesse spécifique maximale (mol/ h (C_{eq} mol)^{*}; * biomasse).
 $Y_{\frac{x}{s}}$: rendement de production de biomasse à partir du substrat (mol/mol).
 $Y_{\frac{x}{s}max}$: rendement maximal de production de biomasse à partir du substrat (mol/mol).
 $[C_j]$: concentration en espèce j . C est un terme générique pour un constituant quelconque (mol/l).
 g_i, h_i : constante du modèle de Sauvageau.
 $Y_{\frac{eth}{hex}}$: rendement de production d'éthanol à partir des hexoses (mol/mol).
 $Y_{\frac{gly}{hex}}$: rendement de production de glycérol à partir des hexoses (mol/mol).
 $Y_{\frac{bio}{hex}}$: rendement de production de biomasse à partir des hexoses (mol/mol).
 G_i : influence élémentaire sur la cinétique.
- lettres grecques :**
 μ : vitesse spécifique de production de biomasse (1/h).
 μ_{max} : vitesse spécifique maximale de production de biomasse (1/h).
 α_i, β_i : constante du modèle de Sauvageau.
 ν_{ij} : coefficient stoechiométrique de l'espèce i dans la réaction j .
 $\underline{\nu}$: matrice des coefficients stoechiométriques.

Chapitre n°4.

- $nocomp$: nombre de composants dans le procédé.
 $noclés$: nombre de composants clés dans le modèle de réaction.
 C_k : concentration du composant k (mol/l).
 C_{bio} : concentration de la biomasse (mol/l).
 $type(j, k)$: tel qu'il est défini dans le tableau n°6, il correspond à MODL.
AP : Alcool Produit.
°GL : degré Gay Lussac.
MST : Matière sèche totale (%).
v.v.h. : volume par volume et par heure.
v/v : volume pour volume.

K_{sk} : constante de limitation correspondant au composant k (mol/l).

K_{ik} : constante d'inhibition correspondant au composant k (mol/l).

$r_i(X)$: vitesse de la réaction i (mol/h). X est le vecteur des concentrations.

$qmax_i$: vitesse spécifique maximale de la réaction i (mol/h (C_{eq} mol)^{*}; * biomasse).

x_{bio} : fraction molaire de la biomasse.

V : volume du réacteur (m³).

v_{mel} : volume molaire du mélange (m³/mol).

$R_j(X)$: vitesse du constituant j (mol/h). X est ici le vecteur des concentrations

U_L : rétention molaire de la phase liquide (mol).

L_{in} : flux molaire total entrant phase liquide (mol/h).

$x_{i,in}^L$: fraction molaire phase liquide entrant.

L : flux molaire total sortant phase liquide (mol/h).

x_i : fraction molaire phase liquide sortante.

lettres grecques :

β_1 et β_2 : taux de rétention volumique (volume/volume).

τ : rapport des taux de rétention volumique.

ν_{ij} : coefficient stoechiométrique de l'espèce i dans la réaction j .

$\Phi(type(i, k), C_k)$: influence élémentaire écrite en concentration.

$\Psi(type(i, k), x_k)$: influence élémentaire écrite en fraction molaire.

Π_i : terme correspondant aux influences cumulées.

Chapitre n°5.

x_i : fraction molaire du composant i .

T : température (K).

G_{ij} : terme correctif de la corrélation de Grunberg et Nissan.

W : terme correspondant au pouvoir associatif du solvant.

D_{AB}° : coefficient de diffusion à dilution infinie (m²/s).

D_{AB} : coefficient de diffusion (m²/s).

V_A : volume molaire du composant A (m³/mol).

V_B : volume molaire du composant B (m³/mol).

m : molalité (mol/kg).

d_B : diamètre de Sauter pour les bulles (m).

ΔP : perte de charge dans un orifice (Pa).

D : diamètre de l'orifice (m).

v_G : vitesse superficielle du gaz (m/s).

N : vitesse d'agitation (rpm).

d_{ag} : diamètre de l'agitation (m).

D_{tube} : diamètre du réacteur.

g : accélération de la pesanteur (m^2/s).

Q_g : débit de gaz (m^3/s).

a : aire interfaciale.

P_i : puissance dissipée (kW).

P_G : puissance dissipée en présence de gaz (kW).

kl : coefficient de transfert (m^2/s).

Sc : nombre de Schmidt ($\eta/D_{AB}\rho$).

lettres grecques :

η : viscosité cinématique (cP).

τ : contrainte de cisaillement (Nn).

γ : cisaillement (m).

γ_i : coefficient d'activité.

$\gamma_{\pm}^+$: conductance ionique limite (A/cm^2)(V/cm)(g-equiv/cm³).

σ : tension de surface (N/m²).

ρ : masse volumique (kg/m³).

$\Delta\rho$: écart entre les masses volumiques de la phase continue et de la phase dispersée (kg/m³).

Chapitre n°6.

C_i^* : concentration molaire du constituant i , dans la phase liquide en équilibre avec la phase gazeuse (mol/l).

C_i : concentration molaire du constituant i , dans la phase liquide (mol/l).

y_i : fraction molaire du constituant i dans la phase vapeur.

x_i^* : fraction molaire du constituant i , dans la phase liquide en équilibre avec la phase gazeuse.

x^* : vecteur de coordonnée x_i^* .

y^G : vecteur de coordonnée y_i .

n_{inco} : nombre de constituants faisant l'objet d'un bilan diphasique.

n_{ocomp} : nombre total de constituants.

T_i^L : terme de transfert de matière côté liquide (mol/h).

kla_i : coefficient de transfert de matière global volumique pour le constituant i (1/h).

V : volume de la phase liquide dans le fermenteur (m³).

V_{ferm} : volume du fermenteur (m³).

v_{mel}^L : volume molaire de mélange phase liquide (m³/mol).

$x_{solvant}^L$: fraction molaire du solvant.

U_L : rétention molaire dans le fermenteur pour la phase liquide (mol).

x_i : fraction molaire du composé i .

$\frac{d(U_L x_i)}{dt}$: terme d'accumulation de l'espèce i dans la phase liquide du fermenteur (mol/h); ce terme est nul

lorsque les simulations se rapportent à une unité en fonctionnement continu.

L_{in} : flux molaire phase liquide entrant (mol/h).

$x_{i,in}^L$: fraction molaire du constituant i dans le flux liquide entrant.

L : flux molaire phase liquide sortant (mol/h).

U_G : rétention molaire dans le fermenteur pour la phase gazeuse (mol).

y_i : fraction molaire du composé i .

$\frac{d(U_G y_i)}{dt}$: terme d'accumulation de l'espèce i dans la phase gazeuse du fermenteur (mol/h); ce terme est nul. La phase gazeuse est toujours supposée à l'état stationnaire.

G_{in} : flux molaire phase gazeuse entrant (mol/h).

$y_{i,in}^G$: fraction molaire du constituant i dans le flux gazeux entrant.

G : flux molaire phase gazeuse sortant (mol/h).

$K_i = K_i(T, P, x^*, y^G)$: constante d'équilibre définie par les modèles thermodynamiques.

P : pression dans le fermenteur (Pa).

T : température dans le fermenteur (K).

v_{mel}^L : volume molaire de la phase liquide (m^3/mol).

T_i^G : terme de transfert de matière coté phase gazeuse pour le constituant i (mol/h).

$R_i(X)$: vitesse de réaction du constituant i définie pour le module monophasique (mol/h).

kla_{i0} : constante de la loi fournie par l'utilisateur (1/h).

$Puis_0$: fonction de la puissance à l'arbre $PUIS$ fournie par l'utilisateur (W).

G : débit molaire de la phase gazeuse sortante (mol/h).

v_{mel}^G : volume molaire du mélange phase gazeuse (m^3/mol).

S : section droite du fermenteur qui est égale à $\frac{V_{-ferm}}{H}$ (m^2).

H : hauteur du fermenteur (m).

L_{CO_2} : flux molaire du dioxyde de carbone sortant dans la phase liquide (mol/h).

G_{CO_2} : flux molaire du dioxyde de carbone sortant dans la phase gazeuse (mol/h).

G_{in,O_2} : flux molaire d'oxygène entrant dans le fermenteur dans le flux gazeux (mol/h).

G_{O_2} : flux molaire de l'oxygène sortant dans la phase gazeuse (mol/h).

L_{O_2} : flux molaire de l'oxygène sortant dans la phase liquide (mol/h).

G_{in} : débit molaire gazeux entrant dans le fermenteur diphasique (mol/h).

$H_{étage}$: hauteur d'un étage théorique (m).

D : diamètre du fermenteur (m).

$N_{étage}$: nombre d'étages théoriques.

$V_{étage}$: volume d'un étage théorique (m^3).

V_{ferm} : volume du fermenteur (m^3),

$L_{in,étage}$: flux molaire entrant dans un étage théorique (mol/h).

L_{in} : flux molaire entrant dans le fermenteur (mol/h).

$x_{CO_2}^L$: fraction molaire du dioxyde de carbone dans la phase liquide.

lettres grecques :

Δ_1 : défini par $\frac{(\text{valeur mesurée} - \text{valeur calculée par le modèle monophasique})}{\text{valeur mesurée}}$ (%).

Δ_2 : défini par $\frac{(\text{valeur mesurée} - \text{valeur calculée par le modèle diphasique})}{\text{valeur mesurée}}$ (%).

α et β : coefficients de la loi puissance.

Références :

Introduction générale.

- Florentin J., thèse de docteur-ingénieur, "Analyse économique de la production et de l'utilisation de l'éthanol-carburant", INRA Station d'Economie et de Sociologie Rurale de Grignon, (1985).
- Garinois G., "Ethanol et inuline : espoir et illusion.", Le betteravier français, 597, 4, (1992).
- Garinois G., "Ethanol: un programme ambitieux.", Le betteravier Français, 573, 4, (1991).
- Garinois G., "Feu vert au bio-éthanol", Le betteravier Français, 568, 2, (1990).
- Leroudier J.-P., "La production d'alcool à partir de la betterave sucrière", Cultivar, 189, 123-125, (1985)
- Molle J.-F., "L'éthanol-carburant a-t-il encore un avenir?", Biomasse Actualités, 43, 1-2, (1986).
- Morand P., "La distillerie de la Buchère prête à se lancer dans l'éthanol dès 1992", Le betteravier Français, 596, 30, (1992).

Chapitre n°1.

- Almasy G.A., Mah R.S., "Estimation of measurement error variance from process data.", Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev., 23, 779-784, (1984).
- Badreddine A.A., "Dynamic simulation of fermentors using SpeedUp", AIChE spring National Meeting, Houston, Texas, April 2-6, (1989).
- Brannock N.F., Verneuil V.S., Wang Y.L., "ProcessSM simulation program a comprehensive flowsheeting tool for chemical engineers", 3, 329-352, (1979).
- Challand T.B., "Computerized optimisation of complete process flowsheets.", Comp. Eng. Progress, 65-68, (1983).
- Drown D.C., Petersen J.N., "Computer aided design in food industry : I. overview of process flowsheeting.", J. of food technol., 20, 397-407, (1985).
- Evans L.B., "Process flowsheeting : state of the art review.", Proceedings of the 15th symposium of the working party on the use of computer in chemical engineering, Antwerp, 25-27 may, belgium, Chemcomp'82, 1-12, (1982).
- Evans L.B., Boston J.F., Britt H.I., Gallier P.W., Gupt P.K., Joseph B., Mahalec V., Ng E., Seider W.D., Yagi H., "Aspen : an advanced system for process engineering.", Comp and Chem. Eng., 3, 319-327, (1979).
- Friedman F., Ramirez W.F., "Convergence properties of systems of algebraic equations-explicit loops.", AIChE J., 19, 3, 566-574, (1973).
- Harris R.E., "Distillation designs using FLOWTRAN.", Chem. Eng. Progress, 68,10, 56-61, (1972).
- Hernandez R., Sargent W.H., "A new algorithm for process flowsheeting", Comp. Chem. Eng., 3, 363-371, (1979).

- Jackson J.A., Desilva R.L., "Process flowsheeting for downstream biochemical process analysis and design", *Process biochem.*, 185-19, (1985).
- Joulia X., "Simulation de procédés chimiques en régime permanent. Formulation et convergence", Thèse doctorat ès science, INPT, (1987).
- Kesler M.G., Kessler M.M., "Engineering processing with a computer.", *World Petrol*, 29, 60, (1958).
- Koehret B., "Conception d'un simulateur de procédé", Thèse doctorat ès sciences, INPT, (1987).
- Koehret B., Joulia X, Le Lann M. V., " Développement des programmes de simulation des procédés chimiques. Le simulateur PROSIM", *L'actualité chimique*, 63-70, (1985).
- Ledet W.P., Himmelblau D.M., "Decomposition procedures for solving of large scale systems.", in *Adv. in Chem. Eng.*, 8, 185-254, (1970).
- Lenz T.G., Moreira A.R., "Economic evaluation of acetone-butanol fermentation", *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.*, 19, 478-483, (1980).
- Maiorella B.L., Blanch H.W., Wilke C.R., "biotechnology report : economic evaluation of alternative ethanol fermentation processes.", *Biotechnol. Bioeng.*, 26, 1003-1025, (1984).
- Marlatt J.A., Data R., "Actone-butanol fermentation development and economic evaluation", *Biotechnol. Progress*, 2, 1, 23-28, (1986).
- Motard R.L., Shasham M., Rosen E.M., "Steady state chemical process simulation.", *AIChE J.*, 21, 3, 417-436, (1975).
- Petrides D., Evans L.B., Cooney C.L., Field R.P., Snoswell M., "Bioprocess simulation : an integrated approach to process development", *Comp. Chem. Eng.*, 13, 4-5, 553-561, (1989).
- Pierucci S.J., Ranzi E.M., Biardi G.E., "Solution of recycle problems in a sequential modular approach", *AIChE J.*, 28, 5, 820-827, (1982).
- Robertson J.L., "The ideal process simulator." *Chemical Engineering Progress*, 62-66, (1989).
- Rosen E.M., "A machine computation methode for performing material balances.", *Chem. Eng. Progress*, 58, 10, 69-73, (1962).
- Rosen E.M., Pauls A.C., "Computer aided chemical process design : the FLOWTRAN system.", *Comp. and Chem. Eng.*, 1, 11-21, (1977).
- Rosen E.M., "Steady state chemical process simulation : a state of art review.", *Comp. Appl. to Chem. Eng.*, ACS Symp. series, 124, 3-36, (1980).
- Seider W.D., Brengle D.D., Widagdo S., "Non-linear analysis in process design.", *AIChE J.*, 37, 1, 1-38, (1991).
- Serth R.W., Heenan W.A., "Gross error detection and data reconciliation in stream-metering systems", *AIChE J.*, 32, 5, 733-742, (1986).

- Shacham M., Macchietto S., Stutzman L.F., Babcock P., "Equation oriented approach to process flowsheeting.", *Comp. and Chem. Eng.*, 2, 79-95, (1979).
- Stephenson G.R., Shewchuk C.F., "Reconciliation of process data with process simulation", *AIChE J.*, 32, 2, 247-254, (1986).
- Wang N.S., Stephanopoulos G., "Application of macroscopic balances to the identification of gross measurement errors.", *Biotechnol. Bioeng.*, 25, 2177-2208, (1983).
- Warren R.K., Hill G.A., Macdonald D.G., "Improved bioreaction kinetics for the simulation of continuous ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* .", *Biotechnol. prog.* 6, 319-325, (1990).
- Westerberg A.W., Hutchison H.P., Motard R.L., Winter P., "Introduction", Ch.1, in "Process Flowsheeting", 1-8, (1979).
- Westerberg A.W., Hutchison H.P., Motard R.L., Winter P., "Flowsheeting on computer", Ch.2, in "Process Flowsheeting", 9-26, (1979).
- Westerberg A.W., Hutchison H.P., Motard R.L., Winter P., "Degree of freedom in a flowsheet" , Ch.5, in "Process Flowsheeting", 113-129, (1979).

Chapitre n°2.

- Alard G., de Miniac M., "Recyclage des vinasses ou de leur condensats d'évaporation en fermentation alcoolique des produits sucriers lourds (mélasse et égouts)", *Cahiers Scientifiques et Techniques, I.A.A.*, 877-882, (1985).
- Alexander M.A., Jeffries T.W., "Respiratory efficiency and metabolite partitioning as regulatory phenomena in yeast", *Enzyme Microb. Technol.*, 12, 2-19, (1990).
- Bailey J.E., "Kinetic of substrat utilization, product yield and biomass production in cell cultures", Ch.7, in *Biochemical engineering fundamental*, 353-410, Mac Graw Hill book company, (1981).
- Baltzis B.C., Frederickson A.G., "Limitation of growth rate by two complementary nutrients: some considerations", *Biotechnol. Bioeng.*, 31, 75-86, (1988).
- Barford J.P., Hall R.J. , "A mathematical model for the aerobic growth of *Saccharomyces cerevisiae* with a saturated respiratory capacity", *Biotechnol. Bioeng.*, 23, 1735-1762, (1981).
- Barford J.P., "A general model for aerobic yeast growth: batch growth", *Biotechnol. Bioeng.*, 35, 907-920, (1990).
- Bovee J.P., Strehaiano P., Goma G., Sevely Y., "Alcoholic fermentation: modelling based on sole substrate and product measurement", *Biotechnol. bioeng.*, 26, 328-334, (1984).
- Ciftci T., Greenfield P.F., Wang S.S., "Modelling of cell viability and specific alcohol productivity", *Ann N.Y. Acad.Sci.*, 413, 157-167, (1983).
- Cooney C.L., Wang H.Y., Wang D.I.C., "Computer-aided material balancing for prediction of fermentation parameters", *Biotechnol. Bioeng.*, 19, 55-67, (1977).

D'amore T., Panchal C.J., Russell I., Stewart G.G., "Osmotic pressure effects and intracellular accumulation of ethanol in yeast during fermentation", J. of Inds. Microbiol, 2, 365-372, (1988).

Dajoz R., "La croissance des populations, le cas d'une seule espèce", Ch.4, "Dynamique des populations", Masson ed., 103-132, (1974).

Dasari G., Worthe M.A., Connor M.A., Pamment N.B., "Reason for the apparent difference in the effect of produced and added ethanol on culture viability during rapid fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*", Biotechnol. Bioeng., 35, 109-122, (1990).

De Kok E.H., Roels J.A., "Method for statistical treatment of elemental and energy balances with application to steady-state continuous culture of *Saccharomyces cerevisiae* CBS", Biotechnol. Bioeng., 22, 1097-1104, (1980).

de Miniac M., "Sélection de souches de levures pour la fermentation alcoolique de milieux mélassés enrichis en non-sucre de vinasse", cahiers scientifiques et techniques, I.A.A., 425-439, (1987).

Dekkers J.G.J., De Kok H.E., Roels J.A., "Energetics of *Saccharomyces cerevisiae* CBS 426: comparison of anaerobic and aerobic glucose limitation", Biotechnol. Bioeng., 23, 1023-1035, (1981).

Do D.D., Weiland R.H., "Consistency between rate expressions for enzyme reaction and desactivation", Biotechnol. Bioeng., 22, 1087-1093, (1980).

Dourado A., Goma G., Albuquerque U., Sevely Y., "Modelling and static optimization of the ethanol production in cascade reactor. I Modelling", Biotechnol. Bioeng., 29, 187-194, (1987).

Engasser J.M., "Modélisation des processus de fermentation", biotechnologie, Scriban R., Tec Doc, 301-325, (1984).

Erickson L.E., Minkevich I.G., Erosin V.K., "Application of mass and energy balance regularities in fermentation", Biotechnol. Bioeng., 20, 1595-1621, (1978).

Fick M., "Etude de la fermentation acétonobutanolique", thèse INPL, (1986).

Fiechter A., Fuhrmann G.F., Käppeli O., "Regulation of glucose metabolism in growing yeast cells", Adv. in microbial. physiology, 22, 128-183, (1981).

Frederikson A.G., Ramkrishna D., Tsuchiya H.M., "The necessity of including structure in mathematical models of unbalanced microbial growth", Food and bioengineering fundamental and industrial aspects. Chemical engineering progress symposium series 6, 108, 53-59, (1970).

Gancedo C., Serrano R., "Energy-yielding metabolism", in the yeast, vol.3, Ch.6., 205-257, (1989).

Ghose T.K., Tyagi R.D., "Rapid ethanol fermentation of cellulose hydrolysate. I. Batch versus continuous system", Biotechnol. Bioeng., 32, 1401-1420, (1979).

Hall R.J. et Barford J.P., "Simulation of the integration of the internal energy metabolism and the cell cycle of *Saccharomyces cerevisiae*", Biotechnol. Bioeng., 23, 1763-1795, (1981).

Hamer J.W., "Stoichiometric interpretation of multireaction data: Application to fed-batch fermentation data", Chemical Eng. Sci., 44, 10, 2363-2374, (1989).

- Han K., Levenspiel O., "Extended Monod kinetics for substrate, product and cell inhibition", *Biotechnol. Bioeng.*, 32, 430-437, (1988).
- Heinzle E., Dunn I.J., Furukawa K., Tanner R.D., "Modelling of sustained oscillations observed in continuous culture of *Saccharomyces cerevisiae*", IFAC, Modelling and control of biochemical processes, Helsinki, (1982).
- Imanaka T. et al., "Optimization of α -Galactosidase production by mold", *J. Ferment. Technol. (Japan)*, 51, 423, (1972).
- Jones B.J., "Enzymes in organic synthesis", *Tetrahedron report*, 42, 13, 3351-3404, (1986).
- Jones R.P., "Biological principles for the effects of ethanol", *Enzyme Microb. Technol.*, 11, 130-153, (1989).
- Jones R.P., Greenfield P.F., "Role of water activity in ethanol fermentation", *Biotechnol. Bioeng.*, 23, 29-40, (1986).
- Jones R.P., Greenfield P.F., "Replicative inactivation and metabolic inhibition in yeast ethanol fermentations", *Biotechnol. Lett.*, 7, 4, 223-228, (1985).
- Koga S., Burg S.R., Humphey A.E., "Computer simulation of fermentation systems", *Appl. Microbiol.*, 15, 683-689, (1967).
- Kossen N.W.F., "Mathematical modelling of fermentation processes: scope and limitations", in *Microbial technology current state, future prospect*, Bull A.T., Ellwood D.C., Ratledge C., Cambridge University Press, 327-357, (1979).
- Leão C., Van Uden N., "Effects of ethanol and other alkanols on kinetics and activation parameters of thermal death in *Saccharomyces cerevisiae*", *Biotechnol. Bioeng.*, 24, 1518-1590, (1982).
- Letourneau F., Villa P., "Saccharomyces yeast growth on beet molasses effects of substrate concentration on alcohol toxicity", *Biotechnol. Lett.*, 9, 1, 53-58, (1987).
- Leveaux J.Y., Bouix M., "Bioingénierie", *Biotechnologie*, Scriban R., Tec Doc, 233-299, (1984).
- Levenspiel O., "The Monod equation: a revisited and generalization to product inhibition situation", *Biotechnol. Bioeng.*, 22, 1671-1687, (1980).
- Monod J., "Recherche sur la croissance des cultures bactériennes", Hermann ed., (1942).
- Monod J., "Growth of bacterial cultures", *Ann. Rev. Microbiol.*, 3, 371-395, (1949).
- Nanba A., Nishizawa Y., Tsuchiya Y., Nagai S., "Kinetic analysis for batch ethanol fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*", *J. Ferment. Technol.*, 65, 3, 277-283, (1987).
- Nikolojsen K., Nielsen J., Villadsen J., "Structured modelling of microbial system: III growth on mixed substrates", *Biotechnol. Bioeng.*, 38, 24-29, (1991).
- Noorman H.J., Heijnen J.J., Luyben Ch.A.M., "Linear relation in microbial reaction system: a general overview of their origin, form, and use", *Biotechnol. Bioeng.*, 38, 603-618, (1991).
- Oura E., "Reaction products of yeast fermentation", *Process Biochem.*, 19-35, (1977).

- Papoutsakis E.T., "Equations and calculations for fermentations of butylic acid bacteria", *Biotechnol. Bioeng.*, 26, 174-187, (1984).
- Pasteur L., "Mémoire sur la fermentation alcoolique", *Ann. Chim. Phys.*, 58, 323-426, (1860).
- Pavlou S., Fredrickson A.G. , "Growth of microbial population in nonminimal media: some considerations for modelling", *Biotechnol. Bioeng.* , 34, 971-989, (1989).
- Perret C.J., "A new kinetic model of growing bacterial population" , *Gen. Microbiol.* , 22, 589, (1960).
- Pirt S.J., "Maintenance energy of bacteria in growing cultures", *Proc. Roy. Soc. ser. B*, 163, 224-231, (1965).
- Rajab A., "Modélisation et conduite automatique de la fermentation de *Saccharomyces cerevisiae*", thèse INPL, (1986).
- Richard H., "Enzymologie et biocatalyse", *Biotechnologie*, Scriban R., 335-372, (1984).
- Roels J.A., "The application of macroscopic principles to microbial metabolism", *Biochemical Engineering II*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, Constantinides A., Veith W.R., Venkatasubramanian K. ed., 113-134, (1981).
- Roels J.A., Kossen N.W.F., "On the modelling of microbial metabolism", in *Progress in industrial microbiology* , 14, 95-203, (1978).
- Rose D. J., "Responses to the chemical environment", *Appl. Bact.*, 35, 499-503, (1972).
- Rose D.J., "Yeast for molasses alcohol", *Process Biochemistry*, 10-12, (1976).
- Savageau M.A., Voit E.O., "Power-law approach to modelling biological systems: I Theory; II Application to ethanol production; III Methods of analysis", *J. ferment. Technol.*, 60, 3, 221-241, (1982).
- Scopes R.K., "Separation by precipitation", in *protein purification, principles and practice*, Springer Verlag, Ch.3., 39-66, (1982).
- Seressiotis A., Bailey J.E., "MPS: An artificially intelligent software sytem for the analysis and synthesis of metabolic pathways", *Biotechnol. Bioeng.*, 31, 587-602, (1988).
- Sonnleitner B., Käppeli O., "Growth of *Saccharomyces cerevisiae* is controlled by its limited respiratory capacity: formulation and verification of a hypothesis", *Biotechnol. Bioeng.*, 28, 927-937, (1986).
- Strässle C., Sonnleitner B., Fiechter A., "A predictive model for the spontaneous synchronization of *Saccharomyces cerevisiae* grown in continuous culture : I. concept", *J. of Biotechnol.*, 7, 299-318, (1988).
- Sweere A.P.J., Giesselbach J., Barendse R., De Krieger R., Honderd G., Luyben C.A.M., "Modelling the dynamic behaviour of *Saccharomyces cerevisiae* and its application in control experiments", *Appl. Microbiol. biotech.*, 28,116-127, (1988).
- Teissier G., "Croissance des populations bactériennes et quantité d'aliment disponible", *Rev. Sci.*, 32, 08, 209-214, (1942).
- Tsai S.P. , "Application of stoichiometry and energetics in modelling and control of fermentation processes", Thesis Drexel university, (1988).

Tsai S.P., Lee Y.H., "Application of Gibbs'rule and simple pathway method to microbial stoichiometry", *Biotechnology progress*, 4, 2, 82-88, (1988).

Van der Aar P.C., Van Verseveld H.W., Southamer A.H., "Stimulated glycolytic flux increases the oxygen uptake rate and aerobic ethanol production, during oxido-reductive growth of *Saccharomyces cerevisiae*", *J. of Biotechnol.*, 13, 347-359, (1990).

Wei j., "Last square fitting of an elephant", *Chem. tech.*, (1975).

Wolniewicz E., Essia Ngang J.J., Letourneau F, Villa P., "Alcoholic fermentation of beet molasses study on stillage recycle", *Biotechnol. Lett.*, 12, 1, 73-78, 1990

Chapitre n°3.

Agarwall G.P., "Glycerol", *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, Springer verlag, 41, 95-127, (1990).

Bailey J.E., Ollis D.F., " Biochemical engineering fundamentals", Mc Graw-Hill, Chemical Engineering Series, (1986).

Barnett J.A., " The utilisation of sugar by yeast", *Adv. in carbohydrates chemistry and biochemistry*, 32, 151, (1976).

Combes D., "Etude de l'hydrolyse du saccharose par l'invertase libre et immobilisée. Application en réacteur continu.", Thesis, INSA Toulouse, France (1981).

de Miniac M., Nonus M., " Gain de productivité d'éthanol en fermentation alcoolique des produits sucrés (mélasses et égout)", *cahiers scientifiques et techniques*, IAA, 102, 10, 971- 985, octobre (1985).

Dourado A., Goma G., Alburquerque U., Sevely Y., "Modelling and static optimisation of ethanol production in cascade reactor", *Biotechnol. Bioeng.*, 29, 187-194, (1987).

Fiechter A., Fuhrmann G.F., Käppeli O., "Regulation of glucose metabolism in growing yeast cell", *Advances in Microb. Physiol.*, 22, 157-159, (1981).

Gancedo C., Serrano R., " The yeast energy-Yielding metabolism", Ch.6, 2nd ed., Acad. Press. Ltd, 3, 205-259, (1989).

Gear W.C., Petzold L.R., "ODE methode for the solution of differential/algebraic systems.", *SIAM J. Num. Anal.*, 21, 4, (1984).

Gear W.C., "The numerical integration of ordinary differential equations.", *Math. Comp.*, 21, 146-156, (1967).

Genevoix L., "Essais de bilan de fermentation alcoolique due aux cellules de levures", *Bioch. Biophys Acta*, 4, 179-193, (1950).

Groboillot A., Pons M.N., Engasser J.M., "Monitoring of volatils in alcoholic fermentation on molasses via a gas membrane sensor", *Appli. Microbiol. Biotechnol.*, 3 , 37-44, (1989).

Han K., Levenspiel O., "Extended Monod kinetics for substrate, product and cell inhibition", *Biotechnol. Bioeng.*, 32, 430-437, (1988).

- Hiebert K.L., Shampine L.F., "Implicitly defined output points for solutions of odes-s", Sandia Report SAND80-0180, february (1980).
- Hindmarrsh A., "ODEPACK, a systematized collection of ode solvers", in Scientific Computing, R.S. Stepleman et al. (eds.), North-Holland, Amsterdam, 55-64, (1983).
- Hough J.S., Briggs D.E., Stevens R., "Metabolism of wort by yeast", in Malting and brewing science Chapman and Hall ed., London, Ch.17, 441-479, (1971).
- Hough J.S., Briggs D.E., Stevens R., "Brewery fermentation ", in Malting and brewing science Chapman and Hall ed., London, Ch.19, 505-536, (1971).
- Jones R.P., "Biological principles for the effects of ethanol", Enzyme Microb. Technol., 11, 130-153, 1989
- Jones M., Power D.W., Pierce J.S., "Absorption of amino-acids by culture yeast", Proc. Eur. brew. Conv., 182-194, (1965).
- Joulia X., "Simulation de procédés chimiques en régime permanent. Formulation et convergence", Thèse doctorat ès science, INPT, (1987).
- Koehret B., "Conception d'un simulateur de procédé", Thèse doctorat ès sciences, INPT, (1987).
- Leveaux J.Y., Bouix M., "Les microorganismes producteurs d'éthanol", dans "La production industrielle d'éthanol de fermentation", 3-56, FCB 12-13-14 mars (1986).
- Levenspiel O., "The Monod equation: a revist and generalization to product inhibition situation", Biotechnol. Bioeng., 22, 1671-1687, (1980).
- Mankad T., Nauman E.B., "Modelling of microbial growth under dual limitations", The Chem. eng. J., 48, B9-B11, (1992).
- Marc I., "Modélisation de la fermentation de la bière dans les réacteurs cylindro-coniques : cinétique d'assimilation des sucres et d'acides-aminés, de croissance et de floculation de levures, de production de CO₂ et de métabolites.", Thèse, INPL, France (1982).
- Moser A., "mathematical intelligent model in system simulation" IMAC, IFAC, 3-7 september 1990, Bruxelles, Belgium.
- Noorman H.J., Heijnen J.J., Luyben Ch.A.M., "Linear relation in microbial reaction system: a general overview of their origin, form, and use", Biotechnol. Bioeng., 38, 603-618, (1991).
- Oura E., "Reaction products of yeast fermentation", Process biochemistry, 19-35, (1977).
- Papoutsakis E.T., "Equation and calculation for fermentation of butyric acid bacteria", Biotechnol. Bioeng., 26, 174-187, (1984).
- Pavlou S., Fredrickson A.G. , "Growth of microbial population in nonminimal media: some considerations for modelling", Biotechnol. Bioeng. , 34, 971-989, (1989).
- Petzold L.R., "Automatic Selection of methods for solving stiff and nonstiff systems of ordinary differential equations", SIAM J. Sci. Stat. Comput., 4, 136-148, (1983).

Postma E., W.A. Scheffers and J.P. Van Dijken, "Adaptation of kinetics of glucose transport to environmental condition in the yeast *Candida utilis* CBS 621, a continuous study", J. of Gene. Microbiol., 134, 1109-1116, (1988).

Rajab A., "Modélisation et conduite automatique de la fermentation de *Saccharomyces cerevisiae* .", Thesis, INPL, France (1986).

Ramos-Jeunehomme C., De Keyser L., Massheine C.A., "Formation de substances aromatiques et cinétiques d'absorption des acides aminés du moût", Proc. Eur. Brew. conv., 505-520, (1979).

Roels J.A., "Energetics and kinetics in biotechnology - Macroscopic theory, and microbial growth and product formation", Ch.3, Elsevier Biomedical Press., 23-73, (1983).

Roels J.A., "The application of macroscopic principles to microbial metabolism", Biochemical Engineering II, Ann. N.Y. Acad. Sci., Constantinides A., Veith W.R., Venkatasubramanian K. ed., 113-134, (1981).

Rose D.J., "Yeast for molasses alcohol", Process Biochemistry, 10-12, (1976).

Savageau M.A., Voit E.O., "Power-law approach to modelling biological systems: I Theory; II Application to ethanol production; III Methods of analysis", J. ferment. Technol., 60, 3, 221-241, (1982).

Sonnleitner B., Käppeli O., "Growth of *Saccharomyces cerevisiae* is controlled by its limited respiratory capacity : Formulation and verification of hypothesis", Biotechnol. Bioeng., 28, 927-237, (1986).

Shacham M., "Comparing software for the solutions of nonlinear algebraic equations arising in chemical engineering", Computer and chemical engineering, 9, 2, 103-112, (1985).

Tsai S.P., Lee Y.H., "Application of Gibbs' rule and a simple pathway method to microbial stoichiometry", Biotechnology progress, 4, 2, 82-88, 1988.

Vitolo M., Vairo M.L.R., Borzani W., "Invertase activity of intact cells of *saccharomyces cerevisiae* growing on sugar cane molasses : I Steady-state continuous culture tests." Biotechnol. Bioeng., 27, 1229-1235, (1985).

Chapitre n°4.

Cejka A., "Preparation of media", 633-638, Biotechnology, vol.2, Ch.26 ed Rhem h.j., Reed G., Verlagsge-sellschaft V.C.H., (1985).

Daubas B., Pascal F., Dagot C., Pingaud H., Corriou J.-P., Engasser J.-M., "Dynamic simulation of an industrial fed-batch alcoholic workshop", ESCAP 2, Toulouse, France, 5-7 Octobre, (1992).

de Miniac M., "Utilisation des levures en fermentation alcoolique industrielle", Ch.5, biotechnologie des levures, Larpent J.-P., Masson, 335-370, (1991).

Mc Ginnis R.A., Ch.2, "the sugar beet and chemistry", 17-63, beet sugar technology 3ed, beet sugar devel-opement foundation, (1982).

Mc Ginnis R.A., Ch 19 "by-products molasses", 617-625, beet sugar technology 3ed, beet sugar devel-opement foundation, (1982).

Mc Ginnis R.A., "exhaustion of beet molasses", Sugar technology reviews, 5, 155-287, (1978).

Meyer M., Pingaud H., Dagot C., Dussap C.G., "Numerical simulation of an alcohol plant using flow-sheeting program: application of data reconciliation method", meeting EFCE, Oviedo, Spain, (1990).

Meyer M., Pingaud H., Enjalbert M., "An investigation in food process simulation using data reconciliation", ESCAP 2, Toulouse, France, 5-7 Octobre, (1992).

Pascal F., Dagot C., Corriou J.-P., Engasser J.-M., Pingaud H., "Mechanistic unstructured model as a powerful tool for biochemical process simulation", fourth Chemical Engineering World Congress, Karlsruhe, Germany, 17-21 june, (1991).

Pascal F., Dagot C., Corriou J.-P., Engasser J.-M., "Modélisation et simulation d'un atelier industriel de fermentation alcoolique sur mélasse", troisième Congrès de génie des Procédés, Compiègne, France, 4-6 septembre, (1991).

Westerberg A.W., Hutchison H.P., Motard R.L., Winter P., "Degree of freedom in a flowsheet" , Ch.5, in "Process Flowsheeting", 113-129, (1979).

Chapitre n°5.

Abrardi V., Rovero G., Sicardi S., Baldi G. and Conti R., "Sparged vessels agitated by multiturbines", B.H.R.A. 6th Eurp. Conf. on mixing, 329-336, (1988).

Akita K., Yoshida F., "Gas holdup and volumetric mass transfert coefficient in bubble columns", Ind. Eng. Chem. Process Des., 12, 76-80, (1973).

Alper E., Deckwer W.-D., Danckwerts P.V., "Comparison of effective interfacial areas with the actual contact area for gas absorption in stirred cell", Chem. Eng. Sci., 35, 1263-1268, (1980).

Alper E., Wichtendhal B., Deckwer W.-D., "Gas absorption mechanism in catalytic slurry reactors", Chem. Eng. Sci., 35, 217-222, (1980).

Brauer H., "Stirred vessel reactors", in Biotechnology, Ch.19, Vol 2, fundamental of biochemical engineering, Vol.2, ed Brauer H., Rhem H.J., Reed G. ed., 395-444, (1984).

Beenacker A.A.C.M., Van Swaaij W.P.M., "Slurry reactors, fundamentals and applications", in chemical reactor design and technology, Hugo de Lasa ed., M. Nijhoff Publishers, 411-461, (1986).

Belfares L., "Etude par simulation de l'extrapolation de stratégies de commande de fermenteurs multiturbines industriels", Thèse INPL, (1991).

Blanch H.W., Bhavaraju S.M., "Non-Newtonian fermentation broth: Rheology and mass transfer", Biotechnol. Bioeng. 23, 745-790, (1976).

Botton R., Cosserat D., Charpentier J.C., "Operation zone and scale up of mechanically stirred gas-liquid reactors", Chem. Eng. Sci., 35, 82-89, (1980).

Calderbank P.H., Moo-Young M., "The continuous phase heat and mass- transfert properties of dispersions", Chem. Eng. Sci., 16, 39-54, (1961).

- Cullinan H.T. Jr., "Prediction of multicomponent diffusion coefficients", *Can. J. Chem. Eng.*, 45, 377-381, (1967).
- Cullinan H.T. Jr., "Variation of liquid diffusion coefficients with composition", *Eng. and Educ. Comm. Fundamentals*, 9, 1, 84-93, (1970).
- Deckwer W.-D., "Design and simulation of bubble column reactors", in *chemical reactor design and technology*, Hugo de Lasa ed., 411-461, M.Nijhoff Publishers, (1986).
- Denk V., Stern R., "Beitrag zur Kenntnis der Bewegungsvorgänge während der Gärung in zylindrokonischen Gärtanks", *Brauwissenschaft*, 32,9,253-262, (1979).
- Dodd P.W., Pandit A.B., Davidson J.F., "Bubble size distribution generated by perforated baffle plates in large fermentors", *B.H.R.A. 2nd International Conf. on bioreactor fluid dynamics*, G2, 319 -335, Ed. R King, elsever, (1988).
- Griot M., Saner U., Heinzle E, Dunn I.J., Bourne J.R., " Experience with an oxygen-sensitive culture for fermenter scale-up", *B.H.R.A. 2nd International Conf. on bioreactor fluid dynamics*, A2, pp 17 -35, Ed. R. King, elsever, (1988).
- Grace J. R., Wairegi T., "Gaz-liquid flow, properties and characteristics of drops and bubbles", in *Encyclopedia of fluid mechanics*, Ch.3, vol.3, 43-88, N.P. Chermisinoff ed, (1986).
- Grunberg L., Nissan A.H., "Mixture law for viscosity", *Nature*, 164, 799, (1949).
- Hayduk W. et Minhas B.S., "Correlation for prediction of molecular diffusivities in liquids", *Can. Eng. J.*, 60, 295, (1982).
- Heigen J.T., Van't Riet, "Mass transfer, mixing and heat transfer phenomena in low viscous bubble column reactors", 11th European conference on mixing, B.H.R.A., fluid engineering, paper F2, 125-224, (1982).
- Hughmark G.A., "Holdup and mass transfer in bubble columns", *Ind. Eng. Chem. Process Des.*, 6, 218, (1962).
- Iordache O.M., Muntean O.I., "Stochastic approach to the hydrodynamic of gas-liquid dispersion", *Ind. Eng. Fundam.*,20, 204-207, (1981).
- Joshi J.B., Pandit A.B., Raghav Rao K.S.M.S., "Axial mixing in multiphase sparged contactor", in *Encyclopedia of fluid mechanics*, Ch.38, vol.3, 908-966, N.P.Chermisinoff ed, (1986).
- Joshi J.B., Pandit A.B., Sharma M.M., "Mechanically agitated gas-liquid reactor", *Chem. Eng. Sci.*, 37, 6, 813-844, (1982).
- Kawase Y, Moo-Young M., "Mathematical models for design of bioreactors: Applications of Kolmogoroff's theory turbulence", *The Chem. Eng. J.*, 43, B19-B4, (1990).
- Knudsen F.B., "Tank hydraulics", *M.B.A.A.*, 15,3, 132-139, (1978).
- Kossen N.W.F., Oosterhuis N.M.G., "Modelling and scaling-up of bioreactors", *Adv. in Bioengineering*, Ch.24, 571-605, springer verlag, (1984).

Kudrewizki F., Rabe P., "Hydrodynamics and gas absorption in gassed stirred tanks in presence of tensids", Chem Eng. Sci, 42, 8, 1939-1944, (1987).

Kumar R., Kuloor N.R., "The formation of bubbles and drops", Advances in chemical engineering, 8, 255-368, (1970).

Laine J., Soöderman J., "Design of gas-liquid mixing sytems", B.H.R.A. 6th Eurp. Conf.on mixing, 305-312, (1988).

Lee J.C., K.J. Tynan, "Antifoams and their effects on coalescence between protein-stabilised bubbles", B.H.R.A. 2nd International Conf. on bioreactor fluid dynamics, G4, 353 -377, Ed. R King, elsever, (1988).

Leveau J.-Y., Bouix M., "bioengénierie", Biotechnologie, Ch.4, 233-300, TEC DOC, ed. Scriban R, (1984).

Marrucci G., "A theory of coalescence", Chem. Eng. Sci., 24, 975-985, (1969).

Merchuk J.C., "Further considerations on the enhancement factor for oxygen absorption into fermentation broth", Biotechnol. Bioeng., 29, 1885-1889, (1977).

Mesler R., "bubble nucleation", in Encyclopedia of fluid mechanics, Ch.7, vol.3, 121-129, N.P.Cheremisinoff ed, (1986).

Michel B.J. et Miller S.A., "Power requirements of gas-liquid agitated reactors", A.I.Che.J., 8, 3, 262-266, (1968).

Miller D.G., "Application of irreversible thermodynamics to electrolyte solutions: I determination of ionic transport processes in binary electrolyte systems.", J. Phys. Chem. 70, 2639,(1966).

Miller D.G., " Application of irreversible thermodynamics to electrolyte solution: II ionic coefficients for isothermal vector transport processes in ternary systems.", J. Phys. Chem., 71, 616, (1967).

Moser A., "Reactions and mass transfer interaction in microbial systems", Adv. in Bioengineering, Ch.17, 356-367, springer verlag, (1984).

Nakanishi K., "Prediction of diffusion coefficient of non electrolytes in dilute solution based on generalized Harmon-Stockes plot", Ind. Eng. Chem. Fundam., 17, 253, (1982).

Ninow, A. W., Wisdom D.J., Middleton J.C., "The effect of scale and geometry on flooding, recirculation, and power in gassed stirred vessels", B.H.R.A., paper F1, 2nd Europ. Conf. on Mixing, 1-16, (1977).

Nishikawa M., Nakamura M., Yagi H., Hashimoto K, "Gas absorption in aerated mixing vessels", J. of Chem .Eng. of Japan, 14, 3, 219-226, (1981).

Oyevaar M.H., Westerterp K.R., "The use of the chemical method for the determination of interfacial areas in gas-liquid contactors", Chem. Eng. Sci., 44, 11, 691-2701, (1989).

Perkins L.R., Geankophis C.J., "Molecular diffusion in ternary system with the diffusion component dilute", Chem. Eng. Sci., 24, 1035, (1969).

Reid R.C., Prausnitz, J.M., Poling B.E., "Viscosity", The properties of gases and liquids, Ch.9, 389-490, 4th edition, Mac Graw-Hill, NY, (1986).

- Reid R.C., Prausnitz J.M., Poling B.E., "Diffusion coefficients", The properties of gases and liquids, Ch.11, 577-631, 4th edition, Mac Graw- Hill, NY, (1986).
- Renger R.S., Luyben K.Ch.A; M., "Fluid dynamics of beer fermentation", B.H.R.A. 2nd International Conf. on bioreactor fluid dynamics, F2, 277-289, Ed. R. King, elsever, (1988).
- Renwatkar V.B., Joshi J.B., "Effect of impeller design on liquid phase mixing in mechanically agitated reactors", Chem. Eng. Comm., 102, 1-33, (1991).
- Shaflein R.W., Russel T.W., "Two-phase reactor design. tank type reactors", Ind. Eng. Chem., 60, 5, 12-27, (1968).
- Shah Y.T., Kelkar B.G., Godbole S.P., Deckwer W.-D., "Design parameters estimations for bubble column reactors", AIChEJ., 28, 3, 353-379, (1982).
- Siddigi, M.A. and K. Lucas, "Correlation for prediction of diffusion in liquids", Can. Chem. Eng., 66, 839-840, (1986).
- Sobotka M., Prokop A., "Enhancement factor of oxygen absorption into glucose solution in presence of glucose oxidase in mechanically agitated gas-liquid dispersion", Chem. Eng. Sci., 29, 637-638, (1974).
- Takahashi M., Kobayashi Y., Takenchl H., "Diffusion coefficients and solubilities of carbon dioxide in binary mixed solvents", J. Chem. Eng. data 27, 328-331, (1982).
- Trambouze P., Van Landeghem H., Wauquier J.-P., "Données expérimentales et corrélations pour les réacteurs gaz-liquide", in Les réacteur chimiques, I.F.P., Science et technique du pétrole, technip édition, Ch.8, 269-319, (1984).
- Van Landeghem H. , "Multiphase reactors: mass transfer and modelling", Chem. Eng. Sci., 35, 1912-1949, (1980).
- Smith J.M., Van't Riet K., Middleton J.C., "Scale-up of agitated gas-liquid reactors for mass transfer", 2nd Europ. Conf. on mixing, paper F4, 51-66, (1977).
- Vignes A., "Diffusion in binary solutions", Ind. Eng. Chem. Fundam., 5, 189-199, (1966).
- Villermaux J., "Macro and micromixing phenomena in chemical reactors", chemical reactor design and technology, Hugo de Lasa ed., 191-244, M. Nijhoff Publishers, (1986).
- Viswanathan K., "Flow paterns in bubble column", in Encyclopedia of fluid mechanics, Ch.38, vol.3 , 1180-1215, N.P.Cheremisinoff ed, (1986).
- Webb S.W., Rowe D.S., "Modelling techniques for dispersed multiphase flows", Encyclopedia of fluid mechanics, Ch.31, vol.3, 908-966, N.P.Cheremisinoff ed, (1986).
- Wendt R.P., "The estimation of diffusion coefficients for ternary systems of strong and weak electrolytes", J. Phys. Chem., 69, 1227, (1965).
- Yagi H., Yoshida F., "Enhancement factor for oxygen absorption into broth", Biotechnol. Bioeng., 27, 1083-1098, (1975).

Chapitre n°6.

Trambouze P., "Reactor scaleup methodology.", Chem. Eng. Progress, 23-31, (1990).

Kaibel G., Mayer H.-H., Seid B., "Reactions in distillation columns.", Ger. Chem. Eng., 2, 180-187, (1979).

Krishnamurthy R., Taylor R., "A nonequilibrium stage model of multicomponent separation processes.", AIChE J., 31, 3, 449-465, (1985).

Juvekar V.A., Sharma M.M., "Some aspects of process design of gas/liquid reactors.", Trans. Inst. Chem. Engrs, 55, 77-92, (1977).

Knudsen F.B., "Tank hydraulics.", M.B.A.A. Technical Quarterly, 15, 3, 132-139, (1978).

Kossen N.W.F., Oosterhuis N.M.G., "Modelling and scaling-up of bioreactors", Adv. in Bioengineering, Ch.24, 571-605, springer verlag, (1984).

Westerberg A.W., Hutchison H.P., Motard R.L., Winter P., "Degree of freedom in a flowsheet" , Ch.5, in "Process Flowsheeting", 113-129, (1979).

Conclusion générale

Meyer M., Pingaud H., Enjalbert M., "An investigation in food process simulation using data reconciliation", ESCAP 2, Toulouse, France, 5-7 Octobre, (1992).

Garrido-Sanchez L., Kallel H., Fonteix C., Engasser J.M., "Système expert pour la modélisation automatique de bioprocédés.", troisième Congrès de génie des Procédés, Compiègne, France, 4-6 septembre, (1991).

Annexes.

Annexe n°1

Méthodes de résolution des systèmes d'équations algébriques non linéaires utilisés dans les programmes de "flowsheeting".

Formule itérative générale

$$f(X) = X - g(X) = 0$$

δx^k solution du système linéaire

$$x^{k+1} = x^k + \alpha^k \delta x^k \text{ et } M^k \delta^k = -f(x^k)$$

1 - Méthode de Newton-Raphson

$M^k = J^k$, J = matrice Jacobienne d'éléments $\{\frac{\partial f_i}{\partial x_j}\}$

2 - Méthode Quasi-linéaire

M^k = approximation matrice Jacobienne

Cas particuliers : M^k = matrice diagonale d'éléments $\frac{1}{(1-q_i)}$

avec: $x_i^{k+1} = q_i x_i^k (1 - q_i) g_i^k$

2.1. Méthode de substitution successive

$M = I$, ($q_i = 0$) I = matrice identité et $x_i^{k+1} = g_i(x^k)$

2.2. Méthode de Wegstein (1958)

$$q_i = \frac{g_i(x^{k+1}) - g_i(x^k)}{f_i(x^k) - f_i(x^{k-1})}$$

2.3. Méthode de la valeur propre dominante (Orbach et Crowe, 1971)

$q_i = \frac{\lambda}{\lambda - 1}$, λ = estimation de la valeur propre maximale de la matrice d'itération*

3 - Méthode de Quasi-Newton

M^k = approximation de la matrice jacobienne (ou de son inverse)

obtenue à partir de la relation des sécantes généralisés

3.1. Méthode de Broyden (1965)

$$M^{k+1} = M^k + (\Delta f^k - M^k p^k) \frac{(p^k)^T}{(p^k)^T (p^k)}$$

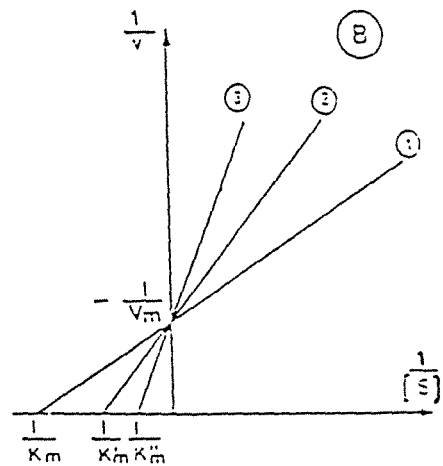
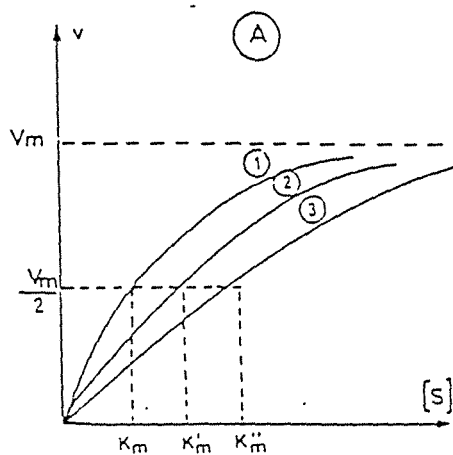
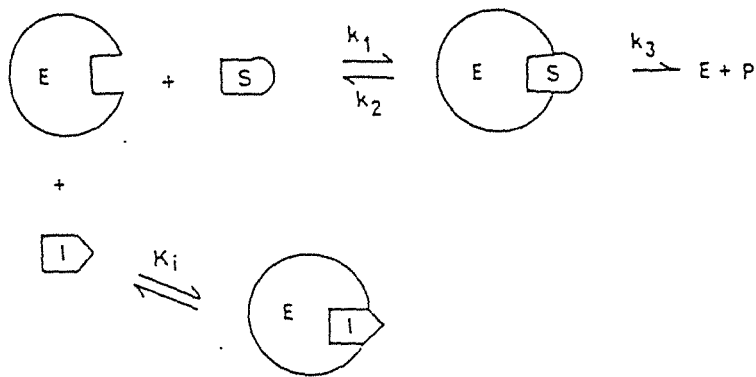
avec, $\Delta f^k = f(x^{k+1}) - f(x^k)$ et $p^k = x^{k+1} - x^k$

3.2. Méthode de Schubert (1970)

Formulation de la méthode de Broyden spécialement adaptée aux matrices creuses

* La matrice d'itération Q est la matrice d'éléments $\{\frac{\partial q_i}{\partial x_j}\}$ qui est reliée à la matrice Jacobienne par la relation : $J = I - Q$ (Joulia X., 1987).

Annexe n°2.

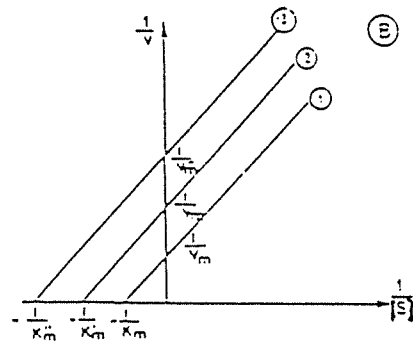
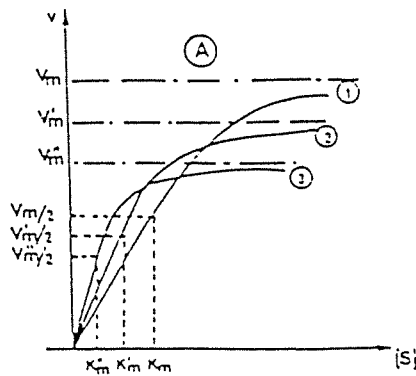
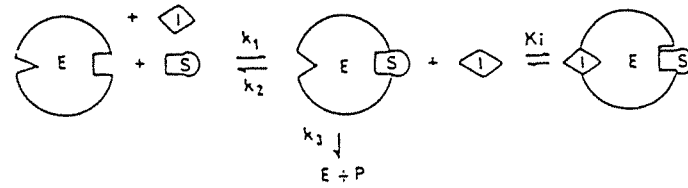


Inhibition compétitive : A - Représentation selon MICHAELIS-MENTEN
 B - Représentation selon LINEWEAVER et BURK

- 1) sans inhibiteur : $[I] = 0$
- 2) avec inhibiteur à la concentration $[I]$
- 3) avec inhibiteur à la concentration $[I_2] > [I]$

Richard H., (1984).

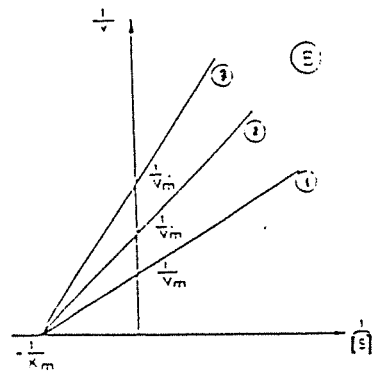
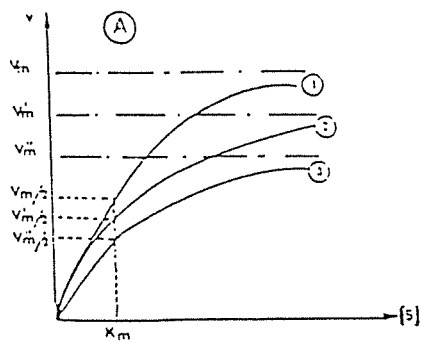
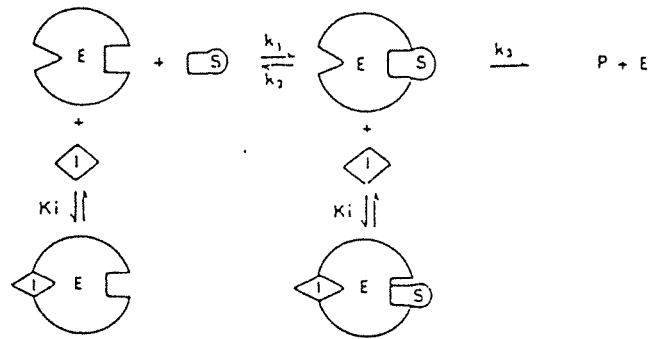
Annexe n°3.



Inhibition incompétitive : A - Représentation selon MICHAELIS-MENTEN
 B - Représentation selon LINEWEAVER et BURK
 1) sans inhibiteur : $[I] = 0$
 2) avec inhibiteur à la concentration $[I_1]$
 3) avec inhibiteur à la concentration $[I_2] > [I_1]$

Richard H., (1984).

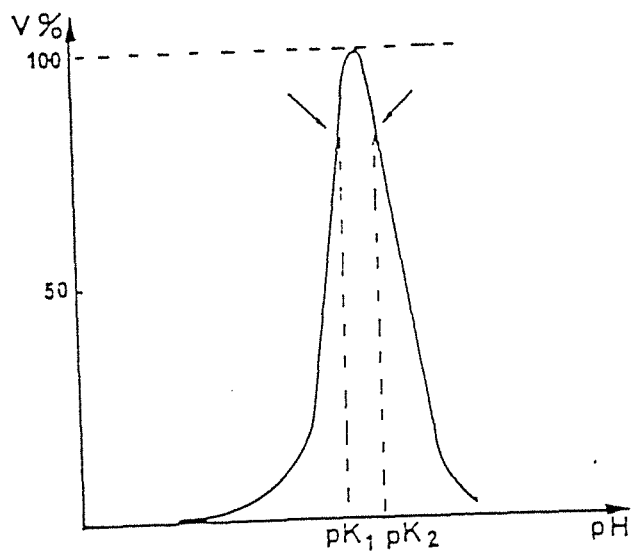
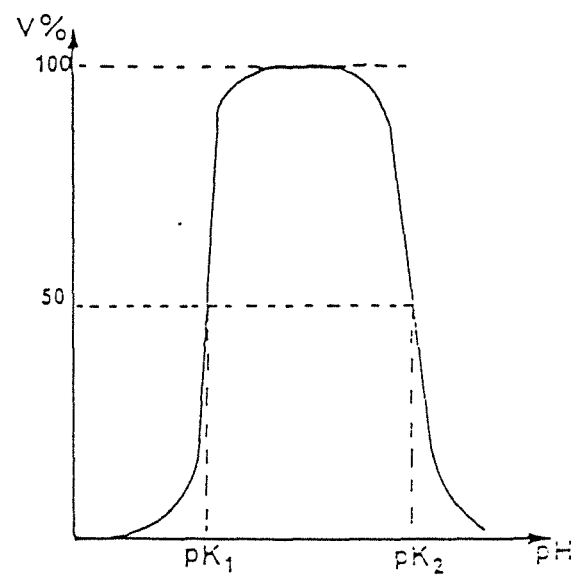
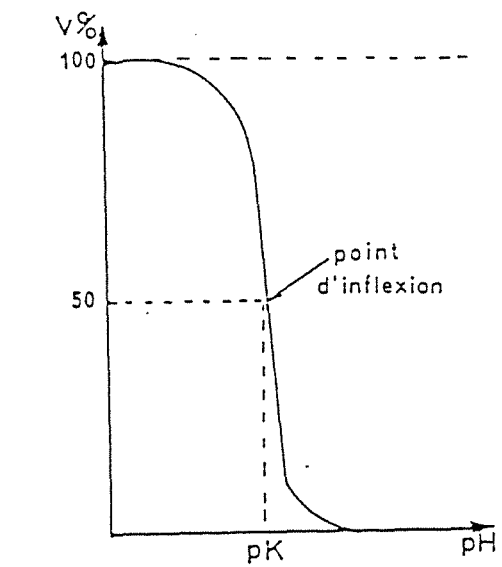
Annexe n°4.



Inhibition non compétitive : A - Représentation selon MICHAELIS-MENTEN
 E - Représentation selon LINEWEAVER et BURK
 1) sans inhibiteur $[I] = 0$
 2) avec inhibiteur à la concentration $[I_1]$
 3) avec inhibiteur à la concentration $[I_2] > [I_1]$

Richard H., (1984).

Annexe n°5.



influence du pH

Richard H., (1984).

Annexe n°6.

Nom de l'effet			
Effet pasteur	Inhibition de la glycolyse par l'oxygène	En aérobiose la production d'ATP est supérieure à celle en anaérobiose. La métabolisation du glucose est plus lente.	Régulation au niveau de la phosphofructokinase due au changement de la concentration en phosphate
Effet Kluyver	Compétition entre la respiration et la fermentation en présence d'oxygène	Incapacité de fermenter des dissaccharides en aérobiose avec incorporation lente des glucides et intensité respiratoire élevée.	N'existe pas chez <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Effet Custers	Fermentation plus rapide du glucose en aérobiose qu'en anaérobiose	Régulation au niveau du NADH	Chez <i>Brettanomyces</i>
Induction et activation	Induction de certaines enzymes	Induction des systèmes de transport (Glucose perméase). Induction de la perméase des acides aminés et inactivation de celle-ci en absence de sucres.	Faible ou nulle chez <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .
Effet Crabtree	Répression catabolique. Les fortes concentrations en glucose inhibent la respiration cellulaire	Reprime la transcription de systèmes protéiques. Une augmentation de 2 g/l à 10 g/l de glucose fait baisser la concentration en lipides	Vrai également pour le fructose. Amplitude variable de 100 avec les enzymes gluconeogénique et du cycle du glyoxylate à 3 à 10 avec les enzymes mitochondriaux
Inactivation catabolique	Inactivation d'enzymes membranaires	Disparition de la "galactozymase" après addition de glucose sur milieu galactose	Lorsque les cellules croissent sur sources non repressives de carbone

Annexe n°7.

Produits intermédiaires et terminaux

Ethanol	Permet l'élimination du NADH+H ⁺ formé par l'oxydation de la glyceraldéhyde-3-phosphate. Le pyruvate est decarboxylé en acétaldéhyde par la pyruvate decarboxylase. L'acétaldéhyde est réduite en éthanol par l'alcool déshydrogénase (3 isoenzymes) avec production de NAD ⁺ . Peut être reconsommé en donnant de l'acide acétique	Produit en aérobiose et anaérobiose. Pas de synthèse d'ATP. Phénomènes d'inhibition
Glycérol **	Réduction de la dihydroxyacetone phosphate grâce à la glycérol 3 phosphate déshydrogénase à NAD en glycérol 3 phosphate hydrolysé par une phosphatase	Effet osmorégulateur Effecteur allostérique de l'alcool déshydrogénase. Augmente l'affinité pour l'éthanol et le NAD et diminue celle pour le NADH (favorise la reoxydation de l'éthanol) Principal soluté accumulé en réponse à la salinité.
Succinate**	Originaire de l'acide glutamique décarboxylé et desaminé.	Production inhibée par les composés qui dépolarisent la membrane plasmique (K ⁺ ...)
Acide acétique *	Produit par la reconsommation de l'éthanol ou par une aldéhyde déshydrogénase.	Toxique à pH acide Effet intracellulaire
CO2	Produit en quantité équimolaire avec l'éthanol En phase fermentaire le quotient respiratoire est supérieur à 1, en respiration il est voisin de 0,5	Peut être consommé par la voie anaplérotique Toxicité à forte concentration dans le milieu
glycogène	Accumulation du glycogène à la fin de la phase de croissance et consommation pendant la phase d'adaptation à l'éthanol	Substance de réserve la plus importante
Trehalose	Régulation du métabolisme identique	Substance de réserve
Aldéhydes et esters	Corrélation entre la quantité de levures produites et la concentrations finales en ester et en isobutanol dans la bière Corrélation avec la production de levures et la production de α -acétoacétate et du diacétyle	Effet toxique de l'acétaldéhyde par réaction du groupe aldéhyde avec les acides aminés cellulaires par la formation de bases de Schiff
Alcools supérieurs	Essentiellement dus à la voie d'Erlich avec les acides aminés exogènes)	La variation de leur taux provient de la sélection de leur transport à travers la membrane ou de leur concentration dans le milieu

* relation industrielle de OURA : 1 mole de glycérol = 2 moles d'acétate et 5 moles de succinate

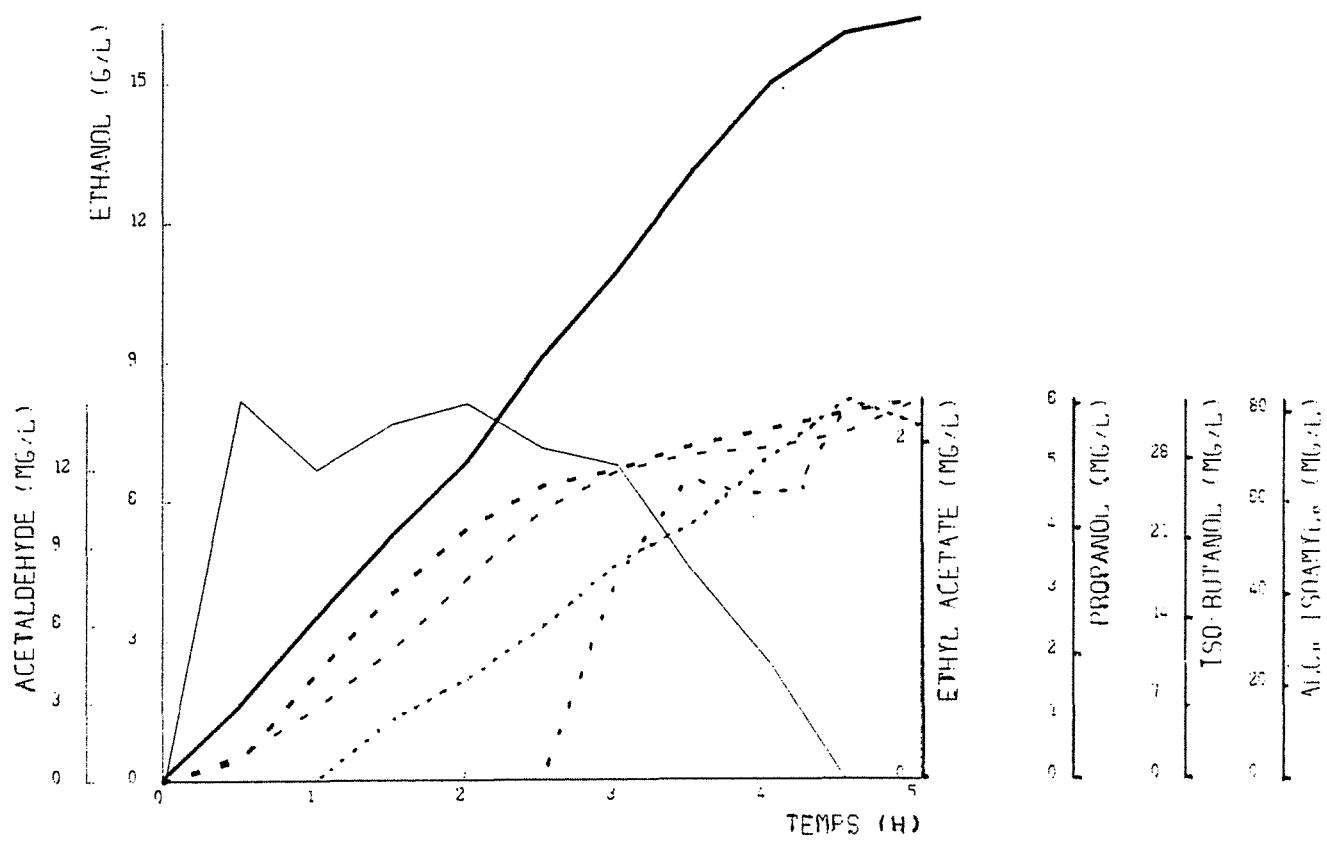
** 3 à 5 % de pertes de sucres fermentescibles

Annexe n°8.

DOSAGE DES ACIDES AMINES

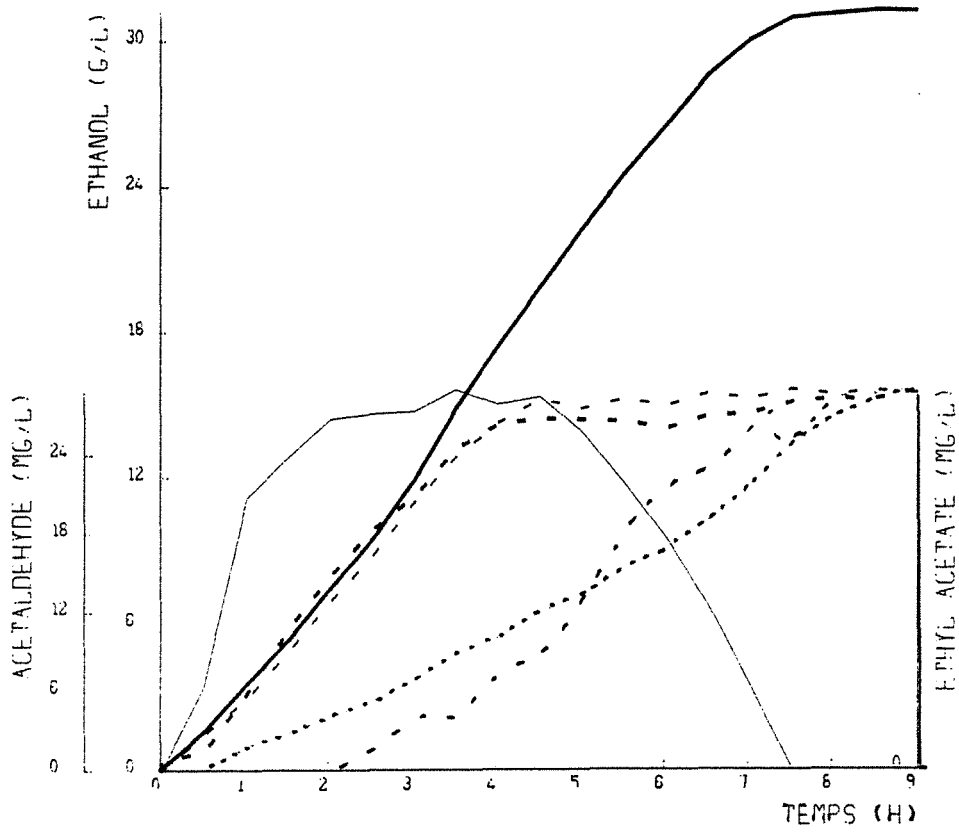
Acides aminés $\mu\text{m/l}$	Jus vert	Mélasses 89	Mélasses pure	Moût léger 90	Moût lourd 90
Alanine	804	7690	24993	1250	8331
Arginine	160	360	1170	59	390
Asparagine	900				
Aspartate	1100	10500	34125	1706	11375
GABA	1530	9000	29250	1463	9750
Cystine	281	1140	3705	185	1235
Glutamine	5585	8630	28048	1402	9349
Glutamate	1040	1860	6045	302	2015
Glycine	119	4280	13910	696	4637
Histidine	134				
Isoleucine	458	4820	15665	783	5222
Leucine	398	4140	13455	673	4485
Lysine	68	340	1105	55	368
Méthionine	51	370	1203	60	401
Phénylalanine	43	410	1333	67	444
Proline	124	1290	4193	210	1398
Thrénine	1028	6090	19793	990	6598
Tryptophane	315	1290	4193	210	1398
Tyrosine	303	4200	13650	683	4550
Valine	425	2600	8450	423	2817

Annexe n°9.

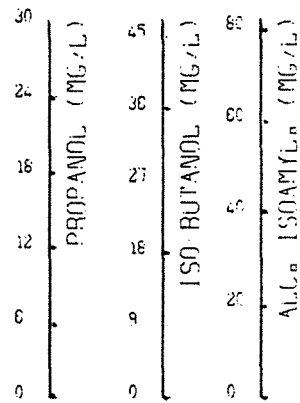


FALA VERT MELASSE 5%V/V

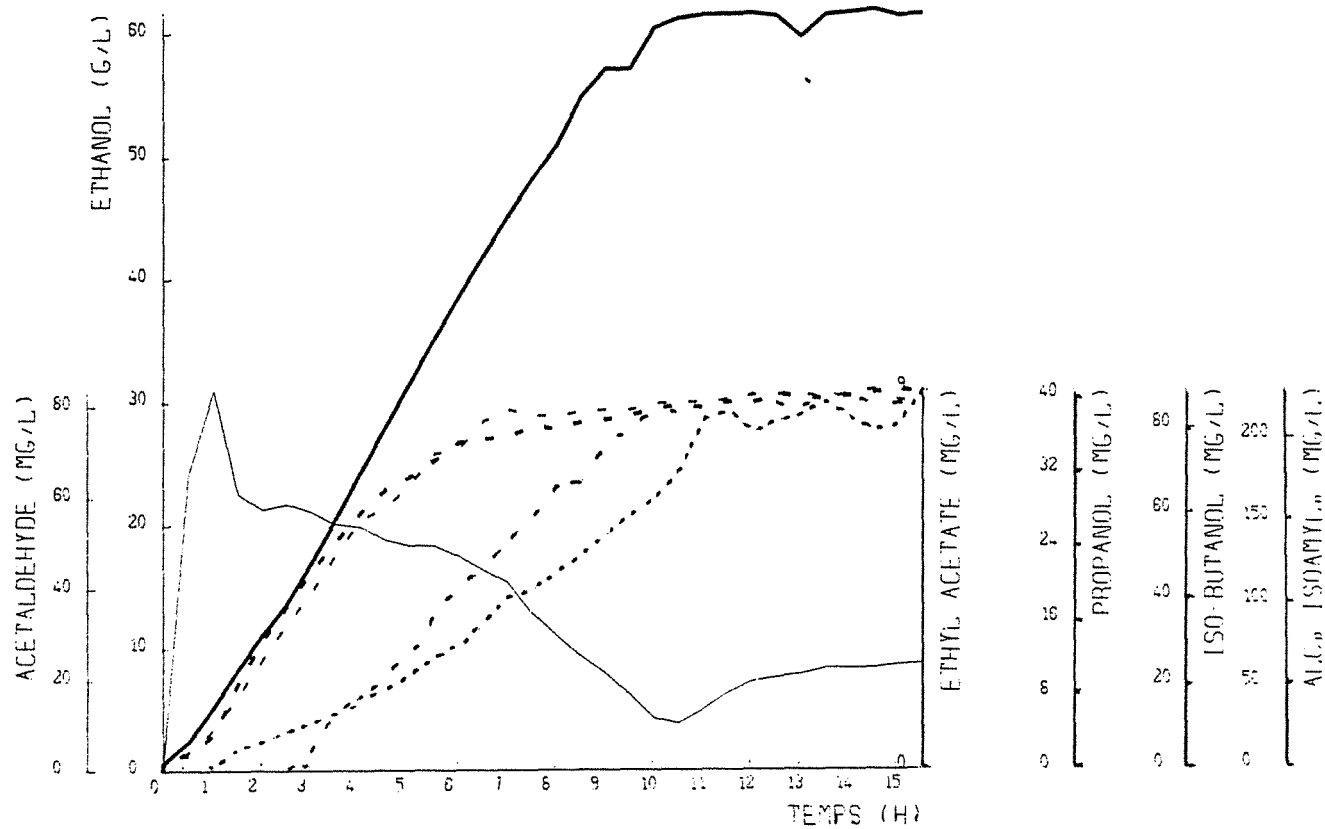
Annexe n°10.



FALA VERTE MELASSE 10% V/V



Annexe n°11.



FALA VERT MELASSE 15%V/V

Annexe n°12.

C, H, N, ash content and elemental composition formula (for ash-free biomass) of *Saccharomyces cerevisiae* CBS 426 grown at 25°C in a glucose-limited chemostat at different growth rates, under aerobic and anaerobic conditions [12]

D (h ⁻¹)	C (%)	H (%)	N (%)	O (%)	Ash (%)	Elemental formula	γ'_x NH ₃
Aerobic growth							
0.073	43.72	7.30	8.81		5.30	CH _{2.0} O _{0.60} N _{0.17}	4.29
0.080	43.61	6.59	8.84		13.79	CH _{1.82} O _{0.47} N _{0.17}	4.37
0.080	43.68	6.63	8.36		7.30	CH _{1.82} O _{0.58} N _{0.16}	4.18
0.102	44.65	7.06	8.68		8.48	CH _{1.89} O _{0.52} N _{0.17}	4.34
0.103	42.88	6.73	8.70		3.56	CH _{1.89} O _{0.67} N _{0.17}	4.04
0.115	46.63	6.12	8.53		8.73	CH _{1.57} O _{0.48} N _{0.16}	4.13
0.144	43.82	7.83	8.16		3.10	CH _{2.15} O _{0.63} N _{0.16}	4.41
0.144	44.53	7.24	8.65		8.58	CH _{1.95} O _{0.52} N _{0.17}	4.40
0.165	43.15	6.68	6.23		7.88	CH _{1.86} O _{0.63} N _{0.12}	4.24
0.200	44.73	5.91	8.80		13.04	CH _{1.59} O _{0.46} N _{0.17}	4.16
0.220	42.49	5.86	9.05		11.10	CH _{1.65} O _{0.56} N _{0.18}	3.99
0.255	41.50	6.17	9.30		9.74	CH _{1.78} O _{0.60} N _{0.19}	4.01
0.259	41.33	6.50	9.42		10.39	CH _{1.89} O _{0.59} N _{0.20}	4.11
Average	44 (±1)*	6.7 (±0.6)*	8.6 (±0.8)*		8 (±3)*	CH _{1.83} O _{0.56} N _{0.17}	4.22 (0.15)*
Anaerobic growth							
0.010	41.68	6.41	6.65	40.98	n.d	CH _{1.85} O _{0.74} N _{0.14}	3.95
0.015	43.06	6.42	7.75	n.d	8.47	CH _{1.79} O _{0.60} N _{0.15}	4.14
0.031	42.17	6.96	7.65	n.d	7.54	CH _{1.98} O _{0.63} N _{0.16}	4.24
0.061	43.95	6.71	9.60	n.d	7.68	CH _{1.83} O _{0.55} N _{0.19}	4.16
0.088	43.72	6.90	8.22	n.d	11.18	CH _{1.89} O _{0.51} N _{0.16}	4.39
0.108	44.86	6.72	9.51	n.d	6.05	CH _{1.80} O _{0.55} N _{0.18}	4.16
							4.17 (0.14)*

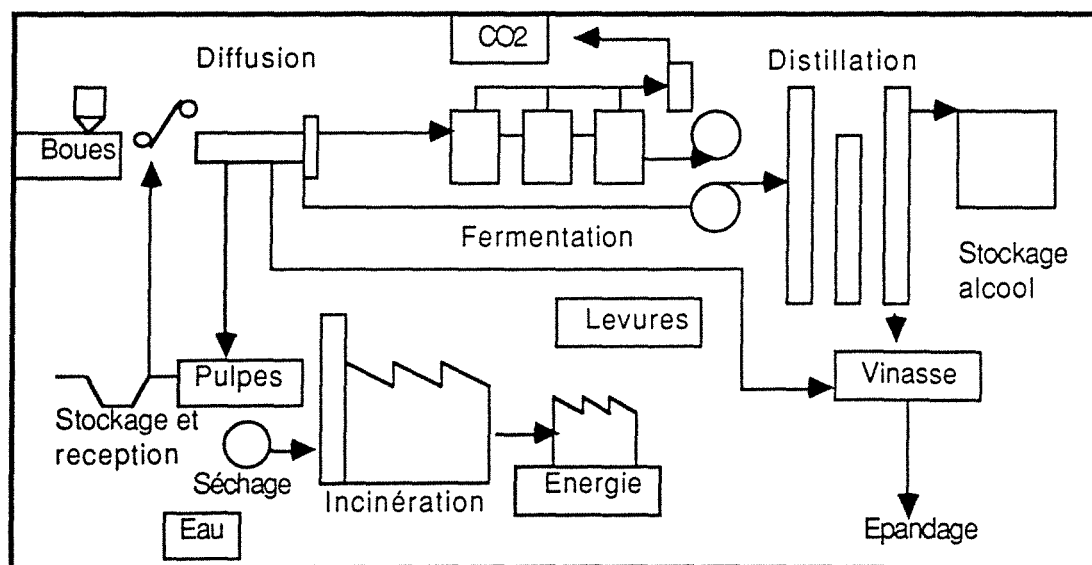
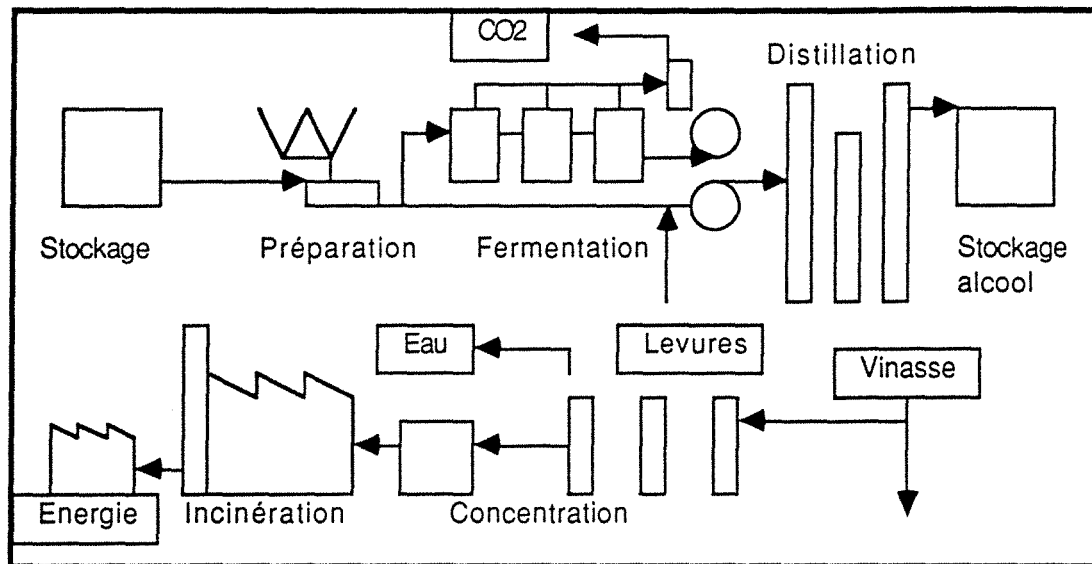
* Value in brackets is the estimate of the standard deviation.

Elemental composition and generalized degrees of reduction of biomass with respect to various nitrogen sources [11]

Organism	Elemental formula	Degree of reduction (γ'_x)		
		NH ₃	HNO ₃	N ₂
<i>Candida utilis</i>	CH _{1.83} O _{0.54} N _{0.10}	4.45	5.25	4.75
<i>Candida utilis</i>	CH _{1.87} O _{0.56} N _{0.20}	4.15	5.75	4.75
<i>Candida utilis</i>	CH _{1.83} O _{0.46} N _{0.19}	4.34	5.86	4.91
<i>Candida utilis</i>	CH _{1.87} O _{0.56} N _{0.20}	4.15	5.75	4.75
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CH _{1.75} O _{0.43} N _{0.22}	4.23	5.99	4.89
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CH _{1.73} O _{0.43} N _{0.24}	4.15	6.07	4.87
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CH _{1.75} O _{0.47} N _{0.17}	4.30	5.66	4.81
<i>Klebsiella aerogenes</i>	CH _{1.73} O _{0.43} N _{0.24}	4.15	6.07	4.87
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CH _{1.64} O _{0.52} N _{0.16}	4.12	5.40	4.60
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CH _{1.83} O _{0.56} N _{0.17}	4.20	5.56	4.71
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CH _{1.81} O _{0.51} N _{0.17}	4.28	5.64	4.79
<i>Paracoccus denitrificans</i>	CH _{1.81} O _{0.51} N _{0.20}	4.19	5.79	4.79
<i>Paracoccus denitrificans</i>	CH _{1.51} O _{0.46} N _{0.19}	4.02	5.54	4.59
<i>Escherichia coli</i>	CH _{1.77} O _{0.49} N _{0.24}	4.07	5.99	4.79
<i>Pseudomonas C₁₂B</i>	CH _{2.00} O _{0.52} N _{0.23}	4.27	6.11	4.96
<i>Aerobacter aerogenes</i>	CH _{1.83} O _{0.55} N _{0.25}	3.98	5.98	4.73
Average	CH _{1.79} O _{0.50} N _{0.20}	4.19	5.78	4.79
		s* = 0.13 (3%)	s = 0.26 (4.5%)	s = 0.10 (2.1%)

* s stands for the standard error of the estimate of γ'_x (in brackets the standard deviation expressed as percentage of the average).

Annexe n°13.



Annexe n°14.

Facteur extérieur	Plage	Optima	Remarques
Température	10° - 65°	35° - 38°	Température relativement élevée favorise l'élimination de l'éthanol et des volatils
pH	2,4 - 8,6	4 - 5	pH acide favorise l'élimination de certains contaminants. Faible variation du pH intracellulaire. Problèmes lorsqu'il y a production d'acides organiques qui pénètrent dans la cellule
Pression osmotique	jusqu'à aw=0,65	milieu initial à 25% de sucre au départ	Cumul de la pression osmotique et de l'éthanol. Effet sur l'excrétion d'éthanol
Milieu	source d'azote Phosphore Soufre Potassium Magnesium calcium Zinc Manganèse Fer Sodium Mo, Bo, Co Cuivre Chlore vitamines Biotine Thiamine PABA riboflavine et nicotinique ergostérol inositol	70 mg/l < NH ₄ > 400mg/l 0,6mM/gMS 0,4% MS 2-3% MS 5% MS 2,5% MS 0,1-0,15mg/gMS 0,03mg/g MS 0,02mg/gMS 0,3 mg/g MS 0,02 mM/gMS 0,02 mg/MS 0,1mM/gMS 0,5 mg/l 0,1-1mg/l 0,5-5mg/l cuve mère 2mg/l	Compétition avec les AA enzymes Méthionine pH intracellulaire Activateur-Protecteur idem glycolyse et vitamines Proteines et régule Zn sites actifs stimulant métabolisme stimulant croissance stimulant glucolyse répartition des charges carboxylation et décarboxy. transamination stérols co-enzymes respiration indispensable pour une fermentation anaérobie
Ethanol	10g/l - 150 g/l	Peut aller jusqu'à 50 à 70 g/l	
O ₂	Anaérobie facultatif	0,0015 mg/l	Une faible aération préserve la souche
CO ₂	Inhibe la fermentation aérobie		

de Miniac M., (1991).

Annexe n°15.

FOUGAL HD K M2

CARACTERISTIQUES COMPAREES FLUIDE/AIR 20°

	FLUIDE	AIR
Poids spécifique à 0°C	1,94	1,29
Poids spécifique à 20°C	1,8	1,2
Débit m³/h	4000	4000
Sébit m³/s	1,11	1,11
Pression statique mm CE à 20°	750	500
Pression totale mm CE à 20°	795	530
Vitesse rotation TR/min	1950	1950
Vitesse maxi TR/min	3100	3100
Puissance absorbée KW 20°	11,3	7,5
Puissance moteur KW/TR/min	18,5/1500	18,5/1500
LP DBC (CETIAT)	91	89

TECHNOLOGIE : - arrangement 1
- Orientation 15

ROUE : à aubes spiralées à haut rendement,
construction inox 316L

ENVELOPPE : soudée, fortement raidie,
construction inox 316L,
pavillon d'aspiration Laiton
réduction de fuites au passage d'arbre par
couvre joint inox
Piquage de vidange en point bas (bobine fileté
1 pouce PdG)

TABOURET : support mécanique, solidaire de l'enveloppe,
acier E 24.2,

MECANIQUE : arbre inox 316L
paliers fonte, soupapes à graisse
transmission trapézoïdale
carter de sécurité

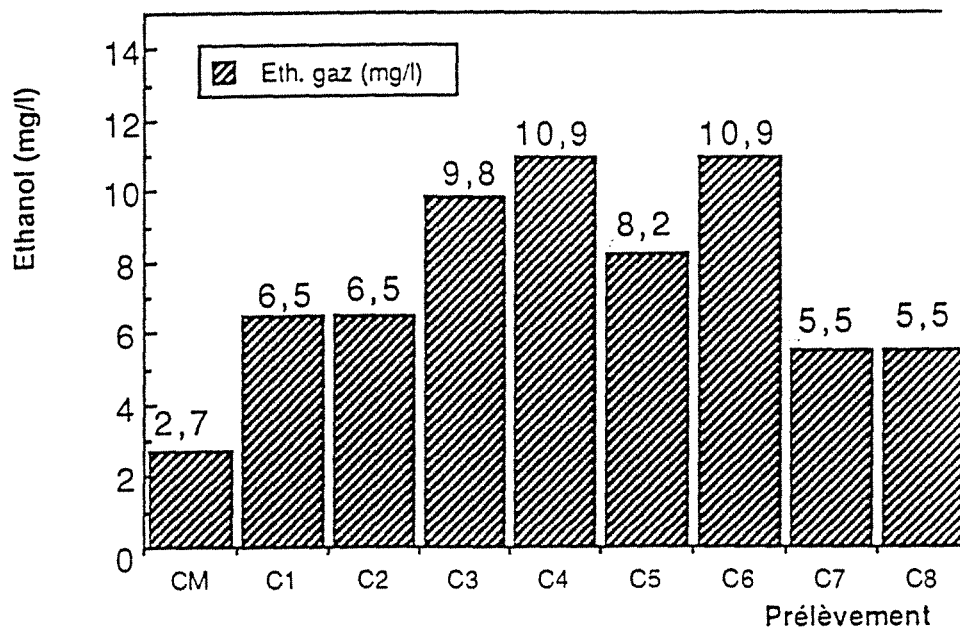
CHASSIS : de liaison moteur/ventilateur

MOTEUR : fonte, B3 IP 55 cl B 380/660V

RENETEMENT : complet, avec moteur : 555 Kg

Annexe n°16.

Ethanol dans la phase gaz



éthanol dans la phase gaz

	Débits m3/h	Ethanol g/m3	Débit et. g/h	Concentration dans l'effluent
cm	218,2	2,7	589,14	
c1	258,3	6,5	1678,95	
c2	238	6,5	1547	
c3	255,5	9,8	2503,9	
c4	125,5	10,9	1367,95	
c5	60,5	8,2	496,1	
c6	30	10,9	327	
c7	30	5,5	165	
c8	30	5,5	165	
			8840,04	22,10 g/l 2,80 °GL
			mesuré	17,00 g/l 2,15 °GL

bilan éthanol dans la phase gaz

Annexe n°17.

	Suivi n°1	Suivi n°2
Volume utile 150 m ³	150 m ³	150 m ³
Taux de remplissage max	92 %	92 %
Taux de pied de cuve	49%	50%
Débits 1	5,32 m ³ /h 1,23 h à 3,58 h	4 m ³ /h 0,63 h à 3,58 h
Débits 2	8,22 m ³ /h 4,75 h à 6,2 h	10,1 m ³ /h 5,17 h à 8,13 h
Débits 3	4,88 m ³ /h 6,82 h à 14,73 h	3,46 m ³ /h 8,6 h à 14,7 h
Temps de coulée	14,75 h	14,75 h
Temps de chute	6 h	11 h

Annexe n°18.

	Continu 1	Continu 2	Semi-continu 1 et 2
Saccharose	Consommation totale du saccharose en CM Charge importante dans les 3 cuves suivantes. Epuisement presque total dans les 4 dernières cuves	Consommation totale du saccharose en CM Montée graduelle en concentration puis épuisement avant la fin de l'alimentation. Les deux dernières cuves ne servent à rien.	Augmentation jusqu'à 60 g/l en coulée puis chute linéairement. Arrêts accidentels détectable. Faible vitesse de consommation mais constante. Mauvais fonctionnement de l'invertase
Glucose	Suit la concentration de saccharose	Suit la concentration de saccharose. Concentrations très importantes (30g/l).	Très faible concentration. Tendance à l'épuisement.
Fructose	Pas dosé	Rapport fructose/glucose = 1,5	Rapport fructose/glucose = 1
Ethanol	Production de 25% du total dans CM. Augmentation progressive dans les cuves suivantes	Faible production (45 g/l final) Mauvais fonctionnement.	Concentration constante malgré la dilution puis augmentation en phase Batch Rapport constant saccharose consommé/éthanol produit
Biomasse	Jusqu'à 30 g/l dans CM puis épuisement par dilution. Pas de croissance dans la cascade	résultats peu fiables. Contamination Forte croissance en CM. Pas de croissance. Rapport mortes/vivantes constant	Bonnes valeurs de biomasse. Baisse de la concentration avec la dilution. Pas de croissance Mort/vivant constant
Autres métabolites	Glycérol < 5g/l. Alcools isobutylique et isoamylique augmentent le long de la cascade (< 0.2 g/l)	Glycérol<5g/l Alcools isobutylique et isoamylique, acétaldehyde et acétate d'éthyl	<1g/l Tendance à l'augmentation des faibles concentrations (<100mg/l)
Azote total	faible alimentation en azote dans CM.Pas de variations	idem continu 1	Augmentation pendant l'alimentation
Ammoniaque	Pas de variations. faible alimentation en CM	Concentration très faible	Dilution pendant l'alimentation. Pas de consommation
Proteines et AA	Idem	Important dans le recyclage (lyse des levures). augmentation due à l'alimentation puis épuisement.	Dispersion des valeurs. tendance à l'augmentation
Anions et cations	Moût lourd plus riche. Pas de variations		
pH	Pas de variations dans la cascade. pH inférieur en CM (influence du recyclage acide et des substrats)	idem continu 1	Augmentation du pH
Acidité	Voisine de 4	Voisine de 3	Augmentation
Matière sèche totale	Suis l'évolution du saccharose.	Relativement constante	Suit la concentration en saccharose modulo celle d'éthanol
Phase gazeuse		Pas d'acétate Augmentation de la teneur en éthanol des cuves 1 à 6 puis chute dans les 2 dernières	Débit de gaz constant (130m3/h). Epuisement très rapide de l'oxygène

Annexe n°19.

Les formes hyperboliques et polynomiales :

Code N°1:

$$\text{MONOd} \quad Q = Q_{\max} \frac{s}{K_s + s}$$

Code N°2:

$$\text{IMONod} \quad Q = Q_{\max} \frac{K_i}{K_i + s}$$

Code N°3:

$$\text{MOSEr} \quad Q = Q_{\max} \frac{s^n}{K_s + s^n}$$

Code N°4:

$$\text{IMOSer} \quad Q = Q_{\max} \frac{K_i}{K_i + s^n}$$

Code N°5:

$$\text{LEVENspiel} \quad Q = Q_{\max} \left(1 - \frac{s}{K_s}\right)$$

Code N°6:

$$\text{LUONg} \quad Q = Q_{\max} \left(1 - \left\{\frac{s}{K_s}\right\}^n\right), n > 0$$

Code N°7:

$$\text{WILKe} \quad Q = Q_{\max} \left(1 - \frac{s}{K_s}\right)^n, n > 0$$

Code N°8:

$$\text{ANDRews} \quad Q = Q_{\max} \frac{s}{K_s + s + \frac{s^2}{K_i}}$$

Les formes exponentielles :

Code N°9:

$$\text{TEISsier} \quad Q = Q_{\max} \left\{ \exp\left(\frac{-s}{K_s}\right) \right\}$$

Code N°10:

$$\text{AIBA} \quad Q = Q_{\max} \left\{ 1 - \exp\left(\frac{-s}{K_i}\right) \right\}$$

Code N°11:

$$\text{EDWARDs} \quad Q = Q_{\max} \left\{ \exp\left(\frac{-s}{K_i}\right) - \exp\left(\frac{-s}{K_s}\right) \right\}$$

Annexe n°20.

ORDRES DE GRANDEUR DES PARAMÈTRES DE TRANSFERT DE MASSE DE DIVERS APPAREILS

	Rétention en liquide ⁽¹⁾ (%)	Rétention en gaz ⁽¹⁾ (%)	k_g (m/s)	k_L (m/s)	Aire interfaciale ⁽²⁾ (m ²)
1) Colonnes à bulles	> 70	2-30	$1.5 \cdot 10^{-2}$	$10^{-4}-5 \cdot 10^{-4}$	100-500
2) Appareils à agitation mécanique	> 70	2-30	$1.5 \cdot 10^{-2}$	$10^{-4}-5 \cdot 10^{-4}$	200-2000
3) Colonnes à plateaux	60-80 10-20 ⁽²⁾	20-40 80-90 ⁽²⁾	$1.5 \cdot 10^{-2}$	$10^{-4}-5 \cdot 10^{-4}$	200-500 25-100 ⁽²⁾
4) Colonnes à garnissage	5-15	50-80	$1.5 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-5}-3 \cdot 10^{-4}$	50-250
5) « Scrubbers »	< 5 ⁽³⁾ < 30 ⁽⁴⁾	> 95 ⁽³⁾ > 70 ⁽⁴⁾	$1.5 \cdot 10^{-2}$	$10^{-4}-5 \cdot 10^{-4}$	25-200

(1) Rapportée à la somme des volumes actifs des deux phases (phase I + phase II).

(2) Rapportée au volume total de la colonne (phase I + phase II + volume occupé par les internes + volumes non actifs).

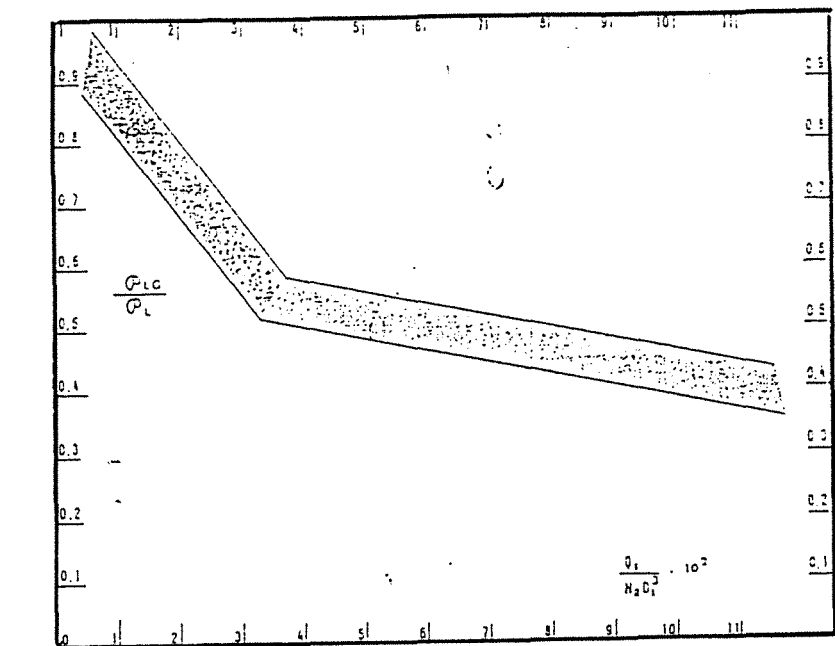
(3) « Scrubber » venturi.

(4) « Scrubber » à pulvérisation.

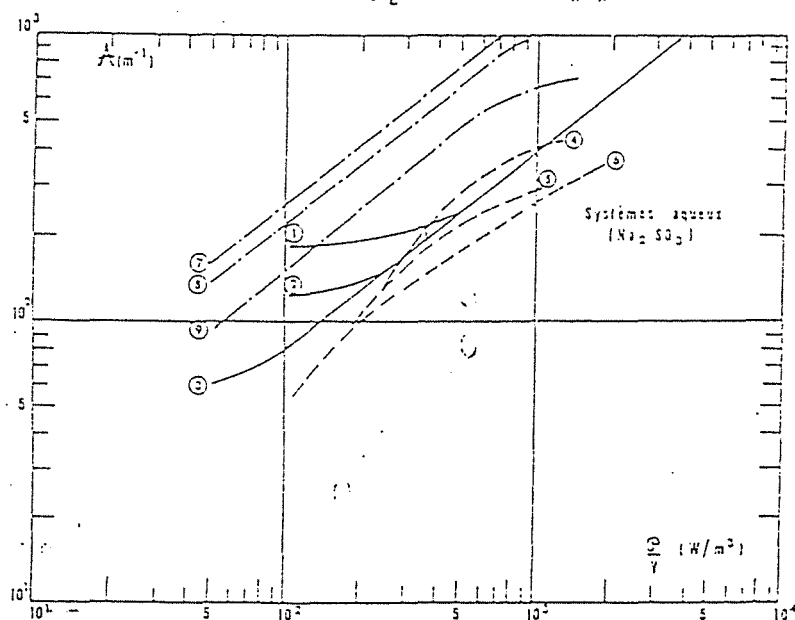
CORRELATIONS POUR LES COLONNES À BULLES

Rétention du gaz (ε_g)	$\frac{\varepsilon_g}{(1-\varepsilon_g)^2} = K \left(\frac{V_{sg} \mu_L}{\sigma} \right) \left(\frac{\rho_L \sigma^3}{g \mu_L^2} \right)^{\frac{1}{24}}$ $K = 0.20$ pour les liquides purs, 0.25 pour les électrolytes $\frac{\varepsilon_g}{(1-\varepsilon_g)^2} = 0.14 \left(\frac{V_{sg} \mu_L}{\sigma} \right) \left(\frac{\rho_L \sigma^3}{g \mu_L^2} \right)^{\frac{1}{24}} \left(\frac{\rho_L}{\rho_L - \rho_g} \right)^{\frac{1.5}{24}} \left(\frac{\rho_L}{\rho_g} \right)^{\frac{1}{12}}$	(YOSHIDA [7]) (3.1) (MERSMANN [5]) (3.2)
Aire interfaciale (a) m ² /m ³ des deux phases	$a \bar{d}_3 = 6 \varepsilon_g$	(3.3)
Diamètre moyen des bulles ($\bar{d}_3$)	$\frac{\bar{d}_3}{D} = 25 \left(\frac{g D^3 \rho_L}{\sigma} \right)^{-0.5} \left(\frac{g D^3 \rho_L^2}{\mu_L^2} \right)^{-0.12} \left(\frac{V_{sg}}{g D} \right)^{-0.12}$ D: diamètre de la colonne; pour $D > 0.5$ m, on prend $D = 0.5$ m	(YOSHIDA [7]) (3.4)
Coefficient de transfert (k_L)	$\frac{k_L \bar{d}_3}{D} = 0.5 \left(\frac{\mu_L}{\rho_L D} \right)^{0.5} \left(\frac{g D^3 \rho_L^2}{\mu_L^2} \right)^{0.12} \left(\frac{g D^3 \rho_L}{\sigma} \right)^{0.175}$ $k_L = 0.31 \left(\frac{g \mu_L}{\rho_L} \right)^{\frac{1}{3}} \left(\frac{g \rho_L}{\mu_L} \right)^{\frac{1}{3}} \quad \bar{d}_3 < 2.5 \text{ mm}$ $k_L = 0.42 \left(\frac{g \mu_L}{\rho_L} \right)^{\frac{1}{3}} \left(\frac{g \rho_L}{\mu_L} \right)^{\frac{1}{3}} \quad \bar{d}_3 > 2.5 \text{ mm}$	(YOSHIDA [8]) (3.5) (CALDERBANK et Moo-Young [26]) (3.6)
Estimation de $k_L a$	$\frac{k_L a \bar{d}_3^2}{D} = 3.31 \left(\frac{\mu_L}{\rho_L D} \right)^{0.33} \left[\bar{d}_3 \rho_L \left(\frac{0.8 V_{sg}}{\varepsilon_g} \right) \right]^{0.5} \varepsilon_g$ $\frac{k_L a D^2}{D} = 0.6 \left(\frac{\mu_L}{\rho_L D} \right)^{0.20} \left(\frac{g D^3 \rho_L}{\sigma} \right)^{0.62} \left(\frac{g D^3 \rho_L^2}{\mu_L^2} \right)^{0.31} \varepsilon_g^{1.1}$ pour $D > 0.5$ m, on prend $D = 0.5$ m	(FAIR [12]) (3.7) (YOSHIDA [3]) (3.8)
Coefficient de transfert (k_g)	$\frac{k_g \bar{d}_3}{D} = 6.6$ pour hauteur > 0.5 m	(SHARMA [13]) (3.9)
Estimation de $k_g a$	compris entre 1 et 3 s^{-1}	(MASHELKAR [17])

Annexe n°21.



$\frac{Q_{LC}}{Q_L}$ en fonction de $\frac{Q_{vg}}{N_d D^3}$.



Dépendance de l'aire interfaciale vis-à-vis de la puissance injectée par unité de volume.

Données de REITH [15]	— Colonnes à agitateur mécanique (turbines Rushton) : (1) $D = 0,19$ m; (2) $D = 0,45$ m; (3) $D = 1,20$ m. Expression de la droite commune aux courbes (1) (2) (3) : $A = 3,32 \left(\frac{P}{V} \right)^{0,69}$ — Colonnes à bulles : (4) $D = 0,29$ m $H = 1,6$ m; (5) $D = 0,29$ m $H = 3,7$ m; (6) $D = 0,14$ m $H = 2$ et $3,4$ m.
Données de NAGEL [34]	(7) $D = 0,3$ m $H = 2,6$ m; (8) $Q_{vg} = 9,12$ m³/h; (9) $Q_{vg} = 4,65$ m³/h; (9) $Q_{vg} = 2,28$ m³/h.

Annexe n°22.

RÉACTEURS AGITÉS

1) PUISSANCE INJECTÉE

a) Nombre minimal de tours

$$\left(\frac{N_{Am} D_A^2 \mu_L}{\sigma D_T} \right) \left(\frac{\rho_L \sigma^3}{g \mu_L^4} \right)^{\frac{1}{4}} = A \frac{D_A}{D_T} + B \quad \text{WESTERTERP [28]} \quad (3.24)$$

Turbine : $A = 1,22$ $B = 1,25$

Pales : $A = 2,25$ $B = 0,68$

$$\left(\frac{N_{Am} D_A^2}{\sigma D_T} \right) (g D_T)^{-\frac{1}{2}} = 0,07 \quad \text{si } D_T < 1,0 \text{ m}$$

$$\left(\frac{N_{Am} D_A^2 \mu_L}{\sigma D_T} \right) \left(\frac{\rho_L \sigma^3}{g \mu_L^4} \right)^{\frac{1}{4}} = 2 \left(\frac{h_r}{D_T} \right)^{\frac{1}{2}} \quad \text{VAN DIERENDONCK [81]} \quad (3.25)$$

si :

$D_T > 1,0 \text{ m}$

$V_{SG} < 0,03 \text{ m/s}$

$0,1 < (h_r)/D_T < 0,6$

h_r : hauteur du liquide au-dessus de l'agitateur au repos

Pour des solutions électrolytiques :

$$\left(\frac{N_{Am} D_A^2 \mu_L}{\sigma D_T} \right) \left(\frac{\rho_L \sigma^3}{g \mu_L^4} \right)^{\frac{1}{4}} \approx 1 \quad \text{si } V_{SG} < 0,05 \text{ m/s}$$

b) Puissance absorbée

$$\frac{\mathcal{P}_{LG}}{\mathcal{P}_L} = f(Q_{VG}, N_A D_A^2) \quad (\text{fig. 8.9}) \quad \text{CALDERBANK [44]} \quad (3.26)$$

$$\mathcal{P}_{LG} = K (\mathcal{P}_L^2 N_A D_A^2 / Q_{VG}^{0,45})^{0,45} \quad \text{MICHEL et MILLER [42]} \quad (3.27)$$

$K = 1$ en unités SI (systèmes aqueux)

$$\frac{\mathcal{P}_{LG}}{\mathcal{P}_L} = \exp \left[-442 \left(\frac{D_A}{D_T} \right)^{4,33} \left(\frac{D_A^2 N_A \mu_L}{\rho_L} \right)^{0,113} \left(\frac{D_A N_A^2}{g} \right)^{1,960} \left(\frac{Q_{VG}}{N_A D_A^2} \right) \right] \quad \text{NAGATA [80]} \quad (3.28)$$

Trambouze P. et coll., (1984).

RÉACTEURS AGITÉS (suite)

2) RÉTENTION GAZEUSE

$$\epsilon_G = K \left(\frac{Q_{vg} N_K^2}{\sigma} \right)^Z \quad \text{ROBINSON [45]} \quad (3.29)$$

Non électrolytes $Z = 0,6$ $K = 0,1$ Électrolytes aqueux $0,4 < Z < 0,5$ et $0,2 < K < 0,3$

Liquides purs :

$$\epsilon_G = 0,31 \left(\frac{\mu_L V_{sg}}{\sigma} \right)^{\frac{2}{3}} \left(\frac{\rho_L \sigma^3}{g \mu_L^2} \right)^{\frac{1}{6}} + 0,45 \frac{[N_K - N_{Km}] D_A^2}{D_T \sqrt{g D_T}} \quad (3.30)$$

si $\epsilon_G < 0,2$ $V_{sg} < 0,05$ m/s $H/D_T = 1$

Électrolytes :

$$\epsilon_G = 0,075 \left(\frac{\mu_L (N_K - N_{Km}) D_A^2}{\sigma D_T} \right) \left(\frac{\rho_L \sigma^3}{g \mu_L^2} \right)^{\frac{1}{4}} \quad \text{VAN DIKENDONCK [31]}$$

si $\epsilon_G < 0,3$ $V_{sg} < 0,03$ m/s $H/D_T = 1$ 3) k_L

Petites bulles :

$$(\bar{d}_B < 2,5 \text{ mm}) \quad k_L = 0,31 \left(\frac{g \mu_L}{\rho_L} \right)^{\frac{1}{3}} \left(\frac{D_A \rho_L}{\mu_L} \right)^{\frac{2}{3}} \quad \text{CALDERBANK [26]} \quad (3.31)$$

Grosses bulles :

$$(\bar{d}_B > 2,5 \text{ mm}) \quad k_L = 0,42 \left(\frac{g \mu_L}{\rho_L} \right)^{\frac{1}{3}} \left(\frac{D_A \rho_L}{\mu_L} \right)^{\frac{1}{3}} \quad (3.32)$$

En fait $2 \cdot 10^{-4} < k_L < 6 \cdot 10^{-4}$ m/s, fréquemment $5 \cdot 10^{-4}$ m/s REITH [15] (3.33)Pour l'hydrogène ce coefficient k_L est environ deux fois plus important que pour tous les autres gaz. Ceci tient à sa grande diffusivité.4) α

$$\alpha = K \left(\frac{\mathcal{D}}{V} \right)^n \quad 0,65 < n < 0,70 \quad \text{REITH [15]} \quad (3.34)$$

Pour des systèmes aqueux $K = 4$, si α en m^2/m^3 et $\frac{\mathcal{D}}{V}$ en W/m^3 .

$$\alpha_0 = 1,14 \left(\frac{\mathcal{D}}{V_L} \right)^{0,4} \frac{\mu_L^{0,2}}{\sigma^{0,2}} \left(\frac{V_{sg}}{\mu_L} \right)^{\frac{1}{2}} \quad \text{CALDERBANK [44]} \quad (3.35)$$

$$\log \left(\frac{2,3 \alpha'}{\alpha_0} \right) = 1,95 \times 10^{-3} \left(\frac{D_A N_K \rho_L}{\mu_L} \right)^{0,7} \left(\frac{N_K D_A}{V_{sg}} \right)^{0,3} \quad (3.36)$$

 u , vitesse ascensionnelle d'une bulle (environ 0,27 m/s).5) $k_L \alpha$

$$\frac{k_L \alpha D_A^2}{\epsilon_L} = 0,06 \left(\frac{D_A^2 N_K \rho_L}{\mu_L} \right)^{1,3} \left(\frac{D_A N_K^2}{g} \right)^{0,19} \left(\frac{\mu_L}{\rho_L \mathcal{D}_L} \right)^{0,5} \left(\frac{\mu_L V_{sg}}{\sigma} \right)^{0,5} \left(\frac{N_K D_A}{V_{sg}} \right)^{0,32} \quad \text{YOSHIDA [46]} \quad (3.37)$$

**AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE
DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE
LORRAINE**

o0o

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :

Monsieur KOERHET Bernard, Professeur, ENSIGC Toulouse,

Monsieur GROS J.Bernard, Professeur, Universite Blaise Pascal Aubière.

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

Monsieur PASCAL Frédéric

**à soutenir devant l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE, une thèse
intitulée :**

**"Modélisation de bioprocédés dans le cadre d'un simulateur de procédés
chimiques. Application à la simulation statique et dynamique d'un atelier de
fermentation"**

en vue de l'obtention du titre de :

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : "GENIE des PROCÉDES"

Fait à Vandoeuvre le, 1^{er} Octobre 1992

Le Président de l'IN.P.L.,

M. LUCIUS

2, avenue de la Forêt de Haye - B.P. 3 - 54501 VANDŒUVRE CÉDEX

Téléphone : 83. 59. 59. 59 - Télex : 961 715 F - Télécopie : 83. 59. 59. 55

Résumé

Les programmes de "flowsheeting" sont intensément utilisés dans les industries chimiques et pétrolières pour le développement et l'optimisation de procédés. Avec l'augmentation de la puissance de calcul des ordinateurs et des capacités des logiciels, les bilans matière et énergie pour des ateliers complexes incluant des centaines d'équations peuvent être résolus maintenant.

Parce qu'ils sont conçus pour traiter de nombreux types d'unités industrielles, les programmes généraux de "flowsheeting" sont considérés comme des outils puissants dans le développement de modèles de procédés agro-alimentaires.

Cette étude a pour objet la simulation de procédés biotechnologiques à l'aide du simulateur de procédés chimiques existant, ProSim. Elle a été appliquée en particulier à une unité industrielle de fermentation alcoolique par *Saccharomyces cerevisiae*, à partir de mélasse de betterave.

Un modèle mécanistique non-structuré a été construit sur des réactions élémentaires dont les lois cinétiques sont simples, qui satisfont aux contraintes stoechiométriques et qui sont largement applicables, y compris pour la simulation de sous-produits tels les alcools lourds.

Ce modèle a été intégré dans un module de simulation de ProSim. L'extension de ce module à la simulation de fermenteurs aérés a été réalisée en décrivant un bilan complet avec transfert gaz-liquide et réaction dans la phase liquide.

Le fonctionnement de l'atelier a été simulé avec succès en utilisant le même formalisme en régime continu et en semi-continu. Le comportement des constituants dans les fermenteurs diphasiques a été étudié.

Abstract

Flowsheeting programs are intensively used in the chemical and petroleum industries for process development and optimization. With actual improvements of both computer facilities and software capabilities, the energy and mass balances for complex plant involving thousands of equations are now tractable.

Because they have been conceived to handle a great variety of industrial plants, such general flowsheeting packages can be considered presently as a useful framework for the development of food processing models. This study concerns the simulation of bioprocesses in the frame of an existing process simulator ProSim. It has been applied to an industrial plant of alcoholic fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* on beet molasses.

An unstructured mechanistic model has been built with as simple as possible kinetic laws and stoichiometric constraints (elemental balances). This model is applicable in different culture conditions and takes into account minor by-products like the higher alcohols.

The model is integrated in a ProSim simulation module for biochemical reactors. Its extension to the aerated fermentors simulation has been done by complete description of gas-liquid mass transfer and liquid phase reaction balances.

The plant functioning has been simulated with success using the same formalism in continuous and fed-batch mode. The components behaviour in diphasic fermentors has been studied.

Mots clés

simulation numérique ; modélisation ; biotechnologie ; éthanol ; cascade de fermenteurs ; fermenteur ; polyphasique.