

LABORATOIRE DE GENIE CHIMIQUE BIOLOGIQUE

Université Blaise Pascal – Clermont–Ferrand II

ESTEC Contract 8125/88/NL/FG
WP 14

SIMULATION DES FLUX DE MATIERE DANS L'ECOSYSTEME MELISSA

TN 14.1

C.G. DUSSAP, J.B. GROS

Septembre 1991

RESUME

Ce travail constitue le premier essai de simulation de l'écosystème MELISSA dans son entier.

Chacun des cinq compartiments que compte MELISSA est décrit par un ensemble de relations stoechiométriques, établies d'après les voies métaboliques que les microorganismes utilisent. L'hypothèse principale consiste à considérer que, à la sortie de chaque compartiment, un des substrats entrant est totalement épuisé. Au total 15 constituants, dont 5 peuvent se retrouver en phase gazeuse, sont considérés.

La simulation de l'écosystème MELISSA en régime permanent est effectuée sur la base d'un équipage de 3 hommes. Les besoins journaliers en biomasse protéique sont limités à 300 g/jour et un complément de 900 g/jour de glucides et 120 g/jour de lipides constitue la ration alimentaire. Les besoins en eau recyclée sont également pris en compte.

Le programme de simulation exige un "bouclage" rigoureux des bilans sur les constituants C, H, O et N et donc ces contraintes se repercutent sur l'établissement des relations stoechiométriques. Les simulations effectuées ont montré qu'il était incompatible d'obtenir à la fois un taux de recyclage de l'azote élevé et une bonne régénération de l'atmosphère du système. Le taux de recyclage de l'azote peut atteindre 99,5%. Celui du dioxyde de carbone, dans d'autres conditions de fonctionnement, peut atteindre 100%.

La production de biomasse est importante du fait de l'élimination des matières organiques par les phototrophes anoxygéniques. Enfin MELISSA produit suffisamment d'eau pour l'alimentation du compartiment consommateur.

ABBREVIATIONS

ADP : Adenosine Diphosphate

AGV: Acides Gras Volatils

ATP: Adénosine Triphosphate

CELSS: Controlled Ecological Life Support System

E4P: Erythrose-4 Phosphate

FAO: Food and Agriculture Organisation

α KG : α cetoglutarate

M.S.: Masse sèche

MELISSA: Microorganism Based Ecological Life Support System
Alternative

NADP: Nicotinamide Adenine Dinucléotide Phosphate

OAA : Oxaloacetate

PEP: Phosphoénolpyruvate

3PG:3-Phosphoglycerate

PHB: Polyhydroxybutyrate

PM: Masse Moléculaire (g/mole)

PS I: Photosystème I des végétaux

R5P: Ribose-5 Phosphate

THF: Tetrahydrofolate

SOMMAIRE

	Page
<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE</u>	
<u>I. Les écosystèmes clos spatialisables (ou CELSS)</u>	2
<u>II. L'écosystème MELISSA</u>	2
1)Le compartiment consommateur	3
1-1)Les besoins journaliers pour 3 personnes	3
1-2)Les équations décrivant le compartiment	4
1-3)Les besoins en eau	5
2)Le compartiment liquéfacteur	5
2-1)Description générale du compartiment	5
2-2)Les équations décrivant le compartiment	6
3)Le compartiment des phototrophes anoxygéniques	7
3-1)Description générale du compartiment	7
3-2)Les équations décrivant le compartiment	8
3-3)Régénération des cofacteurs	9
4)Le compartiment nitrificateur	10
4-1)Description générale du compartiment	10
4-2)Les équations décrivant le compartiment	10
5)Le compartiment photosynthétique	11
5-1)Description du compartiment	11
5-2)L'équation décrivant le compartiment	12
<u>MATERIEL ET METHODE</u>	
<u>I.Le logiciel de simulation de MELISSA</u>	13
1)Description générale du logiciel	13
2)La base de données des constituants	13
3)Les modèles thermodynamiques	13
<u>II.Utilisation du logiciel de simulation de MELISSA</u>	14
1)Mise en place des équations	14
2)Simulation progressive de MELISSA en boucle ouverte	17
3)Simulation de MELISSA en boucle fermée	17

RESULTATS - DISCUSSION

<u>I.Simulation en boucle ouverte des 5 compartiments</u>	18
<u>II.Simulation en boucle fermée</u>	19
1)Le diagramme de simulation	19
1-1)Description générale	19
1-2)Courants de biomasse et degrés de liberté	20
2)Résultats	21
2-1)Observations générales	22
2-2)Débits de gaz	23
2-3)Eau disponible pour le recyclage	23
2-4)Courants de biomasse	23
2-5)Composition de la biomasse consommée	24
2-6)Taux de recyclage	24
2-7)Influence des différents paramètres	25
2-8)Recyclages idéaux	25
<u>CONCLUSION</u>	27

INTRODUCTION

Le système MELISSA a été conçu comme un écosystème à base de microorganismes, premier modèle simplifié d'un futur système biologique de maintien de vie dans des missions spatiales. L'élément clef de MELISSA est la production de biomasse consommable à partir des déchets et en utilisant l'énergie lumineuse comme unique source d'énergie.

Les 5 compartiments constituant cet écosystème sont à l'heure actuelle étudiés séparément. Un seul, le compartiment produisant des spirulines, a été suffisamment travaillé pour être décrit par un modèle structuré. Les autres compartiments ne peuvent actuellement être décrits que par des relations stoechiométriques, issues des voies métaboliques utilisés par les microorganismes, et mettant en jeu les substrats et les produits prépondérants ; les hypothèses qui ont permis d'aboutir à ces relations doivent impérativement être confirmées par des expériences.

Néanmoins, il a été décidé de simuler l'ensemble du système MELISSA pour préciser les flux de matière entrant et sortant de chaque compartiment et pour analyser l'autonomie du système vis à vis des éléments C, H, O et N. Cette étude est divisée en trois parties. La première est un rappel des équations stoechiométriques décrivant les 5 compartiments, ainsi que des principales hypothèses effectuées pour les obtenir, exposées dans les notes techniques TN 9.1, TN 9.2, et TN 9.3 ; une description très succincte de MELISSA rend cette note indépendante des autres. La seconde partie concerne la description de l'organisation du simulateur des bilans matière de MELISSA. Enfin la troisième partie résume les principaux résultats concernant les entrées et sorties du système, son autonomie vis à vis de l'azote et sa capacité à permettre le recyclage des gaz.

RAPPELS
BIBLIOGRAPHIQUES
SUR
MELISSA

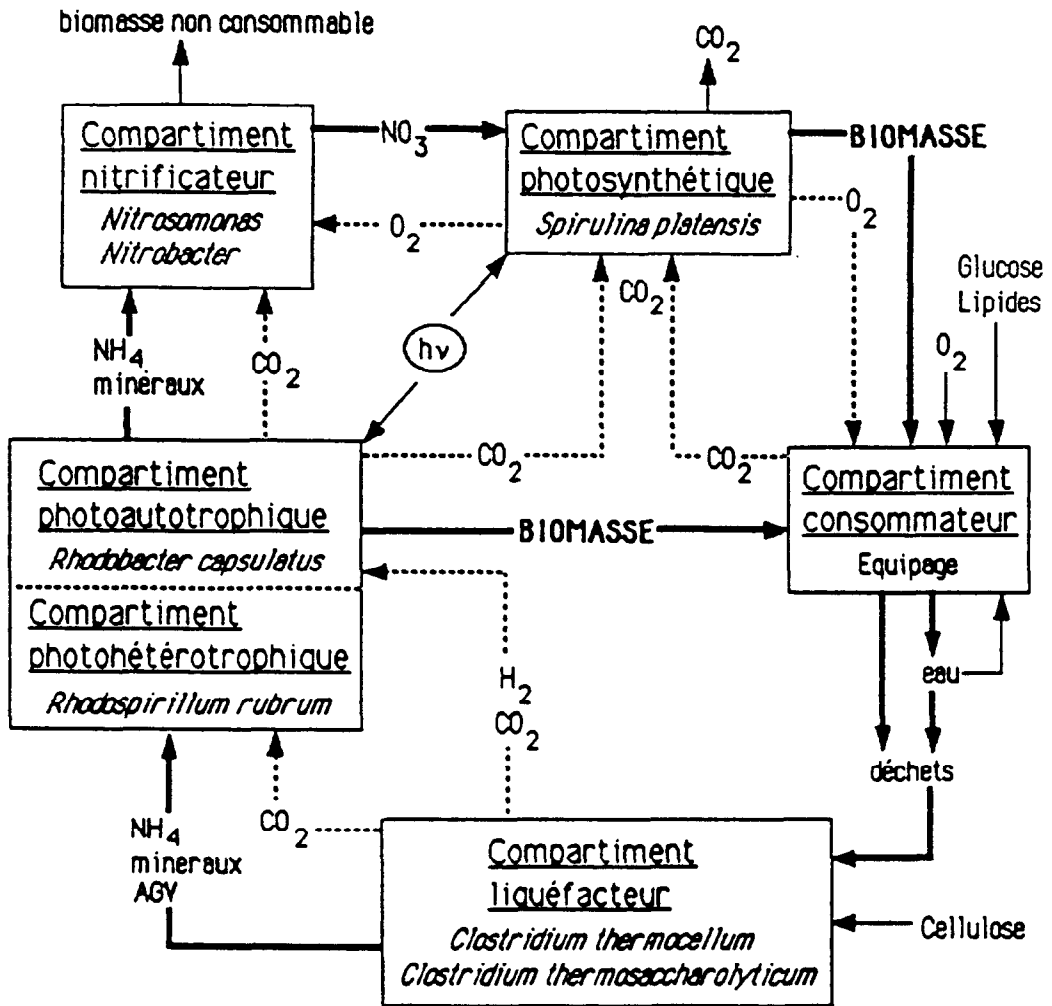


Figure 1: L'écosystème MELISSA

Chacun de ces compartiments pris séparément est en cours d'étude. Ainsi il a été possible d'établir le plus précisément possible les caractéristiques des microorganismes supposés en culture pure dans chaque compartiment, leurs conditions de culture et les équations stoechiométriques traduisant le catabolisme et l'anabolisme réalisé par ces microorganismes. A chaque compartiment correspond une fonction (Tableau 1).

MELISSA a essentiellement été conçu pour optimiser le cycle de l'azote. Le système doit pourvoir aux besoins nutritionnels de l'équipage, en particulier apporter une ration protéique suffisante. Dans la description de MELISSA qui va suivre, il n'a été retenu que les données utiles pour la simulation : pH, température, équations stoechiométriques.

La simulation des fermenteurs de MELISSA ne peut s'effectuer que si on dispose des équations stoechiométriques décrivant les transformations qui s'y opèrent, et des cinétiques de ces transformations. Actuellement aucune donnée cinétique n'est disponible et la simulation sera effectuée uniquement à partir des relations stoechiométriques.

1) Le compartiment consommateur

1-1) Les besoins journaliers pour 3 personnes

Les besoins énergétiques journaliers pour une personne au repos sur terre sont d'environ 2100 kcal (8800 kJ). Cette donnée reste valable pour un astronaute en état d'apesanteur.

Le taux élevé d'acides nucléïques dans les microorganismes (4,2% du poids sec pour *Spirulina platensis*, 5,9% pour *Rhodobacter capsulatus* et *Rhodospirillum rubrum*) limite leur consommation à 100 g/j/personne, ce qui correspond à un apport moyen de 450 kcal/jour.

Afin d'obtenir une alimentation équilibrée en qualité et en quantité, il est donc nécessaire de compléter l'alimentation en biomasse par 300 g de glucides/j/personne et 40 g lipides/j/personne soit 1650 kcal.

COMPARTIMENT	ORGANISME	FONCTION
CONSOMMATEUR	HOMME	- Consommer les aliments - Produire les déchets
LIQUEFACTEUR	Cl. thermocellum OU Cl. thermosaccharolyticum	- Transformer les déchets en NH ₃ , CO ₂ , H ₂ et AGV
PHOTOTROPHES ANOXYGENIQUES	Rhodospirillum rubrum Rhodobacter capsulatus	- Assimiler la matière organique - Eliminer H ₂ et une partie du CO ₂
NITRIFICATEUR	Nitrosomonas ET Nitrobacter	- Eliminer H ₂ et une partie du CO ₂
PHOTOSYNTHETIQUE	Spirulina platensis	- Régénérer l'atmosphère et produire des aliments

Tableau 1 : les compartiments de MELISSA

Les besoins journaliers pour un équipage de 3 personnes ont donc été établis comme suit :

- 900 g de glucose
- 120 g d'acide palmitique
- 300 g de biomasse (*Spirulina* et *Rhodobacter*)

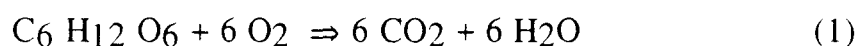
1-2) Les équations décrivant le compartiment

Afin d'établir ces équations, plusieurs hypothèses ont été faites:

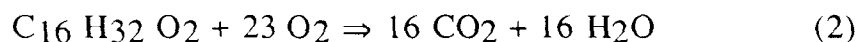
- il n'y a pas d'accumulation d'azote dans le compartiment;
- tout l'azote se retrouve sous forme protéique dans les fécès;
- l'oxydation des microorganismes conduit à la formation de protéines, de polysides, de CO₂ et d'H₂O;
- le glucose et l'acide palmitique sont entièrement oxydés en CO₂ et H₂O.

Ceci permet d'écrire les équations suivantes :

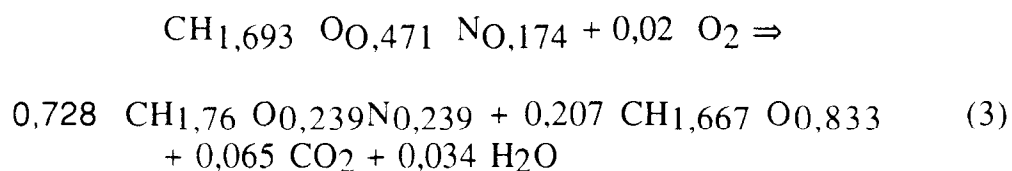
oxydation du glucose



oxydation de l'acide palmitique



dégradation des spirulines



La formule de la biomasse des spirulines (CH_{1,693}O_{0,471}N_{0,174}) a été établie par Cornet (1989). La formule moyenne des protéines (CH_{1,76}O_{0,239}N_{0,239}), établie par Pons (1987), ne repose pas sur la composition en acides aminés des *Rhodobacter* et des spirulines.

L'équation rendant compte de la dégradation des *Rhodobacter* (*Rb. capsulatus* et *Rs. rubrum*) n'a pas pu être établie, car lors de l'étude de ce compartiment, le compartiment des *Rhodobacter* n'avait pas été étudié. Or cette équation est nécessaire pour simuler MELISSA. Elle a donc été établie en tenant compte des hypothèses précédentes.

en majorité de l'acétate, du butyrate et du propionate (JAN R. ANDREESEN et al.).

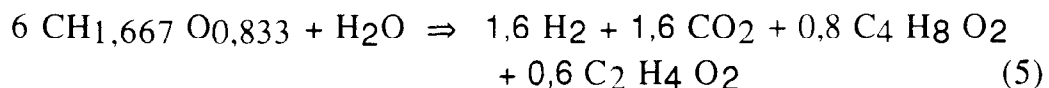
2-2) Les équations décrivant le compartiment

Afin d'établir ces équations plusieurs hypothèses ont été formulées :

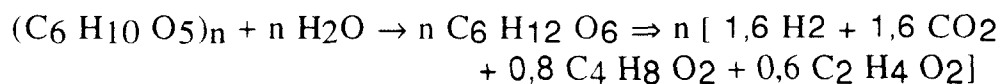
- l'hydrolyse des polysides conduit uniquement au glucose;
- la dégradation du glucose conduit à la formation d'acétate, d'éthanol, de butyrate, de lactate, de CO₂ et d'H₂. On considère pour simplifier que le microorganisme est dans une situation où il ne peut produire que de l'acétate, du butyrate, du CO₂ et de l'H₂, H₂ et CO₂ étant produits en quantité équimolaire;
- les AGV produits par la dégradation des acides aminés sont composés uniquement de butyrate et d'acétate;
- les microorganismes n'utilisent l'énergie fournie par les fermentations qu'à des fins de maintenance et la production de biomasse est donc considérée comme négligeable.

Il a ainsi pu être établi les équations suivantes :

dégradation des polysides (Dussap ,1990)

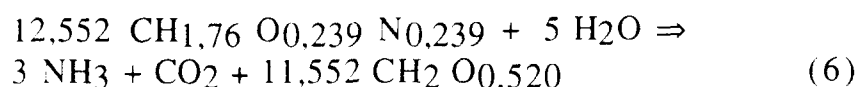


dégradation de la cellulose



Cette équation n'a pas été introduite dans la simulation de MELISSA car il n'est fourni aucune donnée quant à la quantité de cellulose apportée aux *Clostridia*.

fermentation des protéines résultant de la dégradation des spirulines

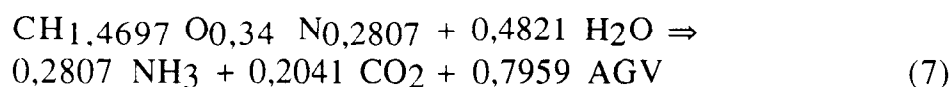


La formule moyenne des AGV ($\text{CH}_2\text{O}_{0,520}$) est déduite de la dégradation des protéines par la voie de Stickland

fermentation des protéines résultant de la dégradation des *Rhodobacter*

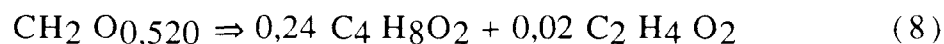
L'équation stoechiométrique traduisant cette fermentation n'avait pas été établie, puisque les données concernant les *Rhodobacter* n'existaient pas lors de l'étude de ce compartiment.

Cette équation a toutefois pu être établie, en suivant la méthodologie utilisée pour écrire l'équation (6).



Composition des AGV

Avec l'hypothèse selon laquelle les AGV sont composés uniquement d'acétate et de butyrate, on obtient :



3) Le compartiment des phototrophes anoxygéniques (Dussap, 1991)

3-1) Description générale du compartiment

Les bactéries de ce compartiment doivent être capables d'assimiler les déchets liquéfiés, en particulier les acides gras, en produisant de la biomasse.

En raison de leur capacité de croissance photohétérotrophique sur un nombre important de sources carbonées (la plupart peuvent utiliser certains intermédiaires du cycle des acides tricarboxyliques comme seule source de carbone et de pouvoir réducteur), et ce grâce à un large éventail de voies métaboliques, le choix s'est porté sur les Rhodospirillaceae : *Rhodobacter capsulatus* et *Rhodospirillum rubrum*. De plus la biomasse produite par ces microorganismes est d'une excellente qualité nutritive, et leur contenu en protéines et acides aminés (61 à 69 g / 100 g MS) est l'un des plus proches des normes de la FAO, en particulier pour la méthionine.

La culture de ces bactéries, qui s'effectue à une température optimale de 30 à 37°C et avec un pH de 6 à 8,5, nécessite cependant

des apports, sous forme de traces, d'éléments et de vitamines. Dans ces conditions on observe en continu la production de 0,96 g MS/l.j. Le compartiment des phototrophes anoxygéniques, chargé d'éliminer les produits terminaux du compartiment liquéfacteur, est subdivisé en 2 sous compartiments indépendants.

L'un, dit photohétérotrophe a pour fonction d'assimiler spécifiquement les acides organiques en les utilisant comme source de carbone et de pouvoir réducteur. L'autre dit photoautotrophe élimine l'hydrogène, en l'utilisant comme source de pouvoir réducteur, avec CO₂ comme seule source de carbone.

3-2) Les équations décrivant le compartiment

Pour établir ces équations plusieurs hypothèses ont été émises, dont les plus importantes sont :

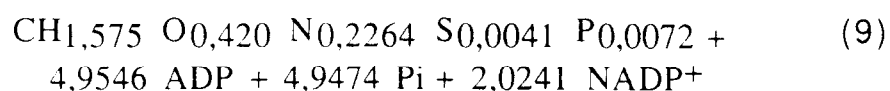
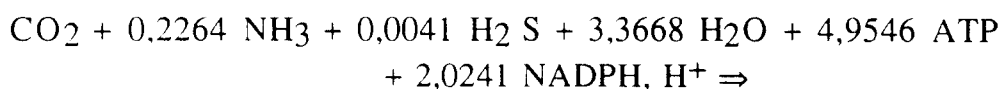
- les Rhodospirillaceae utilisent les mêmes voies de biosynthèse des acides aminés que *E. Coli*;
- on assimile NAD⁺ et FAD⁺, à NADP⁺;
- le shunt glyoxylique fonctionne pour recharger le cycle de Krebs;
- l'α KG et l'OAA sont assimilés à l'acétylCoA. Le 3 PG, le PEP, le E4P et le R5P sont assimilés au pyruvate (selon la voie d'Entner Doudoroff);
- les radicaux du THF sont assimilés au CO₂, à l'eau et à des équivalents réducteurs.

De plus pour les photohétérotrophes (*Rs rubrum*) nous supposons que:

- il n'y a pas de synthèse de PHB;
- l'acétyl CoA provient uniquement de la dégradation de l'acétate et du butyrate;
- le pyruvate provient uniquement de la fixation de CO₂.

On obtient alors :

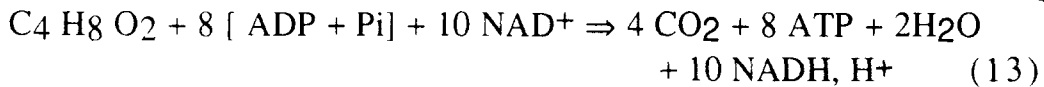
biosynthèse de biomasse par *Rb. capsulatus*



Il sera supposé qu'il n'y a pas plus de 4 passages (chez les plantes supérieures il y a au moins 3 passages dans le circuit cyclique du PS I).

donneur butyrate

Le véritable donneur est en fait le succinate. On suppose donc que le butyrate est dégradé par le cycle de Krebs. On admet que c est égal à 4.



4) Le compartiment nitrificateur

4-1) Description générale

La présence de ce compartiment est imposée par les *spirulines*, qui ne peuvent assimiler NH_3 . Le compartiment est composé d'une culture mixte de *Nitrosomonas* (oxydant NH_4^+ en NO_2^-) et de *Nitrobacter* (oxydant NO_2^- en NO_3^-).

Les bactéries se développent dans un milieu purement minéral, dépourvu de substances organiques, en oxydant NH_3 (ou NO_2^-) qui est leur seule source d'énergie et en utilisant CO_2 comme source de carbone. En culture, à une température optimale de 30 à 35°C et un pH de 7,5 à 8,5, *Nitrosomonas* et *Nitrobacter* ont de faibles taux de croissance (respectivement $2,2 \text{ j}^{-1}$ et $0,46 \text{ j}^{-1}$). Leur faible rendement en biomasse résulte d'un faible rendement énergétique (4 à 20% de l'énergie est utilisée pour la croissance, selon Glover (1985)). Le faible rendement en biomasse, qui n'est pas consommable, limitera les pertes en carbone et en azote de ce compartiment et par conséquent du système complet.

4-2) Les équations décrivant le compartiment

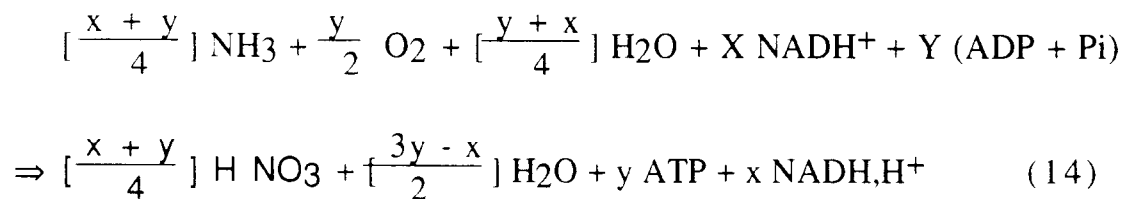
Les bactéries étant cultivées en coculture, les équations suivantes concernent la coculture et non les microorganismes pris individuellement :

biosynthèse de biomasse

Actuellement il n'existe aucune donnée concernant la biosynthèse de biomasse par *Nitrosomonas* ou *Nitrobacter* (ni formule moyenne, ni voies de synthèse). On considèrera alors l'équation de biosynthèse d'un autre organisme autotrophe : *Rb. capsulatus* (9). Comme la production de biomasse est peu importante on peut considérer que l'erreur réalisée en effectuant cette hypothèse est négligeable.

oxydation de NH₃ et régénération des cofacteurs

Les schémas métaboliques décrivant le couplage entre l'oxydation de NH₃ (ou NO₂⁻) et la production d'énergie (ATP et NADH, H⁺) chez *Nitrosomonas* (ou *Nitrobacter*) ont permis d'établir l'équation suivante pour l'oxydation de NH₃ en HNO₃ par la coculture :



x et y étant les moles de NADH, H⁺ et ATP que l'on désire obtenir.

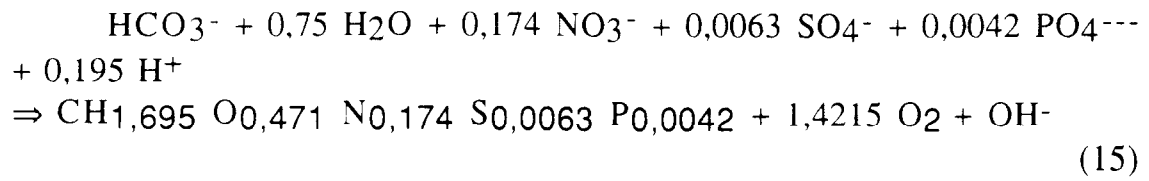
5) Le compartiment photosynthétique

5-1) Description du compartiment

C'est autour de ce compartiment, conçu pour régénérer l'atmosphère et produire de la nourriture qu'a été créé MELISSA. la cyanobactérie *Spirulina platensis* a été choisie pour sa grande capacité photosynthétique, sa faible toxicité et sa haute valeur nutritive répondant aux normes de la FAO. Sa culture s'effectue sur un milieu minéral avec CO₂ comme seule source de carbone, à 35°C et à un pH optimal de 9,5. Elle est de plus récoltée facilement par filtration.

5-2) L'équation décrivant le compartiment (Cornet, 1989)

La capacité photosynthétique et la croissance des spirulines ont été exprimées par l'équation suivante :



MATERIEL
ET
METHODE

I - Le logiciel de simulation de MELISSA en régime permanent

1) Description générale du logiciel

Le logiciel de simulation est un programme de simulation de procédés fonctionnant en continu et en régime permanent. Il effectue la résolution de l'ensemble des bilans matière et énergie décrivant un procédé quelles que soient les liaisons entre les différents éléments de ce procédé.

Comme la plupart des simulateurs de procédés continus, il utilise une approche par module, chaque module assurant une fonction bien définie : mélange, réaction, division d'un courant, séparation. Il permet également de traiter simultanément les boucles de recyclage et les contraintes que l'on veut fixer sur les débits : un algorithme de convergence permet par itérations successives de calculer les caractéristiques des boucles de recyclage et de satisfaire les contraintes.

2) La base de données des constituants

Le logiciel possède un fichier de données où sont stockés des constituants (éthanol, hydrogène, eau ...) avec leurs caractéristiques physico-chimiques. Pour réaliser la simulation il faut indiquer les constituants utilisés, en fournissant leur numéro de référence.

La base comporte une liste standard de constituants ; cependant si on désire utiliser des constituants ne figurant pas sur la liste, ou avec des caractéristiques différentes, un programme interactif peut permettre de créer un fichier privé. Ceci est indispensable car le logiciel ne comporte pas de constituants tels que les microorganismes, les protéines ou même les polysides.

3) Les modèles thermodynamiques

Le logiciel dispose de modèles thermodynamiques différents. La définition du profil thermodynamique dans les modèles est importante pour réaliser les bilans énergétiques et calculer les différents équilibres thermodynamiques entre phases.

Dans ce travail de simulation sur MELISSA, le choix du modèle thermodynamique n'est pas déterminant car on s'intéresse pour l'instant uniquement aux bilans matière sur le système.

II - Utilisation du logiciel de simulation de MELISSA

1) Mise en place des équations

Les masses molaires des constituants n'appartenant pas à la bibliothèque sont calculées à l'aide des masses des éléments les composant (Handbook of Chemistry and Physics , 1973).

Lors de l'exécution, le programme vérifie les équations stoechiométriques en réalisant des bilans massiques, avec une précision de calcul de $5 \cdot 10^{-4}$. Ceci est nécessaire pour le calcul des recyclages des débits matières sur le système complet.

Chaque équation a donc été testée séparément afin de vérifier si la précision de son écriture est suffisante. En effet, des erreurs d'arrondi dans l'établissement des formules des composants et des coefficients stoechiométriques des équations peuvent être incompatibles avec le simulateur. Dans le cas où cette précision ne suffisait pas des modifications ont été apportées sur les masses molaires des constituants ou sur les coefficients stoechiométriques portant sur l'eau (supposée en abondance dans le système).

exemple :

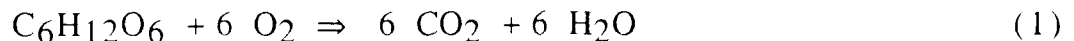
formule de la biomasse	$\text{CH}_{1,4697} \text{O}_{0,34} \text{N}_{0,2808}$
P.M. théorique (g/mol)	22,863934
P.M. pour le programme (g/mol)	22,862346

Les équations décrites précédemment ne seront pas utilisées telles qu'elles sont présentées. Certaines seront "simplifiées" car nous ne considérons pour l'instant que les éléments C.H.O.N.

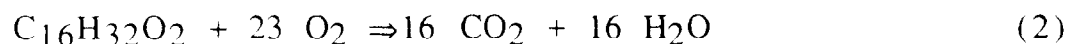
Le système complet est résumé par l'ensemble des relations suivantes :

Compartiment consommateur

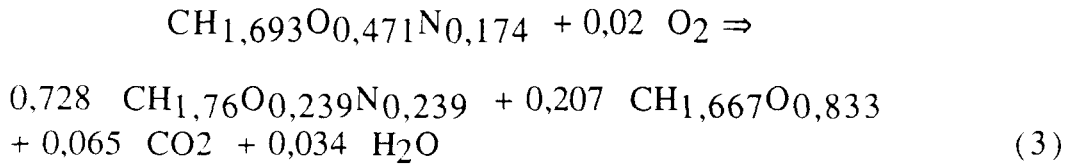
Oxydation du glucose



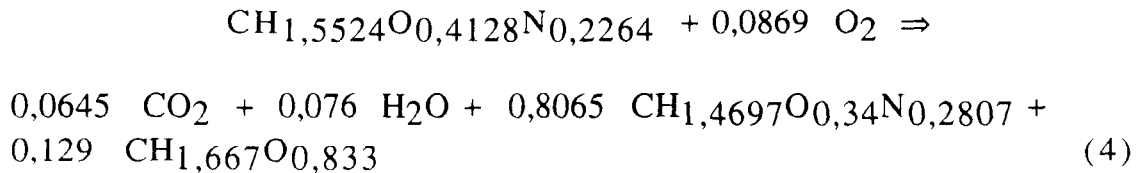
Oxydation de l'acide palmitique



Oxydation des *spirulines*

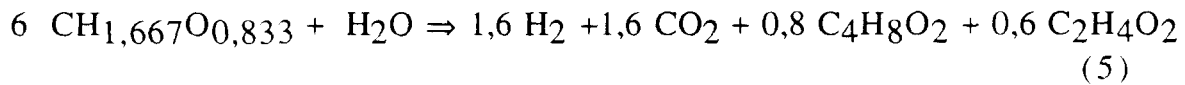


Oxydation des *Rhodobacter*

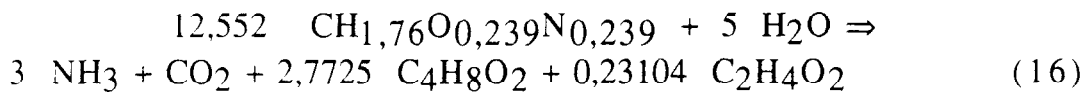


Compartiment liquefacteur

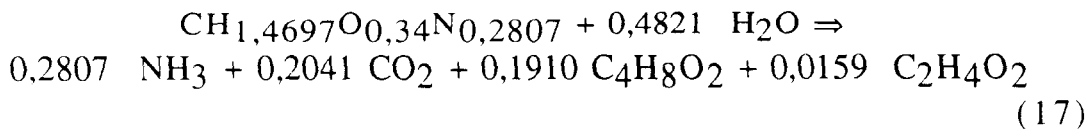
Fermentation des polysides



Fermentation des protéines de *spirulines* : équation obtenue avec les équations (6) et (8).



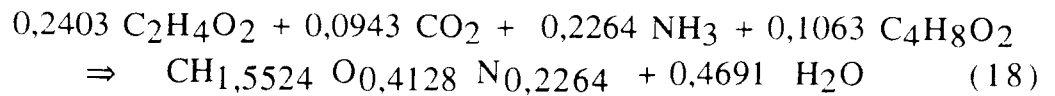
Fermentation des protéines de *rhodobacter* : équation obtenue avec les équations (7) et (8).



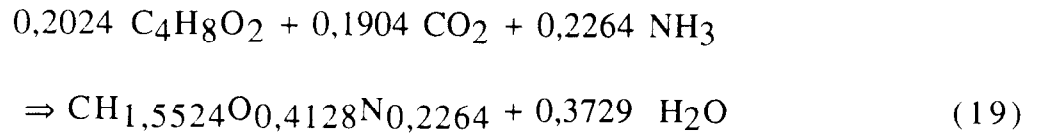
Compartiment des phototrophes anoxygéniques

Les photohétérotrophes

Assimilation de l'acétate : équation obtenue avec les équations (11) (simplifiée pour S et P) , (12) (avec NADPH,H⁺ comme donneur d'électron) et (13)

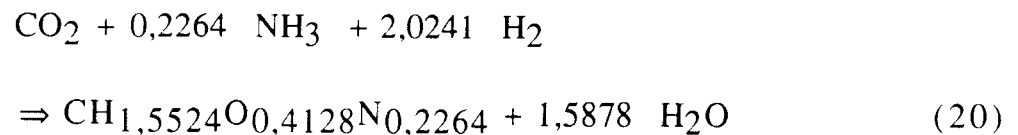


Assimilation du butyrate : équation obtenue avec les équations (10) (simplifiée pour S et P) , (12) (avec NADPH,H⁺ comme donneur d'électron) et (13)



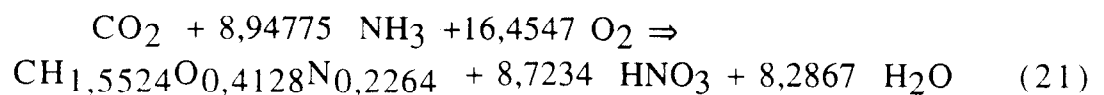
Les photoautotrophes

Equation obtenue avec les équations (9)(simplifiée pour S et P) et (12) (H₂ étant le donneur d'électron)



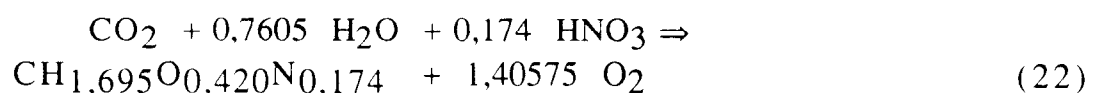
Compartiment nitrificateur

Equation établie à partir des équations (9)(simplifiée pour S et P) et (14) en supposant que seulement 20% de l'énergie est utilisée ; le NADPH,H⁺ est oxydé et l'ATP est hydrolysé



Compartiment photosynthétique

Cette équation est l'équation (15) simplifiée pour S et P



Pour chacune des relations (1) et (22) données ci-dessus, il faut définir un constituant clé et le taux de conversion sur ce constituant. Dans ce qui suit le taux de conversion est toujours fixé à 100%.

La description complète des débits matière dans chacun des courants de MELISSA nécessite de considérer 15 constituants : le glucose, l'acide palmitique, les spirulines, les protéines issues de la dégradation des spirulines, les rhodobacter, les protéines issues de l'oxydation des Rhodobacter, les polyosides, l'acétate, le butyrate, les nitrates, le CO₂, l'eau, l'oxygène, l'hydrogène, le NH₃. Les cinq derniers constituants peuvent se retrouver à la fois en phase liquide et en phase gazeuse, mais ceci ne sera pas considéré dans ce qui suit.

2) Simulation progressive de MELISSA en boucle ouverte

La démarche suivie pour simuler MELISSA a été assez simple. Les compartiments ont été rajoutés progressivement et à chaque fois une simulation du système ainsi formé de 1,2,3,4 puis enfin 5 compartiments, a été effectuée pour vérifier si tous fonctionnaient correctement ensemble.

La simulation en boucle ouverte permet donc, de manière simple, de vérifier si les courants entre compartiments sont cohérents. Ces premières observations montrent alors si les équations stoechiométriques définies sont acceptables ou si il faut les affiner.

3) Simulation de MELISSA en boucle fermée

Cette simulation a été réalisée à partir du système de 5 compartiments en boucle ouverte, en rajoutant les courants de recyclage (eau, oxygène, biomasse) et les contraintes (300 g biomasse/j, 2,709 l d'eau/j) (Figure 2).

Une seule simulation permet d'obtenir une masse importante de résultats (tous les courants sont détaillés), mais seuls les courants de sortie, d'entrée et de recyclage seront discutés.

Plusieurs simulations ont été effectuées avec des paramètres différents, afin d'optimiser le cycle de l'azote (pourcentage d'azote recyclé maximal) de noter la quantité d'eau disponible pour le recyclage, et les taux de CO₂ assimilé et de production en O₂.

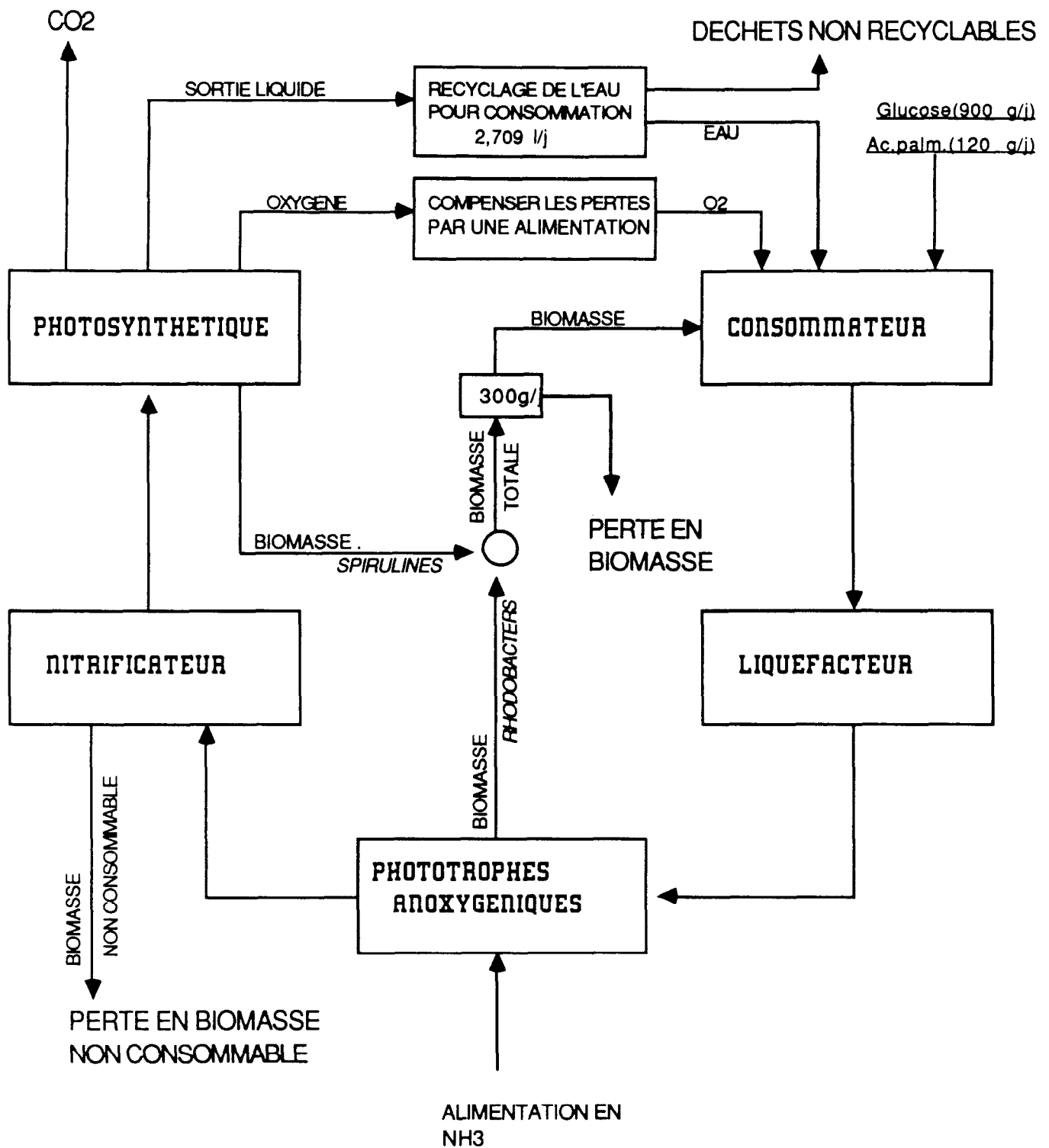


Figure 2: CONTRAINTES ET COURANTS DE RECYCLAGE

I - La simulation en boucle ouverte des 5 compartiments

Cette première série de simulations a permis de mettre en évidence que, à la sortie du liquéfacteur il est produit 5,5 fois plus de butyrate que d'acétate, ce qui est un rapport bien trop élevé pour les *Clostridia*. Il est apparu en fait que la relation de dégradation des protéines par les *Clostridia* n'était pas assez précise. A l'aide de données sur la dégradation des acides aminés par la voie de Stickland (ANDREESEN et al. ,1989) nous avons pu déterminer, en supposant que cette dégradation ne conduit qu'au CO₂, à l'H₂, à l'acétate et au butyrate, les rapports suivants :

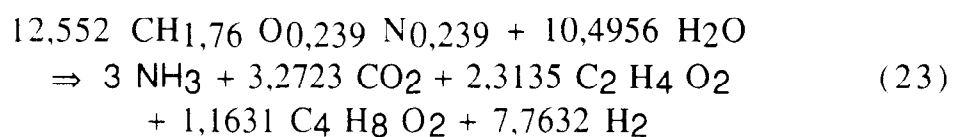
$$\frac{\text{moles d'acetate}}{\text{mole de CO}_2} = 0,707$$

$$\frac{\text{moles d'acetate}}{\text{moles de butyrate}} = 1,989$$

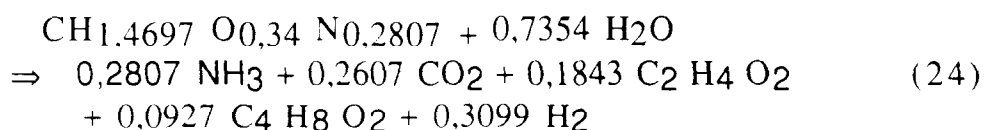
Ce calcul, du reste assez fastidieux, ne sera pas reproduit ici.

Cela nous a permis d'établir des équations plus fines qui ont été utilisées pour les simulations ultérieures :

fermentation des protéines issues de la dégradation des spirulines



fermentation des protéines issues de la dégradation de s *Rhodobacter*



II - Simulation en boucle fermée

1) Le diagramme de simulation (Figure 3)

1-1) Description générale

Ce diagramme est la représentation du programme réalisé pour simuler MELISSA en boucle fermée. Il est composé de différents modules.

- Les réacteurs, comportant un certain nombre d'équations stoechiométriques qui caractérisent les différents compartiments avec un taux de conversion égal à 100%.

- Les séparateurs, permettant de simuler l'extraction de certains constituants d'un courant.

- Les mélangeurs de courant.

- Les diviseurs, qui divisent un courant en plusieurs autres de même composition.

- Les alimentations supplémentaires.

- Les spécifications qui agissent sur un autre module par l'intermédiaire d'informations.

Les différents modules sont reliés entre eux par des courants fléchés.

Les courants dont les lettres commencent par B sont des courants contenant uniquement de la biomasse.

- BRH biomasse composée de *Rhodobacter*
- BSP biomasse composée de spirulines
- BCO : biomasse composée d'un mélange de *Rhodobacter* et de spirulines
- BNC : biomasse non consommable.

Ces courants sont obtenus à l'aide des séparateurs qui permettent de simuler l'extraction de la biomasse. Les séparateurs EXBIO 1 et EXBIO 2 (Figure 3) simulent l'extraction des *Rhodobacter*. EXBNC simule l'élimination de la biomasse non consommable constituée de *Nitrosomonas* et *Nitrobacter*. Le séparateur EXBIO 3 joue un rôle important. Il permet non seulement de simuler l'extraction des spirulines, mais aussi de séparer les courants résultant du fonctionnement des 5 compartiments.

Le courant SCO_2 est uniquement composé par le CO_2 . Il permet de mesurer avec SO_2 , le courant de sortie en O_2 de MELISSA, la fonction de régénération de l'atmosphère de l'écosystème.

Le courant SO_2 fait partie d'une boucle de recyclage. L'oxygène sortant de la suite des 5 compartiments est remis en circulation. Il participe à la constitution du courant ALO_2 (alimentation en oxygène du compartiment consommateur, et par là même de tous les autres compartiments). Le courant ALO_2 est soumis à une spécification qui mesure la quantité d'oxygène nécessaire à apporter (alimentation OXY) afin de maintenir un débit d'oxygène constant à l'entrée du compartiment consommateur.

Le courant RECY est en principe uniquement composé d'eau. Il indique la quantité d'eau disponible en sortie de l'écosystème. Nous ignorons cependant quelle quantité de cette eau sera recyclable pour participer à l'alimentation ALH_2O , (eau consommable) des consommateurs.

1-2) Courants de biomasse et degrés de liberté

La biomasse produite pour être consommée (courant BIO) est fixée à 12,5 g/h. Cette contrainte est satisfaite en agissant sur le courant BIO.

Sur le diagramme on remarque qu'il y a 2 points sur lesquels il est possible d'agir pour modifier le courant BIO :

- le diviseur D.RH dont le taux de partage $Y\%$ permet de jouer sur la quantité de *Rhodobacter* mélangée aux spirulines pour l'alimentation;

- le diviseur D.BIO, dont le taux de partage $Z\%$ permet d'éliminer l'excès de biomasse résultant du mélange des spirulines et des *Rhodobacter*;

Le système comporte donc 2 degrés de liberté $Y\%$ et $Z\%$.

Les entrées et sorties sur MELISSA sont récapitulées sur la figure 4. Elles montrent que MELISSA n'est pas un écosystème clos. Il s'agit cependant en jouant sur les degrés de liberté de limiter les entrées et les sorties, et en particulier l'entrée NH_3 et la perte en biomasse consommable (sur toute la biomasse consommable formée en 1 jour, on ne peut en utiliser que 300 g). Plus les entrées et les pertes en azote seront faibles plus le taux d'azote recyclé sera important. On peut également chercher à minimiser l'entrée en oxygène ou la sortie de CO_2 .

2) Résultats

Les simulations ont été effectuées en faisant varier les 2 paramètres degrés de liberté $Y\%$ et $Z\%$. Pour $Y\%$, 3 valeurs ont été choisies :

- 100%, ce qui correspond à l'utilisation de toute la biomasse des *Rhodobacter* pour l'alimentation
- 50%
- 0%, ce qui correspond à choisir une alimentation en biomasse uniquement à base de spirulines.

Avec ces valeurs, différentes simulations ont été réalisées en faisant varier le taux de partage du diviseur D.BIO ($Z\%$). Le simulateur fournit les valeurs de tous les débits. Nous avons choisi de caractériser le fonctionnement de l'écosystème par un nombre limité d'entre eux : SCO₂, OXY, RECY, BRH, BSP, les pertes en biomasse (PERTES BIO=somme des courants BRH.EL, BCO.EL et BNC), ALNH₃.

Notons que les courants d'entrée ALNH₃ et OXY sont calculés par l'asservissement à des contraintes de débit sur la biomasse et l'oxygène.

Les résultats ont été exprimés en fonction du débit d'entrée de NH₃ ce qui constitue un mode d'expression représentatif pour l'écosystème. Cela permet d'établir, pour chaque valeur de $Y\%$, 11 courbes regroupées comme suit:

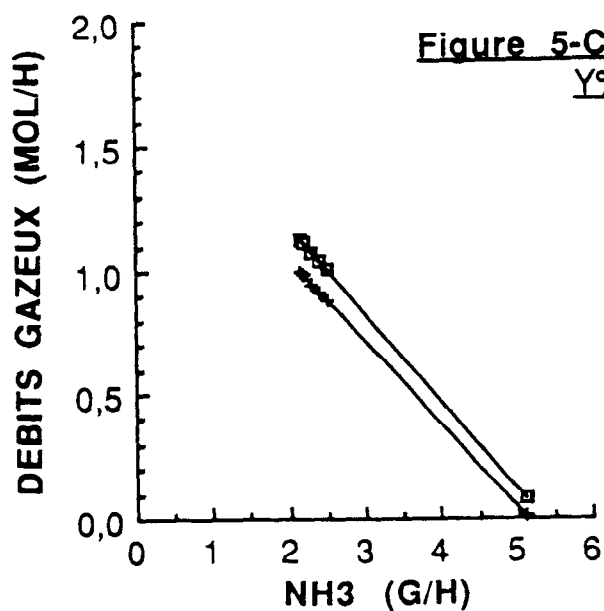
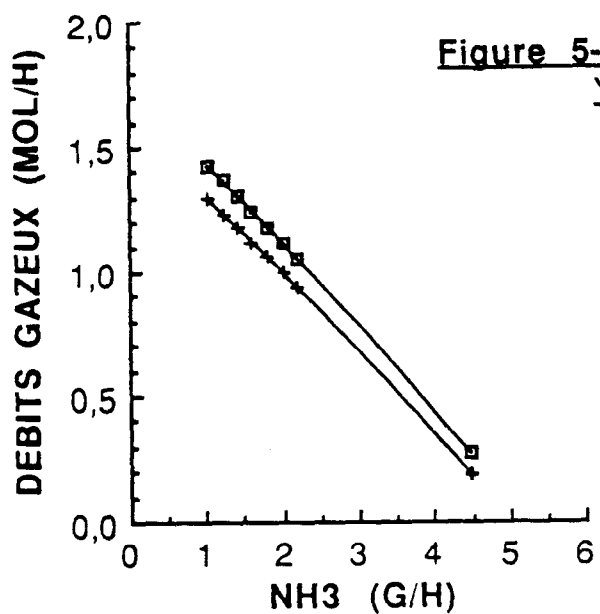
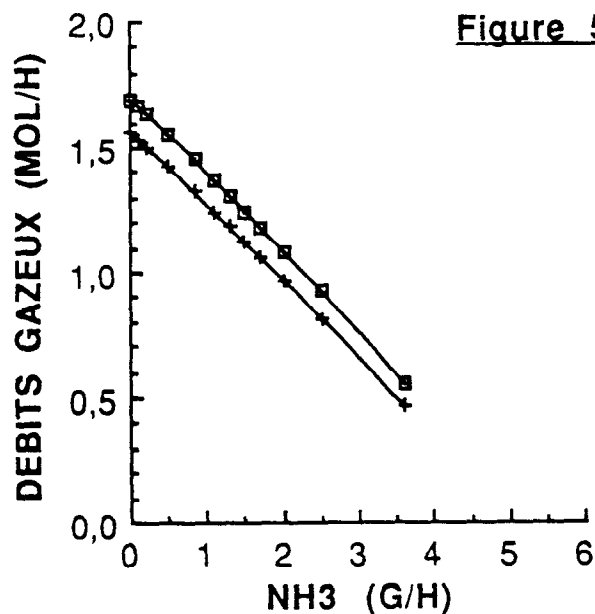
figure 5 : Les débits gazeux. (pertes en CO₂ (SCO₂) et alimentation extérieure en O₂.(OXY))

figure 6 : L'eau disponible pour le recyclage à la sortie de EXBIO 3 (RECY)

figure 7 : Les courants de biomasse (BRH, BSP, et biomasse perdue, consommable ou non).

figure 8 : Le taux de partage du diviseur D.RH ($Z\%$) et pourcentage massique de spirulines dans l'alimentation.

figure 9 : Les taux de recyclage : ils sont définis comme suit :



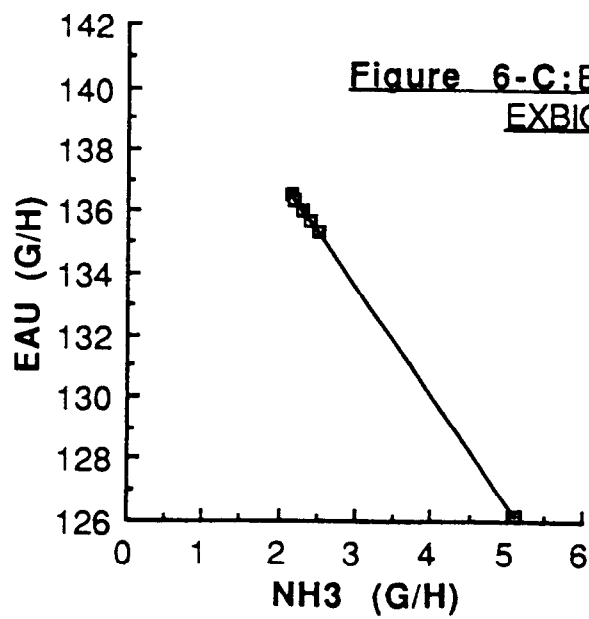
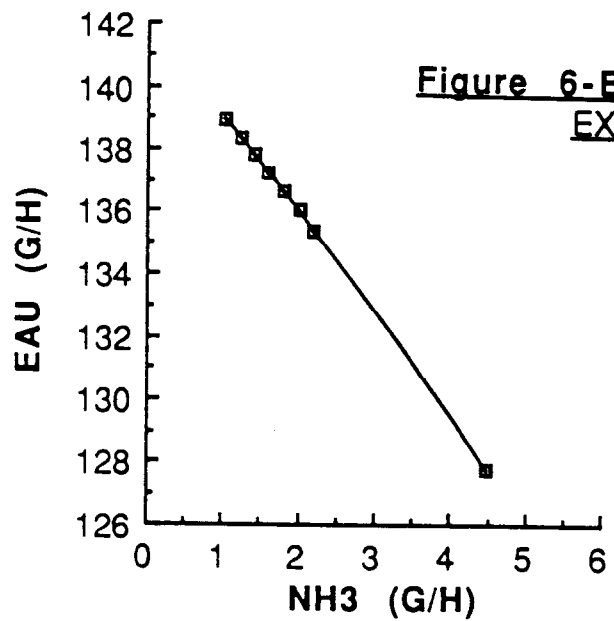
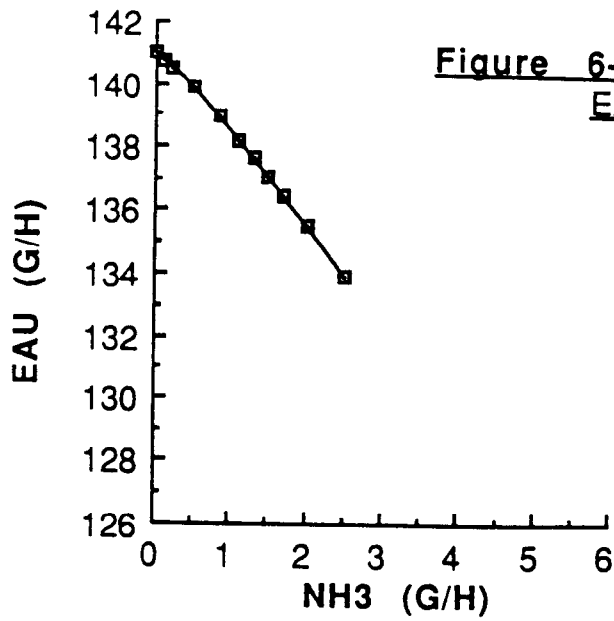


Figure 7-A: Les courants de biomasse pour
Y%=100%

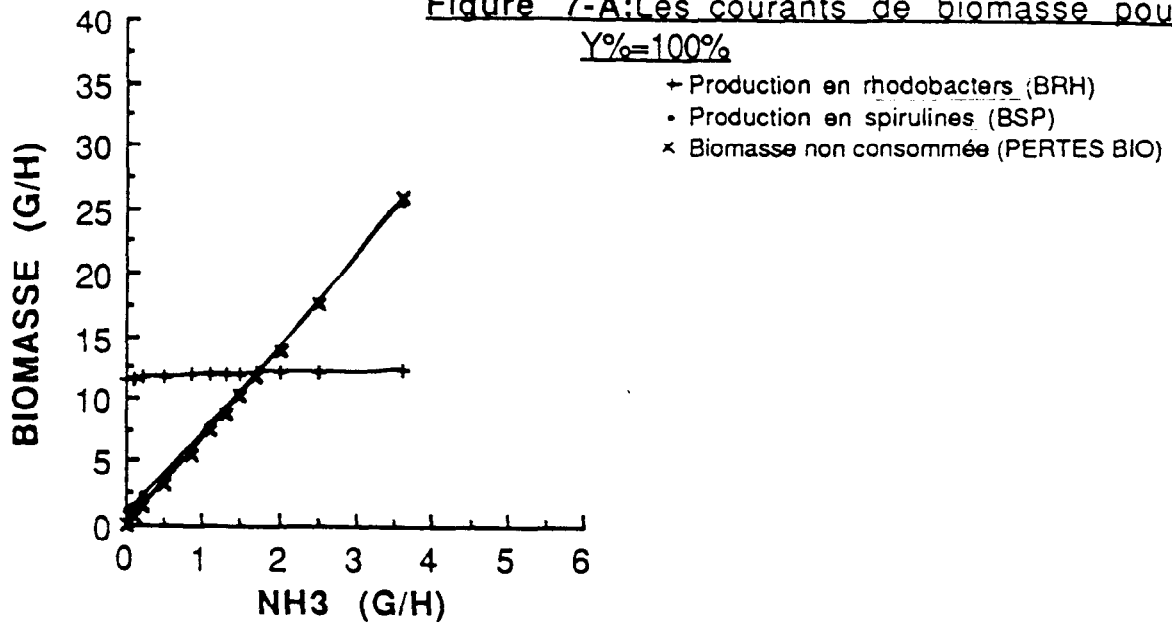


Figure 7-B: Les courants de biomasse pour
Y%=50%

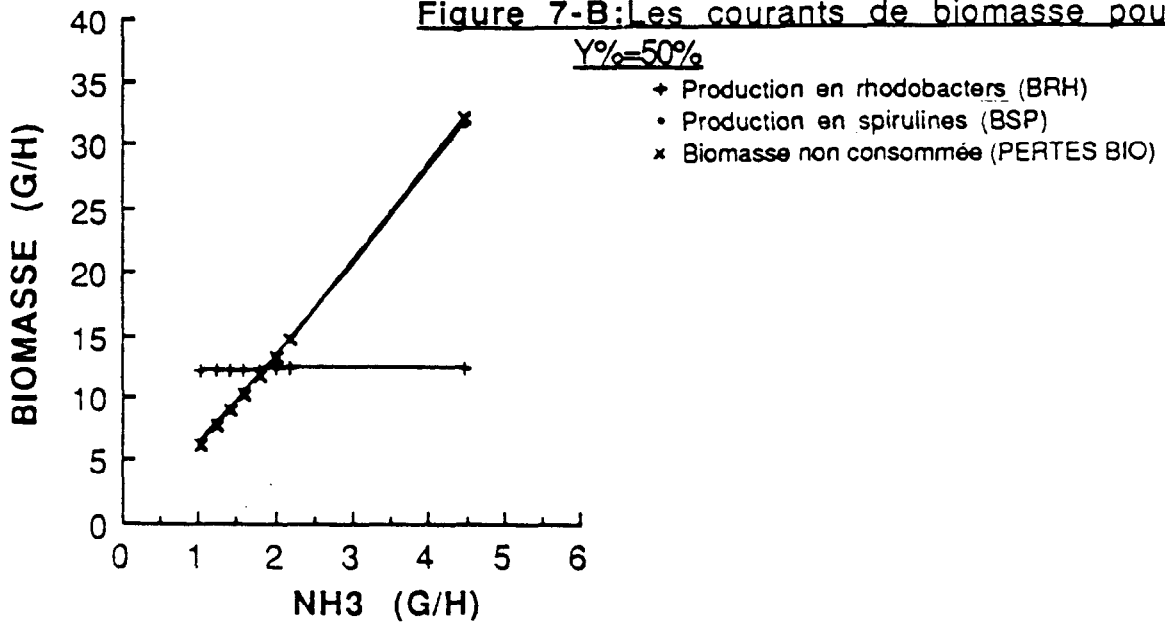


Figure 7-C: Les courants de biomasse pour
Y%=0%

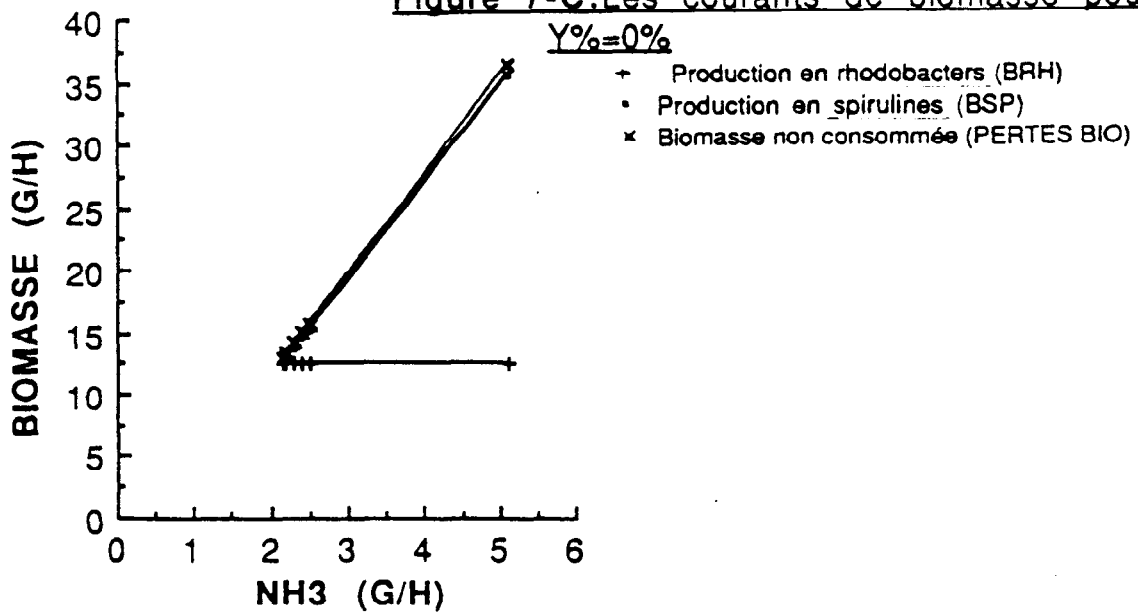


Figure 8-A: Z% et pourcentage massique de spirulines dans l'alimentation pour Y%=100%

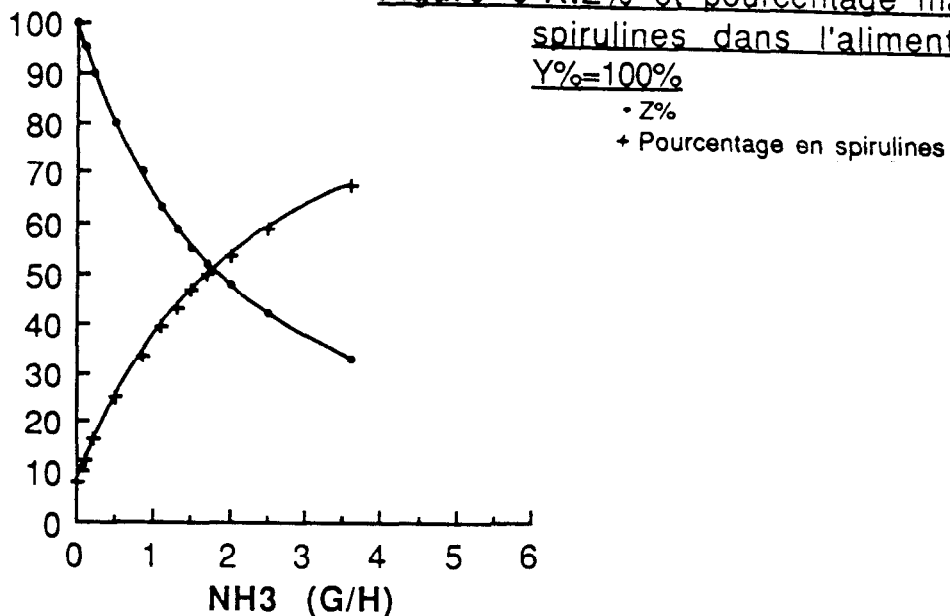


Figure 8-B: Z% et pourcentage massique de spirulines dans l'alimentation pour Y%=50%

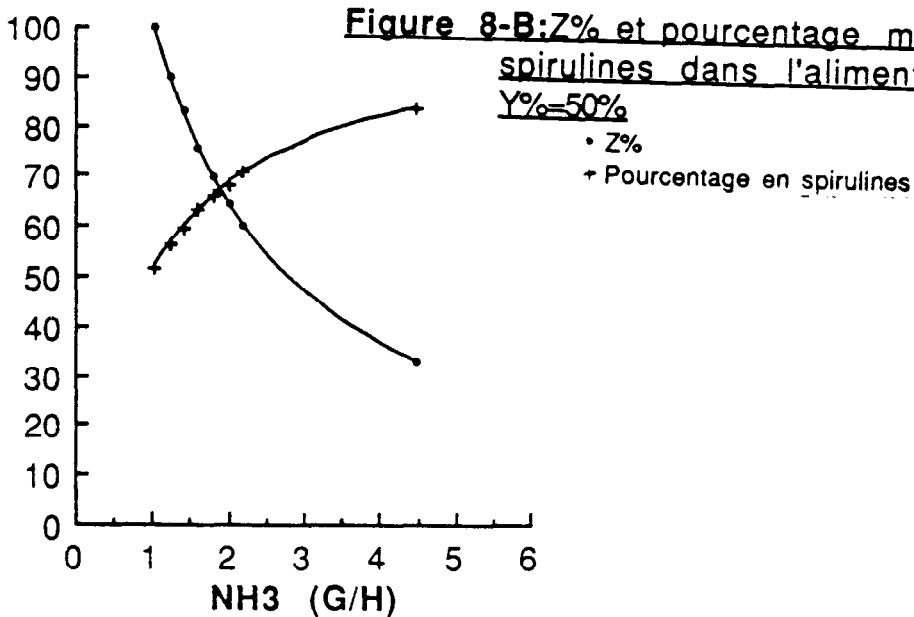
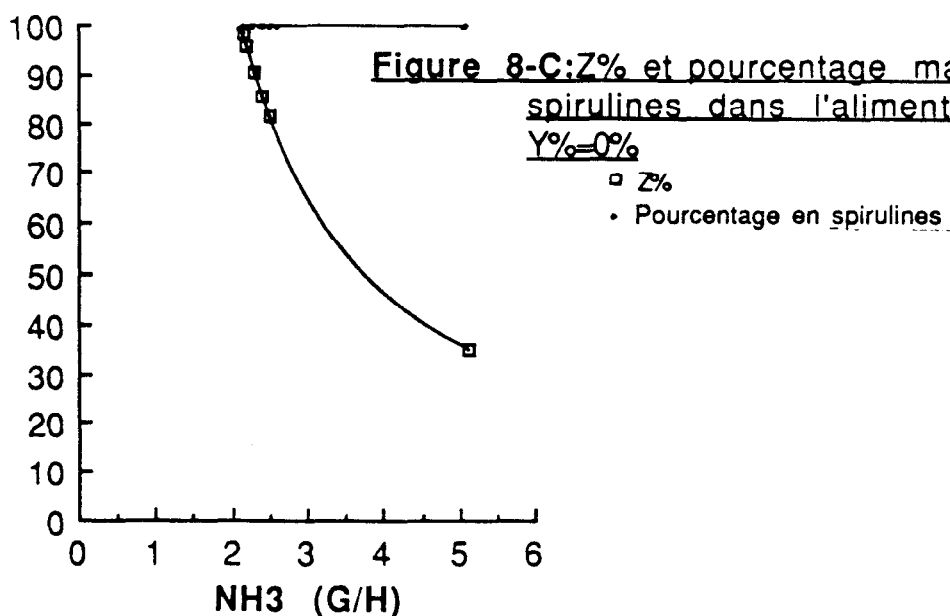
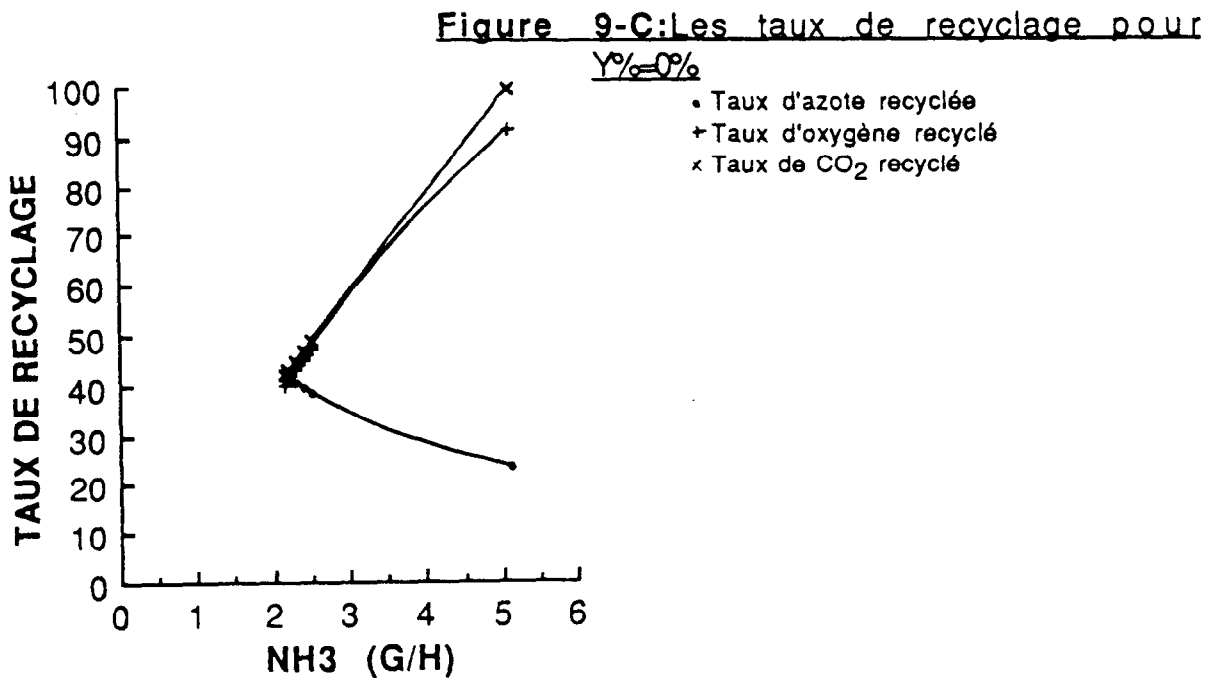
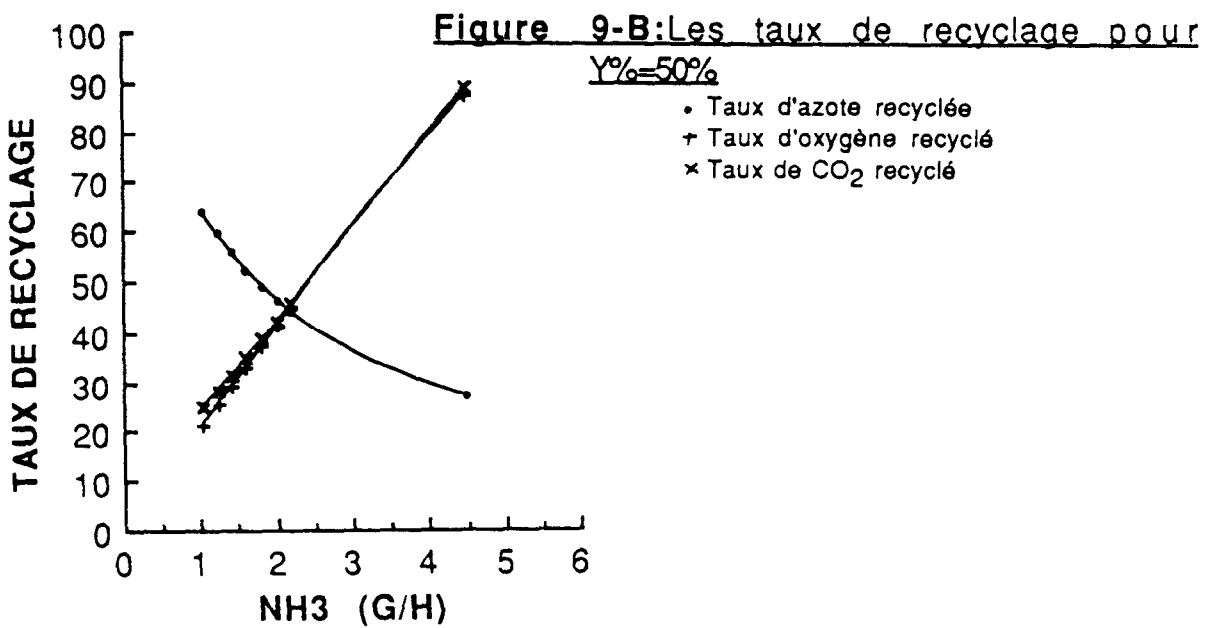
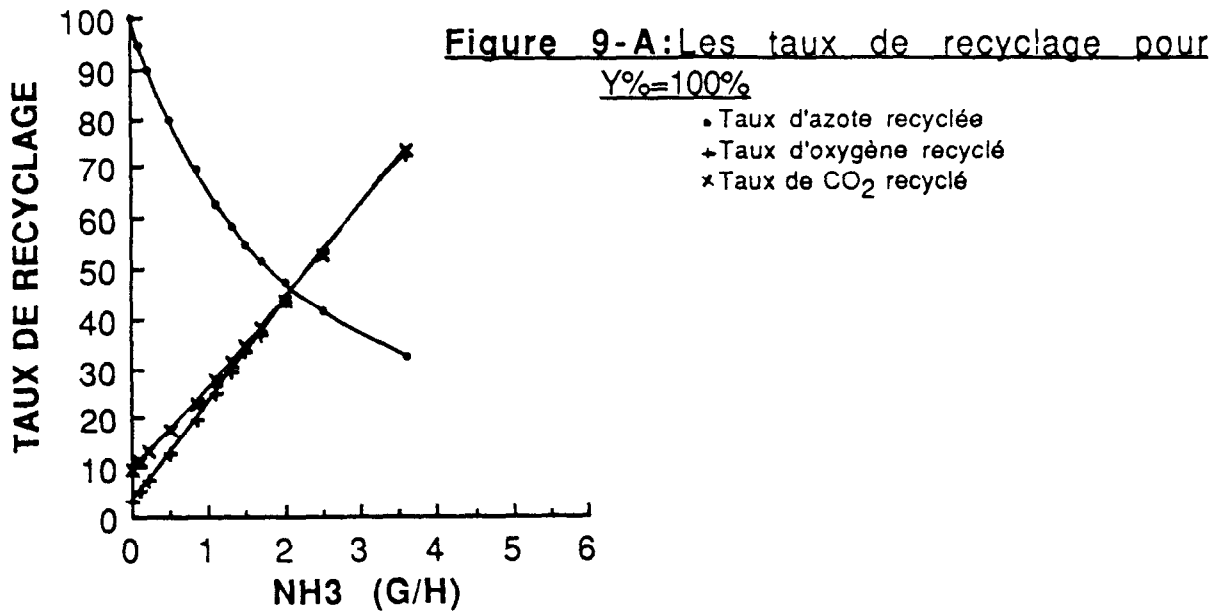


Figure 8-C: Z% et pourcentage massique de spirulines dans l'alimentation pour Y%=0%





pour l'azote

$$\%N = 1 - \frac{N \text{ introduit dans l'écosystème}}{\text{débit N maximal dans l'écosystème}^*} \times 100$$

*(en sortie du compartiment photohétérotrophe)

pour l'oxygène

$$\%O_2 = \frac{O_2 \text{ produit}}{O_2 \text{ consommé}} \times 100$$

pour le dioxyde de carbone

$$\%CO_2 = \frac{CO_2 \text{ consommé}}{CO_2 \text{ produit}} \times 100$$

2-1) Observations générales

On observe que pour Y% fixé, l'entrée de NH₃ (ALNH₃) est limitée à un domaine dont la borne inférieure est définie par les besoins en *Spirulines* pour l'alimentation et la borne supérieure par la quantité de CO₂ disponible pour les biosynthèses des autotrophes. On constate sur les 5 séries de 3 figures (A : Y% = 100%, B : Y% = 50%, C : Y% = 0%) la variation de la borne inférieure.

Y%	:	ALNH ₃ minimal (g/h)
100	:	0,0033
50	:	1,016
0	:	2,15

La valeur minimale de ALNH₃ nécessaire à l'alimentation en azote varie entre 0,0033 g/h et 2,15 g/h. Il existe aussi une valeur supérieure qui correspond au recyclage total du carbone. Celle-ci n'a pu être déterminée, des problèmes dans les séquences itératives des calculs du simulateur nous en ayant empêché. Sur l'ensemble des 3 cas on peut définir cependant un domaine général de variation de ALNH₃ de 0,0033 g/h à 5,1 g/h.

Sur le compartiment consommateur, nous avons pu déterminer un coefficient respiratoire moyen.

$$Q_r = \frac{O_2 \text{ consommé}}{CO_2 \text{ produit}}$$

Sa valeur moyenne est 1,08 (Q_r varie en fonction de l'alimentation en biomasse entre 1,07 et 1,09). Ce résultat est tout à fait conforme à ce qui est admis généralement pour l'homme.

2-2) Débits de gaz (Figures 5 A-B-C)

Dans les 3 cas, les débits diminuent avec l'augmentation de l'alimentation en NH_3 . L'écart entre l'oxygène consommé par l'écosystème et le CO_2 produit reste sensiblement constant, quels que soient $Y\%$ et $Z\%$. Les 3 figures semblent être superposables.

La figure 5-A, montre que pour la valeur minimale de $ALNH_3$ les entrées en O_2 (1,7 mol/h) sont maximales et la perte en CO_2 (1,56 mol/h) est maximale.

Sur la figure 5-C il apparait que même si l'écosystème peut utiliser tout le CO_2 (débit de sortie = 0,0092 mol/h) il faudra quand même maintenir une alimentation en oxygène (0,46 mol/h). Dans tous les cas l'entrée en O_2 est supérieure à la sortie en CO_2 (en moles).

2-3) Eau disponible pour le recyclage (Figures 6 A-B-C)

Globalement, quels que soient $Y\%$, $Z\%$ il y a production d'eau (on a 112,875 g/h en entrée sur les consommateurs). Avec la diminution de $Y\%$, pour $ALNH_3$ donnée, le débit d'eau augmente, mais très peu. Par contre, quel que soit $Y\%$, l'augmentation de $ALNH_3$ provoque une diminution importante du débit d'eau.

D'une manière générale, sur le domaine de variation de l'alimentation en NH_3 le plus étendu, le débit d'eau varie de 141 g/h à 126 g/h.

2-4) Courants de biomasse (Figures 7 A-B-C)

Pour $Y\% = 100\%$ (Figure 7-A) l'alimentation en NH_3 très faible, et les pertes en biomasse sont presque nulles (0,019 g/h). Mais la production en spiruline est alors également très faible (0,97 g/h).

Ces trois figures montrent que :

- les courbes de production de spirulines et de perte en biomasse sont confondues sauf pour les faibles valeurs de l'alimentation en NH_3 où la production est légèrement supérieure aux pertes (Figure 7-A) et pour les fortes valeurs de l'alimentation en NH_3 où la production est légèrement inférieure aux pertes (Figure 7-C);

- quels que soient $Y\%$, et $Z\%$, la quantité de *Rhodobacter* produite ne varie pas ou elle varie de manière négligeable;

- les pertes en biomasse et la production de spirulines augmentent avec l'entrée en NH_3 .

2-5) Composition de la biomasse consommée (Figures 8 A-B-C)

L'évolution du pourcentage massique de spirulines dans la consommation de biomasse, pour un mélange total des *Rhodobacter* et spirulines produits (Figure 8-A), montre que la composition ne peut dépasser 70% en spirulines, et ceci à condition d'avoir une entrée importante de NH_3 , donc une perte importante en biomasse. Cette observation suffit à justifier la présence du diviseur D.RH ($Y\%$) qui permet de choisir la composition de la biomasse consommée, en limitant l'entrée de NH_3 . Ainsi pour avoir une composition de 50% en spirulines, avec $Y\% = 100\%$, il faut 2 g/h de NH_3 (Figure 8-A) mais il suffit de 1 g/h avec $Y\% = 50\%$ (Figure 8-B).

On remarque que la diminution de $Y\%$ ne modifie pas la courbe qui est tracée sur la figure 8-A, mais la décale vers la droite.

2-6) Taux de recyclage (Figures 9 A-B-C)

Les différents taux varient peu avec $Y\%$. De ce fait, les trois figures permettent d'avoir une vision d'ensemble de la variation des taux de recyclage sur la totalité du domaine de variation de ALNH_3 (de 0,0033 g/h à 5,1 g/h).

Le taux de recyclage de l'azote suit une loi du type "décroissance exponentielle". De ce fait, même si pour 0,0033 g/h de NH_3 le taux de recyclage est maximal à 99,5%, une augmentation de l'alimentation pour les faibles valeurs de ALNH_3 fait diminuer rapidement le taux de recyclage (Figure 9-A). La figure 9-C permet de remarquer que le taux minimal de recyclage de l'azote est 23,5%.

Les taux de recyclage de O₂ et de CO₂ rendent compte de la fonction de régénération de l'atmosphère par l'écosystème. Les 2 taux sont confondus pour des valeurs moyennes de ALNH₃, mais pour de faibles valeurs (moins de 1,5 g/h, figure 9-A) ou de fortes valeurs (plus de 3,5 g/h, figure 9-C) le taux de recyclage de l'oxygène est inférieur à celui du CO₂. Les deux taux, dont les courbes varient de manière opposée au taux de recyclage de l'azote. Ainsi pour de bons taux de recyclage de l'azote on a de mauvais taux de recyclage de l'atmosphère, et inversement. Avec une entrée suffisante en NH₃ on peut recycler 100% du CO₂ et 90% de l'oxygène, mais le recyclage de l'azote devient alors minimal. La figure 9-B montre que pour 2,1 g/h de NH₃ les 3 taux de recyclage ont la même valeur : environ 45%. C'est peut-être dans cette zone qu'il faut chercher un compromis entre recyclage de l'azote et régénération de l'atmosphère.

2-7) Influence des différents paramètres

- Y% a une action plutôt limitée, mais cependant importante. Il permet de déterminer une composition de l'alimentation en limitant les entrées de NH₃, mais il impose ainsi une borne inférieure à ALNH₃.

- Z% est très peu dépendant de Y%, mais est très lié à la valeur de ALNH₃ (Figures 8 A-B-C).

- L'entrée en NH₃ joue un rôle déterminant. Elle conditionne les taux de recyclage, Z%, les sorties d'eau et de gaz (O₂ et CO₂).

2-8) Recyclage idéaux

Pour résumer, compte tenu du fait qu'il n'est pas possible de clore le système à la fois pour l'azote et pour les gaz, on peut définir deux situations dites idéales :

- la première assure le maximum de recyclage de l'azote.

Entrée d'azote ALNH ₃ (g/h)	Y%	Z%	SP %	N %	O ₂ %	CO ₂ %	Pertes en biomasse (g/h)
0,033	100	100	7,84	99,5	3,31	9,61	0,019

- la seconde assure l'élimination du CO₂ produit.

Entrée d'azote ALNH ₃ (g/h)	Y%	Z%	SP %	N %	O ₂ %	CO ₂ %	Pertes en biomasse (g/h)
5,1	0	35	100	23,5	91,2	99,53	36,5

CONCLUSION

La simulation de MELISSA avec les équations stoechiométriques établies pour les différents compartiments est possible. Cette simulation a permis de mettre en évidence des résultats dont les principaux sont les suivants :

- Le coefficient respiratoire moyen Q_{rm} , mesuré sur le compartiment consommateur, est conforme à ce que l'on sait sur le coefficient respiratoire d'un homme. Cela nous permet de dire que les équations établies pour simuler ce compartiment semblent réalistes.

- Les différentes simulations ont permis de mettre en évidence un point important pour l'écosystème à savoir qu'un très bon taux de recyclage de l'azote et une très bonne fonction de régénération de l'atmosphère sont incompatibles. En jouant sur l'alimentation en NH_3 du compartiment photohétérotrophe, on peut recycler l'azote à 99,5% ce qui constitue le meilleur recyclage de l'azote ; les seules pertes en azote sortant du système sont dues à la biomasse non consommable. On peut aussi recycler le CO_2 à 99,5% si on accepte de fournir plus de NH_3 au niveau de ce compartiment. Il est également concevable de définir des valeurs de $ALNH_3$ et de $Y\%$ permettant un compromis entre taux de recyclage de l'azote et régénération de l'atmosphère, tout en limitant les pertes en biomasse. Cette alimentation en azote joue donc un rôle clef pour l'écosystème.

- L'élimination de la matière organique par les phototrophes anoxygéniques conduit à la production d'une biomasse (*Rhodobacter*) importante. Cette production n'est pas contrôlable, et elle joue un rôle important dans les problèmes de composition de la biomasse consommée (pourcentage de spirulines dans la biomasse consommée) et de pertes en biomasse.

- MELISSA produit suffisamment d'eau pour l'alimentation des consommateurs, mais il reste à savoir quelle quantité peut être effectivement recyclée pour la consommation.

Ce premier essai de simulation de l'écosystème MELISSA apporte des résultats intéressants. Il ne faut cependant pas oublier que cette simulation n'est basée que sur des équations stoechiométriques, établies avec des hypothèses les plus raisonnables possibles mais qui doivent être vérifiées, et qui sont susceptibles d'être modifiées. De plus pour la rendre plus réaliste il va maintenant être nécessaire, de faire la différence entre les courants gazeux et liquides, et d'effectuer également des bilans énergie sur l'ensemble du système.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CORNET J.F. (1989). Résultats non publiés

DUSSAP C.G. (1990). ESA Contract 8125/88/NL/FG. Technical notes 9.2 . Main metabolic features of Clostridia species.Mass balance on the liquefying compartment.

DUSSAP C.G. (1991). ESA Contract 8125/88/NL/FG. Technical note 9.3. Rodospirillaceae compartment.

DUTTON P.L. et PRINCE R.C. (1978). The photosynthetic bacteria. (R.K. CLAYTON , W.R. SISTROM, eds).Plenum Press , 526-610.

HANDBOOK OF CHEMISTRY AND PHYSICS (1972-1973).3^{eme} edition (WEAST ed). CRC Press

ANDREESSEN J.R. et al.(1989). Clostridia (Nigel P. MINTON , David J. CLARKE,eds) Biotechnology Handbooks. Plenum Press , 42-43.

LEISEIFER H.P.,SKOOG A.I. et BROUILLET A.O. (1983) Biological life support system. Proceeding of the international Symposium on "Environnemental and Thermal systems for space vehicles". Toulouse France ,4-7 oct 1983 (E.S.A,SP 200,December 1983),289-298.

SKOOG A.I. et BROUILLET A.O. (1981) Trends in space life support -Acta Astronautica , 6 n°9-10 ,1135-1146.

LABORATOIRE DE **G**ENIE **C**HIMIQUE **B**IOLOGIQUE

Université Blaise Pascal – Clermont–Ferrand II

**ESTEC Contract 8125/88/NL/FG
WP 14**

**SIMULATION DES FLUX DE MATIERE DANS
L'ECOSYSTEME MELISSA**

**ETUDE DES CONTRAINTES D'AEROBIOSE ET
D'ANAEROBIOSE DANS LES COMPARTIMENTS**

TN 14.2

C.G. DUSSAP, J.B. GROS

Décembre 1991

24 avenue des Landais
63177 AUBIERE CEDEX

Téléphone 73 40 74 30
73 40 74 29
Télécopie 73 40 75 10

INTRODUCTION

Le rapport TN 14.1 "simulation des flux de matière dans l'écosystème MELISSA" a représenté la première étape de la simulation de la boucle complète constituée par les cinq compartiments de l'écosystème. La simulation, basée sur des relations stoechiométriques et des taux de conversion unitaires pour les constituants clefs de chaque compartiment, ne comportait pas de distinction entre phases gazeuse, liquide et solide.

Le présent rapport prend en compte ces différences. En effet, la succession des compartiments fonctionnant en anaérobiose et en aérobie entraîne de fortes contraintes sur les flux, d'un compartiment à l'autre, de constituants tels que O_2 , et H_2 ; de même le comportement des compartiments photosynthétiques dépend étroitement de la répartition du gaz carbonique entre les phases gazeuse et liquide.

La répartition des constituants entre les phases sera calculée en supposant que les compartiments sont parfaitement mélangés et que l'équilibre thermodynamique est réalisé. Ceci permettra une première estimation des problèmes liés aux contraintes d'anaérobiose et d'aérobiose des différents compartiments.

MODIFICATION ET EXTENSION DU PROGRAMME DE SIMULATION

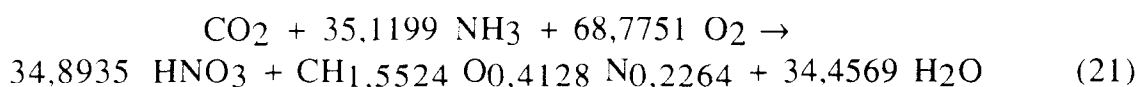
Le logiciel de simulation, en régime permanent, de MELISSA a subi quelques modifications par rapport au programme décrit dans TN 14.1. Ces modifications concernent :

- le compartiment nitrificateur
- la prise en compte des équilibres liquide-gaz dans les compartiments
- l'extraction de la biomasse
- l'introduction des contraintes d'aérobiose et d'anaérobiose.

I - Simulation des compartiments - Compartiment nitrificateur

Le principe de la simulation des compartiments n'a pas été modifié. Chaque compartiment est simulé par un ensemble de relations stoechiométriques traduisant les réactions de catabolisme et d'anabolisme des microorganismes du compartiment. Le taux de transformation du constituant entrant choisi comme constituant-clé est égal à 1.

Les relations stoechiométriques utilisées sont celles données dans TN 14.1. L'équation décrivant le compartiment nitrificateur a été modifiée. La nouvelle équation a été établie à partir de la relation (9) simplifiée pour le soufre et le phosphore et de la relation (14) en supposant que seulement 5% de l'énergie (ATP et NADH, H⁺) produite par l'oxydation de NH₃ est utilisée pour la synthèse de biomasse. Cette hypothèse qui correspond à une hypothèse basse d'utilisation de l'énergie semble plus réaliste, compte-tenu des conditions de culture, que celle de 20% précédemment adoptée qui correspondait à l'hypothèse haute. Ceci conduit à :



II - Equilibres entre phases

On considère que seuls les constituants O₂, H₂, CO₂ et H₂O peuvent être présents en phase gazeuse ou sous forme de gaz dissous. Les onze autres constituants pris en compte lors de la simulation n'interviendront que sous forme liquide (ou solide pour la biomasse). On considère également que les transferts entre phases sont suffisamment intenses pour que, à la sortie des compartiments, l'équilibre thermodynamique soit réalisé. La répartition d'un corps *i* entre les phases gazeuse et liquide est alors donnée par le coefficient de partage ou la constante d'équilibre k_i .

$$k_i = \frac{y_i}{x_i}$$

y_i désigne la fraction molaire de *i* en phase gazeuse, x_i la fraction molaire de *i* dans la phase liquide. k_i peut être exprimé dans le cas général à partir de la tension de vapeur de *i* pur, du coefficient d'activité en phase liquide γ_i et du coefficient de fugacité v_i

$$k_i = \frac{\gamma_i P_i^0}{v_i P_t}$$

P_i^0 désigne la tension de vapeur de *i* à la température du système et P_t la pression totale. Quand le système peut être considéré comme idéal (phase vapeur parfaite, solution idéale), $\gamma_i = 1$ et $v_i = 1$. k_i ne dépend alors que de la température et de la pression totale. Pour MELISSA, la phase gazeuse peut être considérée comme parfaite, mais pas la phase liquide ; k_i dépend en toute rigueur de tous les composés présents dans le mélange et de leurs fractions molaires respectives dans le mélange. Compte-tenu des incertitudes portant sur la description des compartiments par des relations stoechiométriques, il semble raisonnable pour des premières simulations de considérer que la valeur de la solubilité de ces constituants dans l'eau pure donne un ordre de grandeur satisfaisant.

Les constantes d'équilibre ont donc été calculées pour $T = 25^\circ\text{C}$ et sous une atmosphère de gaz à partir de résultats expérimentaux sur la solubilité dans l'eau pure (Degrémont, 1978).

$$\begin{aligned}k_{O_2} &= 43969 \\k_{CO_2} &= 1640 \\k_{H_2} &= 71105\end{aligned}$$

Par ailleurs

$$k_{H_2O} = 0,03126$$

L'équilibre entre phases est réalisé en plaçant un module de détente isotherme après les modules simulant le fonctionnement du compartiment.

III - Extraction de la biomasse

La biomasse extraite est composée de matière sèche et d'eau, l'eau représentant environ 70% de la masse totale de l'organisme. Pour réaliser une telle extraction, un module est utilisé; il mesure la quantité de biomasse (MS) dans le courant entrant et en déduit la quantité d'eau associée:

$$N_{H_2O} = N_{BIO} \frac{0,7}{0,3}$$

Le module fonctionne alors comme un extracteur :

- l'un des courants contient la biomasse (MS) et l'eau associée,
- l'autre courant contient le reste du courant entrant.

IV - Recyclages et contraintes

Comme le programme utilisé pour le rapport précédent, ce programme possède une boucle de recyclage de l'oxygène couplée avec une alimentation extérieure en oxygène afin de maintenir constante l'atmosphère des consommateurs. Il conserve également, pour la boucle de recyclage de la biomasse, les degrés de liberté Y% et Z%.

Certains compartiments sont strictement anaérobies. Le flow sheet a donc été établi afin de respecter les contraintes liées à l'anaérobiose et l'aérobiose des différents compartiments.

Par ailleurs, les modules simulant une opération particulière ont été utilisés :

-TECH1 simule l'élimination de l'oxygène dans un courant liquide alimentant un compartiment anaérobie,

-TECH2 simule la récupération de tout l'oxygène dans un courant gazeux,

-TECH3 simule la récupération du CO₂ dans un courant gazeux.

Le schéma de circulation des fluides entre les compartiments de MELISSA, comprenant les entrées, les sorties et les contraintes est donné sur la figure 1. Sur la figure 2 est reporté le diagramme de simulation comportant les noms des différents modules utilisés et les noms des courants de fluides circulant entre les modules.

Les simulations ont été effectuées pour les valeurs des entrées :

- glucose : 900 g/jour (37,5 g/h)
- acide palmitique : 120 g/jour (5 g/h)
- eau : 2,709 l/jour (112,875 g/h)

Les alimentations en oxygène et en NH₃ sont déterminées à partir des contraintes sur l'oxygène à l'entrée du compartiment consommateur et sur la biomasse à l'entrée du même compartiment.

Les degrés de liberté sont considérés de la façon suivante : Y% est fixé à 100%, ce qui signifie que toute la biomasse constituée par Rhodobacter est disponible pour l'alimentation et mélangée avec les spirulines ; Z% reste l'unique variable de simulation et sa valeur permet le calcul du débit de NH₃ entrant.

Enfin on a considéré que le module de séparation TECH3 permettait la récupération de 90% du CO₂ gazeux contenu dans le courant gazeux (DEV) sortant du compartiment consommateur.

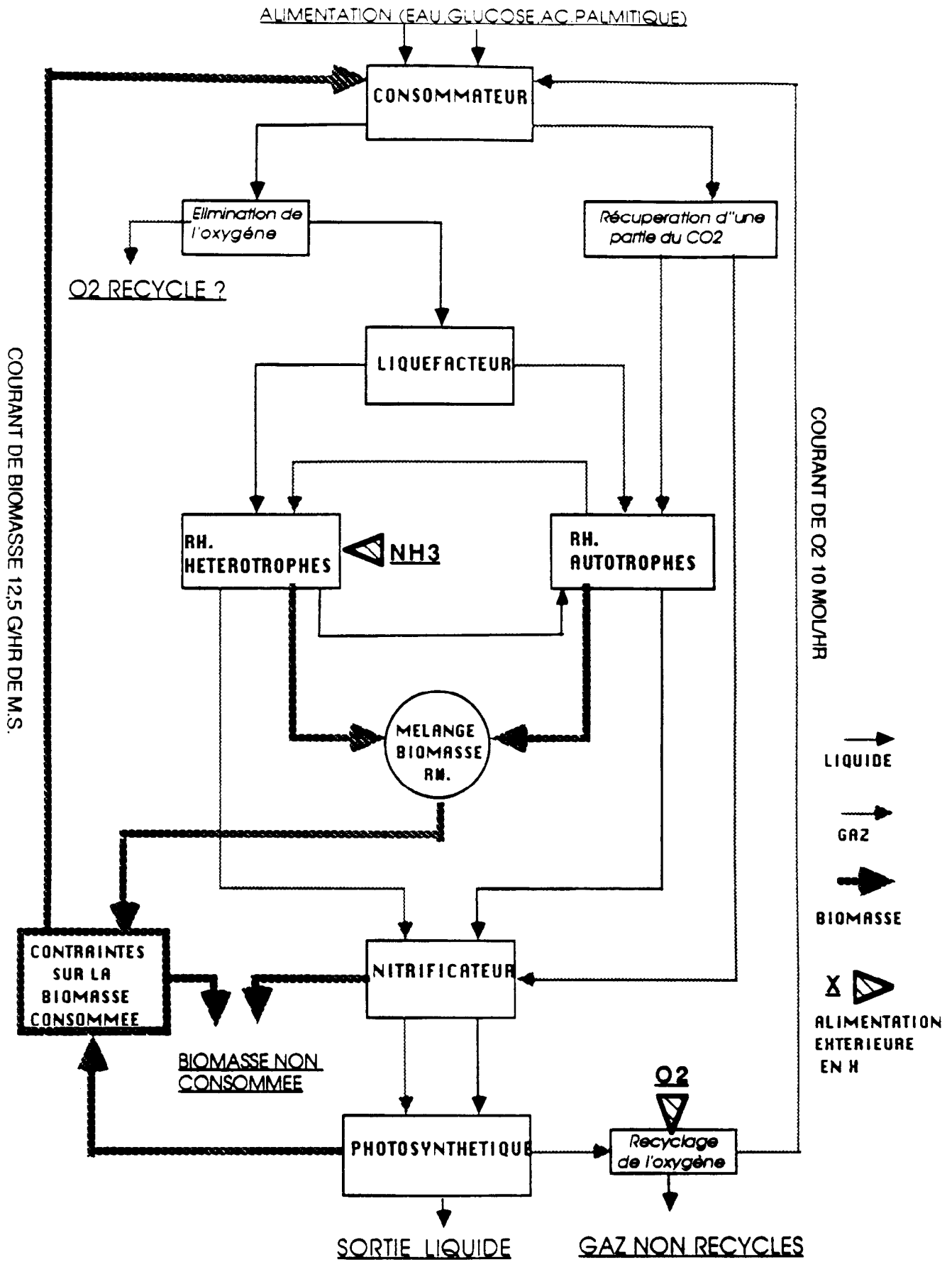


Figure 1 : Flow-sheet des circulations de fluides dans MELISSA

RESULTATS

Les résultats ont été exprimés en fonction du débit d'entrée en NH_3 (ALNH_3), ce qui constitue la représentation la plus commode du comportement de l'écosystème.

I - Débits liquides (figure 3)

Les débits restent sensiblement constants lors de l'augmentation de l'alimentation en NH_3 (ALNH_3). Les débits de sortie des compartiments nitrificateur (NIL) et photosynthétique (RECY) varient en sens inverse (NIL augmente avec l'augmentation de l'alimentation en NH_3 alors que RECY diminue) bien que ces compartiments se succèdent.

II - Débits gazeux (figure 4)

Les simulations font apparaître 2 catégories de courants gazeux :

- ceux supérieurs à 8 mol/h, qui comportent de l'oxygène,
- ceux inférieurs à 2 mol/h qui ne comportent pas d'oxygène ce sont les courants reliant les compartiments anoxygéniques.

Comme les débits liquides, les débits gazeux varient peu avec l'augmentation de l'alimentation en NH_3 , à l'exception des débits des courants NIV et T2, respectivement les courants de sortie du compartiment nitrificateur et de l'écosystème MELISSA. T2 représentant les pertes en gaz pour l'écosystème, on remarquera que ces pertes diminuent avec l'augmentation de NH_3 , ce qui a déjà été signalé dans TN 14.1.

On remarque également que si le débit liquide à la sortie du compartiment photosynthétique (RECY) décroît fortement avec l'augmentation de NH_3 , le débit gazeux reste stable.

III - Débits d'eau dans les courants liquides et gazeux (figures 5 et 6)

L'eau étant le composant essentiel des courants liquides, il est normal de trouver une similitude des profils entre les débits d'eau dans les courants liquides et des débits liquides totaux. On remarque cependant un fort décalage pour NIL entre le débit d'eau

Figure 3

Debits liquides en sortie des compartiments

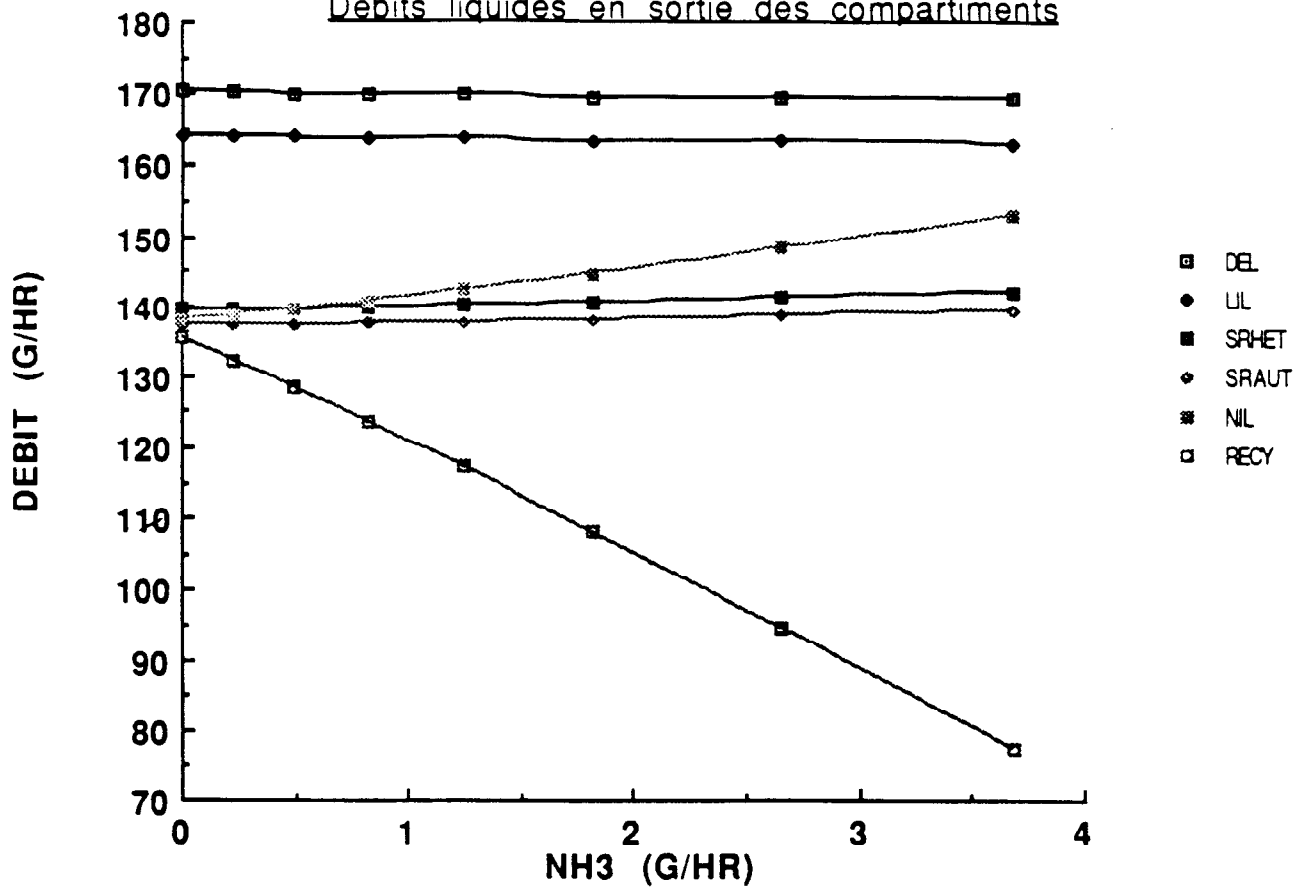


Figure 4

débits de gaz en sortie des compartiments

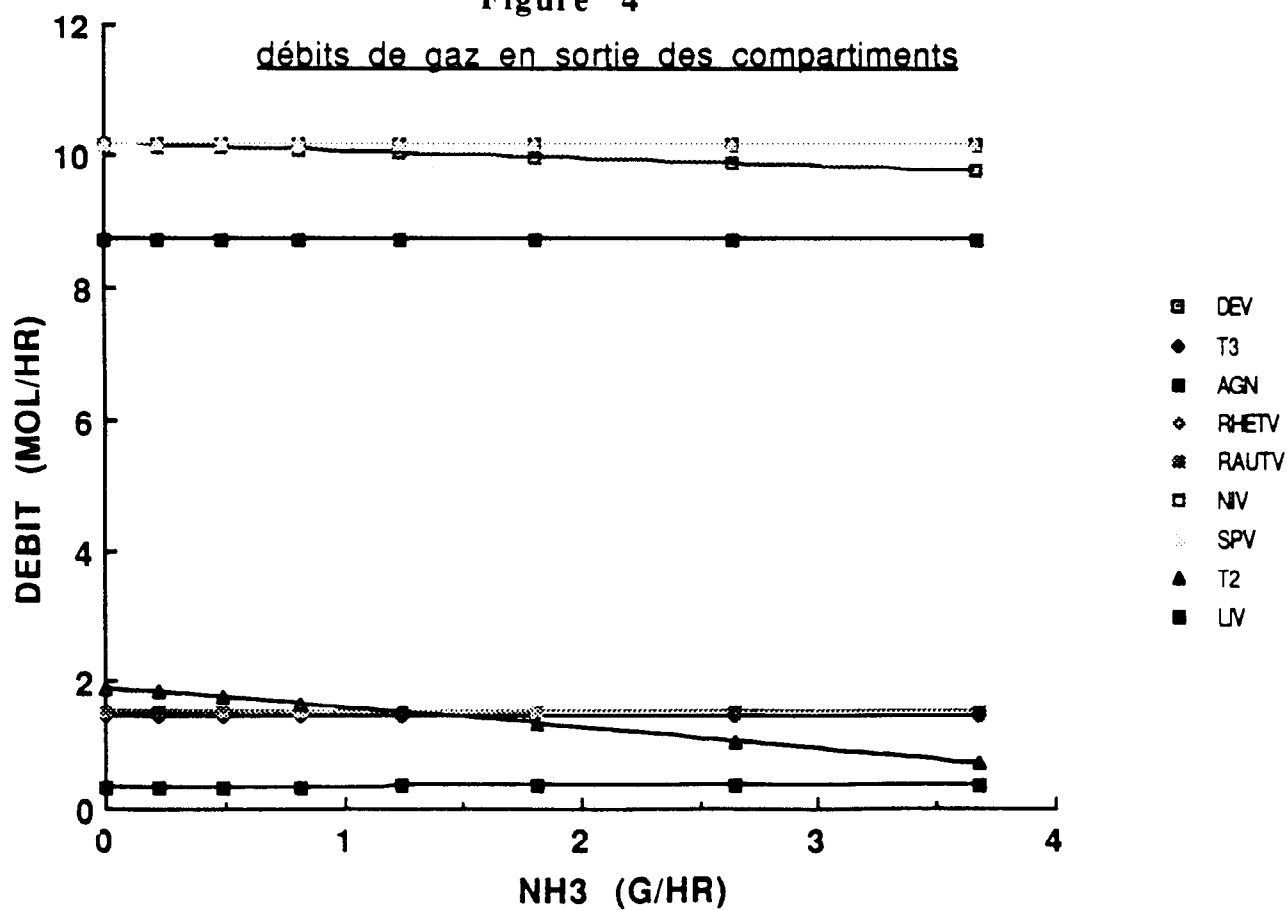


Figure 5

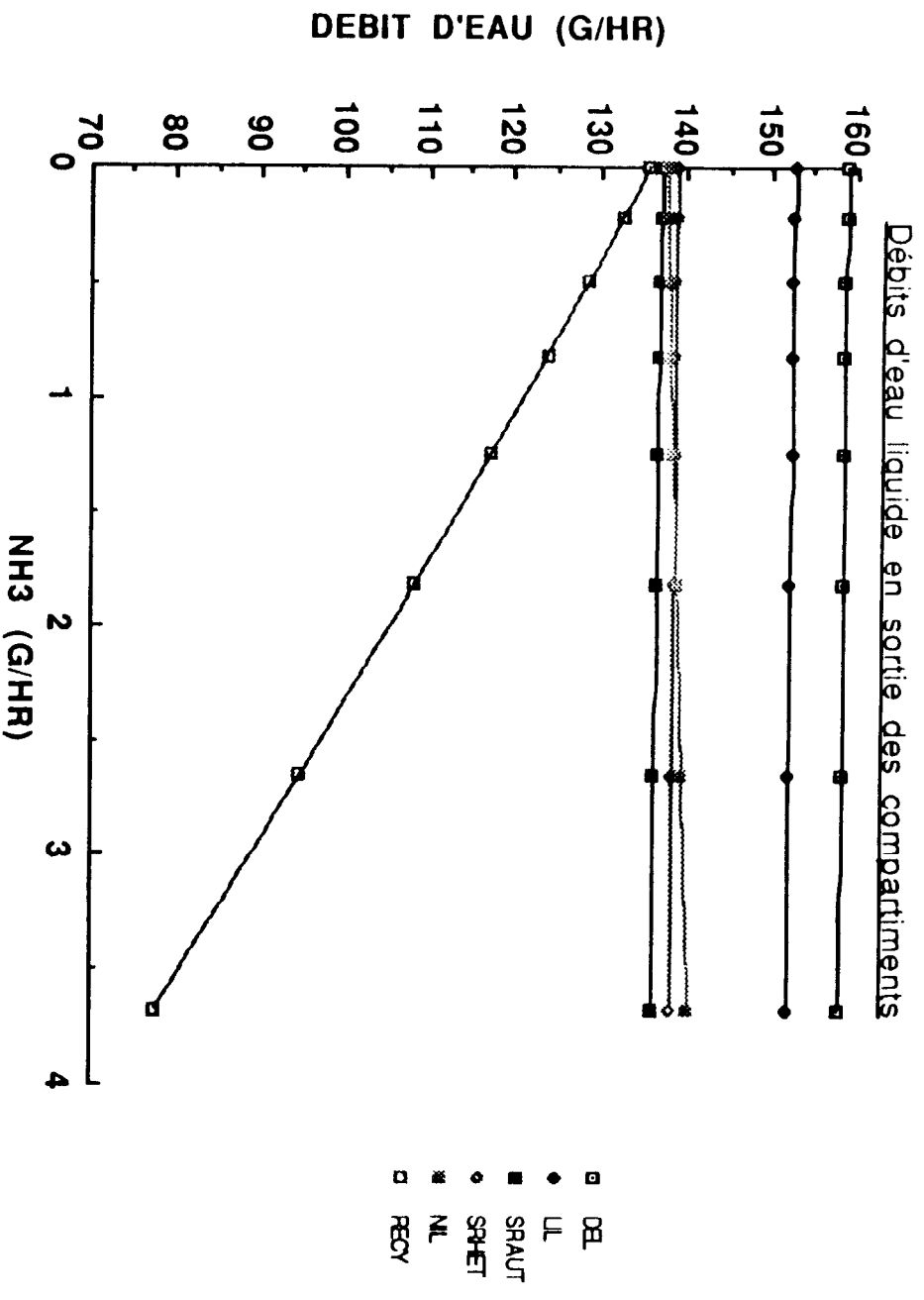
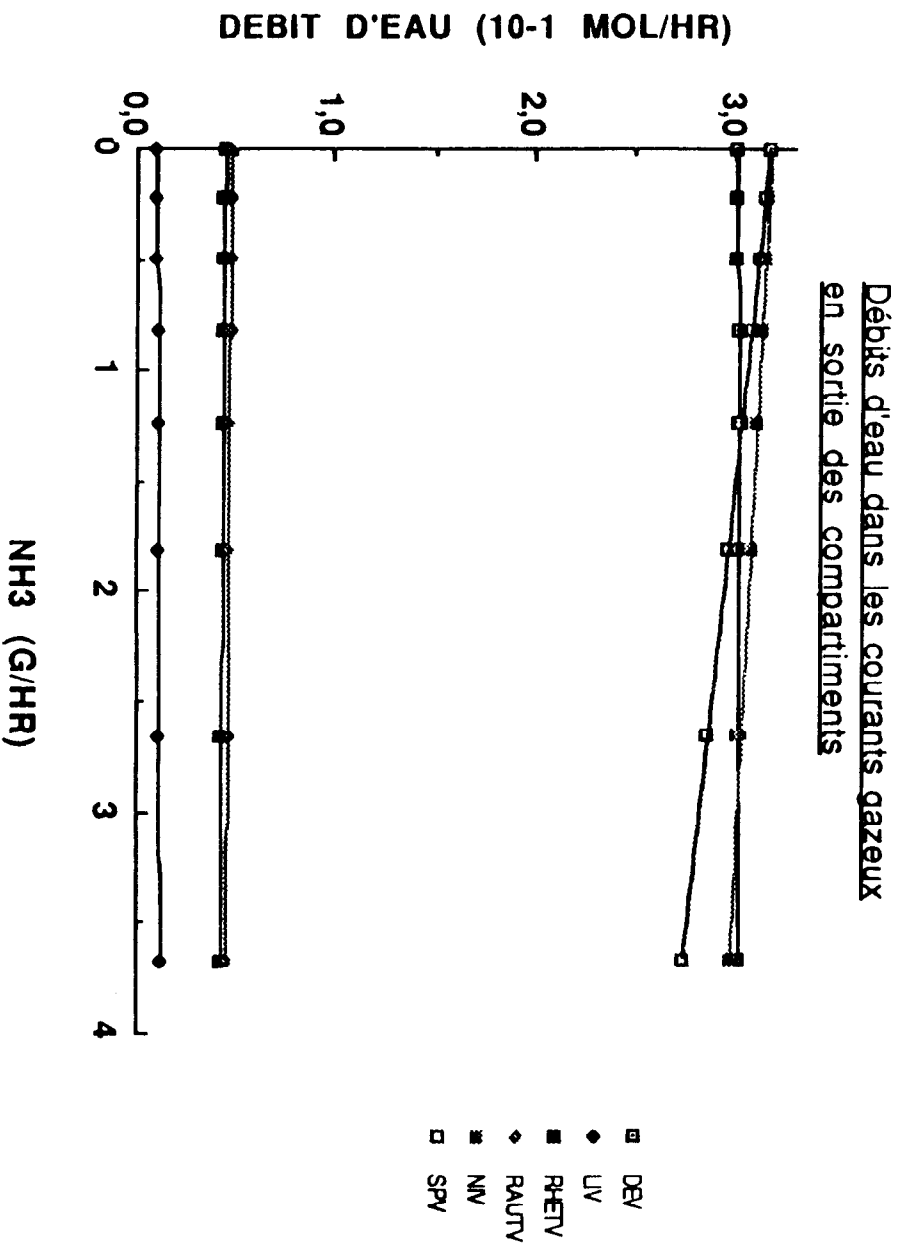


Figure 6



et le débit total. En fait cette différence provient du fait que le débit est exprimé en g/h et que HNO₃ a une masse molaire beaucoup plus élevée que NH₃. Ce décalage attire cependant l'attention sur le fait que ces concentrations en NH₃ et HNO₃ doivent être tolérées par les microorganismes.

La diminution du débit liquide entre DEL et LIL à SRAUT et SRHET est surtout dûe à l'eau formant la biomasse.

Pour le débit d'eau dans RECY, l'eau comprise dans la biomasse contribue également à réduire le débit, mais comme cela a été montré dans le rapport TN 14.1, il y a quand même une diminution globale du débit d'eau en sortie de MELISSA indépendamment de l'eau comprise dans la biomasse. On voit d'ailleurs que dans le courant gazeux SPV, dont le débit en eau est indépendant de la biomasse formée, le débit d'eau diminue.

Les autres débits d'eau dans les courants gazeux ont des profils strictement identiques à ceux des débits gazeux totaux.

IV - Débits d'hydrogène dans les courants gazeux et liquides (figures 7 et 8)

H₂ est produit uniquement au niveau du compartiment liquéfacteur. On remarque que, le débit d'hydrogène augmente notablement, avec l'augmentation de NH₃, compte tenu des faibles quantités produites. Ceci est dû à la dégradation des protéines provenant des spirulines qui produit plus de H₂ que les protéines de *Rhodobacter*. Comme la biomasse consommée est plus riche en spirulines lorsque NH₃ augmente, la production en H₂ augmente.

On remarque également que l'installation schématisée sur la figure 1 ne permet pas l'élimination de tout l'oxygène produit : on retrouve de l'hydrogène en phase vapeur et liquide après le compartiment des phototrophes anoxygéniques. A la sortie du liquéfacteur, l'hydrogène dissous dans le courant liquide LIL (environ 10⁻⁴ mole/h) n'est pas éliminé car il ne passe pas dans le compartiment des photoautotrophes, mais dans celui des photohétérotrophes. Par la suite, l'absence de H₂ sous forme de gaz dans le compartiment des photohétérotrophes permet à une partie de cette fraction dissoute de repasser sous forme de gaz. Or ce courant gazeux est directement envoyé vers le compartiment nitrificateur.

Débites d'hydrogène dans les courants liquides en sortie des compartiments

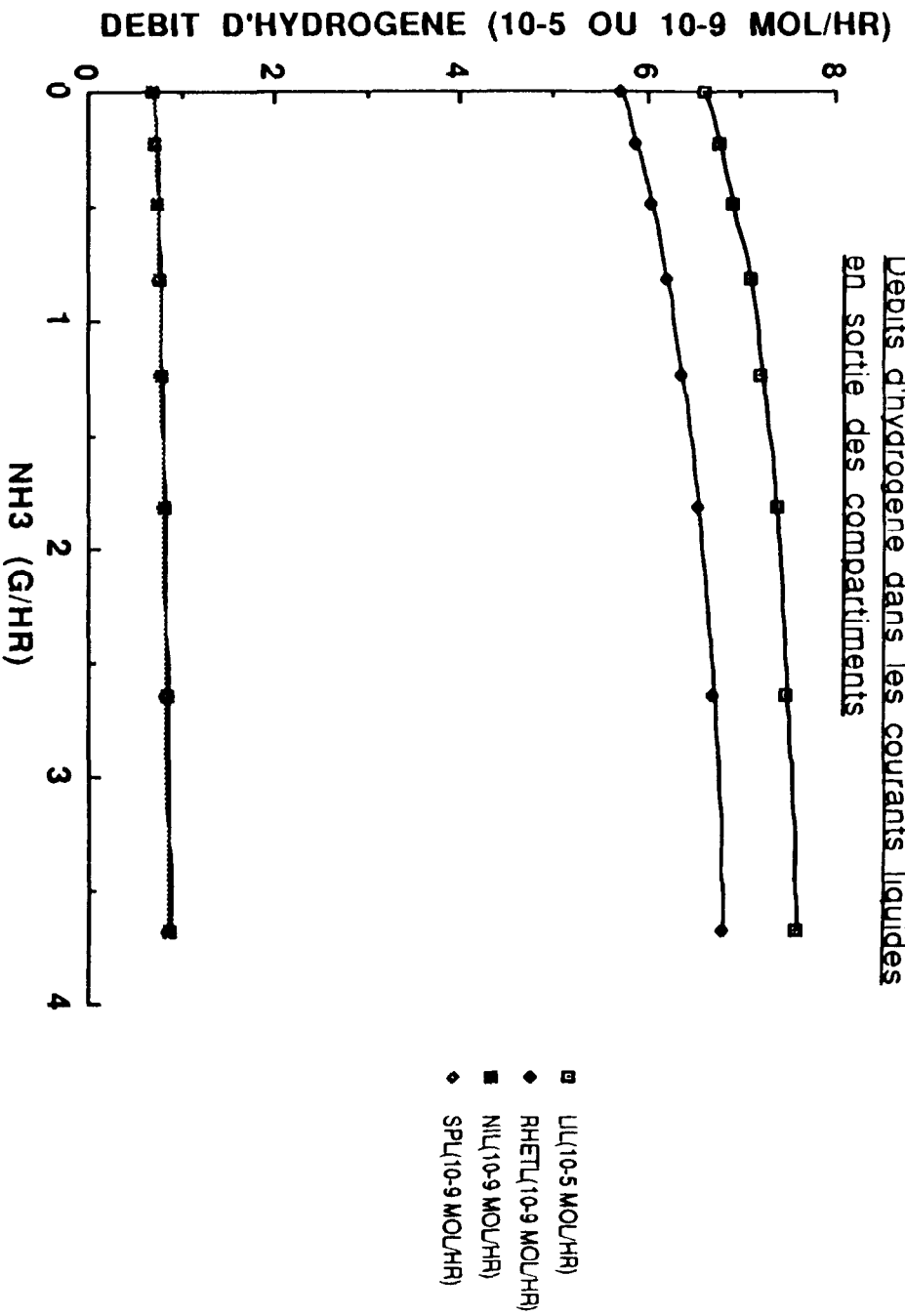
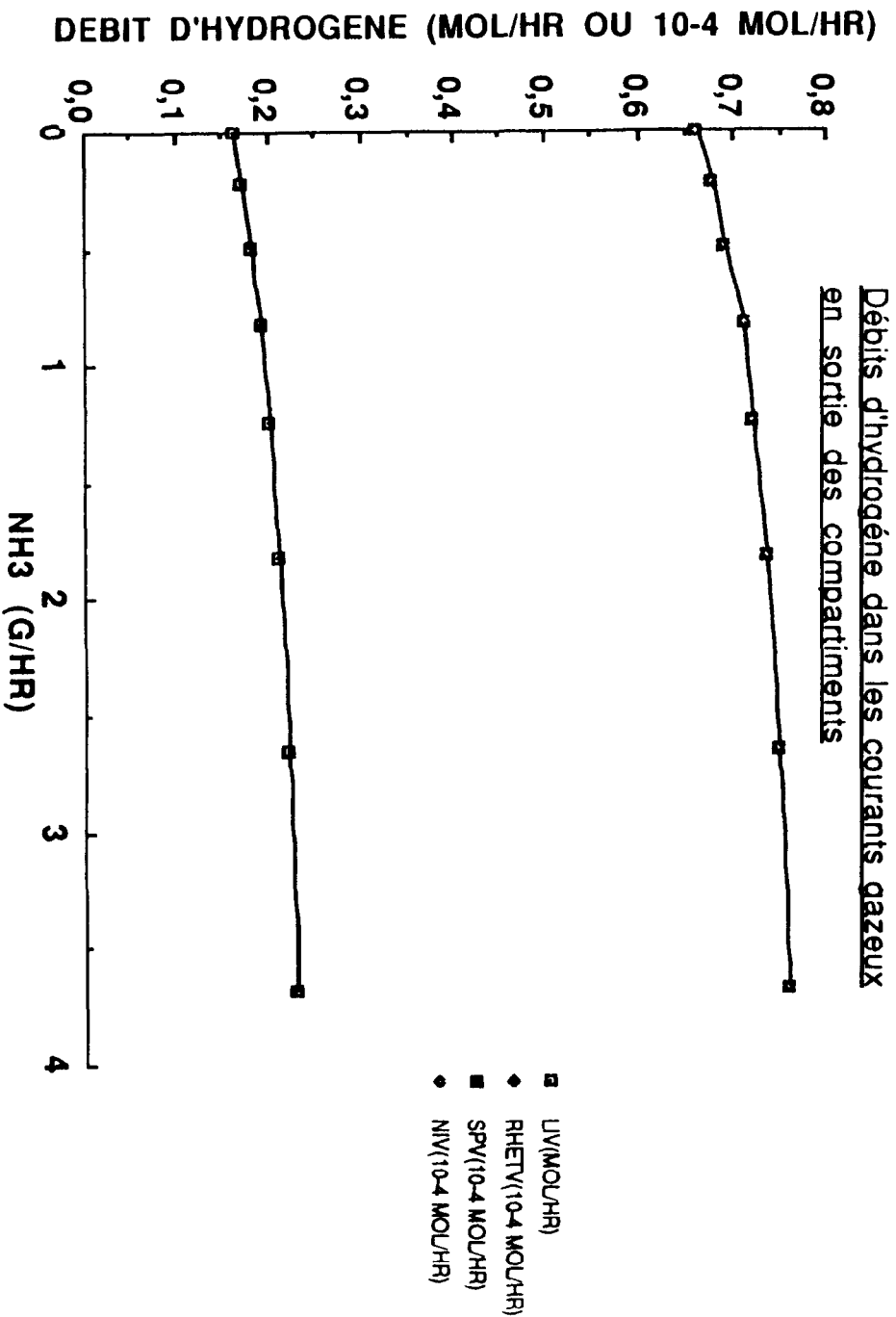


Figure 8



V - Débit de CO₂ dans les courants gazeux (figure 9)

T3 et LIV sont des courants comportant uniquement du CO₂. LIV rend compte de la production de CO₂ par le liquéfacteur, et T3 qui apporte du CO₂ aux photoautotrophes représente une fraction du CO₂ produit par les consommateurs (90% dans la simulation).

On peut remarquer que les débits gazeux de CO₂ sont relativement stables, à l'exception de celui de SPV qui décroît rapidement avec l'augmentation de l'alimentation en NH₃. On note également que pour la plus faible valeur de l'alimentation en NH₃ ($9 \cdot 10^{-4}$ g/h), il sort pratiquement autant de CO₂ du compartiment photosynthétique spiruline (sortie finale de CO₂ pour l'écosystème en T2) qu'il en est produit par les consommateurs (courant DEV). L'élimination du CO₂ dans l'écosystème dépend donc entièrement du fonctionnement du compartiment photosynthétique, lui même fonction de l'alimentation extérieure en NH₃. Ceci confirme les résultats obtenus dans TN 14.1.

VI - Débit de CO₂ dans les courants liquides (figure 10)

Dans RHETL, RAUTL et LIL, le débit de CO₂ dissous est beaucoup plus important que dans les autres courants liquides, car ces courants sont issus de compartiments où règne une atmosphère de CO₂.

La légère diminution de CO₂ dans le courant LIL, lorsqu'on augmente l'alimentation en NH₃, est probablement liée à l'augmentation de la production de H₂ par le compartiment liquéfacteur.

VII - Débit d'oxygène dans les courants gazeux et liquides (figures 11 et 12)

Ces débits permettent de définir le fonctionnement des compartiments où l'oxygène est produit (photosynthétique) ou consommé (consommateur, nitrificateur).

A la sortie du compartiment consommateur, les débits de O₂ dans les courants liquides (DEL) et gazeux (DEV) sont constants. Ils montrent donc que le fonctionnement de ce compartiment est indépendant de l'alimentation extérieure en NH₃.

Figure 9

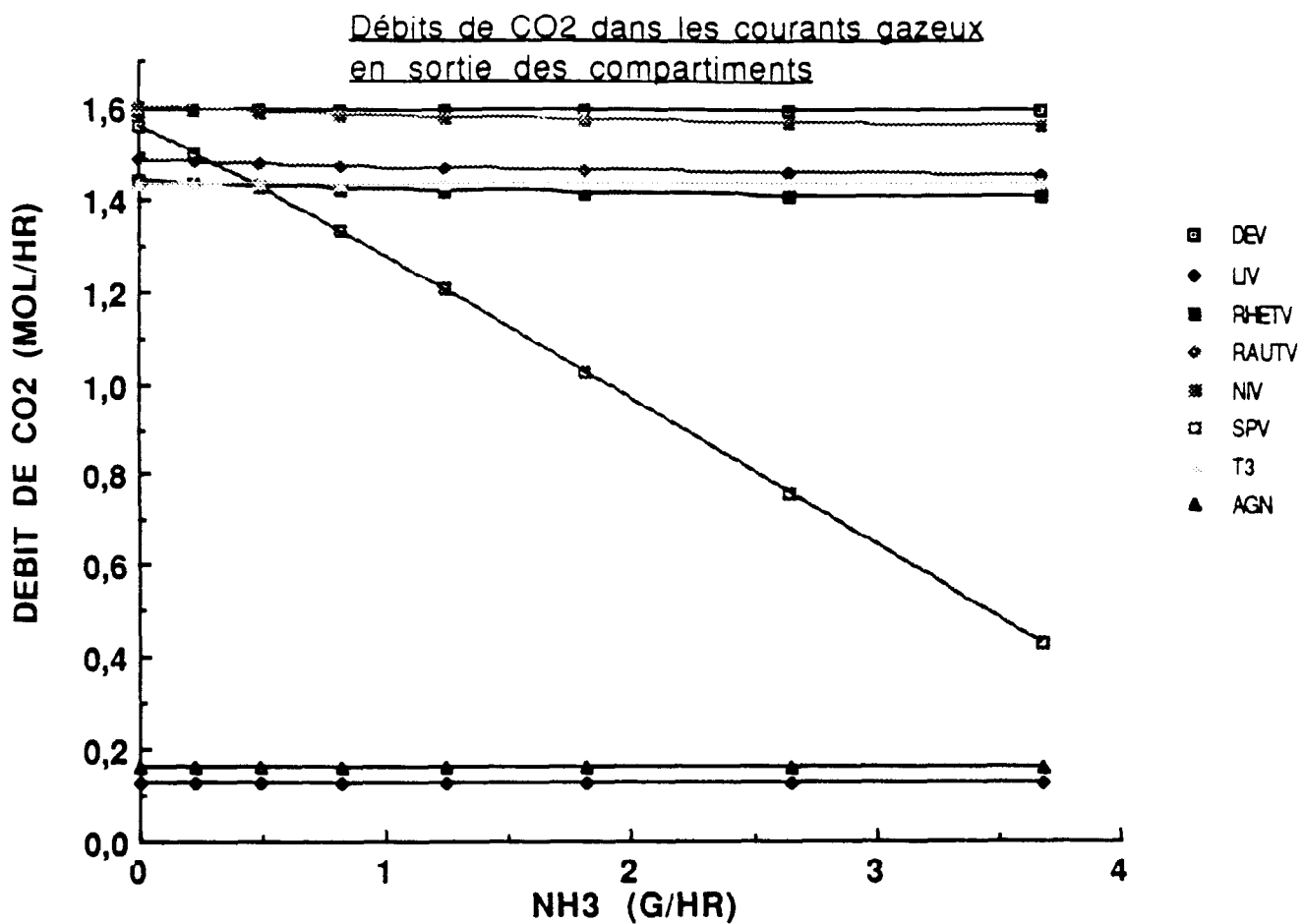


Figure 10

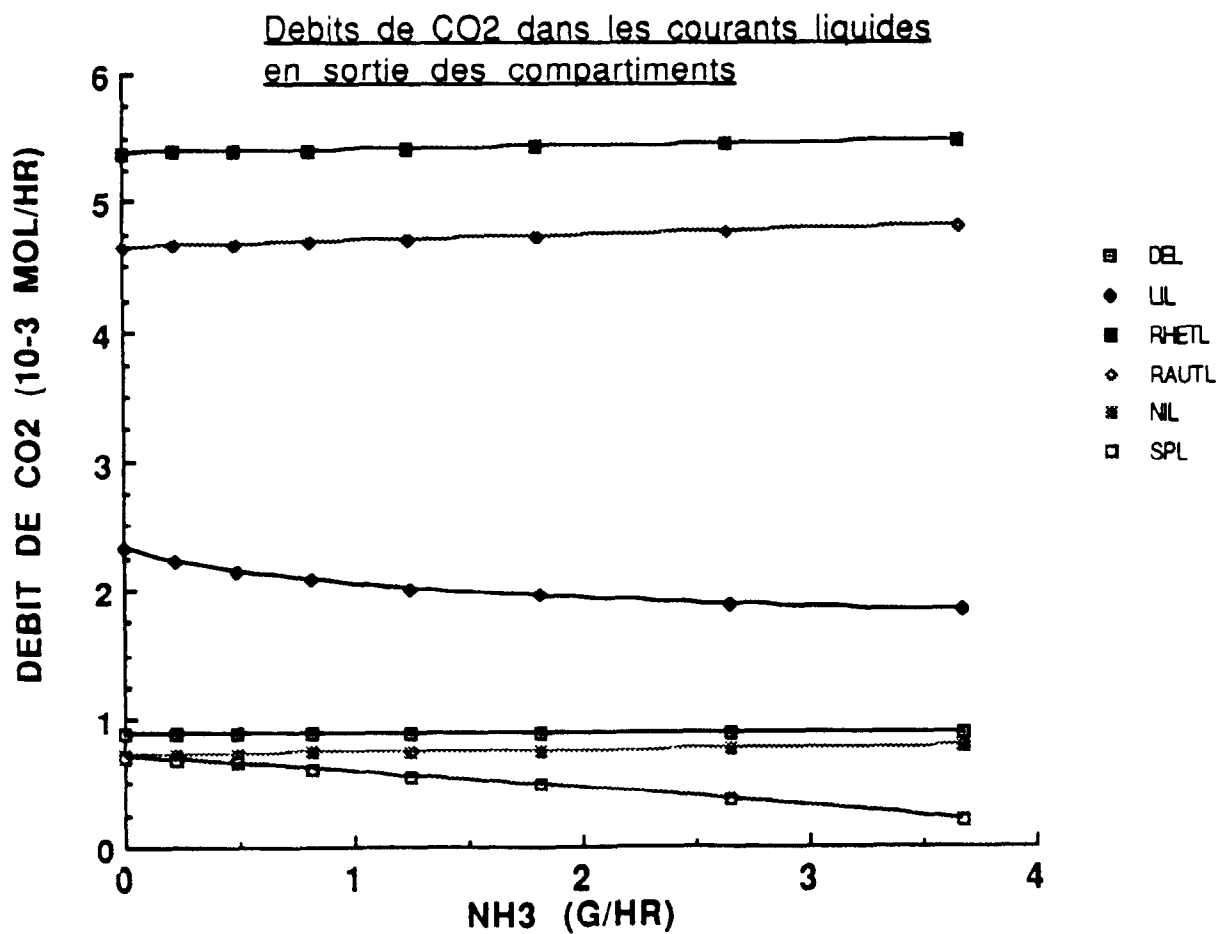


Figure 11
Débites d'oxygène dans les courants gazeux
en sortie des compartiments

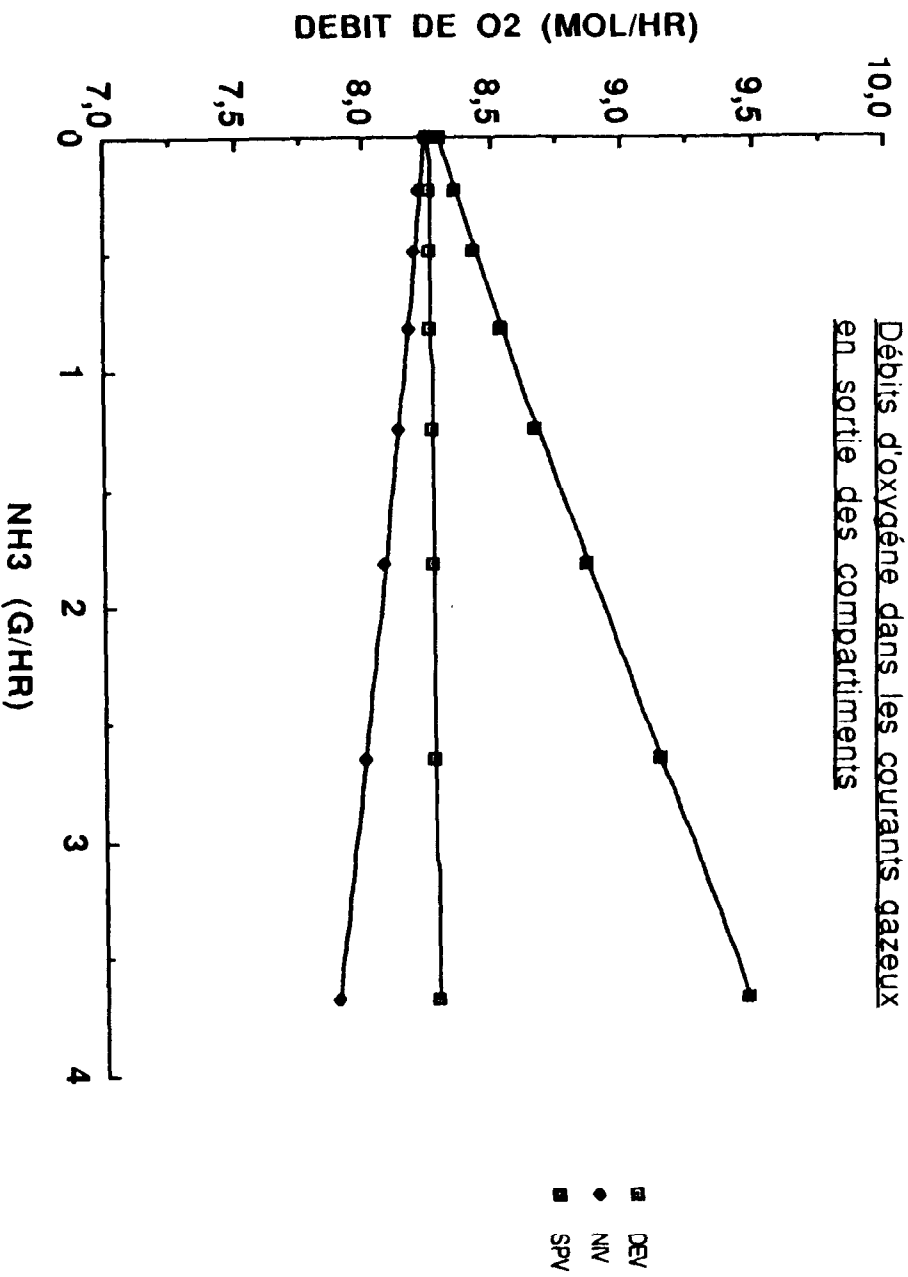
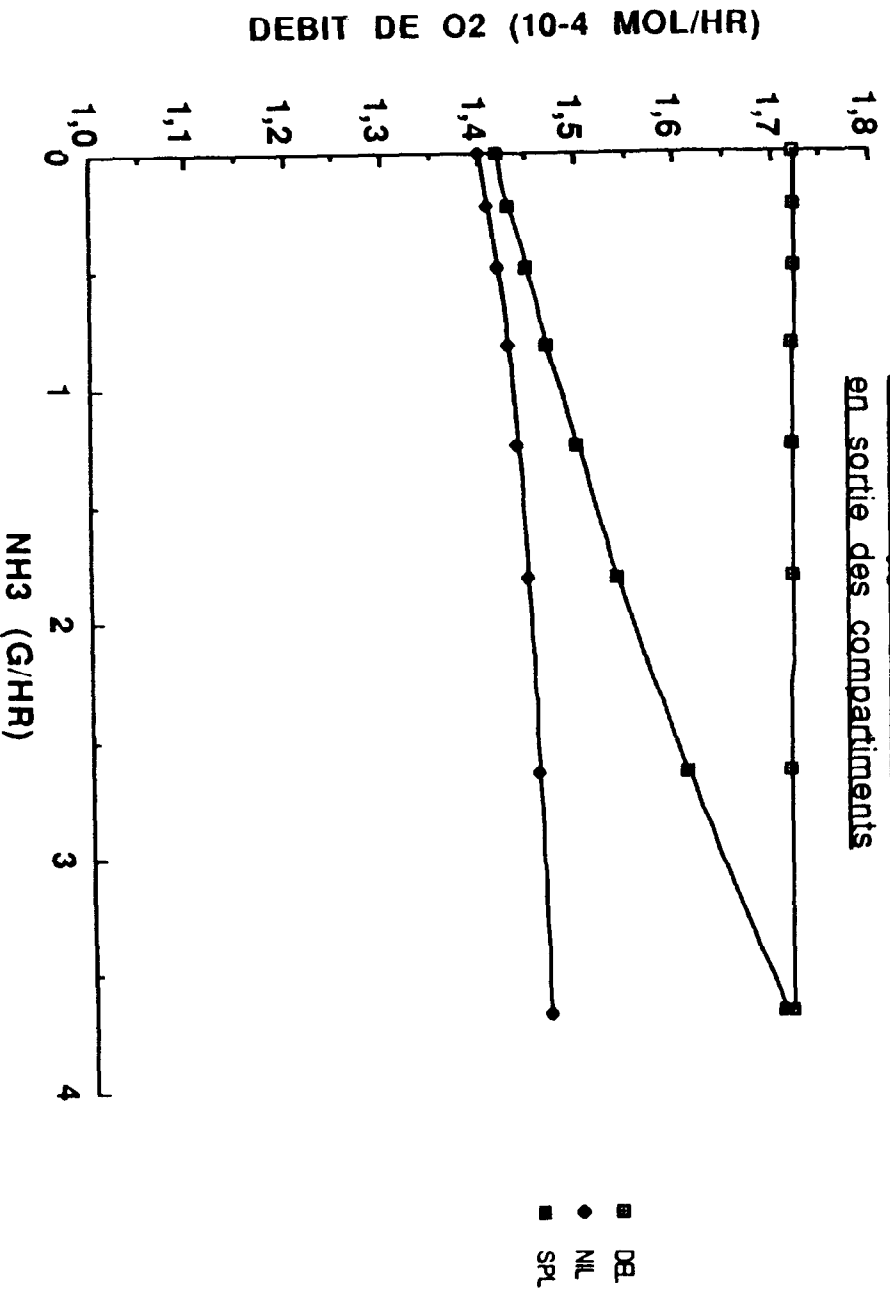


Figure 12
Débites d'oxygène dans les courants liquides
en sortie des compartiments



Pour le nitrificateur on remarque que le débit de O₂ dans le courant gazeux (NIV) diminue avec l'augmentation de l'alimentation en NH₃, ce qui est logique puisqu'il y a en effet plus de NH₃ à oxyder. Paradoxalement, le débit de O₂ dans le courant liquide (NIL) a plutôt tendance à augmenter. Cela est peut être dû à l'augmentation du débit total de NIL.

A la sortie du compartiment photosynthétique, l'augmentation du débit de O₂ dans les courants gazeux et liquides confirme que le fonctionnement du compartiment est directement lié à l'alimentation en NH₃.

VIII - Production de biomasse (figure 13)

Les résultats obtenus sont identiques à ceux décrits dans le rapport TN 14.1. On peut simplement remarquer que si la production de *Rhodobacter* est constante, c'est parce que les deux compartiments des phototrophes anoxygéniques ont une production stable de biomasse quelle que soit l'alimentation en NH₃.

IX - Taux de recyclage (figure 14)

Les taux de recyclage sont semblables à ceux obtenus lors des simulations présentées dans TN 14.1. Le recyclage de l'azote est légèrement meilleur du fait de la nouvelle équation proposée pour la nitrification.

L'alimentation minimale en azote devient $9 \cdot 10^{-4}$ g/h au lieu de 0,0033 g/h

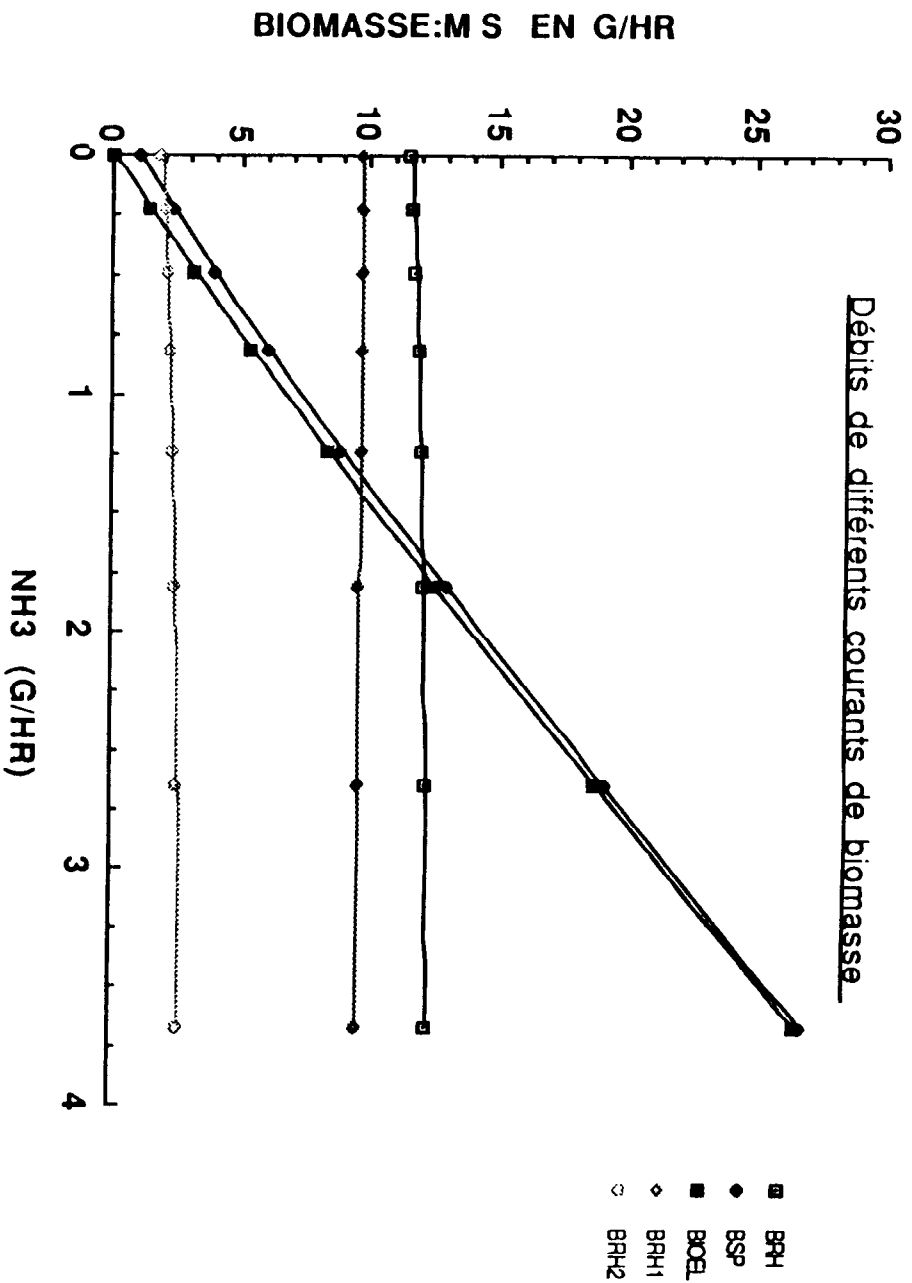
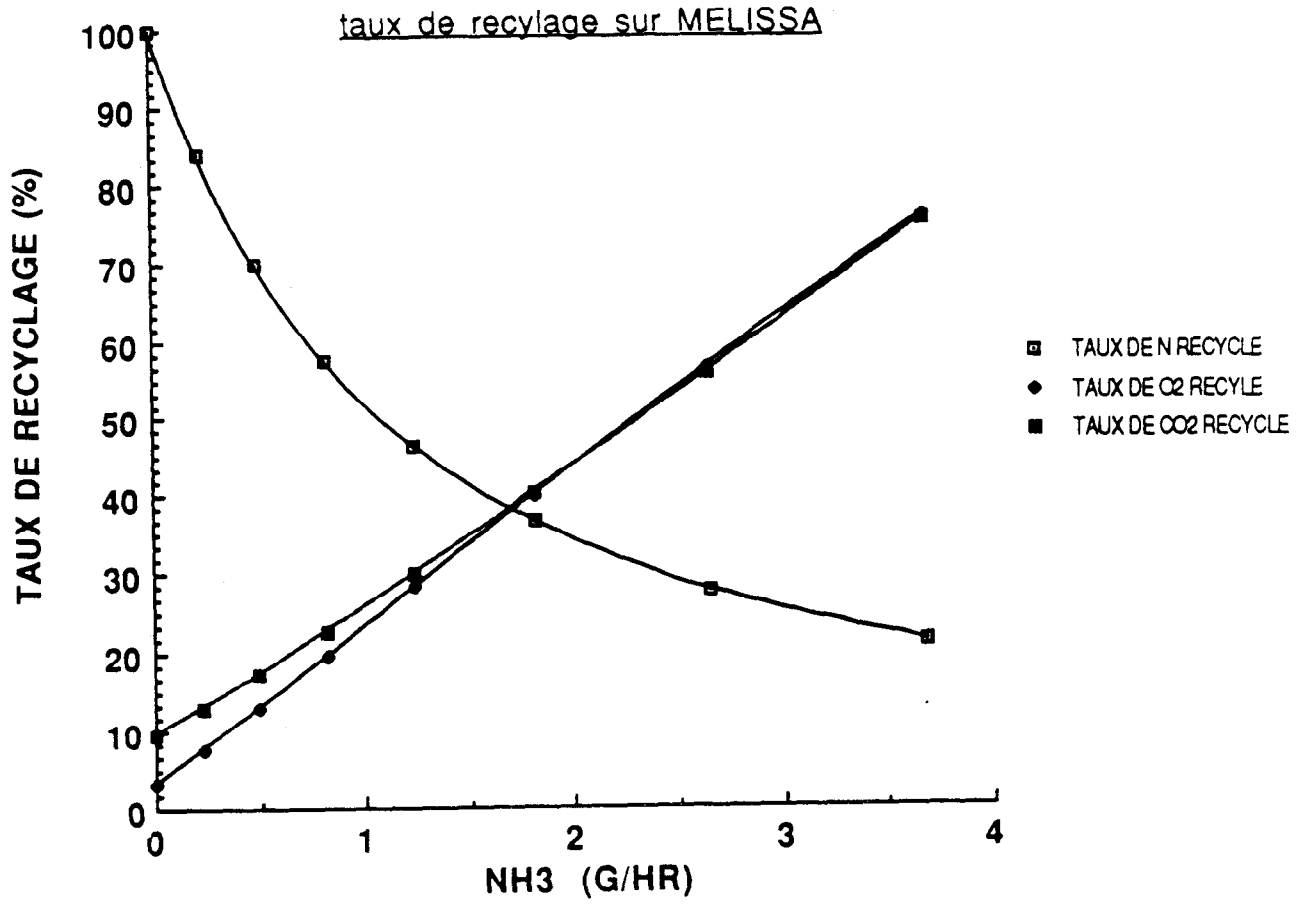


Figure 13
Débits de différents courants de biomasse

Figure 14



CONCLUSION

La simulation de MELISSA en tenant compte des phases liquide et gazeuse montre d'abord la nécessité de compliquer le schéma de l'installation pour tenir compte des contraintes d'aérobiose et d'anaérobiose sur les différents compartiments. Ainsi trois modules TECH1, TECH2 et TECH3 permettant soit l'élimination de l'oxygène en phase liquide, soit la récupération de l'oxygène ou du CO₂ en phase gazeuse ont été introduits dans la boucle MELISSA.

Deux autres points à considérer. Le premier concerne l'hydrogène. L'installation, telle qu'elle est simulée ne permet pas l'élimination de tout l'hydrogène produit ; même si le débit d'hydrogène résiduel est faible, ceci implique d'avoir des informations précises sur l'utilisation ou non des photohétérotrophes par l'hydrogène et sur leur capacité d'assimilation de l'hydrogène. Selon la réponse à ces questions il faudra envisager ou non une élimination de l'hydrogène par des moyens physiques. Le second point concerne le recyclage de l'azote; en toute logique, le taux de recyclage pourrait encore être amélioré en réalisant une alimentation en HNO₃ au lieu de NH₃. Ceci réduirait le travail du compartiment nitrificateur qui est responsable de la diminution du taux de recyclage de l'azote.

REFERENCE

Degremont (1978). Mémento technique de l'eau. 8ème édition Techniques et Documentation, Paris.