

**Titre :** Étude et analyse de la cinétique de mise en réserves du carbone en chez la microalgue *C. reinhardtii* cultivée en conditions de limitation par la source d'azote.

**Mots clés :** Microalgue, biohydrogène, réserves carbonées, limitation azotée, système bi-étagé, modélisation.

**Résumé :** L'hydrogène ( $H_2$ ) est aujourd'hui l'une des molécules les plus prometteuses pour produire une énergie renouvelable sans émission de  $CO_2$ . L'enjeu de cette thèse porte sur une domestication de la microalgue *C. reinhardtii* en vue de produire de l' $H_2$  en conditions anoxiques à partir seulement de lumière, d'eau et de minéraux. Ce processus de production est par nature transitoire. Cependant, une production continue dans un système de culture contrôlé est envisageable pour rendre cette production d' $H_2$  viable industriellement. Pour cela, une approche consiste dans le développement d'un système de culture bi-étagé opérant en continu et permettant de séparer spatialement deux étapes clés de la production d' $H_2$ , à savoir l'accumulation de réserves carbonées intracellulaires et la mise en anoxie. L'objectif de ce travail est d'étudier de façon approfondie l'étape 1, considéré comme l'étape conditionnant la stabilité du système, et de mettre en place le système pilote de production d' $H_2$ . La cinétique d'accumulation des réserves en amidon a été étudiée à partir de la mise au point d'un protocole dédié.

À partir de ce protocole, les expériences réalisées ont permis de développer une méthodologie permettant de prédire les propriétés radiatives de *C. reinhardtii* en conditions de limitation azotée et de remonter à une information sur le champ de rayonnement dans le système de culture. De plus, un modèle stœchiométrique dynamique reposant sur une mesure de vitesse à partir des bilans gazeux a été développé posant les bases d'un outil d'estimation permettant de contrôler l'état physiologique de *C. reinhardtii*. Une étude comparative a été également réalisée pour deux régimes de lumière, montrant que l'effet d'une double limitation, nutritionnelle et par l'accès la source d'énergie, s'avérer négatif sur la cinétique d'accumulation de l'amidon. Enfin, le système bi-étagé de production continue d' $H_2$  développé a été mis en œuvre et validé expérimentalement dans son concept, et a permis de soutenir une production d' $H_2$  pendant 70 h.

**Title:** Study and analysis of carbon storage kinetics in the microalgae *C. reinhardtii* cultivated under nitrogen-limited conditions.

**Keywords :** Microalgae, biohydrogen, carbon reserves, nitrogen-limitation, two-stage process, modelling.

**Abstract:** Hydrogen ( $H_2$ ) is currently one of the most promising molecules for producing renewable energy without  $CO_2$  emissions. This thesis focuses on the cultivation of the microalgae *C. reinhardtii* to produce  $H_2$  under anoxic conditions and using only light, water and minerals. This production process is by nature transient. However, continuous production in a controlled culture system is conceivable to make this  $H_2$  production industrially viable. To this end, one approach is to develop a continuous two-stage culture system that spatially separates two key stages in  $H_2$  production, namely the accumulation of intracellular carbon reserves and anoxia establishment. The aim of this work is to carry out a detailed study of stage 1, considered to be the stage that determines the system's stability, and to set up the  $H_2$  production pilot system. The kinetics of starch reserve accumulation were studied, based on the development of a dedicated protocol.

Based on this protocol, the experiments carried out have allowed the development of a methodology for predicting the radiative properties of *C. reinhardtii* under nitrogen-limited conditions and to calculate the radiation field in the cultivation system. In addition, a dynamic stoichiometric model based on the oxygen production volumetric rate measurements from gas balance analysis was developed, laying the foundations for an estimation tool to monitor the physiological state of *C. reinhardtii*. A comparative study was also carried out for two light regimes, showing that the effect of a double limitation: nutritional and the access to the energy source, proved negative on starch accumulation kinetics. Finally, the two-stage continuous  $H_2$  production system developed was implemented and experimentally validated in concept, sustaining  $H_2$  production for 70 h.