

Respiration sur électrode

Le mode de transfert le plus courant dans la production de courant par les bactéries électroactives reste le transfert direct d'électrons par les cytochromes de type c (CTCs). Les CTCs sont des protéines qui contiennent des hèmes, très répandues chez les bactéries et les archées.

Shewanella oneidensis MR-1 possède 42 CTCs dont 80% localisés sur sa membrane externe (Lower *et al.*, 2005). CymA est un CTC ancré dans la membrane interne et exposé au périplasma (Figure I-15 III) qui participe à beaucoup de processus de respiration anaérobie. Le complexe MtrABC, quant à lui, joue un rôle clef dans le transfert d'électrons de l'électrode à la cellule. Les trois protéines qui composent ce système sont associées et dépendent fonctionnellement l'une de l'autre. MtrC et OmcA sont deux protéines lipidiques qui sont considérées comme les dernières réductases extracellulaires chez *Shewanella* MR-1. Bien qu'OmcA soit capable de transférer des électrons à de nombreux accepteurs solides *in vitro*, MtrC serait plus impliquée dans les transferts extracellulaires d'électrons de *Shewanella*.

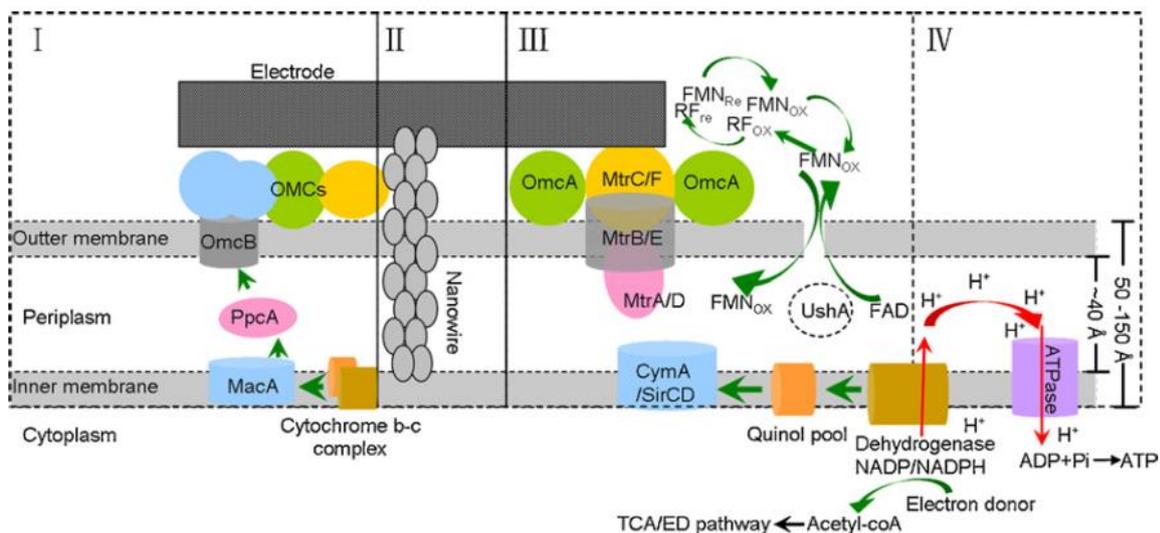


Figure I-15 : Modèles de transferts extracellulaires d'électrons par *Geobacter* et *Shewanella*

(Yang *et al.*, 2012). (I) Le transfert d'électrons par les cytochromes C de la membrane externe chez *Geobacter*, (II) Transfert d'électrons par des pili conducteurs, (III) Transfert d'électrons par *Shewanella* par le biais de flavines et cytochromes de types C, (IV) Couplage de la respiration sur anode et de la production d'énergie.

Une comparaison génomique de six espèces de *Geobacter* a montré une moyenne de 79 cytochromes de type C pour chaque génome dont 14 % étaient communs à tous ces génomes étudiés (Butler *et al.*, 2010). Il a été proposé que la protéine membranaire MacA transmette des électrons depuis la membrane interne de la cellule au transporteur PpcA du périplasme, qui les transmet à son tour au cytochrome de type c de la membrane externe, en contact direct avec l'anode (Lovley, 2008) (Figure I-15 I).

La conservation de l'énergie de la cellule résulte du pompage des protons associé au transport des électrons dans la membrane interne (Figure I-15 IV).

I.4.2.4. CARACTERISATION THERMODYNAMIQUE ET ELECTROCHIMIQUE DES MEC

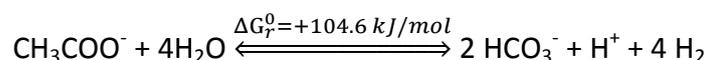
I.4.2.4.1. Détermination thermodynamique de la tension à appliquer

Pour qu'une réaction chimique ait lieu, il faut qu'elle soit thermodynamiquement favorable. Ceci est déterminé avec l'enthalpie libre (ou énergie de Gibbs) de la réaction (ΔG_r) qui représente la variation des forces, hors pression, s'exerçant sur le système. L'énergie de Gibbs de la réaction doit être négative pour que la réaction se fasse spontanément. L'enthalpie libre de la réaction se calcule comme suit :

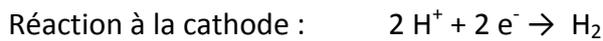
$$\Delta G_r = \Delta G_r^0 + RT \ln(\Pi)$$

- Avec :
- ΔG_r (J), l'enthalpie libre de la réaction, dans le sens de la réduction
 - ΔG_r^0 (J), l'enthalpie libre de la réaction dans les conditions standards (T=298.15 K, P=1 bar, [espèces]=1M)
 - R (8.314 J.mol⁻¹.K⁻¹), la constante des gaz parfaits
 - T (K), la température
 - Π , le rapport entre les activités des produits (oxydants) et des réactifs (réducteurs).

Par exemple, pour la réaction d'oxydation de l'acétate en bicarbonate, dans les conditions standards (T=25°C, P=1 bar, pH=7), l'enthalpie libre de la réaction est :



Cette équation résulte des demi-équations d'oxydation et de réduction respectivement à l'anode et à la cathode suivantes :



L'enthalpie standard de la réaction étant positive, une source d'énergie extérieure doit être apportée au système. Dans une cellule d'électrolyse microbienne, la réaction peut se faire grâce à l'apport d'énergie électrique. Pour que l'électrolyse microbienne se produise, il faut apporter une différence de potentiel supérieure à $\Delta G_r^0/nF$ où n est le nombre d'électrons transférés dans la réaction ($n=8$ ici) et $F=96485$ C/mole (électrons) est la constante de Faraday. Cette valeur correspond à la tension d'équilibre (c'est-à-dire la différence de potentiels à l'équilibre), qui peut être calculée comme suit :

$$E_{eq} = -\frac{\Delta G_r^0}{nF} = -\frac{104.6 \times 10^3}{8 \times 96\,485} = -0.14 \text{ V}$$

1.4.2.4.2. Détermination électrochimique de la tension à appliquer

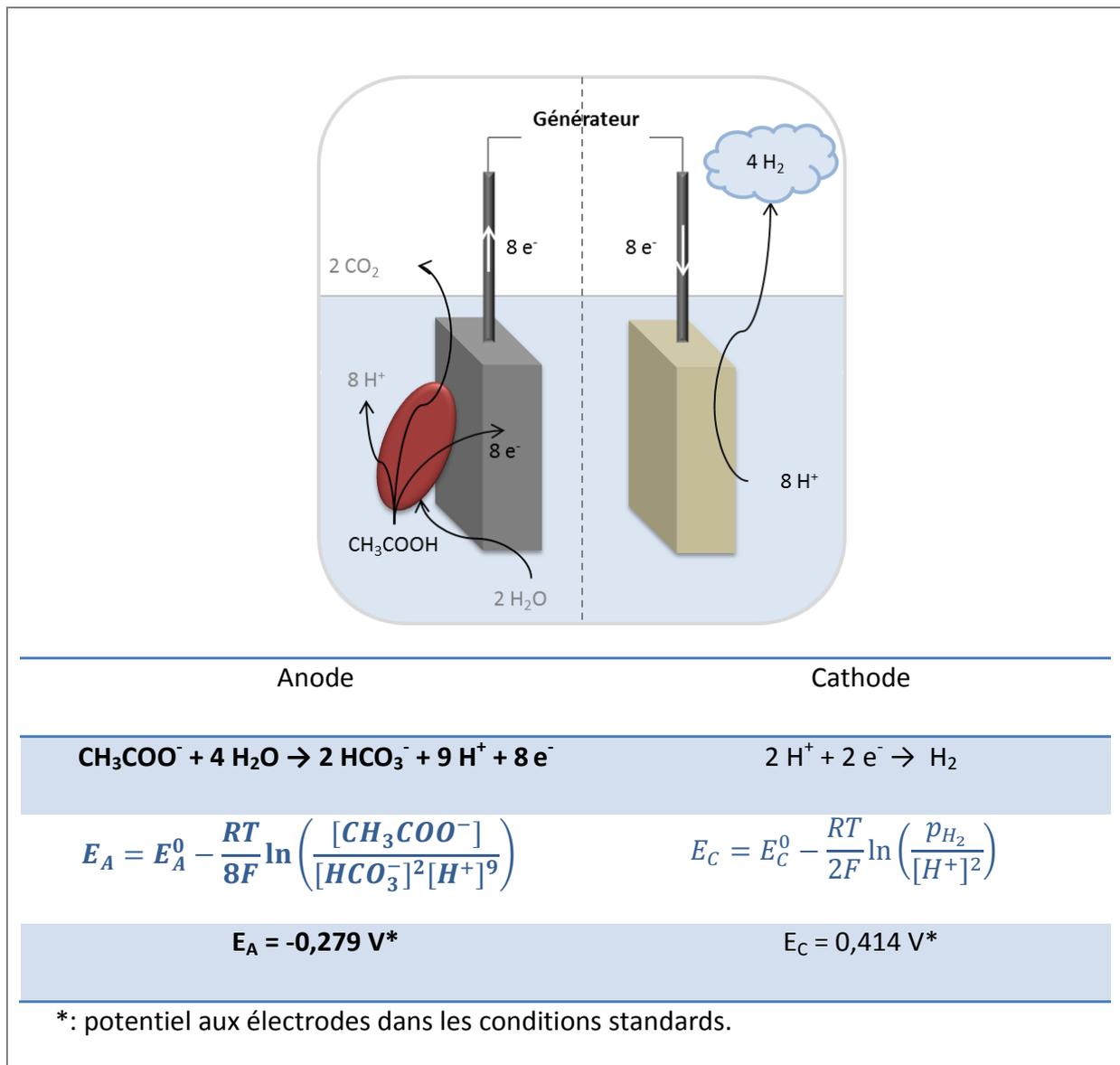
La valeur du potentiel à l'équilibre de l'équation globale d'oxydation de l'acétate en bicarbonate se déduit des potentiels à l'équilibre des demi-équations d'oxydation et de réduction, respectivement à l'anode et à la cathode : $E_{eq} = E_C - E_A$. Le potentiel à l'équilibre peut alors être calculé en utilisant les tables de potentiels standards des demi-équations d'oxydation et de réduction et en appliquant l'équation de Nernst qui définit pour un couple oxydant-réducteur de demi-équation : $x \text{ Ox} + n\text{e}^- = y \text{ Red}$, le potentiel à l'équilibre :

$$E = E^0 - \frac{RT}{2F} \ln \left(\frac{a_{\text{Ox}}^x}{a_{\text{Red}}^y} \right)$$

- Avec :
- E (V), potentiel à l'équilibre du couple redox
 - E^0 (V), potentiel standard du couple redox mis en jeu dans les conditions standards ($T=298.15$ K, $P=1$ bar, [espèces]=1M)
 - R (8.314 J.mol⁻¹.K⁻¹), la constante des gaz parfaits
 - T (K), la température
 - $F=96485$ (C/mole (électrons)), la constante de Faraday
 - a_{Ox} et a_{Red} , les activités chimiques des oxydants et réducteurs de la demi-équation d'oxydo-réduction

Le potentiel à l'anode et celui à la cathode se déduisent des équations de demi-réaction ci-dessous (Tableau I-4) qui présente les formules de calcul du potentiel de chaque électrode d'après l'équation de Nernst :

Tableau I-4 : Calcul des potentiels aux électrodes de chaque demi-équation d'oxydation de l'acétate et de la réduction de proton en hydrogène respectivement à l'anode et à la cathode d'une cellule d'électrolyse microbienne.



D'où le potentiel à l'équilibre dans les conditions standards :

$$E_{eq} = E_C - E_A = (-0.414 \text{ V}) - (-0.279 \text{ V}) = -0.14 \text{ V}$$

Dans le cas de l'électrolyse de l'eau par voie purement chimique pour la production d'hydrogène, c'est l'oxydation de l'eau qui est réalisée à l'anode ($2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^-$) avec un potentiel standard de $E_A=0.82\text{V}$. Il faut donc fournir à minima :

$$E_{eq} = E_C - E_A = (-0.414 \text{ V}) - (0.82 \text{ V}) = -1.22 \text{ V}$$

L'énergie requise en électrolyse microbienne serait donc 8.7 (1.22/0.14) fois plus faible qu'en électrolyse de l'eau pour produire la même quantité d'hydrogène.

Les potentiels à chaque électrode, d'après leurs équations de Nernst, dépendent de l'activité des protons en solution. Ils dépendent donc du pH de la solution.

Le potentiel de la cathode E_C et donc le potentiel d'équilibre dépendent également de la pression partielle de H_2 (BE Logan *et al.* 2008). Dans les conditions standards, une augmentation de la pression partielle de 1 à 10 bars induit une modification du potentiel d'équilibre à compenser de -0,14 V à -0,17 V. Il en est de même pour une pression partielle en H_2 de 100 bar : $E_{eq} = -0,20 \text{ V}$. Il apparaît donc nécessaire, afin de ne pas limiter la production d'hydrogène et de permettre un meilleur rendement énergétique, de soutirer l'hydrogène à mesure qu'il est produit. De la même façon, il est possible d'augmenter le rendement de production en diminuant la pression partielle de H_2 (dégazage) (Logan *et al.*, 2008).

1.4.2.4.3. Calcul du rendement faradique du biofilm.

La performance du réacteur est exprimée en termes de conversion en hydrogène, de densité volumique d'hydrogène et de taux de production d'hydrogène. Le **nombre total théorique de moles produites**, basé sur l'abattement de DCO est le suivant (Logan *et al.*, 2008):

$$n_{th} = \sum_{substrats} b_{e^-/S} \cdot \Delta n_S \cdot V = \sum_{substrats} \frac{b_{e^-/S} \cdot \Delta S \cdot v_L}{M_S}$$

- Avec :
- $b_{e^-/S} = 4 \text{ mol/mol}$ la production maximale d'électrons qu'il est possible de produire à partir du substrat (par oxydation totale du substrat),
 - v_L le volume du liquide dans le réacteur,
 - ΔS en g DCO/L le changement de concentration du substrat pendant un

cycle batch,

- $M_S=82$ g/mol la masse moléculaire du substrat.

Pour convertir la DCO (gDCO/L) en moles d'acétate, un facteur de conversion de 1,067 gDCO/g acétate est utilisé.

Le calcul du **nombre de moles d'hydrogène pouvant être converties** est basé sur le courant mesuré (Logan et al., 2008):

$$n_{CE} = \frac{\int_{t=0}^t Idt}{2F}$$

- Avec :
- $I=V/R_{ex}$ intensité de courant calculée à partir de la tension passant au travers d'une résistance
 - 2, utilisé pour convertir les moles d'électrons en moles d'hydrogène
 - $F = 96\,485$ C/mol e^- , la constante de Faraday
 - dt, l'intervalle de temps sur lequel n_{CE} est calculé
 - un cycle batch,
 - $M_S=82$ g/mol la masse moléculaire du substrat.

Le **rendement faradique** est défini comme suit (Logan et al., 2008):

$$r_{CE} = \frac{n_{CE}}{n_{th}} = C_E$$

Avec : C_E le rendement faradique en % et n_{CE} : la quantité d'hydrogène potentiellement issue des électrons récupérés au niveau de la cathode.

1.4.2.5. CONDITIONS OPERATOIRES

1.4.2.5.1. Nature du substrat

En pratique, l'utilisation des systèmes bioélectrochimiques pour le traitement d'effluents contenant divers composés organiques nécessite un consortium microbien qui présente une grande versatilité pour convertir les substrats organiques en énergie électrique. Cependant, la structure de la communauté bactérienne est fortement déterminée par les substrats consommés (AGVs), plus que par l'inoculum initial (Freguia *et al.*, 2010). De plus, la plupart des espèces prédominantes de ces communautés ont une activité métabolique limitée,

n'utilisant que certains produits de fermentation (Caccavo et al., 1994; Kiely, Regan, et al., 2011).

Les systèmes bioélectrochimiques alimentés avec de l'acétate présentent des profils de communautés microbiennes dominés par des *Geobacteraceae* (Jung and Regan, 2007; Chae et al., 2009; Xing et al., 2009; Kiely, Rader, et al., 2011). En comparant les rendements faradiques de piles à combustible alimentées avec de l'acétate ou du butyrate, Liu *et al.* (2005) ont montré que les biofilms produisent 50% de moins d'électricité quand ils oxydent du butyrate plutôt que de l'acétate en utilisant des eaux usées pour inoculum. Cette famille de bactéries (*Geobacteraceae*) ne serait pas impliquée dans la conversion du butyrate en électrons. Dans ce cas, des espèces de *Pseudomonas* et de *Bacillus* (à Gram positif) sont abondantes dans ces réacteurs et oxyderaient préférentiellement ce substrat (Freguia *et al.*, 2010).

L'analyse des gènes 16S dans des biofilms anodiques de piles à combustible microbiennes alimentées avec du propionate a permis de mettre en évidence la prédominance de *Proteobacteria* et de *Geobacteraceae* en moins grande proportion que dans les biofilms alimentés avec de l'acétate (Jung and Regan, 2007; Jang et al., 2010). La faible présence de *Geobacteraceae*, et de manière plus générale des δ -protéobactéries, est probablement due au fait qu'il n'existe pas de phénomène syntrophique avec ce substrat (Jang *et al.*, 2010).

En analysant les communautés microbiennes des biofilms électroactifs issus de l'oxydation de l'éthanol, Parameswaran *et al.* (2010) ont mis en évidence la présence d'une syntrophie impliquant 3 voies métaboliques mettant en jeu des bactéries fermentaires telles que *Pelobacter propionicus*, des méthanogènes et des bactéries électroactives. Ces interactions mêlent 2 voies métaboliques dans lesquelles l'acétate peut être consommé par les bactéries du biofilm anodique directement après fermentation de l'éthanol ou après conversion en acétate de l'hydrogène co-produit de cette même fermentation par des *homo-acétogènes* (Figure I-16).

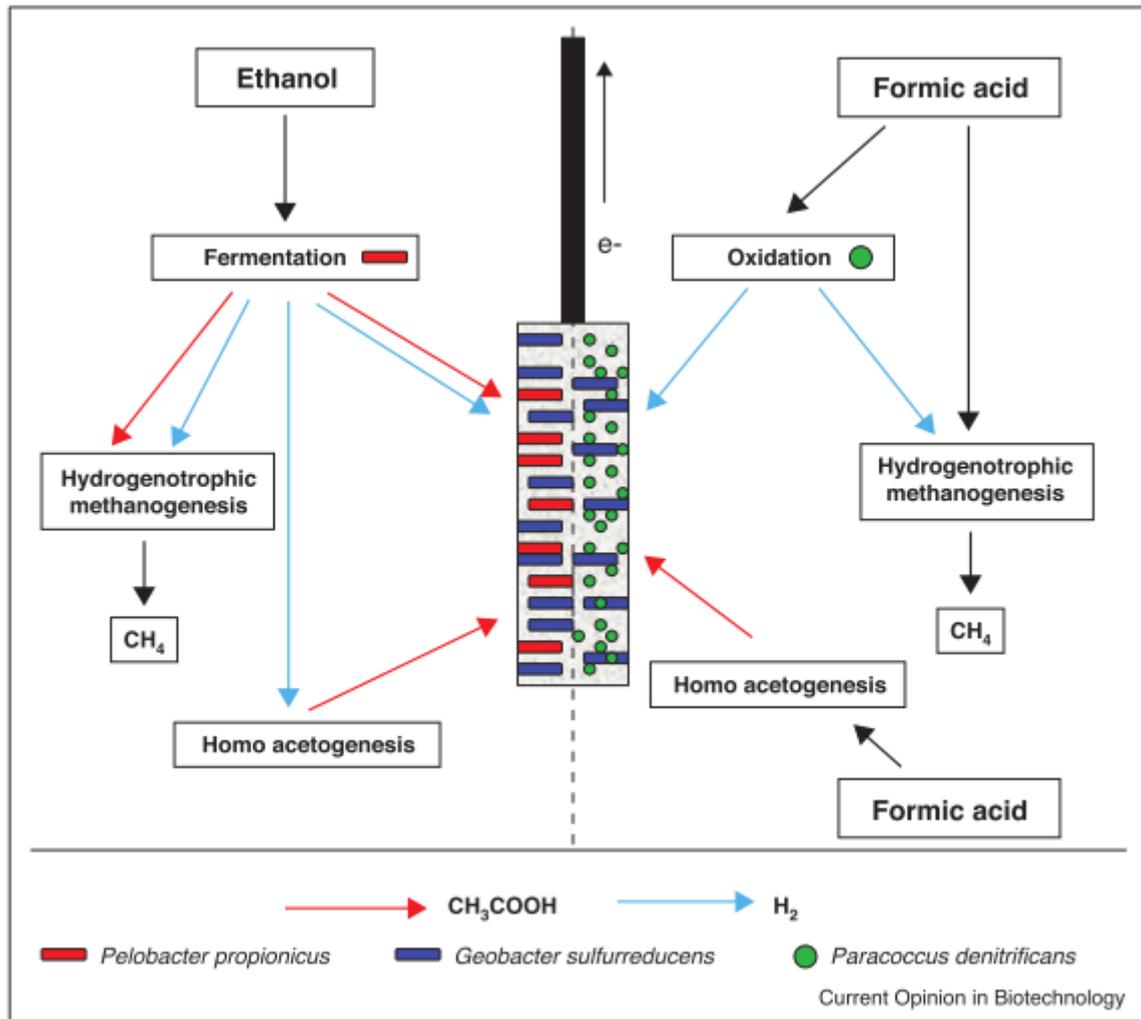


Figure I-16 : Schéma des interactions syntrophiques se développant dans un biofilm anodique utilisant de l'éthanol ou de l'acide formique.

Le substrat initial est converti en substrat oxydable par les bactéries homo-acétogènes et fermentaires. (Kiely, Regan, et al., 2011)

Les données de la littérature suggèrent 3 différents modes de transfert d'électrons dans un compartiment anodique à partir de formate (Figure I-16). D'abord, *Shewanella putrefaciens* PS-2 est capable de transférer directement des électrons issus de l'oxydation du formate (Kiely et al., 2010). Ha et al. (2008) ont montré la présence sur l'électrode de bactéries homo-acétogènes (*Acetobacterium* sp.) et de bactéries connues comme étant électroactives telles que *Geobacter* sp.. Leurs résultats suggèrent que le formate a pu être consommé par les bactéries homo-acétogènes pour produire de l'acétate, utilisé ensuite par des bactéries électrochimiquement actives. Enfin, le troisième mode de transfert implique

l'oxydation du formate en hydrogène par *Paracoccus denitrificans*, qui oxyde le formate en dioxyde de carbone et en hydrogène, l'hydrogène étant ensuite utilisé par les *Geobacteraceae* du biofilm pour générer du courant (Bond and Lovley, 2003) (Figure I-16).

Les études des piles à combustibles microbiennes alimentées avec du glucose montrent qu'il existe des étapes clefs requises pour la production d'électrons à partir de ce substrat (Freguia *et al.*, 2008; Selembo *et al.*, 2009). L'analyse des acides organiques présents dans la pile à combustible microbienne en batch a permis d'identifier des substrats intermédiaires connus pour produire des électrons par le biais de biofilms électroactifs. De plus, l'analyse des gènes 16S de la communauté microbienne (Freguia *et al.*, 2008) soutient l'hypothèse qu'une étape préalable de fermentation est réalisée avant la conversion de ces acides organiques en électricité (Figure I-17).

De la même façon, les analyses DGGE et des bibliothèques de clones du gène ARNr16S des communautés microbiennes de l'anode oxydant la cellulose ont montré une prédominance de microorganismes proches des *Clostridia* et d'autres bactéries fermentaires (Ishii *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2009; Cheng *et al.*, 2011). Kiely *et al.* (2011) proposent un schéma des interactions syntrophiques entre bactéries fermentaires et électroactives dans la génération de courant à partir de cellulose reporté en Figure I-17.

Dans une pile à combustible microbienne avec un mélange d'AGV, les communautés sont principalement constituées par des protéobactéries comme *Geobacter*, *Comamonas*, *Pseudomonas* et *Pelobacter* (Freguia *et al.*, 2010). Plus particulièrement, les communautés développées sur l'anode d'une MFC alimentée avec des composés issus de la fermentation sont δ -protéobactéries (en majorité), *Rhodobacteraceae*, *Geobacteraceae*, *Peptococcaceae*, *Pelobacter propionicus* (1^{er} à consommer de l'acide acétique) (Kiely, Rader, et al., 2011).

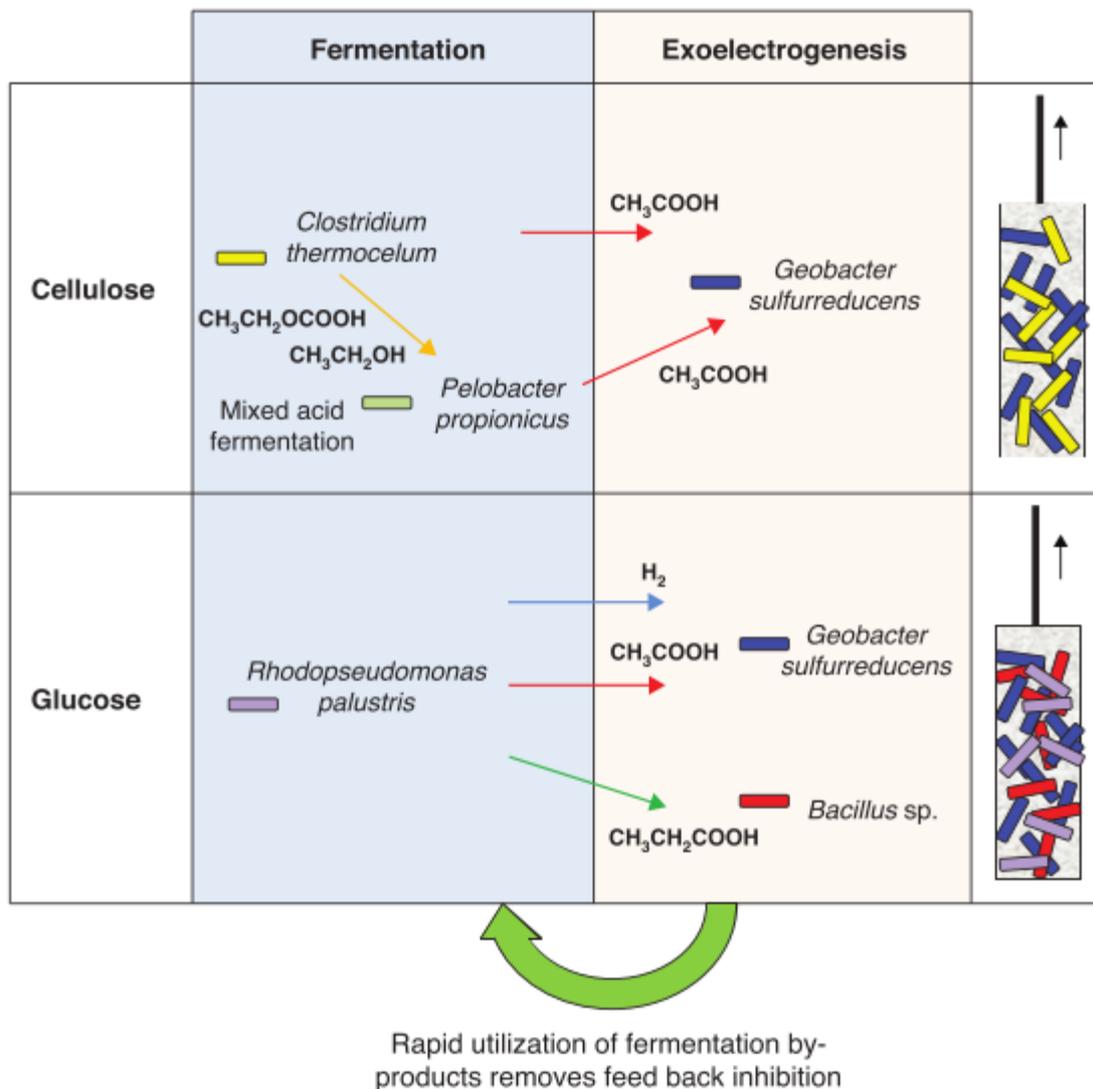


Figure I-17 : Schéma des interactions syntrophiques qui permettent l'hydrolyse de la cellulose et l'oxydation du glucose dans le compartiment anodique d'un système bioélectrochimique. (Kiely, Regan, et al., 2011)

1.4.2.5.1. pH du compartiment anodique

La plupart des systèmes bioélectrochimiques sont étudiés dans des intervalles de pH très petits et proches de la neutralité (Liu, Cheng, *et al.*, 2005b; Biffinger *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2008; Puig *et al.*, 2010). Patil *et al.* (2011) et Yuan *et al.* (2011) ont récemment étudié l'influence du pH sur l'efficacité du biofilm pour une gamme de valeurs de pH plus élargie.

Le pH du compartiment anodique joue un rôle important dans la sélection du consortium microbien électroactif. En inoculant un réacteur avec des eaux usées et avec de l'acétate pour substrat, Patil *et al.* (2011) ont étudié l'influence du pH sur la sélection microbienne au sein du biofilm pour des valeurs de pH de 6, 7 et 9. Les résultats ont montré une meilleure

densité de courant à pH 7, pH de l'inoculum de départ avec une prédominance de *Geobacter sulfurreducens* et une diversité microbienne moins importante que pour les deux autres pH testés.

Yuan et al. (2011) ont quant à eux montré qu'un pH alcalin (pH 9) favorisait la croissance du biofilm et le transfert d'électrons en terme de densité de courant par rapport à deux autres valeurs de pH testées (pH 5 et pH 7) en utilisant des boues activées et dans une pile à combustible microbienne alimentée avec de l'acétate en tant que substrat.

Les données concernant l'influence du pH sur l'efficacité du biofilm et sur les changements de structure microbienne qui en découlent restent pauvres mais la disparité des conclusions obtenues par ces deux études laisse à penser que la sélection microbienne, et donc l'efficacité du biofilm électroactif, dépendent toutes les deux de l'inoculum de départ, en termes de composition microbienne et de pH initial.

1.4.2.5.2. Influence du potentiel à l'anode

Torres et al. (2009) ont étudié l'influence du potentiel à l'anode sur la communauté microbienne du biofilm en électrolyse microbienne. Quatre électrodes étaient placées dans un même compartiment anodique et polarisées à différents potentiels ($E_{\text{anode}} = -0,15, -0,09, +0,02$ et $+0,37$ vs ESH). Pour les deux plus faibles potentiels anodiques ($-0,15V$ et $-0,09V$ vs ESH), la production de courant a été plus élevée, la croissance du biofilm a été plus rapide et une forte sélection des souches de microorganismes électroactifs a été observée (92 ou 99 % de la totalité des clones sont à 97% similaires à *Geobacter sulfurreducens* sur le gène 16SARNr). Pour les deux potentiels positifs, une communauté microbienne plus diverse et appauvrie en bactéries électroactives a été caractérisée. Ces résultats montrent le rôle prépondérant du potentiel de polarisation de l'anode et de *Geobacter sulfurreducens* pour l'obtention d'importantes densités de courant.

White et al. (2009) ont étudié les changements dans la diversité et la quantité des bactéries récupérées à l'anode de PACMs en fonction du potentiel à l'anode, de la production d'énergie et du milieu de culture. Ils ont ainsi montré que la dynamique des populations bactériennes (croissance, succession des populations...) est due au potentiel de l'anode, ce qui peut directement être relié à leur capacité à utiliser l'anode comme

accepteur final d'électron. Cependant, d'après White *et al.*, le milieu géochimique, quant à lui, contrôle avant tout la diversité et la structure des communautés (White *et al.*, 2009).

I.4.2.5.3. Exposition à la lumière

L'exposition à la lumière change les populations bactériennes à l'anode des MFC (Xing *et al.*, 2009). Dans des travaux de Xing *et al.* (2009), l'identification des bactéries électroactives dans une pile à combustible microbienne exposée à la lumière a montré la présence de *Geobacter sulfurreducens* et de *Rhodopseudomonas palustris*, une bactérie photosynthétique (Xing *et al.*, 2009). Des tests en culture pure ont montré que *Rhodopseudomonas palustris* augmentait la production de courant en présence de lumière et avec une alimentation du bioréacteur par des composés organiques (Figure I-18 (1)) (Xing *et al.*, 2009). Cependant, il est peu probable que le transfert d'électrons se fasse directement de l'organisme photosynthétique à l'électrode (Chiao *et al.*, 2006).

Ces dernières années, on assiste à un nouvel intérêt pour les systèmes photosynthétiques, notamment dans les piles à combustible microbiennes. Les recherches récentes se focalisent en particulier sur la synergie entre organismes photosynthétiques et bactéries électroactives hétérotrophes développées sur des anodes. Notamment, les bactéries du biofilm anodique utilisent la matière organique issue de la photosynthèse ou la biomasse photosynthétique comme donneur d'électron à oxyder (Rosenbaum *et al.*, 2010). Il a ainsi été montré qu'une pile à combustible microbienne contenant un biofilm électroactif hétérotrophe pouvait produire du courant en fonction de la luminosité (He *et al.*, 2009). Contrairement à une pile à combustible microbienne photosynthétique classique, la génération d'électricité présente une tendance inverse avec une augmentation de la densité de courant produite pendant les périodes d'obscurité et une diminution à la lumière (Figure I-18 (2)). Une luminosité permanente inhibe la production de courant, probablement du fait de l'accumulation d'oxygène issu de la photosynthèse (He *et al.*, 2009).

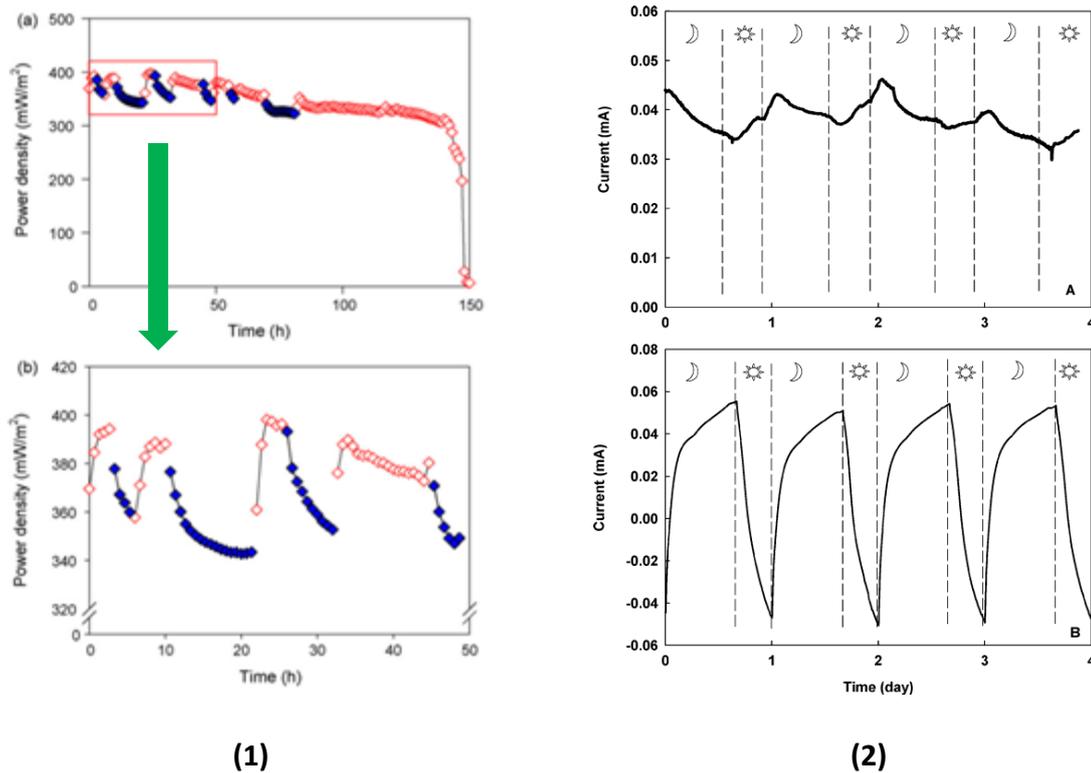


Figure I-18 : Effet de l'alternance d'exposition à la lumière sur le transfert d'électron :

(1) : Densité de puissance générée par une pile à combustible microbienne en culture pure avec *Rhodospirillum rubrum* avec alternance de lumière (4000 lx – losange rouge) et obscurité (losanges bleus) en batch alimenté avec 4 g_{acétate}/L à 30°C (d'après (Xing et al., 2009)). (2) : Densité de courant produite en pile à combustible microbienne, en cultures mixtes, après 1 mois (A) et 5 mois (B). Les symboles ☾ et ☀ représentent respectivement les conditions d'obscurité et de lumière (d'après (He et al., 2009)).

1.4.2.6. INFLUENCE DES METHANOGENES

La culture de bactéries anaérobies strictes est plus facile dans une MEC en anoxie par rapport aux MFC où la présence d'oxygène dans le compartiment cathodique rend le milieu moins sélectif. Cependant, un manque d'exposition à l'oxygène pourrait favoriser le milieu à la méthanogénèse, ce qui diminuerait alors le rendement en hydrogène (Rozendal et al., 2006). Par exemple, Freguia et al. (2008) ont montré un effet syntrophique dans les piles à combustible microbienne. Le glucose y est consommé par les bactéries fermentaires pour produire principalement de l'acétate et de l'hydrogène. L'acétate est ensuite consommé par les bactéries électroactives et l'hydrogène issu de la fermentation peut être oxydé à l'anode ou consommé par les homoacétogènes. Dans ce dernier cas, le méthane produit se diffuse au travers du biofilm vers la phase liquide (Freguia et al., 2008).

La méthanogenèse est un problème qui affecte les rendements de conversion en hydrogène dans le cas des MECs (Liu et al., 2005; Call and Logan, 2008). Une forte pression partielle en hydrogène favorise la croissance de méthanogènes, ce qui réduit le rendement d'hydrogène et contamine le gaz produit avec du méthane. (Rozendal et al., 2008) ont montré qu'un milieu tampon contenant du bicarbonate au niveau de la cathode favorise la croissance de méthanogènes hydrogénotrophes qui utilisent ce tampon comme source de carbone. En supprimant cet élément du milieu, il est donc possible de réduire la conversion de l'hydrogène en méthane par des voies métaboliques limitantes.

I.5. COUPLAGE DE LA PRODUCTION DE BIOHYDROGENE PAR ELECTROLYSE MICROBIENNE ET PAR VOIE FERMENTAIRE

Les procédés de production de biohydrogène par voie fermentaire en cultures mixtes convertissent des carbohydrates (saccharose, glucose) avec des rendements limités de 2-3 moles d'hydrogène par mole d'hexose et coproduisent des acides gras volatils (acide acétique ou butyrique). Or, alimenté par de l'acétate, une cellule d'électrolyse microbienne (MEC) produit 3 moles d'hydrogène /mole d'acétate. Le couplage de la fermentation à un procédé d'électrolyse microbienne pourrait donc produire théoriquement de 8 à 9 moles d'hydrogène/mole d'hexose, soit un grand pas vers la limite ultime de 12 moles d'hydrogène/mole d'hexose.

Le couplage de la fermentation avec l'électrolyse microbienne est schématisé ci-dessous en série (Figure I-19) ou dans un même réacteur (Figure I-20). Ces figures font apparaître la stœchiométrie maximale de conversion d'une mole de glucose en hydrogène avec, dans les deux cas, à gauche la fermentation (première étape du couplage) et à gauche l'électrolyse microbienne (dernière étape).

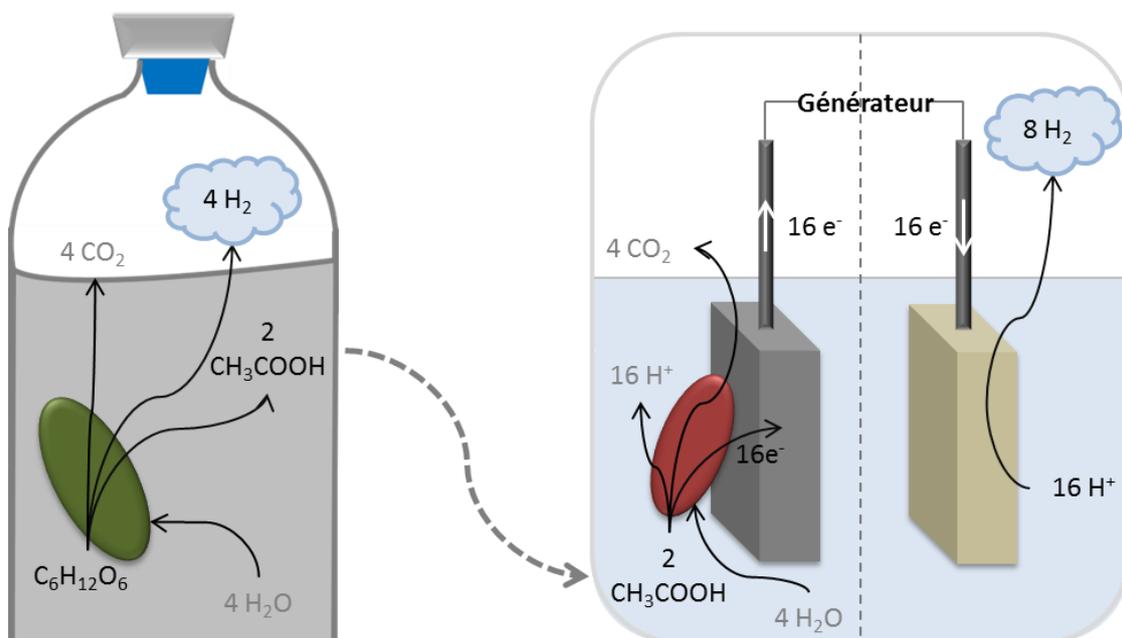


Figure I-19 : Représentation schématique du couplage de la fermentation avec l'électrolyse microbienne en ne considérant que la voie acétate en fermentation.

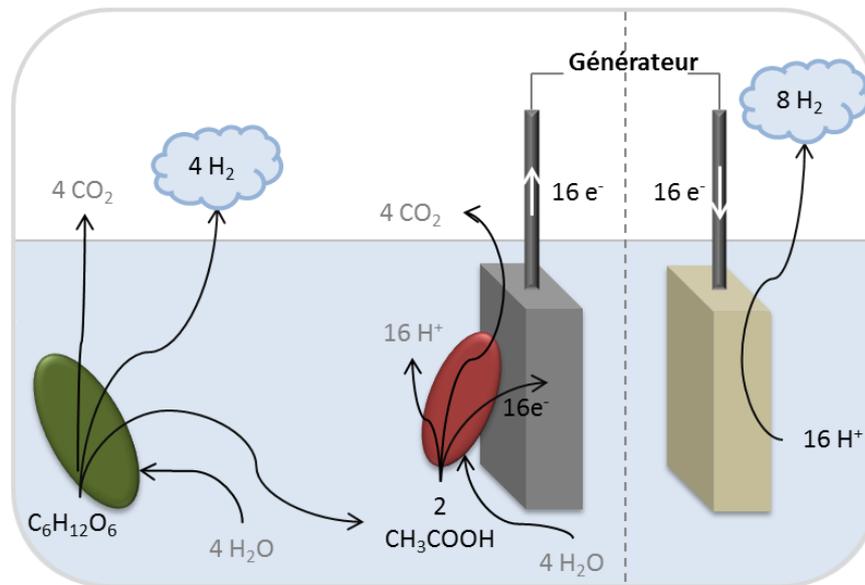


Figure I-20 : Représentation schématique du couplage de la fermentation avec l'électrolyse microbienne en ne considérant que la voie acétate en fermentation : Cas d'un procédé avec fermentation dans le compartiment anodique de la cellule d'électrolyse microbienne.

I.5.1. ETAT DE L'ART

Des premiers résultats ont été récemment obtenus en couplant la fermentation à l'électrolyse microbienne pour la production d'hydrogène (Tableau I-5).

D'après une étude de Tommasi *et al.* (2012) qui compare les deux couplages $BioH_2+CH_4$ (fermentation hydrogène + méthane) avec $BioH_2+MEC$ (fermentation hydrogène + électrolyse microbienne), le couplage $BioH_2+MEC$ a donné un meilleur taux de conversion d'énergie, avec en électrolyse microbienne une conversion de $2,41 \text{ mol}_{H_2}/\text{mol}_{\text{acétate}}$, ce qui correspondrait pour une mole de glucose consommée en fermentation à $4,82 \text{ mol}_{H_2}/\text{mol}_{\text{glucose}}$ supplémentaire à la conversion due à la fermentation. Cependant, dans cette étude, le couplage n'a pas été réalisé mais simulé avec une cellule d'électrolyse microbienne alimentée avec de l'acétate. D'une manière générale, les résultats présentés dans le Tableau I-5 montrent la faisabilité du couplage et une augmentation de conversion de matière organique en hydrogène significative avec des conversions pouvant atteindre $9,95 \text{ mol}_{H_2}/\text{mol}_{\text{glucose}}$ (Lalauette *et al.*, 2009), $8,79 \text{ mol}_{H_2}/\text{mol}_{\text{glucose}}$ (Lu *et al.*, 2009). Soit des rendements de conversion proches des estimations théoriques.

Tableau I-5 : Etudes portant sur le couplage de la fermentation et de l'électrolyse microbienne pour la production d'hydrogène.

Système	Inoculum	Substrat	[NaCl] (g/L) en MEC	pH		Température(°C)		Performances	Références
				BioH ₂	MEC	BioH ₂	MEC		
Fermentation + MEC		Poudre de blé	-	-	2,0- 7,0	-	25	à pH 7, 2V, 10g _{AGV} /L 56% de conversion	(Tuna et al., 2009)
Fermentation sur éthanol en batch (tampon pH 6.7-7) / MEC (volume liquide 26 mL)		mélasses	-	4,5	6,7- 7,0	-	25	1,41 ± 0,08 m ³ _{H₂} /m ³ _{réacteur} /j à 0,6V Augmentation du taux de production de H ₂ de 1,4 moles _{H₂} /mole _{Hexose} à 8,7 moles _{H₂} /moleHexose	(Lu et al., 2009)
Fermentation sur lignocellulose et cellobiose à pH 6,8 / Electrolyse microbienne sur effluents centrifugés de fermentation, sur un milieu synthétique, sur substrat simples (acétate, éthanol, succinate, lactate, formate)	Fermentation : <i>Clostridium thermocellum</i> MEC : eaux usées	tiges de maïs : lignocellulose ou cellobiose	8 mS/cm	6,8 (régulé)	7	50	-	<u>En fermentation :</u> 1,67 mol _{H₂} /mol _{glucose} avec 0,25 L _{H₂} /L.j sur lignocellulose 1,64 mol _{H₂} /mol _{glucose} avec 1,65 L _{H₂} /L.j sur cellobiose <u>En MEC :</u> acétate : 3,6 mol _{H₂} /mol _{acetate} (90%) succinate : 4,8 mol _{H₂} /mol _{succinate} (68%) lactate : 4 mol _{H₂} /mol _{lactate} (68%) Couplage : rendement global en hydrogène à partir de cellobiose : 9,95 mol _{H₂} /mol _{Glucose}	(Lalaurette et al., 2009)
Production d'hydrogène à partir de cellulose en combinant fermentation, MEC et MFC pour alimentation de la MEC.	enrichissement de miettes de bois pourri	cellulose	1	5,3	7	60	-	Augmentation des rendements de conversion de 41% par rapport à la seule fermentation. Récupération de 23% d'énergie de la cellulose sans apport extérieur. En MEC : 0.48m ³ _{H₂} /m ³ .j, et 33,2 mmol H ₂ /g _{D_{CO}}	(Wang et al., 2011)

système	Inoculum	substrat	[NaCl] (g/L) en MEC	pH	Température(°C)	Performances	Références		
Fermentation en réacteur STR de 2L à 35°C pH 5,2 / couplée avec production de CH ₄ Couplage avec MEC simulé avec MEC à part	Boues activées de STEP	Glucose (fermentation) / Acetate (MEC)	-	5,8	-	35	22	11,47 % de rendements de conversion avec fermentation seule 1) 55,1 % avec couplage fermentation H ₂ -CH ₄ 2) en MEC : 2,41 mol _{H₂} /mol _{acetate} $\mu = Y_{H_2\text{réel}} / Y_{H_2\text{theorique}} = 2,41 / 4 = 60,25\%$	(Tommasi et al., 2012)
Fermentation à 35°C en batch Puis alimentation de MEC	Boues activées de STEP prétraitée par sonication	Boues activées de STEP prétraitée par sonication	-	-	7	35	22	<u>En MEC :</u> 1.2mL _{H₂} /mg _{DCO} 10mmol _{H₂} /g _{MVS} 1,76 ± 0,03 m ³ _{H₂} /m ³ _{réacteur.j} Taux de récupération global d'hydrogène : 0,120 mL _{H₂} /g _{MVS.j} à partir de boues	(Liu, Huang, et al., 2012)
Fermentation en réacteur batch de 1,4 L à pH 7 alimenté avec du glucose à 6g/L / MEC alimenté par effluent de fermenteur ajustés à 3000 g _{AGV} /L et pH à 7	Boues de réacteur anaérobie	Glucose	-	5,2	7	-	28	<u>En MEC :</u> 2,025 mol _{H₂} /kg _{AGV consommés}	(Lenin Babu et al., 2013)

Dans le cadre du couplage de la fermentation et de l'électrolyse microbienne, des paramètres majeurs des deux procédés semblent être à étudier. Notamment, le pH optimal des deux procédés est différent et une absence de régulation pourrait affecter les écosystèmes de l'un ou l'autre des procédés. La salinité, qui permettrait de réduire la résistance interne de l'électrolyseur, peut avoir un impact sur la survie des microorganismes dans les deux procédés. Enfin, les écosystèmes de la fermentation et du biofilm anodique de l'électrolyseur ont des fonctions et donc des structures de communauté microbienne différentes. L'impact de la communauté microbienne issue de la fermentation sur le biofilm électroactifs doit être étudié dans le cadre du couplage.

I.5.2. IMPACT DU PH DANS LE CADRE DU COUPLAGE

Le pH du milieu joue un rôle essentiel en fermentation comme en électrolyse microbienne.

Comme vu précédemment (I.3.5.1 p. 28), en fermentation acétogène, le pH permet notamment de limiter la croissance des organismes méthanogènes et d'améliorer la production de biohydrogène en contrôlant les voies métaboliques. Le pH optimal pour la production d'hydrogène se situe entre 5,0 et 6,0 pour les déchets alimentaires et pH 7,0 pour les résidus agricoles et le fumier d'animaux (Guo *et al.*, 2010).

En électrolyse microbienne, les pH usuellement retrouvés et qui correspondent aux pH optimaux des espèces électroactives étudiées (I.4.2.5.1 p.66) sont proches de la neutralité (Liu, Cheng, *et al.*, 2005b; Biffinger *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2008; Puig *et al.*, 2010; Patil *et al.*, 2011) voire alcalin (Yuan *et al.*, 2011).

Les études présentées dans le Tableau I-5 ont été réalisées avec ajustement du pH entre l'étape de fermentation et celle d'électrolyse microbienne.

Dans le contexte du couplage de ces deux procédés et afin d'éviter une trop importante consommation en soude pour ajuster le pH en ligne dans l'électrolyseur, une étude plus approfondie de la faisabilité du couplage de ces deux procédés dans des conditions de pH intermédiaire est requise tant dans l'observation des performances obtenues que dans la sélection des micro-organismes impliqués.

I.5.3. IMPACT DE LA SALINITE SUR L'ACTIVITE ELECTROACTIVE DU BIOFILM

Le transfert de charges est un facteur important dans le fonctionnement des systèmes bioélectrochimiques. Notamment, un transport de protons lent limite les performances de ces systèmes en augmentant leurs résistances internes (Lefebvre *et al.*, 2011). Ceci peut être amélioré par une augmentation de la salinité, et donc de la conductivité du système.

Dans le compartiment anodique, l'augmentation de la salinité peut induire des effets antagonistes : elle peut augmenter la conductivité du système mais aussi affecter la physiologie du biofilm. Liu *et al.* (2005b) ont fait varier la salinité du milieu en pile à combustible microbienne alimentée avec de l'acétate sans membrane pour de faibles salinités allant de 100 à 400 mM de NaCl (de 1,7 à 6,8 mg/L). Une augmentation de 84% des performances des piles à combustible microbiennes a été observée en termes de densité de puissance fournie par le système. Plus récemment, Lefebvre *et al.* (2012) ont également étudié l'influence de la concentration en NaCl en pile à combustible microbienne pour des concentrations plus élevées. Pour une salinité de 20 g_{NaCl}/L, une augmentation de 30% des performances du procédé (densité de puissance) a été obtenue (Figure I-21) avec une réduction de la résistance interne du système de 33%. Pour de plus fortes concentrations en NaCl (40 g_{NaCl}/L), la salinité devient défavorable à l'activité électroactive du biofilm (Figure I-21). Le rendement faradique est affecté dès 10 g_{NaCl}/L, ce qui montre que le consortium anodique est sensible aux faibles salinités (Lefebvre *et al.*, 2012).

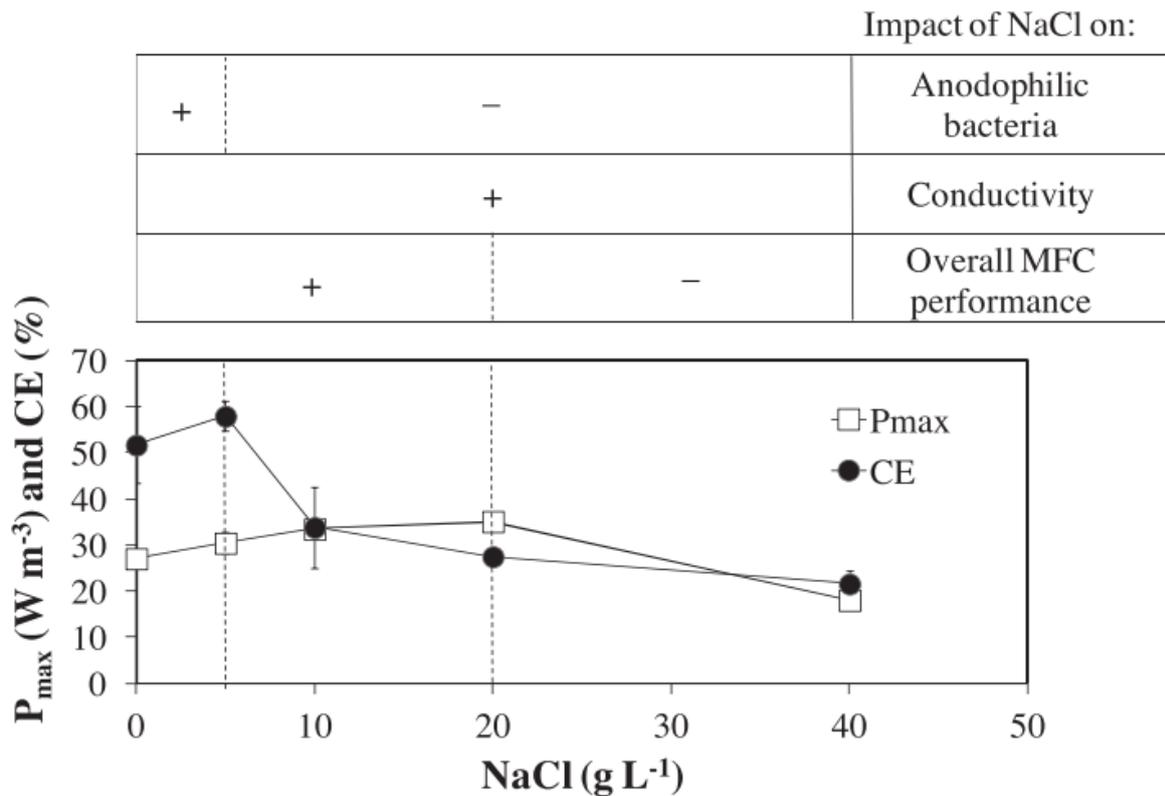


Figure I-21 : Impact de la concentration en NaCl sur le consortium anodique électroactif en termes de puissance maximale fournie par le biofilm (P_{max}) et rendement faradique (CE) (Lefebvre et al., 2012).

D'autre part, les études récentes en piles à combustible microbiennes ont montré que des conditions salines permettent de sélectionner des espèces électroactives performantes (Bond et al., 2002). Ainsi, dans la famille des *Geobacteraceae*, le genre *Desulfuromonas*, adapté à des salinités marines, prédomine dans les biofilms issus des environnements marins (Lovley, 2006b). Les deux études précédemment présentées ont été réalisées sur des biofilms obtenus à partir d'eaux usées domestiques (Liu, Cheng, et al., 2005b; Lefebvre et al., 2012). Les espèces sélectionnées sur l'anode ne sont donc pas issues d'environnements salins et donc, *a priori*, pas adaptées au sel. La sélection de microorganismes issus d'environnements salins, comme les sédiments marins, pourrait permettre de sélectionner un consortium plus à même de maintenir son activité électroactive à des salinités significatives, assurant une bonne conductivité du milieu.

Enfin, la salinité est un paramètre très peu étudié jusqu'alors en fermentation (voir I.3.5.4 page 31). La faisabilité de la fermentation en milieu salin a cependant été montrée en cultures mixtes à pH bas (Zheng et al., 2005) et en culture pure à pH neutre voire alcalin (Simankova et al., 1993; Alshiyab et al., 2008; Liu and Wang, 2012). Il serait donc intéressant d'étudier l'impact de la salinité sur le couplage dans son ensemble (sur la fermentation et le biofilm électroactif)

I.5.4. IMPACT DES ESPECES EXOGENES SUR LE BIOFILM

Dans la plupart des études rapportées sur le couplage de l'électrolyse microbienne avec la fermentation, les effluents issus de la fermentation sont centrifugés pour s'affranchir de la biomasse fermentaire dans le compartiment anodique avant leur utilisation en électrolyse microbienne (Lalaurette *et al.*, 2009; Lu *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2011).

Bien que les changements de conditions expérimentales (pH neutre voire alcalin, forte conductivité, carence en oligo-éléments) entre la fermentation et l'électrolyse microbienne puissent inhiber la croissance de ces organismes dans le compartiment anodique, leur introduction dans ce compartiment peut impacter sur la structure des communautés microbiennes et le fonctionnement du biofilm électroactif. A ce jour, cet aspect n'a été évoqué dans le cadre d'un couplage BioH₂-MEC que dans une étude récente de *Lenin Babu et al.* (2013) qui a montré la présence dans le biofilm après couplage avec la fermentation de γ -protéobactéries (50%), Bacilles (25%) and Clostridies (25%). La présence d'espèces fermentaires et connues pour produire du biohydrogène a donc été observée (Lenin Babu et al., 2013). Cependant, des données restent requises sur l'influence de ces espèces exogènes sur la communauté microbienne du biofilm, tant dans sa structure que dans ses performances.