

Université du Québec
Institut National de la Recherche Scientifique
Centre Eau Terre Environnement

PRODUCTION DE L'HYDROGÈNE PAR UN PROCÉDÉ D'ÉLECTROSYNTHÈSE MICROBIENNE (ESM)

Préparé par

BENKARAACHE Ahmed

Mémoire présentée pour l'obtention du grade de
Maître en sciences de l'eau (M.Sc.)

Jury d'évaluation

Président du jury et
Examineur interne

Satinder K. Brar
INRS-ETE

Examineur externe

Manuel Rodriguez
Université Laval

Directeur de recherche

Patrick Drogui
INRS-ETE

Codirecteur de recherche

Rajeshwar Dayal Tyagi
INRS-ETE

REMERCIEMENTS

J'adresse mes sincères remerciements et ma profonde gratitude à monsieur **Patrick DROGUI**, professeur à l'Institut National de la Recherche Scientifique (INRS-Eau, Terre et Environnement, Université du Québec) pour m'avoir confié ce sujet et d'avoir accepté de diriger ce travail. Je le remercie également pour sa contribution à ce travail, notamment pour l'aide qu'il m'a apportée durant ces travaux de recherche.

Je remercie monsieur **Kamal EL HAJI**, directeur général de l'Institut Supérieur des Hautes Études en Développement Durable (ISHÉDD), pour sa confiance, ses conseils permanents et précieux.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance envers les professeurs **TYAGI**, Mme **Satinder Kaur BRAR**, **Gerardo BUELNA**, **Yann LeBIHAN** qui ont eu la gentillesse et la générosité de partager leurs expertises afin de m'orienter durant chaque phase du projet.

Un remerciement très spécial au Dr. **Ahmad DIRANY**, associé de recherche à l'INRSETE, pour son encadrement, sa parfaite collaboration et sa patience tout au long de la réalisation du projet de recherche.

Je n'oublie pas mes parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

RÉSUMÉ

De nos jours, des solutions alternatives et durables sont proposées en remplacement des énergies fossiles. L'hydrogène, qui constitue une source énergétique d'avenir, est produit seulement à (4%) par électrolyse et essentiellement par reformage de combustibles fossiles (95%) (IFP-institut français de pétrole). Une technique reconnue pour ses émissions en gaz à effet de serre (GES) durant le processus de production. Des filières de production plus soucieuses de l'environnement doivent donc être envisagées. La cellule d'électrosynthèse microbienne (ESM) permet la réduction des GES en considérant les deux aspects suivants : le premier réside dans le processus de production de l'hydrogène lui-même et le deuxième réside dans le processus de combustion de l'hydrogène qui donne seulement de l'eau. La technologie des bioanodes permet l'oxydation de la biomasse en CO_2 , avec libération des protons, des électrons et des bioproduits par l'intermédiaire d'un biofilm électro-actif. La réduction des protons en H_2 se fait à la cathode.

Les travaux présentés dans ce manuscrit de mémoire ont pour but l'optimisation des performances de cette cellule d'électrosynthèse microbienne. L'architecture convenable aux électrodes était sélectionnée à partir de deux formes : une cellule parallélépipédique **C1**, avec une grande surface de membrane, donc plus de protons acheminés vers le compartiment cathodique et l'autre cellule cylindrique **C2** (en forme de H) plus étanche et facile à manipuler. Même si la cellule C2 engendre une résistance plus importante à cause d'une surface moins importante de la membrane échangeuse de cations (MEC), elle reste la configuration la plus souvent utilisée. Le choix des électrodes (bioanode et cathode) était basé sur une étude voltampérométrique qui nous a permis de choisir la meilleure électrode de faible surtension de dégagement d'hydrogène. Pour des raisons du coût et d'affinité du biofilm avec l'anode, l'électrode en carbone était la plus apte pour une meilleure adhésion. Pour la cathode, nous avons testé plusieurs structures d'électrodes en graphite et en inox et différents taux de production en hydrogène ont été donc obtenus. En ce qui concerne les microorganismes, le milieu réactionnel favorable était préparé en faisant varier différents paramètres qui influencent l'activité bactérienne (ex. concentration en substrat et pourcentage d'inoculum) et ce, dans le but d'augmenter

le taux de conversion de la matière organique en bio-hydrogène. Une pureté d'environ 95% en hydrogène était obtenue en imposant une tension de 5V, en utilisant une tige de graphite à la cathode, le feutre de carbone comme anode et une concentration de substrat de 10g/l de glucose en présence de 10% d'inoculum. Le taux maximal de la production en bio-H₂ enregistré est de 47 mmol/Litre de media et 6,7 mol H₂/mol de glucose. Le taux journalier de production maximal en hydrogène en m³/m³ de volume utile du réacteur/jour est estimé à 1,1 m³/m³/jour.

ABSTRACT

Today, alternative and sustainable solutions are proposed to replace fossil fuels. Hydrogen is an alternative energy source for the future. It can be produced by electrolysis (4%) and essentially by reforming fossil fuels (95%) (IFP-French Petroleum Institute). A technique that generates greenhouse gases (GHGs) during the production process. More environmentally-friendly production ways should therefore be considered. The microbial electrosynthesis cell (MEC) allows the reduction of GHGs by considering the following two aspects: the first one is due to the hydrogen production process itself and the second one is due to the combustion process of hydrogen. The bio-anode technology allows the oxidation of biomass into CO₂, with the release of protons, electrons and bio-products via an electroactive biofilm. The reduction of the protons to H₂ takes place at the cathode. The objective of this work is the optimization of the microbial electrosynthesis cell performance to produce Bio-H₂.

The suitable architecture for the electrodes was selected from two forms: a parallelepipedic cell (C1), with a large membrane surface and more protons pass to the cathode compartment. The other one is cylindrical cell (C2) (H-shaped) easy to use and more waterproof. Even though cell (C2) generates a greater resistance due to a smaller surface area of the cation exchange membrane (CEM). It remains the configuration most often used. The choice of electrodes (bioanode and cathode) was based on a voltammetric study which allowed us to choose the best electrode with the low hydrogen overvoltage. For reasons of cost and affinity of the biofilm with the anode, the carbon electrode was the most suitable for a better adhesion. For the cathode, we tested several structures of graphite and stainless steel electrodes and different rates of hydrogen production were obtained. For the microorganisms, the favorable reaction medium was prepared by varying various parameters which influence the bacterial activity (e.g. concentration of substrate and percentage of inoculum) in order to increase the conversion rate of the organic matter to bio-H₂. A purity of about 95% hydrogen was obtained by imposing a voltage of 5 V, using a graphite rod at the cathode, carbon felt as

an anode and a substrate concentration of 10 g/L of glucose in the presence of 10% of inoculum. The maximum bio-H₂ production rate recorded was 47 mmol/L of media and 6,7 mol H₂/mol of glucose. The maximum daily hydrogen production rate in m³ H₂/m³ of reactor liquid per day is estimated to 1,1 m³/ m³/day.

TABLE DES MATIÈRES

<i>PRODUCTION DE L'HYDROGÈNE PAR UN PROCÉDÉ D'ÉLECTROSYNTHÈSE MICROBIENNE (ESM)</i>	<i>i</i>
REMERCIEMENTS	III
RÉSUMÉ	V
ABSTRACT	VII
TABLE DES MATIÈRES	IX
Liste des Tableaux	1
Liste des Figures	2
<i>Liste des Abréviations</i>	<i>4</i>
II. REVUE DE LITTÉRATURE	7
II.1 UTILISATIONS D'HYDROGÈNE	7
II.2 LES PROCÉDÉS DE PRODUCTION D'HYDROGÈNE	8
II.3. ASPECTS THERMODYNAMIQUES DE L'ÉLECTROLYSE	14
III.3. ÉLECTROSYNTHÈSE MICROBIENNE (ESM)	17
II.3 PARAMÈTRES INFLUANT SUR LE PROCÉDÉ D'ESM	21
II.4 PERFORMANCES D'ESM	27
II.5 CALCUL D'EFFICACITÉ ET DU TAUX DE PRODUCTION	28
III. HYPOTHÈSES DE RECHERCHE, OBJECTIFS SPÉCIFIQUES ET DÉMARCHE EXPÉRIMENTALE	31
III.1 OBJECTIFS	31
III.2 HYPOTHÈSES	31
III.3 DÉMARCHE EXPÉRIMENTALE	32
IV. MATÉRIELS ET MÉTHODES	33
IV.1 ÉTUDE VOLTA-AMPÉROMÉTRIQUE	33
IV.2 MONTAGE DES UNITÉS EXPÉRIMENTALES	34
IV.3 COMPOSITION DES ÉLECTROLYTES	36
IV.4 TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE	38
IV.5 TECHNIQUE ANALYTIQUES	38
V. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS	41
V.1 PRODUCTION DIHYDROGÈNE À L'AIDE DE LA CELLULE	41
PARALLÉLÉPIPÉDIQUE C1	41
V.2 PRODUCTION DIHYDROGÈNE À L'AIDE DE LA CELLULE CYLINDRIQUE C2	43

POTENTIEL (V).....	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
VI. CONCLUSION.....	55
VII. RECOMMANDATION.....	56
VIII. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	57
IX. ANNEXES.....	65

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1: MODES DE PRODUCTION D'HYDROGÈNE PHYSICO-CHIMIQUES : PRINCIPE, AVANTAGES ET INCONVÉNIENTS (RAFRAFI 2012).....	8
TABLEAU 2 : MODES DE PRODUCTION D'HYDROGENE PAR VOIES BIOLOGIQUES: PRINCIPE, AVANTAGES ET INCONVÉNIENTS (RAFRAFI 2012).....	9
TABLEAU 3: COMPARAISON DES PROCÉDÉS ÉLECTROCHIMIQUES ET LEURS BESOINS ÉNERGÉTIQUES (LIU, HUANG ET AL. 2012)	12
TABLEAU 4: CARACTERISTIQUES PHYSIQUES DE LA CELLULE PARALLÉLÉPIPÉDIQUE	28
TABLEAU 5: CONDITIONS OPÉRATOIRES, TAUX DE PRODUCTION ET EFFICACITÉ DE LA CELLULE C1	36
TABLEAU 6: EFFICACITÉ ET TAUX DE PRODUCTION EN HYDROGENE EN FONCTION DU VOLTAGE APPLIQUÉ	37
TABLEAU 7: DIFFÉRENTES PARAMÈTRES MESURÉS DURANT UN ESSAI. (EAP=3V, CONCENTRATION EN SUBSTRAT=10G/L, 10%INOCULUM, ANODE FC, CATHODE CV, TEMPS DE RÉTENTION=1 JOUR 5 : DIFFÉRENTS PARAMÈTRES MESURÉS DURANT UN ESSAI. (EAP=3V, CONCENTRATION EN SUBSTRAT =10G/L, 10% INOC ...	38
TABLEAU 8 : PRODUITS DE FERMENTATION EN FONCTION DE LA DÉGRADATION DU GLUCOSE	41
TABLEAU 9 : VARIATION D'EFFICACITÉ ET TAUX DE PRODUCTION EN HYDROGÈNE EN FONCTION DE LA NATURE DE LA SOLUTION CATHODIQUE	41
TABLEAU 10:VARIATION D'EFFICACITÉ ET TAUX DE PRODUCTION EN HYDROGÈNE EN FONCTION DU VOLUME D'ÉLECTROLYTE	42
TABLEAU 11:VOLUME D'HYDROGÈNE EN FONCTION DU POTENTIEL À L'ANODE ET À LA CATHODE ET DE L'INTENSITÉ	44
TABLEAU 12: RÉCAPULATIFS DES RÉSULTATS OBTENUS À PARTIR DES TESTS SUR LA CATHODE :	47
TABLEAU 13 : VARIATION DE LA DENSITÉ OPTIQUE EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN GLUCOSE	61

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1. MÉCANISME DE FONCTIONNEMENT D'UNE PILE À COMBUSTIBLE (HTTP://WWW.MAXICOURS.COM/SE/FICHE/2/0/390820.HTML).	4
FIGURE 2. MÉCANISME DE FONCTIONNEMENT D'ESM. (LALAURETTE, THAMMANNAGOWDA ET AL. 2009)	13
FIGURE 3 : TRANSFERT INDIRECT DES ÉLECTRONS ENTRE LES BACTÉRIES ET L'ANODE PAR DES MÉDIATEURS D'OXYDO-RÉDUCTION LORS DU PROCÉDÉ ESM (LOVLEY 2006)	14
FIGURE 4. TRANSFERT DIRECT DES ÉLECTRONS ENTRE LES BACTÉRIES ET L'ANODE VIA UN CYTOCHROME LORS DU PROCÉDÉ ESM. (LOVLEY 2006)	15
FIGURE 5. TRANSFERT DES ÉLECTRONS PAR PILI CONDUCTEURS ENTRE LES BACTÉRIES ET L'ANODE LORS DU PROCÉDÉ ESM. (LOVLEY 2006)	16
FIGURE 6. MATÉRIAUX D'ANODES LES PLUS COURAMMENT UTILISÉS DANS LES SYSTÈMES D'ESM : A. BROSSES DE GRAPHITE ; B. MOUSSE DE GRAPHITE ; C. TISSU DE CARBONE ; D. PAPIER DE CARBONE ; E. CARBONE VITREUX GRANULEUX ; F. FEUTRE DE CARBONE (POCAZNOI, CALMET ET AL. 2012)	17
FIGURE 7. PHOTOGRAPHIE DES MATÉRIAUX DE CATHODE LES PLUS COURAMMENT UTILISÉS : (A) PAPIER CARBONE, (B) PLAQUE DE GRAPHITE, (C) TISSU DE CARBONE, (D) GRILLE DE CARBONE, (E) GRANULES DE GRAPHITE, (F) GRANULES DE CHARBON ACTIF, (G) FEUTRE DE CARBONE, (H) CARBONE VITREUX RÉTICULÉ, (I) BROUSSE DE CARBONE, (J) GRILLE D'ACIER INOXYDABLE. TIRÉ DE (WEI, LIANG ET AL. 2011)	18
FIGURE 8. DIFFÉRENTES GÉOMÉTRIES D'ESM : A. CELLULE EN H ; B.-D. CELLULE CUBIQUE AVEC SÉPARATEUR (B. ET D.) ET SANS SÉPARATEUR (C.) ; E. CELLULE CIRCULAIRE ; F. CYLINDRIQUE ; G. PARALLÉLÉPIPÉDIQUE (LOGAN, CALL ET AL. 2008)	18
FIGURE 9. VOLTALAB 80 (POTENTIOSTAT/GALVANOSTAT)	27
FIGURE 10. MONTAGE DE LA CELLULE PARALLÉLÉPIPÉDIQUE C1	27
FIGURE 11. STRUCTURE SCHÉMATIQUE DE LA CELLULE PARALLÉLÉPIPÉDIQUE C1	28
FIGURE 12. MONTAGE DE LA CELLULE CYLINDRIQUE C2	29

FIGURE 13. SPECTROPHOTOMÈTRE POUR L'ANALYSE DE LA DCO, SUCRES RÉDUITS ET LA DENSITÉ OPTIQUE.....	32
FIGURE 14. CHROMATOGRAPHE GAZEUX POUR L'ANALYSE DES GAZ ET DES PRODUITS VOLATILS	33
FIGURE 15. VARIATION DE L'EFFICACITÉ ET TAUX DE PRODUCTION EN HYDROGÈNE EN FONCTION DU % D'INOCULUM	39
FIGURE 16. VARIATION DE L'EFFICACITÉ ET DE TAUX DE PRODUCTION EN HYDROGÈNE EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN GLUCOSE.	40
FIGURE 17. VARIATION DE L'EFFICACITÉ ET DE TAUX DE PRODUCTION EN HYDROGÈNE EN FONCTION DE LA NATURE DE LA CATHODE	43
FIGURE 18. VARIATION DE L'EFFICACITÉ ET DE TAUX DE PRODUCTION EN HYDROGÈNE EN FONCTION DU POTENTIEL APPLIQUÉ	45
xv	
FIGURE 19. COMPARAISON ENTRE DIFFÉRENTS TECHNIQUES EN TERMES DE PRODUCTION ET D'EFFICACITÉ EN HYDROGÈNE.....	46
FIGURE 20. DÉVELOPPEMENT DU BIOFILM SUR L'ANODE EN FEUTRE DE CARBONE	61
FIGURE 21. TYPES DE CATHODES TESTÉES DURANT L'EXPÉRIMENTATION	62
FIGURE 22. COURBES VOLTAMPÉROMÉTRIQUE (DENSITÉ DU COURANT EN FONCTION DE LA TENSION APPLIQUÉE) DE DIFFÉRENTES ÉLECTRODES	62

LISTE DES ABRÉVIATIONS

CRIQ : Centre de Recherche Industrielle de Québec

DCO : demande chimique en oxygène

FC: Feutre de carbone

FG: Feutre de graphite

CV : Carbone vitreux

ESM: Électrosynthèse microbienne

GES: Gaz à effet de serre

SB/AS: Sans bactéries / avec substrat

SB/SS : Sans bactéries /sans substrat

TG : Tige de graphite

I. INTRODUCTION

La croissance exponentielle de la population mondiale nécessite des sources d'énergie potentielles, propres et moins coûteuses. Les fortes demandes en matière d'énergie sont proportionnelles à la production des énergies fossiles, réputée par ses émissions des gaz à effet de serre (GES). Aussi, Cette source devient de plus en plus limitant puisqu'elle est répartie juste dans des zones bien connues dans le monde. Dans l'optique de satisfaire ce besoin, les grands producteurs et utilisateurs industrielles de telles puissances énergétiques tendent vers celles qui sont plus rentables et respectant les normes environnementales. L'apparition des énergies renouvelables (éolien, solaire, biomasse, etc.) est apparue comme un espoir pour l'humanité même si leurs applications restent limitées à l'heure actuelle, dues à leurs couts d'investissement et/ou des conditions spécifiques dans lesquelles elles opèrent. La région du Québec est parmi les leaders en matière de production et d'utilisation d'énergies vertes (hydroélectricité, éolienne, etc.), mais de grandes quantités d'hydrocarbures (huiles lourdes, essence, diésel, gaz naturel, etc.) sont encore consommées. C'est la raison pour laquelle la stratégie énergétique du Québec 2006-2015 (L'énergie : pour construire le Québec de demain) pariait sur l'innovation en énergie pour accélérer aux nouvelles technologies et prioriser les énergies renouvelables. L'utilisation des énergies vertes, combinées aux bioénergies, permettrait au Québec d'être plus indépendant en matière énergétique et de devenir un modèle dans la lutte contre les gaz à effet de serre. Parmi ces nouvelles bioénergies, se trouve le bio-hydrogène (Bio-H₂). L'hydrogène présente de nombreux avantages en tant que vecteur énergétique à cause de ses propriétés physico-chimiques. En effet, dans les conditions standards de température et de pression (0°C, 1 atm), l'hydrogène est inodore, incolore, nontoxique, combustible et son énergie massique est la plus importante répertoriée, soit 122 kJ/g (contre 50 kJ/g et 45 kJ/g dans les cas du méthane et de l'essence respectivement). Toutefois, la molécule de dihydrogène est la molécule qui possède le plus faible poids moléculaire (2 g/mol). Avec cette faible densité moléculaire, l'hydrogène occupe un volume plus élevé qu'un autre gaz et son énergie volumique de combustion est très faible (10 kJ/L contre 30 kJ/L avec

le méthane). Ceci implique des contraintes de stockage (compression) et de transport. Cependant, durant la combustion, l'hydrogène ne produit que de l'eau sans dégagement des gaz à effet de serre (Khila, Hajjaji et al2013). L'hydrogène peut être généré par fermentation de matières résiduelles lors de l'électrolyse. Il constitue une alternative très prometteuse sur le plan énergétique et environnemental. L'hydrogène est un combustible universel qui peut être soit brûlé dans un moteur ou intégré à une pile à combustible pour alimenter les véhicules, les maisons, les immeubles, les équipements miniers, les centrales électriques et tout ce qui consomme de l'énergie électrique. Ces travaux visent à développer une technique innovante d'électrosynthèse microbienne (ESM) pour la production de Bio-H₂ et ce, à partir des eaux synthétiques et/ou des eaux usées issues d'industries de microbrasserie. L'utilisation des déchets organiques pour obtenir ce produit chimique d'origine biologique (Bio-H₂) représente une option attrayante en raison d'une économie de ressources fossiles, du faible coût de la matière première et de sa forte disponibilité. Dans un tel procédé d'ESM, les bactéries catalysent des réactions d'oxydation de molécules organiques (à l'anode) en bioproduits ou dioxyde de carbone. Ces réactions sont liées au métabolisme respiratoire bactérien. Les activités de ce projet de recherche et de développement seront basées sur les deux axes principaux interdépendants suivants, soient : **(i)** Identification et intégration d'électrodes appropriées pour la production de Bio-H₂ et ; **(ii)** Identification et caractérisation des souches microbiennes (biocatalyseurs) adaptées à la production de Bio-H₂.

II. REVUE DE LITTÉRATURE

L'hydrogène, gaz connu depuis fort longtemps, est un gaz industriel de première importance. Environ 45 millions de tonnes d'H₂ sont produites chaque année au monde dont 10% est produite en Europe (Encyclopedia Agora). L'hydrogène est couramment utilisé dans un grand nombre de secteurs industriels en synthèse chimique, carburant, pile à combustible, etc.(Ramachandran and Menon 1998)

II.1 UTILISATIONS D'HYDROGÈNE

II.1.1 Synthèse chimique

L'hydrogène est une matière de base pour l'industrie chimique. Il est souvent utilisé dans la synthèse d'ammoniac (NH₃), les amines, le méthanol, l'eau oxygénée, la fabrication d'engrais, l'hydrogénation des acides gras (graisses alimentaires, savons, etc.). (Association Française de l'Hydrogène et les Piles à combustible).(Rousseau 2013)

II.1.2 Carburant

II.1.2.1 Combustion dans un moteur

L'utilisation de l'hydrogène comme source d'énergie pour le transport est en cours de développement. Il est possible de l'utiliser dans un moteur à combustion bien qu'il faut modifier la conception et la taille de ce dernier à recevoir un carburant gazeux (Association Française de l'hydrogène). L'hydrogène liquide est également utilisé dans l'aérospatiale dans les fusées avec sa combustion par l'oxygène. Dans le moteur Vulcain de la fusée Ariane V. (Collier Jr, Hoekstra et al. 1997)

II.1.2.2 Pile à combustible

L'hydrogène est converti en électricité grâce aux piles à combustible. Dans ce système, deux électrodes sont émergées dans un électrolyte et compartimenté par une membrane échangeuse d'ions. L'anode et la cathode sont respectivement alimentées par de l'hydrogène et de l'oxygène pour assurer séparément l'oxydation de l'hydrogène et la réduction de l'oxygène (**Figure 1**). La pile à combustible fournit de l'électricité, de la chaleur et de l'eau. Ces piles à hydrogène sont en cours d'amélioration chez les fabricants automobiles (Pile à combustible à membrane échangeuse d'ions – PEMFC). Malgré le manque de stations de réapprovisionnement en

hydrogène, certains modèles sont déjà proposés à la vente aux particuliers (Mercedes classe B F-Cell, Honda FCX Clarity, etc.) (Association française d'hydrogène).

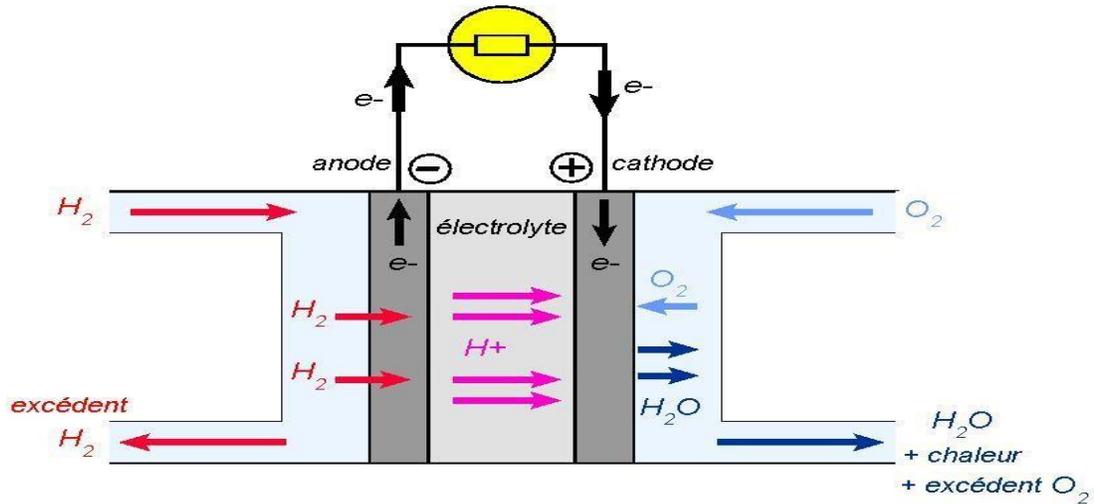


Figure 1. Mécanisme de fonctionnement d'une pile à combustible (<http://www.maxicours.com/se/fiche/2/0/390820.html>).

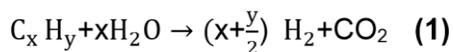
II.2 LES PROCÉDÉS DE PRODUCTION D'HYDROGÈNE

Avant d'entamer la technique d'électrosynthèse microbienne pour la production de dihydrogène, il convient de passer en revue les différents modes de production d'hydrogène utilisés aujourd'hui à grande échelle afin de mieux positionner ce travail et comprendre quels sont les avantages qu'apporte cette nouvelle technologie par rapport aux procédés actuels.

II.2.1 La voie pétrochimique

II.2.1.1 Le reformage d'hydrocarbure

La plus grande quantité du dihydrogène (environ 96%) produit actuellement provient du reformage à l'eau d'hydrocarbure (Lefebvre, Tan et al. 2012). Ce procédé consiste en réduction de l'eau par les hydrocarbures essentiellement le méthane issu du gaz naturel, pour produire du monoxyde de carbone et du dihydrogène (Eq 1):



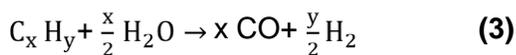
Ensuite le monoxyde de carbone est converti en CO₂, la réaction globale du reformage pour le méthane peut s'écrire (Eq 2):



La réaction globale est endothermique (spontanée). Pour le méthane, il est donc nécessaire de travailler à haute température (840 à 950°C). La réaction est également catalysée par le nickel. Le bilan carbone de ce procédé est de 10 à 11 tonnes de CO₂ par tonne de dihydrogène produite et son efficacité énergétique est de 65% (Darkrim-Lamari and Malbrunot 2006).

II.2.1.2 La combustion partielle d'hydrocarbure

La combustion partielle d'hydrocarbure est une oxydation incomplète des molécules carbonées par le dioxygène. La quantité de dioxygène apportée est deux fois moindre que la quantité nécessaire à l'oxydation totale de l'hydrocarbure considéré (**Eq 3**):



De la même manière que pour le reformage, le monoxyde de carbone formé lors de la réaction est oxydé en CO₂ par conversion du gaz à l'eau. La réaction est spontanée et exothermique. Pour des raisons de cinétique, elle se déroule généralement sous haute pression et haute température (1200 à 1500°C). Au moyenne 15 tonnes de CO₂ par tonne de dihydrogène est produite, le bilan carbone de l'oxydation partielle est légèrement plus lourd que celui du vapo-reformage. L'efficacité énergétique du procédé est en moyenne de 55% (Darkrim-Lamari and Malbrunot 2006). Récemment, un nouveau type de procédé nommé reformage autotherme a vu le jour.

Ce procédé combine combustion partielle et reformage à l'eau en utilisant la chaleur générée par la combustion pour alimenter la réaction de reformage.

II.2.2 Les photo-bioprocédés

Les algues ou bactéries photosynthétiques assimilent les photons de la lumière pour convertir le dioxyde de carbone et l'eau des carbohydrates et de l'oxygène. Les photons oxydent des substrats organiques à la place de la molécule d'eau. Elle est réalisée par les bactéries pourpres telles que Rhodobacter ou Rhodospseudomonas. Le rendement théorique de conversion de l'énergie lumineuse en hydrogène est proche de 100%. Cependant, en réalité les rendements obtenus sont proche de 4%. Ces faibles rendements peuvent être expliqués par l'inhibition due à l'excès de lumière (Hallenbeck and Ghosh 2009). Certains micro-organismes, peuvent aussi utiliser l'énergie solaire pour produire de l'hydrogène. Cependant les productivités en hydrogène

répertoriées dans la littérature sont faibles, de l'ordre de 0,007 mmol H₂/L/h (Levin, Pitt et al. 2004) à cause de la forte sensibilité des hydrogénases vis-à-vis de l'oxygène qui est malheureusement un des produits de la réaction.

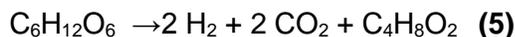
II.2.3 Fermentation

Les procédés fermentaires permettent la production d'hydrogène à partir des hydrates de carbone simples (saccharose, glucose) ou de polysaccharides complexes. Les productivités de tels systèmes sont intéressantes, de l'ordre de quelques litres d'hydrogène/L réacteur/h (Hawkes, Hussy et al. 2007, Guo, Trably et al. 2010). Par exemple, (Levin, Pitt et al. 2004) ont obtenu 2.7 L/L/h en condition mésophiles. Les rendements restent cependant limités en termes de moles d'hydrogène produit par mole de substrat du fait de la co-production d'acides organiques non-fermentescibles. Par exemple, la fermentation du glucose produit au maximum :

a) 4 moles d'hydrogène par mole de glucose par la voie métabolique de l'acide acétique (**Eq 4**):

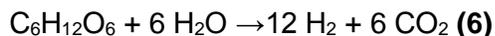


b) 2 moles d'hydrogène par mole de glucose si le co-produit est l'acide butyrique (**Eq 5**) :



En pratique, les techniques de fermentation donnent de 2.4 à 3.2 moles d'hydrogène par mole de glucose (Hawkes, 2007). Ceci est dû au grand nombre de métabolismes impliqués en cultures mixtes. Il y a aussi bien que des pistes proposent d'augmenter cette conversion avec par exemple la conversion des acides organiques tels que l'acétate et le butyrate issus de la fermentation

(Fang, Liu et al. 2005), la stœchiométrie maximale de 12 moles d'hydrogène par mole de glucose est encore loin d'être atteinte (**Eq 6**).



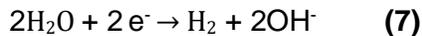
II.2.4 La voie électrochimique

Les deux avantages de la voie électrochimique en comparaison de la voie pétrochimique résident dans la non-utilisation de carburants fossiles et la non-émission de gaz à effet de serre (GES), excepté bien évidemment si l'électricité utilisée est générée par des combustibles fossiles (centrale électrique au charbon par exemple).

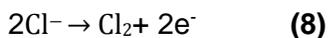
II.2.4.1 L'électrolyse Chlore-Soude

Les 4% du dihydrogène produits au niveau industriel autrement que par la voie pétrochimique sont issus du procédé Chlore-Soude qui consiste en l'électrolyse de saumure très riche en NaCl. Les réactions aux électrodes sont :

- a) la formation de dihydrogène et d'ion hydroxyde à la cathode par réduction biélectrique de l'eau **(Eq 7)**:



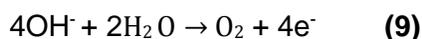
- b) la formation de dichlore à l'anode par oxydation de l'ion chlorure **(Eq 8)**:



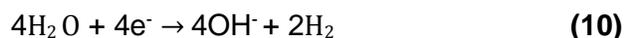
Pour des raisons de cinétique, les anodes utilisées sont des électrodes de titane revêtues par des oxydes de métaux précieux ou semi-précieux (ruthénium, iridium, platine, etc.) (Kumagai et al. 2002). Les cathodes étaient à base de nickel mais tendent à être remplacées par les mêmes matériaux et revêtements que les anodes. Il est nécessaire d'ajouter un séparateur entre anode et cathode. Ce séparateur consistait en un simple diaphragme avant que la technologie des membranes entre sur le marché dans les années 70. Actuellement, les membranes utilisées dans le procédé Chlore-Soude sont des membranes échangeuses de cations et constituées de polymères fluorés avec greffes de terminaisons COO^- ou SO_3^- . Trois types de membranes sont sur le marché : les membranes Nafion® issues des États-Unis et les membranes japonaises Flemion® et Aciplex®. (Rousseau 2013)

II.2.4.2 L'électrolyse de l'eau

Pour des raisons de coût, la production de dihydrogène par électrolyse de l'eau n'est pas exploitée dans des proportions industrielles. Le dihydrogène produit par électrolyse possède un haut degré de pureté. Il est souvent utilisé pour des applications très spécifiques (spatial, médical...). Les électrolytes sont principalement des solutions d'hydroxyde de potassium concentrées (25% massique pour des températures de 80 à 90°C) (Rossmeisl, Qu et al. 2007). Les réactions aux électrodes sont la formation de dioxygène par oxydation des ions hydroxydes à l'anode :



La formation de dihydrogène par réduction de l'eau à la cathode **(Eq 10)**:



La stœchiométrie de la réaction étant de deux moles de dihydrogène pour une mole de dioxygène, on récupère en espace de tête (headspace) un mélange de gaz respectivement de **1)** deux tiers d'H₂ et **2)** un tiers de dioxygène O₂. Pour séparer les deux gaz, un séparateur pourra être mis en place de manière à séparer la chambre anodique et la chambre cathodique.

Les matériaux d'électrode utilisés doivent remplir deux critères majeurs : **1)** une bonne résistance à la corrosion et **2)** une réduction des pertes énergétiques dues aux cinétiques au voisinage des électrodes. L'anode est généralement un alliage d'acier et de nickel préparée à

90°C. Les cathodes sont constituées de fer revêtu de nickel ou d'un de ses alliages (Ni-S, NiZn). (Rousseau 2013). Le **tableau 1 et 2** montre les différentes méthodes pour la production d'hydrogène, principe, avantages et inconvénients.

Tableau 1: Modes de production d'hydrogène physico-chimiques : principe, avantages et inconvénients (Rafrafi 2012)

Techniques	Principes	Avantages	Inconvénients
Reformage	Chauffage à haute température (à 840-950) pour obtenir des éléments gazeux ensuite séparés par un jeu de température	Technologie mature, peu couteuse	Rejets CO ₂ , utilisation d'énergies fossiles
Électrolyse de l'eau	Séparation de la molécule De l'eau 80°C, réaction inverse d'une pile	Technologie mature, pas de rejets de CO ₂	Couteuse énergétiquement, Taille des installations
Pyrolyse de la biomasse	Chauffage à haute température des corps organiques complexes, pour produire des éléments simples.	Pas de production de CO ₂	Coûteuse énergétiquement

Photoélectrolyse	Utilisation de la lumière solaire qui agit sur une cellule photoélectrique produisant des bulles de H ₂ et d'O ₂ si elle est immergée dans l'eau.	Pas de rejet de CO ₂	Coûts des photobioréacteurs Faible conversion de l'énergie solaire Production limitée d'H ₂
-------------------------	---	---------------------------------	--

Tableau 2 : Modes de production d'hydrogène par voies biologiques: principe, avantages et inconvénients (Rafrafi 2012)

Techniques	Principe	Avantages	Inconvénients
Fermentation classique	Réactions réalisées par des bactéries anaérobies stricts (<i>Clostridium butyricum</i>) ou facultatives (ex. Entérobactérie cloacale) lors de la transformation de la matière organique grâce à des hydrogénases	Production à partir de matière organiques variées, Pas besoin de lumière	Purification de l'H ₂ nécessaire, Sensibilité à la pression d'H ₂ , Accumulation de métabolites secondaires
Photofermentation	Réaction réalisée par des bactéries photosynthétiques anoxygènes (bactéries pourpres, hétérotrophes) (ex. : <i>rhodobacter capsulatus</i>) Utilisation de la lumière et des nitrogénases ² , sous carence d'azote	Rendement Théorique de conversion en H ₂ Élevé Valorisation des Déchets organiques	Coûts des photobioréacteurs Faible conversion de l'énergie solaire Production d'H ₂ limitée par rapport aux procédés physico-chimiques Production séquencée (cycle de la photosynthèse et/ou stress bactérien)

Électrolyse microbienne	Réaction réalisée par des bactéries électroactives formant un biofilm (ex. <i>Shewanella</i> , <i>Geobacter</i>) qui transfère les électrons issus de l'oxydation de molécules organiques au système	Rendement de conversion en H ₂ élevé Valorisation des déchets organiques	À l'état de recherche
--------------------------------	--	--	-----------------------

II.3. ASPECTS THERMODYNAMIQUES DE L'ÉLECTROLYSE

La conversion entre énergie électrique et énergie chimique dans un système électrochimique peut être s'exprimer thermodynamiquement par la variation d'énergie libre de Gibbs ΔG_r de la réaction globale du système (**Eq 11**):

$$\Delta G_r = \Delta G_r^0 + RT \ln(\pi) \quad (11)$$

- ❖ ΔG_r représente la variation libre d'énergie de Gibbs (en Joule)
- ❖ ΔG_r^0 représente la variation libre d'énergie de Gibbs standard calculée pour les conditions standards soit à une température de 298.15 K, une pression de 1 bar et une concentration de 1 mol/L de toutes les espèces
- ❖ R la constante universelle des gaz parfait (8,31447 J/mol/K)
- ❖ T représente la température en Kelvin (K)
- ❖ π est le quotient réactionnel ou le quotient de l'activité des produits sur l'activité des réactifs.

De la même manière, le travail d'un système électrochimique peut se traduire grâce à la différence de potentiel thermodynamique, ΔE_{th} qui est déterminé par la différence entre le potentiel anodique standard E_A à l'anode et le potentiel cathodique théorique standard E_C à la cathode (**Eq 12 et 13**):

$$\Delta G_r = -nF \Delta E_{th} \quad (12)$$

$$\text{Où } \Delta E_{th} \text{ (V)} = E_C - E_A \quad (13)$$

- nF représente la charge transférée durant la réaction (Coulombs), calculée comme le produit à partir de nombre d'électrons échangés par mole de réactif (mol).
- F est la constante de Faraday (96500 C/mol).

À partir de ces deux équations ci-dessus, on obtient **(Eq 14)**:

$$\Delta E_{th} = -\Delta G_r / nF = -\Delta G_r^0 / nF - RT \ln(\pi) / nF \quad (14)$$

Cette équation nous permet aussi de faire la distinction entre deux types de configuration des systèmes électrochimiques. Lorsque ΔE_{th} est positive, cela signifie que la variation d'énergie libre de la réaction globale du système est négative (Oelkers, Helgeson et al. 1995). Cette réaction est thermodynamiquement favorisée et peut libérer de l'énergie électrique, le système fonctionne donc en pile galvano-statique. Dans ce cas, le potentiel standard de l'anode est inférieur au potentiel standard de la cathode. Dans l'autre cas, ΔE_{th} du système est négative, ce qui signifie que la réaction requiert un apport d'énergie électrique pour se dérouler (Darkrim-Lamari and Malbrunot 2006). Dans ce cas, le potentiel standard de l'anode est supérieur au potentiel standard de la cathode. Le système est alors une pile à électrolyse ou à électrosynthèse.

Rôles des catalyseurs

En réalité, d'après (Levenspiel 1999), les réactions électrochimiques sont limitées par un certain nombre de facteurs, notamment les cinétiques et l'implication des espèces chimiques qui interviennent. Ces obstacles, affectent la différence de potentiel effectif des systèmes par rapport à la différence de la potentielle thermodynamique.

Un moyen pour dépasser ces limites cinétiques consiste à utiliser des catalyseurs facilitant les réactions d'oxydo-réduction. Les catalyseurs sont des espèces chimiques capables d'accélérer les vitesses des réactions, en abaissant l'énergie d'activation (Lapinsonniere 2013). Les catalyseurs utilisés encore classiquement en électrochimie sont des catalyseurs métalliques, comme le platine. Ce matériau est répondu par son efficacité, mais avec un coût élevé ou encore le nombre limité de réactions qu'il catalyse. Afin d'affranchir ces défauts, des catalyseurs synthétisés chimiquement ont été utilisés. Ces catalyseurs sont souvent inspirés des catalyseurs biologiques qu'on retrouve dans la nature. On peut citer en exemple de ce type de catalyseurs dits biomimétiques, les porphyrines utilisées notamment pour catalyser la réduction du dioxygène (Logan, Call et al. 2008). Les chercheurs sont partis plus loin dans le mimétisme biologique. Ils ont commencé à explorer les biocatalyseurs. Il ne s'agit plus d'imiter mais cette fois d'isoler des catalyseurs de type enzymatique, synthétisés par des êtres vivants. Ces catalyseurs d'origine

biologique permettent d'accélérer une grande variété de réactions (**Tableau 2**). Les biocatalyseurs sont peu onéreux et opèrent à partir de composés facilement disponibles et donc peu chers. Ces systèmes biomimétiques ou d'origine biologique ont cependant plusieurs défauts. Tout d'abord, ils se dégradent relativement rapidement et doivent être remplacés régulièrement (Lapinsonnière, Picot et al. 2012). De plus, ils ne sont capables de réaliser la catalyse que d'une étape réactionnelle et sont spécifiques d'un nombre très limité de substrats, notamment dans le cas des substrats organiques (Divisek, Jung et al. 1990). Pour exploiter toute l'énergie disponible dans un substrat, il est souvent nécessaire de réaliser une suite complexe de réactions d'oxydoréduction. Il est possible d'associer plusieurs catalyseurs biomimétiques ou d'origine biologique afin de réaliser des réactions à étapes multiples mais l'efficacité de la conversion est faible (Sokic,

Lazic, Arechederra et al. 2010). L'utilisation non pas d'enzymes isolées mais directement d'un organisme vivant entier en tant que catalyseur permet de se libérer des contraintes mentionnées précédemment qui sont le coût, le nombre restreint de réactions catalysées, la faible stabilité du catalyseur ou encore sa connexion difficile à l'électrode. On parle alors d'un système bioélectrochimique.

L'ESM est un nouveau procédé bio-électrochimique en mode de développement qui permet à des bactéries dans la chambre anodique d'oxyder les matières organiques pour produire l'hydrogène par réduction cathodique des protons H^+ . Ces protons produits dans la chambre anodique migrent vers la cathode sous l'effet du champ électrique à travers une membrane échangeuse de cations.

Tableau 3: Comparaison des procédés électrochimiques et leurs besoins énergétiques (Liu, Huang et al. 2012)

Procédé	Réaction à l'anode	Réaction à la cathode	Spontanéité de la réaction
Pile microbienne	$CH_3COO^- + 4H_2 \rightarrow 2HCO^- + 9H^+ + 8e^-$	$O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$	Oui (1.085V)
ESM	$CH_3COO^- + 4H_2 \rightarrow 2HCO^- + 9H^+ + 8e^-$	$2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$	Non (-0.135V)
Électrolyse de l'eau	$2H_2O \rightarrow O_2 + 4H^+ + 4e^-$	$2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$	Non (-1.21V)

III.3. ÉLECTROSYNTHÈSE MICROBIENNE (ESM)

II.2.5 Principe de fonctionnement

La technique d'ESM a été découverte il y a quelques années par deux groupes de chercheurs différents. Ils ont trouvé que les microorganismes pouvaient être utilisés pour produire de l'hydrogène dans un procédé d'électrolyse microbienne basé sur celui des piles à combustibles microbiennes ((Liu, Grot et al. 2005);(Rozendal, Hamelers et al. 2006). Dans le compartiment anodique, des micro-organismes forment un biofilm sur l'anode, oxydent la matière organique et transfèrent les électrons issus de cette oxydation via un circuit externe à la cathode, où ils réagissent avec les ions H^+ pour produire de l' H_2 (Liu, Grot, et al., 2005; Rozendal et al., 2006).

Parmi les acides gras volatils, l'acétate et le propionate sont des donneurs d'électrons préférés (Freguia, et al. 2010). Les espèces vivantes anaérobies ont évolué en développant diverses méthodes pour réduire des composés supportant leur métabolisme sans utiliser l'oxygène comme accepteur d'électrons. Les bactéries présentes dans les biofilms électroactifs présentent une faculté à transférer leurs électrons à un accepteur externe insoluble autre que leur accepteur d'électron dans leur environnement naturel. Ces bactéries sont appelées «bactéries électro-actives» ou «exo-électrogène». Les bactéries électro-actives se distinguent des bactéries anaérobies en général par leur capacité à transférer directement leurs électrons en dehors de la cellule, permettant leur emploi dans les systèmes d'ESM. (Figure 2)

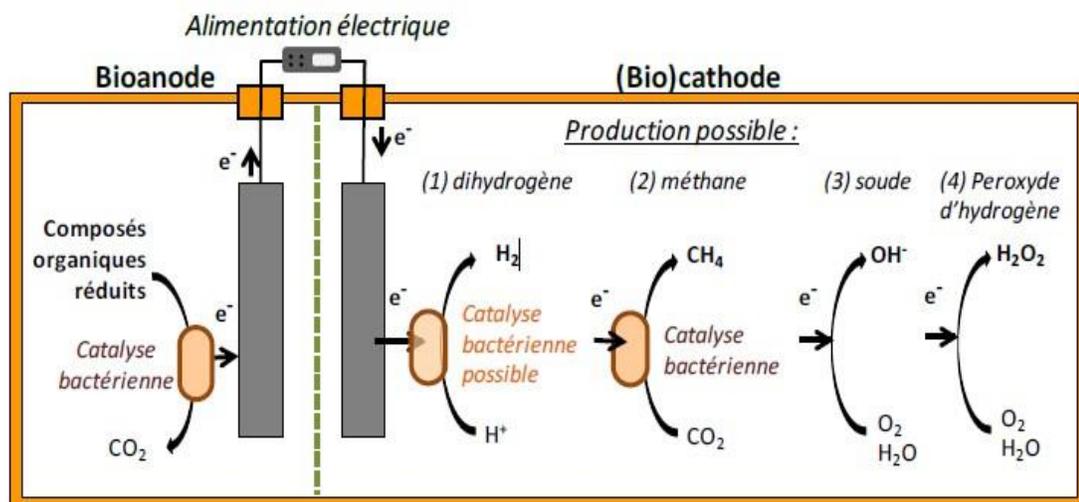


Figure 2. Mécanisme de fonctionnement d'ESM. (Lalaurette, Thammannagowda et al. 2009)

II.2.6 Mécanismes de transfert des électrons

Les bactéries libèrent les électrons du substrat organique en l'oxydant en intermédiaires métaboliques, protons et CO₂. Les électrons libérés sont capturés par des coenzymes tels que le nicotinamide adénine dinucléotide (NAD⁺), le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP), la flavine adénine dinucléotide (FAD) et la ferrédoxine (Fd-Fe³⁺), qui sont respectivement réduits en NADH, NADPH, FADH₂, Fd-Fe²⁺ (Carmona-Martínez, Pierra et al. 2013). Ces électrons sont transmis de porteur en porteur jusqu'à l'accepteur final d'électrons. En absence d'oxygène, les micro-organismes cèdent leurs électrons à l'anode. Les bactéries électro-actives transfèrent leurs électrons soit à travers un transfert direct, soit par transfert indirect via des médiateurs (Bond, Holmes et al. 2002).

II.2.6.1 Transfert indirect

Les médiateurs correspondent à des transporteurs chimiques pour les électrons (entre la membrane cellulaire et l'anode). Ils peuvent s'oxyder et se réduire successivement (**Figure 3**). Ils peuvent traverser la membrane cellulaire sous leur forme oxydée. Ils peuvent accepter des électrons d'un ou de plusieurs porteurs à l'intérieur de la cellule, puis sortir de cette dernière sous forme réduite pour transférer des électrons à l'anode en se ré-oxydant (Shukla, Suresh et al. 2004). Le potentiel de réduction du médiateur doit donc être supérieur à celui du porteur intracellulaire. Des médiateurs artificiels peuvent être utilisés pour des micro-organismes qui sont incapables de produire eux même leur propre médiateur comme *Escherichia coli* et certaines espèces des genres *Pseudomonas*, *Proteus* ou encore *Bacillus*. Ces médiateurs peuvent être la thionine, la résorufine, le méthyl viologène, les acides humiques, le rouge neutre, le 2,6dichlorophénol indophénol, et la 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (Logan and Regan 2006). Dans certain cas, les micro-organismes produisent eux-mêmes leurs propres médiateurs pour le transfert cellulaire des électrons. C'est le cas d'*Enterococcus gallinarum* et de *Pseudomonas aeruginosa* qui produisent respectivement de l'entérocyne 012 et de la pyocyanine (Rabaey, Booet al. 2004) Cependant, le recours à la production de médiateurs associée à leur renouvellement représente un coût énergétique non négligeable pour la cellule.

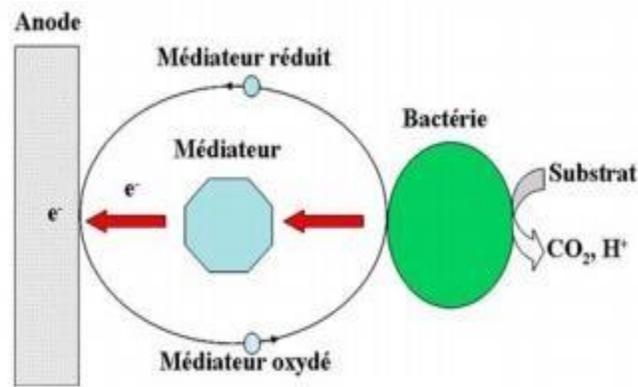


Figure 3 : Transfert indirect des électrons entre les bactéries et l'anode par des médiateurs d'oxydoréduction lors du procédé ESM (Lovley 2006)

II.2.6.2 Transfert direct électrode/bactérie

Il y a environ une dizaine d'années que le transfert direct d'électrons entre une cellule et une électrode a été mis en évidence (**Figure 4**). Ce transfert a tout d'abord été démontré avec des bactéries planctoniques utilisant des oxydes de fer comme accepteurs d'électrons (Joo, Hyun et al. 1999) puis sur des biofilms électro-actifs (Bond, Holmes et al. 2002). Dans le cas d'un contact direct entre le micro-organisme et la surface de l'électrode, les électrons passent vers l'électrode directement via des cytochromes présents sur la membrane externe de la cellule (Lovley 2006).

Plusieurs micro-organismes sont aujourd'hui connus pour utiliser ce type de transfert électronique: les *Geobacteraceae* notamment avec *G. sulfurreducens* qui est l'une des bactéries électro-actives modèle ainsi que les *Schewanellaceae* avec *S. oneidensis*. Ces micro-organismes sont également connus pour échanger des électrons avec des oxydes de fer (ferri-reducteurs) (Borole et col. 2011).

Néanmoins ce type de transfert ne peut opérer que lorsque la bactérie se trouve à proximité de l'électrode or les biofilms électro-actifs peuvent parfois mesurer plusieurs dizaines de micromètres d'épaisseur (Pocaznoi, Calmet et al. 2012). D'autres mécanismes doivent donc être mis en jeu pour assurer les transferts des bactéries situées dans les couches externes du biofilm.

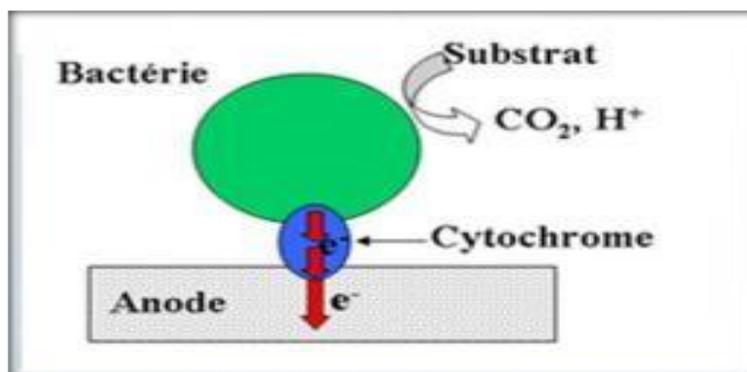


Figure 4. Transfert direct des électrons entre les bactéries et l'anode via un cytochrome lors du procédé ESM. (Lovley 2006)

II.2.6.2.1 Le contact par pilis conducteurs

Les électrons peuvent transiter via des nanofils conducteurs sécrétés par les bactéries (**Figure 5**). Ces nanofils sont appelés pili et sont constitués de molécules polymériques de piline. Même si ces structures se sont révélées riches en cytochromes (Logan 2009), la composition exacte des pili mis en jeu lors de transfert électronique n'est cependant pas encore parfaitement connue. De la même manière, le type de conduction électronique ayant lieu au sein des pili reste méconnu. (Strycharz-Glaven, Snider et al. 2011) ; (Malvankar, Tuominen et al. 2012)

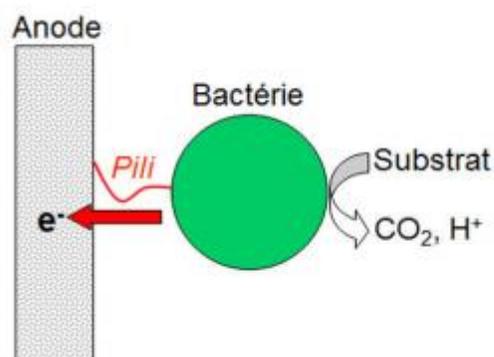


Figure 5. Transfert des électrons par pili conducteurs entre les bactéries et l'anode lors du procédé ESM. (Lovley 2006)

II.3 PARAMÈTRES INFLUANT SUR LE PROCÉDÉ D'ESM

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'efficacité du procédé ESM. Dans l'optique de déterminer les meilleures conditions pour la production de Bio-H₂, plusieurs paramètres ont été étudiés tels que: le potentiel imposé, la nature de l'électrode anodique et cathodique, pH, % en inoculum, concentration en substrat, etc.

II.3.1 Anode

La très grande majorité des anodes constituant les cellules d'électrosynthèse microbienne, que ce soient les piles ou les électrolyseurs, sont à base de carbone (Logan, Call et al. 2008) même si l'acier inoxydable a récemment montré des performances remarquables (Pocaznoi, Calmet et al. 2012) et que d'autres métaux aient été testés avec succès (Kumar, Ghosh et al. 2001). Cet attrait du carbone comme matériau d'anode peut s'expliquer de différentes façons. Le critère économique tout d'abord, puisque le carbone (graphite) est un matériau peu coûteux. L'adhésion des micro-organismes est en outre favorisée par les matériaux à base de carbone en partie parce leur surface plus rugueuse que celle d'un métal offre plus de points d'attache potentiels pour les micro-organismes. Les anodes en ESM ont de préférence une grande surface active afin de permettre la croissance du biofilm dans les trois dimensions de l'espace d'une part et d'améliorer le taux de production de dihydrogène par unité de volume du réacteur (exprimé en m³ H₂/m³du liquide dans le réacteur).

On pourra donc trouver des électrodes en carbone sous différentes formes (Logan, Call et al. 2008) ont utilisé une anode sous forme de brosse de graphite. Sa surface spécifique de 18 200 m².m⁻³ et sa porosité de 95% ont permis d'atteindre une production de dihydrogène de 3,12 m³ H₂/m³/j. Bien qu'ayant une surface active plus faible, le tissu de carbone est également très employé en matériau d'anode dans les systèmes d'ESM (Logan, Call et al. 2008).

II.3.2 La cathode

Les cathodes les plus souvent employés en ESM sont trois : en premier lieu, on trouve les électrodes avec revêtement en platine, qui est un très bon catalyseur de la réduction des protons en dihydrogène (**Figure 6**). Le matériau support est généralement du tissu de carbone.

Néanmoins, compte-tenu de leur coût, l'usage de catalyseur comme le platine ou le palladium ne paraît pas exploitable pour une utilisation à grande échelle de la technologie d'ESM. (Kundu, Sahu

et al. 2013). L'utilisation de cathode en nickel ou en acier inoxydable a aussi été testée en ESM (Kundu, Sahu et al. 2013).

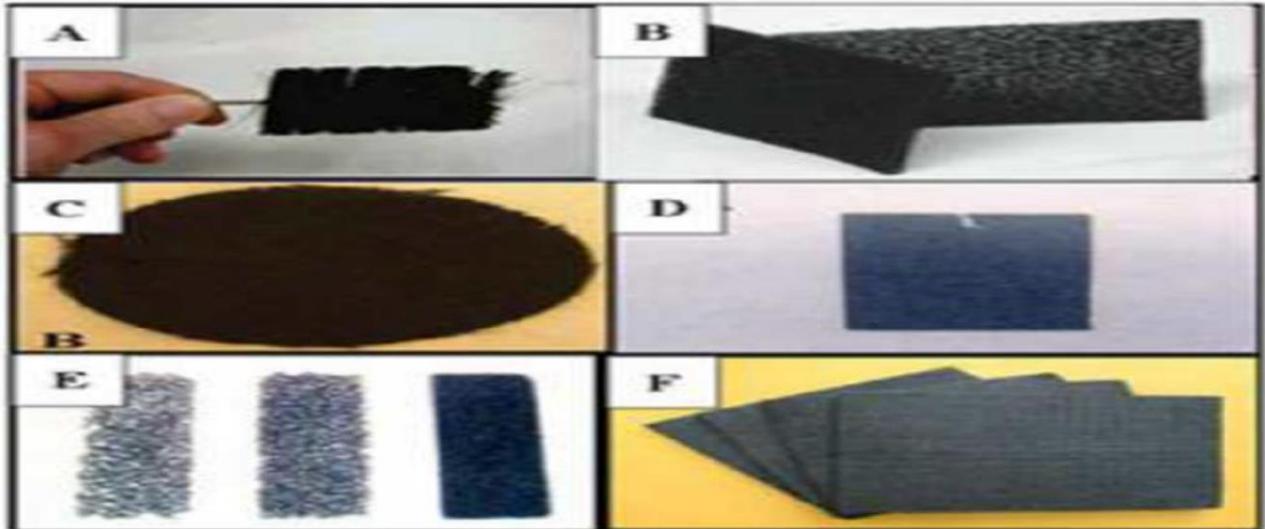


Figure 6. Matériaux d'anodes les plus couramment utilisés dans les systèmes d'ESM : A. brosse de graphite ; B. mousse de graphite ; C. tissu de carbone ; D. papier de carbone ; E. carbone vitreux granuleux ; F. feutre de carbone (Pocaznoi, Calmet et al. 2012)

Ces matériaux possèdent plusieurs propriétés intéressantes : une bonne catalyse de la réduction des protons, un coût raisonnable en comparaison des métaux comme le platine. De plus, il a été démontré il y a une dizaine d'années que certains acides faibles comme les phosphates ou l'ammonium sont de bons catalyseurs de la formation de dihydrogène sur acier inoxydable (Da Silva, et al. 2004). Cette catalyse par les acides faibles sur nickel est d'autant plus intéressante que phosphate et ammonium sont des éléments nécessaires à la croissance et au fonctionnement des micro-organismes. La dépendance entre la production de dihydrogène à la cathode et la teneur en nickel a été étudiée dans une cellule d'ESM de 50 mL avec une anode en feutre de carbone et une cathode en papier de carbone avec ajout de particules de carbone recouverte de différents métaux (nickel, molybdène, cobalt, fer, cérium et manganèse). **(Figure7)**



Figure 7. Photographie des matériaux de cathode les plus couramment utilisés : (A) Papier carbone, (B) Plaque de graphite, (C) Tissu de carbone, (D) Grille de carbone, (E) Granules de graphite, (F) Granules de charbon actif, (G) Feutre de carbone, (H) Carbone vitreux réticulé, (I) Brosse de carbone, (J) Grille d'acier inoxydable. Tiré de (Wei, Liang et al. 2011)

II.3.3 Architecture de la cellule

L'architecture de la cellule d'électrosynthèse microbienne est fondamentale pour l'optimisation de leurs performances (**Figure 8**). Celles-ci consistaient en cellules en forme H constituées de deux bouteilles en verres reliées par une membrane. Cette configuration induit un espacement entre anode et cathode assez conséquent et donc une chute ohmique importante. (Liu, Cheng et al.

2005) ont utilisé ce type de cellule en ESM, l'espacement entre anode et cathode étant de 15 cm et le milieu peu conducteur, les premiers tests abiotiques en électrolyse de l'eau ont démontré une résistance de l'électrolyte de 140Ω. L'anode en tissu de carbone ayant une surface de 68 cm², une telle résistance engendre une chute ohmique de 9,5 V pour une densité de courant de seulement de 10 A.m² (Liu, Cheng et al. 2005). Par la suite, la géométrie des ESM a été repensée afin de minimiser l'espacement entre anode et cathode. La majorité des cellules sont ainsi de forme cubique, parallélépipédique ou cylindrique. (Wang, Liu et al. 2010) ont montré l'avantage du passage des cellules en H aux cellules de forme cubique en diminuant l'espacement interélectrode de 14 à 4 cm (Wang, Sun et al. 2010). Bien que les électrolyseurs de forme parallélépipédique aient montré de bonnes performances, les électrolyseurs cylindriques

présentent l'avantage de pouvoir jouer sur le rapport de surface entre anode et cathode. Cet avantage peut être très intéressant quand on sait que l'une des deux électrodes est limitant par rapport à l'autre et qu'il faut alors augmenter la surface de l'électrode pour travailler dans une gamme de densités de courant plus faible.

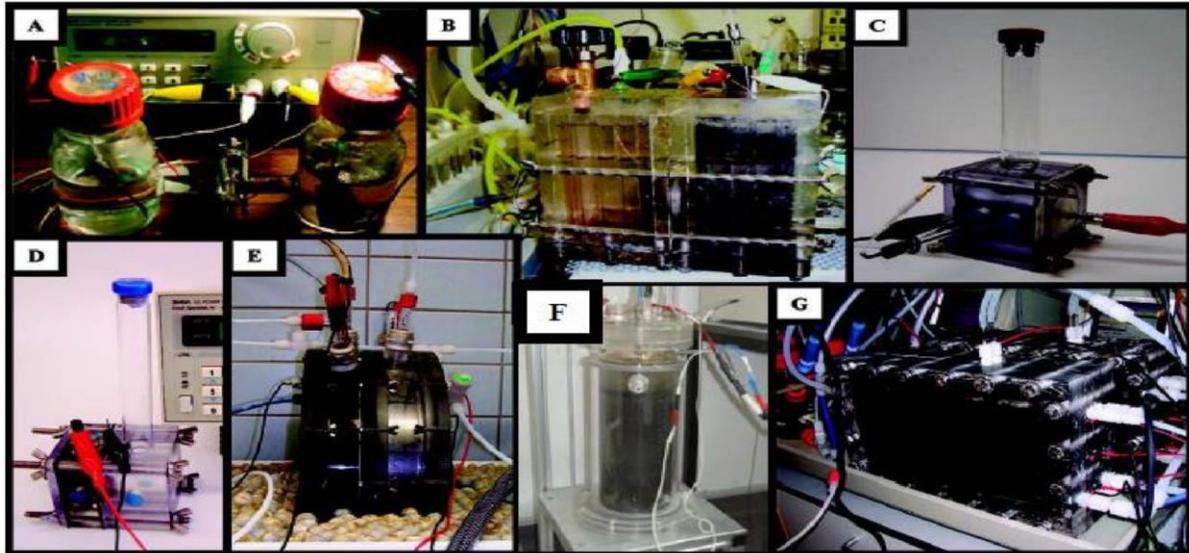


Figure 8. Différentes géométries d'ESM : A. cellule en H ; B.-D. Cellule cubique avec séparateur (B. et D.) et sans séparateur (C.) ; E. cellule circulaire ; F. cylindrique ; G. parallélépipédique (Logan, Call et al. 2008).

II.3.4 La membrane

Pour plusieurs raisons, un séparateur peut être ajouté entre les deux compartiments de la cellule d'électrolyse microbienne. En premier lieu, il peut simplement séparer les gaz anodiques (CO_2 et CH_4 essentiellement) et cathodiques (dihydrogène essentiellement). La séparation des gaz permet d'éviter un mélange de gaz de sortie qu'il faudrait séparer ultérieurement. De plus, elle permet d'éviter qu'une réaction parasite de méthanisation n'ait lieu au sein de l'électrolyseur. Les membranes échangeuses de protons ont été les premiers séparateurs à être utilisés dans les cellules d'ESM. Cependant, le pH dans l'ESM est souvent au voisinage de la neutralité, ce qui signifie que les protons sont très peu présents en comparaison d'autres espèces cationiques comme Na^+ , K^+ ou NH_4^+ par exemple. Les concentrations de ces espèces étant en moyenne 10^5 fois plus élevées que celle des protons, ces derniers ne vont que très peu participer au passage

du courant et donc traverser la membrane, même lorsque la membrane est perméable aux protons. (Harnisch and Freguia 2012)

II.3.5 pH

Le pH est un facteur essentiel pour la production d'hydrogène (Arechederra and Minteer 2008) car cela permet : 1) d'arrêter la croissance des organismes méthanogènes, et 2) d'améliorer la production de bio-hydrogène en contrôlant les voies métaboliques (action sur l'activité des hydrogénases). Le pH optimal pour la production d'H₂ reporté dans la littérature se situe entre 5,0 et 6,0 pour les déchets alimentaires et 7,0 pour les résidus agricoles et les fumiers d'animaux (Guo, Trably et al. 2010). Le pH affecte beaucoup les voies métaboliques de production de biohydrogène. Une étude en batch a répertorié les pH optimaux (dans un intervalle de 4 à 8) pour la production d'hydrogène à partir de différents substrats et en cultures mixtes (Liu, Huang et al. 2012). La gamme de pH optimale varie de 5,2 à 7,0 avec une moyenne à pH 6 (Liu, Grot et al. 2005). L'effet du pH sur la conversion du glucose en hydrogène en cultures mixtes a été étudié par (Fang and Liu 2002). A 36°C, un pH optimal a été déterminé à 5,5 en termes de production de bio-hydrogène (64±2 % du biogaz produit) avec un rendement de 2,1 ± 0,1 mol H₂/mol de glucose. (Rousseau 2013)

II.3.6 Température

Les travaux portant sur la production d'hydrogène ont été réalisés soit à température ambiante (15-30 °C), soit en conditions mésophiles (32-39°C) ou thermophiles (50-64°C) (Rousseau 2013).

Sur des substrats simples, les rendements de production d'hydrogène sont comparables à des températures mésophiles et thermophiles mais sont inférieurs à température ambiante (Liu, 2012). Ce sont les conditions mésophiles qui sont les plus étudiées dans la littérature s'intéressant à la production d'hydrogène par fermentation (Li and Fang 2007). En effet, à rendements similaires, elles restent moins coûteuses en énergie.

II.3.7 Pression partielle en hydrogène

La pression partielle en hydrogène joue également un rôle important dans la production d'hydrogène. En anaérobiose, les dispositifs expérimentaux engendrent une sursaturation des gaz dans la phase liquide, favorisant la formation de bulles de gaz et augmentant la pression partielle en hydrogène du milieu. Une pression partielle croissante cause une diminution de l'activité des hydrogénases et rend les réactions de production d'hydrogène

thermodynamiquement défavorables (Kim, Han et al. 2006). Pour diminuer artificiellement la pression partielle en hydrogène, plusieurs solutions peuvent être mises en œuvre dans les procédés de production d'hydrogène par procédé d'ESM. L'agitation est la technique la plus utilisée. En effet, augmenter la vitesse d'agitation du milieu revient à augmenter le coefficient de transfert gaz/liquide et donc à réduire la concentration en hydrogène dans la phase liquide du réacteur. Ainsi, (Lay, Fan et al. 2003) a obtenu une augmentation du rendement en hydrogène de 100% en augmentant la vitesse d'agitation du mélange en fermentation de 100 à 500 rpm.

II.3.8 Microorganismes impliqués

En culture pure, les micro-organismes peuvent être étudiés en réacteur (MFC ou MEC) mais plus souvent par chronoampérométrie avec une anode à potentiel imposé pour travailler en conditions contrôlées. Les bactéries étudiées en culture pure sont ainsi inoculées dans ces réacteurs dans un milieu ne contenant pas d'accepteur final d'électrons dissous afin de favoriser leur attachement sur l'électrode. De plus, l'acétate et le glucose sont très fréquemment utilisés comme substrat en culture pure. Les performances obtenues en cultures pures sont, de manière générale, moins bonnes que celles obtenues en cultures mixtes. (Kiely, Rader et al. 2011). Cependant, la structure de la communauté bactérienne est fortement déterminée par les substrats consommés, plus que par l'inoculum initial. (Freguia, Teh et al. 2010). Parmi les bactéries hétérotrophes qui peuvent produire de l'hydrogène, les micro-organismes les plus efficaces sont les bactéries des genres *Clostridium* (anaérobies stricts), *Enterobacter* et *Bacillus* (anaérobies facultatifs) (Li and Fang 2007) .

II.3.9 Effet de substrat

En pratique, l'utilisation des systèmes bioélectrochimiques pour la production du bio-hydrogène à partir d'effluent contenant divers composés organiques, nécessite des souches microbiennes qui présentent une grande affinité pour convertir les substrats organiques en énergie électrique. De plus, la plupart des espèces prédominantes de ces communautés ont une activité métabolique limitée, n'utilisant que certains produits de fermentation (Caccavo, Lonergan et al. 1994). Les études des piles à combustibles microbiennes alimentées avec du glucose montrent qu'il existe des étapes clés requises pour la production d'électrons à partir de ce substrat (Aelterman, Freguia et al. 2008). 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 soutient l'hypothèse qu'une étape préalable de fermentation est réalisée avant la conversion de ces acides organiques en électricité (Freguia, Rabaey et al. 2008). D'après une étude réalisée sur des eaux de vinerie ((Cusick, Kiely et al. 2010)), durant un temps de 72 heures, un voltage appliqué de 0.9 V, à une température de 30°C, dans un réacteur à une simple chambre de 0.0028 l. il a obtenu un abattement de 47%, avec un taux de production de 0.17 m³/m³/j.

II.4 PERFORMANCES D'ESM

D'après une étude de (Tommasi, Ruggeri et al. 2012) qui compare les deux couplages BioH₂-CH₄ (fermentation hydrogène + méthane) avec BioH₂-ESM (fermentation hydrogène + électrolyse microbienne), le couplage BioH₂+ESM a donné un meilleur taux de conversion d'énergie, avec en électrolyse microbienne une conversion de 2,41 mol H₂/mol d'acétate, ce qui correspondrait pour une mole de glucose consommée en fermentation à 4,82 mol H₂/mol de 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 montrent la faisabilité du couplage et une augmentation de conversion de matière organique en hydrogène significative avec des conversions pouvant atteindre 9,95 mol H₂/mol de glucose (Lalaurette, Thammannagowda et al. 2009), 8,79 mol H₂/mol de glucose (Lu, Ren et al. 2009) soit des rendements de conversion proches des estimations théoriques. Les taux de production de dihydrogène dans des systèmes d'ESM sont généralement exprimés en volume de dihydrogène par jour et normé par le volume du réacteur. Ce calcul est assez courant au niveau industriel car il permet le dimensionnement d'une unité de production de dihydrogène pour un taux de production donné. D'après (Rader and Logan 2010) on voit que la capacité maximale de production atteinte par ces cellules est de l'ordre de 0,5 L H₂/L/j. Cela signifie donc que pour une production de un mètre cube de dihydrogène par jour, il faudrait concevoir une cellule de 5 mètres cubes. La consommation mondiale de dihydrogène est actuellement de 155 milles tonnes par jour soit 1,7 milliards de mètres cubes et ne représente que 2% des besoins en énergie primaire. On conçoit donc facilement le fossé qui sépare encore le procédé envisagé ici d'une extrapolation industrielle. Cependant de nombreuses pistes montrent que le procédé peut être amélioré. Plusieurs limitations sont évoquées pour expliquer la faible capacité de production des systèmes d'ESM.

Le second point imposant une forte limitation est lié à la nature des électrolytes utilisés en ESM.

La plupart des influents sont issus d'eaux usées domestiques dont les conductivités sont généralement aux environs de 2 ms/cm (Logan and Rabaey 2012). (Lefebvre, Tan et al. 2012)

ont réussi d'augmenter la conductivité des eaux usées jusqu'à 47 mS.cm⁻¹ sans effet négatif sur la production de courant. Cependant ces valeurs de conductivités sont trop basses pour le bon fonctionnement d'une cellule d'électrolyse. De façon générale, cette deuxième limitation est fortement liée à la première. En effet, les densités de courant actuelles des cellules sont encore faibles, or les pertes énergétiques par effet joule sont directement proportionnelles à la densité du courant.

II.5 CALCUL D'EFFICACITÉ ET DU TAUX DE PRODUCTION

Le calcul de l'efficacité du système d'ESM était basé sur plusieurs paramètres cité par (logan, 2011) :

II.5.1 Taux de production maximale en hydrogène (m³/m³/j)

$$Q = \frac{43,2 I_v r_{cat}}{F C_g (T)} \quad (A1)$$

- I_v (A/m) : Densité volumétrique,
 - C_g : Concentration en hydrogène (mol/l) à une température (T)
 - r_{cat} : Taux d'hydrogène récupéré à la cathode (%) basé sur l'intensité du courant (I)
- F : Constante de Faraday $F=96500$ C/mol

II.5.2 Taux d'hydrogène récupéré à la cathode r_{cat} ($e^- \rightarrow H_2$)

Plus précisément le taux de la conversion des électrons en hydrogène réduit à la cathode

$$(A2) \quad r_{cat}(\%) = \frac{n_{CE}}{n_{H2}}$$

- n_{H_2} : Nombre de mole d' H_2 produit durant un cycle (mol/)
- Un cycle c'est entre 5 et 7 jours

II.5.3 Nombre de mole théorique d'hydrogène produit par électrolyse

$$n_{CE} = \frac{\int_{t=0}^t I \cdot dt}{2F} \quad (A3)$$

- I: Intensité maximale durant un cycle en (A)
- F : Constante de Faraday 96500 C/mol

II.5.4 Nombre de mole d'hydrogène produit à partir d'une mole de substrat.

$$n_{th} = \frac{b_{H_2} V_L \Delta s}{M_s} \quad (A4)$$

- b_{H_2} : représente la production stœchiométrique maximale en hydrogène à partir d'une mole de glucose consommé =12 mole de H_2
- V_L : Volume du liquide en (l)
- Δs : Variation en substrat (g/l)
- M_s : Masse molaire du glucose 180,15 g/mol

II.5.5 Efficacité de coulomb (substrat $\rightarrow e^-$)

Ce paramètre représente le taux de la conversion d'un mol la matière organique en mol d'électrons :

(A5)

$$CE(\%) = \frac{n_{CE}}{n_{th}}$$

III. HYPOTHÈSES DE RECHERCHE, OBJECTIFS SPÉCIFIQUES ET DÉMARCHE EXPÉRIMENTALE

III.1 OBJECTIFS

L'objectif général de cette étude est de développer un procédé de production et de récupération d'hydrogène d'ESM à partir des rejets agroindustriels. D'autres parts cette étude de recherche présente les trois objectifs spécifiques suivants :

- 1) Identifier des électrodes à faibles surtensions en H₂ et d'optimiser leur capacité à fixer des biofilms qui génèrent des densités de courant importantes nécessaires à la production de l'hydrogène dans une cellule d'ESM.
- 2) Identifier les meilleures conditions de croissance microbienne à fort potentiel de génération du bio-hydrogène à partir des eaux résiduaires (synthétiques ou réelles)
- 3) Effectuer une étude comparative (en termes d'efficacité) du procédé d'ESM versus les procédés conventionnels de fermentation (ou d'autres procédés biologiques).

III.2 HYPOTHÈSES

À l'heure actuelle, l'hydrogène est produit principalement en utilisant les hydrocarbures. Étant donné le faible rendement de ces procédés pour la production d'hydrogène pour lequel s'ajoute la forte pollution de l'atmosphère par le dégagement des gaz à effet de serre (CO₂ et CO), le développement d'un procédé ESM hybride combinant à la fois l'aspect biochimique et électrochimique pourrait constituer un avenir potentiel pour la production de Bio-H₂ et ce, à partir des déchets agroalimentaires. En d'autres termes, l'ESM constitue un procédé de valorisation des déchets agroalimentaires en énergie renouvelable de Bio-H₂. Pour ce faire, les trois hypothèses suivantes ont été suggérées :

Hypothèse 1 :

Dans un procédé d'ESM, les bactéries catalysent des réactions d'oxydation de molécules organiques (à l'anode) en bioproduits ou dioxyde de carbone. Ces réactions sont liées au métabolisme respiratoire bactérien : au lieu de respirer l'oxygène de l'air, certaines bactéries peuvent transférer des électrons à un solide ou à une électrode (accepteur d'électrons). La manière avec laquelle les électrodes peuvent fixer ou extraire des électrons à leur surface dépend

de leur surtension de transfert. La surtension de transfert est fonction de la structure chimique et de la morphologie des électrodes. Ces deux caractéristiques pourraient commander les réactions d'oxydo-réduction au voisinage des électrodes pour la production du bio-H₂. Le type d'électrode, sa stabilité et sa surface spécifique sont autant de paramètres qui pourraient grandement influencer les performances du procédé d'ESM.

Hypothèse 2 :

Des eaux résiduaires (synthétiques ou réelles) utilisées comme milieu de culture devraient être riches en éléments nutritifs nécessaires à la croissance microbienne et à la production de bioproduits. Des conditions d'acclimatation et d'adaptation préalable des microorganismes à ces eaux résiduaires permettraient une meilleure croissance et production du bio-H₂.

Hypothèse 3 :

Une étude comparative basée sur l'activité bactérienne (microorganisme spécifique utilisée à la fois dans un procédé d'ESM et en fermentation classique) permettrait de démontrer l'intérêt environnemental du système ESM pour la production de bio-H₂ versus le procédé classique de fermentation.

III.3 DÉMARCHE EXPÉRIMENTALE

La première étape de cette étude a consisté à identifier des électrodes (anode et cathode) adéquates à partir des tests voltampérométrique. Une fois la nature des électrodes déterminée à partir des courbes voltampérométriques, l'étape subséquente, a consisté à déterminer la forme d'électrode (plane ou volumique) et le type d'électrolyseur (cylindrique ou parallélépipédique). Dans le but de dégager le maximum du Bio-hydrogène au voisinage de la cathode. La troisième partie de cette étude traite de l'effet de plusieurs paramètres opératoires (la concentration en substrat; le temps d'incubation, % d'inoculum, etc.) sur la performance de production du bio-H₂, en étudiant leur influence sur les microorganismes et sur le taux de production en hydrogène. À la fin de cette recherche, on contribuera à une étude comparative entre différents procédés de production de l'hydrogène (électrolyse de l'eau, fermentation, ESM).

IV. MATÉRIELS ET MÉTHODES

IV.1 ÉTUDE VOLTA-AMPÉROMÉTRIQUE

L'étude voltampérométrique a été réalisée à l'aide d'un système Voltalab 80 (potentiostat/galvanostat) équipé d'un montage à trois électrodes, incluant une électrode de référence au calomel ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{KCl}$), une contre électrode (Pt) et une électrode de travail (6 à 11 mm de diamètre) à disque tournant muni d'un contrôleur de vitesse (**Figure 9**). Des électrodes de graphite (Gr), carbone vitreux (Cv), de titane (Ti) et de platine (Pt) ont été testées en présence d'un électrolyte support (Na_2PO_4). Les réactions électrochimiques au voisinage des électrodes ont été étudiées à travers la relation densité du courant et le potentiel imposé.



Figure 9. Voltalab 80 (potentiostat/galvanostat)

IV.2 MONTAGE DES UNITÉS EXPÉRIMENTALES

IV.2.1 La cellule parallélépipédique C1



Figure 10. Montage de la cellule parallélépipédique C1

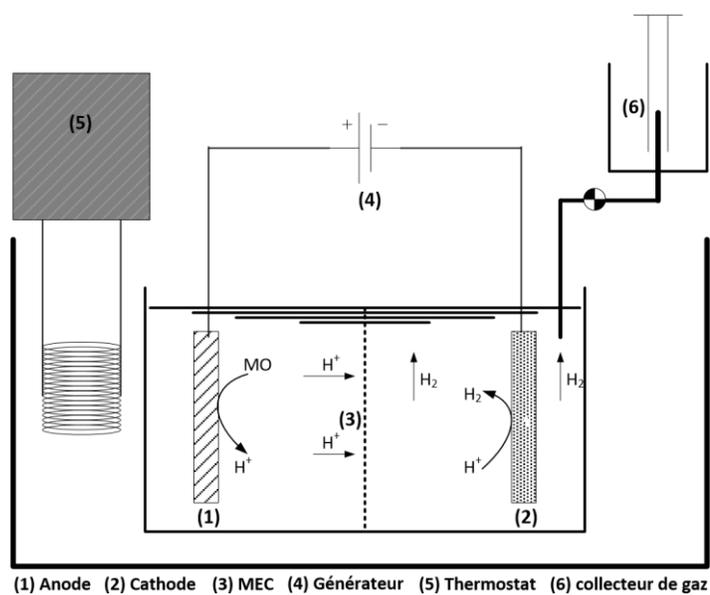


Figure 11. Structure schématique de la cellule parallélépipédique C1

Tableau 4: Caractéristiques physiques de la cellule parallélépipédique

Volume par compartiment (L)	1
Nature physique de la cellule	Teflon
Surface de la membrane (cm²)	74,32
Distance inter-électrodes (cm)	10
Nature de la cathode	Graphite
Nature de l'anode	Feutre de carbone
Surface par électrode (m²)	0,011

La cellule parallélépipédique **C1 (Figures 10 et 11)** était constituée de deux électrodes (anode et cathode) rectangulaires ((10 cm (largeur) x 11 cm (longueur) x 0.3 cm (épaisseur)). Une membrane Nafion117 échangeuse de cations, était utilisée pour séparer la chambre anodique et cathodique. La cellule était hermétiquement fermée grâce à un couvercle installé au-dessus de la cellule. Chaque compartiment a trois sorties installées au-dessus du couvercle. Une sortie de l'électrode, une autre sert pour l'échantillonnage (liquide et gaz) et la troisième pour la sortie du gaz. Concernant le volume de vide (espace libre requis pour le volume de gaz généré) de la cellule parallélépipédique était de 300 ml. Pour avoir un contact maximal entre l'effluent à traiter et les électrodes, une pompe était installée pour la recirculation dans cette cellule. Les fuites de gaz de la cellule parallélépipédique nous ont poussés d'utiliser une autre cellule en verre plus compacte.

IV.2.2 La cellule cylindrique C2 (forme de H)

La cellule cylindrique **C2 (forme de H) (Figure 12)** était composée de deux électrodes rectangulaires ((7 cm (largeur) x 10 cm (longueur) x 0,3 cm (épaisseur)). Une membrane Nafion 117 échangeuse de cations était mise entre les deux compartiments. Hermétiquement fermé par deux bouchons en plastique. Une électrode de référence était intégrée au système. Le volume de

vide (espace libre requis pour le volume de gaz généré) était de 100 ml. L'agitation était effectuée par un agitateur magnétique dans les deux chambres (anodique et cathodique).



Figure 12. Montage de la cellule cylindrique C2

IV.3 COMPOSITION DES ÉLECTROLYTES

IV.3.1 Effluent de la chambre anodique (anolyte)

IV.3.1.1 Préparation de l'inoculum

Dans un milieu de culture optimisé, les bactéries utilisées pour la production de Bio-H₂ sont des *Enterobacter aerogenes* NRRL B 407, anaérobies et aérobies facultatives. Le milieu de croissance des bactéries était un milieu anaérobie à pH= 6,5 composé de 10g/l de glucose, 5g/l de peptone de caséine, 2g/l de KH₂PO₄, 0,5g/l d'extrait de levure 0,5g/l de MgSO₄ (Aelterman, Freguia et al. 2008, Sarma, Brar et al. 2014). Après l'ajout des microorganismes dans le milieu de culture contenant 10 % (v/v), les bouteilles sont nettoyées par du N₂ 80% et CO₂ 20% pour éliminer l'oxygène. Ensuite vient l'étape de l'incubation à 150 rpm, 30°C. Après 12h, on mesure la densité

optique (DO) à 600 nm. Si la DO est inférieure à 0,9, on transfère 5 ml d'inoculum dans une autre bouteille pour une autre demi-journée d'incubation jusqu'à une valeur supérieure à 0,9. Si la densité optique est supérieure, on transfère dans une deuxième bouteille, mais juste pour 3h.

Quand la valeur de la densité optique est supérieure à 0,9, on peut injecter l'inoculum dans les effluents (effluent réel ou synthétique) pour le processus de l'oxydation biologiques. Notons que les outils de manipulation sont autoclavés et que l'inoculation se fait dans un flux laminaire. Tous cela pour avoir une culture bactérienne pure.

IV.3.1.2 Effluent synthétique et réel

Les effluents réels sont constitués par des eaux usées de microbrasserie provenant du procédé de fermentation de la compagnie Barberie. On sait bien que les eaux provenant de telle industrie gardent encore des sources de carbone et de nutriments biodégradables et autres complexes.

L'hydrolyse avec HCl 1% était nécessaire avant une centrifugation pour séparer la phase qui contient la fraction des nutriments facilement dégradables, de l'autre phase qui contient encore des substances complexes. Puisqu'on veut produire du Bio-H₂ par une nouvelle technologie

(ESM), l'utilisation des eaux réelles comme source de substrat n'a pas été facile face à cette technique prometteuse. L'usage des eaux réelles devait passer par une étape de caractérisation et une étude approfondie de la composition pour qu'on puisse comprendre les différentes interactions entre les bactéries et le milieu réactionnel. Pour cela, nous avons utilisé des eaux synthétiques. Ces effluents ont remplacé les effluents réels afin de faciliter la manipulation de ces derniers, d'ajuster facilement les concentrations et de réintroduire des souches bactériennes plus efficace que celles existaient en effluent réel. Concernant la composition de l'effluent synthétique, était la même pour la préparation du milieu de culture décrit en haut (IV.3.1.1. Préparation d'inoculum).

IV.3.2 Solution de la chambre cathodique

Cette chambre était remplie par une solution tampon de Na₃PO₄ de 50 mM à pH=6. Le rôle de cette solution est de minimiser les variations de pH. L'oxydation de la matière organique par les microorganismes génère des protons H⁺ vecteurs de l'acidité. L'utilisation de Na₃PO₄ permet de contrôler l'augmentation des H⁺ et de maintenir le pH à une valeur à une valeur stable (pH=6).

IV.4 TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE

IV.4.1 Démarrage de la cellule

Après la préparation de la culture bactérienne et les solutions servant comme électrolytes, l'injection est faite dans un flux laminaire. Ensuite vient la phase de dégazage (par injection de N₂ (80%) et CO₂ (20%)) des deux chambres pour le conditionnement anaérobie. Par la suite, la cellule est émergée dans un bain chauffé de 30°C, la température optimale pour la croissance de la culture pure. Enfin, on connecte la cellule aux bornes du générateur à la tension désirée.

IV.4.2 Fonctionnement de la cellule

Après le démarrage de la cellule, le temps d'incubation était entre 3 et 5 jours, dépendamment de l'intensité de courant mesuré quotidiennement. La tension imposée par le générateur de courant se situait entre 3 et 5 V, alors que la tension réelle mesurée aux bornes des électrodes (par rapport à l'électrode de référence en Ag/AgCl) était inférieure à 1,1V (électrolyse de l'eau). Le potentiel à chaque chambre (E_{an} et E_{cat}) était mesuré par rapport à l'électrode de référence. Les électrodes étaient rincées avec HCl et NaOH, 1N avant et après chaque essai. Pour garder une température de 30°C, le bain thermostaté était renouvelé après chaque évaporation significative. Le prélèvement des échantillons de gaz était journalier, par contre les échantillons liquides étaient prélevés qu'au début et à la fin de l'essai. Des essais de fermentation conventionnelle étaient faits afin de comparer son efficacité avec celle d'ESM. Les conditions de cette fermentation étaient identiques avec celle d'ESM, à l'exception du fait que la cellule n'était pas connectée au générateur (dans le cas de la fermentation conventionnelle).

IV.5 TECHNIQUE ANALYTIQUES

IV.5.1 Demande chimique en oxygène (DCO)

Les échantillons ont été prélevés deux fois par essai. Les échantillons étaient immédiatement acidifiés (pH < 2) après chaque prélèvement par de l'acide sulfurique concentré (H₂SO₄) à 98%, puis utilisés pour les analyses de DCO. Les analyses de DCO ont été effectuées selon la méthode (Méthode d'analyse – MA. 315-DCO 1.0) prescrite par CEAEQ (2003). Il s'agit d'une méthode colorimétrique au bichromate de potassium combinée avec un dosage spectrophotométrique (Cary 50, Varian Canada Inc.).(Figure 12).

IV.5.2 Sucres réducteurs

En premier lieu, il fallait préparer la solution standard de Glucose: 0,1g de glucose était dissout dans l'eau distillée, puis compléter jusqu'à 100ml. Deuxièmement, la préparation d'une solution (a) d'acide Dinitro-salicylique. Cette solution était obtenue par dissolution de 300 g de tartrate de sodium dans 500 ml de l'eau distillée. Troisièmement, Une solution (b) de 10 g de 3,5dinitrisalicylique était dissoute dans 200 ml de NaOH de 2N. Finalement les deux solutions (a) et (b) sont mélangés et compléter à l'eau distillée pour avoir 1L.

Le blanc est constitué de : 1ml d'eau, 2ml du réactif DNS, 7 ml d'eau distillée. L'échantillon est constitué de : 1 ml d'échantillon prélevé, 2 ml du réactif DNS, 7 ml d'eau distillée. Les tubes sont mis dans l'eau bouillante durant 5 min, avant un refroidissement. L'absorbance était mesurée au spectrophotomètre (**Figure 13**) par l'intermédiaire du logiciel CaryWin UV. La longueur d'onde choisie était de 540 nm.



Figure 13. Spectrophotomètre pour l'analyse de la DCO, sucres réduits et la densité optique



Figure 14. Chromatographe gazeux pour l'analyse des gaz et des produits volatils

IV.5.3 Densité optique

La densité optique de l'inoculum préparé a été analysée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde 600 nm. Pour chaque expérience, trois inocula ont été préparés. Seul l'inoculum qui présente une densité de l'ordre de 0.9 a été retenu pour le lancement de l'expérience.

IV.5.4 Chromatographie gazeuse

La composition du gaz en (CO_2 , CH_4 , H_2) a été déterminée par chromatographie gazeuse (Trace 1310 gaz) (**Figure 14**). À l'aide d'une seringue de 10 ml, Le prélèvement était effectué directement dans la phase gazeuse (espace libre requis pour le volume de gaz généré) de la cellule d'ESM (compartiment anodique et cathodique). Les courbes d'étalonnage pour CO_2 , CH_4 , H_2 sont respectivement 0-150 000 ppm, 0 - 1000 ppm et 0 - 10 000 ppm. La limite de détection est < 2 ppm. Aussi, La concentration en acétate, butyrate et les alcools tels que l'éthanol et le méthanol était mesurée par chromatographie gazeuse (GC-FID 7890B Agilent). Avant la mesure, les échantillons étaient filtrés puis centrifugés à 3000 rpm durant 10 min.

V. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Ce chapitre peut être présenté en deux parties : la première présente les résultats obtenus à partir de la cellule parallélépipédique **C1**. Pour cette première cellule, deux effets ont été testés tels que effet de la circulation de l'anolyte à un débit de 120 mL/min et la tension appliquée (1.0-3.0 V)). La deuxième partie présente les résultats obtenus à l'aide de la cellule cylindrique **C2**. Plusieurs paramètres ont été testés (% inoculum, nature de la catholyte, tension appliquée, concentration en substrat, volume d'électrolyte et nature de cathode) dans l'optique de déterminer les meilleures conditions pour la production de bio-H₂. La performance du système d'ESM est évaluée par les mesures d'efficacité de coulomb (CE), du taux de récupération d'hydrogène à la cathode (r_{cat}), du taux de production maximale en hydrogène (Q) et du pourcentage d'abattement de le DCO.

V.1 PRODUCTION DIHYDROGÈNE À L'AIDE DE LA CELLULE PARALLÉLÉPIPÉDIQUE C1

V.1.1 Effet de la circulation d'effluent

Le premier paramètre ont été testé est la recirculation de l'effluent dans l'optique de maximiser le contact entre les microorganismes et l'anode et diminuer la pression partielle des gaz dans les deux chambres du système d'ESM. Pour ce faire, deux tests ont été réalisés à un débit de recirculation de 0.0 et 120 mL/min respectivement et ce, dans les conditions opératoires suivantes : 10% d'inoculum, 10g/L de glucose, des volumes utiles anodique et cathodique de 1L, une température de 30°C, un potentiel appliqué de 3 V et un temps d'incubation de 5 jours.

L'anode utilisée était en feutre de carbone, alors que la cathode était en carbone vitreux. Les résultats obtenus sont présentés dans le **(Tableau 3)**. Selon ces résultats, on peut constater que le taux de production en hydrogène diminue avec la recirculation de l'effluent, de 0,05 (m³/m³/j) à 0,02 (m³/m³/j) respectivement à 0,0 et 120 mL/L. Cette chute de production peut être due au détachement du biofilm ou la mauvaise adhésion des bactéries sur l'anode lors de la recirculation. La valeur de l'abattement de la DCO sans recirculation reste élevée par rapport au test avec recirculation (DCO_{sans recirculation}=58.1% contre DCO_{avec recirculation}=47.3%). Ces résultats justifient que la grande quantité d'hydrogène produit durant le test « sans recirculation » est liée à une oxydation biologique de la matière organique par les bactéries. Il se peut que durant la recirculation, l'interaction « bactéries-nutriments-anode » est plus faible. D'autres part, les résultats de l'efficacité de Coulomb inférieur à 50% dans les deux tests (paramètre lié à la

production de l'hydrogène par l'électrolyse) montrent que la majorité d'hydrogène produit est liée à la consommation de la matière organique par les bactéries et non à une réduction cathodique de l'eau ($CE_{\text{sans recirculation}} = 49,39\%$ contre $CE_{\text{avec recirculation}} = 43,49\%$). Les deux valeurs enregistrées de CE (49,39% et 43,49%) indiquent que la quantité induite d'hydrogène par l'électrolyse de l'eau est similaire dans les deux tests. D'autre part, le meilleur taux de récupération enregistré de 67.34% durant le test « sans recirculation » est lié à une production plus importante des protons H^+ par oxydation bactérienne qui seront réduits par la suite à la cathode. Finalement, durant la recirculation d'électrolyte, le bio- H_2 produit peut entrer en réactions parasites en solution avec des sous-produits de fermentation qui empêchent sa quantification.

Tableau 5: Conditions opératoires, taux de production et efficacité de la cellule C1

Débit (L/min)	%Inoc.	[Substrat] (g/l)	Nature Anode/Cathode	Abatt. DCO (%)	Q ($m^3/m^3/j$)	CE (%)	r_{cat} (%)
0.0	10	10	FC/CV	58,1	0,052	49,39	67,34
0.12	10	10	FC/CV	47,3	0,028	43,49	50,33

V.1.2 Effet du potentiel appliqué

Le potentiel est un paramètre clé durant le procédé ESM. La valeur du potentiel appliqué peut favoriser ou nuire sur l'efficacité du procédé ESM. Pour étudier cet aspect, deux potentiels de 1,0 et 3,0V ont été testés dans les conditions opératoires suivantes : 10% d'inoculum, 10g/L de glucose, des volumes utiles anodique et cathodique de 1L, une température de 30°C, un temps d'incubation de 5 jours et ce, sans recirculation de l'effluent. L'anode utilisée était en feutre de carbone tandis que la cathode était en carbone vitreux. Les résultats obtenus (**Tableau 4**) montrent que le taux de production en hydrogène augmente avec la tension appliquée. Le passage de 1,0V à 3,0V multiplie le taux de production de bio- H_2 de 100 fois. Le taux enregistré à 1,0V est de 0,001 $m^3/m^3/j$ comparé à 0,1 $m^3/m^3/j$ enregistré à 3,0V. Cette augmentation peut s'expliquer par le fait qu'à 1,0V, l'intensité du courant est relativement faible et les électrons libérés ne sont probablement pas suffisants pour éveiller l'activité bactérienne dans la chambre anodique.

(en vue de l'oxydation de la matière organique et de la libération des protons H⁺). La réduction des protons H⁺ à la cathode est ainsi défavorable pour des tensions relativement faibles telles que 1,0V. Quand nous passons à 3,0V, la densité du courant augmente, ce qui facilite l'immigration des protons et des électrons vers la chambre cathodique pour la réduction (**Eq. 10** et **15**). Lorsque le potentiel augmente les électrons sont davantage libérés et cela motivent les bactéries à l'oxydation de la matière organique tel que le glucose. Concernant l'abattement de la DCO, il augmente en augmentant la tension de 1,0V à 3,0V. Cette augmentation peut être expliquée par une optimisation de l'activité bactérienne à 3,0V, à catalyser les réactions d'oxydation à la chambre anodique. (DCO_{1v}=2,49% contre DCO_{3v}=53,45%). Pour l'efficacité de Coulomb, les deux valeurs enregistrées à 1,0 et 3,0V sont proches (72,19 % et 79,94% respectivement). Ces résultats montrent qu'à 3.0V, la forte production de l'H₂ est due à une oxydation de substrat par les bactéries et non à une réduction cathodique de l'eau. Le potentiel de 3,0V a été retenu comme le potentiel optimal pour l'efficacité d'ESM.

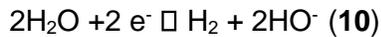


Tableau 6: Efficacité et taux de production en hydrogene en fonction du voltage appliqué

Potentiel (V)	Δ DCO (%)	Q (m ³ /m ³ /j)	CE (%)	r _{cat} (%)
1,0	2,49	0,0011	72,19	68,32
3,0	53,45	0,1035	79,94	65,49

V.2 PRODUCTION DIHYDROGÈNE À L'AIDE DE LA CELLULE CYLINDRIQUE C2

Une deuxième cellule (cylindrique) C2 a été spécialement conçue afin d'éviter les problèmes rencontrés avec l'ancienne cellule C1. La faible étanchéité et les volumes utiles sont des obstacles majeurs qui nous ont emmenés à remplacer l'ancienne C1 par la nouvelle C2 beaucoup plus adaptée pour l'électrosynthèse microbienne. Les paramètres testés durant les essais avec la

cellule C2 sont : % d'inoculum, nature de la catholyte, tension appliquée (**tableau 5**), concentration en substrat, volume d'électrolyte et nature de la cathode.

Tableau 7: différents paramètres mesurés durant un essai. ($E_{ap}=3V$, concentration en substrat=10g/l, 10%inoculum, Anode FC, cathode CV, temps de rétention=1 jour 5 : différents paramètres mesurés durant un essai. ($E_{ap}=3V$, concentration en substrat =10g/l, 10% inoc

Temps (h)	$E_{appliqué}(V)$	$E_{anode}(V)$	Volume H ₂ (ml)	Intensité (mA)
0	3	-0,632	0	15
3	3	-0,634	4,5	15
6	3	-0,633	6,6	14
9	3	-0,631	8,7	13
12	3	-0,632	9,3	14
15	3	-0,631	15,2	12
18	3	-0,630	18,0	10
21	3	-0,628	21,5	8
24	3	-0,628	26,6	6

V.2.1 Effet du % d'inoculum

L'oxydation des substrats au voisinage de l'anode dépend de sa concentration et de l'efficacité de contact « bactérie-anode ». Elle dépend de ce fait du pourcentage d'inoculum ajouté dans la chambre anodique. Pour ce faire, l'effet du % d'inoculum a été étudié pour déterminer le meilleur taux d'inoculation. Des fractions croissantes de 10, 15, 20 et 25% d'inoculum ont été respectivement évaluées dans les conditions opératoires suivantes : 10g/L de glucose, des

volumes utiles anodique et cathodique de 500 mL chacun, une température de 30°C, un temps d'incubation de 3 jours, une anode en feutre de carbone (FC) et une cathode en feutre de graphite (FG). L'ensemble des résultats obtenus sont présentés dans la **(Figure 15)**.

D'après ces résultats, la formation en hydrogène diminue lorsque le pourcentage en inoculum augmente. À titre d'exemple, le taux de Bio-H₂ produit passe de 0.518 à 0.125 m³/m³/j lorsque le pourcentage d'inoculum passe de 10 à 15%. Cela est probablement dû à la compétition existant entre les microorganismes pour dégrader la matière organique. Lorsque le pourcentage d'inoculum augmente, le ratio nutriment/microorganisme diminue, ce qui limite la cinétique de réaction pouvant entraîner des phénomènes d'attrition endogène. On remarque aussi une diminution de l'abattement en DCO en fur et à mesure que le % en inoculum dépasse 10%. Le processus de catabolisme (processus de dégradation des composés organiques) est également limité lorsque le ratio nourriture/microorganisme diminue. Un meilleur taux d'abattement de la DCO de 50% a été enregistré avec l'utilisation de 10% d'inoculum. Ce pourcentage d'inoculum de 10% obtenus, correspond à conditions optimales obtenues par (Sarma, Brar et al. 2014) pour la production d'hydrogène par cette souche bactérienne. Ces résultats confirment ou justifient l'hypothèse 2. Cette proposition qui affirme l'importance de l'interaction bactérie/nutriments. Les performances obtenues en cultures pures restent moins bonnes que celles obtenues en cultures mixtes. (Kiely, Rader et al. 2011). Cela explique la compétition qui existe entre la même espèce de bactéries pour le même type de substrat. La valeur de l'efficacité de Coulomb est relativement stable pour les différentes fractions d'inoculum (CE ≈ 10-12%). Ces valeurs montrent que la fraction produite d'H₂ obtenue par la réduction cathodique de l'eau est fixe quel que soit le % d'inoculum utilisé lors du procédé d'ESM.

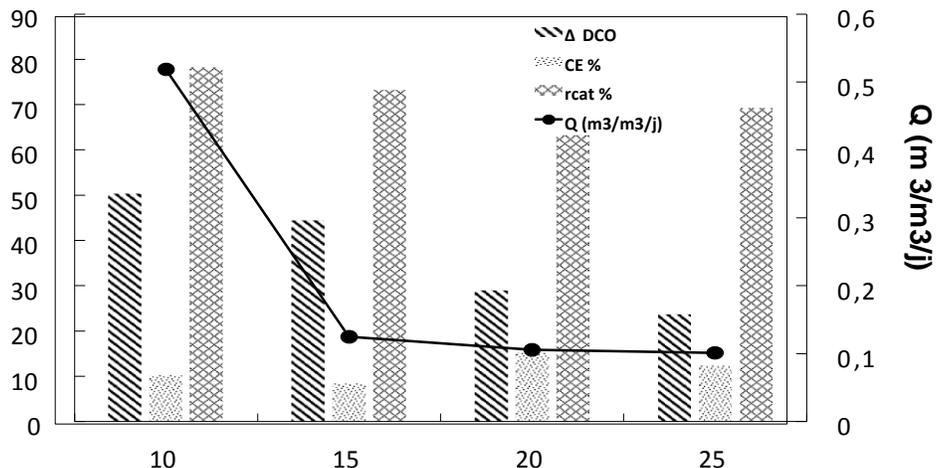


Figure 15. Variation de l'efficacité et taux de production en hydrogène en fonction du % d'inoculum

V.2.2 Effet de la concentration en substrat

Le substrat est la source principale de carbone pour les microorganismes impliqués. Par la suite, on peut considérer que la concentration en substrat est un facteur limitant lors d'un procédé d'ESM. Dans cet essai, nous avons testé différentes gammes de concentration en glucose entre 1 et 20 g/l en glucose, sous une tension appliquée de 3V, 10 % d'inoculum, anode : feutre de carbone (FC), cathode : feutre de graphite (FG), pendant 3 jours. L'influence de la concentration en substrat est très remarquable (**Figure 16**). Le taux de production en hydrogène diminue lorsque la concentration en substrat augmente. Cette baisse en production d'hydrogène est expliquée par une inhibition des bactéries qui n'arrivent pas à assimiler des concentrations en substrat de plus en plus élevées. Il y a aussi l'apparition des produits intermédiaires de fermentation (butyrate, lactate, etc.) qui piègent l'hydrogène dans la molécule elle-même (Logan, Call et al.

2008).(**Tableau 5**). Dans ce cas l'abattement de la DCO montre que la dégradation diminue en augmentant la concentration en substrat.

L'efficacité de coulomb diminue rapidement, passant de 80% à 10% lorsque la concentration du substrat passe de 1.0 g/L à 13 g/L. Dans ce cas, le ratio nourriture/microorganisme augmente et la fraction de l'intensité de courant réellement utilisée pour réduction cathodique des protons H^+ diminue. Pour l'efficacité de coulomb, plus on augmente la concentration en glucose, l'efficacité de coulomb diminue. Cela peut revenir à l'inhibition de l'oxydation biologique et de la réduction cathodique de l'eau. Donc un taux de production plus faible. Cette inhibition est due à la formation de produits intermédiaire comme les alcools ou les autres produits volatils. (Tableau 5). A propos du taux de récupération à la cathode, il atteint un pic de 80% pour une concentration en substrat de 10g/l, puis commence à chuter à partir d'une concentration de 13 g/l. Ce résultat peut nous montrer que 10g/l de substrat est la concentration optimale pour le passage des électrons et des protons vers la cathode ($r_{cat}= 80\%$). Par contre la concentration de 1g/l, reste la concentration optimale pour la production du Bio- H_2 par cette souche bactérienne ($Q= 0,52 m^3/m^3/j$).

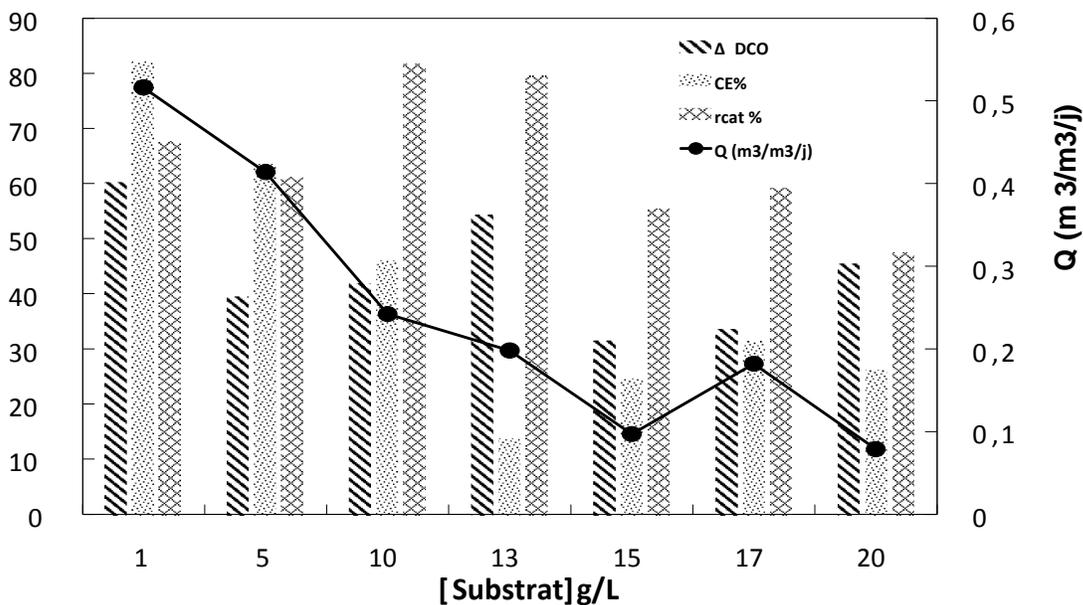


Figure 16. Variation de l'efficacité et de taux de production en hydrogène en fonction de la concentration en glucose.

Tableau 8 : Produits de fermentation en fonction de la dégradation du glucose

Jours	Glucose (g/L)	Éthanol (mg/L)	Méthanol (mg/L)	Lactate (mg/L)	Butyrate (mg/L)	Acétate (mg/L)
0	10	75	25	25	50	50
1	8,64	440	25	25	165	50
2	6,37	780	25	450	320	70
3	5,91	730	25	620	180	50

V.2.3 Effet de la nature de la catholyte

Pour tester l'effet de la conductivité sur le rendement du système, on a essayé d'ajouter deux concentrations croissantes du sel (NaCl). Les conditions dans lesquelles nous avons opéré sont : une tension de 3V, 10 % d'inoculum, 10 g/l de glucose, anode : feutre de carbone, cathode : feutre de graphite, 30°C, durant 3 jours.

Le taux de production en hydrogène croit de 0,41 à 0,69 (m³/m³/j) en remplaçant la solution tampon de la cathode par une autre saline (Tableau 6). Une conductivité de 14764 μS/cm était obtenue avec une solution catholytique saline de NaCl (10g/l) contre 7004 μS/cm obtenue à partir d'une solution tampon de (10g/l) de Na₃PO₄. Cette augmentation de la conductivité est liée à la nature de la catholyte, est accompagnée par une nette amélioration de l'intensité du système, ce qui justifie aussi la valeur élevée de r_{cat} de 90% dans le cas de catholyte salin. (Nam, Tokash et al. 2011). Une bonne conductivité de la cellule d'ESM améliore le processus de transfert électrons/protons et la digestion des substrats par les bactéries. Ces résultats sont confirmés par les valeurs enregistrées d'abattement de la DCO (taux d'abattement de 69.3 et 24.9% ont été enregistrés à 14764 et 7004 μS/cm respectivement) et les valeurs de r_{cat} (90.1 et 69.17% enregistrés à 14764 et 7004 μS/cm respectivement).

Tableau 9 : Variation d'efficacité et taux de production en hydrogène en fonction de la nature de la solution cathodique

Solution	[g/L] Glucose	μS/cm	Δ DCO%	$Q \text{ (m}^3/\text{m}^3/\text{j)}$	CE (%)	r _{cat} (%)
Tampon (Na ₃ PO ₄)	10,0	7004	24,9	0,41	16,15	69,17
Saline (NaCl)	10,0	14764	69,34	0,69	10,22	90,10

V.2.4 Effet du volume d'effluent traité

Le volume traité lors de cette série de tests influence le taux de production en hydrogène (**Tableau 7**). Les essais ont été effectués dans les conditions opératoires suivantes : 10g/L de glucose, des

volumes utiles anodique et cathodique de 500 mL chacun, une température de 30°C, un temps d'incubation de 3 jours, une anode en feutre de carbone (FC) et une cathode en Inox.

La performance augmente en baissant le volume traité. Pour un volume de 250 ml nous avons enregistré un taux de production de 1.1 (m³/m³/j) comparativement à 0.65 (m³/m³/j) enregistré pour volume de 500 ml. La variation de volume utile (250 mL versus 500 mL) pour une même concentration de substrat (1 g/L de glucose), un temps d'incubation de 3 jours et une concentration (X₀) en décomposeurs (bactéries dans le compartiment anodique) revient indirectement à étudier l'influence de la charge massique sur l'efficacité du procédé d'ESM. Lorsque le volume augmente, la masse de décomposeurs augmente et cela contribue à augmenter la vitesse de la réaction biologique. Aussi, la densité volumétrique (A/m³) augmente, puisque le volume diminue, un terme qui intervient dans le calcul du taux de production en Bio-H₂ Q (m³/m³/j) (Chapitre II.4. Calcul d'efficacité et du taux de production). Pour l'abattement de la DCO, il augmente en diminuant le volume valorisé. Cela augmente le contact entre bactérie et la matière organique à dégrader (DCO_{250ml}= 45.6% contre DCO_{500ml}=21.7%). Quant à l'efficacité de Coulomb, elle augmente en fonction de l'abattement de la DCO, ce qui est normal. Au niveau du taux de récupération du Bio-H₂, le volume n'influence presque plus ce taux (pour catholyte salin r_{cat}=83%, catholyte solution tampon r_{cat}=81,34%).

Tableau 10:Variation d'efficacité et taux de production en hydrogène en fonction du volume d'électrolyte

Volume (mL)	Δ DCO(%)	³ Q (m ³ /m ³ /j)	CE (%)	r _{cat} (%)
250	45,6	1,11	77,8	81,34
500	21,7	0,65	63,20	83,05

V.2.5 Effet du type de la cathode

Le paramètre évalué dans ces tests est la nature de la cathode. Dans le but de choisir la cathode la plus apte à dégager du Bio-H₂. Les conditions dans lesquelles nous avons opéré sont : 10g/l de substrat, 10% d'inoculum, anode : feutre de carbone, cathode : feutre de graphite, tige de graphite, carbone vitreux, Inox, à 30°C, durant 3 jours. On constate que l'effet de la nature et de

la forme des cathodes est très distinguable (**Figure 17**). L'inox représente la meilleure cathode de point de vue production en hydrogène ($0.56 \text{ (m}^3/\text{m}^3/\text{j})$). Les électrodes en graphite restent moins performantes. Ce contraste de production qui existe entre l'inox et les cathodes en graphite, est attribué à la surtension élevée de ces derniers. Contrairement à l'inox qui se caractérise par une faible surtension, ce qui favorise le dégagement en hydrogène et aussi un taux de récupération élevé ($r_{\text{cat}}=78\%$). La faible production en hydrogène au niveau des électrodes en graphite peut être expliquée par l'absorption des molécules d'hydrogène sur ces matériaux qui se possède une porosité non négligeable. D'après les valeurs de r_{cat} , les cathodes en graphite représente comme même une conductivité intéressante due à leur nature. Concernant le tige en graphite, il représente une faible surface active par rapport au volume ((Patil, Harnisch et al. 2011);(Torres, Kato Marcus et al. 2008)). La cathode en carbone vitreux, se caractérise par une grande résistance (He, Desai et al. 2005).Même si la cathode en feutre de graphite présente une grande surface active, il y a toujours un risque de colmatage des pores ce qui explique la valeur minimale obtenue à partir de ce type d'électrode. Les différents résultats obtenus, à partir de plusieurs natures d'électrode, montrent que la production du bio- H_2 à la cathode nécessite une électrode à haute surtension en hydrogène, par conséquent un grand taux de conversion des électrons en H_2 . Cela correspond à l'hypothèse 1 et qui confirme le rôle de la nature du matériau de l'électrode pour la production du Bio- H_2 par l'ESM.

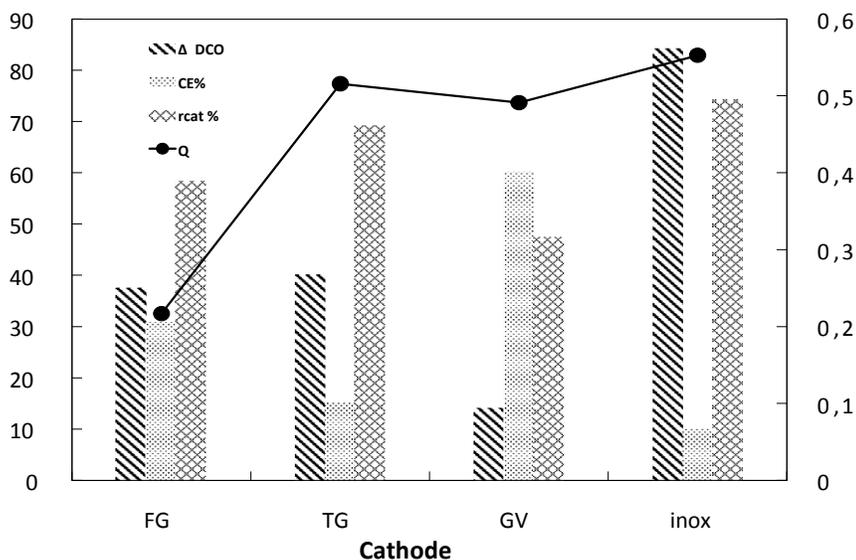


Figure 17. Variation de l'efficacité et de taux de production en hydrogène en fonction de la nature de la cathode

V.2.6 Effet du potentiel appliqué

L'objectif de ces deux tests est de minimiser l'énergie d'entrée ou la tension à appliquer à la borne de la cellule. Les conditions opératoires dans lesquelles nous avons opéré sont : une tension examinée entre 0 et 5V, 10 % d'inoculum, 10 g/l de glucose, anode : feutre de carbone, cathode : feutre de graphite, à 30°C, durant 3 jours. Le taux de production en hydrogène est proportionnel à la tension appliquée de 0 V à 5 V. À 0 V le taux de production est nul dû à l'absence du courant. A partir de 3 V on commence à produire de l'hydrogène avec $Q = 0,33 \text{ m}^3/\text{m}^3/\text{j}$, $CE=58\%$ et $r_{\text{cat}}=71\%$. Le facteur influençant dans ce cas est l'intensité du courant, en plus des tensions plus au moins élevées favorisent le déroulement de la réduction d'hydrogène à la cathode. C'est la même chose constaté pour une tension de 5 V, avec un taux de production de $0,71 \text{ m}^3/\text{m}^3/\text{j}$, $r_{\text{cat}}=86\%$ et $CE=72\%$. Tous en restant loin du potentiel réel de l'électrolyse de l'eau (1,1 V). **(Figure 18)**. Cependant, le taux d'abattement de la DCO enregistré à 3 V est de l'ordre de 50%, contre 33% enregistré lors de l'imposition d'un potentiel de 5 V. Ces données montrent qu'à potentiel 3 V, la fraction majoritaire d' H_2 produit est liée à une oxydation de substrat par les bactéries et non à une réduction cathodique de l'eau. D'autre part, le faible taux d'abattement de la DCO obtenu à un potentiel de 5 V indique qu'une bonne fraction d' H_2 produit est liée à l'électrolyse de l'eau (réduction cathodique). Selon ces résultats, le potentiel de 3 V a été retenu comme le potentiel optimal pour la synthèse de Bio- H_2 . Aussi, on commence à avoir des volumes importants à partir du potentiel optimal pour former l'hydrogène (potentiel supérieur à 0.14 V). **(Tableau 9)**

Tableau 11: volume d'hydrogène en fonction du potentiel à l'anode et à la cathode et de l'intensité

Temps (h)	$E_{\text{appliqué}}(\text{V})$	$E_{\text{anode}}(\text{V})$	Volume H_2 (ml)	Intensité (mA)
0	1,5	-0,82	0	10
3	1,5	-0,83	0,5	9
6	1,5	-0,83	1,6	8
9	1,5	-0,81	2,7	8
12	1,5	-0,832	3,3	8
15	1,5	-0,835	5,2	8
18	1,5	-0,837	8,7	6
21	1,5	-0,833	11,5	6
24	1,5	-0,839	12,6	6

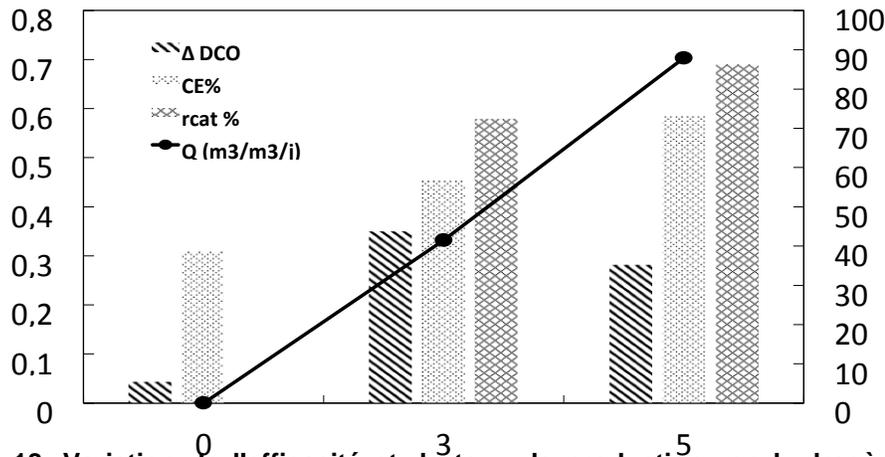


Figure 18. Variation de l'efficacité et de taux de production en hydrogène en fonction du potentiel appliqué (V)

V.2.7 Comparaison entre un procédé d'ESM et différentes techniques de production en hydrogène

Les résultats présentés dans ce graphe (**Figure 19**) ont pour objectif de montrer l'intérêt du procédé d'ESM en le comparant avec d'autres procédés conventionnels comme la fermentation classique et l'électrolyse de l'eau. Un premier test d'électrolyse a été effectué dans les meilleures conditions ci-dessus définies (tension = 3V; C=10g/L glucose; T=37 C; temps électrolyse = 3 jours), mais en l'absence de bactéries (essais d'électrolyse sans bactéries, mais avec substrat, **SB/AS**). Un deuxième test comparatif (par électrolyse) a été fait dans des conditions plus ou moins similaires, mais en l'absence de bactéries et de substrat, (**SB/SS**). Un troisième test a été fait dans les conditions plus ou moins similaire en présence de bactérie et de substrat, mais sans imposition du courant électrique (**fermentation conventionnelle**).

Le rôle du premier essai est de vérifier que la dégradation du substrat ne se fait pas électrochimiquement, et qu'elle se fait par la masse bactérienne. A ce stade-là, on ne remarque ni un abattement de la DCO ni une production en hydrogène. Puis vient le deuxième test de l'électrolyse, c'est à dire sans ajout de matière organique et des bactéries. On remarque qu'il y avait une production plus au moins élevé par rapport à la fermentation. C'est forcément dû à l'effet du courant qui catalyse les réactions au voisinage des électrodes (oxydation de la molécule de l'eau à l'anode et réduction du H₂ à la cathode). Aussi, pour la présence d'une conductivité intéressante en absence de la matière organique et des bactéries. Pour le test de fermentation, qui s'est passé dans les mêmes conditions d'ESM. Cette fois notre cellule n'était pas connectée au générateur. Nous constatons bien l'effet des bactéries qui oxydent la matière organique avec

un abattement de la DCO de 56 %. Alors que le taux de production en hydrogène atteint 0.09 m³/m³/j. Quant à notre procédé d'ESM, nous remarquons bien la différence et l'intérêt du couplage de l'électrolyse avec l'oxydation par voie biologique. A partir de cette technique d'ESM, nous constatons qu'un taux de production de 0.65 m³/m³/j, 5 fois à celui obtenu avec l'électrolyse direct ou la fermentation. Concernant l'efficacité de coulomb (**CE**), le premier test (**SB/AS**) atteint une efficacité d'environ 14 %, une valeur très faible, dû à la faible oxydation électrochimique du substrat. Pour le second test (**SB/SS**), l'efficacité est presque nulle, ce qui revient à l'absence de la matière organique qui libère les électrons durant son oxydation. Pour l'ESM, cette efficacité fortement élevée (CE= 90%) est liée dans ce cas à une oxydation de substrat par les bactéries en libérant des protons H⁺ et à une réduction cathodique de l'eau. Cette valeur est enregistrée après 5 jours d'incubation.

Ce résultat met en valeur le couplage d'une technique bio-électrochimique. Le taux de récupération à la cathode (**r_{cat}**) est généralement proportionnelle à l'efficacité d'ESM. C'est par ce que plus qu'on produise des électrons/protons, plus on augmente la probabilité de récupérer du Bio-H₂ à la cathode par réduction. Pour cela on constate la valeur élevée d'environ (r_{cat}=86%), ce qui met encore une fois la technique d'ESM en premier en terme de production et d'efficacité.

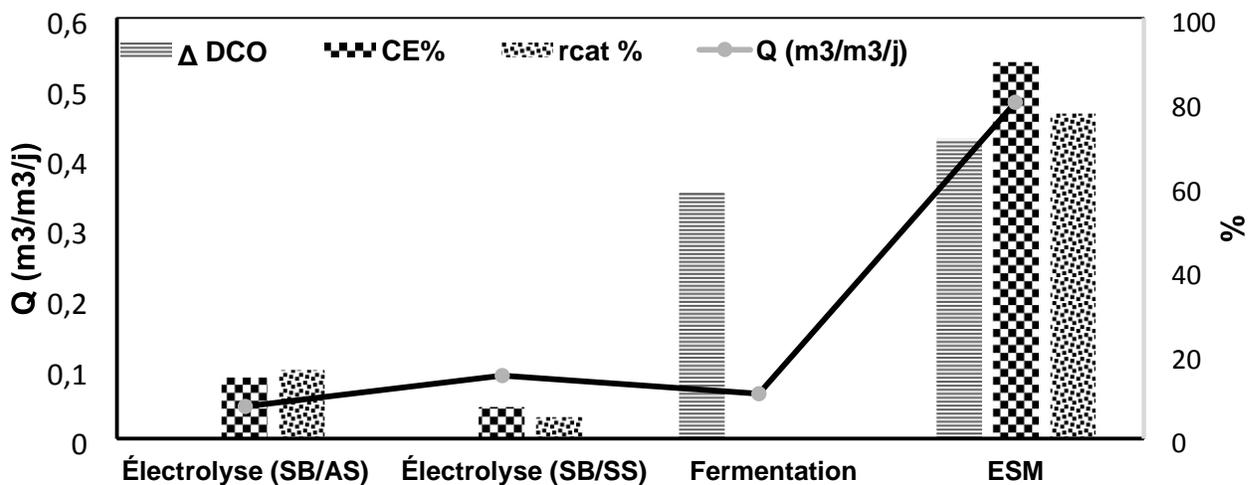


Figure 19. Comparaison entre différents techniques en termes de production et d'efficacité en hydrogène

Tableau 12: Récapitulatifs des résultats obtenus à partir des tests sur la cathode :

Tension (V)	3	3	3	3
Concentration en substrat (g/l)	10	10	10	10
% inoculum	10	10	10	10
Type de cathode	TG	FG	Inox	GV
DCO(%)	40	37	80	12
Q (m³/m³/j)	0.52	0.2	0.55	0.5
CE (%)	13	30	11	60

VI. CONCLUSION

Les objectifs ciblés pour cette mémoire portaient sur trois points : le choix d'électrodes capables de dégager facilement l'hydrogène à partir d'un procédé d'ESM (type de cathode, voltage, conductivité). Puis l'identification des conditions optimales qui permettent aux bactéries de dégrader totalement la matière organique et de produire des protons (concentration en substrat et la fraction en inoculum). Finalement, une étude comparative en termes d'efficacité entre la technique d'ESM, la fermentation et l'électrolyse directe.

D'après la conception du système d'ESM et les tests effectués par la cellule, plusieurs résultats marquants et plusieurs voies de réflexion découlent de ces travaux. La meilleure cathode choisie parmi les électrodes testées (FG, TG, CV, Inox) était la cathode en inox, dû à sa grande stabilité et à sa faible surtension par rapport aux électrodes en graphites. Le taux de production obtenu par cette électrode est de $0.56 \text{ m}^3/\text{m}^3/\text{j}$, avec un taux de récupération à la cathode de 71%. Aussi plusieurs tensions ont été appliquée (0 à 5 V). Le taux de production augmente linéairement avec le voltage imposé. L'influence de la conductivité du système était testée par variation de la composition du catholyte. Une solution tampon de $7004 \mu\text{S}/\text{cm}$ qui donne un taux de production de $0,41 \text{ m}^3/\text{m}^3/\text{j}$. L'autre solution est une solution saline de NaCl d'une conductivité de $14764 \mu\text{S}/\text{cm}$ Quant à la dégradation de la matière organique, différentes concentrations et fractions d'inoculum croissantes ont été évaluées. La concentration optimale en substrat (1 jusqu'à 20 g/l) qui correspond au meilleur taux de production en hydrogène ($0,57 \text{ m}^3/\text{m}^3/\text{j}$) est de 1g/l, avec un abattement de la matière organique d'environ 61%. En ce qui concerne la fraction d'inoculum (10 à 25 %), la meilleure production en hydrogène de $0.51 \text{ m}^3/\text{m}^3/\text{j}$ correspond à la fraction de 10% avec un taux d'abattement de la matière organique de 51%. A propos de l'étude comparative et dans les mêmes conditions, trois tests d'efficacité ont été porté (ESM, fermentation et électrolyse d'eau). Le test le productif en terme d'hydrogène revient à l'ESM, avec un taux de production de $0.49 \text{ m}^3/\text{m}^3/\text{j}$, contre $0.11 \text{ m}^3/\text{m}^3/\text{j}$ et $0.06 \text{ m}^3/\text{m}^3/\text{j}$ pour l'électrolyse de l'eau et la fermentation, respectivement.

VII. RECOMMANDATION

Afin d'améliorer la performance du système, plusieurs approches ont été proposées. Ces propositions ont été basées sur les résultats obtenus durant des anciennes recherches et durant cette étude.

- Diminuer les pertes énergétiques dues aux différentes résistances du système. Au lieu de travailler à des fortes tensions (3-5V), en augmentant la conductivité. Pour cette raison, on trouve plusieurs recherches faites utilisant un système d'ESM sur des eaux de mer.
- Orienter le métabolisme microbien vers l'oxydation du substrat, sans passer par les voies consommatrices de l'hydrogène. Le pH, la température et le substrat sont des facteurs limitant pour le maintien de la voie d'oxydation.
- Identifier les électrodes et les souches bactériennes capables de générer des densités de courant plus élevées.
- Travailler sur des eaux usées (domestiques, agroalimentaires, animales, etc.) riches en biomasse et en éléments nutritifs.

VIII. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aelterman, P., et al. (2008). "The anode potential regulates bacterial activity in microbial fuel cells." Applied Microbiology and Biotechnology 78(3): 409-418.

Arechederra, R. and S. D. Minteer (2008). "Organelle-based biofuel cells: immobilized mitochondria on carbon paper electrodes." Electrochimica Acta 53(23): 6698-6703.

Bond, D. R., et al. (2002). "Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments." Science 295(5554): 483-485.

Caccavo, F., et al. (1994). "Geobacter sulfurreducens sp. nov., a hydrogen-and acetate-oxidizing dissimilatory metal-reducing microorganism." Applied and environmental microbiology 60(10): 3752-3759.

Carmona-Martínez, A. A., et al. (2013). "High current density via direct electron transfer by the halophilic anode respiring bacterium *Geoalkalibacter subterraneus*." Physical Chemistry Chemical Physics 15(45): 19699-19707.

Collier Jr, R. K., et al. (1997). Hydrogen enriched natural gas as a clean motor fuel, Google Patents.

Cusick, R. D., et al. (2010). "A monetary comparison of energy recovered from microbial fuel cells and microbial electrolysis cells fed winery or domestic wastewaters." International journal of hydrogen energy 35(17): 8855-8861.

Da Silva, S., et al. (2004). "Electrochemical deprotonation of phosphate on stainless steel." Electrochimica Acta 49(26): 4553-4561.

Darkrim-Lamari, F. and P. Malbrunot (2006). "Combustible hydrogène: Production." Techniques de l'ingénieur. Génie énergétique(BE8565).

Divisek, J., et al. (1990). "Potential distribution and electrode stability in a bipolar electrolysis cell." Journal of applied electrochemistry 20(2): 186-195.

Fang, H. H. and H. Liu (2002). "Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture." Bioresource Technology 82(1): 87-93.

Fang, H. H., et al. (2005). "Phototrophic hydrogen production from acetate and butyrate in wastewater." International journal of hydrogen energy 30(7): 785793.

Freguia, S., et al. (2008). "Syntrophic processes drive the conversion of glucose in microbial fuel cell anodes." Environmental Science & Technology 42(21): 7937-7943.

Freguia, S., et al. (2010). "Microbial fuel cells operating on mixed fatty acids." Bioresource Technology 101(4): 1233-1238.

Ghany, N. A., et al. (2002). "Oxygen evolution anodes composed of anodically deposited Mn–Mo–Fe oxides for seawater electrolysis." Electrochimica Acta 48(1): 21-28.

Guo, X. M., et al. (2010). "Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: a review." International journal of hydrogen energy 35(19): 10660-10673.

Hallenbeck, P. C. and D. Ghosh (2009). "Advances in fermentative biohydrogen production: the way forward?" Trends in biotechnology 27(5): 287-297.

Harnisch, F. and S. Freguia (2012). "A basic tutorial on cyclic voltammetry for the investigation of electroactive microbial biofilms." Chemistry–An Asian Journal 7(3): 466-475.

Hawkes, F. R., et al. (2007). "Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: principles and progress." International journal of hydrogen energy 32(2): 172-184.

He, C., et al. (2005). "PEM fuel cell catalysts: Cost, performance, and durability." Interface-Electrochemical Society 14(3): 41-46.

Joo, H., et al. (1999). "A microbial fuel cell type lactate biosensor using a metalreducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*." Journal of Microbiology and Biotechnology 9(3): 365-367.

Khila, Z., et al. (2013). "A comparative study on energetic and exergetic assessment of hydrogen production from bioethanol via steam reforming, partial oxidation and auto-thermal reforming processes." Fuel processing technology 112: 19-27.

Kiely, P. D., et al. (2011). "Long-term cathode performance and the microbial communities that develop in microbial fuel cells fed different fermentation endproducts." Bioresource Technology 102(1): 361-366.

Kim, D.-H., et al. (2006). "Effect of gas sparging on continuous fermentative hydrogen production." International journal of hydrogen energy 31(15): 2158-2169.

Kumar, N., et al. (2001). "Redirection of biochemical pathways for the enhancement of H₂ production by *Enterobacter cloacae*." Biotechnology letters 23(7): 537-541.

Kundu, A., et al. (2013). "An overview of cathode material and catalysts suitable for generating hydrogen in microbial electrolysis cell." International journal of hydrogen energy 38(4): 1745-1757.

Lalaurette, E., et al. (2009). "Hydrogen production from cellulose in a two-stage process combining fermentation and electrohydrogenesis." International journal of hydrogen energy 34(15): 6201-6210.

Lapinsonniere, L. (2013). Contribution à l'évaluation et à l'optimisation des application des systèmes microbio-électrochimiques: traitement des eaux, production d'électricité, bioélectrosynthèse, Rennes 1.

Lapinsonnière, L., et al. (2012). "Enzymatic versus Microbial Bio_Catalyzed Electrodes in Bio-Electrochemical Systems." ChemSusChem 5(6): 995-1005.

Lay, J.-J., et al. (2003). "Influence of chemical nature of organic wastes on their conversion to hydrogen by heat-shock digested sludge." International journal of hydrogen energy 28(12): 1361-1367.

Lefebvre, O., et al. (2012). "Effect of increasing anodic NaCl concentration on microbial fuel cell performance." Bioresource Technology 112: 336-340.

Levenspiel, O. (1999). "Chemical reaction engineering." Industrial & engineering chemistry research 38(11): 4140-4143.

Levin, D. B., et al. (2004). "Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application." International journal of hydrogen energy 29(2): 173185.

Li, C. and H. H. Fang (2007). "Fermentative hydrogen production from wastewater and solid wastes by mixed cultures." Critical Reviews in Environmental Science and Technology 37(1): 1-39.

Liu, H., et al. (2005). "Power generation in fed-batch microbial fuel cells as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration." Environmental Science & Technology 39(14): 5488-5493.

Liu, H., et al. (2005). "Production of electricity from acetate or butyrate using a single-chamber microbial fuel cell." Environmental Science & Technology 39(2): 658-662.

Liu, H., et al. (2005). "Electrochemically assisted microbial production of hydrogen from acetate." Environmental Science & Technology 39(11): 43174320.

Liu, W., et al. (2012). "Hydrogen generation in microbial electrolysis cell feeding with fermentation liquid of waste activated sludge." International journal of hydrogen energy 37(18): 13859-13864.

Logan, B. E. (2009). "Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells." Nature Reviews Microbiology 7(5): 375-381.

Logan, B. E., et al. (2008). "Microbial electrolysis cells for high yield hydrogen gas production from organic matter." Environmental Science & Technology 42(23): 8630-8640.

Logan, B. E. and K. Rabaey (2012). "Conversion of wastes into bioelectricity and chemicals by using microbial electrochemical technologies." Science 337(6095): 686-690.

Logan, B. E. and J. M. Regan (2006). "Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells." TRENDS in Microbiology 14(12): 512-518.

Lovley, D. R. (2006). "Bug juice: harvesting electricity with microorganisms." Nature Reviews Microbiology 4(7): 497-508.

Lu, L., et al. (2009). "Hydrogen production with effluent from an ethanol–H₂ coproducing fermentation reactor using a single-chamber microbial electrolysis cell." Biosensors and Bioelectronics 24(10): 3055-3060.

Malvankar, N. S., et al. (2012). "Comment on "On electrical conductivity of microbial nanowires and biofilms" by SM Strycharz-Glaven, RM Snider, A. Guiseppi-Elie and LM Tender, *Energy Environ. Sci.*, 2011, 4, 4366." Energy & Environmental Science 5(3): 6247-6249.

Nam, J.-Y., et al. (2011). "Comparison of microbial electrolysis cells operated with added voltage or by setting the anode potential." International journal of hydrogen energy 36(17): 10550-10556.

Oelkers, E. H., et al. (1995). "Summary of the apparent standard partial molal Gibbs free energies of formation of aqueous species, minerals, and gases at pressures 1 to 5000 bars and temperatures 25 to 1000 C." Journal of Physical and Chemical Reference Data 24(4): 1401-1560.

Patil, S. A., et al. (2011). "Electroactive mixed culture derived biofilms in microbial bioelectrochemical systems: the role of pH on biofilm formation, performance and composition." Bioresource Technology 102(20): 9683-9690.

Pocaznoi, D., et al. (2012). "Stainless steel is a promising electrode material for anodes of microbial fuel cells." Energy & Environmental Science 5(11): 9645-9652.

Rabaey, K., et al. (2004). "Biofuel cells select for microbial consortia that selfmediate electron transfer." Applied and environmental microbiology 70(9): 5373-5382.

Rader, G. K. and B. E. Logan (2010). "Multi-electrode continuous flow microbial electrolysis cell for biogas production from acetate." International journal of hydrogen energy 35(17): 8848-8854.

Rafrafi, Y. (2012). Impact des facteurs biotiques sur le réseau métabolique des écosystèmes producteurs d'hydrogène par voie fermentaire en culture mixte, Montpellier 2.

Ramachandran, R. and R. K. Menon (1998). "An overview of industrial uses of hydrogen." International journal of hydrogen energy 23(7): 593-598.

Rossmeisl, J., et al. (2007). "Electrolysis of water on oxide surfaces." Journal of Electroanalytical Chemistry 607(1): 83-89.

Rousseau, R. (2013). Production de biohydrogène par électro-catalyse microbienne.

Rozendal, R. A., et al. (2006). "Principle and perspectives of hydrogen production through biocatalyzed electrolysis." International journal of hydrogen energy 31(12): 1632-1640.

Sarma, S. J., et al. (2014). "Mitigation of the inhibitory effect of soap by magnesium salt treatment of crude glycerol—A novel approach for enhanced biohydrogen production from the biodiesel industry waste." Bioresource Technology 151: 49-53.

Shukla, A., et al. (2004). "Biological fuel cells and their applications." Current Science 87(4): 455-468.

Sokic_Lazic, D., et al. (2010). "Oxidation of biofuels: fuel diversity and effectiveness of fuel oxidation through multiple enzyme cascades." Electroanalysis 22(7_8): 757-764.

Strycharz-Glaven, S. M., et al. (2011). "On the electrical conductivity of microbial nanowires and biofilms." Energy & Environmental Science 4(11): 4366-4379.

Tommasi, T., et al. (2012). "Energy valorisation of residues of dark anaerobic production of hydrogen." Journal of Cleaner Production 34: 91-97.

Torres, C. I., et al. (2008). "Proton transport inside the biofilm limits electrical current generation by anode_respiring bacteria." Biotechnology and bioengineering 100(5): 872-881.

Wang, A., et al. (2010). "Reduced internal resistance of microbial electrolysis cell (MEC) as factors of configuration and stuffing with granular activated carbon." International journal of hydrogen energy 35(24): 13488-13492.

Wang, A., et al. (2010). "A rapid selection strategy for an anodophilic consortium for microbial fuel cells." Bioresource Technology 101(14): 57335735.

Wei, J., et al. (2011). "Recent progress in electrodes for microbial fuel cells." Bioresource Technology 102(20): 9335-9344.

IX. ANNEXES

Tableau 13 : variation de la densité optique en fonction de la concentration en glucose

Jours	Glucose (g/L)	Densité optique
0	10	1,23
1	8,64	1,26
2	6,37	1,19
3	5,91	1,17



Figure 20. Développement du biofilm sur l'anode en feutre de carbone

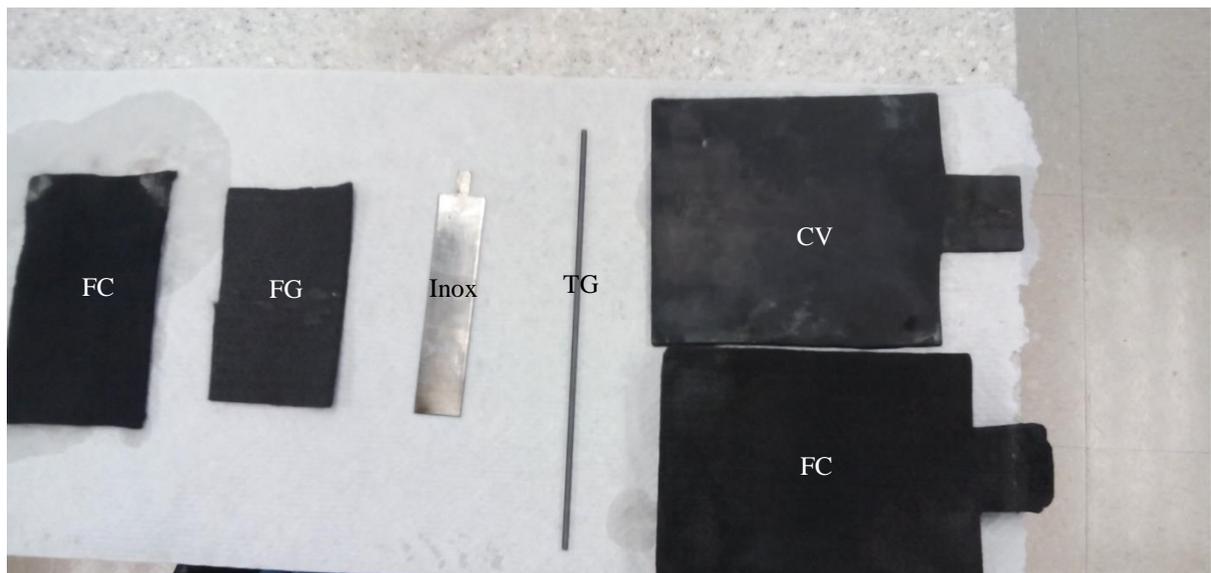


Figure 21. Types de cathodes testées durant l'expérimentation

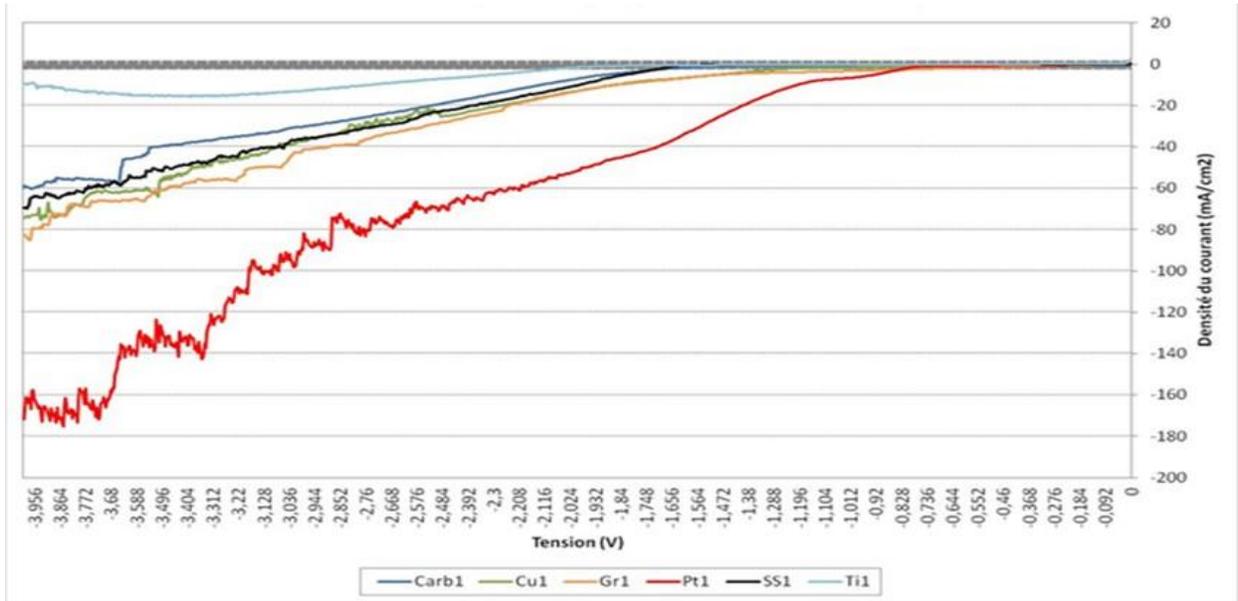


Figure 22. Courbes voltampérométrique (densité du courant en fonction de la tension appliquée) de différentes électrodes