



Ecole Nationale Polytechnique  
Département de Génie de l'Environnement  
Laboratoire de Biotechnologies  
et Génie des Procédés (BIOGEP)



# Mémoire de Magister en ingénierie et environnement

Option : biotechnologie et environnement

Présenté par :

**KHERAT Mohamed**

Intitulé

## **Bioépuración d'un effluent industriel par des piles à combustibles microbiennes**

Soutenu publiquement le 29 septembre 2012 devant le jury composé de :

Président :	ABDI Nadia	Professeur	ENP
Rapporteur :	MAMERI Nabil	Professeur	ENP
Examineurs :	GRIB Hocine	MC/A	ENP
	LOUNICI Hakim	Professeur	CUB
Invité :	Hariti M'hamed	Doctorant	ENP

**ENP 2012**

## **Remerciements :**

Ce travail de magistère a été réalisé au niveau du laboratoire de biotechnologies et génie des procédés de l'école nationale polytechnique, sous la direction de Dr. Grib Hocine.

Ce travail fait partie intégrante de la thèse d'état de M'hamed Hariti, doctorant à l'école nationale polytechnique.

Je tiens à remercier Pr. Mameri Nabil, professeur à l'ENP, de m'avoir proposé un sujet de recherche aussi intéressant et de m'avoir encadré et conseillé tout au long de ce projet.

Je remercie Pr. Abdi Nadia, professeur à l'ENP, d'avoir accepté de présider le jury et de m'avoir aidé et conseillé lors de mes travaux au sein du laboratoire.

Je remercie également Pr. Lounici Hakim et Dr. Grib Hocine, d'avoir accepté de lire mon manuscrit et de faire partie de mon jury, je les remercie aussi pour l'aide qu'ils m'ont apporté.

Je remercie M'hamed Hariti, qui était toujours là pour m'aider et me donner des conseils.

Je remercie tous mes amis, ma famille et les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

## Table des matières

Introduction :	1
Chapitre I : Etude bibliographique	2
I. Effluents de l'industrie laitière :	3
II. Traitements biologiques :	4
II.1. Traitements aérobies :	4
II.1. Traitements anaérobies :	4
III. Piles à combustibles :	5
IV. Piles à combustibles microbiennes :	10
IV.1. Historique :	10
IV.2. Principe de fonctionnement :	11
IV.3. Microorganismes électroactifs et modes de transfert des électrons :	15
IV.3.1. Transfert des électrons par l'intermédiaire de pili conducteurs :	16
IV.3.2. Transfert des électrons par contact direct	17
IV.3.3. Transfert des électrons par l'intermédiaire de médiateurs	19
IV.4. Constituants des PACM :	22
IV.4.1. Anode :	23
IV.4.2. Cathode :	24
IV.4.3. Membrane :	24
IV.4.4. Anolyte :	25
IV.4.5. Catholyte :	25
IV.4.6. Biocatalyseur :	25
IV.4.7. Combustible :	26
IV.5. Configuration des piles :	27
IV.5.1. PACM à deux compartiments :	27
IV.5.2. PACM a un compartiment :	28
IV.6. Performances :	29
Chapitre II : Matériel et méthodes	32
I. Matériel :	33
II. Matériel utilisé dans la confection des piles :	33
II.1. Biocatalyseur :	33
II.2. Electrodes :	34

II.3. Supports bactériens :.....	35
II.4. Pont Salin :.....	35
II.5. Combustible :.....	36
II.6. Resistances :.....	36
III.    Techniques utilisées pour la caractérisation de l'effluent : .....	36
III.1. Dosage de la demande chimique en oxygène :.....	36
III.2. Mesure du pH :.....	36
III.3. Dosage des nitrites :.....	36
III.4. Dosage des nitrates :.....	37
III.5. Mesure de la conductivité :.....	37
III.6. Dosage des phosphates :.....	37
IV.    Dispositif expérimental .....	37
IV.1. PACM à biomasse libre :.....	37
IV.2. PACM a biomasse fixée :.....	38
IV.3. Réacteur aérobie :.....	38
V.    Méthodes d'analyse et de suivi des performances des piles.....	38
V.1. Dosage de la demande chimique en oxygène :.....	38
V.2. Mesure de la tension des piles :.....	39
V.3. Mesure de la puissance des piles :.....	39
V.4. Mesure de la résistance interne des piles :.....	39
V.5. Calcul du rendement faradique : .....	40
Chapitre III :    Résultats et discussion.....	41
I.    Caractérisation de l'effluent :.....	42
II.   Bioréacteur aérobie :.....	42
III.   PACM à biomasse libre :.....	43
III.1. Influence de la nature du biocatalyseur :.....	44
III.2. Effet de la nature de l'électrode :.....	51
IV.   PACM à biomasse fixée :.....	56
IV.1. Etude de l'influence de la nature du support : .....	56
IV.2. Etude de l'influence du volume du réacteur :.....	61
V.    Comparaison entre les performances des PACM à biomasse fixée est à biomasse libre :...	68
Conclusion : .....	71

## Liste des figures :

Figure 1: Schéma du principe de fonctionnement d'une pile à hydrogène.....	5
Figure 2: Courbe de polarisation d'une pile à combustible indiquant les trois régions de fonctionnement selon le type de surtension .....	8
Figure 3: Allure des courbes de polarisation « intensité-potentiel » de l'anode et de la cathode d'une pile.....	9
Figure 4: Schéma de la glycolyse (Prescott 2000) .....	12
Figure 5: Schéma du cycle de Krebs .....	13
Figure 6: Schéma de la chaîne respiratoire .....	14
Figure 7: Schéma du principe de fonctionnement des PACM.....	15
Figure 8: Schéma simplifié du transfert des électrons par l'intermédiaire de pili conducteurs ...	17
Figure 9 : Schéma simplifié du mécanisme de transfert des électrons par contact direct, par l'intermédiaire de protéines membranaires .....	18
Figure 10 : Modèle du transfert d'électrons chez <i>Geobacter sulfurreducens</i> depuis le NADH issu de l'oxydation de matières organiques vers une électrode (Lovley, 2008) .....	19
Figure 11: Schéma du transfert des électrons par l'intermédiaire de médiateurs .....	20
Figure 12: Formule semi-développée de la riboflavine.....	21
Figure 13 : Formule semi-développée de la molécule de pyocyanine .....	21
Figure 14 : Formules semi-développées de trois transporteurs d'électrons suspectés dans une pile à combustible microbienne à <i>E.Coli</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2008) .....	22
Figure 15 : Mécanisme hypothétique de transfert d'électrons entre <i>E. coli</i> et une électrode (Qiao <i>et al.</i> , 2008) (A) et formules semi-développées de la quinone (B) et de l'hydroquinone (C) .....	22
Figure 16: Schéma de la configuration la plus simple où l'anode et la cathode sont placées aux extrémités d'un tube .....	28
Figure 17: Evolution de la DCO pour le réacteur aérobie .....	43
Figure 18: de la DCO au cours du temps pour trois piles identiques contenant des boues activées .....	44
Figure 19: Evolution de la DCO au cours du temps pour deux piles identiques contenant des boues anaérobies .....	45
Figure 20: Evolution de la DCO au cours du temps pour des piles contenant des BSR .....	46
Figure 21: Evolution de la puissance des piles contenant des boues activées .....	46
Figure 22: Evolution de la puissance des piles contenant des boues anaérobies.....	47
Figure 23: Evolution de la puissance des piles contenant des BSR.....	48
Figure 24: Comparaison de l'abattement de la DCO.....	48
Figure 25: Comparaison de l'évolution des puissances générées.....	49
Figure 26: Taux d'abattement de la DCO après 10 jours .....	50
Figure 27: Nombre de jours nécessaires pour atteindre un abattement de la DCO de 50%.....	50
Figure 28: Puissances maximales générées par les piles.....	51

Figure 29: Evolution de la DCO pour des piles contenant des électrodes en graphite .....	52
Figure 30: Evolution de la puissance pour des piles contenant des électrodes en graphite .....	52
Figure 31: Comparaison du taux d'abattement de la DCO après 10 jours pour les PACM contenant une électrode en graphite et celles qui en contiennent une en acier inoxydable .....	53
Figure 32: nombre de jours nécessaires pour atteindre un taux d'abattement de 50% .....	53
Figure 33: Comparaison des puissances maximales des piles contenant des électrodes en inox et des électrodes en graphite .....	54
Figure 34: Courbe de polarisation de la PACM qui contient des boues activées.....	55
Figure 35: Courbe de polarisation de la PACM qui contient des boues anaérobies.....	55
Figure 36: Evolution de la DCO pour les piles contenant un support en graphite.....	56
Figure 37: Evolution de la puissance générée par les piles contenant un support en graphite ...	57
Figure 38: Evolution de la DCO pour les piles contenant un support en polyéthylène .....	58
Figure 39: Evolution de la puissance pour les piles contenant un support en polyéthylène.....	58
Figure 40: Puissances maximales en fonction du support et du biocatalyseur utilisé.....	59
Figure 41: Abattement de la DCO après 10 jours en fonction du support et du biocatalyseur utilisé .....	60
Figure 42: Courbes de polarisation pour une pile contenant un support en graphite (en rouge) et une pile contenant un support en polyéthylène(en bleu). .....	61
Figure 43: Evolution de la DCO pour les réacteurs de 30ml contenant du graphite (en rouge) et du polyéthylène (en bleu) .....	62
Figure 44: Evolution de la puissance pour les réacteurs de 30ml contenant du graphite (en noir) et du polyéthylène (en gris) .....	62
Figure 45: Evolution de la DCO pour les réacteurs de 65ml contenant du graphite (en noir) et du polyéthylène (en gris).....	63
Figure 46: Evolution de la puissance des réacteurs de 65ml contenant du graphite (en noir) et du polyéthylène (en gris).....	63
Figure 47: Evolution de la DCO pour les réacteurs de 95ml contenant du graphite (en noir) et du polyéthylène (en gris).....	64
Figure 48: Evolution de la puissance pour les réacteurs de 95ml contenant du graphite (en noir) et du polyéthylène (en gris) .....	64
Figure 49: Puissances maximales en fonction du volume du réacteurs et du support utilisé .....	65
Figure 50: Courbes de polarisation pour les reacteurs de 65ml contenant du graphite (en gris) et du polyéthylène (en bleu) .....	66
Figure 51: Courbes de polarisation pour les réacteurs de (5ml contenant du graphite (en gris) et du polyéthylène (en bleu) .....	66

## **Introduction :**

L'industrialisation rapide du siècle dernier a entraîné la génération de grosses quantités d'eaux usées qui sont souvent déversées directement dans les cours d'eau et menacent de polluer les réserves d'eau limitées dont on dispose.

Il est donc évident qu'une dépollution de ces eaux usées est indispensable.

Certaines de ces eaux sont chargées en matière organique et peuvent être traitées par voie biologique, c'est le cas pour les effluents de l'industrie agro-alimentaire qui sont très souvent riches en matières biodégradables.

Les traitements biologiques les plus utilisés actuellement mettent en jeu des boues activées qui nécessitent une aération constante qui consomme d'énormes quantités d'énergie. Ce qui nous amène à un deuxième problème majeur, celui de l'énergie, en effet, nous dépendons actuellement des énergies fossiles qui sont à la fois épuisables et polluantes, pour cette raison il est impératif de trouver des sources d'énergie alternatives renouvelables.

Les piles à combustibles microbiennes sont des dispositifs dont l'usage est récent et qui tentent de résoudre les deux problèmes cités précédemment en même temps, la matière organique présente dans les eaux usées est oxydée par les microorganismes présents dans les piles, en absence d'oxygène certains microorganismes vont céder les électrons issus de cette oxydation à une électrode et vont de cette façon générer de l'énergie électrique, ce processus s'effectue directement, sans étapes intermédiaires durant lesquels un combustible tel que le méthane est synthétisé.

De plus ce procédé se fait en anaérobiose et ne nécessite pas d'aération, ce qui permet de faire des économies d'énergie.

L'objectif de cette étude est de montrer que les piles à combustibles microbiennes peuvent être utilisées dans la bioépuration d'un effluent de l'industrie agro-alimentaire.

A cet effet, nous avons utilisé un effluent réel de l'industrie laitière.

Dans notre étude nous avons comparé les performances de piles à combustibles microbiennes contenant une biomasse libre et d'autres une biomasse fixée sur un support, tout en étudiant l'influence de la source de microorganismes, de la nature des électrodes, de la nature du support et des dimensions du réacteur sur la dépollution et la production d'électricité par les piles.

**Chapitre I : Etude  
bibliographique**

## **I. Effluents de l'industrie laitière :**

La demande mondiale en lait et produits laitiers ne cesse d'augmenter ce qui provoque une croissance continue de ce secteur, en effet il est estimé que la croissance annuelle est de 2.8%. (FAOSTAT 2005).

Les effluents de l'industrie laitière sont semblables aux autres effluents de l'industrie agro alimentaire, ils possèdent des caractéristiques variables en composition et en volume en fonction des produits élaborés et de la phase de fabrication (Nadais et al 2010). A cause de la diversité des produits et des techniques de production il est difficile de donner les caractéristiques typiques d'un effluent laitier, cependant, il est possible d'identifier quelques caractéristiques générales (Nadais et al. 2010) :

- Présence d'une demande chimique en oxygène (DCO) et d'une demande biochimique en oxygène (DBO) élevée.
- Présence de concentrations élevées de matières grasses, protéines et calcium.
- Présence d'acides, bases, et désinfectants utilisés pour le nettoyage et pour inhiber la croissance bactérienne.
- Présence de bactéries utilisées dans plusieurs procédés de production.
- Température élevée à cause de l'utilisation d'eau chaude pour le nettoyage.

Les différents constituants du lait sont retrouvés dans les effluents laitiers, le lait contient une grande variété de protéines et sucres, les plus importants étant la caséine et le lactose. Les matières grasses sont retrouvées surtout sous forme d'émulsions de lipides, de triglycérides et d'acides gras (Nadais et al. 2010).

En plus des constituants du lait, les effluents laitiers contiennent de nombreux produits de nettoyage, ils sont faiblement biodégradables et peuvent réduire les performances de certains traitements biologiques à cause de leur toxicité.

**Tableau 1 :** Caractéristiques d'un effluent laitier

<b>pH</b>	5.6-8
<b>DCO</b>	1120-3360 mg/L
<b>DBO</b>	320-1750 mg/L
<b>Solides en suspension</b>	28-1900 mg/L
<b>Matières grasses</b>	68-240 mg/L

## **II. Traitements biologiques :**

Les effluents laitiers sont riches en matières organique biodégradable, pour cette raison, ces effluents sont particulièrement bien adaptés à des traitements biologiques qui visent à réduire leurs DBO en utilisant des microorganismes qui vont métaboliser la pollution organique soluble et colloïdale.

L'épuration biologique peut se faire par un processus aérobie ou anaérobie en fonction du type de microorganismes présents et de la charge polluante.

### **II.1. Traitements aérobies :**

Sont appliqués au sein des boues activées et des biofiltres, les microorganismes et l'effluent sont mis en contact et le mélange est aéré en continue afin de permettre aux microorganismes de métaboliser la matière organique (Cardot 2010).

Ce type d'installation est retrouvé dans les stations d'épuration, ou la consommation d'énergie est importante à cause de l'aération. Aussi, l'énergie chimique contenue dans la matière organique n'est pas récupérée.

Suite à la consommation de la matière organique, il y a prolifération des microorganismes et génération de quantités importantes de boues qui doivent être traitées (cheremisinoff 2002)

### **II.1. Traitements anaérobies :**

Les digesteurs anaérobies permettent la digestion de la matière organique et sa conversion en méthane. Ce procédé présente de nombreux avantages par rapport aux procédés aérobies : il permet une meilleure stabilisation des déchets, produit moins de déchets organiques résiduels, ne nécessite pas d'aération et permet la génération de méthane qui sera utilisé a des fins énergétiques (Taricska *et al.* 2010)

Ce type de procédé a été utilise avec beaucoup de succès sur l'effluent laitier utilisé dans cette étude (Nadais *et al.* 2010)

### III. Piles à combustibles :

Une pile à combustible est un dispositif électrochimique qui fournit de l'électricité à partir de la réaction électrochimique d'un oxydant (le comburant) et d'un réducteur (le combustible) qui sont alimentés en continu dans la pile (Gave 1986, Bagotsky 2006)

En théorie, tous les couples oxydoréducteurs peuvent être utilisés tant qu'ils donnent lieu à un équilibre avec les ions présents dans l'électrolyte (Gave 1986)

Les piles à combustibles ont l'avantage d'avoir un rendement électrique et énergétique plus élevé que celui obtenu avec des machines thermiques classiques (Gave 1986) aussi, les émissions de gaz nocifs sont faibles (Novel-Cattin 2000).

Afin d'expliquer le principe de fonctionnement des piles à combustibles nous allons prendre comme exemple la pile hydrogène/oxygène.

Dans ce type de piles, le combustible est l'hydrogène ( $H_2$ ) et le comburant l'oxygène ( $O_2$ )

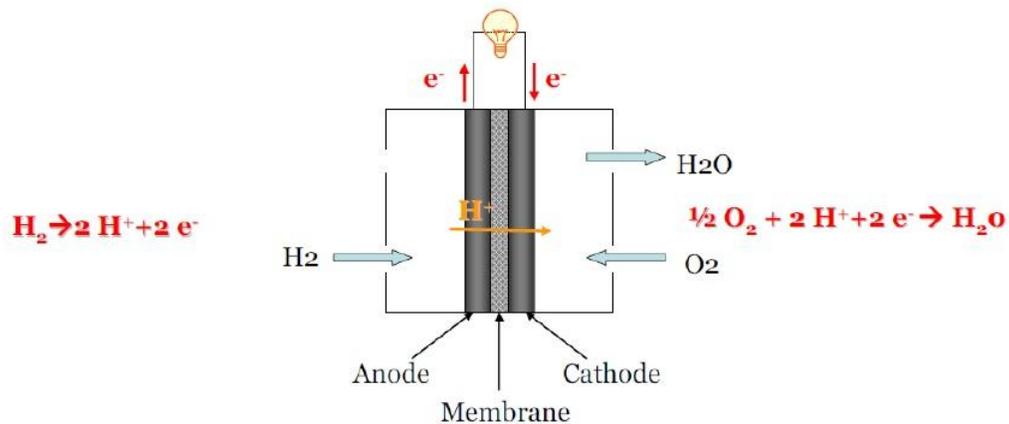
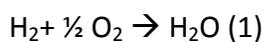


Figure 1: Schéma du principe de fonctionnement d'une pile à hydrogène

La réaction chimique globale associée à cette transformation est la combustion de l'hydrogène dans l'oxygène :

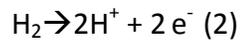


Deux réactions vont avoir lieu :

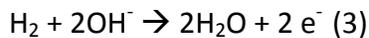
L'oxydation électrochimique de l'hydrogène qui s'effectue à une anode constituée d'un matériau catalytique conducteur, qui est généralement du noir de platine ou du platine dispersé sur un charbon actif, et qui constitue le pôle négatif de la pile.

La réaction qui a lieu dépend de l'électrolyte utilisé :

Pour un électrolyte acide :

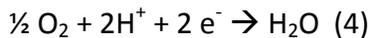


Pour un électrolyte alcalin :

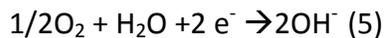


La réduction électrochimique de l'oxygène au niveau d'une cathode catalytique qui contient elle aussi du platine et qui constitue le pôle positif de la pile.

Pour un électrolyte acide :



Pour un électrolyte alcalin



Les électrons transférés lors de ces réactions électrochimiques vont traverser un circuit externe et effectuer un travail électrique.

La force électromotrice (f.e.m) de la pile est définie comme étant égale à la différence des potentiels de la cathode et de l'anode et est généralement notée E

$$E = E_c - E_a \quad (6) \quad (\text{Les indices c et a correspondent respectivement à la cathode et à l'anode})$$

Le potentiel d'électrode est quant à lui défini comme étant la différence de potentiel à l'interface électrode/électrolyte correspondante.

Ainsi, pour la réaction électrochimique :

$\text{A} + n\text{e}^- \leftrightarrow \text{B} \quad (7)$  ou A et B sont les espèces régissantes, le potentiel d'électrode se calcule par la loi de Nernst, soit :

$$E_{A/B} = E_{A/B}^0 + (RT/nF)\ln(a_A/a_B) \quad (8)$$

Avec $E_{A/B}^0$	potentiel standard mesuré par rapport à l'électrode standard à hydrogène de potentiel d'électrode nul à 25 °C
$a_A, a_B$	activités de A et B
R	Constante molaire des gaz
T	température thermodynamique

$E^0$  étant le potentiel d'équilibre standard des demi-réactions. La quantité théorique de travail ( $W_u$ ) qui peut être obtenue dépend de la variation d'enthalpie libre ( $-\Delta G$ ) de la réaction, dans le sens de transformation des réactifs vers les produits à température et pression constantes (Cercado-Quezada 2009).

La quantité théorique de travail peut être exprimée par la différence des potentiels de demi-réactions anodique et cathodique selon l'équation :

$$W_u = -\Delta G = nFE \quad (9)$$

Avec n est le nombre d'électrons transférés par la réaction (ici n = 2), F la constante de Faraday, 96 485 Coulomb/mole et E le potentiel de la demi-réaction.

A partir de la définition de l'enthalpie libre, à pression et température constantes, l'enthalpie libre est corrélée à la variation d'enthalpie ( $\Delta H$ ) et d'entropie ( $\Delta S$ ) par :

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (10)$$

Le rendement d'une pile à combustible est défini comme le rapport de l'énergie électrique qu'elle fournit à l'énergie qui serait générée par la combustion totale du combustible, c'est-à-dire en valeur absolue à l'enthalpie de formation du combustible. Ainsi le rendement maximum s'exprime :

$$\text{Rendement} = \Delta G/\Delta H = 1 - T\Delta S/\Delta H \quad (11)$$

Le rendement théorique peut atteindre 85 à 90%. Néanmoins ces valeurs théoriques ne pourraient être atteintes que lorsque les réactions sont à l'équilibre, c'est-à-dire en l'absence de passage de courant. Les rendements mesurés se trouvent plutôt dans l'intervalle 25 - 70 %. En fonctionnement une pile est le siège de nombreuses irréversibilités qui diminuent son rendement. Au niveau des électrodes, les irréversibilités se traduisent par une différence entre les potentiels d'électrodes (E) et les potentiels d'équilibre des demi-réactions ( $E_{eq}$ ). Cette différence appelée surtension ( $\eta$ ) a deux sources principales: les surtensions d'activation et les surtensions de concentration.

La surtension d'activation correspond à la cinétique du transfert d'électrons au niveau des électrodes. Elle exprime l'écart à l'équilibre qui est nécessaire pour assurer le transfert des électrons du composé qui s'oxyde ou se réduit vers ou depuis le matériau de l'électrode. Ce type de surtension est majoritaire à bas courant. La surtension de concentration est due au transfert

de matière de combustibles ou des produits vers ou provenant des électrodes. La chute ohmique est liée au transport des ions au-travers de l'électrolyte et du séparateur qui est parfois disposé entre compartiments anodique et cathodique. Ces types d'irréversibilités deviennent plus importants aux courants élevés. La Figure 2 montre les trois types de surtension observables sur la courbe de polarisation d'une pile.

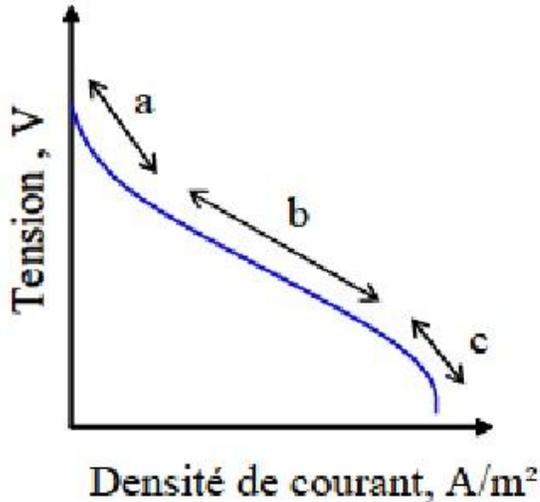


Figure 2: Courbe de polarisation d'une pile à combustible indiquant les trois régions de fonctionnement selon le type de surtension

On peut voir qu'il existe trois zones distinctes sur la courbe de polarisation d'une pile indiquant les trois régions de fonctionnement pour la zone (a) il s'agit de la surtension d'activation, tandis que la zone (b) correspond à la chute ohmique, et enfin la zone (c) montre la surtension de concentration.

Pour qu'une pile débite, le potentiel de la cathode ( $E_c$ ) doit être supérieur à celui de l'anode ( $E_a$ ), et donc on a la relation qui donne la tension de la pile ( $U$ )

$$U = E_c - E_a - \text{chute ohmique} \quad (12)$$

En termes de potentiels d'équilibre et de surtension l'équation s'écrit :

$$U = (E^{\circ}eqc - \eta c) - (E^{\circ}eqa - \eta a) - \text{chute ohmique} \quad (13)$$

La Figure suivante représente les courbes de polarisation de l'anode et de la cathode pour une pile qui débite avec un courant  $I = I_a = -I_c$  et pour laquelle on néglige la chute ohmique. Pour l'anode, le potentiel déterminé à courant zéro ( $I = 0$ ) est indiqué par  $E_a(I=0)$  et la surtension par  $\eta_a$ . Les mêmes notations s'appliquent à la cathode. Il est évident sur ce schéma que plus les courbes seront écartées meilleure sera la tension délivrée par la pile.

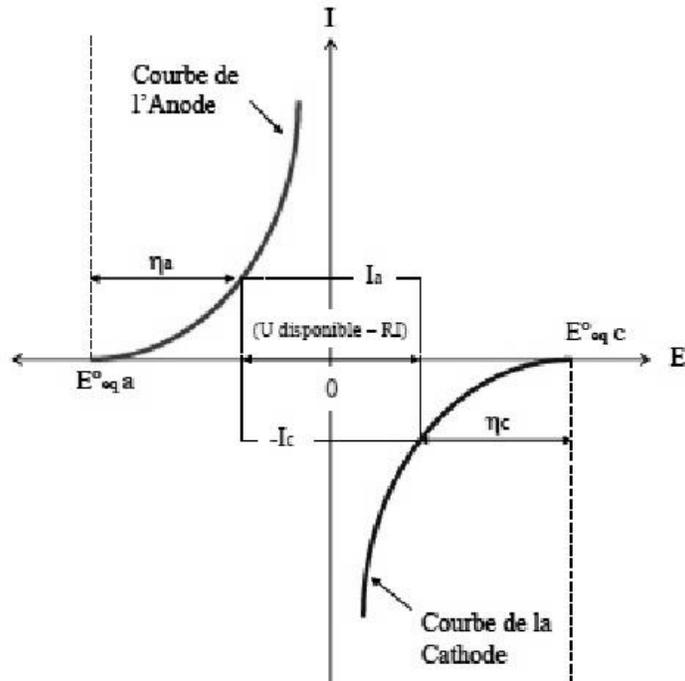


Figure 3: Allure des courbes de polarisation « intensité-potentiel » de l’anode et de la cathode d’une pile

Il existe plusieurs familles de piles à combustibles qui sont résumées dans le tableau suivant, nous allons nous intéresser dans le cadre de notre travail à un seul type de pile à combustible : les piles à combustibles microbiennes.

Tableau 2 : Différentes filières de piles à combustibles (Novel-Cattin 2000)

Tableau 1 – Différentes filières de piles à combustible					
Sigle	Appellation	Électrolyte	Température de fonctionnement (°C)	Niveau d’avancement (puissance électrique)	Industrialisation
SOFC	Pile à combustible à oxyde solide (Solid Oxide Fuel Cell)	ZrO <sub>2</sub> - Y <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	700 à 1 000	prototype (100 kW)	2006
MCFC	Pile à combustible à carbonate fondu (Molten Carbonate Fuel Cell)	Li <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> /K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	650	prototype (2 MW)	2008
PAFC	Pile à combustible à acide phosphorique (Phosphoric Acid Fuel Cell)	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	200	série précommerciale (200 kW)	-
PEMFC	Pile à combustible à membrane (Proton Exchange Membrane Fuel Cell)	Polymère conducteur protonique	90	prototype (250 kW)	2002
DMFC	Piles à combustible au méthanol direct (Direct Methanol Fuel Cell)	Polymère conducteur protonique	60-90	recherche et développement	2015
AFC	Pile à combustible alcaline (Alkaline Fuel Cell)	KOH	80	prototype (10 kW) et production unitaire	2002

## **IV. Piles à combustibles microbiennes :**

Les piles à combustibles microbiennes (PACM) sont des piles à combustibles particulières, elles permettent la conversion directe de l'énergie chimique contenue dans un carburant en énergie électrique. La différence entre les piles à combustibles microbiennes et les piles à combustibles chimiques est que les réactions sont catalysées par des microorganismes vivants ou des biomolécules tel que des enzymes. (Bennetto et al. 1985)

Dans ce chapitre nous allons voir comment fonctionnent les PACM en rappelant quelques notions de métabolisme et comment certains microorganismes sont capables de produire de l'électricité dans ces dispositifs. Nous verrons également quels sont les constituants des PACM et les différentes configurations de celles-ci.

### **IV.1. Historique :**

Un des premiers phénomènes de bioélectricité a été décrit par H.C.Potter en 1910 qui avait utilisé *Escherichia coli* et *Saccharomyces* avec des électrodes en platine pour produire de l'électricité à partir du glucose, les puissances générées étaient trop faibles pour susciter un quelconque intérêt (Potter 1912). Ainsi très peu d'études ont été réalisées dans ce domaine dans les années qui suivent (Lewis 1966)

Au début des années 1990 il a été découvert que l'addition de médiateurs d'électrons dans la biopile pouvait augmenter les densités de courant et les puissances générées (Allen et Bennetto, 1993). Les médiateurs introduits dans le milieu permettent d'accélérer le transfert des électrons de l'intérieur de la cellule vers l'électrode en traversant la membrane lipidique et la paroi de peptidoglycane et de lipopolysaccharides qui sont non conducteurs (Allen et Bennetto 1993, Davis et Higson, 2007).

Bien qu'étant intéressants, ces résultats n'ont pas permis aux piles à combustible microbiennes de trouver d'applications, en effet, la nécessité d'utiliser des médiateurs qui devaient être rajoutés au milieu limitait l'intérêt économique de ce dispositif. Aussi la plupart des médiateurs utilisés étaient instables et toxiques (Park et Zeikus 2000 ; Tokuji et Kenji 2003 ; Vega et Fernandez 1987 ; Allen et Bennetto 1993)

Ce n'est qu'en 1999 qu'il a été démontré qu'il n'était pas nécessaire de rajouter des médiateurs pour permettre la génération d'électricité (Kim et al 1999a, Kim et al 1999b)

Cette dernière découverte a relancé l'intérêt pour les piles à combustibles microbiennes. Les premières piles utilisaient des substrats simples tel que l'acétate ou le glucose (Rabaey et al. 2003, Xia et al. 2010) qui sont utiles pour étudier le fonctionnement des piles à l'échelle du

laboratoire mais qui rendent leur application relativement coûteuse, c'est en 2004 que Logan propose d'utiliser des eaux usées comme combustibles, ainsi les piles à combustibles microbiennes auront deux fonctions principales qui sont la dépollution de l'eau usée et la production d'électricité.

## **IV.2. Principe de fonctionnement :**

Comme les piles à combustibles chimiques, les PACM sont composées de deux compartiments, un compartiment anodique qui contient le biocatalyseur et dans lequel se déroule l'oxydation du combustible et un compartiment cathodique où se déroule la réduction d'un comburant (qui est en général l'oxygène pour des raisons pratiques et économiques)

Dans le compartiment anodique des microorganismes vont dégrader la matière organique (le combustible), ou plus précisément l'oxyder, les électrons produits vont traverser une série d'enzymes respiratoires à l'intérieur de la membrane de la cellule ce qui permet la production d'énergie sous forme d'ATP. Les électrons sont ensuite cédés à un accepteur final d'électrons (Bennetto et al. 1985, Logan 2008)

En aérobiose, pour les microorganismes aérobies capables de respirer en présence d'oxygène, l'accepteur final d'électrons est l'oxygène. Les paragraphes suivants résument le processus de production d'énergie par les microorganismes en présence d'oxygène.

Dans un premier temps le substrat (combustible dans les piles) est oxydé, pour le glucose par exemple, il y a une première étape, la glycolyse durant laquelle le glucose est dégradé en pyruvate. Durant cette première étape il y a production de deux molécules d'ATP et deux molécules de NADH,H<sup>+</sup> (Prescott 2002).

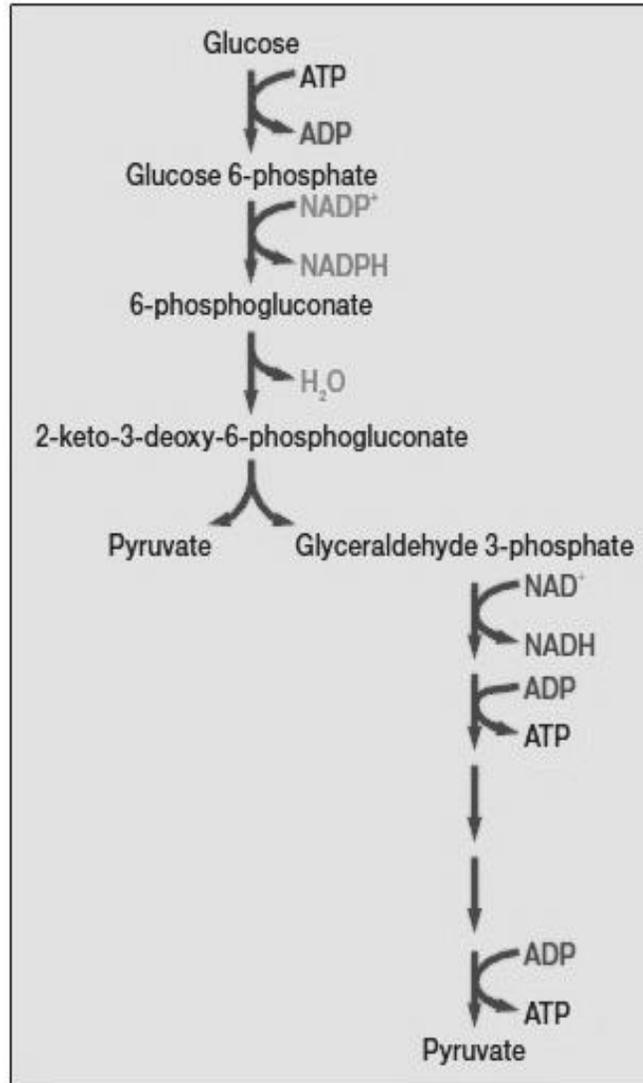


Figure 4: Schéma de la glycolyse (Prescott 2000)

Le pyruvate va ensuite entrer dans le cycle de Krebs, il sera oxydé en  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{O}$ , durant cette étape il y a production de trois  $\text{NADH, H}^+$  deux  $\text{FADH}$  et un  $\text{GTP}$  par molécule de pyruvate (Prescott 2002).

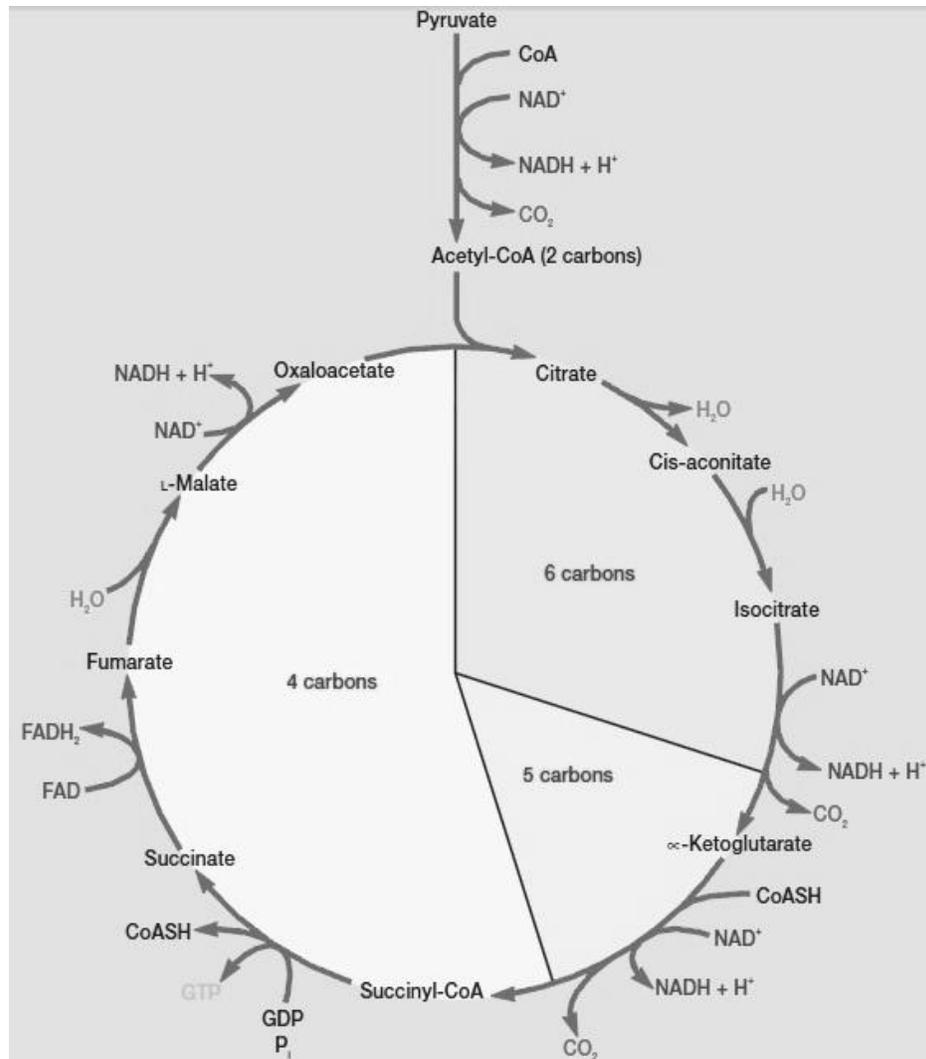


Figure 5: Schéma du cycle de Krebs

La plus importante quantité d'énergie est générée sous forme d'ATP dans une dernière étape, la phosphorylation oxydative, durant laquelle les  $\text{NADH} + \text{H}^+$  et  $\text{FADH}_2$  seront oxydés en cédant les électrons aux protéines de la chaîne respiratoire qui se trouvent dans la membrane. Ces électrons vont traverser les différentes protéines de cette chaîne respiratoire, fournissant l'énergie nécessaire pour pomper des protons dans l'espace inter membranaire, le gradient de protons va à son tour fournir l'énergie nécessaire pour produire de l'ATP (prescott 2002). A la fin de leur parcours, les électrons sont cédés à l'accepteur final d'électrons qui est l'oxygène, celui-ci va réagir avec les protons pour former de l'eau.

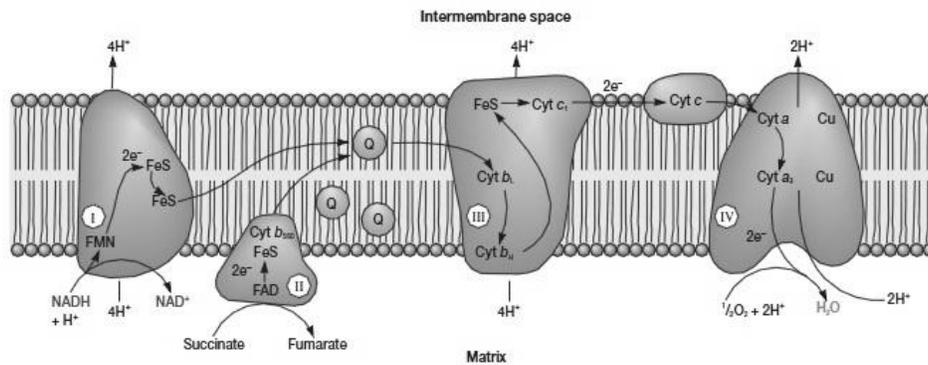


Figure 6: Schéma de la chaîne respiratoire

En absence d'oxygène certains microorganismes sont capables de réaliser une respiration anaérobie et peuvent céder les électrons issus de leur métabolisme à des accepteurs d'électrons tels que le nitrate, le sulfate et le CO<sub>2</sub>.

La respiration anaérobie génère cependant moins d'ATP que la respiration aérobie (Prescott 2002)

Il existe également d'autres microorganismes capables de céder les électrons à des métaux qui ne se trouvent pas en solution (Chang et al. 2006)

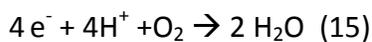
Ces dernières propriétés sont utilisées dans les PACM pour produire de l'électricité, en effet, en absence d'oxygène, les électrons issus du métabolisme énergétique des bactéries sont cédés à l'électrode.

Il est à noter que l'oxydation du substrat s'accompagne généralement de la production de protons et de l'acidification du milieu. Les bactéries sont capables de dégrader une large gamme de substrats différents, la réaction générale est :



Les électrons captés par l'anode vont traverser un circuit externe avant d'atteindre la cathode, ce flux d'électrons est dû à la différence de potentiel entre l'anode et la cathode, les protons quant à eux vont passer du compartiment anodique vers le compartiment cathodique en traversant une membrane échangeuse de protons.

Au niveau de la cathode un comburant est réduit, le plus utilisé est l'oxygène (pour des raisons économiques et pratiques) et la réaction est :



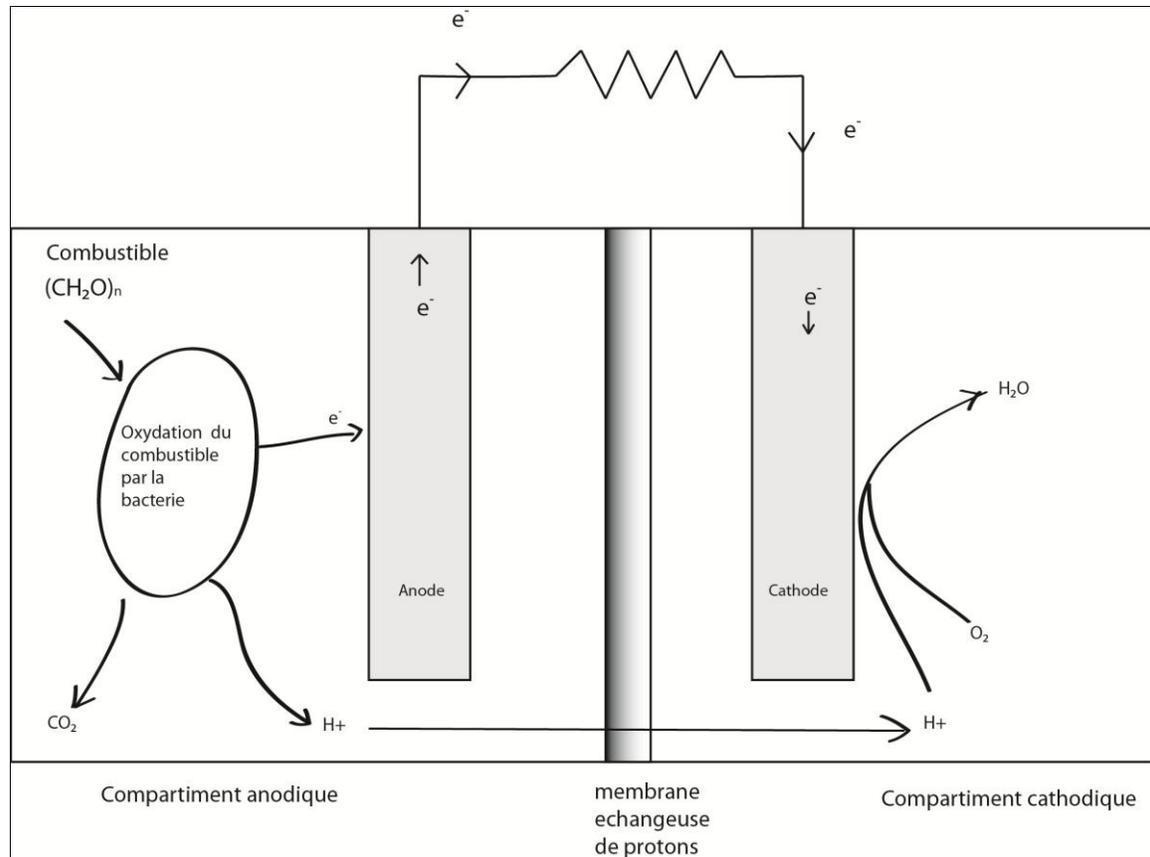


Figure 7: Schéma du principe de fonctionnement des PACM

### IV.3. Microorganismes électroactifs et modes de transfert des électrons :

Les premiers microorganismes qui sont apparus sur terre ont du vivre dans un environnement anoxique et devaient utiliser divers accepteurs finaux d'électrons dans leurs métabolismes énergétiques (Prescott 2002, Logan 2008)

La plupart des microorganismes anaérobies ne sont capables d'utiliser que des accepteurs d'électrons solubles qui peuvent traverser la membrane cellulaire et pénétrer à l'intérieur de la cellule, comme par exemple le sulfate et le nitrate. Les microorganismes qui nous intéressent (dans le cadre des PACM) sont ceux capables de céder ces électrons à une substance qui se trouve dans le milieu extracellulaire (Prescott 2002, Chang et al. 2006, Logan 2008)

Cette propriété est exploitée dans les PACM pour produire de l'énergie électrique.

Différents noms sont donnés à ces microorganismes, bactéries électroactives (Chang et al. 2006), exoelectrogènes (Logan 2008) ou encore anodophiles. Il a été montré qu'il existe un grand nombre d'espèces possédant cette propriété (Logan 2008).

De manière générale, quel que soit le mécanisme considéré, le principe d'électroactivité est toujours le même. La bactérie, en absence de son accepteur final d'électrons naturel utilise pour le remplacer une électrode, de manière directe ou indirecte, participant ainsi à la génération d'un courant électrique (Bond et Lovley, 2003, De Almeida 2010).

Dans ce chapitre nous allons voir les différents mécanismes de transfert des électrons de l'intérieur de la cellule bactérienne vers le milieu extérieur.

Il existe trois modes de transfert possibles, par l'intermédiaire de pili spécialisés aussi appelés nanofils, ou nanowires (Reguera et al. 2005, Du et al. 2007), par contact direct entre la membrane et l'électrode et par l'intermédiaire de médiateurs d'électrons produits par les microorganismes (Rabaey et al. 2005a ; Rabaey et al. 2004).

#### **IV.3.1. Transfert des électrons par l'intermédiaire de pili conducteurs :**

La majorité des informations concernant la production d'électricité dans les PACM et les mécanismes mis en jeu provient de l'étude de deux genres de bactéries métallo réductrices, *Shewanella* et *Geobacter* (Heidelberg et al. 2002, Methe et al. 2003, Gorby et Beveridge 2005, Reguera et al. 2005).

Les travaux de Gorby ont montré l'existence de longs prolongements cellulaires chez ces deux genres, semblables à des pili. Une étude de ces expansions par microscopie à effet tunnel a montré qu'elles étaient capables de conduire l'électricité (Gorby et Beveridge 2005), il en a été conclu que ces pili spécialisés seraient responsables du transport des électrons de la cellule à la surface et ont été nommés « nanowires » ou nanofils (Gorby et al. 2006)

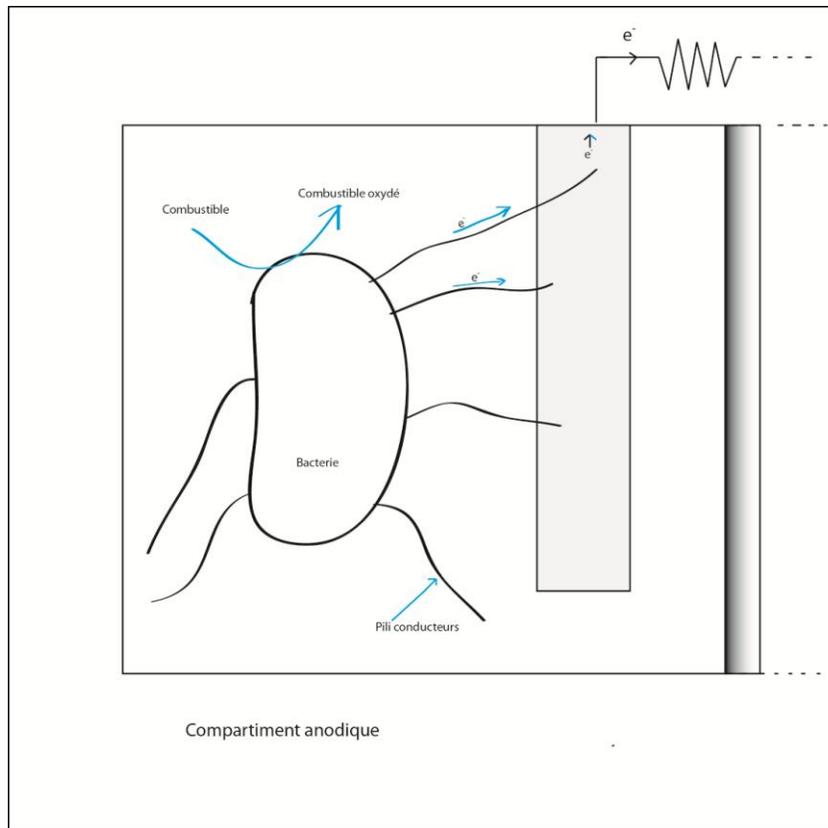
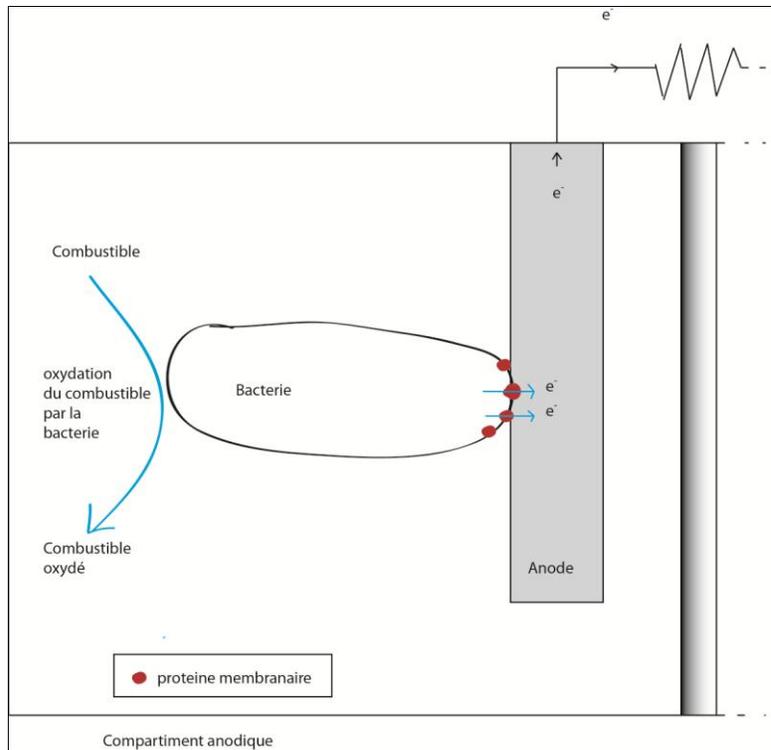


Figure 8: Schéma simplifié du transfert des électrons par l'intermédiaire de pili conducteurs

Le mécanisme de transfert est mal connu mais Gorby *et al.* ont démontré que la présence des cytochromes respiratoires mtrC et omcA était indispensable au transfert d'électrons, les mutants ne possédant pas ces enzymes produisaient des nanofils non conducteurs et étaient incapables de réduire le fer ou produire de l'électricité dans des PACM (Gorby et al. 2006)

#### IV.3.2. Transfert des électrons par contact direct

Les bactéries peuvent transférer les électrons vers une anode sans avoir recours à de long nanofils. Dans ce cas il doit y avoir un contact direct entre la surface de la bactérie et l'anode.



**Figure 9 : Schéma simplifié du mécanisme de transfert des électrons par contact direct, par l'intermédiaire de protéines membranaires**

Le transfert se fait par l'intermédiaire de protéines membranaires tel que les cytochromes.

Chez *G. sulfurreducens*, il a été montré que plusieurs cytochromes de type C situés sur la surface extérieure de la cellule tels que OmcB, OmcS et OmcE, étaient impliqués dans le transfert d'électrons direct vers une électrode ou des oxydes de fer (Holmes *et al.*, 2006; Leang *et al.*, 2003, De Almeida 2010).

La figure suivante présente un modèle de transfert d'électrons à partir du NADH issu de l'oxydation de la matière organique :

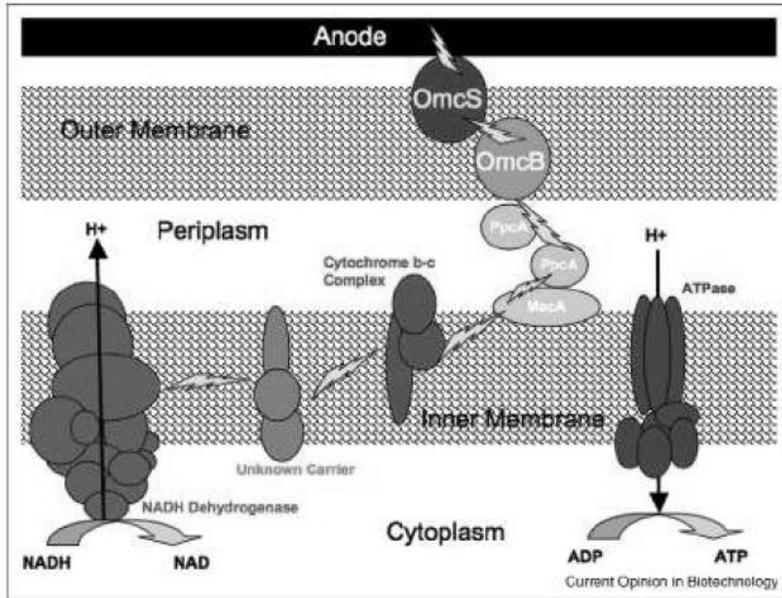


Figure 10 : Modèle du transfert d'électrons chez *Geobacter sulfurreducens* depuis le NADH issu de l'oxydation de matières organiques vers une électrode (Lovley, 2008)

*S. oneidensis* présente également ce type de mécanisme. Il a été montré que certains cytochromes jouaient un rôle clé dans les procédés de génération de courant et de réduction d'oxydes métalliques chez cette bactérie (Bretschger *et al.*, 2007).

#### IV.3.3. Transfert des électrons par l'intermédiaire de médiateurs

Lors des premières expériences réalisées sur les PACM, différents médiateurs chimiques solubles étaient rajoutés au compartiment anodique pour faciliter le transfert des électrons de l'intérieur de la cellule vers l'électrode.

Parmi ces médiateurs exogènes, c'est-à-dire qui ne sont pas synthétisés par les bactéries, les plus utilisés sont le rouge neutre (Park *et al.* 1999), anthraquinone-2,6-disulfonate (AQDS), thionine (Kim *et al.* 2000), ferricyanure de potassium (Bond *et al.* 2002), méthyle viologène (Logan 2004)

La bactérie est capable de réduire le médiateur qui pourra ensuite être reoxydé au contact de l'électrode, ce qui assure le transfert d'électrons entre la bactérie et l'électrode et donc une génération de courant (De Almeida 2010).

L'utilisation de ce type de médiateurs est problématique, la plupart sont toxiques envers les microorganismes et sont relativement coûteux (Akiba *et al.* 1987, Du *et al.* 2007).

Les travaux de Rabaey *et al.* ont démontré qu'il n'était pas nécessaire de rajouter des médiateurs exogènes au milieu (Rabaey et al. 2004, Rabaey et al. 2005a), en effet, certaines molécules produites par les bactéries se comportent comme des médiateurs, celles-ci sont réduites suite à l'activité métabolique des bactéries et sont par la suite oxydées à la surface de l'électrode. Ces molécules peuvent ensuite être réduites à nouveau par les bactéries, ce qui permet un transport d'électrons entre l'intérieur de la cellule bactérienne et l'électrode (De Almeida 2010)

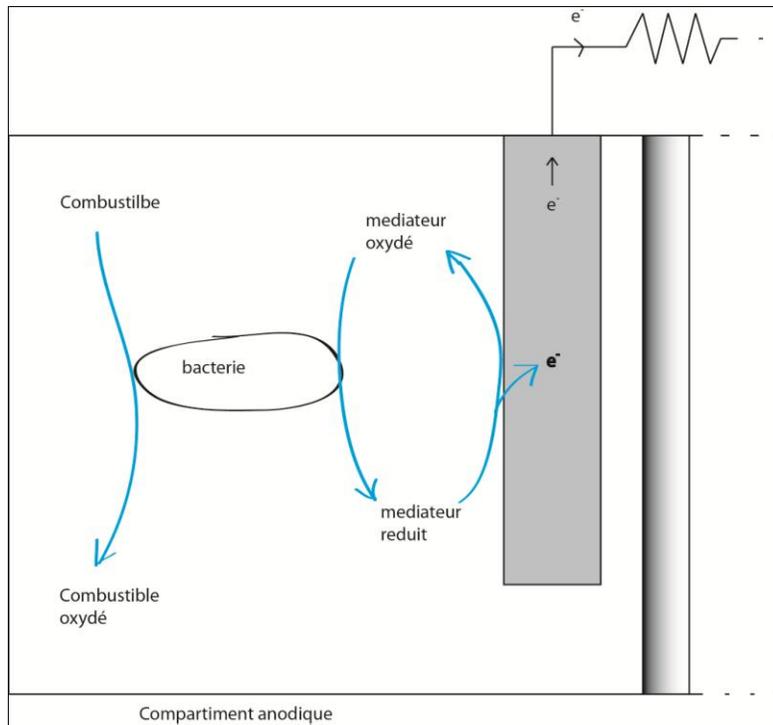


Figure 11: Schéma du transfert des électrons par l'intermédiaire de médiateurs

Certaines de ces molécules ont été identifiées, dans le cas de *Shewanella oneidensis*, il a été découvert que la riboflavine et riboflavine-5'-phosphate étaient impliquées dans le transfert des électrons, en effet, en absence de ces molécules le taux de transfert des électrons baisse de plus de 70% (Marsili *et al.* 2008, Von Canstein *et al.* 2008, De Almeida 2010), aussi, parmi les cellules responsables de la génération de courant dans les PACM à *S.oneidensis* un grand nombre n'est pas fixé à l'électrode, ce qui confirme l'implication de médiateurs solubles (Lanthier *et al.* 2008).

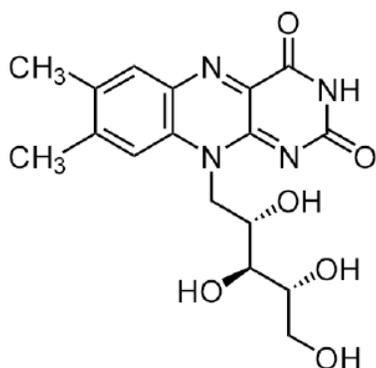


Figure 12: Formule semi-développée de la riboflavine

*Pseudomonas aeruginosa* est également capable de produire de l'électricité dans une PACM par l'intermédiaire de médiateurs endogènes, il a été noté que la pyocyanine et des phenazines sont capables d'assurer le transfert des électrons (Rabaey *et al.* 2004), des mutants incapables de synthétiser ces molécules n'ont pu produire que 5% de la puissance électrique produite par la souche sauvage. L'ajout de pyocyanine permet de restaurer 50% de cette puissance (Rabaey *et al.* 2005)

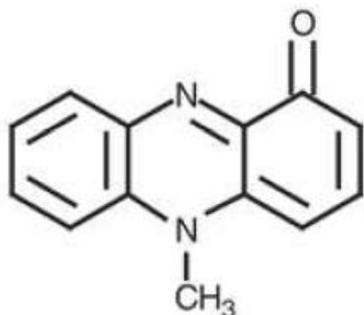


Figure 13 : Formule semi-développée de la molécule de pyocyanine

D'autres bactéries tel que *E.coli* sont capables de transférer des électrons à une anode en produisant des transporteurs d'électrons, le contact entre la bactérie et l'électrode n'est pas nécessaire. Une équipe a pu montrer que couvrir l'électrode d'une membrane avec des pores plus petits que la taille de la bactérie ne changeait pratiquement rien l'efficacité de la pile à combustible (Zhang *et al.*, 2008, De Almeida 2010).

Après analyse du filtrat par GC-MS, trois molécules susceptibles d'être les médiateurs ont été découvertes (Zhang *et al.* 2008, De Almeida 2010) :

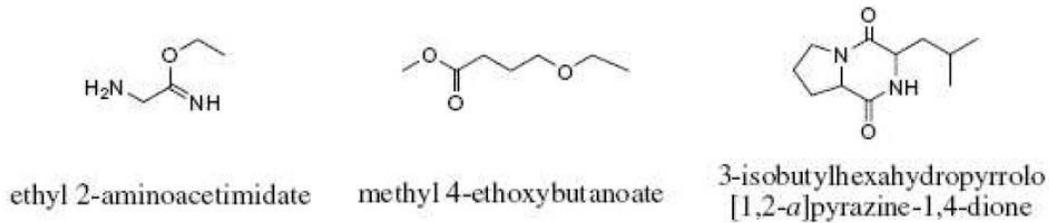


Figure 14 : Formules semi-développées de trois transporteurs d'électrons suspectés dans une pile à combustible microbienne à *E.Coli* (Zhang *et al.*, 2008)

D'autres chercheurs soupçonnent l'implication de dérivés d'hydroquinone (Qiao *et al.*, 2008), le mécanisme impliqué serait entièrement couplé au métabolisme de la cellule.

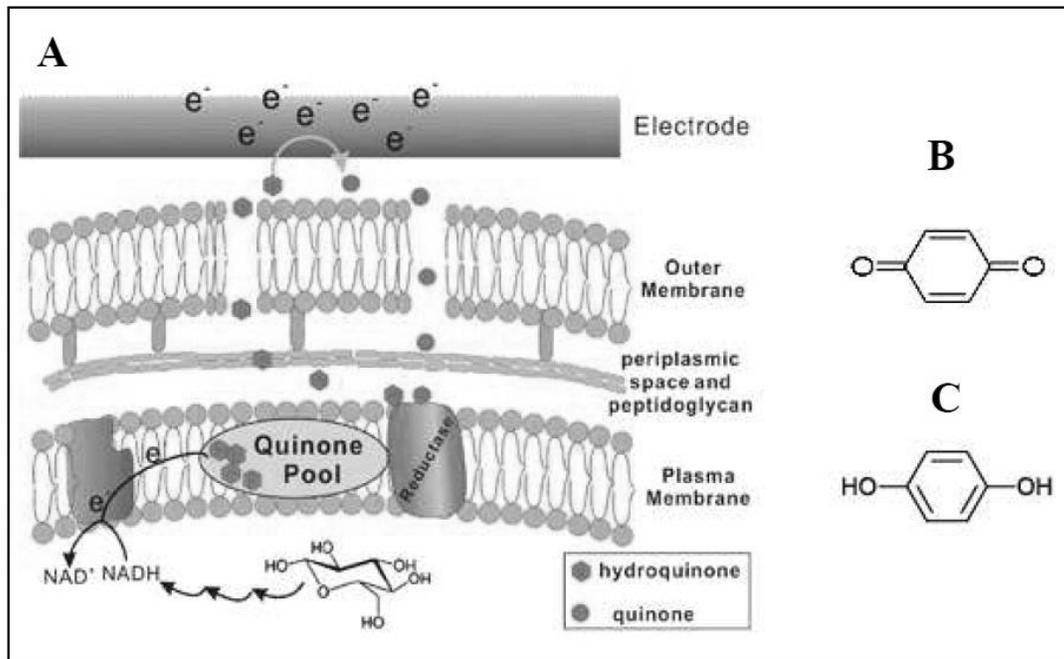


Figure 15 : Mécanisme hypothétique de transfert d'électrons entre *E. coli* et une électrode (Qiao *et al.*, 2008) (A) et formules semi-développées de la quinone (B) et de l'hydroquinone (C)

#### IV.4. Constituants des PACM :

Un des plus grands défis des PACM est celui de trouver des constituants qui maximisent leurs performances tout en minimisant leurs coûts.

Les PACM sont constituées principalement d'une anode, d'une cathode, d'un biocatalyseur, d'un combustible, d'un comburant et dans la plupart des cas une membrane.

#### **IV.4.1. Anode :**

L'anode doit posséder un certain nombre de qualités :

- Elle doit avoir une conductivité élevée, les électrons produits par les bactéries doivent se déplacer du point de génération à la surface de l'anode jusqu'aux câbles qui la connectent au circuit externe, quelques ohms de résistance interne peuvent grandement réduire la production d'électricité.
- Ne doit pas se corroder, ce qui empêche l'utilisation de nombreux métaux
- Doit avoir une surface spécifique élevée.
- Doit être peu coûteuse et facile à fabriquer.
- Biocompatible (elle ne doit pas être toxique envers les bactéries), c'est pour cette raison que des métaux tel que le cuivre ne peuvent être utilisés.

De nombreux matériaux ont été utilisés comme anodes, ils seront décrits dans la partie qui suit.

#### Carbone :

Les électrodes de carbone, sous forme de feuilles, de tissu ou de carbone vitrifié, sont très utilisées à l'échelle du laboratoire. Elles sont bien adaptées à la croissance bactérienne et ont une conductivité élevée.

Les feuilles de carbone ont le désavantage d'être friables et peu flexibles, ce qui limite leur utilisation en dehors du laboratoire. Les tissus de carbone quant à eux sont plus flexibles et ont une porosité plus élevée (Logan 2008)

Le carbone vitrifié a donné d'excellents résultats, mais comme les feuilles de carbone, il est friable (He *et al.* 2005, He *et al.* 2006)

#### Graphite :

Le graphite possède une bonne conductivité et est très utilisé en électrochimie, pour ces raisons, de nombreux chercheurs ont utilisé des électrodes de graphite dans les PACM (Bond *et al.* 2002, Chaudhuri and Loveley 2003, Reimers *et al.* 2006).

Comme pour le carbone, le graphite est utilisé sous différentes formes : tiges, plaques (Chaudhuri and Lovley 2003), granules (Rabaey *et al.* 2005b), fibres et brosses (Logan *et al.* 2007)

#### Polymères conducteurs :

Très peu d'études ont été faites avec des polymères conducteurs, certains ont montré que ceux-ci n'étaient pas aussi efficaces que le carbone ou le graphite (Logan 2008).

### Métaux et revêtements métalliques :

Comme pour les polymères, très peu d'études ont été réalisées en utilisant des anodes métalliques.

#### **IV.4.2. Cathode :**

Les mêmes matériaux sont utilisés pour la cathode, la différence majeure est la nécessité d'utiliser, dans la majorité des cas, des catalyseurs tel que le platine pour accélérer la réaction de réduction de l'oxygène (quand celui-ci est utilisé comme comburant).

Ainsi, des cathodes de carbone avec à leur surface un catalyseur de platine ont été utilisées et ont donné des résultats satisfaisants (Cheng *et al.* 2006), cela étant dit, le cout de ce catalyseur empêcherai l'utilisation des PACM a grande échelle.

D'autres catalyseurs ont été utilisés tel que des métaux non précieux, il a été constaté que des cathodes ferriques ( $Fe^{3+}$ ) pouvaient produire 3.8 fois plus de puissance que des cathodes en graphite pur (Park et Zeikus 2003).

Deux catalyseurs préparés à partir de métaux de transition, le phtalocyanine de fer (FePc) et le cobalt tetramethoxyphenylporphyrin (CoTMPP), ont permis la production de puissances semblables a celles obtenues avec des catalyseurs de platine(Zhao *et al.* 2005, Cheng *et al.* 2006).

La réduction de l'oxygène peut avoir lieu en absence de catalyseur mais à des vitesses beaucoup plus lentes, ce qui limite la production d'électricité par les PACM, mais une augmentation de la surface de la cathode peut augmenter les densités de puissance obtenues (Reimers *et al.* 2006)

#### **IV.4.3. Membrane :**

Dans les piles à hydrogène les membranes échangeuses de protons sont utilisées pour séparer l'oxygène et l'hydrogène, qui sont sous forme gazeuse, et pour permettre aux protons de circuler entre les deux compartiments (Logan 2008).

Dans les PACM l'utilisation d'une membrane n'est pas nécessaire, en effet, l'eau assure le transport des protons.

Il a été montré que des PACM qui ne contenaient pas de membranes produisaient plus d'énergie que celles dans lesquelles une membrane était fixée à la cathode, ce qui suggère que les membranes peuvent entraver la production d'électricité (Liu et Logan 2004).

Les membranes sont surtout utilisées dans les PACM à deux compartiments pour éviter un mélange du contenu du compartiment anodique et celui du compartiment cathodique, elles empêchent le carburant de diffuser vers la cathode et l'oxygène vers l'anode, celui-ci risque

d'inhiber le transfert des électrons à l'anode et réduire le rendement faradique (Liu et Logan 2004, Cercado-Quezada 2009).

En plus de réduire les performances des PACM, en augmentant la résistance interne, les membranes ont le désavantage d'avoir un coût élevé, les membranes Nafion qui sont les plus utilisées dans la recherche coûtent \$1400/m<sup>2</sup> (CMI-7000, Membranes International, Inc.), comme pour les catalyseurs de platine, ceci peut être un frein à l'utilisation des PACM à grande échelle.

Différentes membranes ont été utilisées dans les PACM, des membranes échangeuses de cations (Rozendal *et al.* 2006b), échangeuses d'anions qui permettent le passage de composés tel que le phosphate pour réguler le pH (Kim *et al.* 2007b), membranes bipolaires (Ter Heijne *et al.* 2006) et même des membranes d'ultrafiltration (Kim *et al.* 2007b). Il a été noté dans chaque cas que l'utilisation de la membrane augmentait la résistance interne de la PACM et pouvait limiter leurs performances.

#### **IV.4.4. Anolyte :**

L'anolyte dans les piles microbiennes est composé d'un solvant, habituellement de l'eau, un sel comme électrolyte de base et un système tampon qui stabilise le pH. Des composés carbonés et azotés nécessaires aux fonctions microbiennes sont souvent ajoutés.

Les anolytes bien contrôlés utilisés en laboratoire peuvent être substitués par des effluents domestiques ou industriels dans les recherches sur le traitement des eaux (Cercado-Quezada 2009).

#### **IV.4.5. Catholyte :**

Souvent les cathodes utilisent la réduction de l'oxygène gazeux contenu dans l'air en utilisant des cathodes dites « respirantes ». Dans d'autres cas le catholyte contient un oxydant qui est consommé par la pile, le plus répandu étant l'hexacyanoferrate (Cercado Quezada 2009, Park et Zeikus 2000).

Ce catholyte a permis d'atteindre les densités de puissance les plus élevées (Rabaey *et al.* 2004, Rabaey *et al.* 2003) mais possède un désavantage majeur, il doit être renouvelé régulièrement, en effet, la réduction du ferricyanure forme du ferrocyanure, très difficile à réoxyder par l'oxygène. Ces produits sont toxiques pour l'environnement. Leur utilisation ne constitue qu'une solution de laboratoire. (Park et Zeikus 2000, Rabaey *et al.* 2003).

#### **IV.4.6. Biocatalyseur :**

Les microorganismes sont les acteurs les plus importants dans les PACM, ils sont responsables de l'oxydation du combustible et du transfert des électrons à l'anode, donc de la génération de l'électricité.

Le choix des microorganismes qui seront utilisés pour inoculer la PACM dépendra de son utilisation.

En général des souches pures sont utilisées afin d'étudier les mécanismes de transfert d'électrons et de production d'électricité, comme pour *Geobacter* (Bond et Lovley 2003) et *Shewanella* (Kim et al 2002) et aussi pour identifier des souches électroactives.

Il semble pour l'instant que les souches pures produisent moins d'électricité que les cultures mixtes et consortia (Logan 2008), pour cette raison et aussi pour permettre un usage de combustibles variés, des consortia naturel sont utilisés comme inoculum dans les PACM dont le but est la production d'énergie, les inoculum les plus utilisés sont les boues de stations d'épuration, les effluents domestiques et industriels et les sédiments marins.

Des cultures mixtes qui contiennent certaines souches identifiées comme étant électroactives ont été utilisées comme inoculum, comme par exemple une culture binaire composée de *Geobacter sulfurreducens* et *Clostridium cellulolyticum* (Ren et al. 2008)

Les piles qui seront utilisées dans le cadre de la bioépuration sont inoculées par des boues activées rendues anaérobies par injection d'azote (Lee et al. 2003) ou des boues anaérobies provenant d'un digesteur anaérobie secondaire (Kim et al. 2007).

Les PACM qui utilisent des consortia résistent mieux aux perturbations et modifications du milieu en cours de fonctionnement et peuvent s'adapter à une large gamme de combustibles (Pham et al. 2006)

#### **IV.4.7. Combustible :**

Le combustible doit être un composé biodégradable et non toxique pour les microorganismes. Afin d'étudier les mécanismes impliqués dans la production d'électricité, les premiers combustibles étaient des composés simples de faible poids moléculaire, tel que le glucose (Chaudhury et Lovley 2005, Kim et al. 2000) des acides organiques tels que l'acétate, le propionate, le malate, le lactate et le succinate (Bond & Lovley, 2005; Holmes et al. 2004; Min & Logan, 2004), des alcools comme l'éthanol (Kim et al. 2007), Plus tard, l'intérêt pour les combustibles complexes a conduit à tester de la cellulose, des mélasses, ainsi que de la chitine (Melhuish et al. 2006; Niessen et al. 2005; Rezaei et al. 2007, cercado quezada 2009).

Afin de réduire les coûts des combustibles et pour utiliser les PACM dans le domaine de la bioremediation, des eaux usées domestiques (Liu et al. 2004, Rabaey et al. 2005) et industrielles (Gil et al. 2003 ; Heilmann et Logan 2006 ; Oh et Logan 2005 ; Rabaey et al. 2005) ont été utilisées comme combustibles en donnant des résultats satisfaisants.

## IV.5. Configuration des piles :

Il existe deux types de PACM, les PACM à deux compartiments et les PACM à un compartiment et il existe de nombreuses configurations possibles pour chaque type.

### IV.5.1. PACM à deux compartiments :

Elles sont constituées de deux compartiments séparés par un pont salin ou une membrane qui assurera le transfert ionique entre eux tout en évitant un mélange de leurs contenus, c'est-à-dire empêcher le passage de l'oxygène vers le compartiment anodique et empêcher le passage du carburant vers le compartiment cathodique.

Ces PACM se retrouvent sous différentes formes, la plus simple consiste en deux bouteilles reliées par un tube qui contient une membrane (Logan *et al.* 2005).

Ces types de PACMs fonctionnent en solution aqueuse dans les deux compartiments. Elles génèrent des densités de puissances faibles, car limitées par la résistance interne élevée et des pertes aux électrodes.

Un autre type de PACM à deux compartiments a été élaboré, la « flat plate microbial fuel cell », où PACM plate (Min *et al.* 2004).

La configuration de cette PACM est similaire à celle des piles à hydrogène, elle contient une cathode en tissu de carbone sur laquelle a été fixée une membrane échangeuse de protons de type Nafion contre laquelle est déposée une feuille de papier carbone qui servira d'anode. Cet assemblage électrode-membrane est fixé dans un module « filtre-presse » qui permet une alimentation continue du compartiment anodique, la cathode peut être laissée au contact de l'air.

Dans cette configuration, la surface d'électrode disponible est élevée par rapport au volume du réacteur. De plus, comme les électrodes sont toutes les deux liées à la membrane, la résistance au transfert de matière est faible.

Il existe également des PACM tubulaires à flux ascendant. Une des PACM de ce type qui a été réalisée était constituée d'une anode et d'une cathode en carbone vitreux réticulé, placées de part et d'autre d'une membrane inclinée afin de limiter l'accumulation de bulles (He *et al.* 2005). Dans une autre, le compartiment cathodique est en forme de «U» et est directement inséré dans le compartiment anodique, tous deux constitués de granules de charbon activé. Cette configuration a l'avantage d'avoir une résistance interne faible ( $4\Omega$ ) puisque l'anode et la cathode sont très proches (He *et al.* 2006b).

Les PACM à deux compartiments possèdent généralement des configurations complexes et difficiles à extrapoler à grande échelle.

#### IV.5.2. PACM a un compartiment :

Ces PACM sont constituées d'un seul compartiment dans lequel se trouvent l'anode et la cathode. La cathode est directement en contact avec l'air.

La configuration la plus simple d'une telle PACM est un tube qui représente le compartiment anodique, dans lequel sont placées l'anode et la cathode. Des chercheurs ont construit une telle PACM en utilisant une anode en papier carbone et des cathodes en papier carbone rigide avec et sans membrane échangeuse de protons (Liu et al 2004).

Comme les deux électrodes se trouvent dans le même compartiment, l'oxygène risque de diffuser vers l'anode et inhiber la production d'électricité et diminuer le rendement faradique. La membrane permet de limiter cette diffusion. Il a été démontré que la diffusion de l'oxygène était de 0.05mg/h avec une membrane et 0.187 mg/h sans membrane (Liu et al 2004).

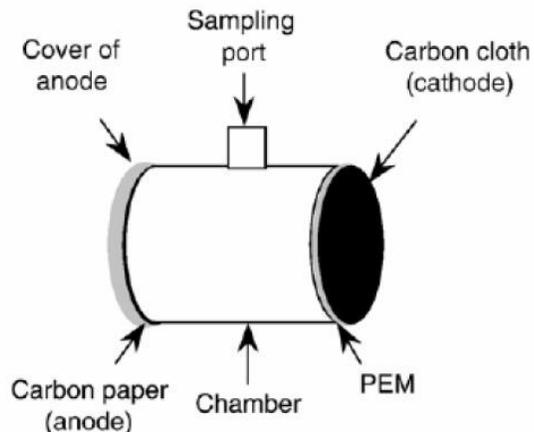


Figure 16: Schéma de la configuration la plus simple où l'anode et la cathode sont placées aux extrémités d'un tube

Ce type de PACM est conçu pour fonctionner en batch, il existe d'autres configurations qui permettent un fonctionnement en flux continu, Rabaey *et al.* (2005b) ont élaboré une PACM tubulaire qui contient une anode granulaire et une cathode qui se trouve à l'extérieur du tube.

Liu et al. (2004) ont mis en place un système où la cathode, formée d'un tube en plastique sur lequel une couche de carbone/platine/PEM est fondue, est placée au centre d'un cylindre en plexiglas, autour de cette cathode sont placés huit barreaux de graphite qui serviront d'anode.

## IV.6. Performances :

Les performances idéales d'une PACM dépendent des réactions électrochimiques qui se déroulent entre le combustible à un potentiel bas et l'accepteur final d'électrons à potentiel élevé (Rabaey et Verstrate 2005), le voltage idéal d'une PACM est difficile à contrôler car les électrons sont transférés à l'anode à travers une chaîne respiratoire complexe et qui est différente en fonction de l'espèce bactérienne et qui est utilisée différemment pour une même bactérie en fonction des conditions opératoires (Du et al ; 2007).

Le fonctionnement des chaînes respiratoires demeure mal compris mais la réaction qui détermine le voltage de la PACM est celle qui se déroule entre le cytochrome final du système, si la bactérie est capable de céder ses électrons par l'intermédiaire de protéines membranaires ou par l'intermédiaire de pili conducteurs, ou le médiateur d'électrons et l'anode (Du et al. 2007). Ainsi, le potentiel de l'anode peut être évalué grâce à l'équation de Nernst en utilisant le rapport entre les cytochromes finaux ou les médiateurs dans leurs états réduits et oxydés.

Le voltage réel des PACM est toujours plus bas que le potentiel calculé, comme pour les piles à combustibles traditionnelles ceci est dû à de nombreuses pertes irréversibles. L'équation suivante décrit ces différentes pertes (Appleby et Fouldes 1989) :

$$V_{PACM} = U_{cathode} - |\eta_{act,c} + \eta_{conc,c}| - U_{anode} - |\eta_{act,a} + \eta_{conc,a}| - iR_i \quad (16)$$

$\eta_{act,c}$  et  $\eta_{act,a}$  représentent les pertes liées à la surtension d'activation dans les compartiments cathodiques et anodiques respectivement, elles sont attribuées à une énergie d'activation qui doit être surmontée. C'est une étape limitant quand la cinétique de réaction à la surface de l'électrode est lente.

Dans les cas des PACM les réactions qui impliquent l'adsorption de réactifs, transfert d'électrons à travers la membrane cellulaire, la désorption de produits et la nature physique de la surface de l'électrode contribuent à la surtension d'activation. Les pili conducteurs de certaines bactéries permettent de réduire cette surtension (Du et al. 2007)

Les réactions cathodiques possèdent également des surtensions d'activation, c'est pour cette raison qu'un catalyseur de platine est souvent employé.

$\eta_{conc,c}$  et  $\eta_{conc,a}$  sont les surtensions de concentration dans les compartiments cathodique et anodique respectivement, elles sont dues à l'impossibilité de maintenir la concentration initiale de substrat en raison des faibles vitesses de transfert de matière pour les réactifs et les produits. Les surtensions cathodiques peuvent être dues à une trop faible concentration d'oxygène dissout.

Les pertes ohmiques ont lieu à cause de la résistance au flux d'ions dans l'électrolyte et au flux d'électrons à travers les électrodes, cette résistance est exprimée par  $R_i$ .

La comparaison entre les performances des différentes PACM réalisées est difficile à cause de la

grande diversité des conditions utilisées dans les différents travaux.

En effet, les conditions opératoires telles que la température, le pH, le type et la concentration du biocatalyseur, le combustible et la configuration du réacteur ont une grande influence sur les performances de la PACM (Liu et al. 2005)

les performances sont habituellement exprimées en densité de puissance (mW/m<sup>2</sup> de surface apparente d'électrode).

Le tableau suivant résume les performances de quelques PACM qui utilisent des effluents comme source de combustibles (Dumas 2009)

**Tableau 3** : Performances de quelques PACM qui utilisent des effluents comme source de combustibles

Combustible	Biocatalyseur	Design de PACM	Performance	Référence
Effluents d'une usine de production d'amidon	Collecté sur une pile en opération pendant 3 années	Deux compartiments	1,35 – 1,5 mA 9 mW/m <sup>2</sup>	Gil et al. 2003
Effluents d'un décanteur primaire	Eau résiduaire urbaine	Un compartiment	26 mW/m <sup>2</sup>	Liu et al. 2004
Amidon Mélasses	<i>C. beijerinckii</i> <i>C. butyricum</i>	Deux piles en série. Ferricyanure comme accepteur d'électrons	14 mW	Niessen et al. 2004
Cellulose	<i>Clostridium cellulolyticum</i> <i>Clostridium theroCELLUM</i>	Cellule électrochimique. Anode à +0,2V vs. Ag/AgCl	10 mA/50 cm <sup>2</sup>	Niessen et al. 2005
Effluents urbains	Effluents urbains	Deux compartiments. Un compartiment.	45 mW/m <sup>2</sup> 261 mW/m <sup>2</sup>	Min et al. 2005
Effluents d'une industrie de céréales. Effluents pré-fermentés.	Anolyte d'une pile microbienne.	Deux compartiments.  Un compartiment.	81 mW/m <sup>2</sup>  371 mW/m <sup>2</sup>	Oh & Logan 2005
Effluents d'un réacteur UASB <sup>a</sup> ajoutés en S et de l'acétate	Effluents du réacteur UASB	Tubulaire. Cathode à air et hexacyanoferrate	101 mW/L NAC <sup>b</sup>	Rabaey et al. 2006
Cellulose Amidon Mélasses	Sol prétraité par hautes températures	Cellule électrochimique. Anode à +0,2V vs. Ag/AgCl	40 mA/L 130 mA/L 200 mA/L	Niessen et al. 2006
Hydrolysat de paille de maïs	Effluents urbains	Un compartiment	933 – 971 mW/m <sup>2</sup>	Zuo et al. 2006
Effluents d'une industrie d'emballage de viande	Effluents urbains Effluents industriels	Un compartiment	80 – 140 mW/m <sup>2</sup>	Heilmann & Logan. 2006
Fumier Lait	Fumier <i>E. coli</i> / Bactéries de yaourt	Sans membrane Avec membrane et médiateur	4 mW/m <sup>2</sup> 13 mW/m <sup>2</sup>	Scott & Murano 2007
Ethanol	Boues anaérobies	Deux compartiments Un compartiment	40 mW/m <sup>2</sup> 488 mW/m <sup>2</sup>	Kim et al. 2007
Cellulose	Microorganismes du rumen de vache	Deux compartiments	48 mW/m <sup>2</sup>	Rismani et al. 2007

#### IV.7. Utilisation des PACM dans le domaine de la bioépuration :

Les eaux usées domestiques et les effluents de l'industrie agroalimentaire contiennent une multitude de composés organique qui peuvent servir de combustibles dans des PACM. Les PACM permettraient de traiter les eaux usées tout en produisant de l'électricité et ceci avec un substrat gratuit à haut potentiel énergétique (Dumas 2000). De nombreux travaux ont permis de démontrer l'efficacité des PACM dans le domaine de la bioépuration (Logan et al. 2005, Ahn et al. 2010, Kiely et al. 2010, Feng et al. 2008), les

performances en matière de bio épuration sont évaluées par rapport au taux d'abattement de la DCO qui avoisinait les 80% en moyenne.

Ainsi, les PACM pourraient remplacer les traitements biologiques actuellement utilisés tel que les traitements par boues activées qui nécessitent une aération continue, donc une consommation d'énergie importante.

## **Chapitre II :**

### **Matériel et méthodes**

## **I. Matériel :**

### **I.1 Millivoltmètre :**

Un millivoltmètre de la marque Metrohm (precision-pH-meter E510) a été utilisé pour réaliser les mesures des voltages.

### **I.2 pH-mètre :**

Un pH-mètre de la marque HANA Instruments a été utilisé pour mesurer le pH.

### **I.3 Balance :**

Une balance Ohaus Adventurer a été utilisée pour réaliser les pesées

### **I.4 Spectrophotomètre :**

Un spectrophotomètre Shimadzu UV-mini 1240 a été utilisé pour réaliser les mesures spectrophotométriques.

### **I.5 Bloc chauffant :**

Un bloc chauffant WTW CR 220 a été utilisé lors de la préparation des échantillons pour la mesure de la DCO.

### **I.6 Conductimètre :**

Un conductimètre de la marque HANA instruments a été utilisé pour mesurer la conductivité

## **II. Matériel utilisé dans la confection des piles :**

### **II.1. Biocatalyseur :**

L'objectif de ce travail de recherche est de confectionner une pile qui servira à réduire la charge organique d'un effluent industriel tout en produisant de l'électricité.

Pour cette raison l'usage d'une souche pure est exclu, en effet, les effluents industriels contiennent souvent des espèces bactériennes qui sont plus adaptées à la dégradation des substrats qui s'y trouvent et risquent de se développer au détriment de la souche pure.

Aussi, les effluents contiennent des substances variées et une souche pure ne sera capable d'en métaboliser qu'une fraction.

Il a également été montré que les cultures mixtes et les consortia sont capables de produire plus d'énergie que les souches pures.

Pour toutes ces raisons, trois types de consortia ont été utilisés : des boues activées, des boues anaérobies et des bactéries sulfatoreductrices.

**Boues activées :**

Les boues activées ont été prélevées au niveau du bassin d'aération de la station d'épuration de Baraki, elles ont été tamisées et lavées. Après décantation des boues, le surnageant est éliminé et les boues sont utilisées pour inoculer les PACM.

L'inoculation s'est faite le jour du prélèvement.

**Boues anaérobies :**

Dans les PACM le processus biologique s'effectue en anaérobiose, pour cette raison l'utilisation de boues déjà anaérobies pourrait être préférable.

Ces boues ont été prélevées au niveau du digesteur anaérobie secondaire de la station d'épuration de Baraki.

Comme pour les boues activées, l'inoculation des PACM s'est faite le jour du prélèvement.

**Bactéries sulfato-reductrices :**

Les BSR sont souvent impliquées dans les phénomènes de biocorrosion et de nombreuses souches ont été identifiées comme étant électroactives (Logan 2008), pour ces raisons des BSR ont été utilisées dans les PACM.

Les BSR ont subi une étape d'enrichissement avant d'être utilisées dans les PACM.

## **II.2. Electrodes :**

**Acier inoxydable :**

Des électrodes en acier inoxydable ont été utilisées, elles possèdent l'avantage d'avoir une excellente conductivité, une bonne résistance mécanique, elles sont biocompatibles et résistent à la corrosion.

La société Cominox a fournis l'acier inoxydable sous forme de feuilles qui ont été découpées pour former des électrodes rectangulaires de 12cm de longueur et 1cm de largeur. Avant leur utilisation, les électrodes on été frottées avec du papier de verre afin d'augmenter leur rugosité et faciliter l'adhésion des microorganismes.

**Graphite :**

Des tiges en graphite ont été utilisées comme électrodes, comme pour l'acier inoxydable leur surface a été frottée avec du papier de verre.

### **II.3. Supports bactériens :**

Pour faciliter le travail en mode continue et éviter des pertes de biomasse, le biocatalyseur a été fixe sur différents supports.

#### **Granules de graphite :**

Des granules de graphite de 1 a 5mm de diamètre, fournis pas la société SNVI, ont été utilisées comme support bactérien. Le graphite est conducteur, il peut donc également servir d'électrode.

Avant leur utilisation, les granules ont été rincés à l'eau distillée .

#### **Charbon actif :**

Le charbon actif est connu pour son pouvoir d'adsorption, son utilisation comme support bactérien dans les biofiltres est bien documenté, de plus, comme pour le graphite, le charbon actif est conducteur, ce qui pourrait permettre aux bactéries de l'utiliser comme anode.

Pour notre étude du charbon actif en grains a été utilisé, il provient de la firme OTV de reference NFEN 12915 avec une surface specifique de l'ordre de 1183 m<sup>2</sup>/g.

#### **Billes de Polyéthylène :**

Comme pour le charbon actif, le polyéthylène est souvent utilisé comme support bactériens dans les biofiltres, la forme régulière des billes de polyéthylène permet de réduire le phénomène de colmatage. Des billes de polyéthylène basse densité de 4mm ont été utilisées, elles ont été fournies par la societe Transpolymer.

### **II.4. Pont Salin :**

Les ponts salins ont été préparés par dissolution de 2g d'Agar-Agar et 10g de nitrate d'ammonium dans 15ml d'eau distillée chaude.

Le mélange a été utilisé pour remplir des tubes de plastic de 15cm de longueur et 7mm de diamètre.

## **II.5. Combustible :**

Le combustible qui a été utilisé dans nos travaux est un effluent de l'industrie laitière, son prélèvement s'est fait au niveau d'une unité de production de lait. Afin de travailler dans des conditions similaires à celles où vont fonctionner les PACM l'effluent n'a subi aucun prétraitement avant son utilisation.

## **II.6. Résistances :**

Pour ce travail des résistances de 1.2kOhm ont été utilisées en raison de leur disponibilité.

Pour mesurer les résistances internes des piles des résistances variables de la marque Tacussel ont été utilisées.

## **III. Techniques utilisées pour la caractérisation de l'effluent :**

### **III.1. Dosage de la demande chimique en oxygène :**

La demande chimique en oxygène représente la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder, dans un certain contexte réactionnel, les substances réductrices ou oxydables contenues dans l'échantillon.

Le dosage de la DCO s'est fait selon la norme canadienne MA.315 DCO 1.0 (CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC, 2006), la matière oxydable contenue dans un échantillon est oxydée par chauffage à reflux en milieu fortement acide avec une quantité connue de bichromate de potassium dans une éprouvette fermée, l'oxydation de l'échantillon provoque un changement de couleur dont l'absorbance à 600nm est proportionnelle à la quantité de bichromate réduit.

### **III.2. Mesure du pH :**

La mesure du pH s'est fait à l'aide d'un pH-mètre (HANNA Instruments, pH 211).

### **III.3. Dosage des nitrites :**

La concentration en nitrite est mesurée selon une méthode colorimétrique basée sur la réaction de Griess optimisée en 1952 par Bendschneider et Ronbinson.

Les nitrites réagissent avec le Sulfanilamide pour former un composé diazoïque qui, après couplage avec le N1 Naphtyléthylènediamine dichloride donne naissance à une coloration rose mesurée à 543nm.

### III.4. Dosage des nitrates :

Les nitrates présents dans l'échantillon sont transformé en dérivés nitro-phenol-sulfoniques colorés à l'aide d'acide sulfophénique.

La coloration est proportionnelle à la concentration des nitrates et est mesurée par spectrophotométrie à 440nm.

### III.5. Mesure de la conductivité :

La conductivité de l'effluent a été mesurée à l'aide d'un conductimètre (HANA Instrument, EC 214).

### III.6. Dosage des phosphates :

En milieu acide et en présence d'heptamolybdate d'ammonium, les orthophosphates donnent un complexe phosphomolybdique qui, réduit par l'acide ascorbique, développent une coloration bleue pouvant être dosée colorimétriquement à une longueur d'onde de 880 nm selon la norme NF EN 1189.

## IV. Dispositif expérimental

Deux types de PACM ont été réalisés, des PACM à culture libre, qui ont servi à comparer l'efficacité des différents biocatalyseurs et des électrodes, et des PACM à biomasse fixée qui ont servi à comparer l'efficacité de l'utilisation de supports pour les bactéries.

### IV.1. PACM à biomasse libre :

La PACM à biomasse libre est constituée d'un compartiment anodique en verre de 500ml, qui contenait 50ml de biocatalyseur et 450ml de combustible (effluent). Le compartiment anodique est hermétiquement fermé afin d'empêcher l'oxygène de pénétrer, une électrode possédant une surface de 20cm<sup>2</sup> a été plongée dans ce compartiment.

Cette étude s'est concentrée sur le compartiment anodique dans lequel se déroule la bioréaction, pour cette raison, le compartiment cathodique était simplement composé d'un récipient en verre contenant de l'eau dans laquelle est plongée une électrode.

Pour des raisons économiques et pratiques des ponts salins ont été utilisés pour relier les compartiments anodiques et cathodiques des PACM. Le but des travaux étant surtout de comparer l'efficacité relative des différents constituants utilisés.

## **IV.2. PACM a biomasse fixée :**

La biomasse est dans un premier temps fixée sur le support (Graphite, charbon actif, ou polyéthylène) par simple mise en contact pendant une semaine.

Le support est ensuite placé dans un tube en plexiglas au fond duquel se trouve une grille qui empêchera le passage du support, et une électrode est placée au centre.

Le compartiment anodique est ensuite hermétiquement fermé et est raccordé à un compartiment cathodique identique à celui utilisé pour les PACM à biomasse libre à l'aide d'un pont salin.

### **Témoins :**

Des PACM témoins ont été réalisées, pour les PACM à biomasse libre le témoin était identique, sauf que le compartiment anodique ne contenait que de l'eau.

Pour les PACM à biomasse fixée le compartiment anodique contenait de l'eau et le support sans biomasse.

## **IV.3. Réacteur aérobie :**

Pour évaluer l'efficacité du traitement anaérobie dans les PACM, un réacteur aéré à boues activées a servi de référence, en effet, les méthodes de traitement biologiques les plus utilisées sont celles qui emploient des boues activées aérées en continues.

Le réacteur était composé d'un récipient en verre qui contenait des boues activées et l'effluent dans les mêmes conditions et proportions que dans les PACM, c'est-à-dire 50ml de boues et 450ml d'effluent.

Une pompe d'aquarium a été utilisée pour aérer le réacteur en continue.

# **V. Méthodes d'analyse et de suivi des performances des piles**

## **V.1. Dosage de la demande chimique en oxygène :**

Le combustible utilisé étant complexe, le suivi de sa consommation ne peut se faire en dosant individuellement ses différents constituants.

Les microorganismes vont dégrader la matière organique présente dans l'effluent et pour évaluer la variation de la concentration de cette matière organique, la DCO a été mesurée, bien

qu'elle ne permette pas le dosage de la matière organique uniquement elle permet d'estimer sa variation.

Aussi le dosage de la DCO nécessite des volumes faibles (2.5ml par échantillon), ce qui permet de suivre ce paramètre durant plusieurs jours sans vider le réacteur.

## **V.2. Mesure de la tension des piles :**

La tension aux bornes des piles est mesurée à l'aide d'un millivoltmètre de la marque Tacussel et d'un multimètre digital en branchant l'anode à la borne COM et la cathode à la borne positive.

## **V.3. Mesure de la puissance des piles :**

Les courants générés dans les PACM sont faibles, pour les mesurer, le millivoltmètre ou le multimètre est utilisé pour mesurer la tension aux bornes d'une résistance branchée à la PACM.

La loi d'Ohm est ensuite utilisée pour calculer l'intensité du courant

$$U = RI \quad (17)$$

U étant la tension mesurée en volt

R la résistance en Ohm

I l'intensité du courant en Ampères

La puissance se calcule ensuite de la façon suivante :

$$P = UI \quad (18)$$

## **V.4. Mesure de la résistance interne des piles :**

La résistance interne des piles a été calculée en utilisant la méthode de la pente de la courbe de polarisation.

Une résistance variable est branchée aux bornes de la PACM et la valeur de la résistance est variée. Les valeurs de la tension pour chaque résistance sont notées et sont utilisées pour calculer les intensités.

La courbe de polarisation de la tension en fonction du courant est ensuite tracée et la pente de la région linéaire de cette courbe correspond à la résistance interne

### V.5. Calcul du rendement faradique :

Le rendement faradique correspond à l'énergie chimique contenue dans le combustible qui est convertie en énergie électrique.

Pour les systèmes qui fonctionnent en batch, le rendement faradique est calculé comme suit :

$$C_E = \frac{M_s \int_0^{t_b} I dt}{F b_{es} v_{An} \Delta c} \quad (19)$$

$C_E$  : est le rendement faradique.

$M_s$  : le poids moléculaire du combustible.

$I$  : l'intensité du courant.

$F$  : la constante de Faraday.

$b_{es}$  : nombre d'électrons impliqués lors de l'oxydation du combustible.

$v_{an}$  : le volume de liquide présent dans le compartiment anodique.

$\Delta c$  : la variation de la concentration de substrat.

Le combustible qui a été utilisé dans notre étude est complexe, pour cette raison, la variation de la DCO sera utilisée à la place de la variation de la concentration du substrat :

$$C_E = \frac{8 \int_0^{t_b} I dt}{F v_{An} \Delta COD} \quad (20)$$

La fonction TRAPZ du logiciel Matlab a été utilisée pour calculer de manière approximative l'intégrale  $\int_0^{t_b} I dt$

## **Chapitre III :**

# **Résultats et discussion**

## I. Caractérisation de l'effluent :

Le tableau suivant résume les caractéristiques de l'effluent laitier utilisé dans notre étude.

**Tableau 4 : Caractéristiques de l'effluent laitier**

	DCO(mg/L d'O <sub>2</sub> )	pH	Conductivité (mS/cm <sup>2</sup> )	Nitrites (mg/L)	Nitrates (mg/L)	Ammoniaque (mg/L)	Phosphates (mg/L)
Rejet	600-800	7.8-9	0.2	3.5	5.7	6.7	17
Norme	120	6.5-8.5	-	-	-	-	-

On constate que la DCO du rejet se situe entre 600 et 800 mg/L d'O<sub>2</sub>, elle dépasse la limite imposée en Algérie pour les rejets industriels, et qui est de 120 mg/L d'O<sub>2</sub>.

Il est donc impératif de traiter cet effluent avant de le rejeter.

Les nitrites et nitrates ont été dosés car ces derniers peuvent être utilisés comme accepteurs d'électrons et risquent ainsi de provoquer une réduction du rendement faradique.

## II. Bioréacteur aérobie :

La consommation de la matière organique dans les PACM a été suivie en mesurant l'évolution de la DCO.

Afin d'estimer les qualités épuratoires des piles, nous allons comparer leur efficacité avec celles d'un réacteur aérobie contenant des boues activées.

Le traitement par boues activées étant la méthode de traitement biologique la plus utilisée actuellement (Moletta et Torrijos 1999).

La figure suivante montre l'évolution de la DCO dans le réacteur aérobie.

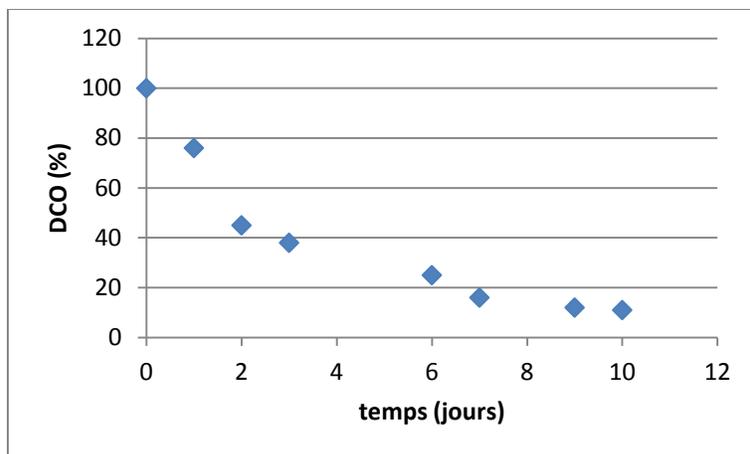


Figure 17: Evolution de la DCO pour le réacteur aérobie

On remarque que la DCO décroît rapidement durant les quatre premiers jours après lesquels la cinétique de dégradation devient plus lente. Ceci peut être expliqué par le fait que les microorganismes dégradent dans un premier temps les substances qui sont facilement biodégradables avant d'utiliser les substances les plus récalcitrantes.

On constate que la DCO est réduite de 50% après trois jours et qu'on atteint un taux d'abattement de 90% après dix jours.

Les performances des réacteurs aérobies à boues activées ont déjà été démontrées (Moletta et Torrijo, 1999), la vitesse d'abattement de la DCO est cependant faible par rapport aux résultats obtenus par d'autres chercheurs, Castillo de Campins (2005) a pu atteindre un taux d'abattement de la DCO de 90% en moins de trois jours en utilisant un réacteur aérobie et un effluent synthétique préparé à partir de lait entier. La différence entre les résultats obtenus peut être due à la nature des effluents utilisés. Dans notre étude, un effluent réel a été utilisé, il contenait en plus des résidus laitiers des agents désinfectants utilisés pour inhiber la prolifération bactériennes dans les installations industrielles, ces substances ont une certaine toxicité envers les bactéries et sont souvent responsables de la réduction des performances des systèmes de traitements biologiques (Nadai et al. 2010).

### III. PACM à biomasse libre :

Dans un premier temps, notre étude s'est portée sur l'influence de la nature du biocatalyseur, ou l'origine des microorganismes sur la production d'énergie dans les PACM, et l'abattement de la DCO dans ces dernières. Cette étape nous permettra de sélectionner le biocatalyseur le plus

adapté, très peu d'études ont comparé les performances de différents biocatalyseurs dans les mêmes conditions de travail.

On s'est ensuite intéressés à l'influence de la nature de l'électrode sur les performances des PACM.

Un témoin ne contenant que de l'eau dans le compartiment anodique a été réalisé, la production d'électricité dans cette PACM était nulle.

### III.1. Influence de la nature du biocatalyseur :

Trois sources de microorganismes ont été utilisées dans nos expériences, des boues activées, des boues anaérobies et des bactéries sulfato-réductrices.

Des PACM contenant des électrodes en acier inoxydable ont été inoculées avec ces microorganismes, des résistances de  $1.2k\Omega$  ont servi à fermer le circuit pour permettre aux PACM de débiter. La DCO et la puissance des piles ont été suivis.

La figure suivante montre l'évolution de la DCO pour trois piles identiques contenant des boues activées :

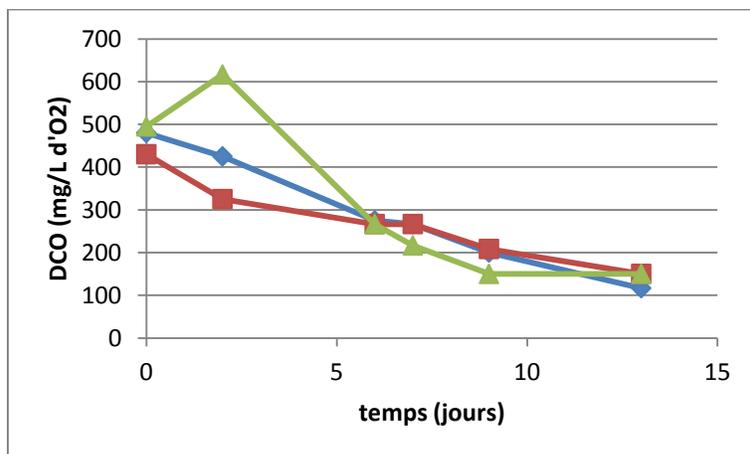


Figure 18: de la DCO au cours du temps pour trois piles identiques contenant des boues activées

On constate qu'il y a un abattement de la DCO qui correspond à la consommation de la matière organique présente dans l'effluent par les microorganismes, l'abattement est quasi linéaire pour les trois PACM.

On remarque qu'un taux d'abattement de 80% est atteint après 14 jours.

La figure suivante montre l'évolution de la DCO pour deux PACM qui contiennent des boues anaérobies.

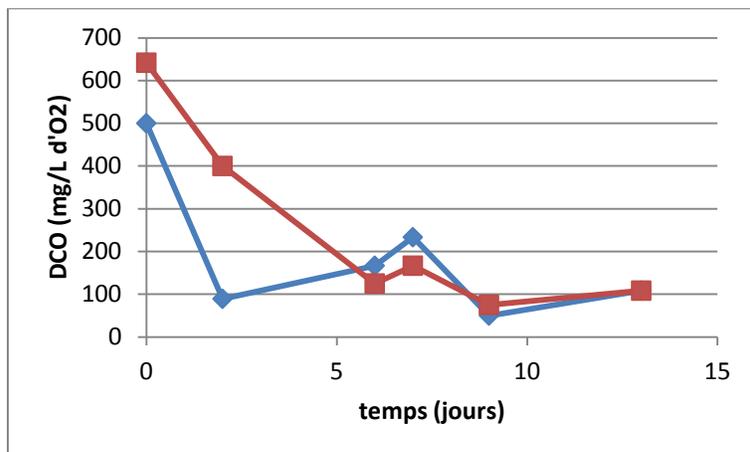


Figure 19: Evolution de la DCO au cours du temps pour deux piles identiques contenant des boues anaérobies

On constate qu'il y a abattement de la DCO, comme pour les PACM qui contiennent des boues activées ceci est dû à la dégradation biologique de la matière organique.

L'abattement de la DCO est relativement rapide durant les 8 premiers jours et plus lent après. L'allure des courbes est similaire à celle obtenue pour les boues activées, ce qui peut être expliqué par la présence de divers composés plus ou moins facilement biodégradables dans l'effluent qui a été utilisé, les sucres sont en général métabolisés rapidement et en premier, ce qui pourrait correspondre à l'abattement rapide des huit premiers jours, les matières grasses et les protéines quant à elles sont plus difficiles à digérer et sont probablement consommées après les sucres, ceci correspondrait à l'abattement plus lent de la DCO après le huitième jour (Nadai et al. 2010).

La figure suivante montre l'évolution de la DCO pour les PACM qui contiennent des BSR :

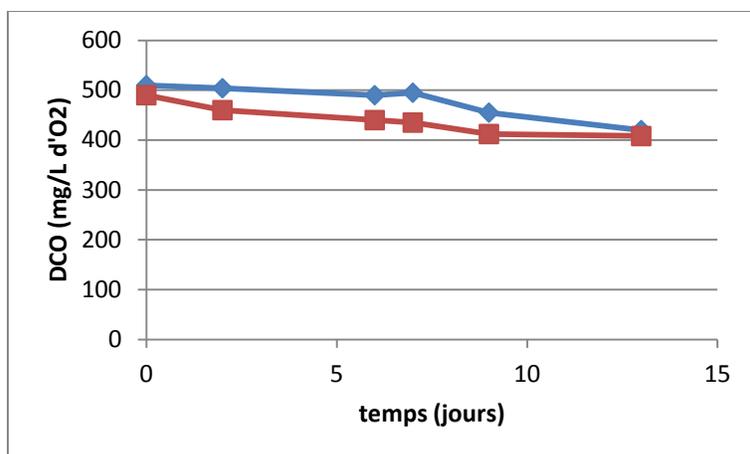


Figure 20: Evolution de la DCO au cours du temps pour des piles contenant des BSR

Contrairement aux boues activées et aux boues anaérobies, les BSR n'ont pas pu dégrader la matière organique présente dans l'effluent, l'abattement est faible, il est inférieur à 18% après 14 jours.

Ce faible abattement de la DCO peut être expliqué par la fragilité des BSR, en effet, ce consortium est composé essentiellement de bactéries anaérobies strictes tel que *Desulfobacter* ou des bactéries aérotolérantes tel que *Desulfomonas* qui sont inhibées par la présence d'oxygène (Garrity 2005), l'effluent a été utilisé sans élimination préalable de l'oxygène dissout, ce qui aurait pu tuer ou inhiber les bactéries présentes.

La figure suivante montre l'évolution de la puissance générée par les PACM qui contiennent des boues activées :

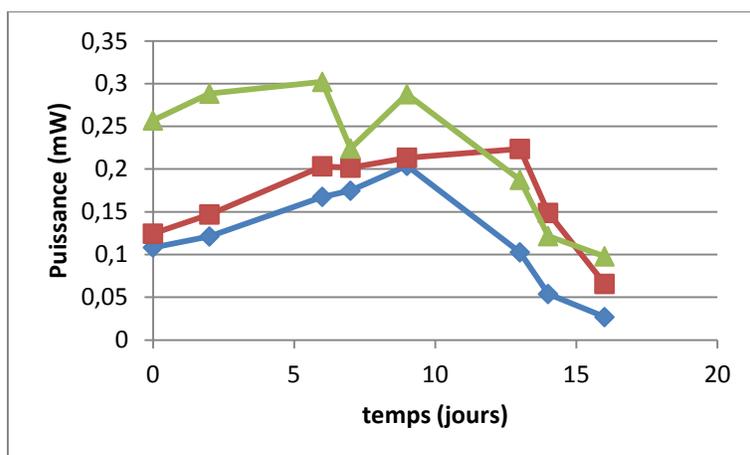


Figure 21: Evolution de la puissance des piles contenant des boues activées

On constate qu'il y a une augmentation de la puissance durant les premiers jours, durant cette période il y a colonisation de l'électrode par les bactéries capables de transférer des électrons par contact direct ou par l'intermédiaire de nanofils et il y a production de médiateurs d'électrons par les microorganismes capables de transférer les électrons de cette façon. L'oxydation de la matière organique présente dans l'effluent par les microorganismes, et qui correspond à un abattement de la DCO, s'accompagne d'un transfert d'électrons à l'anode produisant ainsi de l'énergie (Chaudhuri et Lovley 2003).

Durant les derniers jours il y a une réduction progressive de la puissance, ceci serait dû à une réduction de la quantité de matière biodégradable nécessaire à la survie des microorganismes, il a été montré que la puissance générée par les PACM était liée à la concentration des substrats, dans notre cas la matière biodégradable (Zhang et Halme 1995). Il est cependant difficile d'établir un lien direct entre la DCO et la puissance générée. On constate également sur la figure qu'il existe une assez grande variabilité dans les résultats, ceci est dû aux différences de développement des différentes espèces à l'intérieur de chaque PACM et aux interactions qui pourraient y avoir entre les différentes communautés (Kiely *et al.* 2010).

Ce facteur est difficile à contrôler quand des consortia sont utilisés, ce qui rend la tension et la puissance produite par les piles peu prévisibles.

La figure suivante montre l'évolution de la puissance des PACM inoculées avec des boues anaérobies :

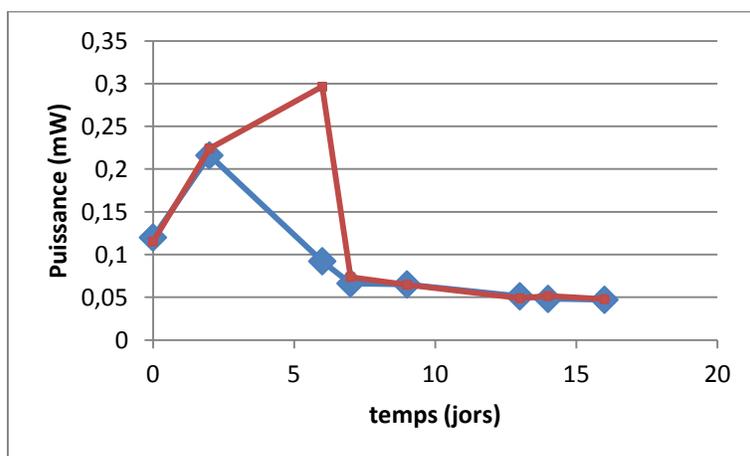


Figure 22: Evolution de la puissance des piles contenant des boues anaérobies

Comme pour les boues activées, il y a une première étape durant laquelle il y a augmentation de la puissance suivie d'une période durant laquelle celle-ci diminue.

Cette évolution peut être interprétée de la même manière que pour les boues activées.

Pour les PACM contenant des BSR les courbes qui décrivent l'évolution de la puissance sont différentes :

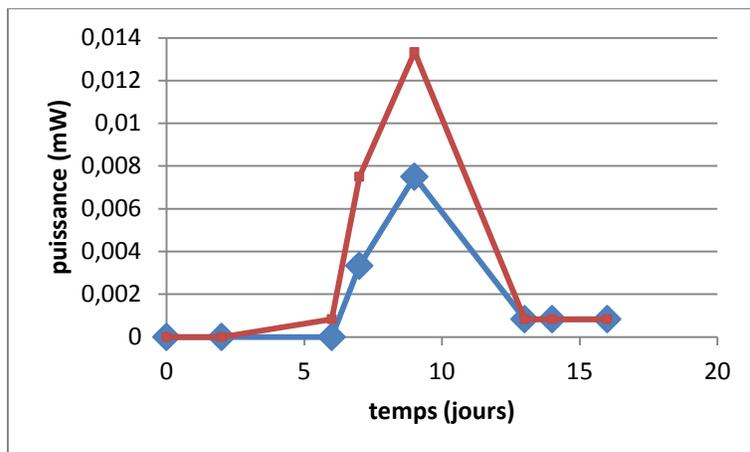


Figure 23: Evolution de la puissance des piles contenant des BSR

On constate qu'il y a une légère augmentation de la puissance générée durant quelques jours suivie d'une décroissance rapide.

La puissance générée est extrêmement faible, ceci peut être expliqué par le fait que la matière organique a été faiblement métabolisée au sein de ces PACM et que le milieu ne permettrait pas la survie des BSR.

Sur la figure suivante, l'évolution moyenne de la DCO pour les trois biocatalyseurs est montrée :

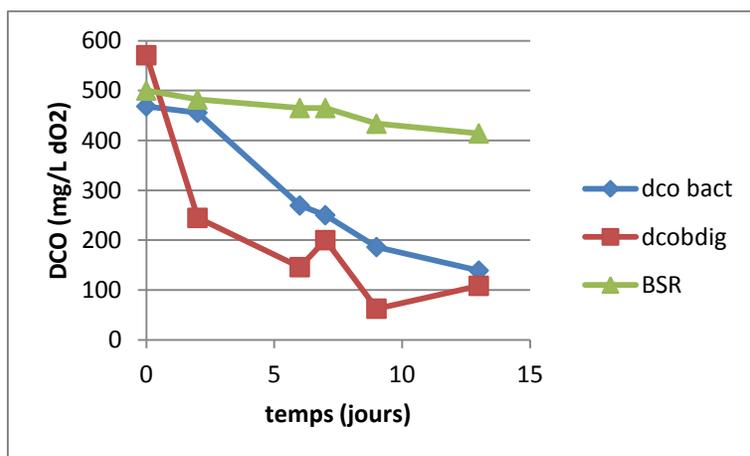


Figure 24: Comparaison de l'abattement de la DCO

On constate qu'il y a un abattement de la DCO plus rapide pour les PACM qui contiennent des boues anaérobies.

Les boues anaérobies contiennent des microorganismes anaérobies stricts et des anaérobies facultatifs, ces microorganismes sont habitués à vivre dans des conditions anoxiques (Aivasidis et Diamantis 2005, O'Flaherty et Collins 2006), tandis que les boues activées contiennent une proportion plus importante de microorganismes aérobies, certains étant des aérobies stricts (Pandolfi 2006), pour cette raison les boues aérobies dégradent la matière organique moins vite en anaérobiose et ce malgré la présence d'une certaine quantité d'oxygène dissout dans l'effluent, ce dernier n'ayant subi aucun prétraitement avant son utilisation.

Les BSR sont anaérobies, pourtant leur dégradation de la matière organique est très faible, comme il a été expliqué plus haut, ceci est probablement dû à la présence d'oxygène dans les PACM ou à l'incapacité des BSR à dégrader les substrats présents.

A présent, observons l'évolution des puissances moyennes des trois types de biocatalyseurs :

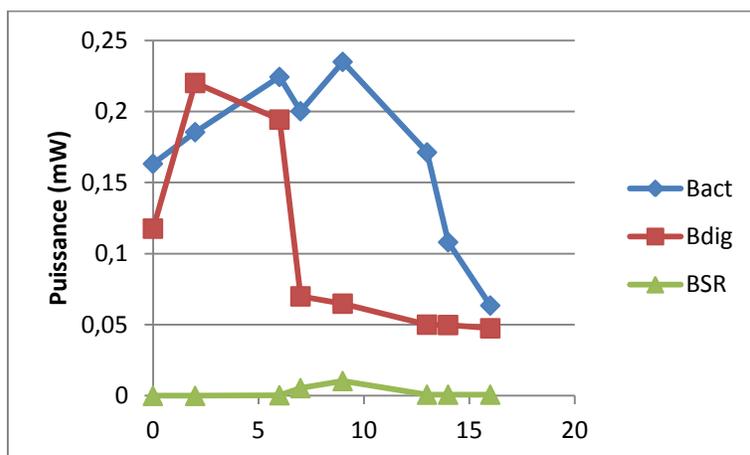


Figure 25: Comparaison de l'évolution des puissances générées

On constate que pour les boues anaérobies l'augmentation de la puissance est plus rapide que pour les boues activées, la décroissance de la puissance est également plus brutale pour les boues anaérobies.

Ces résultats sont cohérents, ces différences sont liées à la vitesse de consommation de la matière organique, en d'autres termes à la vitesse d'abattement de la DCO (Zhang et Halme 1995).

La puissance générée par les BSR quant à elle est négligeable par rapport aux deux autres.

Afin de comparer les performances épuratoires des différents biocatalyseurs, nous allons comparer le taux d'abattement de la DCO après 10 jours et le nombre de jours nécessaires pour atteindre un taux d'abattement de 50% :

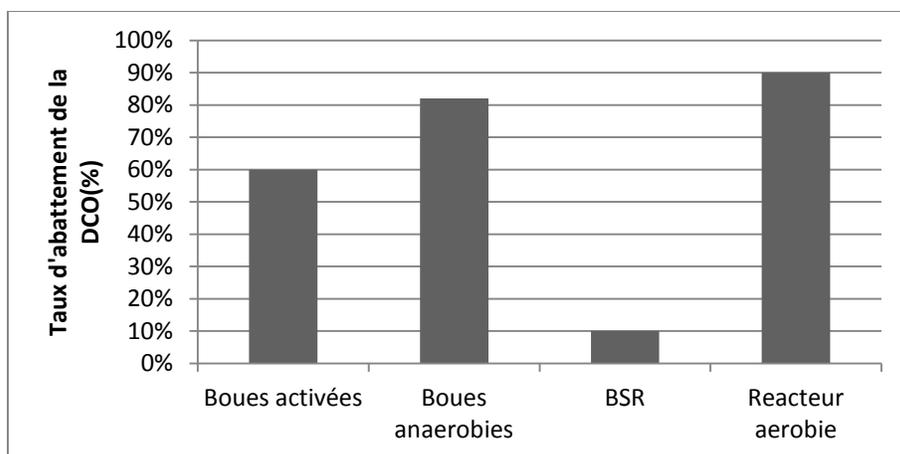


Figure 26: Taux d'abattement de la DCO après 10 jours

D'après cette figure, il est évident que les BSR ne peuvent être utilisés dans les PACM qui utilisent un effluent comme carburant, ou du moins pas un effluent qui n'a subi aucun prétraitement, ce biocatalyseur n'est donc pas adapté aux piles qui serviront à la bioépuration.

On peut également voir que les performances des boues anaérobies s'approchent de celles du réacteur aérobie. Celles des PACM qui contiennent des boues activées sont inférieures de 20% à celles qui contiennent des boues anaérobies, une préacclimatation de ces boues qui favorisera le développement des bactéries anaérobies pourrait améliorer leurs performances.

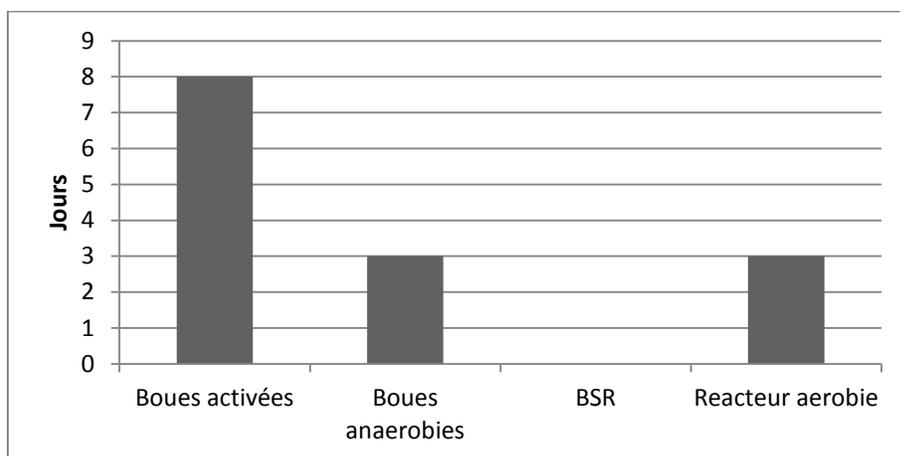


Figure 27: Nombre de jours nécessaires pour atteindre un abattement de la DCO de 50%

On constate qu'il faut seulement 3 jours pour atteindre un taux d'abattement de 50% pour le réacteur aérobie et pour les PACM qui contiennent des boues anaérobies, alors qu'il faut 8 jours pour atteindre un taux d'abattement de 50% pour les PACM qui contiennent des boues activées. Pour les PACM qui contiennent des BSR le taux d'abattement n'a pas dépassé 18% après 17 jours.

Ceci confirme ce qui a été dit précédemment, les boues anaérobies sont plus adaptées à une utilisation dans des PACM dont le rôle est l'épuration d'effluents industriels.

Comparons à présent les puissances maximales atteintes par les différents biocatalyseurs :

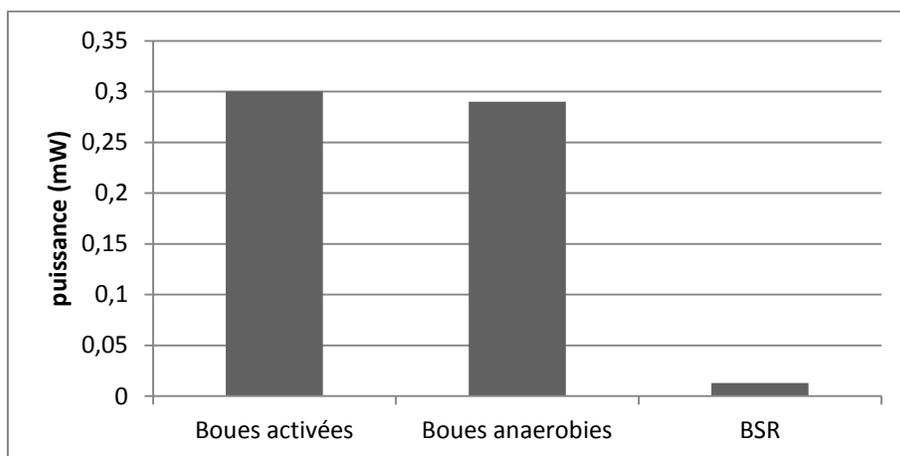


Figure 28: Puissances maximales générées par les piles

On constate que les boues activées et anaérobies sont capables de générer des puissances du même ordre de grandeur.

Ces résultats montrent que les boues activées et les boues anaérobies sont bien adaptées à une utilisation dans des PACM qui seront utilisées dans la bioépuration des effluents industriels, de nombreux chercheurs ont obtenu des résultats similaires, des abattements de 95% ont été obtenus pour des eaux usées de l'industrie alimentaire, 98% pour des eaux contenant de l'amidon (Zhou et al. 2011).

Les puissances maximales générées sont relativement faibles par rapport à celles obtenues dans les autres travaux ou elles dépassent généralement 1mW (Logan 2008), ceci serait dû à la résistance interne des piles qui est excessivement élevée à cause de l'utilisation d'un pont salin pour relier les deux compartiments de la PACM.

### III.2. Effet de la nature de l'électrode :

Dans la partie précédente les PACM contenaient des électrodes en acier inoxydable, nous allons maintenant étudier l'effet de la nature de l'électrode sur les performances des PACM. Dans cette partie des électrodes en graphite ont été utilisées dans les compartiments anodiques, les PACM ont été inoculées avec des boues anaérobies et les électrodes ont été reliées par des résistances de 1.2kΩ. Comme dans le chapitre précédant, la DCO et la puissance générée par les piles ont été suivies.

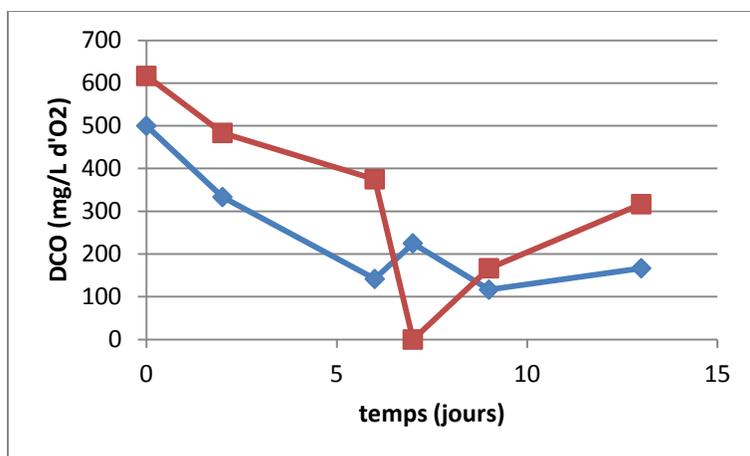


Figure 29: Evolution de la DCO pour des piles contenant des électrodes en graphite

L'évolution de la DCO pour les PACM contenant des électrodes en graphite est similaire à celle observée pour celles qui contenaient des électrodes en acier inoxydable, il y a une diminution rapide durant les premiers jours, suivie d'une période durant laquelle l'abattement est plus lent.

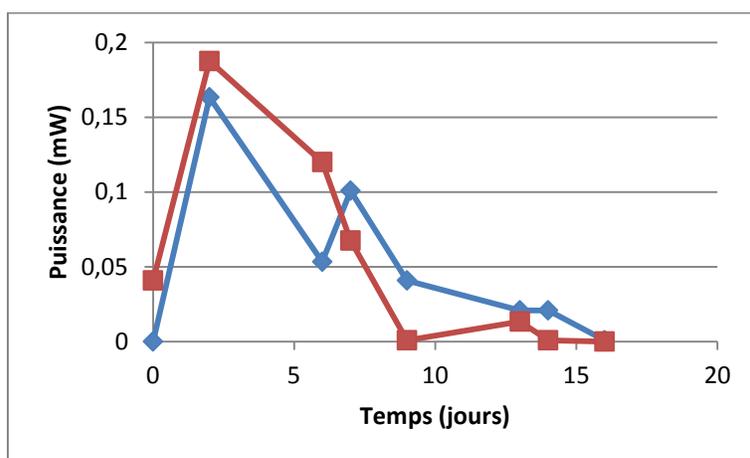
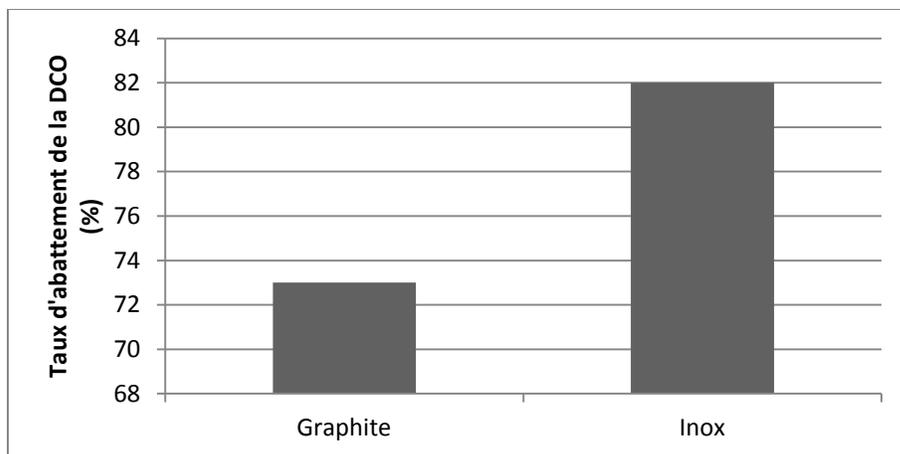


Figure 30: Evolution de la puissance pour des piles contenant des électrodes en graphite

Comme pour l'évolution de la DCO, l'évolution de la puissance est similaire à celle observée pour les PACM contenant des électrodes en acier inoxydable, il y a une augmentation rapide de la puissance durant les premiers jours, suivie d'une diminution progressive.

Même si l'allure de l'abattement de la DCO est similaire pour les piles contenant des électrodes en graphite et des électrodes en acier inoxydable, la comparaison des taux d'abattement moyens pour les deux types de PACM, qui sont mis en évidence sur la figure suivante, montre que la nature de l'électrode peut avoir une influence sur le taux d'abattement de la DCO.

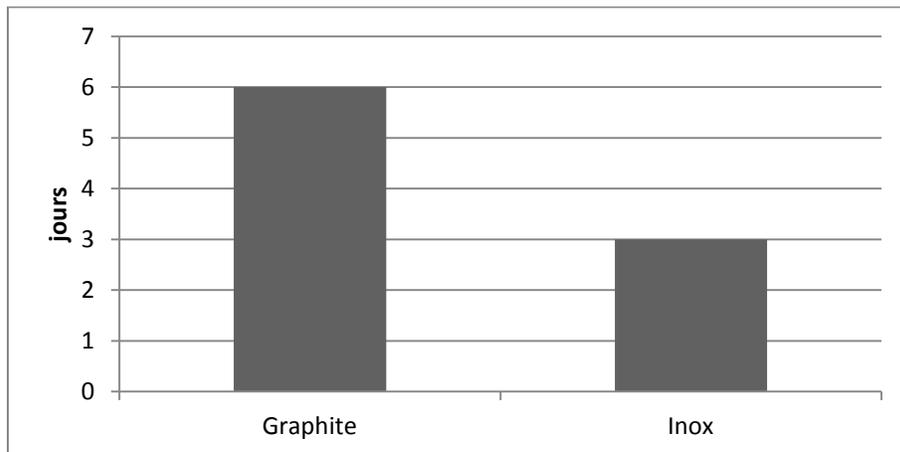


**Figure 31: Comparaison du taux d'abattement de la DCO après 10 jours pour les PACM contenant une électrode en graphite et celles qui en contiennent une en acier inoxydable**

Le taux d'abattement de la DCO après 10 jours est de 82% pour les PACM contenant une électrode en acier inoxydable et 73% pour celles qui en contiennent une en graphite.

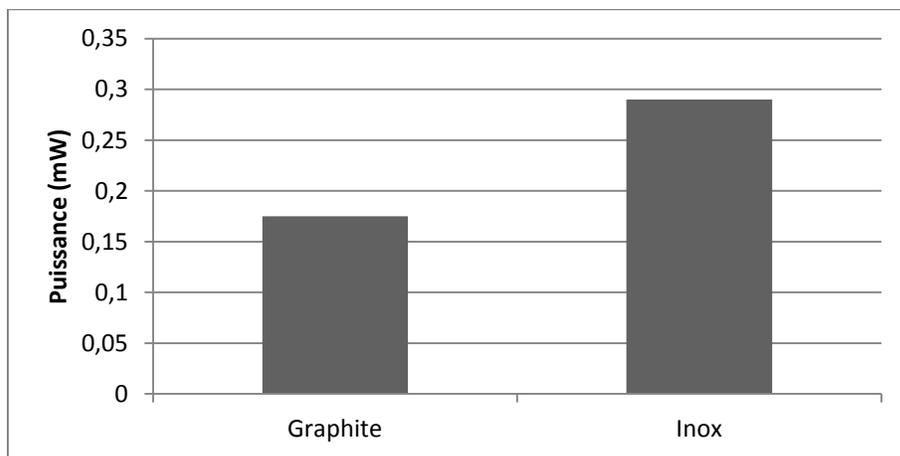
Ce résultat peut indiquer que l'électrode en acier inoxydable est plus facilement utilisée comme accepteur final d'électrons pour les bactéries présentes dans les PACM. En effet, la production d'électricité est liée au métabolisme bactérien, si les microorganismes sont incapables de céder les électrons à un accepteur final, par exemple lorsque la résistance qui relie les électrodes est déconnectée et que le circuit est ouvert, un ralentissement de la dégradation du substrat est observé (Katuri *et al.* 2010).

Pour les mêmes raisons, 6 jours sont nécessaires pour dégrader 50% de la DCO pour les piles qui contiennent du graphite et seulement 3 pour celles qui contiennent de l'acier inoxydables.



**Figure 32: nombre de jours nécessaires pour atteindre un taux d'abattement de 50%**

Après avoir comparé l'abattement de la DCO dans les deux PACM, il n'est pas surprenant de voir que les puissances maximales générées par celles qui contiennent des électrodes en acier inoxydable sont supérieures.



**Figure 33: Comparaison des puissances maximales des piles contenant des électrodes en inox et des électrodes en graphite**

Avec des électrodes en acier inoxydable des puissances maximales de 0.29 mW ont été obtenues, alors qu'avec des électrodes en graphite on a obtenu seulement 0.175mW.

Ceci serait dû à la capacité des électrodes à être utilisées comme accepteurs d'électrons, il semble que l'électrode en acier inoxydable est utilisée avec plus de facilité par les bactéries. Les raisons pour lesquels l'électrode en acier inoxydable a de meilleures performances demeurent inconnues, l'électrode en graphite possède une surface plus rugueuse que celle de l'acier inoxydable et offre une meilleure surface pour permettre le développement d'un biofilm, ce qui se traduirait par une production d'électricité plus élevée. Ces résultats indiquent aussi que le mode de transfert des électrons pourrait se faire essentiellement par l'intermédiaire de médiateurs synthétisés par les microorganismes.

Nous avons également constaté lors de nos expériences que les électrodes en graphite étaient plus fragiles et plus difficiles à manipuler, un désavantage majeur pour une application à grande échelle.

### **Courbes de polarisation et résistances internes des piles :**

Les courbes de polarisation des PACM contenant des boues activées et des boues anaérobies ont été tracées :

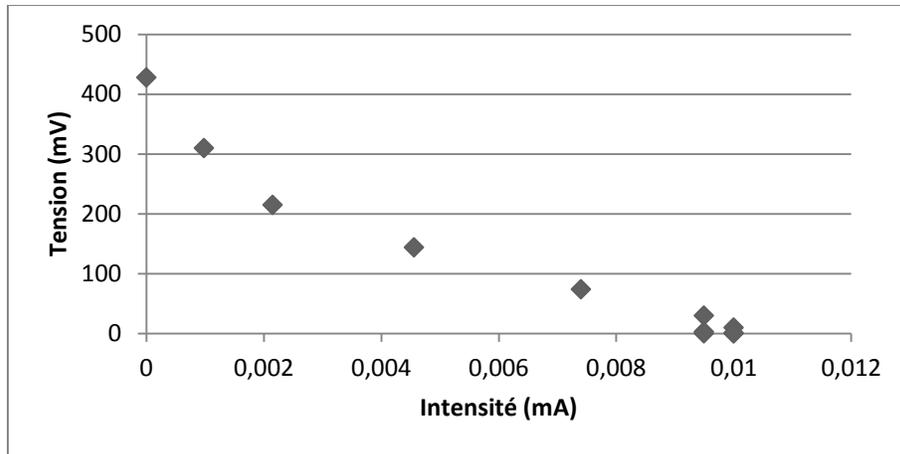


Figure 34: Courbe de polarisation de la PACM qui contient des boues activées

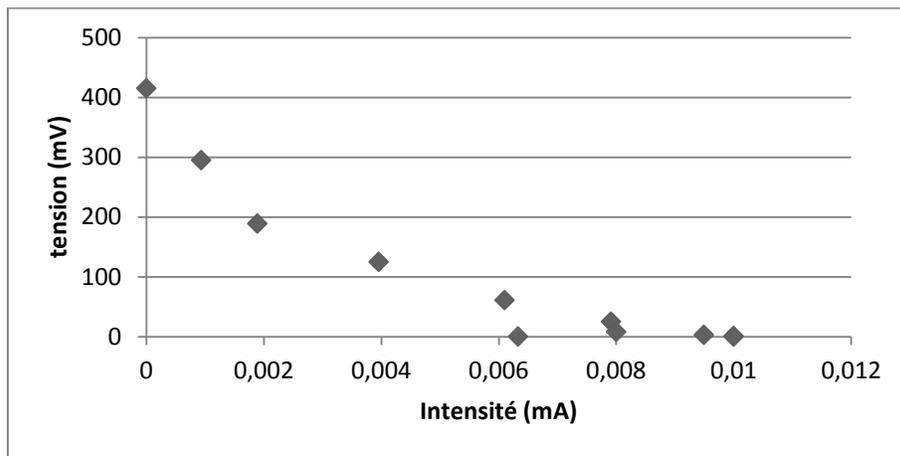


Figure 35: Courbe de polarisation de la PACM qui contient des boues anaérobies

On observe sur ces courbes les trois régions de fonctionnement des PACM, la région centrale, plus ou moins linéaire de ces courbes correspond à la chute ohmique, la pente de cette région correspond à la résistance interne des piles.

Après avoir calculé les pentes nous avons trouvé les résistances internes des PACM qui sont de  $35000\Omega$  pour celles qui contiennent des boues anaérobies et  $30000\Omega$  pour celles qui contiennent des boues activées, ces résistances internes sont très élevées, c'est une conséquence de l'utilisation d'un pont salin pour relier les deux compartiments de la pile ; à titre de comparaison, lorsqu'une membrane est utilisée la résistance interne des piles peut s'élever à  $1300\Omega$  (Kim et al. 2007).

Cette résistance interne limitera la production globale d'énergie par les PACM et explique pourquoi les puissances obtenues sont relativement faibles.

## IV. PACM à biomasse fixée :

Afin de pouvoir travailler en mode continue sans perdre la biomasse il serait intéressant de la fixer sur un support.

Nous avons évalué les performances de trois supports dans les PACM : des granules de graphite, du charbon actif en grains et des billes de polyéthylène basse densité.

Nous avons ensuite étudié l'influence du volume du compartiment anodique.

Comme pour les piles a biomasse libre nous avons suivi la DCO et la puissance générée par les PACM.

Des témoins ne contenant que le support et de l'eau dans le compartiment anodique ont été réalisés, ils n'ont pas produit d'électricité.

### IV.1. Etude de l'influence de la nature du support :

Commençons par l'étude des différents supports sur lesquels des boues activées et des boues anaérobies ont été fixées.

Nous présenterons dans un premier temps les résultats obtenus pour chaque support avant de comparer les taux d'abattement obtenus après 10 jours et les puissances maximales.

#### Granules de graphite :

La figure suivante montre l'évolution de la DCO au cours du temps :

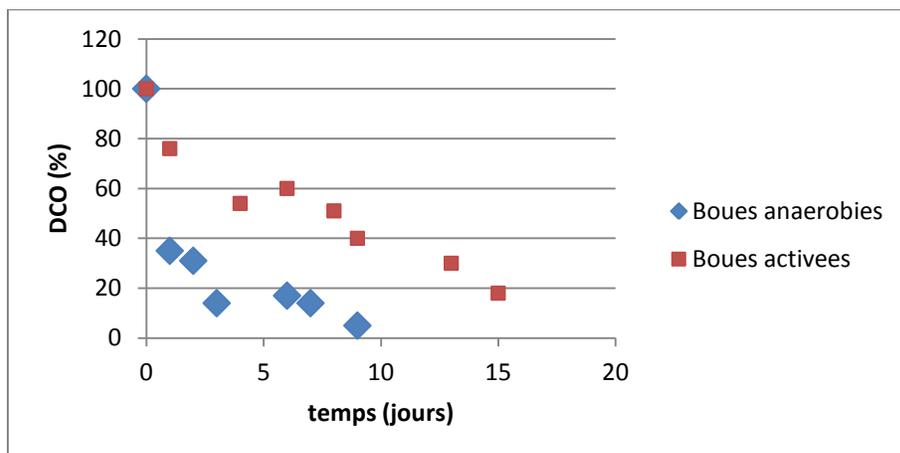


Figure 36: Evolution de la DCO pour les piles contenant un support en graphite

On constate qu'il y a un abattement rapide de la DCO durant les premiers jours pour les boues anaérobies, l'abattement est plus lent pour les boues activées, cette évolution est semblable à celle qui a été obtenue dans les PACM à biomasse libre, on peut en déduire que la fixation de la biomasse n'a pas réduit les capacités épuratrices des biocatalyseurs utilisés.

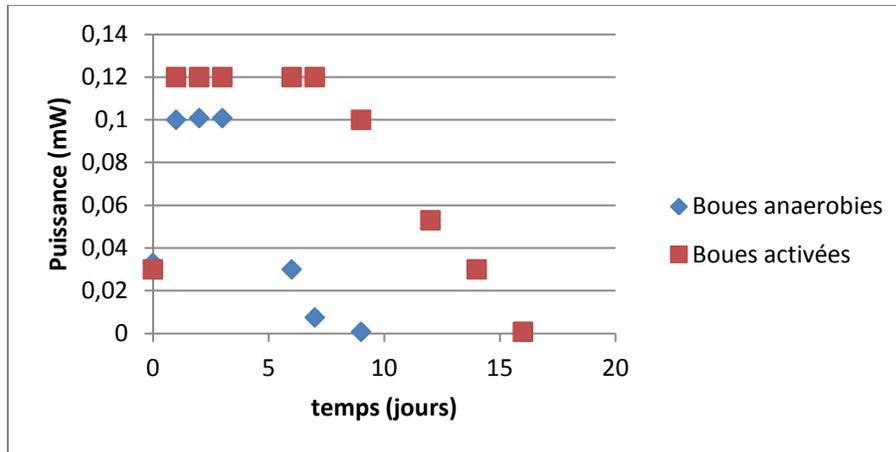


Figure 37: Evolution de la puissance générée par les piles contenant un support en graphite

L'évolution de la puissance est elle aussi similaire à celle obtenue pour les biomasses libres, il y a une première augmentation de la puissance, suivie d'une période de décroissance.

On constate que les PACM qui contiennent des boues anaérobies produisent moins d'électricité que les autres et la réduction de la puissance produite se fait plus rapidement. Ce résultat est sans doute lié au fait que la cinétique de dégradation de la matière organique est plus rapide dans les PACM qui contiennent des boues anaérobies.

### Charbon actif :

Les PACM contenant du charbon actif se comportent comme des biofiltres qui permettent une filtration de l'effluent et une biodégradation simultanée (Cardot 2010).

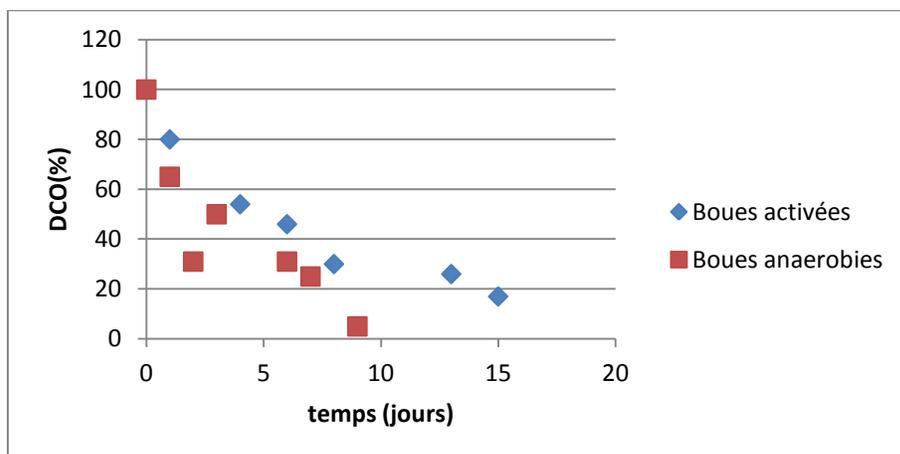
L'abattement de la DCO était spectaculaire dans ces PACM, la quasi-totalité de la DCO a été éliminée en moins d'une demi-heure. Ceci est attribué à l'adsorption des polluants par le charbon actif, celui-ci étant connu comme étant un excellent adsorbant.

Ces PACM n'ont pas produit d'électricité, les bactéries n'ont probablement pas pu transférer leurs électrons au charbon actif malgré la conductivité de ce matériau. Le problème peut aussi provenir d'un mauvais contact entre les grains de charbon actif qui empêcherait le transfert des électrons jusqu'à l'électrode en acier inoxydable qui se trouve au centre de la PACM.

Si le transfert se fait essentiellement par l'intermédiaire de médiateurs, comme le suggèrent les résultats obtenus lorsque l'influence de la nature de l'électrode a été étudié, il se pourrait que les médiateurs soient adsorbés à la surface du charbon activé, ce qui les empêche de s'oxyder à la surface de l'électrode.

**Billes de polyéthylène :**

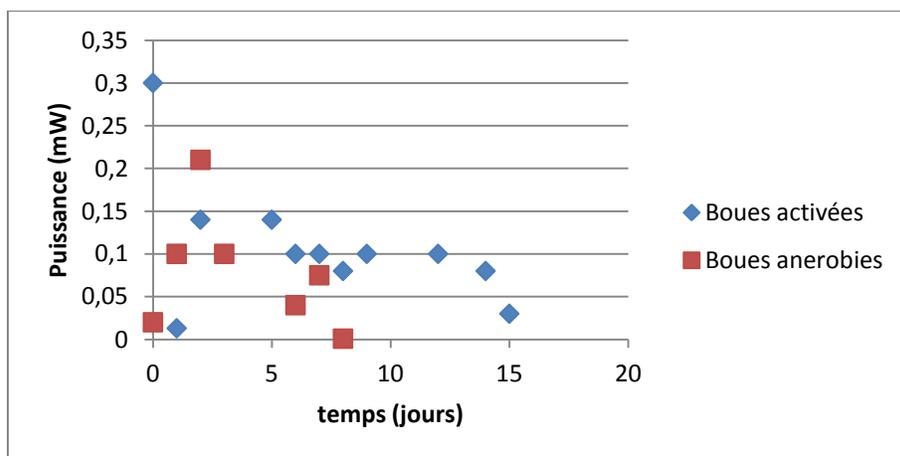
Comme pour les autres PACM nous allons commencer par voir la variation de la DCO :



**Figure 38: Evolution de la DCO pour les piles contenant un support en polyéthylène**

Encore une fois, nous obtenons des courbes qui montrent un abattement de la DCO qui serait dû à une consommation de la matière organique par les microorganismes.

L'abattement de la DCO est de nouveau plus rapide pour les boues anaérobies, ce qui confirme les premiers résultats obtenus et qui indiquent que ces boues sont légèrement plus adaptées à la bioépuration dans des conditions anaérobies.



**Figure 39: Evolution de la puissance pour les piles contenant un support en polyéthylène**

Le polyéthylène est non conducteur, il ne peut être utilisé comme accepteur d'électrons contrairement aux granules de graphite et au charbon activé, les électrons sont donc transférés à l'électrode centrale.

On constate que l'évolution de la puissance dans les PACM qui contiennent du polyéthylène est semblable à celles observées précédemment que ce soit pour les boues activées ou les boues

anaérobies, en effet, on observe dans les deux cas une augmentation de la puissance suivie d'une réduction qui est plus rapide pour les boues aérobies. Comme pour les PACM à biomasse libre, ceci serait dû à la production de médiateurs dans un premiers temps, période durant laquelle il y a augmentation de la puissance, la puissance décroît par la suite à cause de la consommation du substrat et de la réduction de sa concentration.

En comparant les résultats obtenus pour les différentes piles on remarque que celles qui contiennent du polyéthylène permettent une meilleure production d'électricité que celles qui contiennent du graphite.

Celles qui contiennent du charbon actif ne produisent pas d'énergie.

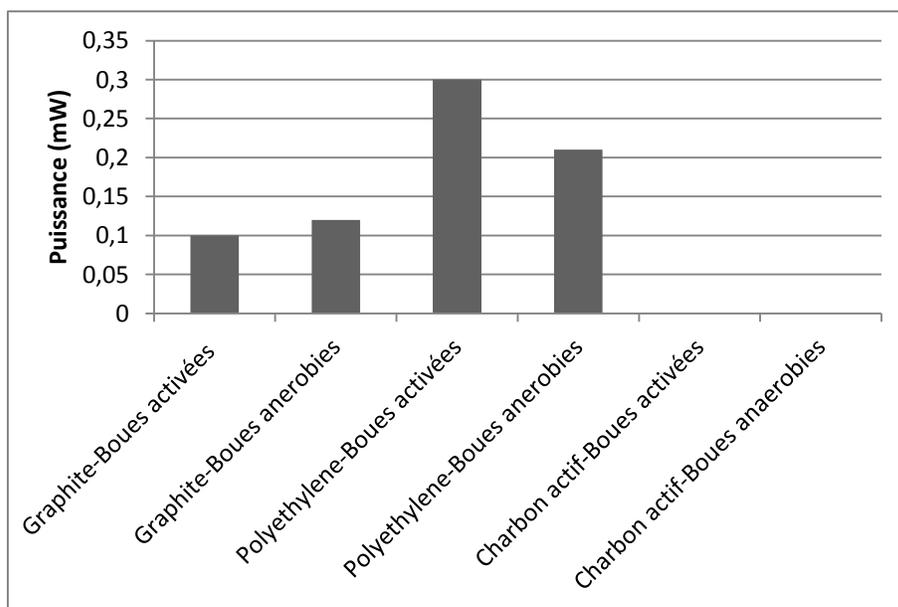


Figure 40: Puissances maximales en fonction du support et du biocatalyseur utilisé

Ce résultat est surprenant, en effet, le graphite peut être utilisé comme accepteur final d'électrons par les bactéries, les granules de graphite utilisés comme support peuvent donc servir d'électrode. De cette manière, la surface d'électrode dans les PACM qui contiennent du graphite est beaucoup plus élevée que celle des PACM qui contiennent du polyéthylène ce qui devrait permettre une production d'électricité plus élevée (Rabaey et al. 2005).

Or ce n'est pas le cas, ce qui suggère que les bactéries n'ont pas utilisé les granules de graphite comme accepteurs d'électrons et que le transfert d'électrons s'est effectué à la surface de l'électrode en inox.

Ceci pourrait être dû à un mauvais contact entre les granules de graphite ou à l'incapacité des bactéries de céder les électrons au graphite.

Ceci pourrait également être dû à la forme des granules, l'aspect irrégulier de ceux-ci peut provoquer l'apparition de régions qui ne seront pas alimentées en effluent, les bactéries qui se

trouvent dans ces régions ne peuvent dégrader le substrat et donc ne produisent pas d'électrons.

En comparant les abattements de la DCO on constate que ceci pourrait être le cas, en effet on constate que pour les piles contenant du polyéthylène l'abattement de la DCO est légèrement plus élevé pour les boues activées.

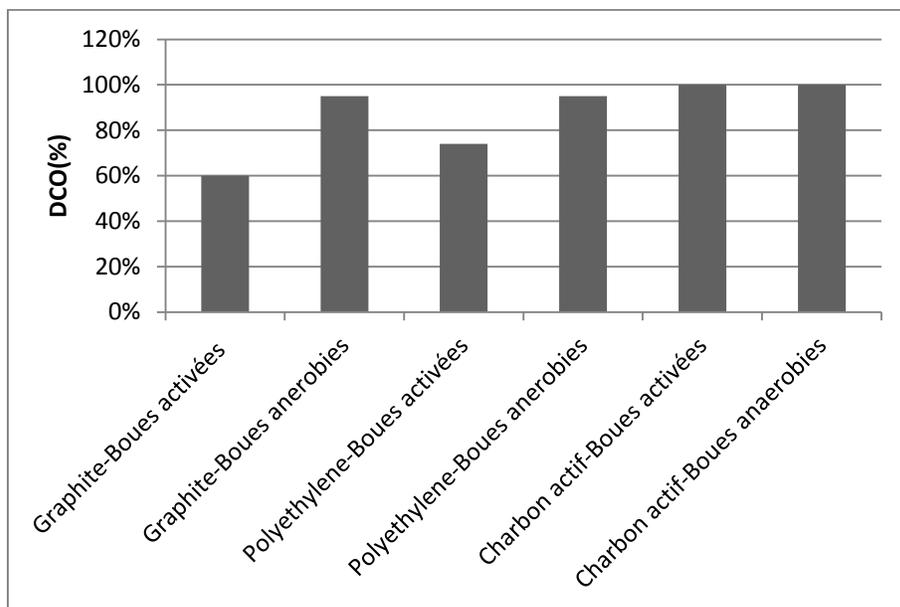


Figure 41: Abattement de la DCO après 10 jours en fonction du support et du biocatalyseur utilisé

L'abattement de la DCO dans les piles qui contiennent du charbon actif n'est pas du à la biodégradation de la matière organique, mais à l'adsorption de celle-ci.

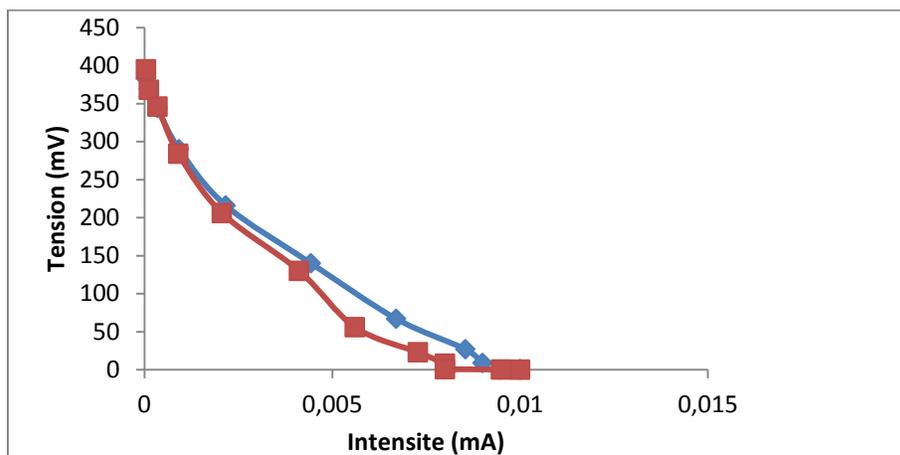
**Courbes de polarisation :**

Figure 42: Courbes de polarisation pour une pile contenant un support en graphite (en rouge) et une pile contenant un support en polyéthylène(en bleu).

Après avoir pris les points les plus linéaire et calculé leurs pentes on a déduit la résistance interne de nos deux piles qui ont pour valeur 33.8 k $\Omega$  et 33.6 k $\Omega$  respectivement, ce qui est élevé et est dû au pont salin qu'on a utilisé pour relier les deux compartiments (Min et al, 2005). Les résistances internes sont pratiquement égales pour les deux PACM, on peut en déduire que le support n'a pas eu d'influence sur ce paramètre ou que sa contribution est négligeable devant celle du pont salin.

#### IV.2. Etude de l'influence du volume du réacteur :

Dans cette partie nous allons étudier l'effet des dimensions du réacteur sur les performances des PACM.

Des PACM contenant du graphite et du polyéthylène ont été utilisées avec une électrode en acier inoxydable.

Trois volumes différents ont été utilisés : des réacteurs de 30ml avec un diamètre de 4cm, des réacteurs de même longueur mais d'un diamètre de 6cm et un volume de 65ml, et des réacteurs plus longs avec un diamètre de 4cm et un volume de 95ml.

Les résultats obtenus pour les différentes dimensions sont présentés sur les figures suivantes, on voit que l'évolution de l'abatement de la DCO et celui de la puissance sont similaires à ceux obtenus dans les expériences précédentes :

Réacteur de 30ml :

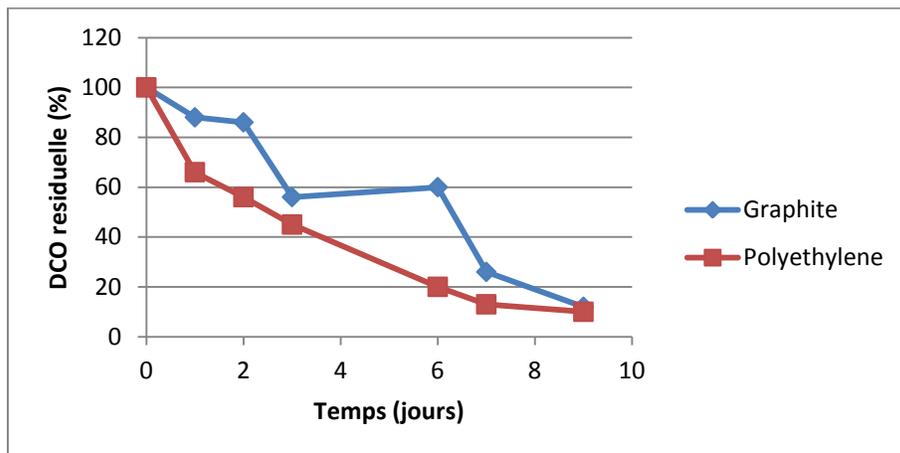


Figure 43: Evolution de la DCO pour les réacteurs de 30ml contenant du graphite (en rouge) et du polyéthylène (en bleu)

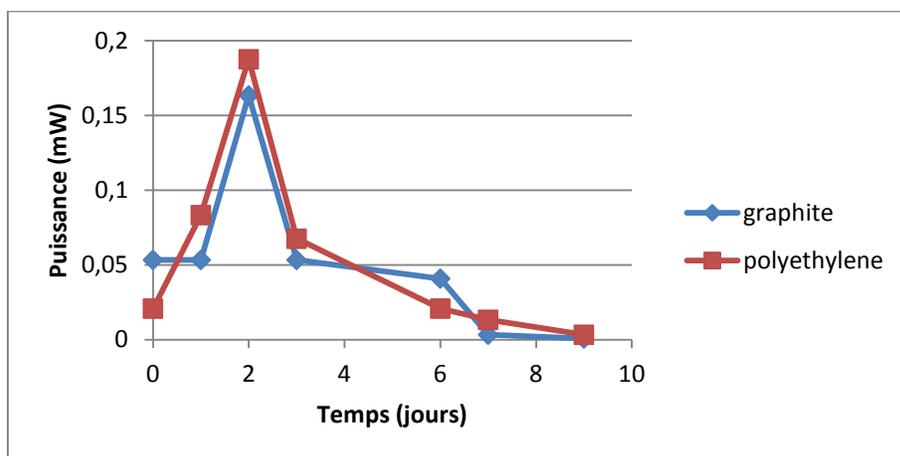


Figure 44: Evolution de la puissance pour les réacteurs de 30ml contenant du graphite (en noir) et du polyéthylène (en gris)

Réacteurs de 65ml :

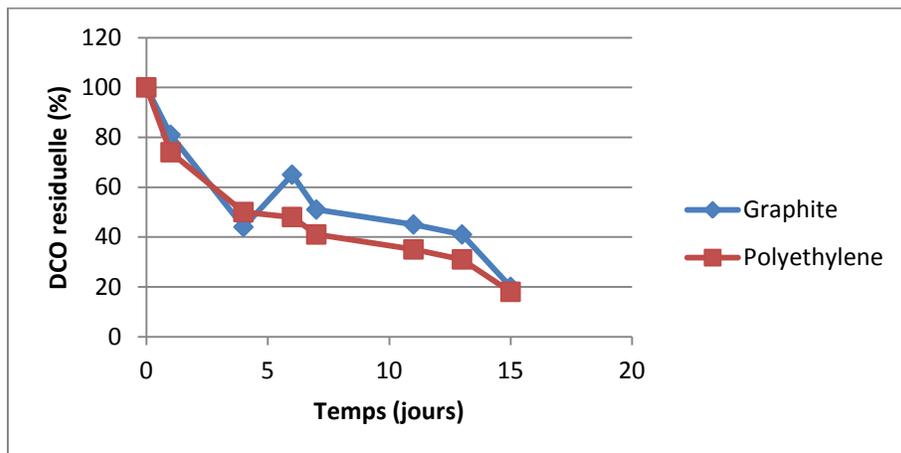


Figure 45: Evolution de la DCO pour les réacteurs de 65ml contenant du graphite (en noir) et du polyéthylène (en gris)

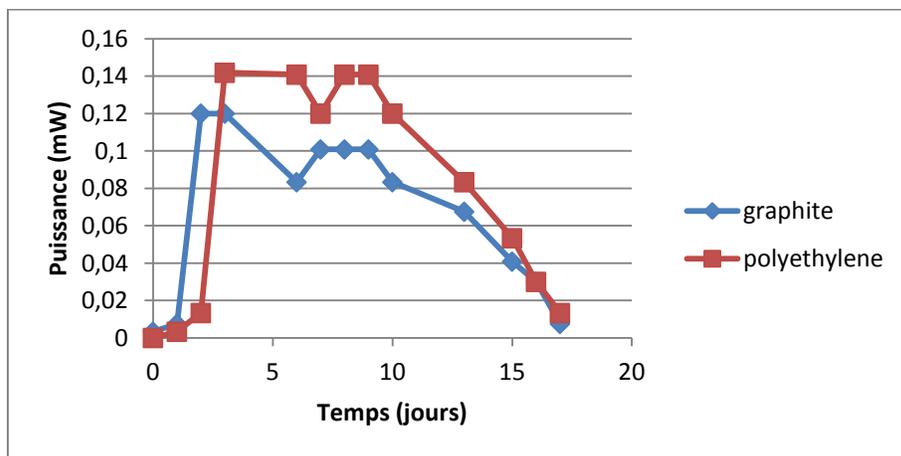


Figure 46: Evolution de la puissance des réacteurs de 65ml contenant du graphite (en noir) et du polyéthylène (en gris)

Réacteurs de 95ml :

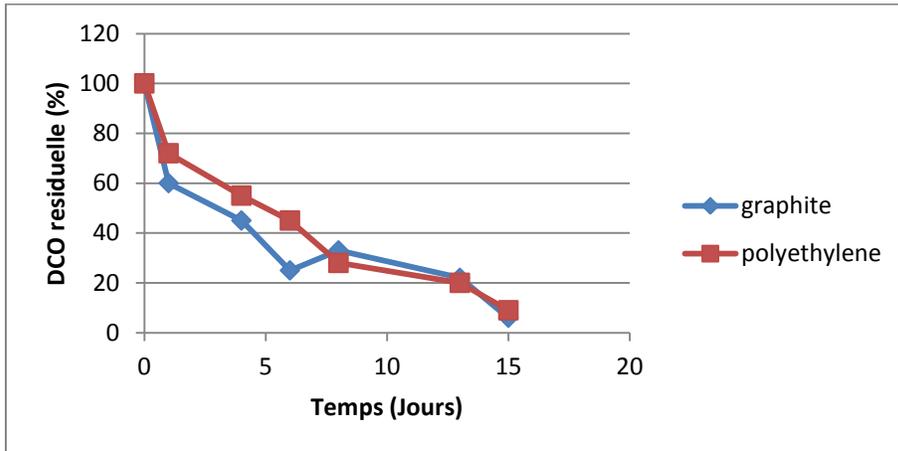


Figure 47: Evolution de la DCO pour les réacteurs de 95ml contenant du graphite (en noir) et du polyéthylène (en gris)

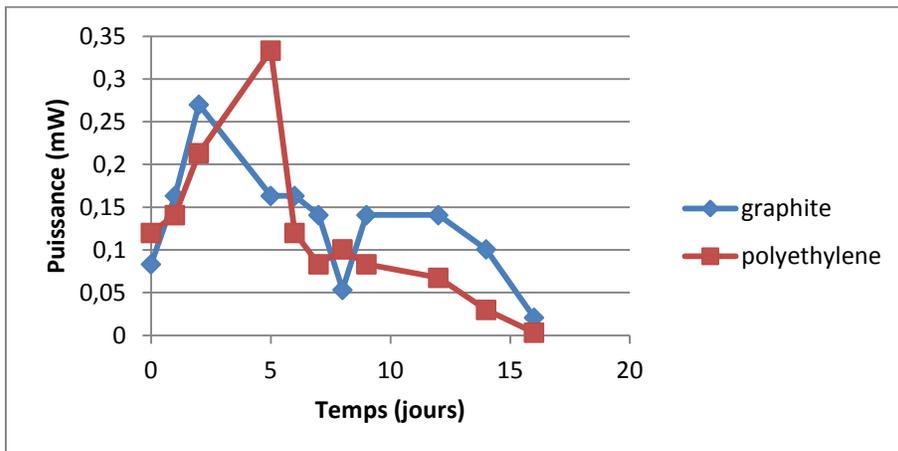


Figure 48: Evolution de la puissance pour les réacteurs de 95ml contenant du graphite (en noir) et du polyéthylène (en gris)

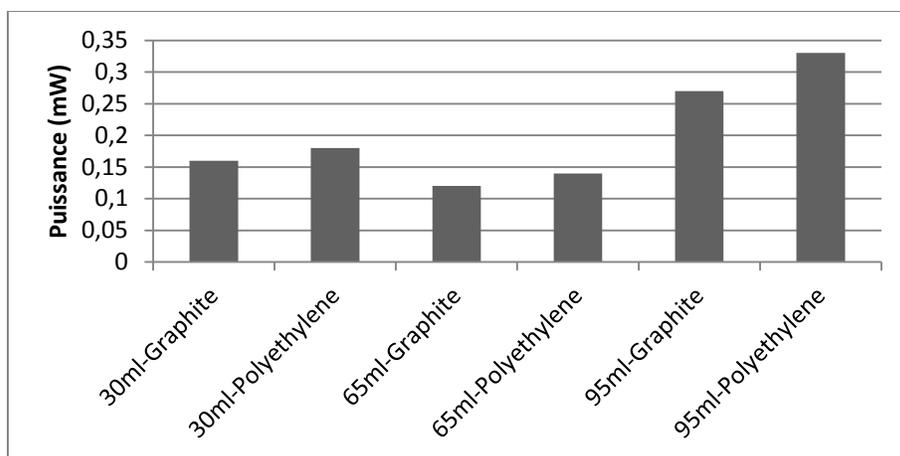


Figure 49: Puissances maximales en fonction du volume du réacteurs et du support utilisé

En comparant les résultats obtenus on constate que le polyéthylène permet encore une fois d'obtenir des puissances supérieures à celles obtenus avec du graphite.

Une augmentation de la longueur des piles provoque une augmentation de la puissance générée, ceci serait dû à une augmentation de la surface de l'électrode qui se trouve au centre de la pile, en effet il a été montré que la puissance générée est proportionnelle à la surface de l'électrode utilisée (Dewan *et al.* 2008).

Tandis qu'une augmentation du diamètre provoque une réduction de la puissance générée, ceci peut être expliqué par le fait que le transfert d'électrons se fait par l'intermédiaire de médiateurs d'électrons, ceux-ci doivent parcourir une distance plus élevée dans les PACM qui possèdent un diamètre plus élevé ce qui réduit la vitesse de la réaction d'oxydation et limite la quantité d'énergie produite.

La puissance maximale la plus élevée, 0.33mW a été obtenue en utilisant un réacteur de 95ml et un support en polyéthylène

### Courbes de polarisation :

Les courbes de polarisation ont été tracées pour les réacteurs de 65 et 95 ml

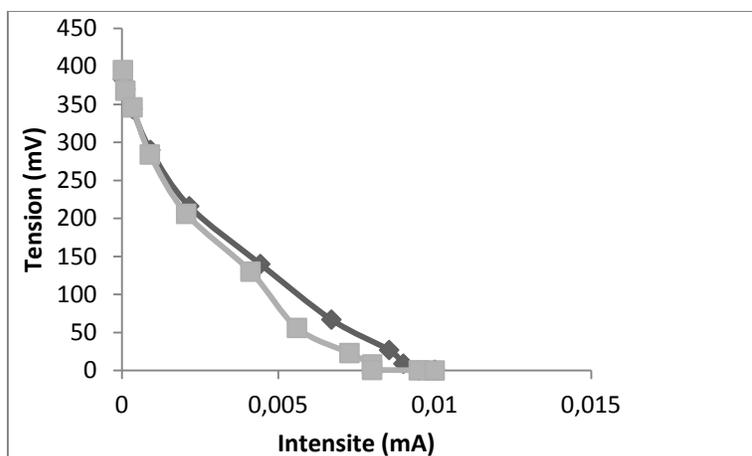


Figure 50: Courbes de polarisation pour les réacteurs de 65ml contenant du graphite (en gris) et du polyéthylène (en bleu)

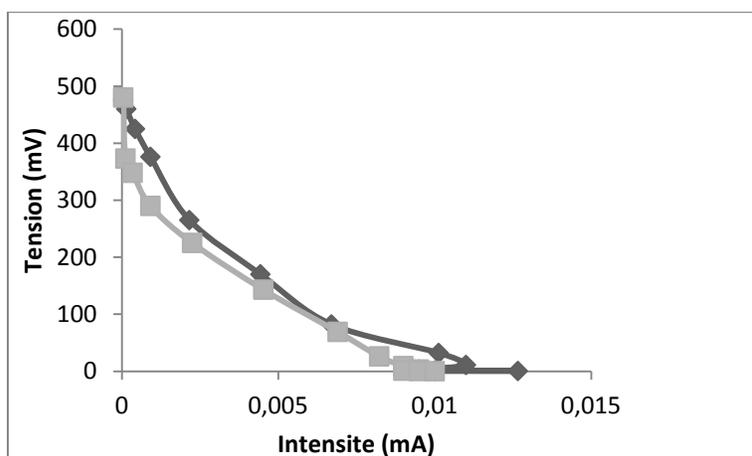


Figure 51: Courbes de polarisation pour les réacteurs de (5ml contenant du graphite (en gris) et du polyéthylène (en bleu))

Pour les réacteurs de 65ml contenant du graphite ou du polyéthylène et les réacteurs de 95ml contenant du graphite ou du polyéthylène nous avons trouvé les résistances internes respectives suivantes : 43, 43.5, 40.3 et 34.5 k $\Omega$ .

Les résistances internes sont du même ordre de grandeur pour toutes les piles, elles sont très élevées comme pour les piles à biomasse libre et sont responsables des faibles puissances générées.

On constate que la nature du support et le volume du réacteur n'ont pas d'influence sur la résistance interne.

Comme pour les PACM à biomasse libre, la valeur de la résistance interne est une conséquence de l'utilisation d'un pont salin pour relier le compartiment cathodique et le compartiment anodique (Min et al. 2005)

### **Rendements faradiques :**

Les rendements faradiques des piles qui produisent les puissances les plus élevées ont été calculés, nous avons trouvé que la PACM de 95ml qui contient du graphite a eu un rendement faradique de 1.81% et la PACM de 95ml qui contient du polyéthylène un rendement de 2.86%.

Ces rendements sont particulièrement bas, ce qui veut dire que l'énergie chimique contenue dans la matière organique n'est pas complètement convertie en énergie électrique, ceci pourrait être dû à plusieurs facteurs, tout d'abord, les biocatalyseurs utilisés sont constitués de différentes espèces bactériennes dont seule une petite proportion est électroactive, les bactéries non électroactives vont digérer la matière organique sans produire d'électricité, les méthanogènes présents dans les bous anaérobies par exemple vont céder leurs électrons au CO<sub>2</sub> (O'Flaherty et al. 2006).

Aussi, l'effluent a été utilisé comme carburant sans subir de désoxygénation préalable, l'oxygène dissout est utilisé comme accepteur final d'électrons à la place des électrodes ce qui réduit grandement le rendement faradique des PACM, en effet, il a été démontré que l'oxygène était le principal facteur responsable de la réduction du rendement faradique (Kim et al. 2007).

Des résultats similaires ont été obtenus par Jadhav et Ghangrekar (2009), ils ont pu atteindre un taux d'abattement de la DCO de 90% en utilisant un effluent synthétique et ont eu un rendement faradique de 1.5%. Ils ont constaté qu'à des températures se situant entre 25 et 30°C l'activité des méthanogènes était élevée, ce qui réduisait le rendement faradique.

Les rendements faradiques les plus élevés (89%) ont été obtenus en utilisant des souches pures de *R. ferriducens* (Rabaey et al. 2003)

## V. Comparaison entre les performances des PACM à biomasse fixée et à biomasse libre :

Le tableau suivant compare les performances des piles à biomasse libre et à biomasse fixée :

Tableau 5 : Comparaison des performances des piles à biomasse libre et à biomasse fixée

	Biomasse libre	Biomasse fixée sur des granules de graphite	Biomasse fixée sur des billes de polyéthylène
Boues activés	Taux d'abattement de la DCO après 10 jours : 60% Puissance max : 0.3mW	Taux d'abattement de la DCO après 10 jours : 60% Puissance max : 0.1mW	Taux d'abattement de la DCO après 10 jours : 74% Puissance max : 0.3mW
Boues anaérobies	Taux d'abattement de la DCO après 10 jours : 82% Puissance max : 0.29mW	Taux d'abattement de la DCO après 10 jours : 90% Puissance max : 0.12mW	Taux d'abattement de la DCO après 10 jours : 90% Puissance max : 0.21mW

On constate que la fixation de la biomasse n'a pas réduit les performances en matière d'épuration des PACM, le taux d'abattement de la DCO après 10 jours n'a pas changé pour les boues activées lorsqu'un support en graphite a été utilisé et il est légèrement supérieur avec un support en polyéthylène.

Pour les boues anaérobies, le taux d'abattement de la DCO est plus élevé après fixation de la biomasse.

Ceci serait dû à une meilleure mise en contact de l'effluent et du biocatalyseur.

En ce qui concerne la puissance, l'utilisation du polyéthylène n'a pas modifié les puissances maximales obtenues, alors que le graphite a provoqué un abaissement important.

La comparaison entre les performances de nos PACM et celles des autres chercheurs est difficile, les conditions dans lesquelles les expériences ont été réalisées sont différentes. Pour nos travaux un effluent industriel réel a été utilisé, sa composition est complexe et il contenait des désinfectants qui inhibaient l'activité bactérienne. Aussi, l'utilisation d'un pont salin a limité la puissance produite en conférant aux PACM une résistance interne très élevée. Très peu de chercheurs ont relié les deux compartiments de leurs PACM avec un pont salin, Min

et al. (2005) ont réalisé une pile contenant *G.metallireducens* dans un milieu nutritif composé d'acétate, la cathode était en papier carbone avec un catalyseur de platine. La résistance interne de cette PACM était plus faible que la notre (19 920 $\Omega$ ) et la puissance maximale produite légèrement plus élevée (0.4mW) (Min et al. 2005).

Il est donc évident que le majeur facteur qui limitait la production d'électricité est la résistance interne.

Il est nécessaire de trouver une autre configuration de la pile qui permettra d'augmenter les puissances générées.

Même si les puissances générées étaient faibles, l'utilisation d'un pont salin a permit la comparaison entre les performances de différents constituants de la PACM.

## **Conclusion**

## Conclusion :

Les résultats obtenus ont permis de démontrer qu'il était possible de réduire la charge en matière organique d'un effluent industriel en atteignant des taux d'abattement de la DCO comparables à ceux obtenus avec un procédé aérobie à boues activés tout en produisant de l'énergie électrique en utilisant des piles à combustibles microbiennes.

Les expériences réalisées avec une biomasse libre ont montré que les boues anaérobies étaient les plus adaptées à une utilisation dans les PACM, un taux d'abattement de la DCO de 80% a pu être atteint, les boues activées ont eu des performances légèrement plus faibles avec un taux d'abattement de la DCO de 60%. Les puissances maximales produites sont sensiblement les mêmes pour les deux biocatalyseurs, 0.3mW pour les boues activées et 0.29mW pour les boues anaérobies.

Les BSR quant à elles ne sont pas adaptées à une utilisation dans des PACM à des fins épuratoires, l'abattement de la DCO des piles inoculées avec des BSR était négligeable et les puissances produites nulles.

Il a également été remarqué que la nature de l'électrode avait une influence sur l'abattement de la DCO et la puissance générée, les électrodes en acier inoxydable ont donné de meilleurs résultats que les électrodes en graphite, que ce soit pour l'abattement de la DCO ou la production d'électricité. Les électrodes en acier inoxydables sont aussi plus solides et plus faciles à manipuler.

Les expériences réalisées avec une biomasse fixée ont montré qu'un support en polyéthylène était plus performant qu'un support en graphite, ce résultat est pour le moins surprenant, le graphite est conducteur et est souvent utilisé comme électrode, il devrait être utilisé comme accepteur d'électrons par les bactéries, et l'utilisation de granules augmentent en théorie la surface de l'électrode.

On peut en déduire que le transfert d'électrons s'est fait à la surface de l'électrode en acier inoxydable et devait se faire essentiellement par l'intermédiaire de médiateurs synthétisés par les microorganismes.

L'utilisation du charbon activé en grains n'est pas adapté à une utilisation dans les PACM, le compartiment anodique se comporte comme un biofiltre dans lequel la DCO est totalement éliminée grâce à un phénomène d'adsorption à la surface du charbon, il n'y a pas eu production d'électricité.

On a également observé qu'une augmentation de la longueur du compartiment anodique permettait d'augmenter la puissance générée par la PACM alors qu'une augmentation du diamètre la réduisait.

La fixation de la biomasse sur du polyéthylène a amélioré les performances des piles, tandis que la fixation sur le graphite a provoqué une baisse des puissances produites.

Le polyéthylène peut donc être utilisé comme support bactérien dans des PACM alimentées en continue.

Même si les taux d'abattement de la DCO étaient de manière générale très élevée, les puissances générées étaient limitées en grande partie par la résistance interne élevée des piles qui étaient de 35k $\Omega$  en moyenne.

Les rendements faradiques ne dépassaient pas les 2%, ce qui est probablement dû à la présence d'oxygène dans le compartiment anodique et à la présence de bactéries non électroactives.

D'après ces résultats, on peut déduire qu'il est préférable de construire une pile longue, contenant des boues anaérobies fixée sur des billes de polyéthylène, avec une électrode en acier inoxydable. Il est évident qu'une autre configuration doit être trouvée pour les piles afin de réduire la résistance interne qui limite la production d'électricité.

La configuration doit permettre aux piles d'être alimentées en continue, ce qui permettrait d'avoir une production d'électricité stable.

Pour améliorer les rendements et les puissances générées par les PACM, il serait intéressant de procéder à une sélection des microorganismes électroactifs présents dans les PACM et d'étudier l'influence des populations présentes sur la production d'électricité et les interactions qui peuvent avoir lieu entre les différentes espèces.

Il faut également trouver un moyen d'inhiber le développement de bactéries non-électroactives qui consomment de la matière organique sans produire d'électricité et qui réduisent ainsi le rendement faradique des piles.

Il serait intéressant de trouver un moyen d'éliminer l'oxygène dissout dans l'effluent qui serait peu coûteux et extrapolable à grande échelle, pour augmenter les rendements faradiques des piles.

Enfin, les techniques de génie génétique et de biologie moléculaire peuvent être utilisées pour créer des souches bactériennes capables de digérer de larges gammes de substrat à des vitesses plus élevées et qui n'utilisent que des électrodes comme accepteurs d'électrons. Ceci permettrait en théorie d'accélérer l'abattement de la DCO et d'atteindre des rendements faradiques plus élevés.

**Références bibliographiques :**

**Appleby AJ, Fouldes FR (1989).** Fuel cell handbook. New York: Van Nostrand Reinhold.

**Ahn Y, Logan BE. (2010).** Effectiveness of domestic wastewater treatment using microbial fuel cells at ambient and mesophilic temperatures. *Bioresource technology*. 2010;101(2):469–75.

**Aivasidis A, Diamantis VI.(2005).** Biochemical Reaction Engineering and Process Development in Anaerobic Wastewater Treatment. *Adv Biochem Engin/Biotechnol*. 92:49 –76.

**Akiba T, Bennetto HP, Stirling JL, Tanaka K.(1987)** Electricity production from alkalophilic organisms. *Biotechnology Letters*. 9(9):611–616.

**Allen RM, Bennetto HP.(1993)** Microbial fuel-cells: electricity production from carbohydrates. *Appl Biochem Biotechnol*; 39/ 40:27–40.

**Bagotsky V.S. (2006).** Fundamentals of electrochemistry. Wiley 13 978-0-471-70058-6

**Bennetto H.P., G.R.Delaney, J.R.Rason, S.D.Roller JLS and CFT. (1985)** Biotechnology and Bioelectrochemistry Group, King's College (KQC), Kensington Campus, Campden Hill Road, London W8 7AH. *Biotechnology Letters*; 7:699–704.

**Bond, D.R., Holmes, D.E., Tender, L.M. and Lovley, D.R. (2002)** Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments. *Science* 295(5554), 483-485.

**Bond, D. R. et D. R. Lovley, (2003).** Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. *Appl. Environ. Microbiol*. 69: 1548-1555.

**Bond DR, Lovley DR (2005)** Evidence for involvement of an electron shuttle in electricity generation by *Geothrix fermentans*. *Appl. Environ. Microbiol*. 71( 4):2186-2189

**Bretschger, O., A. Obratsova, C. A. Sturm, I. S. Chang, Y. A. Gorby, S. B. Reed, D. E. Culley, C. L. Reardon, S. Barua, M. F. Romine, J. Zhou, A. S. Beliaev, R. Bouhenni, D. Saffarini, F. Mansfeld, B. H. Kim, J. K. Fredrickson et K. H. Nealson, (2007)** Current production and metal oxide reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 wild type and mutants. *Appl. Environ. Microbiol*. 73: 7003-7012.

**Castillo de Campins Soraya (2005).** etude d'un procede compact de traitement aérobie d'un effluent laitier. Thèse de doctorat, Institut national des sciences appliquées de Toulouse.

**Cardot C. (2010).** Génie de l'environnement : Les traitements de l'eau pour l'ingénieur. Ellipse. ISBN 978-2-7298-6187-2.

**Cercado-Quezada, B. (2009).** Traitement de déchets issus de l'industrie agro-alimentaire par pile à combustible microbienne. Thèse de doctorat, Université de Toulouse.

- Chang, In Seop, Hyunsoo Moon, Orianna Bretschger, Jae Kyung Jang, Ho il Park, Kenneth H. Nealson BHK (2006).** Electrochemically active bacteria (EAB) and mediator-less microbial fuel cells. *Microbiology Biotechnology*. 16:163–177
- Chaudhuri, S.K. and Lovley, D.R. (2003)** Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells. *Nat. Biotechnol.* 21 (10), 1229-1232.
- Cheng, S., Liu, H. and Logan, B.E. (2006).** Power densities using different cathode catalysts (Pt and CoTMPP) and polymer binders (Nafion and PTFE) in single chamber microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 40, 364-369
- Cheremisinoff N.P.(2001).** Handbook of water and wastewater treatment technologies 978-0750674980
- Davis, F. & Higson, S.P.J. (2007).** Biofuel cells--recent advances and applications. *Biosensors & bioelectronics* 22, 1224-35.
- De Almeida A. (2010)** Etude de la catalyse microbienne de la réduction électrochimique du dioxygène. Thèse de doctorat, Université de Toulouse.
- Dewan A., Beyenal H., Lewandowski Z.(2008)** Scaling up microbial fuel cells. *Environmental Science and Technology*. 42:7643 – 7648.
- Du Z., H. Li, T. Gu. (2007).** A state of the art review on microbial fuel cells: a promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotech. Adv.* 25, 464-482.
- Flaherty VO, Collins G. (2006)** The microbiology and biochemistry of anaerobic bioreactors with relevance to domestic sewage treatment. *Review Literature And Arts Of The Americas*. 39–55.
- Feng Y, Wang X, Logan BE, Lee H.(2008).** Brewery wastewater treatment using air-cathode microbial fuel cells. *Applied microbiology and biotechnology*. 2008;78(5):873–80.
- Garrity, George M.; Brenner, Don J.; Krieg, Noel R.; Staley, James T. (eds.) (2005).** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume Two: The Proteobacteria, Part C: The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria*. New York, New York: Springer. [ISBN 978-0-387-24145-6](#)
- Gave G. (1988)** Piles a combustibles, techniques de l'ingénieur D3920
- Gil G, Chang I, Kim B, Kim M, Jang J, Park H, Kim H (2003)** Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell. *Biosens. Bioelectron.* 18:327-334.
- Gorby, Y.A. and Beveridge, T.J. (2005)** Composition, reactivity, and regulation of extracellular metal-reducing structures (nanowires) produced by dissimilatory metal reducing bacteria, Warrenton, VA.
- Gorby, Y.A., Yanina, S., McLean, J.S., Rosso, K.M., Moyles, D., Dohnalkova, A., Beveridge, T.J., Chang, I.S., Kim, B.H., Kim, K.S., Culley, D.E., Reed, S.B., Romine, M.F., Saffarini, D.A., Hill, E.A., Shi, L., Elias, D.A., Kennedy, D.W., Pinchuk, G., Watanabe, K., Ishii, S., Logan, B.E., Nealson, K.A. and Fredrickson, J.K. (2006)** Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. *PNAS* 103(30), 2296-2304. 11358-1 1363.

**He, Z., Minteer, S.D. and Angenent, L.T. (2005)** Electricity generation from artificial wastewater using an upflow microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* 39( 14), 5262-5267.

**He, Z., Wagner, N., Minteer, S.D. and Angenent, L.T. (2006)** The upflow microbial fuel cell with an interior cathode: assessment of the internal resistance by impedance spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 40(17), 5212-5217.

**Heidelberg, J.F., Paulsen, I.T., Nelson, K.E., Gaidos, E.J., Nelson, W.C., Read, T.D., Elisen, J.A., Seshadri, R., Ward, N., Methe, B., Clayton, R.A., Meyer, T., Tsapin, A., Scott, J., Beanan, M., Brinkac, L., Daugherty, S., DeBoy, R.T., Dodson, R.J., Durkin, A.S., Haft, D.H., Kolonay, J.F., Madupu, R., Peterson, J.D., Ymayam, L.A., White, O., Wolf, A.M., Vamathevan, J., Weidman, J., Impraim, M., Lee, K., Berry, K., Lee, C., Mueller, J., HKhour, H., Gill, J., Utterback, T.R., McDonald, L.A., Feldblyum, T.V., Smith, H.O., Venter, J.C., Neelson, K.H. and Fraser, C.M. (2002)** Genome sequence of the dissimilatory metal ion-reducing bacterium *Shewanella oneidensis*. *Nat. Biotechnol.* 20, 11 18-1 123.

**Heilmann J, Logan B (2006)** Production of electricity from proteins using a microbial fuel cell. *Water Environ. Res.* 78(5):531-537.

**Holmes DE, Bond DR, Lovely DR (2004)** Electron transfer by *Desulfobulbus propionicus* to Fe (III) and graphite electrodes. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(2):1234-1234.

**Holmes, D. E., S. K. Chaudhuri, K. P. Nevin, T. Mehta, B. A. Methe, A. Liu, J. E. Ward, T. L. Woodard, J. Webster et D. R. Lovley, (2006)** Microarray and genetic analysis of electron transfer to electrodes in *Geobacter sulfurreducens*. *Environ. Microbiol.* 8: 1805-1815.

**Jadhav GS, Ghangrekar MM.(2008).** Performance of microbial fuel cell subjected to variation in pH, temperature, external load and substrate concentration. *Bioresource technology.* 100(2):717–23.

**Katuri KP, Scott K, Head IM, Picioreanu C, Curtis TP. (2010)** Microbial fuel cells meet with external resistance. *Bioresource Technology.* 102(3):2758–2766.

**Kiely PD, Call DF, Yates MD, Regan JM, Logan BE.(2010).** Anodic biofilms in microbial fuel cells harbor low numbers of higher-power-producing bacteria than abundant genera. *Applied microbiology and biotechnology.* 371–380.

**Kiely PD, Cusick R, Call DF, et al. (2010).** Anode microbial communities produced by changing from microbial fuel cell to microbial electrolysis cell operation using two different wastewaters. *Bioresource technology.* 102(1):388–394.

**Kim, B.H., Park, D.H., Shin, P.K., Chang, I.S. and Kim, H.J. (1999a)** Mediator-less biofuel cell.U.S. Patent 5976719.

**Kim, H.-J., Hyun, M.-S., Chang, I.S. and Kim, B.-H. (1999b)** A microbial fuel cell type lactate biosensor using a metal-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 9(3), 365-367.

**Kim, J.R., Cheng, S., Oh, S.-E. and Logan, B.E. (2007b)** Power generation using different cation, anion and ultrafiltration membranes in microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 41 (3), 1004-1009.

- Kim JR, Jung SH, Regan B, Logan B (2007)** Electricity generation and microbial community analysis of alcohol powered microbial fuel cells. *Bioresource Technology*. 98:2568-2577.
- Kim, N., Y. Choi, S. Jung et S. Kim, (2000)** Effect of initial carbon sources on the performance of microbial fuel cells containing *Proteus vulgaris*. *Biotechnol. Bioeng.* 70: 109-114.
- Kim, H.J., Park, H.S., Hyun, M.S., Chang, I.S., Kim, M. and Kim, B.H. (2002)** A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *Enzyme Microb. Technol.* 30(2), 145-152.
- Lanthier, M., K. B. Gregory et D. R. Lovley, (2008)** Growth with high planktonic biomass in *Shewanella oneidensis* fuel cells. *FEMS Microbiol. Lett.* 278: 29-35.
- Leang, C., M. V. Coppi et D. R. Lovley, (2003)** OmcB, a c-type polyheme cytochrome, involved in Fe(III) reduction in *Geobacter sulfurreducens*. *J. Bacteriol.* 185: 2096- 2103.
- Lee J, Phung N, Chang I, Kim B, Sung H (2003)** Use of acetate for enrichment of electrochemically active microorganisms and their 16S rDNA analyses. *FEMS Microbiology Letters*. 223:185-191.
- Lewis, K. (1966)** Symposium on bioelectrochemistry of microorganisms: 1V. Biochemical fuel cells. *Bacteriol. Rev.* 30(1), 101-1 13.
- Liu, H. and Logan, B.E. (2004)** Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environ. Sci. Technol.* 38( 14), 4040-4046.
- Liu H, Ramnarayanan R, Logan BE (2004)** Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* 38(7):2281-2285.
- Liu H, Cheng S, Logan BE. (2005).** Power generation in fed-batch microbial fuel cells as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration. *Environ Sci Technol* 39:5488–93.
- Logan, B.E. (2004)** Extracting hydrogen and electricity from renewable resources. *Environ. Sci. Technol.* 38(9), 160A-167A.
- Logan, B. E., Murano, C., Scott, K., Gray, N. D., Head, I. M. (2005).** "Electricity generation from cysteine in a microbial fuel cell." *Water Res.* 39: 942.
- Logan, B.E., Cheng, S., Watson, V. and Estadt, G. (2007)** Graphite fiber brush anodes for increased power production in air-cathode microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 41(9), 3341-3346.
- Logan, B.E. (2008)** *Microbial fuel cells*. ISBN 978-0-470-23948-3
- Lovley, D. R., (2008)** The microbe electric: conversion of organic matter to electricity. *Curr. Opin. Biotechnol.* 19: 564-571.
- Marsili, E., D. B. Baron, I. D. Shikhare, D. Coursolle, J. A. Gralnick et D. R. Bond, (2008)** *Shewanella* secretes flavins that mediate extracellular electron transfer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105: 3968-3973.

**Melhuish C, Ieropoulos I, Greenman J, Horsfield I (2006)** Energetically autonomous robots: Food for thought. *Auton Robot.* 21(3):187-198.

**Methe, B.A., Nelson, K.E., Eisen, J.A., Paulsen, I.T., Nelson, W., Heidelberg, J.F., Wu, D., Wu, M., Ward, N., Beanan, M.J., Dodson, R.J., Madupu, R., Brinkac, L.M., Daugherty, S.C., DeBoy, R.T., Durkin, A.S., Gwinn, M., Kolonay, J.F., Sullivan, S.A., Haft, D.H., Selengut, J., Davidsen, T.M., Zafar, N., White, O., Tran, B., Romero, C., Forberger, H.A., Weidman, J., Khouri, H., Feldblyum, T.V., Utterback, T.R., Van Aken, S.E., Lovley, D.R. and Fraser, C.M. (2003)** Genome of *Geobacter sulfurreducens*: Metal reduction in subsurface environments. *Science* 302(5652), 1967- 1969.

**Min B, Logan BE (2004)** Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrates in a flat plate microbial fuel cell. *Environ. Sci. Technol.* 38(21):5809-5814.

**Min B, Cheng S, Logan BE (2005)** Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells. *Water research.* 2005;39(9):1675–86. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15899266> [Accessed November 13, 2010].

**Melhuish C, Ieropoulos I, Greenman J, Horsfield I (2006)** Energetically autonomous robots: Food for thought. *Auton Robot.* 21(3):187-198.

**Moletta R. TORrijos M. (1999)** Traitement des effluents de la filiere laitiere technique de l'ingenieur F 1 501, 1-21

**Nadais MHGAG, Capela MIAPF, Arroja LMGGA, Hung Y. (2010)** Anaerobic Treatment of Milk Processing Wastewater. *Bioengineering.* 11(1).

**Niessen J, Schröder U, Harnisch F, Scholz F (2005)** Gaining electricity from in situ oxidation of hydrogen produced by fermentative cellulose degradation. *Letters in Applied Microbiology.* 41:286-290.

**NOVEL-CATTIN F. ;STEVENS P., LAMY C. ; HAMMOU A. ; Michel CASSIR M. (2000)** Piles à combustibles, Techniques de l'ingénieur D3340

**O'Flaherty V, Collins G. (2006)** The microbiology and biochemistry of anaerobic bioreactors with relevance to domestic sewage treatment. *Review Literature And Arts Of The Americas.* 39–55.

**Oh SE, Logan B (2005)** Hydrogen and electricity production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies. *Water Res.* 39:4673- 4682.

**Park, D.H., Laivenieks, M., Guettler, M.V., Jain, M.K. and Zeikus, J.G. (1999)** Microbial utilization of electrically reduced neutral red as the sole electron donor for growth and metabolite production. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(7), 29 12-291 7.

**Park DH, Zeikus JG. (2000)** Electricity generation in microbial fuel cells using neutral red as an electronophore. *Appl Environ Microb*;66:1292–7.

**Park, D.H. and Zeikus, J.G. (2003)** Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation. *Biotechnol. Bioengin.* 8 1 (3), 348-355.

**Pham TH, Rabaey K, Aelterman P, Clauwaert P, De Schampelaire, Boon N, Verstrete W(2006)** Microbial fuel cells in relation to conventional anaerobic digestion technology. *Eng. Life Sci.* 6(3):285-292.

**Potter, M.C. (1911)** Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds. *Proc. Roy. Soc. London Ser. B* 84,260-276.

**Prescott M.L, Harley, Klein, (2002)** *Microbiology* 0-07-282905-2

**Qiao, Y., C. M. Li, S. J. Bao, Z. S. Lu et Y. H. Hong, (2008)** Direct electrochemistry and electrocatalytic mechanism of evolved *Escherichia coli* cells in microbial fuel cells. *Chem. Commun.:* 1290-1292.

**Rabaey K, Lissens G, Siciliano SD, Verstraete W.(2003)** A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency. *Biotechnology letters.* 2003;25(18):1531-5.

**Rabaey, K., Boon, N., Siciliano, S.D., Verhaege, M. and Verstraete, W. (2004)** Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate electron transfer. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(9),5 373-5382

**Rabaey, K., Boon, N., Hofte, M. and Verstraete, W. (2005a)** Microbial phenazine production enhances electron transfer in biofuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 39(9), 340 1-3408.

**Rabaey, K., Clauwaert, P., Aelteman, P. and Verstraete, W. (2005b)** Tubular microbial fuel cells for efficient electricity generation. *Environ. Sci. Technol.* 39(20), 8077-8082.

**Rabaey K, Verstraete W (2005).** Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *Trends Biotechnol* 2005;23:291–8.

**Reguera, G., McCarthy, K.D., Mehta, T., Nicoll, J.S., Tuominen, M.T. and Lovley, D.R. (2005)** Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature* 435, 1098-1 101.

**Reimers, C.E., Girguis, P., Stecher, H.A., Tender, L.M., Ryckelynck, N. and Whaling, P. (2006)** Microbial fuel cell energy from an ocean cold seep. *Geobiology* 4, 123-136.

**Ren, Z., Ward, T.E. and Regan, J.M. (2007)** Electricity production from cellulose in a microbial fuel cell using a defined binary culture and an undefined mixed culture. *Environ. Sci. Technol.* 41(13), 4781-4786.

**Rezaei F, Richard TL, Brennan RA, Logan BE (2007)** Substrate-Enhanced microbial fuel cells for improved remote power generation from sediment-based systems. *Environ. Sci. Technol.* 41:4053-4058.

**Rozendal, R.A., Hamelers, H.V.V. and Guisman, C.J.N. (2006b)** Effects of membrane cation transport on pH and microbial fuel cell performance. *Environ. Sci. Technol.* 40(17), 5206- 5211 .

**Taricska J.R., Long D.A., Chen P., Hung Y-T, and Zou S-W (2010)** Anaerobic digestion *Handbook of Environmental Engineering, Volume 8: Biological Treatment Processes*

**Ter Heijne, A., Hamelers, H.V.M., de Wilde, V., Rozendal, R.R. and Buisman, C.J.N. (2006)** Ferric iron reduction as an alternative for platinum-based cathodes in microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 40, 5200-5205.

**Tokuji I, Kenji K. (2003)** Bioelectrocatalyses-based application of quinoproteins and quinprotein-containing bacterial cells in biosensors and biofuel cells. *Biochim Biophys Acta* 2003;1647:121–6.

**Vega CA, Fernandez I. (1987)** Mediating effect of ferric chelate compounds in microbial fuel cells with *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus lactis*, and *Erwinia dissolvens*. *Bioelectrochem Bioenerg* ;17:217–22.

**Von Canstein, H., J. Ogawa, S. Shimizu et J. R. Lloyd, (2008)** Secretion of flavins by *Shewanella* species and their role in extracellular electron transfer. *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 615-623.

**Xia X, Cao X-xin, Liang P (2010)** Electricity generation from glucose by a *Klebsiella* sp. in microbial fuel cells. *Applied microbiology and biotechnology.* 2010;87(1):383-90.

**Zhang, T., C. Cui, S. Chen, H. Yang et P. Shen, (2008)** The direct electrocatalysis of *Escherichia coli* through electroactivated excretion in microbial fuel cell. *Electrochem. Commun.* 10: 293-297.

**Zhang X, Halme A. (1995)** MODELLING OF A MICROBIAL FUEL CELL PROCESS. Automation Technology Laboratory, Helsinki University of Technology, 02150 ESPOO, FINLAND. *Biotechnology Letters.* 17(8):809–814.

**Zhao, F., Hamisch, F., Schroder, U., Scholz, F., Bogdanoff, P. and Henmann, I. (2005)** Application of pyrolysed iron (II) phthalocyanine and CoTMPP based oxygen reduction catalysts as cathode materials in microbial fuel cells. *Electrochem. Commun.* 7, 1405-1410.

**Zhou M, Chi M, Luo J, He H, Jin T. 2011** An overview of electrode materials in microbial fuel cells. *Journal of Power Sources.*196(10):4427–4435.

# Annexes

---

## **Annexe 1 : méthode de dosage de la demande chimique en oxygène (DCO)**

**Principe :** Oxydation chimique des matières réductrices par un excès de  $K_2Cr_2O_7$ . Cette oxydation se réalise en milieu sulfurique ( $H_2SO_4$ ), en présence de sulfate d'argent ( $Ag_2SO_4$ ) comme catalyseur et sulfate de mercure ( $HgSO_4$ ), à ébullition à reflux pendant 2 heures dans un bloc chauffant.

### **Réactifs :**

- Acide sulfurique pur - sulfate d'argent, la dissolution du sulfate d'argent dans l'acide sulfurique dans une proportion de 23.4g pour 4.25kg d'acide sulfurique, donne le réactif acide.
- La solution de digestion est préparée à partir de 10.2g de bichromate de potassium préalablement séché, qui est introduit dans 500mL d'eau distillé. On ajoute ensuite à cette solution 167mL d'acide sulfurique pur et 33.3g de sulfate de mercure.

### **Mode opératoire :**

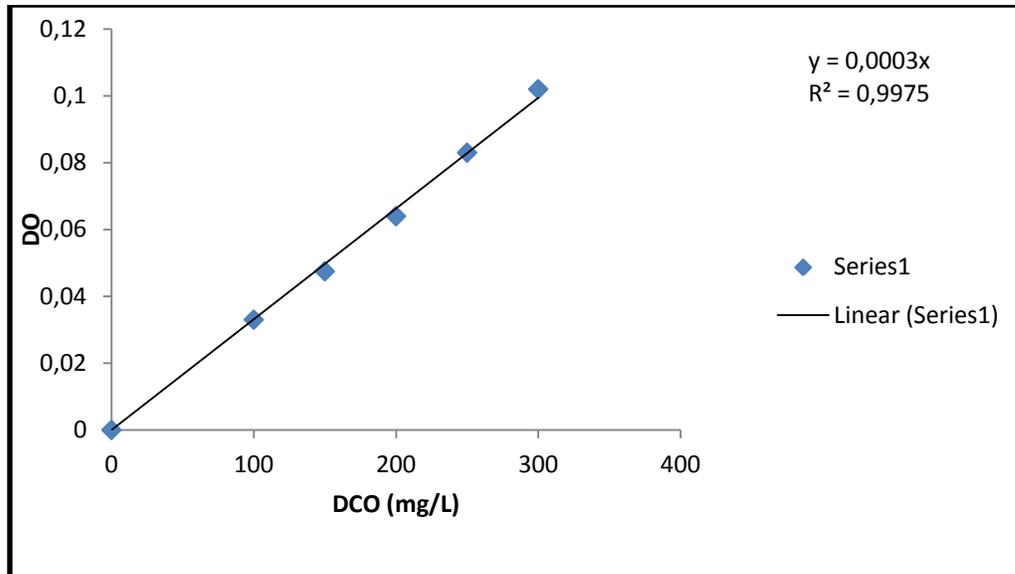
- Introduire dans un tube de DCO 2,5 mL de l'échantillon à analyser.
- Ajouter 1,5 ml de solution de digestion.
- Ajouter lentement et avec précaution 3,5 mL de réactif acide.
- Agiter pendant quelques secondes à l'aide de l'agitateur vortex.
- Porter à l'ébullition dans un bloc chauffant pendant 2 h.
- Laisser refroidir jusqu'à température ambiante.

### **Expression des résultats :**

- Lire la valeur de la densité optique au spectrophotomètre pour une longueur d'onde de 600nm.

- la valeur lue est alors convertie en concentration de DCO par le biais d'une courbe d'étalonnage.

## **Annexe2 : courbe d'étalonnage de la DCO.**



### Annexe 3 : Méthode de dosage des nitrites :

**Principe :** Les nitrites réagissent avec le Sulfanilamide pour former un composé diazoïque qui, après couplage avec le N1 Naphtyléthylènediamine dichloride donne naissance à une coloration rose mesurée à 543nm.

**Réactifs :** Dans une fiole de 250ml, contenant 150 ml d'eau distillée, ajouter dans l'ordre :

-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 25 ml.

-Sulfanilamide (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>S) 10g.

-dichlorure de N-(1-naphtyl) éthylène diamine 0,5 g.

Une fois le mélange totalement dissous, compléter à 250ml avec de l'eau distillée.

Mettre le réactif dans un flacon brun et le conserver à 4°C à l'abri de la lumière.

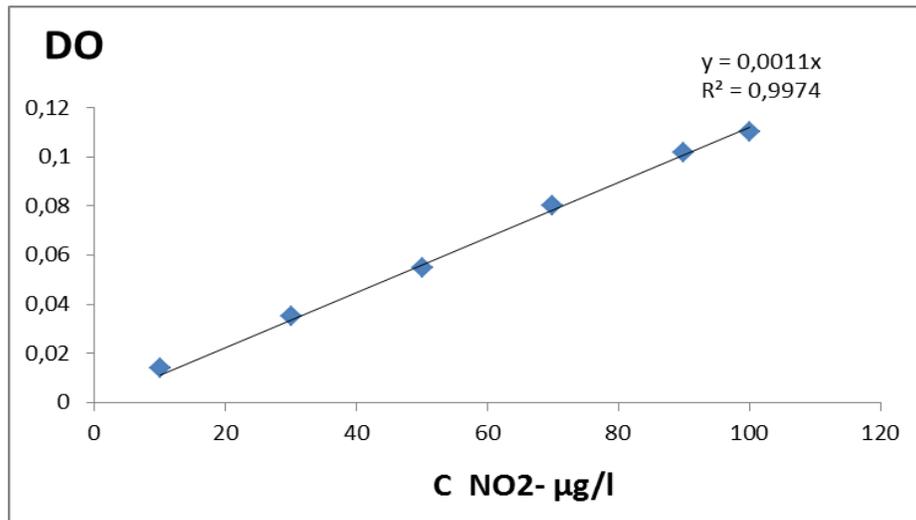
#### Mode opératoire :

- Prélever 20ml d'échantillon et l'introduire dans un tube à essai.

- Ajouter 0,4 ml du réactif de diazotation.

- Attendre 10 minutes et effectuer les mesures à la longueur d'onde  $\lambda=537$  nm.

-La teneur en nitrites est déduite du graphe d'étalonnage.



**Courbe d'étalonnage des nitrites**

#### **Annexe 4 :Méthode de dosage des nitrates :**

**Principe :** Transformation des nitrates en dérivé nitro-phenol-sulfonique coloré au moyen d'acide sulfophénique.

**Réactifs :** Dissoudre 12 g de phénol dans 144 ml d'acide sulfurique, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (d=1,84) et mettre le mélange au bain marie pendant 2 heures pour que la réaction soit totale.

#### **Mode opératoire :**

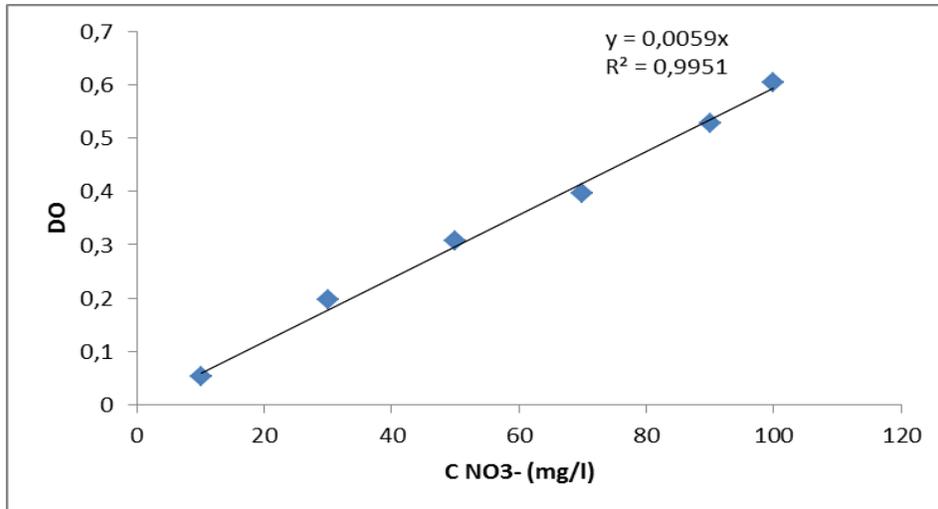
-Prendre 5 ml de l'échantillon à analyser, le faire évaporer à sec.

-Laisser refroidir et ajouter 2 ml de réactif sulfophénique.

-Attendre 10 minutes, puis ajouter 15 ml d'eau déminéralisée et 10 à 15 ml d'ammoniaque qui développe la couleur jaune.

-Compléter à 50 ml avec de l'eau déminéralisée. -Effectuer la lecture sur le spectrophotomètre à  $\lambda = 440 \text{ nm}$ .

-La teneur en nitrates est déduite du graphe d'étalonnage.



**Courbe d'étalonnage des nitrates**

**Annexe 5 : Methode de dosage de l'ammoniaque :**

**Reactifs :** Solution mère d'azote ammoniacal a 100mg de  $\text{NH}_4 \cdot \text{L}^{-1}$  : Dissoudre 297mg de chlorure d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) dans l'eau deionisée et compléter a 1000ml dans une fiole jaugée.

Solution étalon a 10mg de  $\text{NH}_4 \cdot \text{L}^{-1}$  : diluer la solution mère au dixième.

**Mode opératoire :**

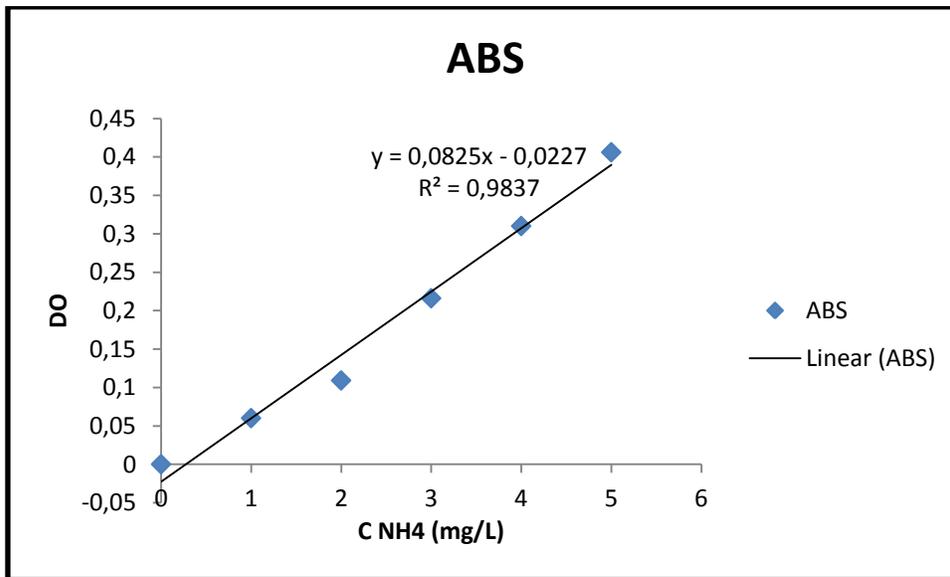
Dans une série de fioles jaugées de 50ml, introduire de la solution étalon a 100mg de  $\text{NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$  préalablement diluée au dixième selon le tableau suivante :

Tableau 1 – Gamme étalon pour le dosage de l’ammoniaque

Volume de solution étalon (mL)	0	2.5	5	7.5	10	12.5
Concentration en $\text{NH}_4^+$ en $\text{mg.L}^{-1}$	0	1	2	3	4	5

Réalisation de la gamme pour la méthode de Nesler :

- Compléter a 25ml avec l’eau distillé et ajouter 1ml de la solution de la solution de tartrate double de sodium et de potassium. Mélanger.
- Ajouter 1ml de réactif de Nesler et mélanger a nouveau.
- Attendre 10 minute et effectuer les mesures spectrophotométrique a la longueur d’onde de 420nm après avoir règle l’appareil au zéro d’absorbance par rapport a l’eau.
- La teneur en ammoniaque est déduite du graphe d’étalonnage.



Courbe d’étalonnage de l’ammoniaque

## الملخص:

خلايا الوقود الميكروبية هي أجهزة تسمح بتنظيف النفايات السائلة المحملة بالمواد العضوية، مع تحويل الطاقة الكيميائية المتواجدة بها الى الطاقة الكهربائية وذلك عن طريق عمل خلايا ميكروبية.

قمنا بمقارنة أداء البطاريات الحاوية على كتلة حيوية حرة مع تلك التي تحتوي على كتلة حيوية مثبتة على الحامل. كما قمنا بتغيير نوعية كل من الحامل، القطب الكهربائي، الكائنات الحية الدقيقة المستعملة، وكذا أبعاد المفاعل.

أظهرت التجارب أن تثبيت الكتلية الحية على حبات البولي ايثيلين تمكننا من تحسين أداء البطاريات، وأن الحمأة اللاهوائية تقدم أفضل النتائج. من جهة أخرى، استخدام أقطاب من الفولاذ المقاوم للصدأ مكنتنا من الحصول على نتائج أفضل من تلك المتحصل عليها باستخدام أقطاب الجرافيت. و أيضا زيادة طول المفاعل تمكننا من زيادة الطاقة المولدة من البطاريات

**الكلمات المفتاحية:** خلايا الوقود الميكروبية، الكائنات الحية الدقيقة، مياه الصرف الصناعية

## Résumé :

Les piles à combustibles microbiennes sont des dispositifs qui permettent de dépolluer un effluent chargé en matière organique tout en convertissant l'énergie chimique qui s'y trouve en énergie électrique par l'intermédiaire de réactions catalysées par des microorganismes.

Nous avons comparé les performances de piles contenant une biomasse libre à celles contenant une biomasse fixée sur un support. Nous avons fait varier la nature du support, de l'électrode, et des microorganismes et les dimensions du réacteur.

Les expériences ont montré que l'immobilisation de la biomasse sur des billes de polyéthylène permettait d'améliorer les performances des piles, que les boues anaérobies donnaient de meilleurs résultats, et que l'utilisation d'électrodes en acier inoxydable permettait d'obtenir de meilleurs résultats qu'avec des électrodes en graphite. Aussi une augmentation de la longueur du réacteur permet d'augmenter la puissance générée par les piles.

**Mots clés :** piles à combustibles microbiennes, biomasse bactérienne, effluents industriels.

## Summary :

Microbial fuel cells are devices that can be used to reduce the organic load in an industrial wastewater, while generating electricity at the same time. The reactions are catalyzed by microorganisms.

In this work, we compared the performances of microbial fuel cells containing free cultures to the performances of microbial fuel cells containing immobilized cultures. We compared the efficiency of different microbe sources, electrode materials, carriers, and we studied the influence of the reactor volume on the performances of the microbial fuel cells.

The experiments showed that immobilizing the microorganisms on polyethylene beads improved the performances of the microbial fuel cells. Anaerobic sludge and stainless steel are better suited for a usage in microbial fuel cells.

We also noticed that increasing the reactor volume improved the power output of the microbial fuel cells.

**Keywords:** Microbial fuel cells, microorganisms, industrial wastewater.