



THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne

En Cotutelle Internationale avec
Université Libanaise

pour le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Chimie
Ecole doctorale SDLM

présentée par

Rawa Abdallah

Préparée à l'unité de recherche UMR 6226
Institut des Sciences Chimiques de Rennes
UFR Sciences et Propriétés de la Matière

**Développement d'un
procédé intégré pour
la dégradation des
nitrates – Couplage
d'un procédé
électrochimique et
d'un procédé
biologique**

**Thèse soutenue à Rennes
le 29 septembre 2014**

devant le jury composé de :

Fethi BEDIQUI

Directeur de Recherche, ENCP/ *rapporteur*

Claire ALBASI

Directeur de recherche, ENSIACET/ *rapporteur*

Philippe HAPIOT

Directeur de Recherche, Université de Rennes 1/ *examineur*

Fawaz EL-OMAR

Professeur, Université Libanaise / *examineur*

Abdeltif AMRANE

Professeur, Université de Rennes 1/ *examineur*

Hayet DJELAL

Enseignant, EME/ *examineur*

Didier FLONER

Maître de conférences, Université de Rennes 1 / *Co- directeur de thèse*

Samir TAHA

Professeur, Université Libanaise / *Co-directeur de thèse*

Thierry LABASQUE

Ingenieur de recherche, Université de Rennes1/ *Membre invité*

Resumé

Ce travail porte sur la destruction quantitative et d'une manière respectueuse pour l'environnement de solutions concentrées en nitrates par deux procédés différents. Dans les deux cas, la solution de nitrates est d'abord réduite électrochimiquement en ammoniums sur électrode de cuivre avec une sélectivité élevée, ceci quel que soit le pH de la solution d'électrolyse. Dans le premier procédé, l'ammonium est ensuite oxydé en azote gazeux à l'aide d'ions hypochlorites générés électrochimiquement. Une excellente sélectivité réactionnelle en azote de 91,5% est obtenue avec des rendements chimiques et faradiques élevés pour la réaction de réduction des nitrates en diazote, accompagnée d'une consommation énergétique basse. Le deuxième procédé est un couplage électrochimique / biologique où les solutions d'ammonium seront utilisées comme substrat azoté pour produire du biohydrogène via des boues traitées thermiquement. Une consommation complète de la solution d'ammonium provenant de la réduction des nitrates est obtenue. Un rendement maximal de 0,35 mole H₂/mole de glucose est atteint en utilisant des boues activées collectées d'un bassin d'aération contre 1,1 mole H₂/mole de glucose produit dans le cas des boues prélevées d'un digesteur anaérobie.

Mots-Clés : Électroréduction des nitrates, cellule électrochimique à percolation, ammonium, cathode poreuse de cuivre, couplage, azote gazeux, fermentation obscure, biohydrogène.

Abstract

This work deals with the quantitative and environmentally friendly destruction of concentrated nitrates solutions using two different processes. In both cases, the nitrates solution was firstly reduced electrochemically into ammonium on a porous copper electrode. Whatever the initial pH of the electrolytic solution, a high ammonium selectivity was obtained. In the first process, the ammonium was subsequently oxidized to nitrogen gas by hypochlorite ions generated electrochemically. An excellent selectivity of 91.5% with high current efficiency and high chemical yield toward the nitrogen formation was recorded, with a low power consumption. The second method is an electrochemical/biological coupling process where the obtained ammonium solution will be used as a nitrogen source to produce biohydrogen (H₂) via heat-treated sludge cultures. A complete assimilation of the ammonium solution resulting from the electroreduction of nitrate was obtained. A maximum hydrogen yield of 0.35 mol H₂/mole glucose was achieved using activated sludge collected from an aeration tank versus 1.1 mole H₂/mole glucose produced in the case of sludge taken from an anaerobic digester.

Key-Words: Nitrates electroreduction, electrochemical flow cell, ammonium, porous copper cathode, coupling process, nitrogen gas, dark fermentation, biohydrogen.

Remerciements

Ce mémoire est le fruit de trois années de recherche effectuées à l'Institut des Sciences Chimiques de Rennes au sein de l'équipe Matière Condensée et Systèmes Electroactifs (MaCSE) et au centre AZM pour la recherche en biotechnologies et ses applications de l'Université Libanaise.

Il est également le résultat d'une collaboration avec l'équipe Chimie et Ingénierie des Procédés (CIP) de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes et l'Ecole des Métiers de l'environnement (EME).

Ma première pensée va tout naturellement à Monsieur Didier Floner, mon co-directeur de thèse (Université de Rennes 1), dont j'ai apprécié sa grande chaleur humaine et sa disponibilité. Je le remercie pour ses conseils, son soutien sans limite et la confiance qu'il m'a témoignée et pour m'avoir permis de mener ce projet à son terme. Il m'a aussi constamment apporté de l'aide sur le plan personnel. Qu'il trouve ici le témoignage de ma reconnaissance.

Mes plus sincères remerciements pour l'ensemble du jury, c'est un honneur pour moi que ses membres aient accepté de juger ma thèse.

Un grand merci pour Madame Florence Geneste, Monsieur Samir Taha (co-directeur de thèse - Université Libanaise), Monsieur Abdelatif Amrane, Madame Florence Fourcade et Madame Hayat Djelal pour leur participation à l'encadrement de ma thèse.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur Thierry Labasque, ingénieur de recherche au laboratoire Géosciences de l'Université de Rennes 1, pour le dosage des gaz et pour ses conseils précieux.

Je remercie du fond de mon cœur les organismes qui ont soutenu financièrement mes études de doctorat : l'Université Libanaise pour la bourse d'excellence « *Azm&Saadé* » et campus France pour la bourse d'excellence « *Eiffel* ». Je remercie l'ensemble des personnes de l'équipe MaCSE et CIP, en particulier Dominique Paris et Aurélie Gérard, pour leur sympathie et leurs précieuses aides techniques. Je remercie également tous les gens qui sont passés dans le laboratoire pour leur aide et pour les bons moments passés en leur compagnie.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à mes parents pour leur soutien et sacrifices. Je remercie aussi mon mari pour son soutien moral. Un grand merci à mes frères, mes sœurs et à tous mes amis.

A mes parents,

mon mari,

mes frères, mes sœurs

et à tous ceux qui me sont chers.

Table des matières

<i>Liste des tableaux</i>	i
<i>Liste des figures</i>	iii
<i>Liste des schémas</i>	vi
<i>Lexiques</i>	vii
<i>Liste des acronymes et abréviations</i>	ix
<i>Introduction générale</i>	1
Chapitre I : Synthèse Bibliographique	5
I. GENERALITES SUR LES NITRATES	5
I.1. Cycle de l'azote	5
I.2. Origine de la pollution par les nitrates	7
I.3. Conséquences de la pollution par les nitrates	8
I.3.1. Nitrates et environnement	8
I.3.2. Nitrates et santé humaine	9
I.3.3. Normes et recommandations	9
II. TRAITEMENT DES NITRATES	10
II.1. Traitement des nitrates à l'échelle industrielle	10
II.1.1. Procédés physico-chimiques	10
II.1.1.1. Evacuation des concentrats	13
II.1.2. Procédés biologiques	14
II.1.2.1. Principe	14
II.1.2.2. Inconvénients et limites	15
II.1.2.3. Différents types de procédés de biodénitrification	15
II.1.3. Couplage entre un procédé biologique et un procédé physico-chimique	17
II.1.3.1. Couplage échange ionique et dénitrification biologique	17
II.1.3.2. Bioréacteur à membrane	18
II.2. Traitement des ions nitrate à l'échelle du laboratoire	20
II.2.1. Traitement par UV	20
II.2.1.1. Généralité sur les procédés d'oxydation avancée	20
II.2.1.2. Procédé de destruction des ions nitrate par photolyse	21
II.2.2. Traitement par électrochimie	22

II.2.2.1. Réduction électrochimique directe des ions nitrate en azote gazeux _____	22
II.2.2.2. Transformation des ions nitrate par un couplage redox _____	23
II.2.2.3. Avantages et perspectives des traitements électrochimiques _____	24
III. CONCLUSION _____	25
Chapitre II : Matériels et Méthodes _____	26
INTRODUCTION _____	26
I. CELLULE ELECTROCHIMIQUE _____	27
I.1. Cellule électrochimique pour l'analyse _____	27
I.1.1. Principe _____	27
I.1.2. Analyse électrochimique _____	28
I.2. Cellule électrochimique pour l'électrolyse _____	28
I.3. Cellule électrochimique à percolation _____	30
I.3.1. Principe _____	30
I.3.2. Electrode poreuse : Feutre de graphite _____	32
I.3.3. Conclusion _____	34
II. ELECTRODEPOSITION : PRINCIPE ET MONTAGE _____	35
II.1. Principes généraux d'électrodéposition des métaux _____	35
II. 2. Conditions expérimentale pour l'électrodéposition du cuivre sur une électrode poreuse de graphite _____	37
II.3.1. Montage expérimental _____	37
II.3.2. Solution expérimentale _____	38
III. ELECTROLYSE : APPAREILLAGES _____	39
III.1. Montage électrochimique _____	39
III.1.1. Solutions d'électrolyse _____	39
III.1.2. Montage expérimental _____	39
III.1.3. Définitions des paramètres _____	40
IV. PROCEDURES EXPERIMENTALES DE PRODUCTION DE BIOHYDROGENE ____	41
IV.1. Prétraitement électrochimique des ions nitrates : préparation de la solution d'ammonium _	41
IV.2. Production de biohydrogène par fermentation obscure du glucose _____	42
IV.2.1. Préparation du milieu de culture _____	42
IV.2.2. Préparation des boues activées _____	43
IV.2.3. Montage expérimental _____	44
V. APPAREILLAGE ET METHODE DE CARACTERISATION ET DETECTION _____	46
V.1. Chromatographie ionique _____	46
V. 2. Spectrophotomètre U.V _____	47
V. 3. Micro GC : Analyse des gaz _____	48

V.4. GC-MS : identification des métabolites de fermentation	49
V.5. GC : Mesure des concentrations des métabolites présents en phase liquide	50
V.6. Chromatographie liquide à Haute Performance : Mesure de la concentration en glucose	51
V.7. Autres appareillages	52
VI. METHODE D'ANALYSE	52
VI.1. Méthode de Caporal-Gautier	52
VI. 1.1. Préparation des solutions témoins	53
VI. 1.2. Fidélité de la méthode	53
VI. 1.3. Spécificité de la méthode	54
IV. 1.4. Droites d'étalonnages	55
IV.2. Evaluation du domaine d'analyse	56
 Chapitre III : Electroréduction des ions nitrate en ammonium	 58
INTRODUCTION	58
I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	58
I.1. Paramètres influençant l'électroréduction des ions nitrate	58
I.2. Nature du matériau pour la cathode	60
I.3. Influence du pH	61
I.3.1. Réduction électrochimique des ions nitrate sur cuivre dans un milieu acide	61
I.3.2. Réduction électrochimique des ions nitrate sur cuivre dans un milieu alcalin	63
I.3.3. Réduction électrochimique des ions nitrate sur cuivre dans un milieu neutre	65
II. ELECTRODE POREUSE DE CUIVRE	66
II.1. Principe général d'électrodeposition sur électrode poreuse : exemple du nickel	66
III.2. Electrodéposition du cuivre	69
II.2. 1. Electrodéposition du cuivre sur un feutre de graphite	69
II.2. 2. Electrodéposition du cuivre sur un feutre de graphite métallisé au nickel	71
III.2.3. Conclusion	74
III. ELECTROLYSE D'UNE SOLUTION DE NITRATES	74
III.1. Analyse électrochimique sur électrode de cuivre	75
III.1. 1. Etude dans un milieu acide de pH = 4,8	75
II.1.2. Etude dans un milieu neutre de pH = 7,2	76
III.2. Electrolyse d'une solution de NO₃⁻ en NH₄⁺	77
II.2.1. Optimisation de la réduction électrochimique des NO ₃ ⁻ en NH ₄ ⁺ dans un milieu acide et neutre	77
III.2.1.1. Effet du débit et du pH sur l'efficacité de l'électroréduction des nitrates	78
III.2.1.2. Effet de l'intensité du courant appliqué et du pH sur l'efficacité de l'électroréduction	79
III.2.2. Réduction électrochimique des NO ₃ ⁻ en NH ₄ ⁺ en milieu alcalin	82
IV. CONCLUSION	82

Chapitre IV : Elimination des ions nitrate par électrolyses couplées 84

INTRODUCTION	84
I. BIBLIOGRAPHIE	85
I.1. Origine et principe du couplage électrochimique	85
I.2. Pilote de laboratoire	87
I.3. Pilote pour l'industrie : Brevet	89
II. CELLULE A PERCOLATION ET PROCEDE PAR COUPLAGE ELECTROCHIMIQUE	91
II.1. Etude analytique de l'oxydation des ions chlorure en milieu basique	92
II.1.1. Oxydation des ions chlorure sur une électrode de platine	92
II.1.2. Oxydation de Cl ⁻ sur une électrode de carbone vitreux	94
II.2. Electrolyses couplées	96
II.2.1. Cellule à percolation à deux contre électrode en platine : conception n°1	97
II.2.2. Cellule à percolation à une contre électrode en platine : conception n°2	100
II.2.3. Cellule à percolation à une contre électrode en feutre de graphite : conception n°3	101
II.2.3.1. Nature de l'anode	103
II.2.3.2. Circuit d'électrolyse	103
II.2.3.3. Contrôle de la quantité d'ions chlorure oxydés	104
II.3. Consommation électrique	105
II.3.1. Calcul du travail électrique	106
II.3.2. Comparaison aux autres procédés	106
IV. CONCLUSION	107

Chapitre V : Production de biohydrogène à partir d'une solution d'ammonium résultant de l'électroréduction des ions nitrate 109

INTRODUCTION	109
I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	111
I.1. Contexte énergétique	111
I.2. Différentes voies de production du dihydrogène	112
I.3 Processus biologiques anaérobies de production de dihydrogène	113
I.3.1. Digestion anaérobie	113
I.3.2. Biochimie des systèmes enzymatiques producteurs de dihydrogène	115
I.3.3. Principes généraux de production de biohydrogène par voie anaérobie	116
I.3.4. Facteurs affectant la fermentation anaérobie des composés organiques	117
I.3.4.1. Choix de l'inoculum et du prétraitement de la biomasse	118
I.3.4.2. pH du milieu de culture	119
I.3.4.3. Température	120
I.3.4.4. Nature et concentration des substrats	120

1.3.4.5. Composition du milieu en nutriments et en métaux _____	121
1.3.4.6. Autres difficultés _____	123
I.4. Valorisation du dihydrogène _____	124
II. PRODUCTION DE DIHYDROGÈNE VIA DES BOUES COLLECTÉES DANS UN BASSIN D'AÉRATION _____	126
II.1. Production de biohydrogène en utilisant une solution commerciale de NH₄⁺ _____	127
III.1.1. Production de biohydrogène à un pH de 5,5 _____	127
II.1.2. Production de biohydrogène à un pH de 6,2 _____	129
II.1.3. Effet du pH et de la concentration initiale en glucose sur la production de biohydrogène _____	129
II.1.4. Consommation de l'ammonium et mesure du pH final _____	131
II.1.5. Analyse du biogaz _____	132
II.1.6. Conclusion _____	133
II.2. production de biohydrogène en utilisant la solution de NH₄⁺ résultant de l'électroreduction des nitrates _____	133
II.2.1. Milieu tampon acétique _____	133
II.2.2. Milieu basique NaOH 0,1 mol.L ⁻¹ _____	134
II.2.3. Milieu phosphorique _____	134
III.2.3.1. Analyse de la solution après électrolyse _____	136
III.2.3.2. Résultats de la production de biohydrogène _____	136
II.2.4. Conclusion _____	137
III. PRODUCTION DE BIOHYDROGÈNE VIA DES BOUES ANAÉROBIES _____	137
III.1. Effet du pH initial _____	138
III.2. Effet de la concentration initial de glucose _____	142
III. 3. Comparaison des rendements de production du biohydrogène avec ceux de la littérature _	145
IV. CONCLUSION _____	146
<i>Conclusion générale et perspectives _____</i>	<i>148</i>
<i>Références bibliographiques _____</i>	<i>152</i>

Liste des tableaux

<i>Tableau I.1 : Résumé des normes et recommandations relatives aux nitrates.</i>	10
<i>Tableau I.2 : Récapitulatif des différents procédés physico-chimiques de traitement des nitrates, principes, avantages et inconvénients.</i>	12
<i>Tableau I.3 : Récapitulatif des différents procédés biologiques de traitement des nitrates, principes, avantages et inconvénients.</i>	16
<i>Tableau I.4 : Quelques exemples de BRM.</i>	19
<i>Tableau I.5 : Valeurs des potentiels thermodynamiques des couples mis en jeu dans la réduction électrochimique des ions nitrate [29].</i>	22
<i>Tableau II. 6: Composition du milieu minéral de culture utilisé pour produire du biohydrogène.</i>	42
<i>Tableau II.7 : Temps de rétention des ions nitrate, nitrite, chlorure et hypochlorite.</i>	47
<i>Tableau II.8 : Longueur d'onde d'absorption de l'ion ammonium et de l'hydrazine.</i>	48
<i>Tableau II.9 : Coefficients de variation inter-jours du dosage des NO_3^- par chromatographie ionique.</i>	54
<i>Tableau II.10 : Coefficients de variation inter-jours du dosage des NO_2^- par chromatographie ionique.</i>	54
<i>Tableau II.11 : Equations des droites d'étalonnages pour le dosage de NO_3^-, NO_2^-, NH_4^+ et N_2H_4.</i>	56
<i>Tableau II.12 : Limite de détection et de quantification des ions nitrate dans l'eau distillée.</i>	57
<i>Tableau II.13 : Paramètres optimisés pour l'électrodéposition du nickel dans un feutre de graphite.</i>	67
<i>Tableau III.14 : Conditions expérimentales pour réaliser la métallisation au cuivre d'un feutre de graphite métallisé au nickel.</i>	72
<i>Tableau III.15 : Effet du débit et du pH sur l'électroréduction des ions nitrates en ammonium (concentration initiale en nitrates = 3 g.L^{-1}).</i>	78
<i>Tableau III.16 : Effet de l'intensité du courant appliquée et du pH sur l'efficacité d'électroreduction. ($R_i = i_{\text{app}} / i_{\text{th}}$; concentration initiale de nitrate = 3 g.L^{-1}; débit = 2 mL.min^{-1}).</i>	80
<i>Tableau III.17 : Réduction électrochimique des nitrates en milieu alcalin ($\text{NaOH } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$).</i>	82
<i>Tableau IV.18 : récapitulatif des résultats des électrolyses couplées des ions nitrate obtenus par différents laboratoires [41].</i>	88
<i>Tableau IV.19 : Comparaison de la consommation d'électricité enregistrée dans différents brevets.</i>	90
<i>Tableau IV.20: Bilan théorique en ammoniac et hypochlorites en sortie de cellule.</i>	96
<i>Tableau IV.21 : Concentration des solutions en nitrates et hypochlorites.</i>	97
<i>Tableau IV.22 : Effet de l'intensité du courant appliqué et de la concentration initiale en NaCl sur l'efficacité d'électrolyses couplées des nitrates : $[\text{NO}_3^-] = 3 \text{ g.L}^{-1}$; débit = 2 mL.min^{-1}.</i>	99
<i>Tableau IV.23 : Effet de la concentration initiale en NaCl sur l'efficacité d'électrolyses couplées des NO_3^-.</i>	100

<i>Tableau IV.24 : Effet du pH sur l'efficacité du procédé d'électrolyses couplées des ions nitrate (cellule à percolation avec membrane). $[NO_3^-] = 3 \text{ g.L}^{-1}$; $R_i = 1$; débit = 2 mL.min^{-1} ; $[NaCl] = 10 \text{ g.L}^{-1}$; cathode : électrode poreuse de cuivre, anodes : électrode de platine et électrode de feutre graphite.</i>	105
<i>Tableau IV.25 : comparaison des consommations électriques de divers procédés développés dans la littérature.</i>	107
<i>Tableau V.26 : Principaux procédés chimiques et biologiques de production du dihydrogène [214].</i>	112
<i>Tableau V.27 : Effet de la concentration de l'azote sur la production de dihydrogène par fermentation obscure [246].</i>	122
<i>Tableau V.28 : Concentrations en métabolites liquides à différentes concentrations initiales en glucose et à pH= 5,5 et 6,2. Les incertitudes sont basé sur des expériences dupliquées (Solution commerciale de NH_4^+ ; concentration initiale des boues anaérobies traitées thermiquement : 4 g.L^{-1}).</i>	130
<i>Tableau V.29 : Inhibition de la production de biohydrogène par le tampon acétique $2.10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$. Les incertitudes sont basées sur des expériences dupliquées. (Solution commerciale de NH_4^+ ; concentration initiale des boues aérobies traitées thermiquement : 4 g.L^{-1} ; pH initial = 5,5 ; concentration initiale de glucose = 5 g.L^{-1}).</i>	130
<i>Tableau V.30 : Comparaison des résultats de la production de H_2 entre la solution d'ammonium (3 g.L^{-1}) résultant de l'électroreduction des ions nitrate et la solution commerciale. Les incertitudes sont basées sur des expériences dupliquées. (Glucose initial 15 g.L^{-1} ; pH initial = 5,5 ; concentration initiale des boues aérobies traitées thermiquement = 4 g.L^{-1} ; temps d'incubation = 48 h).</i>	136
<i>Tableau V.31 : Effet du pH initial sur la production de H_2 par des boues anaérobies traitées thermiquement. Les incertitudes sont basées sur des expériences dupliquées. (Solution expérimentale de NH_4^+ ; concentration initiale en inoculum : 4 g.L^{-1} ; concentration initiale en glucose : 15 g.L^{-1}).</i>	139
<i>Tableau V.32 : Production de dihydrogène en fonction de la concentration initiale de glucose. Les incertitudes sont basées sur des expériences dupliquées. (Solution expérimentale de NH_4^+ ; pH = 6,5 ; concentration initiale des boues anaérobies traitées thermiquement : 4 g.L^{-1}).</i>	143
<i>Tableau V.33 : Concentrations en métabolites liquides à différentes concentrations initiales en glucose. Les incertitudes sont basé sur des expériences dupliquées (Solution expérimentale de NH_4^+ ; pH initial : 5,5 ; concentration initiale des boues anaérobies traitées thermiquement : 4 g.L^{-1}).</i>	144
<i>Tableau V.34 : Comparaisons des rendements de production de biohydrogène avec quelques études de la littérature.</i>	145

Liste des figures

<i>Figure I.1 : Cycle de l'azote [24].</i>	5
<i>Figure I.2 : Couplage échange ionique et dénitrification biologique [58].</i>	17
<i>Figure II.3 : Cellule électrochimique pour analyse (A) cellule électrochimique pour électrolyse (B).</i>	27
<i>Figure II.4 : Procédé « filtre-presse »</i>	30
<i>Figure II.5 : Schéma général d'une cellule à percolation. a, électrode poreuse ; b, contre-électrodes ; c, membrane cationique ; d, solution avant électrolyse; e, solution après électrolyse.</i>	31
<i>Figure II.6 : Schéma éclaté d'une cellule à percolation.</i>	32
<i>Figure II.7 : Images MEB des feutres de graphite MERSEN (RVG 4000).</i>	33
<i>Figure II.8 : Cellule d'électrodéposition.</i>	36
<i>Figure II.9 : Montage expérimental d'électrodéposition du cuivre.</i>	37
<i>Figure II.10 : Montage expérimental utilisé pour l'électrolyse des nitrates.</i>	40
<i>Figure II.11 : Chaîne de traitement des eaux usées dans une station d'eau d'épuration [132].</i>	43
<i>Figure II.12 : Dispositif expérimental utilisé pour la production de biohydrogène en mode « batch ».</i>	45
<i>Figure II.13 : Equipement de la chromatographie ionique.</i>	46
<i>Figure II.14 : Spectrophotomètres UV-visible.</i>	47
<i>Figure II.15 : chromatographie en phase gazeuse (Micro GC).</i>	48
<i>Figure II.16 : Chromatogramme GC-MS et identification des pics correspondants aux métabolites présents en phase liquide (pH initial = 6,5 ; concentration du glucose initiale = 5 g.L⁻¹ ; temps d'incubation 48 h, boues anaérobies traitées thermiquement).</i>	50
<i>Figure II.17 : Chaîne analytique de Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC).</i>	51
<i>Figure II.18 : Montage pour analyse par HPLC.</i>	52
<i>Figure II.19 : Relation linéaire entre concentration retrouvée et concentration introduite des ions nitrate et des ions nitrite.</i>	55
<i>Figure III.20 : Facteurs influençant une réaction électrochimique [147].</i>	59
<i>Figure III.21 : feutre de graphite métallisé au nickel.</i>	68
<i>Figure III.22 : Fibre de graphite métallisé au nickel. Coupe transversale.</i>	68
<i>Figure III.23 : Métallisation au cuivre d'un feutre de graphite natif.</i>	70
<i>Figure III.24 : Electrodéposition successive d'un feutre de graphite au nickel puis au cuivre</i>	71
<i>Figure III.25 : Métallisation au cuivre d'un feutre de graphite préalablement métallisé au nickel. (A) grossissement × 100 ; (B) grossissement × 1000 ; (C) grossissement × 5000.</i>	73
<i>Figure III.26 : Voltampérogrammes cycliques obtenus avec une électrode de cuivre (20 mm²).</i>	75
<i>Figure III.27 : Voltampérogrammes obtenus avec une électrode de cuivre (20 mm²).</i>	76
<i>Figure III.28 : Effet de l'intensité du courant appliqué et du pH sur le rendement faradique.</i>	81

<i>Figure IV.29 : Schéma représentant l'électrolyseur multi cellulaires [189].</i>	90
<i>Figure IV.30 : Voltampérogrammes linéaires obtenus sur une électrode de platine en milieu basique (NaOH 0,1 mol.L⁻¹) en absence et en présence de NaCl à 10 g.L⁻¹. Vitesse de balayage = 20 mV.s⁻¹, pH = 13 et T ambiante.</i>	93
<i>Figure IV.31 : Voltampérogrammes cycliques obtenus pour l'oxydation de NH₃ sur une électrode de platine en milieu basique (NaOH 0,1M) en absence et en présence de NaCl à 10 g.L⁻¹. Vitesse de balayage = 20 mV.s⁻¹, pH = 13 et T ambiante.</i>	93
<i>Figure IV.32 : Voltampérogrammes linéaires obtenus sur une électrode de carbone vitreux en absence et en présence de NaCl à 10 g.L⁻¹. Vitesse de balayage = 20 mV.s⁻¹, pH = 13 et T ambiante.</i>	94
<i>Figure IV.33 : Voltampérogrammes cycliques obtenus pour l'oxydation de NH₃ sur une électrode de carbone vitreux en absence et en présence de NaCl à 10 g.L⁻¹. Vitesse de balayage = 20 mV.s⁻¹, pH = 13 et T ambiante.</i>	95
<i>Figure IV.34 : Schéma proposé d'oxydation de l'ammoniac à l'interface électrode/solution.</i>	96
<i>Figure IV.35 : Conception n°1 du montage de la cellule à percolation.</i>	98
<i>Figure IV.36 : Schéma de la cellule à percolation avec membrane utilisée dans le procédé d'électrolyses couplées des ions nitrate. a, cathode poreuse de Cu; b, Anode de Pt ; c, membrane cationique ; d, anode poreuse de feutre de graphite.</i>	101
<i>Figure IV.37 : Montage expérimental utilisé pour l'électrolyse couplée des ions nitrate (cellule avec membrane).</i>	102
<i>Figure V.38 : Schéma réactionnel général du processus de biodégradation anaérobie de la matière organique complexe [226].</i>	114
<i>Figure V.39 : Production anaérobie de dihydrogène à partir du glucose [228].</i>	115
<i>Figure V.40 : Schéma de principe d'une pile à combustible Hydrogène / Oxygène [304].</i>	125
<i>Figure V.41 : Variation des rendements en H₂ et de la consommation de glucose en fonction de la concentration initiale de glucose à pH 5,5 (A) et pH 6,2 (B). Les barres d'erreur sont basées sur des expériences dupliquées. (Solution commerciale de NH₄⁺ ; concentration initiale des boues aérobies traitées thermiquement : 4 g.L⁻¹).</i>	128
<i>Figure V.42 : Influence du pH et de la concentration initiale de glucose sur la consommation de NH₄⁺ et le pH final. Les barres d'erreur sont basées sur des expériences dupliquées. (Solution commerciale de NH₄⁺ ; concentration initiale des boues aérobies traitées thermiquement : 4 g.L⁻¹).</i>	131
<i>Figure V.43 : Composition du biogaz à pH 5,5 et 6,2. Les barres d'erreur sont basées sur des expériences dupliquées. (Solution commerciale de NH₄⁺ ; concentration initiale des boues aérobies traitées thermiquement : 4 g.L⁻¹).</i>	132
<i>Figure V.44 : Variation des rendements en H₂ et consommation du glucose en fonction du pH initial. Les barres d'erreurs sont basées sur des expériences dupliquées. (Solution expérimentale de NH₄⁺ ; concentration initiale en glucose : 15 g.L⁻¹ ; Concentration initiale des boues anaérobies traitées thermiquement : 4 g.L⁻¹).</i>	138

Figure V.45 : concentration en métabolites présents en phase liquides à différents pH initiaux. Les barres d'erreur sont basées sur des expériences en doubles (Solution expérimentale de NH_4^+ ; concentration initiale de glucose : 25 g.L^{-1} ; concentration initiale des boues anaérobies traitées thermiquement : 4 g.L^{-1}). __ 140

Figure V.46 : Effet de la concentration initiale de glucose sur la production de H_2 par des boues anaérobies traitées thermiquement. (Solution expérimentale de NH_4^+ ($0,86 \text{ g.L}^{-1}$) ; pH= 6,5 ; concentration initiale de glucose : 25 g.L^{-1}). _____ 142

Liste des schémas

<i>Schéma I.2 : Nitrification biologique.</i>	6
<i>Schéma I.3 : Dénitrification biologique.</i>	7
<i>Schéma II.4 : Étapes d'électrodéposition des ions Cu^{2+}.</i>	35
<i>Schéma III.5 : Hydrogénation électrocatalytique sur cathode de cuivre.</i>	61
<i>Schéma III.6 : Schéma réactionnel pour la réduction des ions nitrate sur cuivre en milieu acide.</i>	62
<i>Schéma III.7 : Schéma réactionnel de la réduction des ions nitrate sur cuivre en milieu basique [96].</i>	64
<i>Schéma III.8 : Schéma réactionnel pour la réduction des ions nitrate sur cuivre en milieu alcalin [49].</i>	65

Lexiques

Archaea : Ce sont des bactéries méthanogènes et ce sont les seules bactéries anaérobies strictes qui produisent du méthane à partir de H_2 et de CO_2 .

Bactérie anaérobie stricte : Micro-organisme qui ne consomme pas de dioxygène moléculaire (O_2) et qui meurt en présence de cet élément, qui est toxique pour lui.

Bactéries acétogènes non syntrophes : Ce sont des bactéries dont le métabolisme est majoritairement orienté vers la production d'acétate. Elles se développent dans les milieux riches en dioxyde de carbone.

Bactéries anaérobies facultatives : Bactéries capables de se développer en présence (milieu aérobie) ou en absence d'oxygène moléculaire (O_2 , milieu anaérobie).

Bactéries chimiotrophes : Ce sont des procaryotes qui utilisent l'énergie de l'oxydation de composés chimiques comme source initiale d'énergie.

Bactéries Gram négatif : Leur structure comporte deux membranes (la membrane plasmique, un espace périplasmique et une membrane externe) alors que les bactéries Gram positif n'en possèdent qu'une. Ces bactéries sont mises en évidence par une technique de coloration appelée coloration de Gram. Les bactéries à Gram négatif apparaissent alors roses au microscope.

Bactéries hétérotrophes : Ce sont des bactéries qui utilisent comme source de carbone et d'énergie des substrats carbonés organiques.

Bactéries mésophiles : Bactéries qui croissent dans des conditions de température modérée comprise entre 20 et 40 °C.

Bactéries autotrophes : Ce sont des bactéries qui utilisent une source de carbone minérale (CO_2 et bicarbonate) et leur énergie est obtenue par l'oxydation d'un substrat inorganique (hydrogène ou soufre).

Botulisme : Maladie paralytique rare mais grave due à une neurotoxine bactérienne, la toxine botulique est produite par différentes espèces de bactéries anaérobies du genre Clostridium, la plus connue étant Clostridium botulinum.

Cyanobactéries : Ce sont des bactéries photosynthétiques, c'est-à-dire qu'elles tirent parti, comme les plantes, de l'énergie solaire pour synthétiser leurs molécules organiques.

Inoculum : Échantillon contenant des micro-organismes, destiné à être introduit au sein d'un milieu favorable à sa multiplication, afin d'en produire une quantité supérieure.

Solvantogénèse : Phénomène de production des solvants à la place des acides gras volatiles par les bactéries.

Spore : C'est une forme de résistance produite par un certain nombre de bactéries permettant à l'organisme de survivre aux agressions de l'environnement : chaleur, ultra-violets, désinfectants.

Temps de séjour hydraulique (TSH ou temps de séjour théorique ou temps de passage) : Correspond à la durée théorique du contact entre l'effluent à traiter et la biomasse, ce paramètre représente le rapport entre le volume du réacteur et le débit d'alimentation.

Liste des acronymes et abréviations

ADP	Adenosine Diphosphate
ATP	Adenosine Triphosphate
CoA	Coenzyme A
DCO	Demande Chimique en Oxygène
Fd-Ox	Ferredoxine oxydase
Fd-Red	Ferredoxine réductase
MSS	Matière Solide en Suspension
NAD⁺	Nicotinamide Adenine Dinucleotide (forme oxydée)
NADH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide (forme réduite)
NADP⁺	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (forme oxydée)
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (forme réduite)

Introduction générale

Introduction générale

L'eau destinée à la consommation humaine est prélevée dans le milieu naturel. En Bretagne, elle provient à 80 % des eaux de surfaces (rivières, lacs, retenues d'eau) et à 20 % des eaux souterraines [1]. Depuis plusieurs années, une augmentation continue en nitrate de ces eaux est constatée reflétant une pollution par l'azote inorganique qui est devenue un problème mondial considérable. Le taux d'azote total sur la surface de la terre était estimé à 32 millions de tonnes (principalement à partir des sources d'émission naturelles) en 1860, alors qu'au début des années 1990, ce taux a atteint une valeur de 100 millions de tonnes [2].

La pollution par les ions nitrates provient principalement des activités anthropogéniques telles que l'utilisation intensive des engrais pour l'agriculture, des déchets d'animaux produits par les élevages intensifs (lisiers, fumiers), de l'eau résiduaire des collectivités et de certaines industries [3,4]. En conséquence certains écosystèmes aquatiques sont mis en péril du fait du phénomène de l'eutrophisation et mettent en avant la difficulté de l'approvisionnement en eau potable qui est devenue une préoccupation mondiale[5].

Les nitrates peuvent avoir des effets nocifs non seulement pour l'environnement, mais aussi pour la santé de l'homme. En présence de fortes teneurs en nitrates et en nitrites dans les eaux de consommation leurs effets se résument principalement dans la synthèse des nitrosamines cancérigènes et la formation de la méthémoglobine chez le nourrisson ou syndrome du bébé bleu (perte de la capacité du sang à transporter l'oxygène vers l'organisme) [6]. Face à ces constatations inquiétantes, l'Union Européenne [7] et l'Organisation Mondiale de la Santé [8] ont fixé un taux maximal de 50 mg.L⁻¹ de NO₃⁻ pour les eaux destinées à la consommation humaine. Au-delà de 100 mg.L⁻¹ en nitrate, l'eau ne doit pas être bue ni utilisée dans la préparation des aliments. Les autorités sanitaires doivent contrôler les concentrations en nitrates afin de répondre aux normes imposées par nos besoins en eau potable et informer les populations en cas de dépassement de ces normes. La volonté de protéger l'environnement est aujourd'hui un objectif de travail de plus en plus exigeant [9].

Les procédés actuellement utilisés dans les stations d'épuration pour éliminer les nitrates peuvent être divisés en deux grandes catégories : les procédés physico-chimiques et les procédés biologiques.

(1) Les procédés physico-chimiques (résines échangeuses d'ions, électrodialyse ou osmose inverse) permettent un transfert de la pollution, mais pas sa destruction [10].

(2) Les procédés biologiques basés sur la dénitrification hétérotrophe ou autotrophe permettent de transformer les nitrates en diazote gazeux, c'est une méthode de choix pour l'élimination des nitrates. Cependant ces procédés présentent l'inconvénient (1) d'être lents, (2) d'être efficaces que pour des concentrations en nitrate inférieure à 1000 mg.L^{-1} afin d'éviter l'inhibition des bactéries dénitrifiantes et (3) nécessitent un suivi permanent du pH et de la température [11]. De plus, l'élimination biologique des nitrates peut être entravée par l'accumulation de nitrites (sous-produit de la réduction bactérienne des nitrates) qui possèdent des propriétés bactéricides [12].

En conclusion, il n'existe pas actuellement de procédé réellement efficace pour détruire les nitrates. Il est donc impératif de mettre en œuvre de nouvelles méthodes ou techniques permettant la destruction des effluents concentrés en nitrates. L'une des voies de traitement prometteuse et qui pourrait conduire à des solutions intéressantes, est celle de l'électrochimie [13,14]. La réduction électrochimique des nitrates offre des perspectives attrayantes quant à la compacité et à la simplicité des conceptions technologiques [15]. Ajoutons qu'elle ne génère pas de boues, n'émet pas de polluants [16], et pourrait être appliquée à de grandes concentrations en nitrates [17].

Selon les conditions opératoires, la réduction électrochimique des ions nitrate peut être plus ou moins complète et peut donner naissance à divers produits tels que les ions nitrite, l'ammonium ou l'azote gazeux (N_2) [10,18]. D'un point de vue environnemental, la transformation totale des ions nitrate en azote gazeux est la solution la plus avantageuse [19]. Cependant, de nombreux travaux de recherche ont montré que le rendement et la sélectivité de cette réaction d'électroréduction restent faibles [20]. Par contre, en milieu neutre et basique, les nitrates sont réduits électrochimiquement sur électrode de cuivre en ammonium avec de très bons rendements et une excellente sélectivité. Cette voie n'a pas beaucoup été exploitée pour l'élimination des nitrates car l'ammonium est toxique pour les poissons et pour l'homme, et a des répercussions nocives sur l'environnement (acidification et eutrophisation) [21]. Cependant, les ions ammonium peuvent être oxydés par voie chimique en azote gazeux, en présence d'ions hypochlorite ou bien valorisés sous différents aspects : ils représentent la principale source d'azote dont ont besoin les bactéries pour leur croissance [22] et sont potentiellement intéressants comme source d'azote dans les engrais et les fertilisants.

C'est en partant de ce constat que ce travail de recherche a été établi en faisant apparaître deux méthodes différentes dont l'objectif final est la destruction quantitative des ions nitrates réalisée d'une

manière respectueuse pour l'environnement. Dans les deux cas, nous cherchons à réduire sélectivement et quantitativement en ammonium des effluents concentrés en nitrate. La rapidité de la transformation est apportée grâce à l'utilisation d'une cellule électrochimique en flux utilisant une électrode poreuse de grande surface spécifique. Pour obtenir la sélectivité de la réaction de réduction des ions nitrates en ammonium, un procédé d'électrodéposition développé au laboratoire a été adapté pour métalliser au cuivre une cathode poreuse.

La première méthode consiste à réduire les nitrates en ions ammonium, puis à les oxyder à l'aide d'ions hypochlorite générés électrochimiquement. La finalité est de transformer sélectivement et quantitativement les ions nitrates en azote gazeux. Cette méthode bénéficie du savoir-faire du laboratoire dans le domaine des cellules électrochimiques en flux. La deuxième méthode est un couplage électrochimique/biologique. Des solutions d'ammonium préparées électrochimiquement par réduction des ions nitrates sont utilisées comme source d'azote par une culture bactérienne pour produire une molécule à haute valeur énergétique. En utilisant des boues activées aérobies puis anaérobies nous nous sommes concentrés sur la production de biohydrogène. Cette seconde voie est peu décrite dans la littérature [21,23] du fait du faible développement des réacteurs électrochimiques à grande échelle. Ainsi, la consommation énergétique du système électrochimique sera contrebalancée par la production d'un vecteur énergétique (dihydrogène).

Ce manuscrit se décompose en 5 chapitres :

Le chapitre I est une étude bibliographique des nitrates et comporte deux parties. La première partie portera sur l'origine des nitrates et les conséquences en termes de santé humaine et de pollution environnementale. La seconde partie fera la synthèse des travaux rapportés sur la dénitrification industrielle (procédés biologiques et physico-chimiques) et à l'échelle laboratoire (traitement des nitrates par UV et par les procédés électrochimiques). Les avantages et les limites de ces techniques y seront discutés.

Le chapitre II décrira les principes et les techniques expérimentales utilisés dans ce travail, les procédures mises en œuvre pour préparer l'électrode poreuse de cuivre, les appareils de dosage utilisés et les protocoles de validation des résultats.

Le chapitre III présentera dans un premier temps les résultats d'électrodéposition du cuivre sur le feutre de graphite qui sera utilisé pour la réduction des nitrates en ammonium. Puis dans un deuxième temps la réduction des nitrates en ammonium dans des milieux acide, neutre et basique réalisée par

un procédé en percolation sera étudiée. Le débit de la solution et l'intensité du courant appliqué seront les principaux paramètres étudiés.

Le chapitre IV est consacré à l'élimination des nitrates sous forme d'azote gazeux en utilisant un procédé combinant plusieurs réactions électrochimique. Dans une première étape les nitrates seront réduits en ions ammonium en appliquant les conditions optimales déterminées dans le chapitre III. Dans une seconde étape les ions ammonium seront oxydés en azote gazeux sous l'action des ions hypochlorite (ClO^-) lesquels résultent de l'oxydation d'ions chlorure sur une anode poreuse en feutre de graphite. Ces deux étapes seront réalisées simultanément dans une même cellule à percolation.

Le Chapitre V est relatif à la mise en œuvre des solutions d'ammoniums obtenues (procédé décrit dans le chapitre III) dans un couplage électrochimique / biologique et à la vérification de la faisabilité de cette combinaison pour la production de biohydrogène. L'objectif est de produire une quantité importante de biohydrogène tout en consommant complètement la solution d'ammonium générée électrochimiquement. Les études biologiques seront réalisées dans un premier temps à l'aide de boues activées prélevées dans le bassin biologique d'une station d'épuration puis à l'aide de boues anaérobies collectées dans un digesteur. La production de dihydrogène sera réalisée en mode « batch » et l'influence du pH du milieu et la quantité de substrat carboné ajouté seront étudiées.

Enfin, une synthèse de l'ensemble des résultats obtenus ainsi que les perspectives qui en découlent seront présentés en conclusion de ce manuscrit.

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

I. GENERALITES SUR LES NITRATES

I.1. Cycle de l'azote

L'azote est un composé chimique très répandu dans la nature. Il constitue 78 % de l'atmosphère. C'est un élément indispensable à la vie des êtres vivants qui se retrouve en équilibre dans trois environnements (Figure I.1) :

- azote atmosphérique;
- azote dans le sol et l'eau;
- azote dans la biomasse.

Dans l'eau, l'azote se trouve en solution sous forme combinée : nitrates (NO_3^-), azote ammoniacal (NH_3 , NH_4^+), nitrites (NO_2^-) et azote organique (N_2). Les échanges complexes entre les trois formes d'azote sont connus sous le nom de cycle de l'azote (Figure I.1) [24].

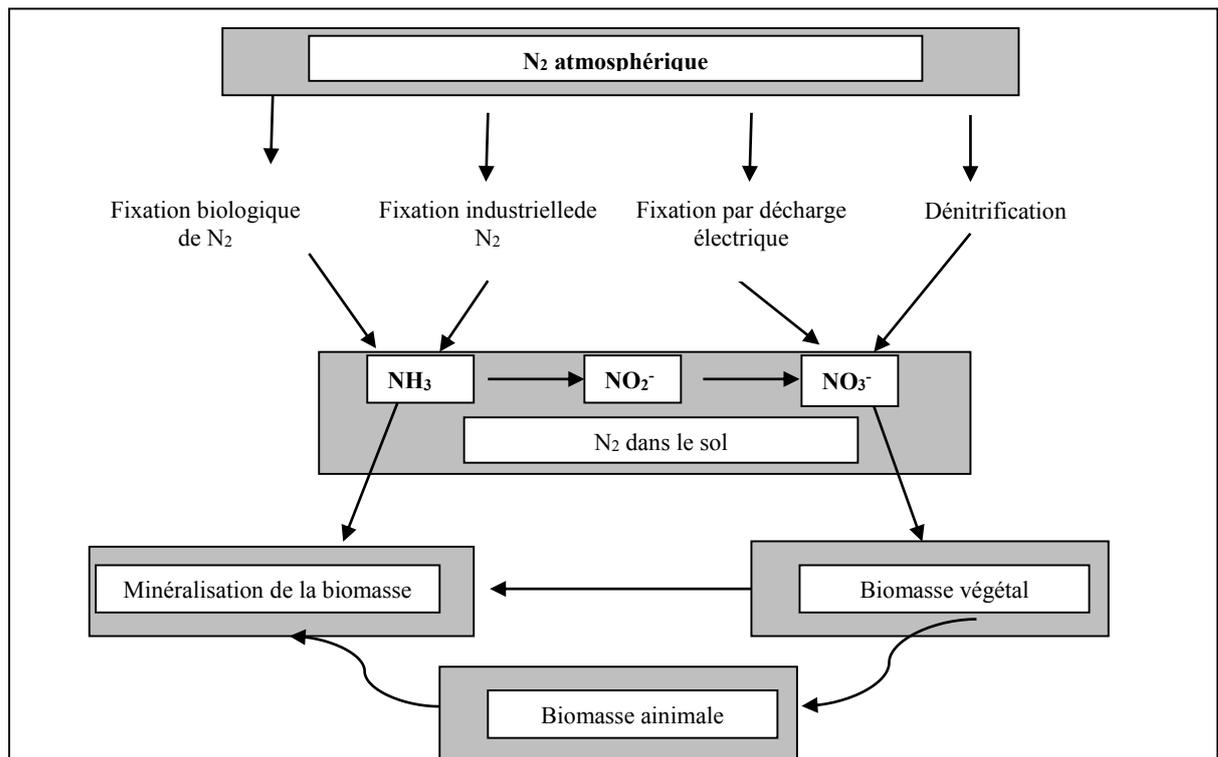


Figure I.1 : Cycle de l'azote [24].

Les principales étapes du cycle de l'azote sont la fixation, l'assimilation, l'ammonification, la nitrification et la dénitrification :

- **La fixation** correspond au passage de l'azote gazeux atmosphérique (N₂) en azote combiné par certains organismes.
- **L'assimilation** est la transformation de la matière azotée organique inerte ou minérale en matière vivante.
- **L'ammonification** correspond à la libération d'ammoniac à partir de composés azotés organiques.

L'ammoniaque existe en solution aqueuse simultanément sous deux formes, NH₄⁺ (ammoniaque ionisé ou ammonium) et NH₃ (ammoniaque non ionisé). L'ammoniaque total est la somme de NH₃ et NH₄⁺. L'équilibre entre les deux formes est régi en grande partie par la température et le pH. La solubilité de NH₃ dans l'eau pure est élevée, elle est de l'ordre de 900 g.L⁻¹ à 0°C [25]. L'ammoniaque NH₃ est une base faible dont la réaction d'ionisation dans l'eau est la suivante :



Avec pK_a = 9,26, où K_a désigne la constante d'acidité du couple NH₄⁺/NH₃. Dans la gamme des pH de la plupart des eaux naturelles, l'azote ammoniacal existe majoritairement sous la forme NH₄⁺.

- **La nitrification** est l'oxydation de l'azote ammoniacal en NO₃⁻ par l'intermédiaire de bactéries nitrifiantes.
- **La dénitrification** est la réduction des nitrates en azote gazeux sous l'action de bactéries dénitrifiantes.

L'azote du sol pénètre dans les biomasses en grande partie sous forme de NO₃⁻ qui seront par la suite absorbés par les microorganismes et les plantes (Figure I.1). L'azote des nitrates est converti ensuite en azote organique sous forme d'acides aminés et sous forme d'autres composants constitués par les protéines et autres macromolécules [24].

Selon la figure I.1, l'azote passe chez l'animal par les plantes, pour retourner ensuite au sol sous forme de matière organique décomposée ou de déchets. Lors de la décomposition de l'azote organique, ce dernier subit une ammonification, c'est-à-dire une transformation en ammoniaque par voie microbienne. Une partie de l'ammoniaque se volatilise dans l'atmosphère, mais la majorité est recyclée en NO₃⁻ par certaines bactéries du sol selon le schéma I.1 :



Schéma I.1 : Nitrification biologique.

Dans un premier temps, les ions ammonium sont oxydés en nitrite (NO_2^-) par des bactéries aérobies du genre (*Nitrosomonas et Nitrococcus*), et dans un second temps les nitrites sont oxydés en nitrates par des bactéries du genre Nitrobacter [24].

Au stade nitrates, des bactéries dénitrifiantes chimiotrophes entrent en compétition avec les plantes, en réduisant en conditions anoxies les nitrates en diazote gazeux qui retournent ensuite dans l'atmosphère. Le chemin réactionnel est décrit par le schéma I.2. L'état d'oxydation des atomes d'azote de chaque substance est présenté entre parenthèses [26–28] :

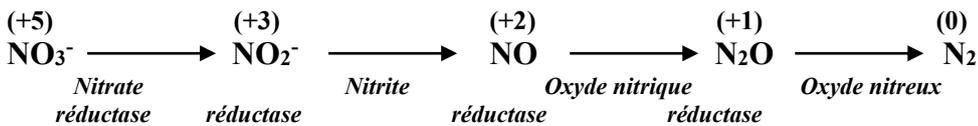


Schéma I.2 : Dénitrification biologique.

La réduction du diazote atmosphérique en ammoniacque (fixation de l'azote) s'effectue par une voie biologique via des organismes vivants. En effet, l'ammoniac est un composé dont ont besoin tous les organismes pour synthétiser des protéines.

I.2. Origine de la pollution par les nitrates

Présents naturellement dans l'environnement, les ions nitrate et nitrite sont tous les deux des produits de l'oxydation de l'azote. Mais, l'ion nitrate étant relativement stable, la majorité des substances azotées de l'environnement a tendance à se transformer en NO_3^- [29], et leur concentration dans les eaux souterraines et dans les eaux de surfaces (rivières, lacs, retenues d'eau) a brusquement augmentée depuis une trentaine d'années [1]. Cette pollution provient principalement de l'agriculture (55%), suite à l'épandage de doses massives d'engrais azotés et des déjections animales qui sont très riches en nitrate, et des eaux résiduaires des collectivités territoriales (35%). Les 10% restants sont attribués aux activités industrielles avec notamment l'industrie alimentaire qui utilise les nitrites comme agents antimicrobiens dans les produits de salaison (viandes et saucisses) pour prévenir du botulisme [29]. Concernant la Bretagne, l'origine du surplus des nitrates dans l'eau provient principalement de l'agriculture et de l'élevage intensif des porcs et des poulets [30].

I.3. Conséquences de la pollution par les nitrates

La présence des nitrates dans les effluents aqueux déversés dans l'environnement peut conduire à des problèmes de contamination des eaux superficielles et souterraines [3]. Une augmentation significative de la concentration des nitrates (NO_3^-) dans les eaux souterraines a été observée dans beaucoup de pays européens, avec des niveaux qui dépassent 100 mg.L^{-1} [31], donc à des concentrations au-dessus de la limite naturelle (50 mg.L^{-1}). Pour la santé humaine et les écosystèmes, la gestion des nitrates est un enjeu important.

I.3.1. Nitrates et environnement

Après les phosphates, les ions nitrates représentent la deuxième cause d'eutrophisation des plans d'eau, qui peut mener à un développement incontrôlé des plantes et des microorganismes aquatiques et par suite, à l'étouffement de l'écosystème aquatique [32]. En Asie, en Europe, et en Amérique, plus de 40 % des lacs sont déjà eutrophiés. L'eutrophisation, est liée principalement aux niveaux excessifs des nitrates et du phosphore dans ces eaux.

L'eutrophisation se manifeste par une prolifération massive d'algues vertes et des cyanobactéries potentiellement toxiques, ce qui engendre une augmentation de la charge de l'écosystème en matière organique à dégrader. La décomposition de ces algues par les bactéries consommatrices de dioxygène conduit à une diminution du taux de dioxygène dans l'eau. Parallèlement, les matières organiques non dégradées s'accumulent dans les sédiments. Un déséquilibre se produit entre les eaux profondes où le développement des organismes est limité et les eaux de surface oxygénées par photosynthèse et aération [25]. En résumé, l'eutrophisation résulte de l'enrichissement de l'eau en sels minéraux (nitrates et phosphates) entraînant des déséquilibres écologiques tels que l'appauvrissement du milieu en oxygène et la prolifération de la végétation aquatique [1]. Schématiquement l'eutrophisation commence par une prolifération anormale d'algues vertes et se termine par l'asphyxie et la destruction de l'ensemble de l'écosystème.

L'eutrophisation entraîne les nuisances suivantes [25] :

- Toxicité et risques chroniques ou intermittents pour la santé par la production des cyanotoxines.
- Détérioration de la qualité de l'eau avec déstabilisation des chaînes trophiques.
- Diminution de la valeur commerciale de l'aquaculture et de la pêche.
- Diminution de la valeur esthétique et récréative des eaux affectées.

D'un point de vue plus général, contrairement aux phosphates, les nitrates sont très solubles dans l'eau. Ils diffusent facilement vers les nappes phréatiques quand leurs niveaux excèdent les besoins de la végétation [33], ce qui explique leurs concentrations généralement plus élevées par rapport à celles des phosphates. De plus, la pénétration des nitrates dans les sols est lente et a lieu à une vitesse de migration d'environ 1 m/an [18]. Ce simple processus devient une préoccupation majeure vis-à-vis de la qualité de l'eau.

I.3.2. Nitrates et santé humaine

Chez l'homme, le danger provient des dérivés de la transformation des nitrates dans l'organisme : nitrosamine, nitrite, etc. La formation des ions nitrite, par réduction des ions nitrate sous l'influence d'une action bactérienne, est l'un des facteurs à l'origine d'une perturbation de l'oxygénation du sang, la méthémoglobinémie qui concerne spécialement les femmes enceintes et les nourrissons [34]. Cette intoxication a pour origine l'utilisation d'eau chargée en NO_3^- pour la préparation des biberons. Dans l'estomac de l'enfant en bas âge, le liquide gastrique est insuffisamment acide, ce qui permet le développement des germes réducteurs des ions nitrates qui formeront les nitrites. Une fois passés dans la circulation générale, ces derniers deviennent responsables de la formation de la méthémoglobine [1]. En conséquence, le pouvoir d'absorption du dioxygène par le sang est progressivement diminué et entraîne des phénomènes d'asphyxie interne. Les symptômes de cette maladie sont principalement la difficulté à respirer, la cyanose (décoloration bleutée de la peau et de la bouche) et la fatigue (des cas mortels ont été rapportés) [35].

Par ailleurs, des nitrosamines peuvent également se former *in vivo*. Elles prennent naissance par action des nitrites (produit de la réduction bactérienne des nitrates) sur les amines secondaires ou tertiaires présentes dans les aliments etc. Ces nitrosamines sont suspectées de participer à l'apparition de cancers digestifs chez l'homme [24]. D'autres études ont permis de constater une faiblesse du développement et de la reproduction chez les animaux à la suite de l'exposition à de très fortes doses de nitrites [34].

I.3.3. Normes et recommandations

Les règlements ou normes pour les valeurs admises varient d'un pays à l'autre et plusieurs régions n'offrent que des recommandations.

L'union européenne et l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) ont proposé une valeur guide pour les nitrates de 50 mg.L^{-1} (équivalent à $11,3 \text{ mg.L}^{-1}$ d'azote (N)) dans l'eau potable. Par contre la concentration maximale acceptable (CMA) des nitrates dans l'eau potable imposée par les États-Unis

et par le Canada est de 44 mg.L⁻¹. Les valeurs des nitrites admises dans les différents pays sont également indiquées dans le tableau I.1 qui résume les normes et les recommandations pour l'union européenne, l'OMS, le Canada et les États-Unis [18,31].

Tableau I.1 : Résumé des normes et recommandations relatives aux nitrates.

Agents chimiques	Normes Européennes	OMS	Recommandations canadiennes	Normes américaines
Nitrates (mg/L)	50	50	44	44
Nitrites (mg/L)	0,1	3	3,2	3,2

II. TRAITEMENT DES NITRATES

II.1. Traitement des nitrates à l'échelle industrielle

Généralement, l'élimination des ions nitrates des eaux usées et des eaux potables à l'échelle industrielle est réalisée soit par traitements physico-chimiques, échanges d'ions, procédés membranaires, soit par traitements biologiques, dénitrification hétérotrophe ou autotrophe. Des combinaisons des procédés biologiques avec les procédés physico-chimiques sont aussi possibles. Concernant la France, la dénitrification hétérotrophe et l'échange d'ions sont les procédés de dénitrification les plus largement utilisés à l'échelle industrielle.

II.1.1. Procédés physico-chimiques

De nombreux procédés physico-chimiques (Tableau I.2) peuvent être utilisés pour éliminer les ions nitrate tels que l'échange d'ions [36], l'électrodialyse [37], l'osmose inverse [38] et la réduction (électro) catalytique [39].

Les résines échangeuses d'ions et les procédés membranaires (électrodialyse et osmose inverse) permettent de concentrer les nitrates. Le principal inconvénient de ces méthodes est la nécessité d'une étape de régénération souvent coûteuse et /ou un post-traitement, en raison du caractère non destructif de ces procédés (Tableau I.2). En effet, il y a seulement un transfert du polluant vers une autre phase, puisque les nitrates ne sont pas détruits mais sont présents dans un petite volume concentré

(concentrats ou rétentats) [13]. De plus, pour les procédés membranaires, des risques importants de colmatage des membranes existent [14]. Au final, ces procédés ont épuré l'eau des ions nitrate qu'elle contenait, mais, ensuite le problème est de se débarrasser des effluents résiduels dont l'élimination n'est pas facile en raison de leur forte salinité.

En ce qui concerne les procédés d'élimination des nitrates par adsorption sur charbon actif comme le montre le tableau I.2, les coûts sont très onéreux et la capacité d'adsorption des ions nitrate est trop faible pour que ce type de procédé puisse être développé industriellement.

Parmi ces différentes méthodes, la dénitratisation de l'eau par résines échangeuses d'ions est la plus largement répandue à l'échelle industrielle [40]. La première réalisation industrielle pour le traitement des eaux potables a été mise en œuvre en 1974 aux Etats-Unis, puis en Grande-Bretagne où deux stations d'épuration ont démarré en 1976 et 1978. En France, il a fallu attendre l'agrément des résines anioniques en 1985.

Tableau I.2 : Récapitulatif des différents procédés physico-chimiques de traitement des nitrates, principes, avantages et inconvénients.

Procédé physico – chimique	Principes	Avantages	Inconvénients
Echange ionique	Utilisation de résines échangeuses d'ions. L'eau à traiter passe à travers la résine, les ions NO_3^- s'y fixent, et la résine libère des ions chlorure en quantité équivalente [14]	Régénération des résines en déplaçant NO_3^- par Cl^- [14] Pas d'effet du pH et de la température sur le processus	Post-traitements des éluats de régénération [13] Pas de destruction des NO_3^- Colmatage des membranes [32]
Electrodialyse	Filtration sous l'effet d'un potentiel électrique qui permet la migration et la séparation des espèces ioniques à travers des membranes de polarités différentes [14]	Réduction au minimum du risque de colmatage des membranes [41]	Transfert de NO_3^- vers une autre phase sans être détruits [14] Consommation énergétique élevée post-traitement des déchets salés [42]
Adsorption sur charbon actif	Utilisation du charbon actif comme un adsorbant pour éliminer les NO_3^- [41]	Haute stabilité thermique du charbon actif Faible réactivité avec les acides et les bases [43] Insensibilité à des substances toxiques [41]	Très coûteux Nécessité de se débarrasser de l'adsorbant chargé de nitrates Faible capacité d'adsorption des NO_3^- [41]

II.1.1.1. Evacuation des concentrats

Le tableau I.2 montre que les procédés physico-chimiques d'échange d'ions éliminent les ions nitrate de l'eau brute sans les transformer en azote gazeux. Les nitrates sont concentrés dans un petit volume. Jusqu'à présent, il n'existe pas de solution pour éliminer ces concentrats représentant en volume 0,5 à 1 % du volume d'eau traité et qui contiennent plusieurs g.L^{-1} de NO_3^- , SO_4^- , Cl^- , Na^+ . Leur élimination est trop difficile à cause de cette forte salinité. En général ces effluents concentrés en ions nitrate sont évacués par [40] :

- Les égouts (système le plus utilisé)
- dilution et rejet dans le milieu naturel
- stockage dans des lagunes

a. Rejet en station d'épuration pour la dénitrification

Les concentrats sont stockés, puis pompés à débit constant vers un réseau d'égout urbain. Le volume des concentrats est faible comparativement au débit traité. Toutefois, la quantité de sels apportée risque d'entraîner une perturbation du fonctionnement de la station et une corrosion des réseaux. Pour réaliser une dénitrification biologique des éluas dans une station d'épuration cela suppose :

- que la station ménage une zone anoxique,
- que le rapport C/N soit suffisant.

Ces deux conditions ne sont pas toujours réunies.

b. Dilution et rejet en milieu naturel

Le rejet en mer est une solution pratique quand la station est en zone côtière. Le rejet en rivière peut être réalisé quand la quantité à éliminer est faible, un effet de dilution maximum étant recherché pour éviter toute nuisance sur le milieu récepteur. Le stockage est calculé pour assurer un étalement du rejet sur une durée correspondant à celle entre deux régénérations des résines.

c. Dilution après stockage en lagune

Les effluents concentrés en nitrates issus des procédés physico-chimiques sont stockés dans une lagune puis pompés en continu en période de hautes eaux pour être dilués dans les rivières.

II.1.2. Procédés biologiques

II.1.2.1. Principe

Les traitements biologiques occupent une place importante parmi les procédés mis en place pour éliminer les ions nitrate de l'eau. Ils sont couramment utilisés pour éliminer les ions nitrate à partir des eaux usées issues des industries et des collectivités territoriales en Europe et aux Etats-Unis [44]. Au cours de cette dépollution, la liaison chimique oxygène-azote de l'ion nitrate joue le rôle d'accepteur terminal d'électrons dans l'oxydation de composés oxydables sous des conditions anaérobies [45]. Le produit final de la réduction biologique des nitrates est l'azote gazeux qui est un produit inoffensif pour l'environnement. Les bactéries réalisant le traitement biologique des nitrates sont divisées en deux groupes : (1) les bactéries hétérotrophes et (2) les bactéries autotrophes [21].

Les bactéries autotrophes utilisent une source de carbone minérale (CO₂ et bicarbonate) et leur énergie est obtenue par l'oxydation d'un substrat inorganique (hydrogène ou soufre) [46]. Dans le cas où le soufre est utilisé comme substance inorganique, le procédé porte le nom de « procédé soufre/chaux ». Le soufre est le donneur d'électrons et la chaux sert à maintenir le pH. La réaction peut se schématiser ainsi :



Ces bactéries se caractérisent par une cinétique de dénitrification très lente. Les temps de contact élevés rendent alors ces techniques plus difficilement applicables à l'échelle industrielle. C'est pourquoi aucune installation industrielle de ce type n'existe actuellement en France.

Au contraire, la dénitrification hétérotrophe est la réaction la plus utilisée dans les procédés biologiques mis en œuvre à l'échelle industrielle. Les bactéries hétérotrophes utilisent comme source de carbone et d'énergie des substrats carbonés organiques. Et, de tels composés sont disponibles dans la majorité des effluents (sous-produits d'origine agricole, eaux résiduaires des industries agro-alimentaire, etc.). La transformation des ions nitrates (NO₃⁻) en azote gazeux (N₂) en condition anoxique par des bactéries hétérotrophes se fait en 4 étapes déjà décrites dans le schéma I.2 (section I.1). Ces étapes peuvent se résumer par la réaction suivante :



Il y a une vingtaine d'espèces de bactéries hétérotrophes strictement dénitrifiantes. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives, non sporulées et à Gram négatif, et font partie des genres *Paracoccus*, *Bacillus* et *Pseudomonas* (*P. Stutzeri*, *P. denitrificans*, *B. Licheniformis*). Les substrats carbonés les plus couramment utilisés sont l'éthanol, le méthanol [47] et l'acide acétique [26].

II.1.2.2. Inconvénients et limites

Bien que ces méthodes de biodénitrification transforment les nitrates en un produit inoffensif, elles présentent quelques inconvénients et ont des limites d'utilisation. Les plus importants sont les suivants :

- coûts d'investissement élevés ;
- temps de séjour hydraulique importants requis pour le traitement, d'où des surfaces de bassin étendues ;
- mise en œuvre délicate ;
- étanchéité des bassins nécessaires pour empêcher l'infiltration des polluants dans le sol (requiert des investissements supplémentaires) [18] ;
- suivi et contrôle rigoureux et permanents des paramètres de fonctionnement (physico-chimiques, biologiques et mécaniques) [11] ;
- post-traitements intensifs pour éliminer les bactéries et la source de carbone telle que le méthanol [48] ;
- risques de contamination microbiologique importante [26] ;
- Efficaces pour des concentrations en nitrates inférieures à 1000 mg.L⁻¹ afin d'éviter l'inhibition des bactéries [49] ;

II.1.2.3. Différents types de procédés de biodénitrification

Les procédés biologiques sont multiples et de conceptions variées. On peut citer les procédés intensifs à cultures libres, la biofiltration, les lits bactériens, les disques biologiques et les procédés de lagunage [17]. La différence principale entre ces méthodes est la configuration du bioréacteur utilisé pour le traitement biologique des nitrates. Les principes de ces différents procédés biologiques ainsi que les principaux avantages et inconvénients sont résumés dans le tableau I.3.

Tableau I.3 : Récapitulatif des différents procédés biologiques de traitement des nitrates, principes, avantages et inconvénients.

Méthodes	Principes	Avantages	Inconvénients
Contacteur biologique rotatif	Dans un contacteur biologique rotatif, les microorganismes sont fixés à un support inerte en formant un film biologique. Le support est attaché à un axe horizontal et central, puis l'ensemble est submergé partiellement ou totalement dans les eaux usées à traiter [50,51]	Temps de rétention hydraulique court Grande surface spécifique Faible risque de colmatage Consommation énergétique faible [51,52]	Nécessité de post-traitements intensifs pour éliminer les boues biologiques [53]
Réacteur biologique à lit fluidisé (lit granulaire mobile)	Consiste à faire croître un biofilm sur des supports minéraux qui sera fluidisé grâce à la vitesse de l'effluent à traiter dans une colonne ascendante	Surface de biofilm par unité de volume élevée Vitesse de dénitrification élevée Peu de colmatage Pas de nécessité d'un clarificateur[54]	Lessivage des supports [55] Développement du biofilm lent Consommation énergétique élevée Fuite de matières en suspension Maintien du lit en expansion délicat[54]
Réacteur biologique à lit granulaire fixe (Biofiltration)	Les filtres bactériens se composent d'un lit granulaire fixe que traverse l'effluent à une vitesse telle qu'il n'y a pas fluidisation. La biomasse produite reste stockée dans les interstices du matériau [41]	Plus grande simplicité de mise en œuvre par rapport à un lit fluidisé	Perte du biofilm Risque de colmatage élevé [56]
Traitement par un lagunage aéré (étangs aérés)	Consiste à laisser séjourner l'eau dans plusieurs bassins successifs (lagunes) de grandes tailles pour assurer son épuration par l'action commune des microorganismes et parfois même par des plantes [18]	Conception facile	Processus très lent [18]

II.1.3. Couplage entre un procédé biologique et un procédé physico-chimique

II.1.3.1. Couplage échange ionique et dénitrification biologique

L'échange ionique et la dénitrification biologique hétérotrophe ont été combinés pour améliorer l'élimination des ions nitrate de l'eau potable [57,58]. Ce procédé est illustré figure I.2. Dans un premier temps, les ions nitrate sont éliminés de l'eau à traiter par échange ionique sur résine. Dans un second temps, la solution concentrée en NO_3^- résultant de la régénération des résines est dénitrifiée dans un bioréacteur qui, avec un apport de carbone, convertit les ions nitrate en azote gazeux. Au final, le milieu biologique obtenu après la biodénitrification peut être réutilisé après l'ajout d'ions chlorure sous forme de chlorure de sodium pour régénérer une nouvelle résine échangeuse d'ions chargée en nitrate.

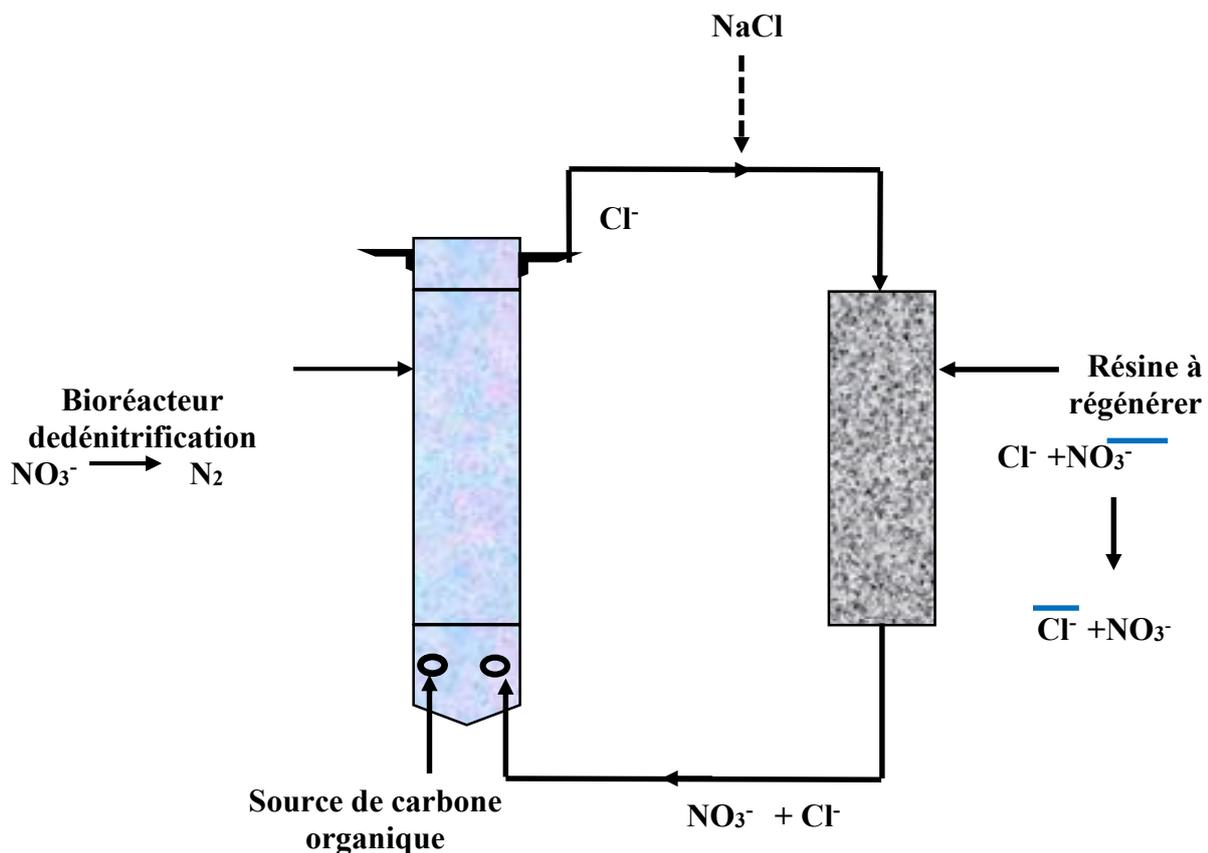


Figure I.2 : Couplage échange ionique et dénitrification biologique [58].

L'avantage majeur de ce procédé est une élimination biologique jusqu'à 95% de la quantité en ions nitrate [57,59]. Néanmoins, la désinfection régulière de la résine est exigeante car l'eau salée régénérée apporte avec elle des résidus de substances organiques solubles qui n'ont pas été dégradés par les bactéries et les métabolites produits lors de la biodénitrification [58]. Ces déchets organiques s'adsorbent fortement et nuisent à la croissance des biofilms sur la résine. De plus, la plupart des agents désinfectants réduisent la capacité et la longévité des résines échangeuses d'ions [60]. D'autre part, ce procédé est délicat à mettre en œuvre et nécessite un contrôle et un suivi rigoureux des concentrations en sels car une quantité trop élevée en chlorure de sodium a un effet inhibiteur sur la dénitration biologique. G. Claus *et al.* [61] ont démontré que des concentrations en NaCl supérieures à 20 g.L⁻¹ inhibent la dénitration autotrophe réalisée par *Thiobacillus denitrificans*. Mais, la concentration en sel dans la saumure doit être suffisamment élevée pour produire une régénération efficace de la résine [58].

II.1.3.2. Bioréacteur à membrane

La dénitration biologique (section II.1.2.3) est généralement associée au traitement des eaux usées, mais différentes configurations ont été testées à l'échelle du laboratoire pour étudier la dénitration des eaux potables [11,62]. Dans ces procédés, la séparation entre l'eau à traiter et les micro-organismes se fait par différence de densité pour éliminer la biomasse microbienne.

Cependant, une contamination microbiologique peut se produire à cause du contact direct de l'effluent épuré en nitrate et des microorganismes. La formation de sous-produits de désinfection comme le chloroforme et le trichlorométhane à partir du carbone organique résiduel dans l'eau traitée est également possible au cours du procédé. Par conséquent, la dénitration biologique est peu utilisée pour le traitement de l'eau potable [31]. La recherche s'est alors orientée vers la combinaison de procédés biologiques avec les technologies membranaires pour mettre en œuvre des bioréacteurs à membrane (BRM). Ce sont des procédés plus compacts que les procédés biologiques classiques. La mise en œuvre d'une membrane dans les procédés permet la rétention des boues et de composés particuliers ou dissous en fonction de leurs tailles [63]. Il existe deux grands types de bioréacteurs à membrane : les bioréacteurs à membrane "à boucle externe" (les membranes se situent alors à l'extérieur du réacteur) et les bioréacteurs à "membranes immergées" [31]. Il existe différentes configurations de BRM pour la séparation des ions nitrate dont chacune a ses propres avantages et inconvénients, quelques exemples sont donnés dans le tableau I.4. Dans leur review, Mc Adam *et al.* [31] présentent les différentes configurations de BRM pour le traitement des ions nitrate dans l'eau

potable. Ils mettent en avant l'intérêt d'utiliser une membrane non seulement pour transférer les ions nitrate dans le milieu de culture mais aussi en tant que barrière aux microorganismes prévenant ainsi une contamination microbiologique.

Tableau I.4 : Quelques exemples de BRM.

Configuration	Principe	Microorganismes	Membranes	Efficacité	Référence
BRM transfert de gaz (à boucle externe)	L'hydrogène gazeux est utilisé comme donneur d'électrons.	Microorganismes hydrogénotrophiques en suspension provenant de boues activées	Membrane microporeuse ($\text{\O} 0.02 \mu\text{m}$) Séparation par diffusion moléculaire	92% de taux d'élimination pour des concentrations en ions nitrate de 40 mg N.L^{-1}	[64]
BRM extractif	Les nitrates traversent la membrane et pénètrent dans le biofilm où a lieu la dénitrification	Biofilm fixé sur la membrane et constitué de bactéries dénitrifiantes provenant de boues activées	Membrane de dialyse en cellulose régénérée	60% de taux d'élimination pour des concentrations en ions nitrate de 120 mg.L^{-1} ($1230 \text{ g N.m}^{-2}.\text{jour}^{-1}$)	[45]
			Membrane en fibres de polypropylène	15% de taux d'élimination pour des concentrations en ions nitrate de 170 mg.L^{-1} ($270 \text{ g N.m}^{-2}.\text{jour}^{-1}$)	
			Membrane en polyfluorure de vinylidène	30% de taux d'élimination pour des concentrations en ions nitrate de 140 mg.L^{-1} ($1230 \text{ g N.m}^{-2}.\text{jour}^{-1}$)	
BRM à échange d'ions	Les ions chlorures sont utilisés en tant que contre-ion. L'éthanol est utilisé comme source de carbone et donneur d'électrons	Microorganismes dénitrifiants en suspension provenant de boues activées	Membrane dense à échange d'ions (dialyse) Transport de matière diffusif à travers la membrane	$7 \text{ g N.m}^{-2}.\text{jour}^{-1}$ pour des concentrations initiales en ions nitrate de 50 mg N.L^{-1}	[65]

La membrane constitue également une barrière aux différentes sources de carbone, phosphates, et composés toxiques pouvant polluer l'eau traitée. De plus, la mise en œuvre du procédé en mode anaérobie avec des microorganismes autotrophes limite la production de boues, puisque les bactéries autotrophes produisent un rendement en biomasse relativement bas. Cependant, le colmatage des membranes ainsi que le coût de pompage élevé en sont les inconvénients majeurs. Le colmatage des membranes est d'autant plus élevé que la biomasse (biofilm) est fixée sur la membrane [66].

II.2. Traitement des ions nitrate à l'échelle du laboratoire

II.2.1. Traitement par UV

II.2.1.1. Généralité sur les procédés d'oxydation avancée

Les procédés d'oxydation avancée (POA) sont utilisés pour la destruction de polluants organiques persistants dans les effluents industriels [67]. Ces techniques s'adressent particulièrement aux polluants chimiquement très stables et faiblement biodégradables [68]. Il s'agit de procédés de traitement oxydatif qui peuvent être regroupés en quatre catégories: i) Procédés d'oxydation chimique en phase homogène ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ et $\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_3$) ; ii) Procédés photocatalytiques en phase homogène et/ou hétérogène ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ et TiO_2/UV); iii) Procédés d'oxydation sonochimique et iv) Procédés d'oxydation électrochimique [69]. La plupart de ces technologies sont étudiées à l'échelle du laboratoire, d'autres, par contre, comme le couplage $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ ont fait leur preuve à l'échelle industrielle [70].

Les réactions d'oxydation avancées impliquent la formation de radicaux, en majorité des radicaux hydroxyles (OH°) en présence de substrats organiques (en milieu aqueux) [71]. Ce sont principalement des réactions d'addition électrophile et des réactions de substitution d'hydrogène [72]. Les réactions (I.4) et (I.5) ont été proposées par Striolo [73] pour décrire ces réactions d'addition et de substitution :

1^{er} cas : addition du radical OH° sur le composé organique R



2^ecas : élimination d'un atome d'hydrogène



Les radicaux organiques résultants réagissent par suite avec l'oxygène pour initier une série de réactions d'oxydation dégradative des composés organiques à traiter [71] qui conduisent finalement à une minéralisation complète en CO₂ et en H₂O.

Contrairement aux ions, les radicaux hydroxyles sont produits à partir d'une rupture homolytique d'une liaison covalente, c'est à-dire que les deux atomes ayant participé à la liaison récupèrent un électron célibataire [74].

Dans plusieurs procédés d'oxydation avancée le radical hydroxyle OH° est produit par photolyse du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) sous l'action d'irradiation UV (Réaction I.6) ou bien sous l'action de Fe²⁺ comme l'illustre la réaction (I.7). Ce procédé est connu sous le nom de procédé Fenton.



II.2.1.2. Procédé de destruction des ions nitrate par photolyse

Les ions nitrates sont les seuls composés inorganiques majeurs des eaux naturelles qui peuvent subir des transformations photochimiques par irradiation UV. Ce qui est vérifiable par le fait que les ions nitrate possèdent une forte bande d'absorption UV avec un maximum à 200 nm et une autre plus faible à 302 nm [75].

De nombreuses études ont montré que la photolyse de solutions de nitrates conduit à des radicaux hydroxyles OH° [76,77] selon la réaction suivante:



Les ions nitrate absorbent la lumière solaire et leur excitation conduit à la formation de radicaux hydroxyles susceptibles d'oxyder la plupart des composés organiques chimiquement stables. C'est pourquoi la photolyse des ions nitrate fait l'objet de nombreuses études car elle est considérée comme une voie importante non seulement pour leur élimination mais également pour la destruction de polluants organiques chimiquement stables et peu biodégradables présents dans l'eau [78–81]. Mais, le problème majeur de la photolyse des ions nitrate est la formation d'ions nitrite et de nombreux radicaux (OH°, NO°, NO₂°) qui engendrent des réactions secondaires de photonitrations, photonitrosations et photohydroxylations [82–84]. Les produits de ces réactions sont des intermédiaires aromatiques polycycliques hautement cancérigènes et mutagènes comme les hydrocarbures polycycliques

aromatiques nitrés [79] et certains dérivés du phénol tels que le 4-nitrophenol ou bien le 4-nitrosophenol [85–87]. Finalement l’action positive des photons sur les différentes espèces réactives est contre balancée par la formation de produits potentiellement toxiques. C’est actuellement le frein majeur au développement de ce processus photochimique de dénitrification [71,88].

II.2.2. Traitement par électrochimie

II.2.2.1. Réduction électrochimique directe des ions nitrate en azote gazeux

Cette méthode a été largement étudiée [10,49,89–93]. Le principe de la réduction électrochimique se base sur la réduction directe des nitrates en azote gazeux en appliquant une tension donnée à des électrodes en Platine, en Paladium activée avec du germanium [94], en alliage palladium/cuivre [93] ou en étain (Sn) [90]. Selon les conditions opératoires adoptées, la réduction électrochimique est plus ou moins complète et donne naissance à des espèces intermédiaires telles que les ions nitrite, l’ammoniaque, l’azote gazeux ou le protoxyde d’azote. Le tableau I.5 illustre les principales réactions cathodiques pour la réduction électrochimique des ions nitrates (avec leurs potentiels standards). La diversité des produits de réduction et leurs potentiels standards montrent qu’une réaction sélective et complète en diazote paraît peu probable.

Tableau I.5 : Valeurs des potentiels thermodynamiques des couples mis en jeu dans la réduction électrochimique des ions nitrate [29].

Couples	E° V/ENH
$\text{NO}_3^- + 10\text{H}^+ + 8\text{e}^- \longrightarrow \text{NH}_4^+ + 3\text{H}_2\text{O}$	0,88
$\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	0,835
$\text{NO}_3^- + 4\text{H}^+ + 3\text{e}^- \longrightarrow \text{NO (g)} + 2\text{H}_2\text{O}$	0,96
$2\text{NO}_3^- + 10\text{H}^+ + 8\text{e}^- \longrightarrow \text{N}_2\text{O (g)} + 5\text{H}_2\text{O}$	1,12
$2\text{NO}_3^- + 12\text{H}^+ + 10\text{e}^- \longrightarrow \text{N}_2\text{(g)} + 6\text{H}_2\text{O}$	1,25

Dortsiou *et al.*[20] ont étudié la réduction électrochimique des ions nitrate sur une électrode plane de bismuth dans une solution de dihydrogénocarbonate / carbonate à 0,4 mol.L⁻¹(tampon NaHCO₃/

Na₂CO₃) contenant 0,05 mol.L⁻¹ de NaNO₃. Ces auteurs affirment qu'à -1,845 V/ECS, le principal produit d'électrolyse est de l'azote gazeux avec une sélectivité (%S) comprise entre 58% et 65%. Les autres produits sont de l'oxyde nitreux (7 à 22%), de l'ammoniaque (3,8 à 19%) et des ions nitrite (1,8 à 2,6%). A ce jour ces résultats analytiques font partie des meilleurs obtenus pour la formation de diazote gazeux.

En conclusion, la réduction électrochimique des ions nitrate en azote gazeux reste partielle et à notre connaissance aucune transformation des ions nitrate complète et sélective en azote gazeux n'a pu être réalisée.

II.2.2.2. Transformation des ions nitrate par un couplage redox

Un autre procédé particulièrement intéressant pour transformer les ions nitrate en azote gazeux s'appuie sur la combinaison *in situ* de trois réactions électrochimiques. Ce procédé qui fait l'objet de nombreuses études depuis quelques années [13,16,20,49,95–98] nécessite la présence d'ions chlorure dans la solution d'électrolyse [99].

Dans une solution neutre ou légèrement basique la première réaction électrochimique se déroule à la cathode et correspond à la réduction des ions nitrate en ions ammonium (Réaction I.9)



La deuxième réaction électrochimique se déroule à l'anode et correspond à l'oxydation des ions chlorure en dichlore, Cl₂ (Réaction I.10) qui subissent aussitôt une réaction de dismutation (Réaction I.11) pour aboutir à l'apparition d'un mélange d'acide hypochlorique et d'ions chlorures.



La troisième réaction se déroule en solution et correspond à une réaction entre les ions hypochlorites et les ions nitrite ou ammonium pour produire respectivement des ions nitrate ou de l'azote gazeux selon les réactions I.12 et I.13.



Le potentiel standard de la réduction des ions nitrates en ammonium étant de 0,88 V/ENH (Tableau I.5), comparé à 1,25 V/ENH pour la réduction des ions nitrate en azote gazeux, il est plus facile cette fois d'atteindre des sélectivités et des rendements performants pour cette réaction par rapport à celle aboutissant au diazote gazeux. Ceci constitue le principal intérêt de cette méthode. Cependant, la difficulté principale de ce processus est de trouver les conditions adéquates pour exécuter simultanément la réduction des ions nitrates en ammonium et l'oxydation de l'ammonium en azote gazeux sous l'action des ions hypochlorite (ClO^-) [100].

La réduction directe des ions nitrate vers l'ammoniac a fait l'objet de nombreuses études, notamment avec le carbone et le graphite qui sont sans doute les matériaux d'électrode les plus communs [101]. Le graphite offre des rendements d'électroréduction de près de 55 % ce qui est une valeur appréciable et encourageante si l'on tient compte du faible coût et de la disponibilité de ce matériau [18]. Afin d'améliorer plus encore l'efficacité et la sélectivité de la réduction des ions nitrate en ammonium, de nombreuses électrodes métalliques ont été étudiées [96,161–163]. Parmi les métaux de transition expérimentés le cuivre (Cu) s'est révélé être le meilleur métal pour réduire majoritairement les ions nitrate en ammoniac en solution acide [102] et alcaline [96,103].

II.2.2.3. Avantages et perspectives des traitements électrochimiques

La réduction électrochimique des ions nitrate est très étudiée compte tenu des différents avantages qu'elle présente par rapport aux méthodes de dénitrification décrites précédemment. En fait ces avantages correspondent à ceux inhérents aux procédés électrochimiques [14] :

- Capacité à traiter une solution concentrée en nitrates ;
- Présence d'une économie d'espace (pas de nécessité de surfaces de bassin étendues comme c'est le cas pour le traitement biologique);
- Conditions de travail souvent moins contraignantes (température ambiante, pression atmosphérique) [41] ;
- Simplicité de conception [17] ;
- Pas de génération de boues, ni de polluants (respectueux de l'environnement) due à l'utilisation de réactifs propres, tel que les électrons [19] ;
- Possibilité d'obtenir des produits chimiques efficaces dans de nombreux domaines d'application et à moindre coût, tels que, par exemple, N_2O (protoxyde d'azote ou gaz hilarant) utilisé comme agent anesthésiant, NH_3 source d'azote pour les engrais, ou encore

l'hydroxylamine NH_2OH jouant un rôle essentiel dans la fabrication de caprolactame, monomère polymérisé en chaîne pour donner le Nylon ;

- Large domaine d'application puisque les procédés électrochimiques peuvent être utilisés pour la dénitratisation de l'eau, pour le traitement des concentrats produits par les autres techniques d'extraction et même pour le traitement des effluents industriels et des déchets nucléaires qui ne peuvent pas être traités par la méthode de dénitrification biologique [14].

Mais pour être efficaces, les procédés électrochimiques doivent évoluer vers les objectifs suivants :

- Simplification de la méthode : travailler avec deux électrodes, sans utilisation d'une électrode de référence ;
- Sélectivité de la réaction : apporter à l'électrode de travail les modifications nécessaires pour être sélective vis-à-vis de la réaction désirée ;
- Réacteur électrochimique performant : concevoir un réacteur capable de transformer rapidement une quantité importante de substrat.

III. CONCLUSION

La synthèse bibliographique présentée dans ce mémoire met en avant la diversité des travaux portant sur l'élimination des ions nitrate présents dans l'eau. Chaque procédé possède des avantages et des limites, et ceci en termes de simplicité de mise en oeuvre, d'efficacité et de coût. La réalité est que finalement les procédés d'élimination des ions nitrate existants à ce jour sont peu efficaces pour faire face à une pollution d'envergure telle qu'elle existe sur nos territoires. Les ions nitrate sont concentrés dans des éluats par des procédés physico-chimiques et/ou très partiellement détruits par un procédé de dénitrification biologique. En fait les nitrates sont surtout redéployés dans l'environnement par épandage des sols ou par dilution dans des zones non polluées. Finalement, il ne s'agit que d'un déplacement de la pollution d'un endroit à l'autre où le système « tourne en rond » et ne résout aucunement le problème d'élimination des ions nitrate.

Cette constatation décevante est le point de départ du principal objectif de ce travail de recherche qui consiste à contribuer au développement de deux méthodes techniquement fiables et économiquement viables d'élimination des ions nitrate d'une façon saine et respectueuse de l'environnement.

Chapitre II : Matériels et Méthodes

INTRODUCTION

Les principaux inconvénients d'une électrolyse pour transformer une quantité de substrat concentré dans un grand volume de solution sont la sélectivité et le temps d'électrolyse. Ces deux paramètres représentent un obstacle très souvent majeur à franchir pour réussir le passage entre une étude analytique et une transformation quantitative en masse ce qui peut expliquer le développement difficile au niveau industriel de l'électrosynthèse. Pour obtenir une réduction conséquente des ions nitrate en ammonium, ce chapitre met en avant deux développements propres au laboratoire :

- La cellule électrochimique : le temps d'électrolyse est diminué grâce à l'utilisation d'une cellule électrochimique à percolation.
- La nature de l'électrode de travail : la sélectivité pour la réaction de réduction des ions nitrate en ammonium est résolue par la modification sous forme de métallisation d'un matériau poreux de grande surface spécifique

Une fois ces deux « outils » bien définis et optimisés pour la réduction sélective des nitrates en ammonium, les résultats d'électrolyse doivent être caractérisés et dosés selon des protocoles rigoureux de façon à valider les résultats expérimentaux.

Ce chapitre met en avant les techniques électrochimiques utilisées ainsi que les procédures expérimentales de production de biohydrogène à partir des solutions d'ammonium obtenues après traitement électrochimique des nitrates. Les appareils de dosage et les protocoles de validation des résultats seront également présentés. Quatre parties se dégagent :

Partie I : Descriptif des cellules d'électrolyse.

Partie II : Electrodeposition et électrolyse des ions nitrate.

Partie III : Procédures expérimentales de production de biohydrogène.

Partie III : Appareil de mesure pour le dosage et la caractérisation des espèces en solution et en phase gaz.

I. CELLULE ELECTROCHIMIQUE

Une cellule électrochimique est le siège d'une réaction d'oxydation et d'une réaction de réduction se déroulant aux interfaces électrode/solution de deux électrodes. Ces réactions représentent l'échange électronique entre l'espèce réagissante et l'électrode; c'est le transfert de charge ou transfert électronique hétérogène.

Selon l'objectif désiré, on distinguera une cellule électrochimique pour l'analyse et une cellule électrochimique pour l'électrolyse. Les réactions suivantes se réalisent :

A la cathode : réaction de réduction



A l'anode : réaction d'oxydation



I.1. Cellule électrochimique pour l'analyse

I.1.1. Principe

Une cellule d'analyse (Figure II.3-A) se caractérise par l'apport d'une troisième électrode de potentiel constant (électrode de référence). Cet agencement permet de contrôler le potentiel imposé à l'électrode considérée (électrode de travail). L'objectif est d'étudier le ou les mécanismes d'oxydation ou de réduction d'une réaction électrochimique.

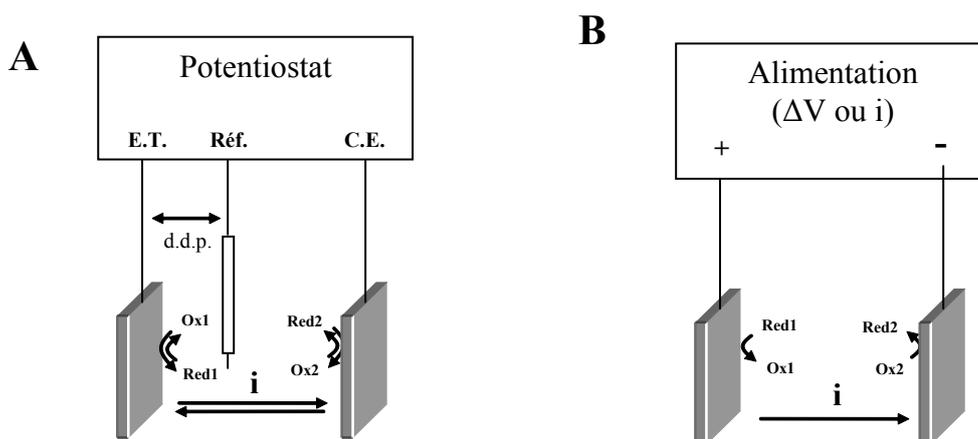


Figure II.3 : Cellule électrochimique pour analyse (A) cellule électrochimique pour électrolyse (B).

Le contrôle du potentiel est dépendant de la différence de potentiel entre l'électrode de référence et la surface de l'électrode de travail. En d'autres termes, ce potentiel sera d'autant mieux contrôlé que la surface de l'électrode de travail aura une surface proche d'une rugosité égale à 1 et une conductivité électrique élevée. Par conséquent, la limitation des cellules électrochimiques à trois électrodes est qu'un contrôle homogène du potentiel ne peut se faire que sur une électrode de travail de petite surface, de l'ordre de quelques millimètres carrés.

I.1.2. Analyse électrochimique

Les analyses en voltampérométrie présentées dans ce manuscrit sont réalisées à température ambiante à l'aide d'une cellule conventionnelle à trois électrodes schématisée figure II.3-A. L'électrode de travail est une électrode de cuivre de carbone vitreux ou de platine ; la contre électrode est un fil de platine et l'électrode de référence est le calomel saturée en KCl ($\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{Hg}$) localisée près de l'électrode de travail. Les solutions analysées sont contenues dans des cellules électrochimiques en verre et le volume d'analyse varie entre 5 et 25 mL. Tous les voltampérogrammes sont obtenus par une variation cyclique du potentiel. Ces derniers ont été enregistrés en utilisant un logiciel EC-Laboratory version 9,52 (Bio Logic Science Instruments) installé sur un ordinateur connecté à un potentiostat/galvanostat multichannel (BioLogic Science Instruments).

Avant chaque expérience : (1) L'électrode de travail est polie mécaniquement sur des papiers métallographiques SiC (*Struers*) de rugosité décroissante (2400 et 4000) puis rincées avec de l'eau distillée ; (2) la cellule est purgée avec de l'azote gazeux pendant quelques minutes pour éviter toute influence du dioxygène dissous, et ce tout particulièrement lors du balayage en réduction.

I.2. Cellule électrochimique pour l'électrolyse

Le rôle d'une cellule d'électrolyse (Figure II.3-B) est de transformer en quantité importante un substrat électroactif. Etant donné que cette quantité est proportionnelle au nombre d'électrons échangés, ceci nécessite de travailler avec des électrodes de très grande surface pour augmenter les échanges électroniques. Dans ces conditions, l'utilisation d'une électrode de référence pour contrôler le potentiel alourdit considérablement le système avec une efficacité qui décroît lorsque la surface de l'électrode croît du fait de la forte hétérogénéité du potentiel à la surface de l'électrode. Il existe deux manières d'effectuer une électrolyse : à tension ou intensité constantes. Dans le cas d'une tension constante, étant donné que les surtensions varient au cours de l'électrolyse, il est difficile de connaître de manière exacte la tension à appliquer. Ce système évite la formation de réactions secondaires

comme l'oxydation ou la réduction du solvant mais ne permet pas dans la plupart des cas une électrolyse complète du substrat électroactif du fait des temps d'électrolyse très longs entraînant un rendement faradique faible. Avec l'application d'une intensité constante, l'électrolyse est alimentée suivant le calcul du nombre de coulombs théoriques consommés par la réaction. Le procédé élaboré fonctionne alors par application d'une intensité calculée. Mais, la limite, du fait d'un non contrôle du potentiel est de laisser apparaître une réaction secondaire impactant la sélectivité et par conséquent les rendements chimiques et faradiques.

Dans le cas d'une cellule électrochimique d'électrolyse, le transport de matière représente une étape essentielle dont le rôle consiste en l'apport à l'interface électrode-solution de l'espèce réagissant, c'est-à-dire de l'oxydant ou du réducteur. Trois phénomènes sont à prendre en compte :

- la diffusion : c'est le transport des espèces électroactives provoqué par un gradient de concentration créé à la suite d'une oxydation ou d'une réduction des espèces à la surface de l'électrode.
- la migration : c'est le transport des espèces chargées provoqué par un gradient de potentiel appliqué à l'électrode.
- la convection : c'est le transport des espèces en solution provoqué par exemple par des forces mécaniques (convection forcée) ou par une évolution de la température (convection naturelle).

De ces trois phénomènes, la convection est celui dont l'optimisation est la plus accessible, par exemple par une agitation mécanique et une température constante. Pour une électrolyse faisant appel à un petit volume, une simple agitation à l'aide d'un barreau aimanté est suffisante pour homogénéiser le transport de matière. En revanche, ce procédé n'est plus viable pour traiter un volume élevé de solution. La technique la plus développée est dite « filtre-pressé » dans laquelle la solution est en circulation dans un empilement de deux électrodes très proches l'une de l'autre et séparées par une membrane (Figure II.4). Le transport de matière est assuré par le flux de la solution proportionnellement au débit imposé.

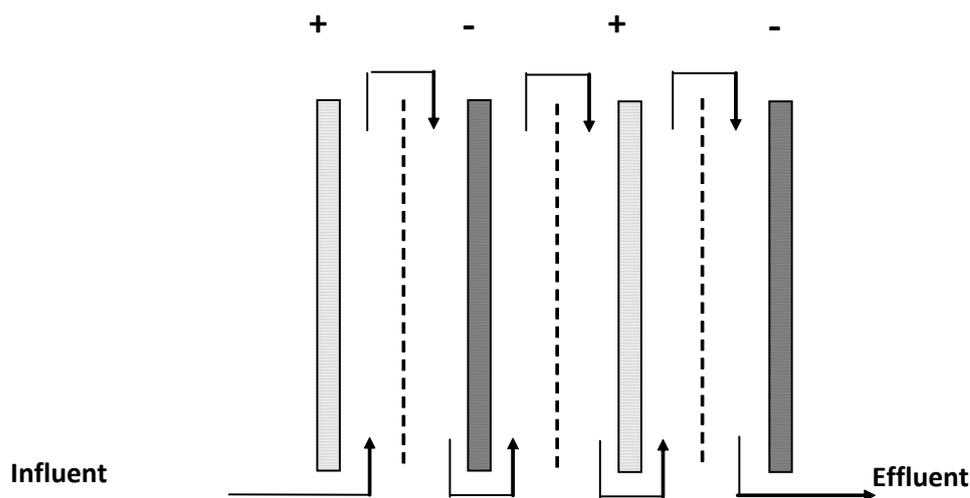


Figure II.4 : Procédé « filtre-presse »

(-) cathode ; (+) anode; (-----) membrane.

L'inconvénient de ce procédé est d'utiliser des surfaces d'électrode très élevées pour obtenir en sortie de cellule une transformation complète. Un second problème, majeur, est le temps de séjour important du substrat électroactif dans le réacteur qui dans le cas d'une réaction pouvant mettre en jeu plusieurs étapes réactionnelles conduit rapidement à un mélange de produit.

I.3. Cellule électrochimique à percolation

I.3.1. Principe

L'existence de matériaux poreux électriquement conducteurs a permis de réfléchir à un concept d'électrolyseur et de contribuer à l'apparition de cellules à percolation (appelées également à circulation) [104]. L'idée de base est d'obliger la solution d'électrolyse à traverser (percoler) le matériau poreux de façon à transformer quantitativement le réactif en un temps très court, figure II.5. Le temps de séjour de la solution dans l'électrode est fonction du débit et varie de quelques secondes à quelques minutes. Le passage forcé de la solution au travers de l'électrode poreuse permet un bon contact de la solution à traiter avec la surface de l'électrode de travail.

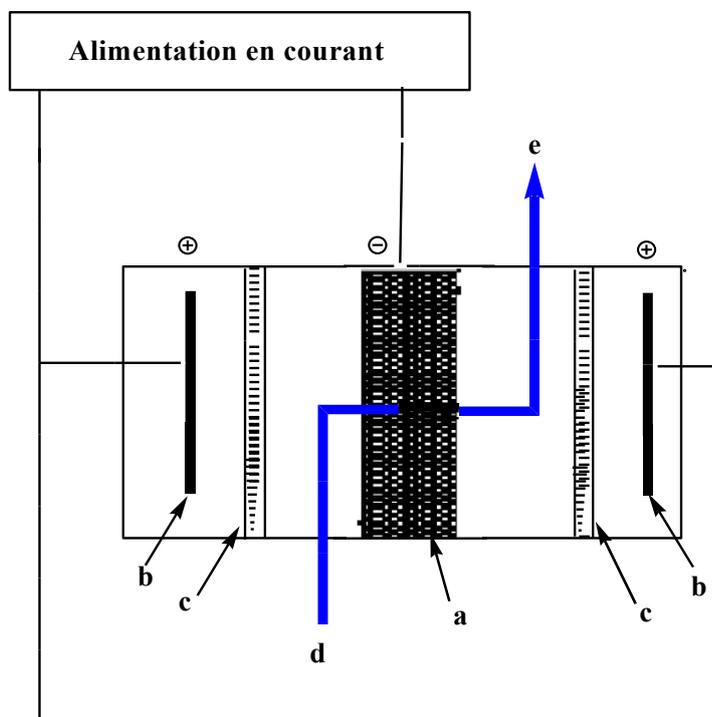


Figure II.5 : Schéma général d'une cellule à percolation.a, électrode poreuse ; b, contre-électrodes ; c, membrane cationique ;d, solution avant électrolyse; e, solution après électrolyse.

L'électrolyse est effectuée à courant imposé et le calcul de l'intensité à fixer est réalisé en fonction de la concentration du substrat selon l'équation suivante :

$$i \text{ (A)} = [S] \times d \times (10^{-3}/60) \times n \times F \quad \text{(Eq.II.1)}$$

Avec : [S] = Concentration du substrat en mol.L⁻¹.

d = Débit en mL.min⁻¹

n = Nombre d'électrons échangés par la réaction.

F = Constante de Faraday = 96500 C.

L'imposition d'un courant polarise l'électrode de travail mais pour un matériau poreux la valeur du potentiel diffère de plus en plus en se déplaçant vers l'intérieur, dans l'épaisseur de l'électrode poreuse car la conductivité électrique du matériau diminue dans le même sens. Pour minimiser ce phénomène, l'électrode de travail est placée entre deux contre-électrodes de même surface plane. Cet

agencement homogénéise la répartition du potentiel sur les deux surfaces de l'électrode de travail en amoindrissant la « chute » du potentiel à l'intérieur du matériau [104]. Comme le montre le schéma éclaté d'une cellule à percolation (Figure II.6) si l'espèce à électrolyser est inerte vis-à-vis des contre électrodes il n'est pas nécessaire de placer les membranes.

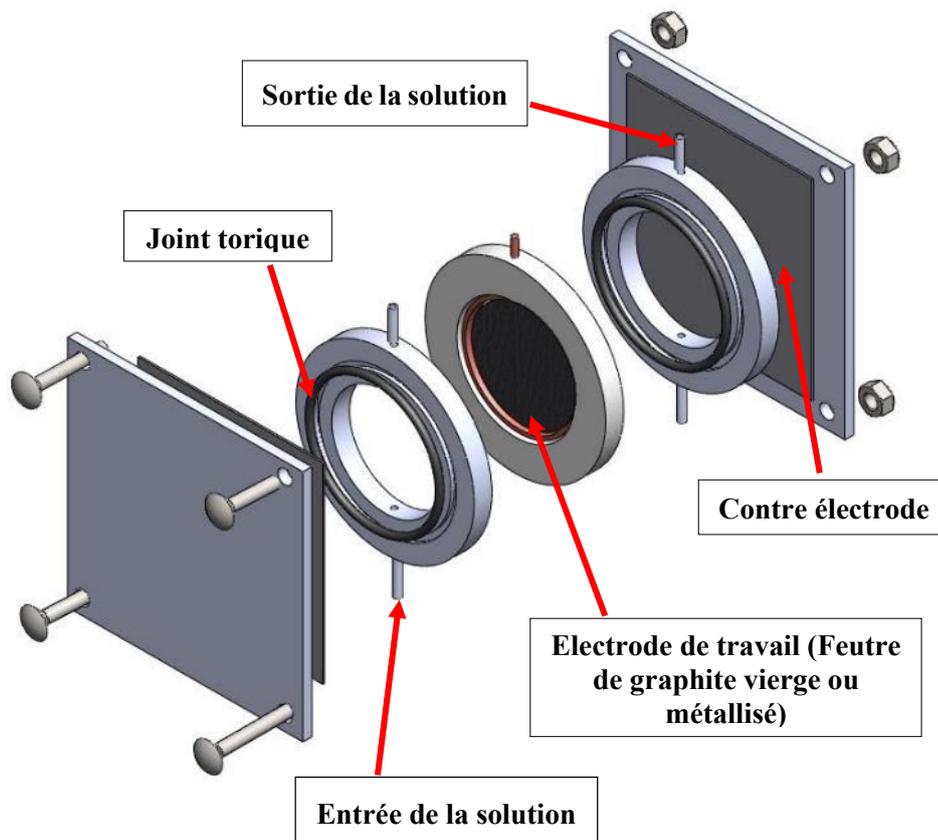


Figure II.6 : Schéma éclaté d'une cellule à percolation.

Pour une valeur de l'intensité du courant expérimentale égale à la valeur calculée, la transformation complète du substrat en un seul passage dépendra de la surface développée par le matériau dans son volume et du débit de la solution. Plus la surface développée dans un volume sera faible et plus le débit devra être faible pour assurer une transformation complète en un seul passage. Inversement une surface développée permettra d'utiliser des débits élevés. Mais une surface élevée entraîne également une diminution de la porosité qui peut devenir un frein pour l'écoulement de la solution à travers le matériau poreux ce qui entraîne un échauffement du procédé.

I.3.2. Electrode poreuse : Feutre de graphite

Les matériaux utilisés dans cette étude comme électrode poreuse sont des feutres de graphite fournis par la société MERSEN (Paris La Defense, France) d'épaisseur 6 mm (code : RVG 2000) ou 12 mm

(code RVG 4000). Les feutres sont constitués par un enchevêtrement de fibres de graphite dont le diamètre moyen est de l'ordre de 20 μm (Figure II.7). Leur surface spécifique estimée par la méthode BET est égale à 0,7 $\text{m}^2.\text{g}^{-1}$ et la densité d'un feutre est égale à 0,088 $\text{g}.\text{cm}^{-3}$. La porosité de ces matériaux est supérieure à 90% ce qui est favorable à leur utilisation dans les cellules à percolation.

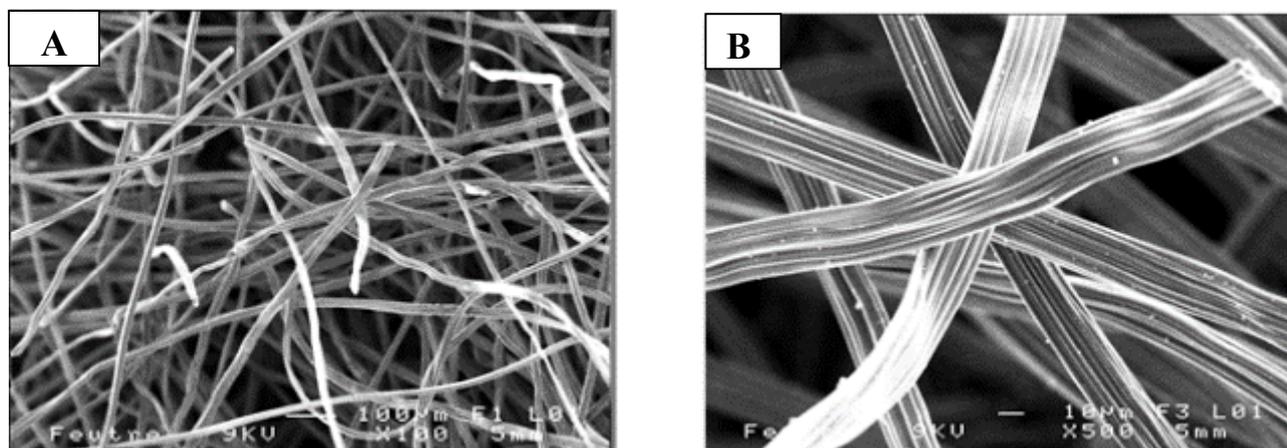


Figure II.7 : Images MEB des feutres de graphite MERSEN (RVG 4000).

A- Grossissement $\times 100$

B- Grossissement $\times 500$

Il existe sur le marché de nombreux feutres de graphite ou de carbone qui développent des surfaces spécifiques très élevées comme par exemple les feutres PICA vendus par la société JACOBI dont les surfaces varient entre 1200 et 2000 $\text{m}^2.\text{g}^{-1}$. Plus généralement, ces matériaux développés par différents fabricants à travers le monde, permet d'accéder à des feutres ayant les propriétés physiques et chimiques suivantes :

- Surface spécifique importante.
- Surtension de dihydrogène et de dioxygène parmi les plus élevés de tous les matériaux d'électrodes [105,106].
- Bon conducteur électrique [106,107].
- La structure en feutre est plus conductrice que le carbone en grain, du fait de l'espace réduit entre les fibres. Le feutre présente une conductivité électrique longitudinale (sens des fibres) et une conductivité électrique transversale (direction perpendiculaire au plan du feutre) [108].
- Le feutre est souple et simple à manipuler en comparaison des grains carbonés mis en lit fixe. En effet, il va de soi que dans le cas de ces derniers matériaux, la manipulation d'une énorme quantité de grains rend très difficile, non seulement la constitution de l'électrode, mais aussi sa reconstitution quand celle-ci s'avère nécessaire à l'usage [108].

- Résistances thermiques et chimiques [106].
- Les coûts sont moindres par rapport à des électrodes métalliques.
- Matériau non cancérigène [109].

I.3.3. Conclusion

La cellule électrochimique à percolation possède de nombreux avantages par rapport aux électrolyseurs classiques en flux fixe (batch) et en flux dynamique de type filtre-presse :

- Augmentation de la probabilité de contact entre le substrat et l'électrode.
- Temps de présence au voisinage de l'électrode inférieur au procédé filtre-presse et au procédé en flux stationnaire.
- Diminution du temps d'électrolyse.
- Amélioration de la sélectivité.
- Réduction de l'investissement énergétique.
- Application industrielle à grande échelle possible [104].

La cellule à percolation peut être conçue avec l'apport d'une électrode de référence. Ce montage s'adresse à de petits modèles pour lesquels le contrôle du potentiel sera réalisable [110]. Dans le cas de l'utilisation d'une cellule à percolation de grand format dont l'objectif est de réaliser une transformation en grande quantité, un branchement en mode intensiostatique sera utilisé [104,111–113]. Par conséquent, dans ce montage le contrôle du potentiel de l'électrode ne peut plus être mis en place, ce qui entraîne une perte de sélectivité et provoque pour une transformation électrochimique multi-étapes l'apparition d'un mélange de produits en sortie de cellule. Il est donc nécessaire pour obtenir dans de nombreux cas une transformation sélective d'un substrat de modifier le feutre de graphite de façon à lui apporter une sélectivité nouvelle pour une réaction désirée. C'est dans ce sens que le chapitre III sera consacré à la préparation des électrodes poreuses de cuivre pour réaliser une électrolyse en continu des ions nitrate en ammoniac. Afin de conserver les propriétés intrinsèques du feutre de graphite comme matériau d'électrode (grande surface spécifique, légèreté, porosité...), l'électrode poreuse en cuivre sera préparée par électrodéposition sur feutre de graphite.

II. ELECTRODEPOSITION : PRINCIPE ET MONTAGE

II.1. Principes généraux d'électrodéposition des métaux

La technique de déposition électrochimique des métaux et de leurs alliages, implique la réduction des ions métalliques dissous dans la solution électrolytique. À la cathode qui est le pôle négatif, les électrons sont fournis aux cations. Dans sa forme la plus simple, en milieu aqueux, le métal se dépose sur la cathode selon la réaction d'équation simplifiée suivante [114,115] :



M^{n+} , étant l'ion métallique, n , la charge de l'ion métallique et e^{-} , l'électron.

L'anode qui est le pôle positif peut être sacrificielle (anode soluble) ou bien permanente (anode inerte) [116]. Les anodes sacrificielles sont faites du métal qui doit être déposé. Les anodes permanentes ferment seulement le circuit électrique, mais ne fournissent pas de métal frais pour remplacer ceux qui ont été éliminés de la solution par déposition à la cathode. Le platine et le carbone vitreux sont habituellement utilisés comme anodes inertes, mais en fonction du pH, des métaux de transition tels que le nickel ou le plomb peuvent également servir d'anode.

D'après l'équation II.14, les deux types de particules chargées impliquées dans l'électrodéposition sont les ions et les électrons ; ces derniers entrent en contact à l'interface solide / liquide. Ainsi, les quatre paramètres fondamentaux impliqués dans le processus général d'électrodéposition sont: (1) le transport de matière vers l'interface électrode-solution; (2) la cinétique et le mécanisme de déposition; (3) le processus de nucléation géométrique et de croissance des dépôts; et (4) la structure et les propriétés du dépôt [117].

Dans le cas du cuivre qui fera l'objet d'une métallisation qui sera réalisée dans le chapitre III, l'électrodéposition des ions Cu^{2+} très étudiées dans la littérature [118–126] n'est pas directe, mais se produit en deux étapes correspondant au transfert d'un seul électron comme l'illustre le schéma II.3. Dans la première étape Cu^{+} est formé, dans la deuxième étape le métal est déposé [127,128].



Schéma II.3 : Étapes d'électrodéposition des ions Cu^{2+} .

La figure II.8 illustre une cellule électrochimique typique permettant d'électrodéposer du cuivre. La solution contient des sels de sulfate de cuivre métallique (CuSO_4) de concentration généralement très élevée ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ au minimum) pour éviter autant que possible les limites diffusionnelles. L'anode est une électrode inerte comme le platine et l'électrolyte support est un sel inerte de concentration élevée comme Na_2SO_4 $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$.

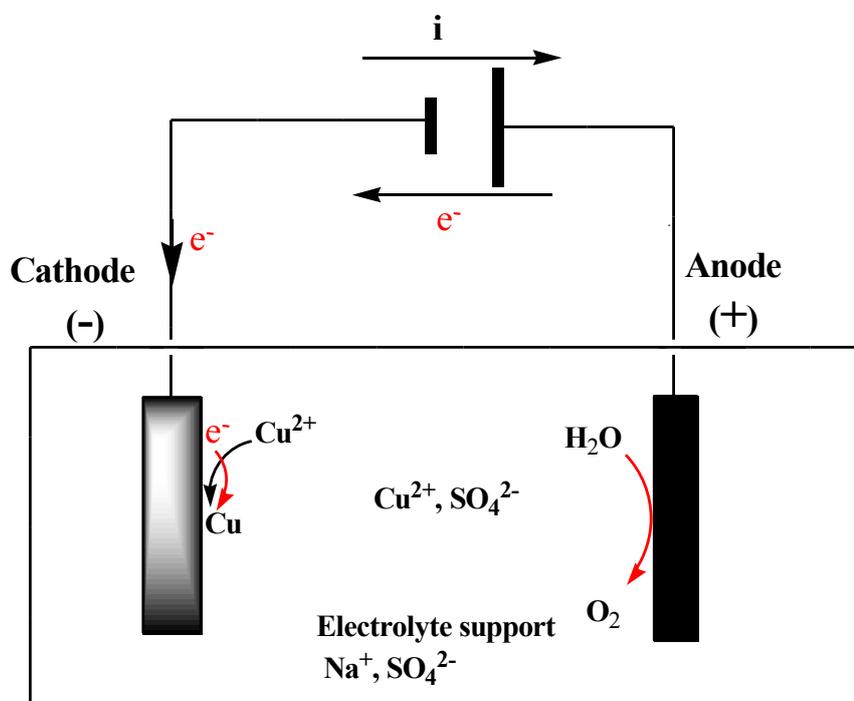


Figure II.8 : Cellule d'électrodéposition.

La pièce à métalliser est placée à la borne négative de l'alimentation électrique et correspond à la cathode. Au voisinage de la surface de la cathode, dans l'épaisseur de la couche de diffusion (de l'ordre de quelques dizaine d'angströms), les électrons sont transférés aux ions cuivriques Cu^{2+} pour former des atomes de cuivre métallique qui métalliseront progressivement le support (Réaction II.15).



II. 2. Conditions expérimentale pour l'électrodéposition du cuivre sur une électrode poreuse de graphite

II.3.1. Montage expérimental

L'électrodéposition de cuivre sur un feutre de graphite est réalisée à l'aide du montage illustré dans la figure II.9. La métallisation a lieu à température ambiante dans une cellule électrochimique à percolation utilisée au laboratoire (Figure II.6).

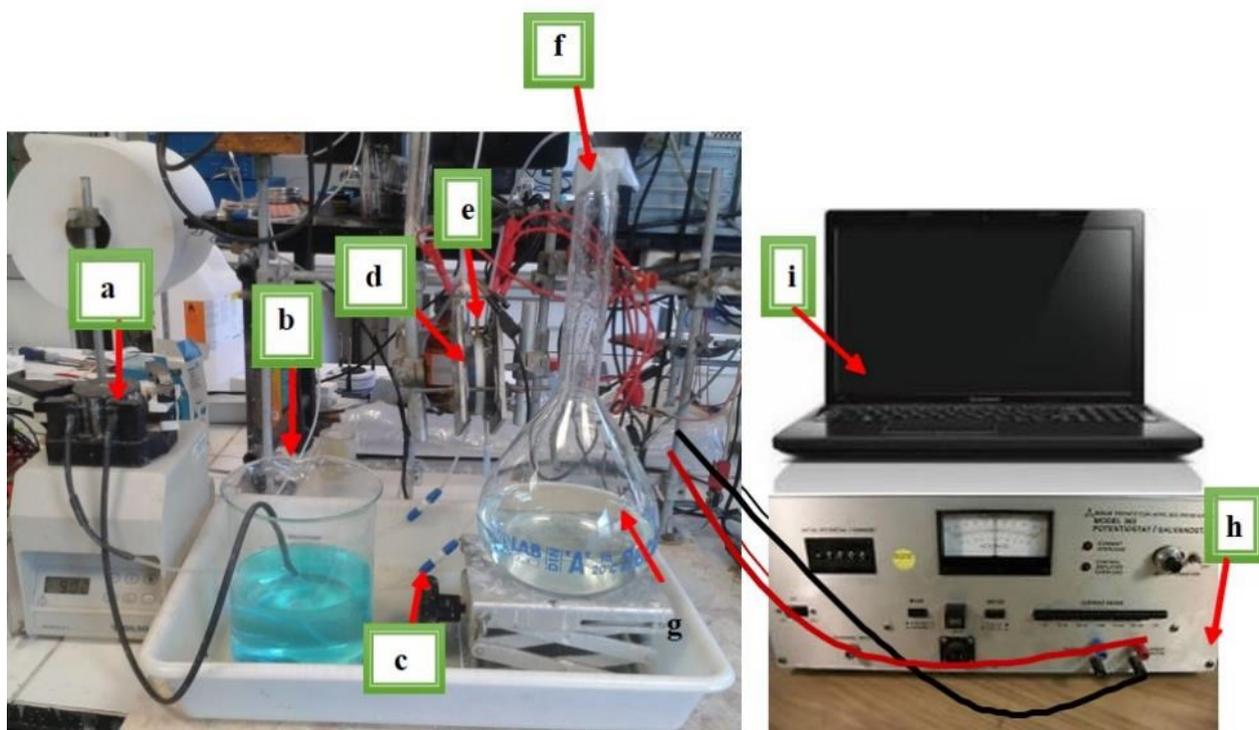


Figure II.9 : Montage expérimental d'électrodéposition du cuivre.

- a : Pompe péristaltique
- b : Réservoir en entrée de cellule contenant la solution de cuivre
- c : Robinet pour changer le sens de circulation de la solution dans la cellule
- d : Contre électrode de Pt
- e : Cathode (feutre de graphite à métalliser)
- f : Sortie de la cellule
- g : Flaçon en sortie de cellule
- h : Potentiostat/Alimentation en courant
- i : Ordinateur piloté par un logiciel pour contrôler les durées de pulses

Plusieurs éléments sont utilisés :

Une pompe péristaltique (a) : La circulation des électrolytes est assurée par une pompe péristaltique de marque Gilson minipuls. Le débit est modulable ce qui permet de varier le temps de séjour de la solution dans l'électrode poreuse. Le débit est contrôlé en sortie de cellule.

Deux réservoirs (b et g) : La solution d'électrolyse circule du réservoir (b) vers le réservoir (g) puis en sens inverse pour réaliser un cycle aller et retour. Trois cycles allés et retour sont effectués.

Une cellule à percolation (d, e) : La cellule utilisée est identique à celle décrite dans ce chapitre, (figure II.6.). Le feutre de graphite est découpé selon un diamètre de 56 mm et une épaisseur de 3 mm. Deux grilles de platine de même surface utilisées comme anodes sont placées parallèlement de chaque côté de la cathode.

Un couple alimentation électrique/ordinateur (e, h) : Un changement périodique du courant est imposé entre les électrodes avec des intensités appliquées de 0 A et de 0,1 A / (cm³ de feutre) à l'aide d'un potentiostat (EG&G Princeton Applied Research model 362) fonctionnant selon un mode galvanostatique. Par l'intermédiaire d'une interface de marque Lab/4SP, AD Instruments, un ordinateur (logiciel : Scope version 3.6.10) pilote le potentiostat.

II.3.2. Solution expérimentale

La solution d'électrodéposition doit satisfaire aux 3 contraintes suivantes : conductivité de la solution ; concentration de l'ion à déposer ; pH de la solution

- La conductivité de la solution doit-être élevée car les intensités du courant appliqué sont très fortes (0,1 A/cm³ de feutre). Pour obtenir une solution suffisamment conductrice une concentration en sulfate de sodium de 0,5 mol.L⁻¹ est utilisée comme électrolyte support.
- La concentration du cation métallique à déposer doit être faible et varie entre 5.10⁻³ mol.L⁻¹ et 10⁻² mol.L⁻¹ en fonction de l'épaisseur du feutre. En règle générale, plus l'épaisseur du feutre est importante et plus la concentration du cation métallique doit être faible. Par exemple, dans le cas de l'électrodéposition du nickel ; [Ni²⁺] = 7,5.10⁻³ mol.L⁻¹ pour une épaisseur du feutre de 3 mm.
- Le pH de la solution est fonction du cation métallique à déposer. La valeur est fixée à environ deux unités de pH en dessous du début de précipitation des hydroxydes correspondants. L'objectif est de fixer le pH à une valeur pas trop faible de façon à décaler au maximum le dégagement de dihydrogène vers les potentiels négatifs. Par exemple dans le cas du nickel de concentration égale à 10⁻² mol.L⁻¹ le pH est fixé à 5 étant donné que les hydroxydes de nickel (Ni(OH)₂) apparaissent vers 7. Le pH de la solution est ajusté avec une solution d'acide sulfurique ; H₂SO₄ (0,5 mol.L⁻¹) ou d'hydroxyde de sodium ; NaOH (5 mol.L⁻¹).

III. ELECTROLYSE : APPARAILLAGES

III.1. Montage électrochimique

Le montage électrochimique prend en compte la composition des solutions d'électrolyse et les appareils associés au montage.

III.1.1. Solutions d'électrolyse

Les produits chimiques utilisés dans cette étude sont fournis par Alfa-Aesar. Trois solutions d'électrolyse se différenciant par la valeur du pH sont étudiées :

- Solution 1 de pH = 4,8 : Nitrate de potassium à 3 g.L⁻¹ dans une solution tampon d'acide acétique (CH₃COOH) 0,5 mol.L⁻¹ et d'acétate de sodium (CH₃COO⁻,Na⁺) 0,5 mol.L⁻¹.
- Solution 2 de pH = 7,2 : Nitrate de potassium à 3 g.L⁻¹ dans une solution tampon de dihydrogénophosphate (H₂PO₄⁻, K⁺) 0,25 mol.L⁻¹ et hydrogénophosphate de potassium (HPO₄²⁻, 2K⁺) 0,25 mol.L⁻¹.
- Solution 3 de pH = 13 : Nitrate de potassium à 3 g.L⁻¹ dans une solution de soude (NaOH) 0,1 mol.L⁻¹.

III.1.2. Montage expérimental

Le montage expérimental (Figure II.10) utilise une cellule à percolation identique à celle décrite figure II.6. Dans certaines conditions (chapitre IV) une membrane cationique est placée en amont de l'électrode de travail. Le débit de la solution est assuré par une pompe péristaltique de marque Gilson minipuls. L'intensité du courant i est imposée de façon continue par une alimentation de conception propre au laboratoire (30V/3A).

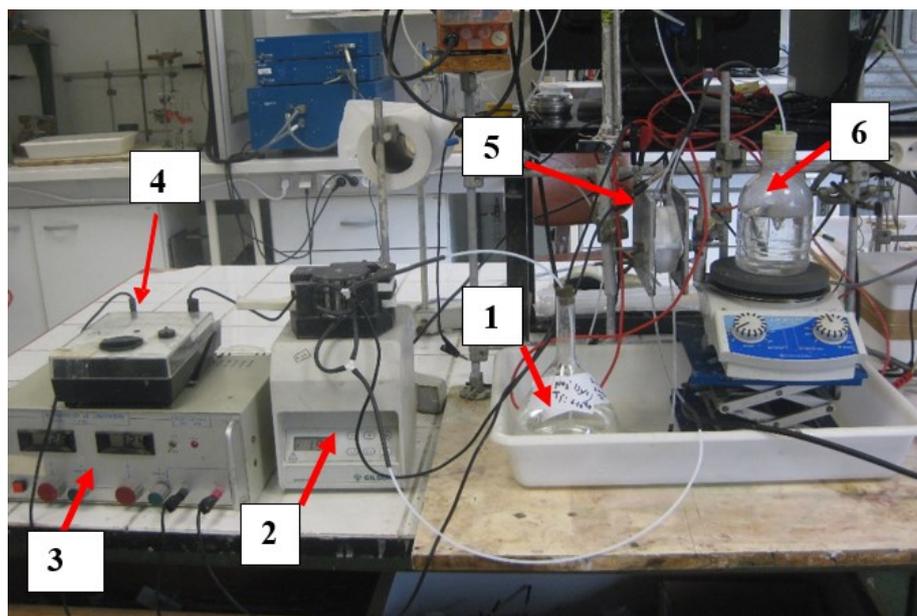


Figure II.10 : Montage expérimental utilisé pour l'électrolyse des nitrates.

- 1 : Réservoir en entrée de cellule contenant la solution des ions nitrate
- 2 : Pompe péristaltique
- 3 : Alimentation (30V/3A)
- 4 : Ampèremètre
- 5 : Cellule à percolation (identique à celle illustrée dans la figure II.6)
 - Cathode en feutre de graphite métallisé au cuivre
 - Contre électrode de platine
- 6 : Réservoir de récupération de la solution en sortie de cellule

Les conditions opératoires sont les suivantes :

- L'électrode de travail est un feutre de 5,6 cm de diamètre et 0,3 cm d'épaisseur ($V = 7,8 \text{ cm}^3$). L'électrode métallisée au cuivre est réalisée selon les conditions qui seront décrites dans le chapitre III.
- Les débits imposés sont 1, 2 et 3 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ce qui permet de calculer selon l'équation II.1, les intensités de courant respectives suivantes : 0,63 A, 1,25 A et 1,87 A.

III.1.3. Définitions des paramètres

La performance de la cellule électrochimique à percolation en un seul passage de la solution est évaluée par rapport à la transformation électrochimique des ions nitrate vers l'ammonium (chapitre III à V) et vers l'azote gazeux (chapitre IV). L'évaluation de la performance se base sur les paramètres suivants : le taux de transformation de la réaction de réduction ($\% \tau$) (Eq. II.2), les rendements

chimiques des produits de réduction (ammonium, ions nitrites et azote gazeux) (% X_i) (Eq. II.3) et la sélectivité en ammonium (% S_{X_i}) (Eq. II.4) :

$$\% \tau = ([\text{NO}_3^-]_{t=0} - [\text{NO}_3^-]_t) \times 100 / [\text{NO}_3^-]_{t=0} \quad (\text{Eq.II.2})$$

$$\% X_i = ([X_i]_t \times 100) / [\text{NO}_3^-]_{t=0} \quad (\text{Eq.II.3})$$

$$\% S_{X_i} = ([X_i]_t \times 100) / ([\text{NO}_3^-]_{t=0} - [\text{NO}_3^-]_t) = (\% X_i \times 100) / (\% \tau) \quad (\text{Eq.II.4})$$

Le rendement faradique (current efficiency (% CE)) établi par rapport à la transformation des nitrates en ammonium est calculé en se basant sur la formule suivante :

$$\% \text{CE} = ([\text{NH}_4^+]_t \times n \times F \times V_t / i \times t) \times 100 \quad (\text{Eq.II.5})$$

Avec : $[X]_{t=0}$ = concentration initiale de X et $[X]_t$ = concentration de X au temps d'électrolyse « t ».

i = intensité du courant appliqué et V_t = volume électrolysé au temps « t » en litre.

Les concentrations sont en mol.L⁻¹, le temps « t » en seconde (s) et $1F = 96500 \text{ C}$.

n = nombre d'électrons échangés soit $8e^-$ pour la transformation des nitrates en ammonium.

IV. PROCEDURES EXPERIMENTALES DE PRODUCTION DE BIOHYDROGENE

IV.1. Prétraitement électrochimique des ions nitrates : préparation de la solution d'ammonium

Un litre de solution synthétique de nitrates de concentration 3 g.L⁻¹ est préparée en dissolvant des cristaux de nitrate de potassium (KNO₃ 99%) dans de l'acide phosphorique (H₃PO₄ 10⁻² mol.L⁻¹). Le pH de la solution électrolytique est ajusté à 1 en utilisant de l'acide sulfurique à 96%. Les réductions électrochimiques des solutions de nitrates sont réalisées à température ambiante en utilisant la cellule électrochimique présentée dans ce chapitre (Figure. II.6). Après un seul passage à travers la cellule électrochimique à percolation, la solution d'électrolyse est collectée pour être utilisée ultérieurement comme substrat azoté par les bactéries productrices de dihydrogène.

IV.2. Production de biohydrogène par fermentation obscure du glucose

Dans cette étude, les préparations du milieu de culture et des boues activées (lavage et prétraitement thermique) sont les deux étapes principales pour la production de dihydrogène par fermentation obscure.

IV.2.1. Préparation du milieu de culture

Pour favoriser la croissance des bactéries productrices de H₂, le milieu de croissance utilisé apporte aux microorganismes tous les éléments nécessaires au développement cellulaire. Sa composition en minéraux pour 1 litre de milieu de culture [129] est indiquée dans le tableau II.6.

Tableau II. 6: Composition du milieu minéral de culture utilisé pour produire du biohydrogène.

Composé	Concentration (mg.L ⁻¹)
MgSO ₄ , 7H ₂ O	360
CaCl ₂ , 2H ₂ O	66
NiCl ₂ , 6H ₂ O	48
FeCl ₃	50
CoCl ₂ , 6H ₂ O	21
ZnCl ₂	23
MnCl ₂ , 4H ₂ O	30
CuCl ₂ , 2H ₂ O	10
K ₂ HPO ₄	175
KH ₂ PO ₄	175

Dans toutes les expériences, le glucose est utilisé comme source de carbone. Quant à la source d'azote, c'est une solution commerciale de NH₄Cl ajoutée séparément dans chaque réacteur à une concentration de 0,86 g NH₄⁺.L⁻¹ pour le milieu synthétique, ou une solution d'ammonium récupérée après traitement électrochimique de la solution de nitrate, selon la procédure décrite dans la section IV.1 de ce chapitre. La concentration d'ammonium choisie (0,86 g.L⁻¹) correspond à la quantité maximale théorique de NH₄⁺ qui peut être produite par réduction électrochimique de la solution de nitrate (3 g.L⁻¹), selon l'équation I.9 (chapitre I) :



Le milieu de culture est tamponné, en utilisant de l'acide 2-morpholino éthanesulfonique monohydraté (MES $\geq 99\%$) à une concentration de $0,07\text{mol.L}^{-1}$, auquel une solution d'hydroxyde de sodium concentrée (10 mol.L^{-1}) est ajoutée pour être dans un domaine de pH compris entre 5,5 et 7,5. Cette gamme de pH a été choisie en se référant aux données de la littérature. Le tampon MES est très utilisé et régulièrement cité dans la littérature [130], car il a l'avantage d'être non toxique pour les bactéries et d'être peu coûteux [129,131].

IV.2.2. Préparation des boues activées

Pour les expériences de production biologique de dihydrogène deux inoculum différents ont été utilisés comme illustre la figure II.11 : boues activées (inoculum 1) prélevées dans le bassin d'aération d'une station locale pour le traitement des eaux usées (Beaurade, Rennes, France) et des boues collectées d'un digesteur anaérobie (inoculum 2) pour la production de méthane (en fonctionnement depuis 18 mois) localisée à la même station. Il s'agit d'une station de type boues activées (traitement biologique qui élimine la matière organique) complétée d'un traitement chimique qui permet de réduire la teneur en phosphore. Elle a une capacité de traitement de 360 000 équivalents-Habitants en charge organique.

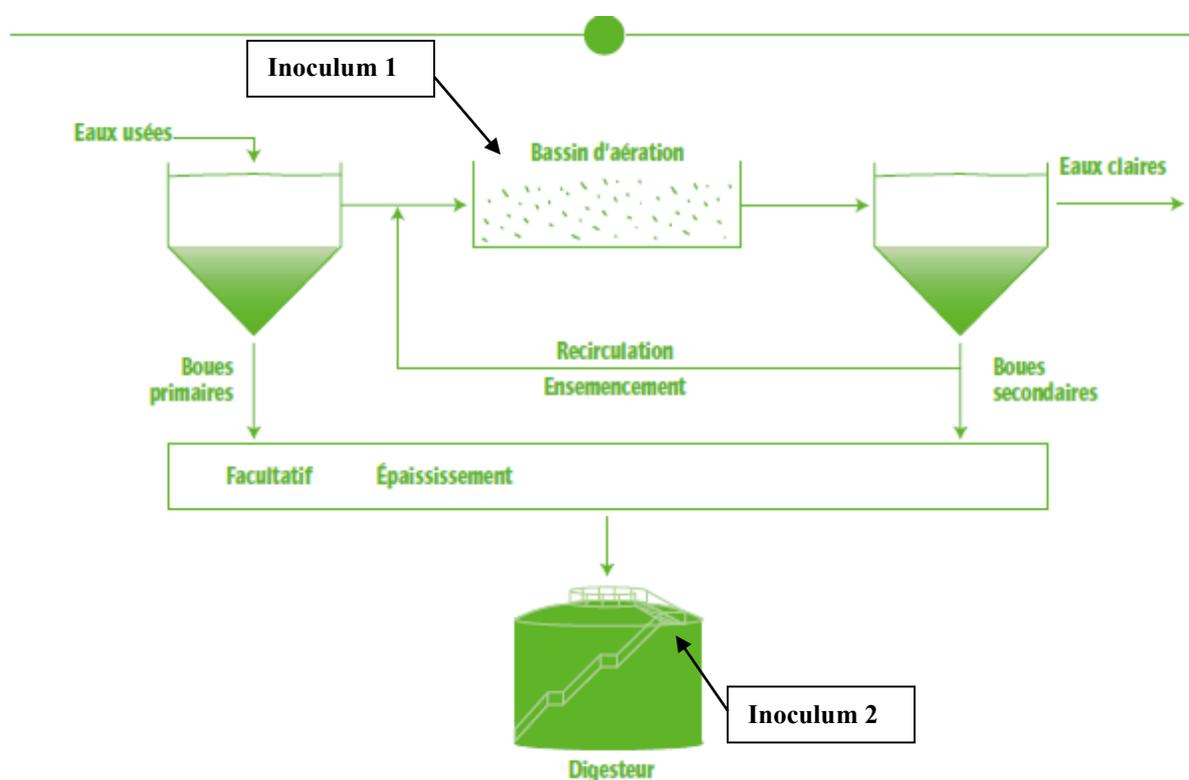


Figure II.11 : Chaîne de traitement des eaux usées dans une station d'eau d'épuration [132].

Les boues activées sont une matrice complexe, dont la composition varie en fonction de la composition des effluents traités, des traitements effectués, des saisons, etc. La présence d'interférents, comme par exemple de la matière carbonée, des métaux, de l'azote organique, ammoniacal ou des nitrates, et du phosphore sous forme de phosphates ou d'orthophosphates peuvent également influencer les résultats, les dosages des différents sous-produits de fermentation mais aussi la production de biohydrogène. Afin de s'affranchir au maximum de ces interférences, les boues sont systématiquement lavées avant chaque nouvelle manipulation ; elles sont lavées trois fois à l'eau du robinet puis trois fois avec de l'eau ultrapure [133]. Avant chaque lavage, les boues prélevées sont centrifugées à 4000 tours.min⁻¹ pendant 10 min (Jouan, Thermo Fisher Scientifics, Saint Herblain, France) ; le surnageant est ensuite écarté et le culot (les boues) est lavé et homogénéisé par agitation. Avant la dernière centrifugation, les cellules microbiennes sont tamisées pour enlever le sable, les pierres et les autres grosses particules. Une fois les boues lavées, leur concentration en matière est déterminée à partir de la mesure de la Matière Solide en Suspension (MSS). Pour cela, 5 mL de boues lavées sont disposés dans une capsule de porcelaine préalablement tarée (P1) et placés dans une étuve à 105°C jusqu'à avoir un poids constant afin d'obtenir la matière solide en suspension (MSS), suivant la formule :

$$\text{MSS (g.L}^{-1}\text{)} = (\text{P2-P1}) / 0,005 \quad (\text{II.16})$$

Au cours des expérimentations, chaque analyse est réalisée en double et la valeur moyenne est retenue.

Dans le but d'inactiver les bactéries méthanogènes hydrogénotrophes et d'enrichir les bactéries productrices de H₂, les boues sont traitées thermiquement à 102 °C pendant 90 minutes avant leur utilisation. A ce stade la concentration en boues lavées est généralement comprise entre 25 et 35 g.L⁻¹. Les boues sont ensuite diluées avec le milieu de culture préparé selon la procédure décrite dans la section IV.2.1 de ce chapitre pour obtenir une concentration finale en inoculum de 4 g.L⁻¹ nécessaire pour effectuer les expériences de production de biohydrogène [129].

IV.2.3. Montage expérimental

La production de biohydrogène utilisant les solutions d'ammonium commerciales et ceux obtenues par électroreduction d'une solution de nitrate (Figure II.12) est effectuée sous conditions anaérobies, dans des flacons en verre de 125 mL avec un volume utile de 100mL (milieu de culture + boues). Les flacons contenant le milieu de culture (II.12) sont inoculés en boues activées traitées thermiquement à une concentration initiale fixée à 4 g.L⁻¹ en biomasse. Les flacons sont ensuite purgés avec de l'azote

gazeux pendant 5 minutes pour assurer des conditions anaérobies, puis bouchonnés avec des septums en silicone pour permettre l'échantillonnage avec une seringue et finalement placés dans un agitateur rotatif (New Brunswick, Innova 40) et comme illustré par la figure II.12 à 37 ± 1 °C et 200 tours.min⁻¹. Deux échantillons «Blanc »ne contenant que les boues activées et le milieu de culture (donc sans glucose) servent de référence. Dans toutes les expériences chaque échantillon est dupliqué et la valeur moyenne est considérée.

Afin de trouver les conditions optimales de production de dihydrogène par les microorganismes, le pH est étudié dans une gamme allant de 5,5 à 7,5 et la concentration en glucose, source de carbone, dans une gamme comprises entre 5 et 30 g.L⁻¹.

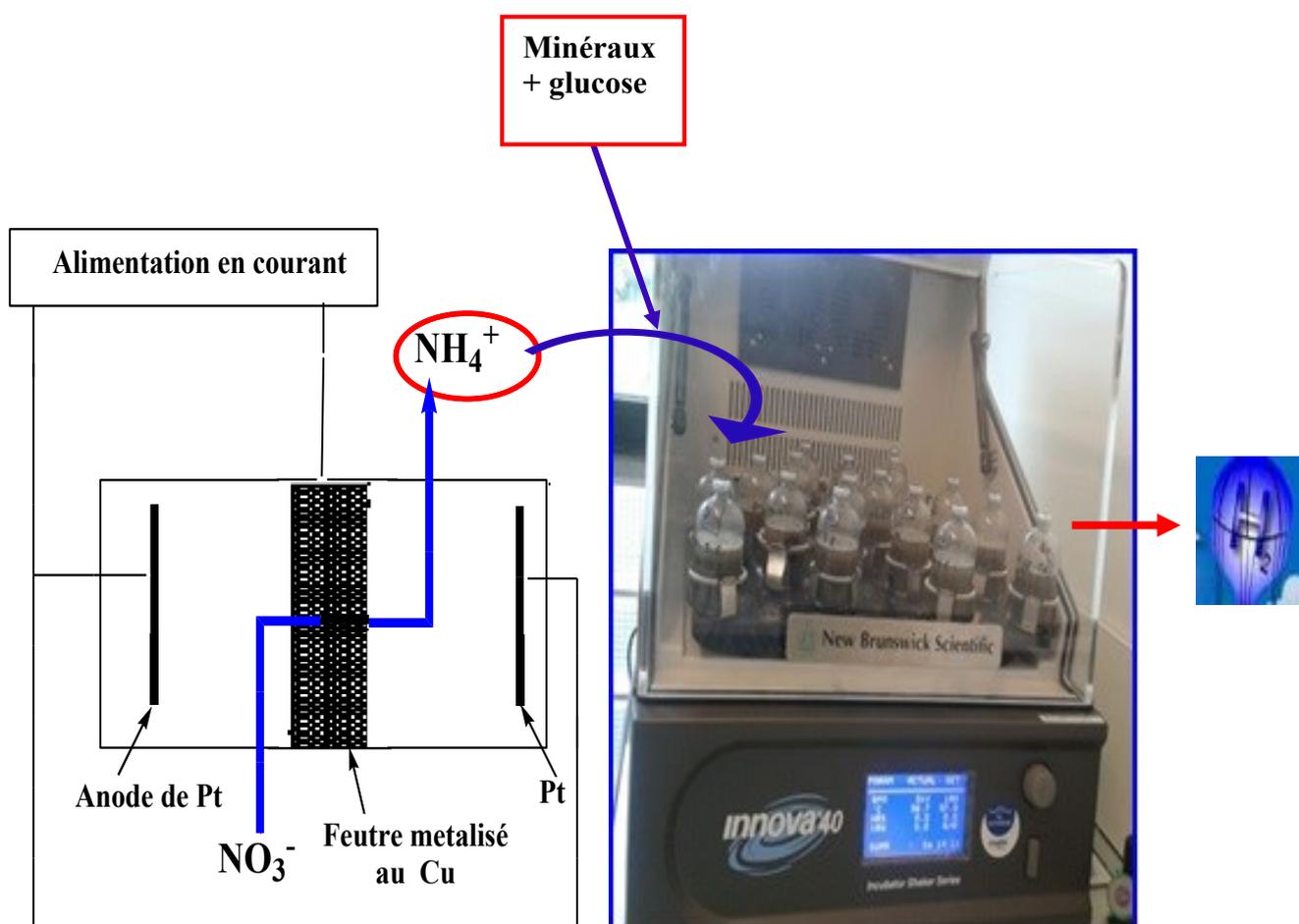


Figure II.12 : Dispositif expérimental utilisé pour la production de biohydrogène en mode « batch ».

V. APPAREILLAGE ET METHODE DE CARACTERISATION ET DETECTION

La détection des espèces issues des électrolyses est réalisée par chromatographie ionique et par spectrométrie UV-visible.

V.1. Chromatographie ionique

Les ions NO_3^- , NO_2^- , Cl^- et ClO^- sont dosés à l'aide d'une chromatographie ionique monocanal (Dionex) modèle DX-120 (Figure II.13). L'ensemble chromatographique comprend un échantillonneur automatique, une colonne échangeuse d'anions modèle IonPac AS18B (phase stationnaire) et un suppresseur chimique (ARS 300 - ultra 4 mm) piloté par le logiciel de gestion « Chroméléon™ CM-CHM-1-IC version 6.5 ». La phase mobile est une solution de KOH à 2 mol.L^{-1} , $\text{pH} = 14$, avec un débit de $1,04 \text{ mL.min}^{-1}$.

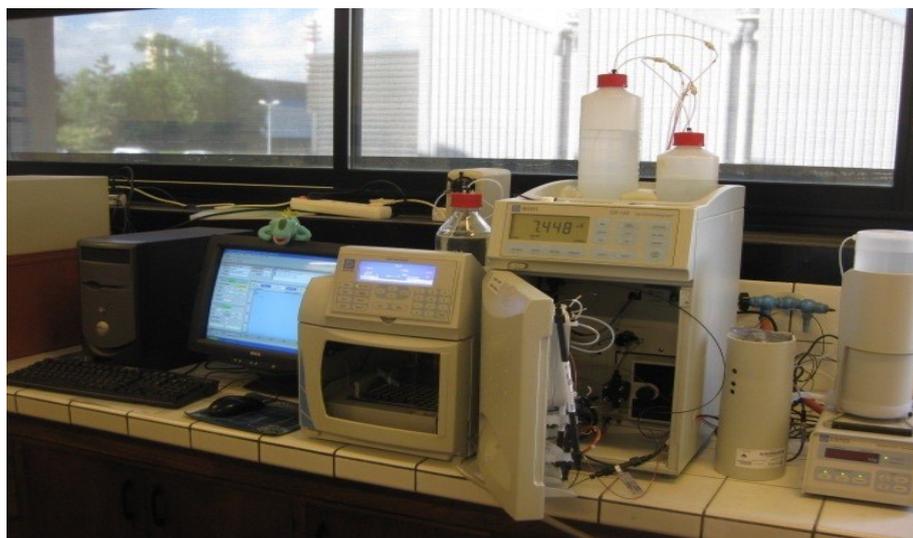


Figure II.13 : Equipement de la chromatographie ionique.

Chaque soluté injecté dans la colonne est soumis à deux effets antagonistes : l'entraînement par la phase mobile dans laquelle le soluté est soluble et la rétention par la phase stationnaire sur laquelle il s'adsorbe. La séparation est possible grâce aux différences d'affinités des ions à analyser et de la phase mobile pour les groupements fonctionnels de la phase stationnaire (échange d'ions). En comparaison avec les autres méthodes de dosage des ions nitrate et des nitrite, la chromatographie

ionique a l'avantage d'être rapide et multiparamétrique et, utilise des faibles volumes d'échantillon, environ 2 mL. La détection est réalisée à l'aide d'un conductimètre [134].

Avant chaque analyse, les échantillons d'électrolyse sont filtrés à travers une membrane de 0,45 µm. Les temps de rétention des ions sont regroupés dans le tableau II.7.

Tableau II.7 : Temps de rétention des ions nitrate, nitrite, chlorure et hypochlorite.

Composés	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	Cl ⁻	ClO ⁻
Temps de rétention (min)	12,95	17,32	8,1	10

V. 2. Spectrophotomètre U.V

Les ions ammonium (NH₄⁺) et hydrazine (N₂H₄) sont dosés par un spectromètre d'absorption UV-visible à double faisceau (Cary-1E, Varian) ; figure II.14.



Figure II.14 : Spectrophotomètres UV-visible.

Avant chaque analyse, les échantillons d'électrolyse sont filtrés à travers une membrane de 0,45 µm. L'ammoniaque est dosé selon la méthode de NESSLER [135,136]. C'est une solution d'iodure mercurique qui en milieu basique en présence de NH₃ conduit à la formation d'un complexe de couleur jaune/orangé. La limite de détection est de l'ordre de 0,1 mg.L⁻¹. L'hydrazine est dosée selon un protocole par complexation avec le *p*-diméthylamino-benzaldéhyde [137]. Le complexe formé est jaune et son absorbance est proportionnelle à la concentration de l'hydrazine dans l'échantillon. La

limite de détection est de 0,005 mg.L⁻¹ et le domaine d'application se situe entre 0,005 mg.L⁻¹ et 0,2 mg.L⁻¹.

Que ce soit pour l'hydrazine ou l'ammoniaque, en fin d'électrolyse les échantillons à doser sont dilués de façon à s'inscrire dans les domaines de détection appropriés.

Les longueurs d'ondes maximum d'absorption (λ) de NH₃ complexé et de N₂H₄ complexé sont reportées dans le tableau II.8.

Tableau II.8 : Longueur d'onde d'absorption de l'ion ammonium et de l'hydrazine.

Composés	NH ₃	H ₂ N-NH ₂
Longueur d'onde (λ) (nm)	420	458

V. 3. Micro GC : Analyse des gaz

L'analyse des gaz produit lors de la fermentation et lors de l'électrolyse a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse (Agilent Micro GC3000, SRA Instruments). 250 μ L d'échantillon gazeux sont prélevés et injectés automatiquement dans le chromatographe (figure II.15) à l'aide d'une seringue (Seringue Perfectum, COSGE). Le biogaz est entraîné par un courant d'hélium pur (qualité 6.0) utilisé comme phase mobile et qui balaie de manière continue la colonne.



Figure II.15 : chromatographie en phase gazeuse (Micro GC).

La pression d'hélium (Air liquid) dans la colonne est maintenue à 40 psi. Celle-ci comprend 2 colonnes concentriques : la colonne intérieure PoraplotQ (10m × 0,32 mm, 10 µm) permet de séparer CO₂, N₂O et H₂S des autres gaz; la colonne externe (30 m × 0,32 mm, 10 µm) est garnie d'un tamis moléculaire de 5 Å et permet de séparer O₂, N₂, H₂ et CH₄. Les composés sont élués suivant leur diffusivité. Les colonnes sont maintenues à une température de 30 °C. Les temps de rétention sont compris entre 0,2 et 5 minutes pour tous les composés à analyser et la température de l'injecteur est fixée à 100 °C. La détection est effectuée à l'aide d'un catharomètre. Le chromatographe est étalonné en premier lieu avec un mélange gazeux dont la composition en volume est de 25 % en dioxyde de carbone, 58 % en méthane, 10 % en diazote, 2 % en dioxygène et 5 % en dihydrogène et en second lieu avec un standard de dihydrogène pur à 2%. La limite de détection est située aux alentours de 2 ppm pour tous les composés.

V.4. GC-MS : identification des métabolites de fermentation

Les composés organiques volatiles présents en solution aqueuse sont la plupart du temps purgeables. Leur analyse peut se faire par purge de la solution sous flux de diazote afin de les piéger dans un tube adsorbant (Turbomatrix 650). Expérimentalement, 10 mL de la solution est purgée avec un flux d'azote de 75 mL.min⁻¹ pendant 20 minutes sur un tube « carbotrap 326 ». Les composés piégés sont identifiés par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse PERKIN Clarus 500 après désorption thermique provoquée dans le tube Turbomatrix 650 placé en amont.

- Les conditions opératoires utilisées pour l'analyse chromatographique sont : Désorption thermique pendant 2 min à 180°C.
- Séparation sur une colonne FFAP (25 m, 0,15 mm, 0,25 µm).
- Programmation de la température selon le protocole suivant : Stabilisation à 40°C pendant 5 min, puis augmentation à raison de 10°C par minute jusqu'à 200°C, puis stabilisation pendant 10 min à 200°C.
- Le gaz vecteur est de l'hélium à un débit d'environ 1 mL.min⁻¹.

Les conditions opératoires utilisées pour l'identification par spectrométrie de masse sont :

- Ionisation des composés par impact électrique à 70 eV.
- Séparation quadripolaire et acquisition en full scan de 25 à 250 uma (unité de masse atomique).
- Les spectres obtenus sont identifiés à l'aide de la bibliothèque Nist.

Le chromatogramme de la figure II.16 illustre l'identification des composés présents dans les boues anaérobies traitées thermiquement après 48 h de fermentation dans un milieu contenant 5 g.L⁻¹ de glucose et une solution d'ammonium obtenue par électroréduction des nitrates.

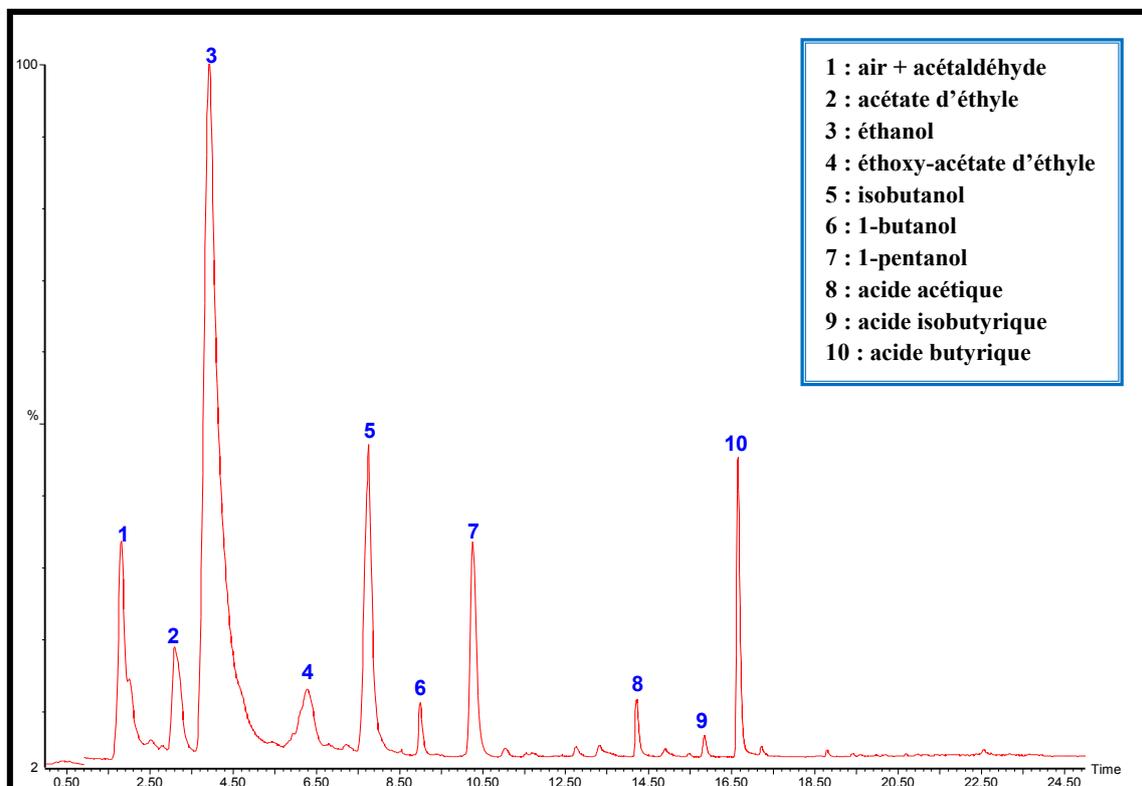


Figure II.16 : Chromatogramme GC-MS et identification des pics correspondants aux métabolites présents en phase liquide (pH initial = 6,5 ; concentration du glucose initiale = 5 g.L⁻¹ ; temps d'incubation 48 h, boues anaérobies traitées thermiquement).

Le chromatogramme est parfaitement exploitable car aucun composé ne sature ce qui prouve qu'une séparation de bonne qualité est obtenue par cette méthode. Les sous-produits de fermentation du glucose sont parfaitement identifiables sur le chromatographe (Figure II.16). Les principaux métabolites sont : l'éthanol, l'isobutanol, l'acide acétique et l'acide butyrique.

V.5. GC : Mesure des concentrations des métabolites présents en phase liquide

L'analyse des sous-produits de fermentation (alcools et acides organiques volatils) contenus dans la phase aqueuse est effectuée par chromatographie en phase gazeuse (Focus GC Thermo). La colonne chromatographique utilisée est de type FFAP-CB (15 m × 0,1 mm, 0,1 µm) spécifique à l'analyse des composés organiques polaires. Avant d'être analysés, les échantillons sont centrifugés à 10 000 tours.min⁻¹ pendant 30 min et à 4°C afin de limiter la présence de matière en suspension. L'ajout

d'une solution d'acide formique à 50% à l'échantillon permet de protoner les acides volatils à analyser (pH=2).

Les conditions opératoires sont les suivantes :

- Gaz vecteur : diazote, P = 73 KPa et débit = 2,2 mL.min⁻¹
- Température de l'injecteur : 200 °C
- Température du détecteur : 250 °C
- Gradient de température du four : de 100 à 200 °C (rampe de 40 °C par minute).

L'acquisition des données est réalisée grâce au logiciel MFC 800 de Fisons Instruments adapté à ce chromatographe. Au cours des expérimentations, chaque échantillon est injecté deux fois et uniquement la valeur médiane des trois mesures est retenue.

V.6.Chromatographie liquide à Haute Performance : Mesure de la concentration en glucose

Le glucose résiduel dans l'effluent est analysé par une chaîne analytique de Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) (Cf. figures I.17 et II.18) Shimadzu LC-20AD munie d'une colonne chromatographique HPX-87 (Biorad, USA) dont la température est maintenue constante à 45°C et d'un éluant composé de H₂SO₄ (0,005M).

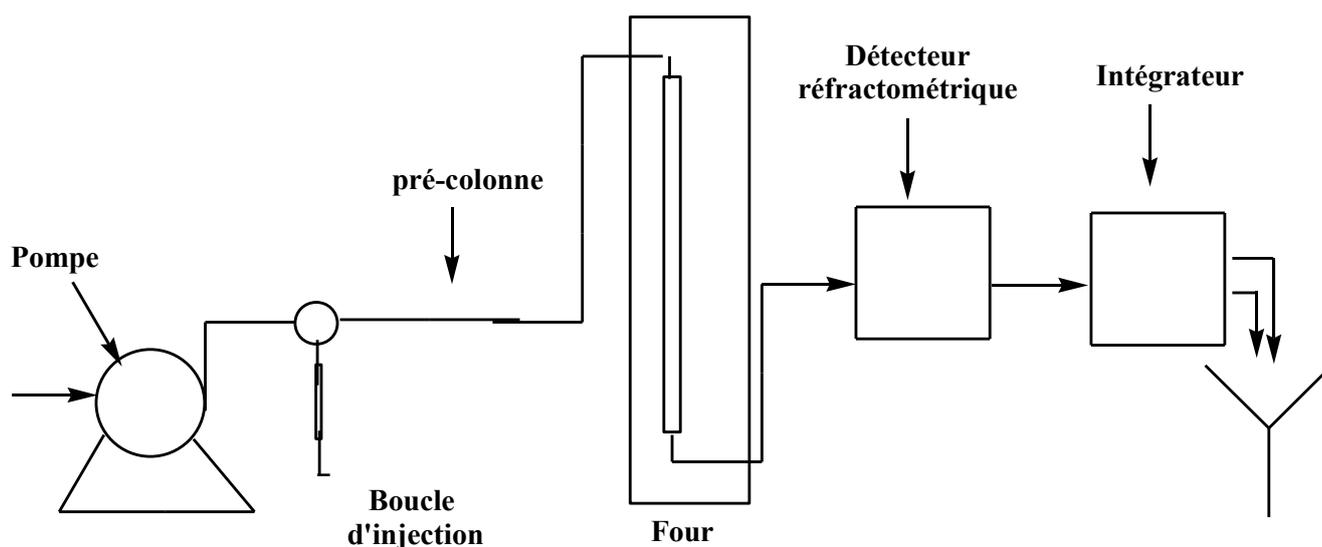


Figure II.17 : Chaîne analytique de Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC).

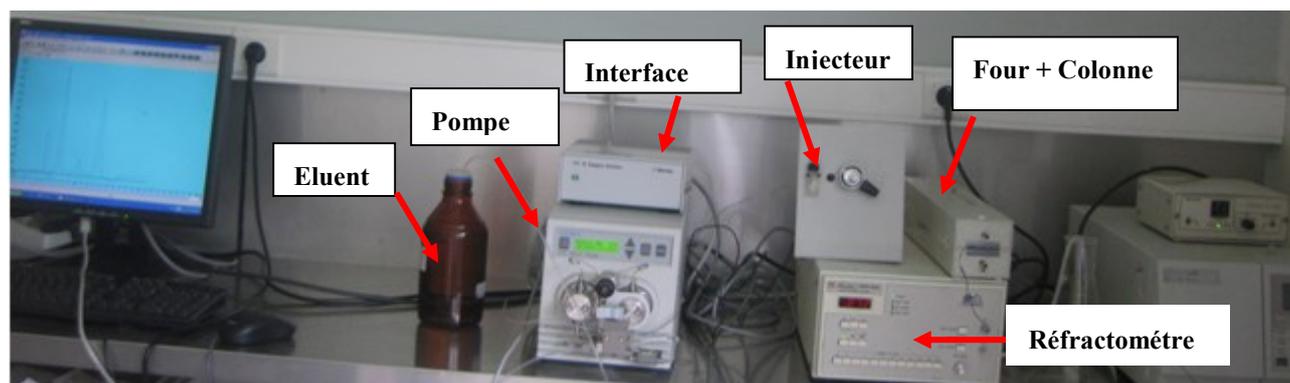


Figure II.18 : Montage pour analyse par HPLC.

L'échantillon à analyser est placé dans la boucle d'injection à l'aide d'une seringue de 1 mL et pompé à un débit de $0,7 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Le détecteur utilisé est un réfractomètre 410 de WATERS relié à un intégrateur C-R 3A SHIMADZU pour le traitement des données.

Diverses solutions ont été utilisées afin d'étalonner la chaîne. Dans un premier temps, le glucose est injecté à une concentration de $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ pour connaître son temps de rétention. Ensuite, plusieurs solutions de glucose à $2,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ et $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ sont injectées pour tracer une courbe d'étalonnage. Un coefficient de régression quasi égal à 1 a été obtenu montrant ainsi que la méthode est bien adaptée pour le dosage du glucose.

V.7. Autres appareillages

- Microscope électronique à balayage (MEB) (microscope Jeol 630v1F (9 kv)).
- pH-mètre Hanna équipé d'une micro-electrode probe (Thermo Spectronic, Rochester, USA).

VI. METHODE D'ANALYSE

Le suivi de la concentration des ions nitrate, nitrite, ammoniacque et à moindre mesure de l'hydrazine tout au long de l'électrolyse est le point clef pour valider l'efficacité du traitement électrochimique. Il est donc important de sélectionner et valider une méthode de dosage pour chaque espèce.

VI.1. Méthode de Caporal-Gauthier

Dans ce travail la méthode utilisée pour le dosage des espèces est celle développée par Caporal-Gauthier *et al.*[138]. Cette méthode consiste à déterminer les critères de performance des mesures de

dosage d'une espèce pendant cinq jours, chaque jour représentant une expérience indépendante [138,139].

VI. 1.1. Préparation des solutions témoins

L'objectif est de vérifier que la réponse est bien linéaire dans la gamme des concentrations choisies. Les paramètres utilisés pour la validation de la méthode d'analyse sont : (1) la fidélité et (2) la spécificité et le domaine d'analyse de la méthode. Le protocole expérimental utilisé pour obtenir ces paramètres en prenant comme exemple les ions nitrate et nitrite est le suivant :

Jour 0 : Pour préparer les solutions multiéléments composées chacune d'un mélange de NO_3^- et de NO_2^- les sels de KNO_3 et de NaNO_2 sont déshydratés dans une étuve à $105\text{ }^\circ\text{C}$ pendant 24 h.

Jour 1 : Quatre solutions multiéléments sont préparées dans de l'eau ultrapure aux concentrations $2,5\text{ mg.L}^{-1}$, 5 mg.L^{-1} , 25 mg.L^{-1} et 50 mg.L^{-1} en NO_3^- et en NO_2^- . Chaque solution est ensuite analysée par la chromatographie ionique (Dionex). Après injection les concentrations en ions nitrate et nitrite sont rapportées aux aires des pics.

Jour 2, 3, 4 et 5 : L'analyse des 4 solutions est répétée chaque jour. Le moyennage des aires de pics est calculé pour estimer la fidélité de la méthode, la spécificité de la méthode et par la suite établir les droites d'étalonnages.

VI. 1.2. Fidélité de la méthode

La fidélité est l'aptitude d'un appareil de mesure à donner des mesures exemptes d'erreurs accidentelles. La fidélité de la méthode est caractérisée par le coefficient de variation (CV) des différentes mesures enregistrées pendant les 5 jours. Le coefficient de variation est égal au rapport entre l'écart type et la moyenne ($\text{CV} = \text{écart type} / \text{moyenne}$). Pour que la méthode soit valable, il faut que les coefficients de variation soient inférieurs à une valeur de 0,1 ce qui correspond à une tolérance maximum de 10 % [134]. Les résultats expérimentaux des mesures de la concentration en ions nitrate et nitrite obtenus chaque jour ainsi que le calcul des coefficients de variation sont rassemblés dans les tableaux II.9 et II.10.

Tableau II.9 : Coefficients de variation inter-jours du dosage des NO₃⁻ par chromatographie ionique.

[NO ₃ ⁻] _{théorique} (mg.L ⁻¹)	[NO ₃ ⁻] _{mesurée} (mg.L ⁻¹)					Moyenne de 5 jours (mg.L ⁻¹)	Ecart type	CV
	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5			
2,5	2,48	2,49	2,60	2,6	2,55	2,54	0,052	2%
5	4,91	4,83	5,41	5,04	4,81	4,99	0,216	4%
25	23,68	23,75	25,14	24,28	24,81	24,33	0,574	2%
50	48,15	48,75	49,50	48,07	49,82	48,86	0,7	1,5%

Tableau II.10 : Coefficients de variation inter-jours du dosage des NO₂⁻ par chromatographie ionique.

[NO ₂ ⁻] _{théorique} (mg.L ⁻¹)	[NO ₂ ⁻] _{mesurée} (mg.L ⁻¹)					Moyenne de 5 jours (mg.L ⁻¹)	Ecart type	CV
	Jour1	Jour2	Jour3	Jour4	Jour5			
2,5	2,51	2,55	2,63	2,66	2,57	2,59	0,055	2 %
5	5,52	5,39	5,6	5,70	5,49	5,54	0,106	2 %
25	24,35	25,70	25,75	25,48	26,01	25,46	0,6	2,5%
50	47,60	47,68	47,12	46,52	47,56	48	0,58	1,5%

Les valeurs des coefficients de variation dans le cas des ions nitrate et nitrite sont inférieures à 10 %, seuil au-dessous duquel la fidélité des résultats est considérée comme bonne. Par la suite, l'utilisation des concentrations moyennes est envisageable pour réaliser des courbes d'étalonnage applicable à des dosages précis de concentrations inconnues en ions nitrate et en nitrite.

VI. 1.3. Spécificité de la méthode

Pour évaluer la spécificité, les droites $[\text{NO}_3^-]_{\text{théorique}} = f([\text{NO}_3^-]_{\text{mesurée}})$ et $[\text{NO}_2^-]_{\text{théorique}} = f([\text{NO}_2^-]_{\text{mesurée}})$ sont tracées en prenant en compte le point origine ($x=0$ et $y=0$). Les résultats, (Figures II.19-A et II.19-B) montrent une excellente linéarité entre la concentration mesurée et la concentration théorique obtenue sur la gamme des concentrations analysées pour les ions nitrate et nitrites (gamme de concentration allant de 0 à 50 mg/L).

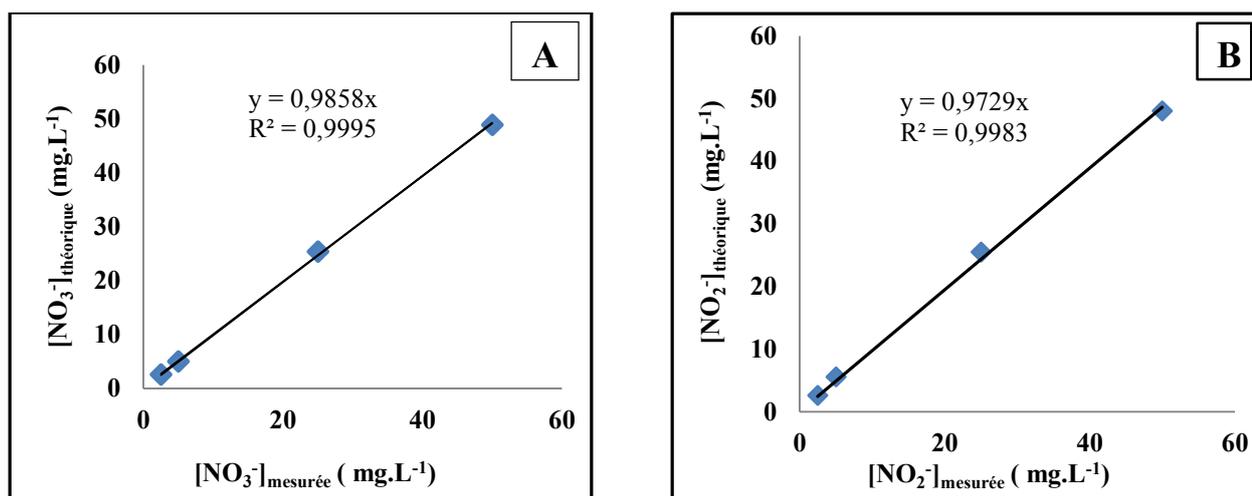


Figure II.19 : Relation linéaire entre concentration retrouvée et concentration introduite des ions nitrate et des ions nitrite.

Les coefficients de régression sont proches de l'unité. Le pourcentage de recouvrement se définit comme le coefficient directeur de la droite multiplié par 100. Les pentes des droites de régression donnent alors directement le pourcentage de recouvrement correspondant à 99 % pour les ions nitrates et 97% pour les ions nitrites. Ces valeurs sont très bonnes et justifient que les dosages peuvent être effectués avec une exactitude suffisante et que la méthode est spécifique.

IV. 1.4. Droites d'étalonnages

Les solutions d'électrolyses étudiées sont des solutions de nitrate de concentration égale à 3 g.L^{-1} correspondant à une concentration molaire égale à $4,8 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$. Une transformation complète et sélective des ions nitrate en ammoniacque entraîne la formation de $4,8 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ de NH_4^+ c'est-à-dire à une concentration maximum égale à $0,87 \text{ g.L}^{-1}$. En pratique la solution d'électrolyse est diluée 60 fois par de l'eau ultrapure ce qui entraîne une concentration maximale de 50 mg.L^{-1} pour les ions nitrate et de $14,5 \text{ mg.L}^{-1}$ pour l'ammoniacque. En se basant sur cette dilution, les droites d'étalonnages ont été construites dans les différents domaines de concentrations présentés dans le tableau II.11

Tableau II.11 : Equations des droites d'étalonnages pour le dosage de NO₃⁻, NO₂⁻, NH₄⁺ et N₂H₄.

Composés	Gamme des concentrations étudiées (mg.L ⁻¹)	Equation des droites d'étalonnages y = a.x	Coefficient de corrélation R ²
NO ₃ ⁻	5 à 50	y = 1,4571x	0,9999
NO ₂ ⁻	5 à 50	y = 1,5930 x	0,9980
NH ₄ ⁺	0,5 à 20	y = 0,1299x	0,9994
N ₂ H ₄	0,05 à 0,25	y = 1,5956x	0,9982

IV.2. Evaluation du domaine d'analyse

La limite de détection est particulièrement étudiée pour les ions nitrate et nitrite puisque l'objectif de ce travail est d'obtenir les concentrations les plus faibles possible. Inversement, ce problème n'est pas majeur avec l'ammoniaque puisque l'objectif des électrolyses est d'obtenir une solution concentrée. Pour évaluer le domaine d'analyse, les limites de détection et de quantification sont calculées à l'aide de mesures faites sur 5 blancs analytiques. Un blanc est une solution d'eau distillée identique à celle utilisée pour préparer les solutions d'électrolyse, mais sans ajout des ions nitrate. L'objectif est de définir la quantité en ions nitrate et nitrite résiduels éventuellement contenus dans l'eau distillée. Après intégration des signaux correspondant aux ions nitrate et nitrite résiduels dans l'eau distillée, la moyenne des résultats est réalisée et les écarts types sont ensuite calculés.

La limite de détection (LD) d'une méthode d'analyse est la plus petite quantité d'analyte qui peut être détectée mais pas nécessairement quantifiée comme une valeur exacte. Elle est exprimée en quantité injectée, µg.

La limite de détection de la méthode (LD) correspond à la plus petite intensité du signal identifié comme la concentration égale à 3 fois celle de l'écart type du blanc. De cette définition la relation suivante peut-être écrite :

$$LD = \text{limite de détection} = y_d \text{ et } : y_d = y_b + 3 sb \quad (\text{Eq.II.6})$$

Avec y_b : valeur du bruit de fond qui est la réponse au blanc.

sb : écart-type de la réponse au blanc.

La limite de quantification LQ est calculée en prenant comme valeur du signal 10 fois la valeur de l'écart type du blanc [140].

$$LQ = \text{limite de quantification} = y_q \text{ et } : y_q = y_b + 10 s \quad (\text{Eq.II.7})$$

Avec y_b : valeur du bruit de fond qui est la réponse au blanc.

sb : écart-type de la réponse au blanc.

Par convention :

$y < LD$: l'analyte n'est pas détecté ;

$LD < y < LQ$: l'analyte est détecté, mais non quantifiable ;

$LQ < y$: l'analyte est quantifiable.

Avec y : concentration de l'analyte à doser.

Le tableau II.12 regroupe les concentrations des ions nitrate de différents échantillons obtenues dans l'eau distillée du laboratoire. La limite de détection (LD) et la limite de quantification (LQ) des ions nitrate sont respectivement de $19 \mu\text{g.L}^{-1}$ et de $23,5 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Tableau II.12 : Limite de détection et de quantification des ions nitrate dans l'eau distillée.

Essais	[NO ₃ ⁻] trouvé ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Moyenne ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Écart type	LD ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
1	16,1				
2	16,8				
3	17,2	16,7	0,7	19	23,5
4	15,9				
5	17,4				

La chromatographie ionique est plus performante pour le dosage des ions nitrate, qui pose problème avec les méthodes traditionnelles comme la néphélométrie après précipitation du sulfate de baryum. Les limites de détection et de quantification des ions nitrite n'ont pas été évaluées car l'eau distillée ne contient pas d'ions nitrite.

En conclusion, la chromatographie ionique utilisée pour doser les ions nitrate et nitrite est une méthode fidèle et spécifique. La linéarité entre les concentrations mesurées et les concentrations théoriques est respectée. Les échantillons à analyser devront se situer au-dessus de la limite de quantification ($LQ = 23,5 \mu\text{g.L}^{-1}$) pour les ions nitrate. En se basant sur cette limite de quantification, les dilutions des échantillons d'électrolyse sont réalisées de telle sorte qu'ils tombent dans la gamme de détection de la chromatographie ionique.

***Chapitre III : Electroréduction des ions
nitrate en ammonium***

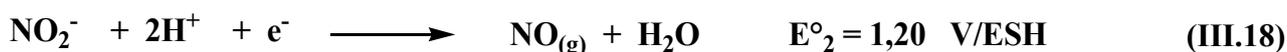
INTRODUCTION

Puisque, l'ammonium est d'une part la principale source d'azote, dont ont besoin toutes les bactéries pour leur croissance [22] et d'autre part le fertilisant azoté le plus largement utilisé [141–143] une réduction sélective des ions nitrate en ammonium, peut être considérée comme une voie attrayante du point de vue économique. C'est pourquoi, l'objectif de ce chapitre est de réduire une solution concentrée d'ions nitrate en ammonium avec un taux de transformation chimique et une sélectivité maximale. Ce chapitre sera divisé en trois parties. Dans une première partie, une étude bibliographique mettra en avant les propriétés électrocatalytiques du cuivre pour réduire les ions nitrate en ammonium. Dans une seconde partie, un procédé d'électrodéposition typique des matériaux poreux sera adapté à la métallisation du cuivre sur des feutres de graphite. Enfin dans une troisième partie, l'électrode poreuse de cuivre ainsi conçue sera utilisée pour réduire les ions nitrates en ammonium dans des solutions de pH légèrement acide, neutre et basique.

I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Paramètres influençant l'électroréduction des ions nitrate

La réduction électrochimique des ions nitrate et de ses dérivés fait appel à plus de 20 réactions standards dont les principales sont les suivantes :



Dans ces conditions une transformation sélective en ammoniacque et extrêmement complexe à étudier étant donné le nombre important de produits susceptibles d'être formés (NH_4^+ , NH_2OH , N_2 , NO_x ect..) [9]. L'activité et la sélectivité d'une suite réactionnelle est influencée par plusieurs facteurs (Figure III.20) tels que la nature de l'électrode, la composition de l'électrolyte support, le pH du milieu électrolytique, la température [95,144], la configuration de la cellule électrochimique et la co-existence des espèces électroactives [145,146].

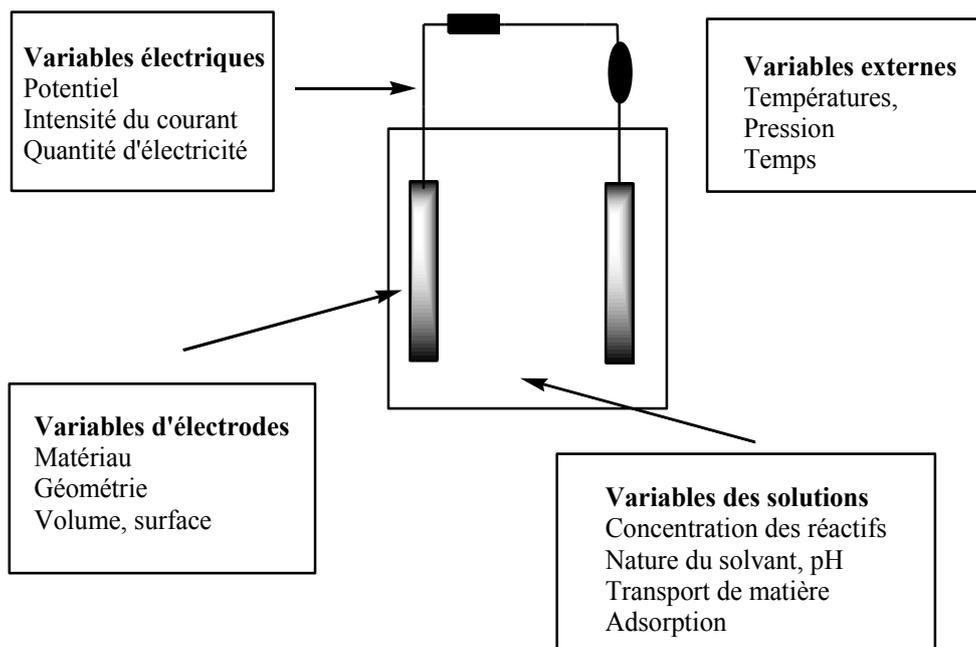


Figure III.20 : Facteurs influençant une réaction électrochimique [147].

Les potentiels appliqués varient d'une étude à l'autre, selon la nature du matériau d'électrode ou de l'électrolyte utilisé pour la solution d'électrolyse. A titre d'exemple Mook *et al.* [41] ont indiqué que la conductivité et l'intensité du courant appliqué sont les paramètres les plus importants qui influencent les procédés électrochimiques. La densité du courant influence la formation du dihydrogène à la cathode, qui à son tour affecte l'efficacité de la réduction des ions nitrate [148]. Sakakibara et Nakayama [149] indiquent qu'une augmentation de la densité du courant de $0,46 \text{ mA/cm}^2$ à $0,82 \text{ mA/cm}^2$ augmente l'efficacité moyenne du courant de dénitrification de 61% à 70%. D'une manière générale, plusieurs méthodes ont été étudiées afin d'optimiser le rendement faradique dans les systèmes de réduction électrolytique telles que l'utilisation d'électrodes et de cellules d'électrolyse de différentes conceptions [150]. En règle générale, l'électrode de travail (cathode dans le cas de l'électroréduction des ions nitrate en ammonium) doit être stable pendant une très grande période, doit posséder un bon rapport signal/bruit de fond et doit être également simple à manipuler et à conditionner [151]. L'utilisation des électrodes à trois dimensions (3D) comme des mousses métalliques et des électrodes de feutre de graphite métallisé est une autre approche qui a été proposée en raison de leur grande surface spécifique par rapport aux électrodes bidimensionnelles. L'usage de ces matériaux ont permis d'améliorer le transport de matière, augmentant ainsi le taux de réduction électrochimique des ions nitrates [152].

I.2. Nature du matériau pour la cathode

Depuis les trois dernières décennies les méthodes électrochimiques d'élimination des ions nitrate ont été très étudiées. La majorité se sont concentrées sur l'influence de la nature de l'électrode vis-à-vis de l'électroréduction des ions nitrate dans des milieux acides [97,98] ou basiques [97,103,153,154]. Les produits issus de la réduction électrochimiques des ions nitrate dépendent de la nature du matériau d'électrode dont les plus accessibles sont des métaux purs ou bien des alliages [155–159]. Par exemple le graphite (non métal), le fer, l'aluminium et le titane ont été étudiés par Dash et Chaudari [160]. Ces auteurs ont observé qu'après 5 h de traitement électrochimique, 80% des ions nitrate ont été réduits avec le fer, l'aluminium et le titane. En revanche, avec le graphite, après 9 h de traitement, uniquement 8% de ions nitrate ont été réduits. Par conséquent le choix des matériaux pour la cathode joue un rôle important dans le processus de réduction, en affectant principalement le pourcentage de réduction des ions nitrate transformés et la distribution (nombre et concentration) des produits intermédiaires [91]. Finalement l'objectif est de développer un procédé électrocatalytique performant vis-à-vis de l'électroréduction des ions nitrate [20,91,100].

Plusieurs voies sont connues telles que l'addition d'ions électrocatalytiquement actifs vis-à-vis de la solution traitée [161], l'immobilisation d'un catalyseur à la surface de la cathode [162] et la réduction électrocatalytique sur des électrodes solides [163–165]. Concernant ce dernier cas, les principaux métaux testés sont le Cu [102,166], le Pt [167], le Pd [168], le Ru [164], l'Ir [169], le Rh [144], le Fe [170] et le Ni [155].

Les métaux de transition ont démontré des propriétés électrocatalytiques intéressantes pour la réduction des ions nitrate et nitrites avec au final la formation d'ammonium qui semble être prédominante [97,171–173]. Parmi ces matériaux d'électrodes, le cuivre (Cu) s'est révélé être le métal le plus efficace pour réduire majoritairement les ions nitrate en ammoniac en solution acide [102] et alcaline [96,103]. Le mécanisme est une hydrogénation électrocatalytique (Schéma III.4) qui se fait à des potentiels proches de la réaction de dégagement du dihydrogène.

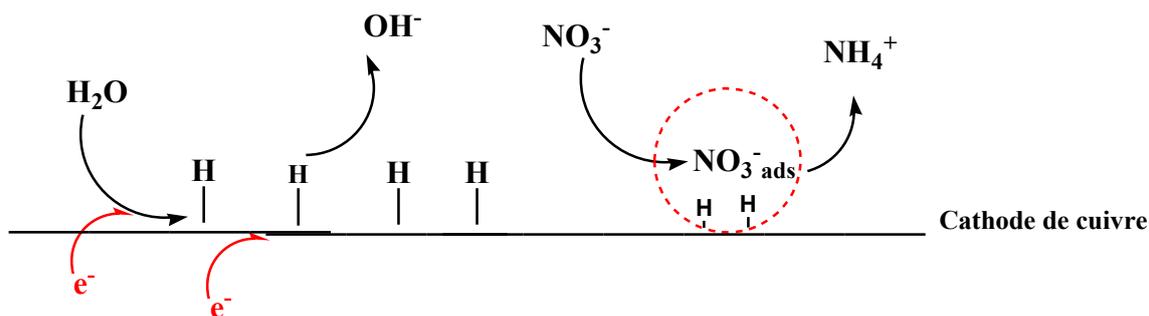


Schéma III.4 : Hydrogénation électrocatalytique sur cathode de cuivre.

Ce sont ses capacités d'adsorption des gaz qui ont été mises à profit dans le domaine de la catalyse hétérogène qui confèrent au cuivre son activité catalytique [174,175]. Compte tenu de son efficacité à réduire les ions nitrate en ammoniac le cuivre possède les avantages suivants :

- Stable à des potentiels négatifs aussi bien en milieu acide que basique ;
- Coût accessible ;
- Antibactérien naturel qui empêche la prolifération des bactéries dans les systèmes de distribution d'eau [18].

I.3. Influence du pH

Le pH est lié à la concentration des ions H_3O^+ et représente un indicateur du degré d'avancement d'une réaction électrochimique et particulièrement à celle de la réduction des nitrates qui est très consommatrice de protons. Mais, surtout, les mécanismes de la réduction électrochimique des nitrates dépendent d'une façon critique du pH [97].

I.3.1. Réduction électrochimique des ions nitrate sur cuivre dans un milieu acide

Le processus cathodique d'électroréduction des ions nitrate en ammonium (réaction à 8 faradays) en milieu acide sur une cathode de cuivre est décrit partiellement par l'équation suivante [176,177] :



De nombreux auteurs [93,164] se sont penchés sur les mécanismes réactionnels qui s'établissent au cours de la réduction des ions nitrate en milieu acide sur le cuivre et sur certains de ces alliages. L'ensemble de ces travaux ont abouti au schéma réactionnel (schéma III.5).

Le premier processus (schéma III.5), est une faible adsorption de NO_3^- à la surface du cuivre [178].



Pletcher et Poorabedi [102] ont mis en évidence que la réduction des ions nitrate dans un milieu perchlorique est plus importante que dans un milieu sulfurique, tandis que la réaction est inhibée en présence des ions chlorure. En effet, si l'ion ClO_4^- ne s'adsorbe pas sur le cuivre, laissant la surface libre pour l'ion NO_3^- , ce n'est pas le cas des ions SO_4^{2-} et Cl^- qui eux, sont en compétition avec l'adsorption des NO_3^- . Finalement l'étape 1 est fortement influencée par l'adsorption compétitive des anions de l'électrolyte. Cette étape est cinétiquement rapide et thermodynamiquement réversible car l'ion NO_3^- est faiblement adsorbé à la surface de l'électrode.

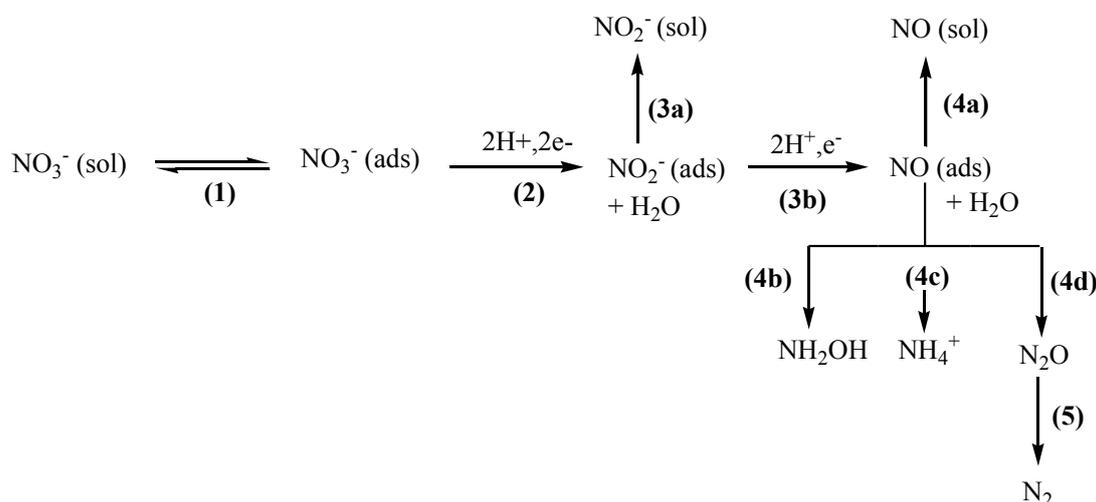


Schéma III.5 : Schéma réactionnel pour la réduction des ions nitrate sur cuivre en milieu acide.

Le premier transfert d'électrons (étape 2 dans le schéma III.5) est la réduction des $\text{NO}_3^- (\text{ads})$ en $\text{NO}_2^- (\text{ads})$. C'est une étape réactionnelle déterminante car l'activité et la sélectivité de l'électrode est liée à l'énergie d'adsorption de NO_2^- .



Dans la troisième étape, une faible partie des ions nitrite diffuse dans la solution alors que la majorité se réduit selon la réaction suivante :



Cette réaction est très rapide car les ions nitrite sont très instables sur les métaux de transition [93]. Une partie du monoxyde d'azote formé se désorbe puis diffuse dans la solution, alors que l'autre partie se réduit (étapes 4 et 5 dans le schéma III.5).

Ces étapes réactionnelles successives sont valables pour toutes les concentrations en ions nitrate. L'étape déterminante est la réduction de NO_3^- en NO_2^- , rapidement suivie par la réduction de NO_2^- en NO . L'énergie de chimisorption de NO sur les métaux de transition est importante (~ 200 kJ/mol). NO ne se désorbe pas de la surface [164] mais est facilement réduit en NH_4^+ (réaction 4c dans le schéma III.5), qui est le principal produit formé sur cuivre selon la réaction :



Ce résultat est confirmé par De Vooy *et al.* [93] qui ont observé que dans le cas du cuivre massif, les mesures effectuées par spectroscopie de masse ont mis en évidence l'absence de N_2O et de N_2 et que vers les potentiels les plus cathodiques le produit majoritaire est l'ion ammonium.

Comme le montre la réaction générale (Réaction I.9) un milieu acide favorise le processus cathodique. Cependant, à un pH très bas la réaction de dégagement du dihydrogène (Réaction III.25) peut entrer en compétition avec l'électroréduction des ions nitrate [177,179] :



A des valeurs très négatives en potentiel l'adsorption de l'hydrogène qui est très forte sur le cuivre peut aboutir à la suppression de la réduction des NO_3^- [180].

Charpentier et Pletcher [181] indiquent que l'électroréduction des ions nitrate se situe dans une gamme de pH étroite. Dans ces conditions il existe une bonne séparation en potentiel entre la réduction de H_2 et de NO_3^- [179] et les auteurs en déduisent que le processus de réduction est plutôt contrôlé par la diffusion des ions nitrate que par le transport des protons.

I.3.2. Réduction électrochimique des ions nitrate sur cuivre dans un milieu alcalin

En milieu alcalin les réactions générales s'écrivent comme suit [176] :



Depuis quelques années de nombreuses études se sont orientées vers des solutions de forte basicité[100]. En particulier, Reyter *et al.* [96] en milieu NaOH 1 mol.L⁻¹ et en présence de NaNO₃ 0,1 mol.L⁻¹ définissent 3 domaines distincts en potentiel :

Le premier se situe à - 0,9V / Hg/HgO (-1,053V/ECS) et est attribué à la réduction des ions nitrate en nitrite selon la réaction suivante :



Le deuxième domaine se situe à un potentiel de -1,1 V / Hg/HgO (-1,243 V/ECS) et fait apparaître des courants de réduction deux fois supérieurs à ceux du premier domaine. Les auteurs concluent à la réduction des ions nitrite en hydroxylamine :



Enfin, le troisième domaine est le résultat de la réduction des ions nitrite en ammoniac, et a lieu à des potentiels encore plus négatifs se situant aux alentours de -1,3 V / Hg/HgO (-1,443 V/ECS) :



Les analyses chimiques effectuées par spectroscopie visible ont confirmé la formation des ions nitrite et de l'ammoniac alors que la production de l'hydroxylamine n'a pas pu être démontrée. En conclusion de ces études, Reyter *et al.* [96] proposent le mécanisme suivant pour la réduction des ions nitrate sur cuivre en milieu alcalin (schéma III.6).

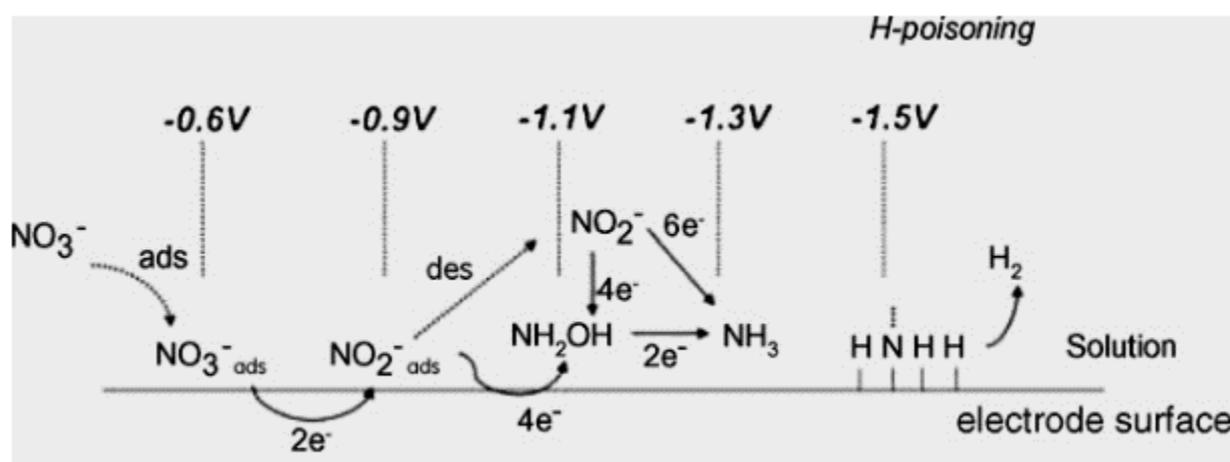


Schéma III.6 : Schéma réactionnel de la réduction des ions nitrate sur cuivre en milieu basique [96].

Les auteurs discutent également de la compétition possible entre la réduction des ions nitrate et la réduction de l'eau en dihydrogène.



En dépit du fait que la formation de H_2 se fasse à des potentiels plus négatifs, la cinétique relativement lente de la réduction des NO_3^- et des NO_2^- entraîne une consommation partielle des électrons par la formation de l'hydrogène gazeux [157]. Ce phénomène altère le rendement faradique sans perturber la sélectivité vers la formation d'ammoniaque.

Badea [49] quant à elle, propose un mécanisme différent pour la réduction des ions nitrate sur cuivre en milieu NaOH 0,1M, décrit dans le schéma III.7.

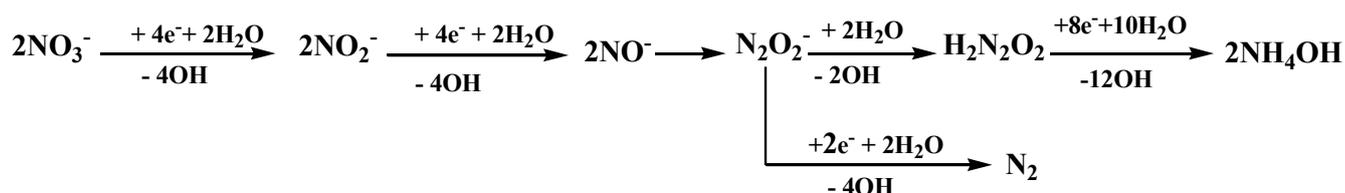


Schéma III.7 : Schéma réactionnel pour la réduction des ions nitrate sur cuivre en milieu alcalin [49].

Selon Badea [49], qui a basé ses conclusions exclusivement sur l'exploitation des résultats voltampérométriques, la formation de l'azote moléculaire a lieu à -1,23 V/ECS sur cuivre alors qu'à -1,4 V/ECS, les ions nitrate sont réduits en ammonium. Cette dernière valeur correspond à un point isopotential apparaissant sur les voltampérogrammes à partir du 9^{ème} cycle de la variation cyclique en potentiel. Cela signifie qu'au delà de 9 cycles les intermédiaires de la réduction des ions nitrate se combinent avec l'hydrogène adsorbé sur la cathode. Les deux espèces adsorbées réagissent ensuite pour former de l'ammonium.

I.3.3. Réduction électrochimique des ions nitrate sur cuivre dans un milieu neutre

Il existe peu de travaux traitant de la réduction des ions nitrate en milieu neutre [182–184]. Christophe *et al.* [183] ont distingué deux pics cathodiques lors de la réduction de $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de NaNO_3 dans une solution de NaClO_4 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. La réduction de la même quantité de NaNO_2 n'ayant lieu qu'au second pic, ils ont pu ainsi associer la première vague à la réduction des ions nitrate en nitrite. Dans

le cadre de ce même travail l'analyse de la phase aqueuse par chromatographie ionique et par spectroscopie UV leur a permis de détecter la présence de nitrite et d'ammoniaque, ce dernier se produisant massivement vers les potentiels les plus cathodiques. De Vooy *et al.* [93] estiment que dans le cas d'un milieu neutre, la solution doit être tamponnée pour stabiliser le pH ce qui neutralise les ions hydroxyle et évite une basification du milieu qui affecterait les résultats. Dans le même ordre d'idée Aouina [14] a vérifié que le pH interfacial augmentait jusqu'à une valeur de 12 et que trois pics cathodiques sont présents aussi bien en milieu neutre qu'en milieu alcalin. Face à ce constat, il a montré que sur l'électrode de cuivre, quel que soit le pH de la solution, le produit final de la réduction des ions nitrate, obtenu aux potentiels les plus cathodiques est l'ammoniaque.

II. ELECTRODE POREUSE DE CUIVRE

Il ressort de la bibliographie que le cuivre est le métal le plus attrayant pour réduire les ions nitrate en ammoniaque grâce à une sélectivité importante quel que soit le pH. Un autre avantage de ce métal est son coût beaucoup plus faible que celui des métaux nobles. Compte tenu de ces données, l'objectif de ce travail est d'utiliser une électrode poreuse de cuivre pour la réduction des ions nitrate. Ainsi, nous traiterons dans un premier temps de la préparation de l'électrode poreuse de cuivre, puis dans un second temps de son utilisation pour la réduction des ions nitrate en ammoniaque.

II.1. Principe général d'électrodeposition sur électrode poreuse : exemple du nickel

En règle générale sur une électrode plane, l'électrodeposition d'un ion métallique se fait avec une concentration élevée de l'ordre de 1 mol.L^{-1} en appliquant une densité de courant faible de façon à ne pas être limité par la vitesse de diffusion du cation métallique vers la surface de l'électrode. Cette démarche assure un dépôt métallique homogène tout en optimisant le rendement faradique.

Dans le cas des matériaux poreux de surfaces spécifiques élevées, les conditions expérimentales d'électrodeposition utilisées pour les électrodes planes ne sont plus applicables. En effet, dans ces conditions, le dépôt n'est pas homogène dans tout le volume de l'électrode et conduit rapidement à l'obstruction des pores ainsi qu'à la formation d'une croûte métallique en surface du matériau. En conséquence, au-delà de 1 mm de profondeur, aucune trace de métallisation n'est visible. Ce comportement est dû à une très forte hétérogénéité du potentiel électrochimique du dépôt dans

l'électrode poreuse qui diminue le long de la profondeur du matériau [185,186]. Ainsi, la cinétique d'électrodéposition est maximum en surface et chute rapidement dans l'épaisseur du feutre.

Des études précédentes sur l'électrodéposition du nickel réalisées au laboratoire [187] (Figures III.21 et III.22) ont montré qu'il est possible d'obtenir une métallisation homogène du feutre de graphite en travaillant avec une solution en cations métalliques de faible concentration (de l'ordre de 10^{-2} mol.L⁻¹) et en imposant une intensité de courant très élevée d'environ 100 mA.cm⁻³ de feutre. Cette procédure permet d'atteindre rapidement les courants limites diffusionnels d'électrodéposition à la surface du feutre, ce qui bloque la vitesse de dépôt. Plus l'intensité du courant sera élevée et plus les courants diffusionnels limites seront atteints en profondeur du matériau provoquant une homogénéisation de la vitesse de dépôt dans l'ensemble du feutre. En d'autres termes, cette technique permet de polariser favorablement l'électrode dans sa profondeur. Etant donné que la vitesse de diffusion des cations métalliques est lente, il est de plus nécessaire d'appliquer un programme d'imposition du courant entraînant une alternance entre une intensité appliquée non nulle et une intensité nulle. Cette procédure permet d'ajuster régulièrement la concentration en cations métalliques à l'intérieur du feutre.

Le laboratoire a précédemment mis au point la technique d'électrodéposition sur feutre de graphite dans le cas du nickel. Les paramètres optimisés pour réaliser la métallisation sont rassemblés dans le tableau II.13.

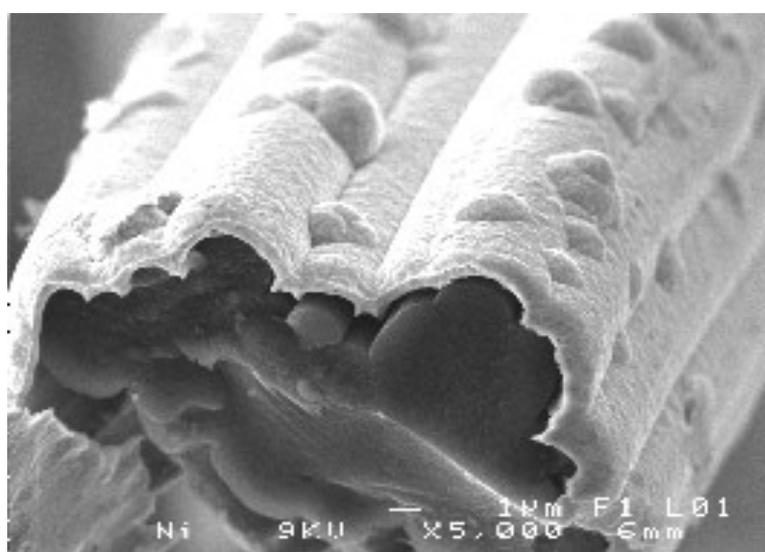
Tableau II.13 : Paramètres optimisés pour l'électrodéposition du nickel dans un feutre de graphite.

Solution			Electrode		Intensité du courant		Alternance du courant	
pH	[NO ₃ ⁻] (mol.L ⁻¹)	débit (mL.mn ⁻¹)	Diamètre (mm)	épaisseur (mm)	i _{on} (A)	i _{off} (A)	t _{on} (s)	t _{off} (s)
5	7,5.10 ⁻³	5	56	3	1	0	30	60

Les figures III.21 et III.22 montrent que le dépôt de nickel recouvre les fibres de graphite de façon homogène.



**Figure III.21 : feutre de graphite métallisé au nickel.
Grossissement $\times 100$**



**Figure III.22 : Fibre de graphite métallisé au nickel. Coupe transversale.
Grossissement $\times 5000$**

La figure III.21 permet d'apprécier l'homogénéisation du dépôt au sein du feutre, tout en gardant une porosité élevée. Un grossissement plus important, figures III.22 montre une bonne homogénéité du

dépôt le long de la fibre elle-même conduisant à une gaine de nickel dont l'épaisseur moyenne est de l'ordre de 1 μm .

III.2. Electrodeposition du cuivre

II.2. 1. Electrodeposition du cuivre sur un feutre de graphite

L'électrodeposition du cuivre est réalisée à l'aide du montage illustré dans la figure II.9 (chapitre II) en utilisant une cellule à percolation identique à celle représentée au chapitre II (Figure II.6). La cellule est utilisée le plus simplement possible sans ajout d'une membrane entre une contre électrode et l'électrode de travail. Le diamètre de l'électrode en feutre de graphite est de 5,6 cm pour une épaisseur de 0,3 cm. Dans la suite de ce travail, toutes les expériences sont réalisées à température ambiante.

En règle général l'électrodeposition des ions cuivrique (Cu^{2+}) sur une électrode plane ne présente pas de problème majeur étant donné que quel que soit le pH de la solution, son potentiel standard ($E^\circ_{\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}} = 0,34 \text{ V/ESH}$) est supérieur à celui du dégagement de dihydrogène ($E^\circ_{\text{H}^+/\text{H}_2} = 0 \text{ V/ESH}$). En conséquence pour des concentrations en ions Cu^{2+} bien adaptées le dégagement de dihydrogène se situera toujours dans un domaine cathodique inférieur à celui de la réduction des ions cuivriques et le contrôle cinétique du dépôt est directement dépendant de l'intensité du courant appliquée. Cependant, dans le cas de la technique utilisée pour la métallisation des feutres de graphite décrit au chapitre II la formation du dihydrogène apparaît rapidement car la réussite de la métallisation repose sur l'emploi d'une faible concentration en ions cuivrique ($10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$) pour une forte intensité du courant. Ce phénomène entraîne une augmentation du pH à l'intérieur et au voisinage de l'électrode et provoque la précipitation des ions cuivriques sous forme d'hydroxyde selon l'équilibre suivant :



Pour une concentration égale à $10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ le pH de début de précipitation est d'environ 7. Compte tenu de ce comportement la solution d'électrodeposition du cuivre est fixée à un pH optimum de 5. A ce pH la précipitation des ions Cu^{2+} en hydroxyde de cuivre $\text{Cu}(\text{OH})_2$ n'a pas lieu et le potentiel d'électrodeposition se situe à une valeur bien supérieure au potentiel de dégagement du dihydrogène, ce qui est favorable à la réaction d'électrodeposition.

Les premiers essais d'électrodéposition ont été réalisés selon la méthode précédemment mise au point pour le dépôt de nickel en appliquant les paramètres suivant :

- Débit de la solution = 5 mL.min⁻¹
- [Cu²⁺] = 10⁻² mol.L⁻¹ et pH = 5
- Dimension du feutre de graphite : diamètre = 56 mm ; épaisseur = 3 mm ; V = 7,4 cm³
- Intensité du courant d'électrodéposition = 1 A
- Durés de l'imposition = 15 s
- Durée du temps de repos = 30 s

Malheureusement, dans ces conditions, et au bout d'une journée complète d'électrodéposition, le dépôt reste superficiel à la surface des fibres (Figure III.23) et du cuivre métallique sous forme de poudre s'accumule à l'intérieur de la cellule indiquant une faible adhérence du cuivre sur le graphite.

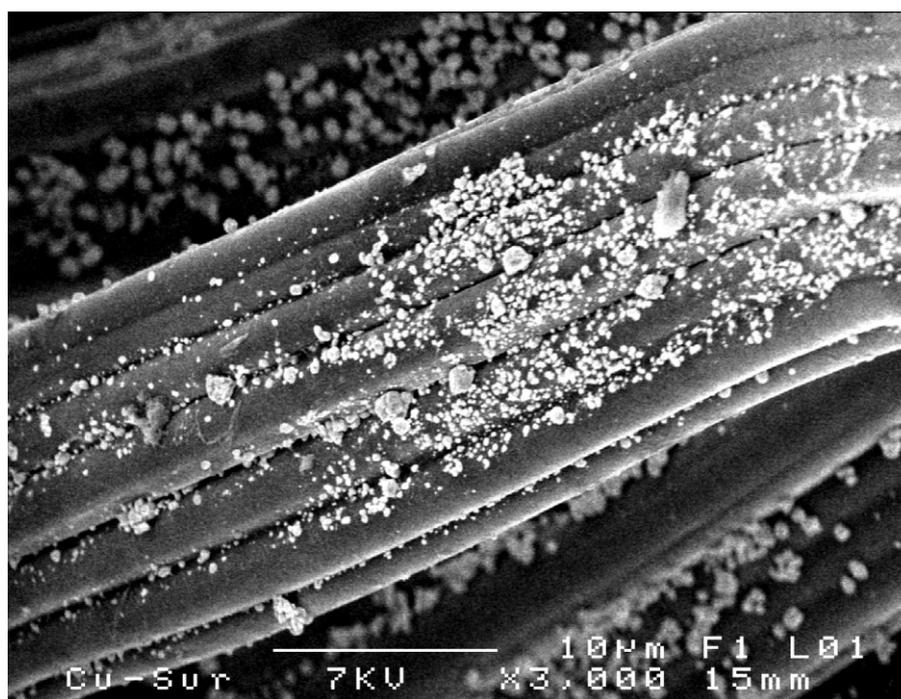


Figure III.23 : Métallisation au cuivre d'un feutre de graphite natif.

Par la suite de nombreux essais ont été réalisés en variant les temps d'alternance de l'imposition du courant ou bien la concentration en solution des ions cuivriques, mais les résultats ont toujours confirmé la très mauvaise adhérence du cuivre sur les fibres de graphite.

II.2. 2. Electrodeposition du cuivre sur un feutre de graphite métallisé au nickel

Le cuivre étant connu comme ayant une très bonne affinité avec le nickel, les mêmes expériences ont été effectuées sur un feutre précédemment métallisé par du nickel (Figure III.24-B). Dans ce cas, l'électrodeposition du cuivre s'améliore nettement comme le montre la figure III.24-C.

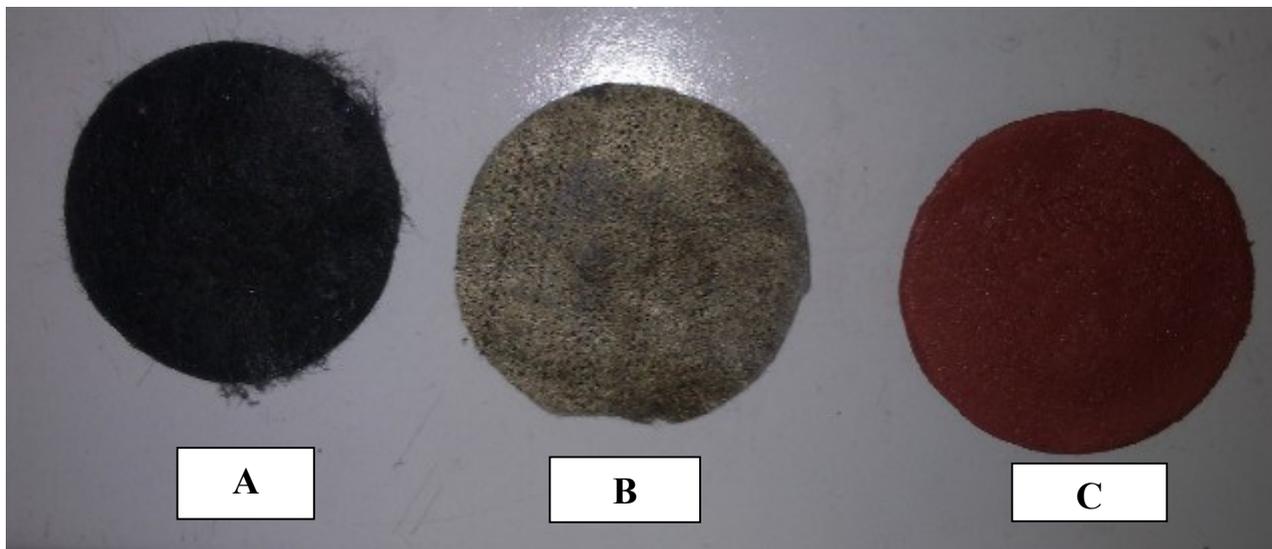


Figure III.24 : Electrodeposition successive d'un feutre de graphite au nickel puis au cuivre

A-Feutre de graphite natif

B- Feutre de graphite métallisé au nickel

C-Feutre de graphite métallisé au nickel puis cuivre

L'adhérence du cuivre sur le nickel est forte et permet d'appliquer le procédé d'électrodeposition en utilisant de faibles concentrations en ions métalliques et de forts courants appliqués. Le débit (d) est maintenu à $5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ et le volume de l'électrode de travail est toujours égal à $7,4 \text{ cm}^3$.

Après l'application d'une intensité de courant constante, le temps maximal permettant la régénération de la solution à l'intérieur du feutre est $t_{\text{max}} = V / d$, V correspondant au volume de l'électrode et d au débit de la solution. Ainsi, en prenant les valeurs $d = 5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ et $V = 7,4 \text{ cm}^3$, le temps de régénération est $t_{\text{max}} = 1,48 \text{ min} = 90 \text{ s}$. En raison de la convection qui a lieu à l'intérieur du feutre et qui résulte de la percolation, le temps de régénération est en fait inférieur à t_{max} et dépend de la concentration initiale en cuivre. En tenant compte de cette tendance, les différentes expériences d'électrodeposition ont été réalisées en variant (1) la concentration en cuivre ; (2) le temps d'imposition du courant et (3) le temps de repos. Les expériences les plus représentatives sont présentées dans le tableau III.14. Les conditions d'électrodeposition optimum se trouvent dans

l'expérience 4 correspondant à une concentration en cuivre de $3 \cdot 10^{-2}$ mol.L⁻¹ avec un temps d'imposition du courant (pulse time (t_{on})) de 15s et un temps de repos (off-pulse time (t_{off})) de 35s.

Tableau III.14 : Conditions expérimentales pour réaliser la métallisation au cuivre d'un feutre de graphite métallisé au nickel.

Expérience	[Cu ²⁺] mol L ⁻¹	On pulse t_{on}	Off pulse t_{off}	t_{off}/t_{on}	Temps d'électrolyse cumulées	Temps d'électrolyse total	Aspect de l'électrode	%CE
1	10^{-2}	7 s	10 s	1,4	2h 20 min	5h 40 min	Mauvais dépôt	24
2	3×10^{-2}	7 s	10 s	1,4	2h 20 min	5h 40 min	croûte métallique	65
3	10^{-2}	10 s	10 s	1	6h 11 min	13 h	croûte métallique	13
4	3×10^{-2}	15 s	35 s	2,3	4h	13 h	Dépôt homogène de cuivre	58

Lorsque la valeur de t_{off} est d'environ $t_{max}/3$ le renouvellement de la solution de cuivre à l'intérieur du feutre est correct. En dessous de cette valeur (Expériences 1, 2 et 3) la concentration en cuivre diminue à l'intérieur du matériau et le dépôt métallique se fait préférentiellement à la surface entraînant même dans certains cas l'apparition d'une croûte métallique (Expériences 2 et 3). Les expériences montrent également que la concentration du cuivre à l'intérieur du feutre diminue rapidement lorsque le temps d'imposition du courant (t_{on}) devient trop important par rapport à t_{off} . Dans ce cas, le dégagement de dihydrogène devient prépondérant et entraîne une augmentation du pH de la solution à l'intérieur du feutre conduisant à la précipitation des ions cuivriques sous forme d'hydroxydes de cuivre (Cu(OH)₂). En conclusion pour obtenir un dépôt de cuivre homogène dans le matériau poreux, il est nécessaire d'une part d'imposer un temps de repos t_{off} d'environ $t_{max} / 3$ et d'autre part de fixer un temps d'imposition t_{on} de tel sorte que $t_{off} / t_{on} \geq 2,3$.

Le rendement faradique (% CE) est établi par rapport à la masse de cuivre déposé sur le graphite. Il est calculé en se basant sur la formule suivante :

$$\% CE = (Q_{Th} / Q_{exp}) \times 100 \quad \left\{ \begin{array}{l} Q_{Th} = i \times t \\ Q_{exp} = n_{Cu} \times 2e^- \times F \end{array} \right. \quad (\text{Eq. III.8})$$

Avec i = intensité du courant appliquée (A)

t = temps d'électrolyse cumulées en secondes

n_{Cu} = nombre de moles de cuivre déposé sur le graphite, calculé à partir de la masse de cuivre déposé.

$$1F = 96500 C$$

Le rendement faradique est de 58% pour l'expérience 4 décrite dans le tableau III.14 pour un rapport t_{off} / t_{on} égal à 2,3. Le rendement peut être amélioré avec une diminution de t_{on} ($t_{off} / t_{on} > 2,3$) mais entraîne une augmentation du temps d'électrolyse total.

Les photographies représentant le feutre de graphite métallisé au cuivre réalisées au microscope électronique à balayage sont représentées dans la figure III.25. La méthode d'électrodéposition conduit à un film de cuivre d'épaisseur moyenne d'environ 2 μm .

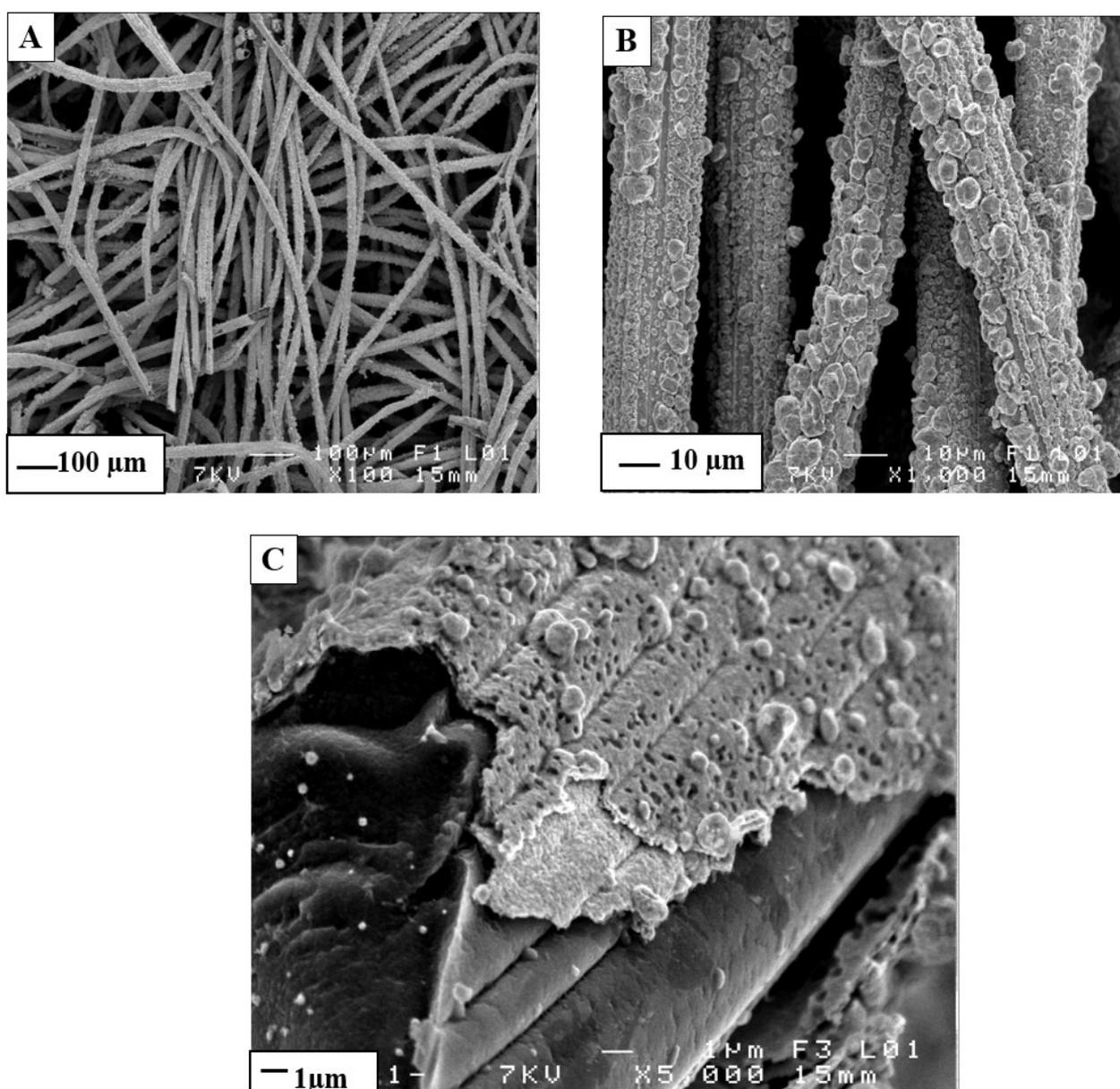


Figure III.25 : Métallisation au cuivre d'un feutre de graphite préalablement métallisé au nickel. (A) grossissement $\times 100$; (B) grossissement $\times 1000$; (C) grossissement $\times 5000$.

La figure III.25-A montre que la métallisation de l'électrode est homogène et que celle-ci conserve sa porosité. Le dépôt de cuivre est d'aspect granuleux (Figure III.25-B) et est constitué de cristallites de tailles différentes à la surface des fibres. Les deux dépôts successifs de nickel et de cuivre sont bien visibles sur la figure III.25-C. Notamment à droite de l'image en se déplaçant du bas vers le haut apparaît en premier plan la structure homogène du nickel déposé sur la fibre de graphite, puis le film de cuivre déposé sur la couche de nickel.

Etant donné l'éclat du nickel très différent de celui du cuivre, les images MEB mettent en évidence la structure homogène du dépôt de cuivre. Cette double électrodéposition entraîne une forte rigidité du matériau tout en gardant les propriétés essentielles du feutre de graphite que sont la légèreté et la microporosité. La densité moyenne du feutre métallisé est ainsi d'environ $0,265 \text{ g.cm}^{-3}$ de feutre. Le matériau catalytique possède une surface spécifique plus importante estimée par la méthode BET à $2 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$.

III.2.3. Conclusion

Ce travail a permis de réaliser une électrode poreuse métallisée au cuivre de surface spécifique élevée. Les conditions expérimentales d'électrodéposition définies précédemment pour la métallisation au nickel ont pu être transposées avec succès au cuivre. Cette réussite valide la méthode expérimentale basée sur l'application d'une forte densité du courant d'électrodéposition en présence d'une faible concentration en ions métalliques, le tout étant couplé à un programme d'alternance d'application du courant.

Les électrodes métalliques poreuses en cuivre ainsi préparées sont par la suite utilisées pour le traitement électrochimique de solutions concentrées en nitrates à 3 g.L^{-1} .

III. ELECTROLYSE D'UNE SOLUTION DE NITRATES

Le traitement des nitrates envisagé dans ce travail vise à traiter des solutions concentrées. Ainsi, nous avons choisi d'étudier l'électrolyse de solutions de nitrate de concentrations égales à 3 g.L^{-1} . Deux milieux d'électrolyse seront étudiés, l'un à $\text{pH} = 4,8$ (tampon acétique) et l'autre à $\text{pH} = 7,2$ (tampon phosphate). Le choix de ces milieux se justifie par rapport au pH des eaux naturelles et effluents qui sont en général de l'ordre de 7. L'objectif de ce travail est de définir les conditions optimales menant à une réduction sélective et quantitative des ions nitrate en ammoniac. Dans le cas où la réduction des ions nitrate en ammonium est suivie d'une étape d'oxydation en azote par des ions hypochlorite (ClO^-) préparés in situ (chapitre IV), la réduction des ions nitrate doit être réalisée en milieu basique.

Ainsi, les conditions optimisées à pH = 7,2 seront également appliquées pour une solution de soude (0,1 mol.L⁻¹) contenant une solution de nitrate de concentration 3 g.L⁻¹.

Il est à noter que pour mettre au point les électrolyses à l'échelle du laboratoire, des volumes de 1 litre sont utilisés pour les électrolyses.

III.1. Analyse électrochimique sur électrode de cuivre

III.1. 1. Etude dans un milieu acide de pH = 4,8

Le domaine idéalement polarisable d'une électrode de cuivre en milieu acide est limité aux potentiels supérieurs par la dissolution du cuivre au delà de 0,090 V/ECS ($E^{\circ}_{\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}} = 0,34 \text{ V/ENH}$) et aux potentiels négatifs par la réduction de H₃O⁺. La figure III.26 montre les courbes $i = f(E)$ enregistrées avec une électrode de cuivre immergée dans une solution tampon de pH = 4,8 en absence de nitrates (courbe noire) et en présence de NO₃⁻ de concentration 5.10⁻² mol.L⁻¹ (courbe rouge) et de concentration 10⁻¹ mol.L⁻¹ (courbe verte).

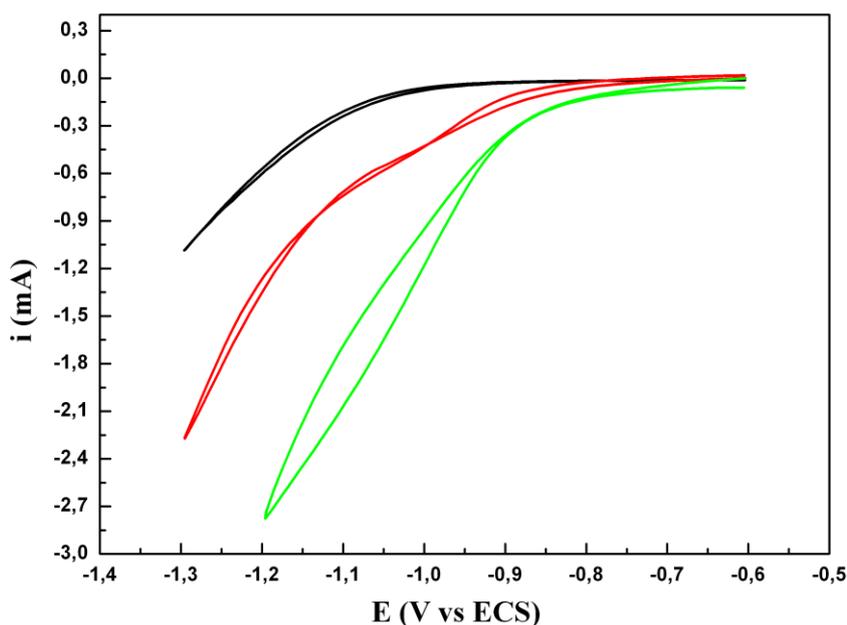


Figure III.26 : Voltampérogrammes cycliques obtenus avec une électrode de cuivre (20 mm²).

Solution tampon acétique 1 mol.L⁻¹ ; vitesse de balayage = 20 mV.s⁻¹ ; T = ambiante

Voltampérogramme noir : Sans NO₃⁻

Voltampérogramme rouge : [NO₃⁻] = 5.10⁻² mol.L⁻¹

Voltampérogramme vert : [NO₃⁻] = 10⁻¹ mol.L⁻¹

La variation du potentiel est effectuée du potentiel le plus positif vers le potentiel le plus négatif puis inversement, soit dans le domaine compris entre -0,6 V/ECS et -1,0 V/ECS. A pH = 4,8 le dégagement théorique du dihydrogène débute à $E_{H^+/H_2} = -0,06 \text{ pH} = -0,288 \text{ V/ENH}$ c'est-à-dire : $E_{H^+/H_2} = -0,536 \text{ V/ECS}$ (avec $E_{ECS} = 0,248 \text{ V/ENH}$). La figure III.26 montre un début du dégagement de dihydrogène vers -1,0 V, ce qui correspond à courant nul à une surtension approximativement de 500 mV. La réduction des ions nitrates est clairement visible dans le domaine de la surtension du cuivre et l'intensité de réduction augmente avec la concentration. Cette situation proche du dégagement de H₂ peut être reliée avec le début d'un faible recouvrement en hydrogène adsorbé à la surface de l'électrode à partir de -0,8 V/ECS, expliquant ainsi la réduction des ions nitrates dès ce potentiel. Que ce soit au cycle allé ou bien au cycle retour les courants de réduction restent toujours définis et ceci quel que soit le nombre de cycles réalisés ce qui indique une non passivation de l'électrode de cuivre.

II.1.2. Etude dans un milieu neutre de pH = 7,2

Comme pour le milieu acide la variation du potentiel est effectuée du potentiel le plus positif vers le potentiel le plus négatif puis inversement dans le domaine compris entre -0,6 V/ECS et -1,2 V/ECS pour la solution ne contenant pas de nitrate (Figure III.27).

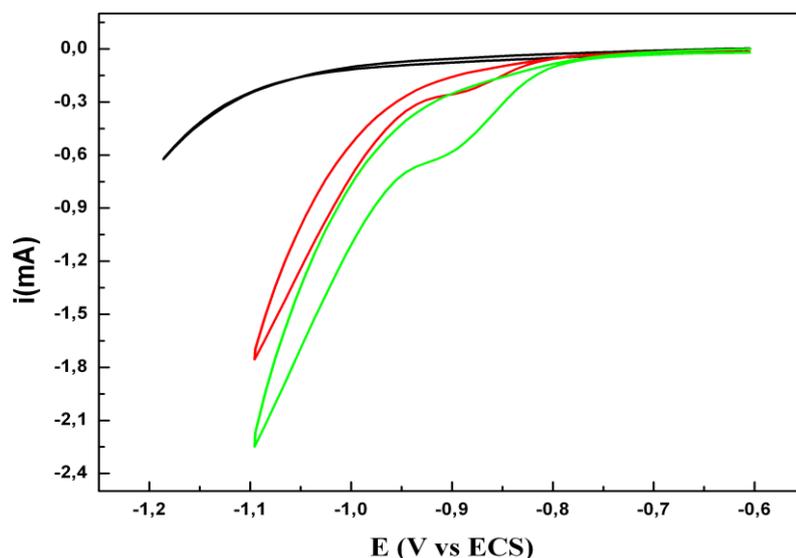


Figure III.27 : Voltampérogrammes obtenus avec une électrode de cuivre (20 mm²).
 Solution tampon phosphate ; vitesse de balayage = 20 mV.s⁻¹, T = ambiante
 Voltampérogramme noir : Sans NO₃⁻
 Voltampérogramme rouge : [NO₃⁻] = 5.10⁻² mol.L⁻¹
 Voltampérogramme vert : [NO₃⁻] = 10⁻¹ mol.L⁻¹

Le dégagement théorique de H₂ à pH = 7,2 est : E_{H⁺/H₂} = -0,68 V/ECS. Comme le milieu acide les ions nitrate se réduisent clairement à partir d'un potentiel de -0,8 V/ECS. Pour chaque concentration en nitrate (courbe rouge et verte) un palier diffusionnel apparaît entre -0,8 et -0,95 V/ECS attribuable à la réduction des ions nitrates. A partir de -0,95 V, l'intensité du courant augmente très fortement en valeur absolue probablement du fait de l'intervention significative de l'hydrogène adsorbé issu de la réduction de l'eau dans le mécanisme de réduction des nitrates. Comme pour le milieu acide, quel que soit le nombre de cycles réalisés, les courants de réduction restent toujours définis ce qui indique une non passivation de l'électrode de cuivre.

III.2. Electrolyse d'une solution de NO₃⁻ en NH₄⁺

Les électrolyses en milieu acide et neutre sont réalisées par percolation avec la cellule décrite au chapitre II (Figure II.6).

II.2.1. Optimisation de la réduction électrochimique des NO₃⁻ en NH₄⁺ dans un milieu acide et neutre

Pour optimiser le rendement et la sélectivité chimique en ammonium, les paramètres suivants sont étudiés : (1) le pH du milieu électrolytique (acide et neutre), (2) le débit (1 mL.min⁻¹, 2 mL.min⁻¹ et 3 mL.min⁻¹) et (3) l'intensité du courant appliquée.

Comme mentionné précédemment, les réactions de réduction électrochimiques pouvant avoir lieu à la cathode de cuivre et conduisant aux sous-produits majoritaires sont les suivantes :



A l'anode la réaction d'oxydation conduit à la formation de dioxygène :



Au bilan des réactions cathodique et anodique, la réduction des ions nitrate entraîne une consommation en proton qui n'est pas équilibrée par la réaction III.35 d'oxydation de l'eau. Plus la réaction III.33 est majoritaire et plus le bilan en proton sera déficitaire, ce qui entraîne une

augmentation du pH du milieu d'électrolyse. Il est donc nécessaire de fixer le pH en tamponnant le milieu d'électrolyse afin d'étudier individuellement l'influence de l'intensité du courant et du débit. L'intensité du courant théorique est calculée selon l'équation (Eq.II.1) définie précédemment dans la section I.3.1 du chapitre II.

Quelles que soient les conditions d'expériences, le produit majoritaire de réduction des ions nitrate est toujours de l'ammoniaque accompagné d'une quantité variable, mais toujours faible de nitrite. Aucune trace d'hydrazine n'a été détectée dans la solution, de même en phase gaz aucune trace de protoxyde d'azote (N₂O) n'a été détectée.

III.2.1.1.Effet du débit et du pH sur l'efficacité de l'électroréduction des nitrates

Les tableaux III.15 regroupent les principaux paramètres, taux de transformation, sélectivité et rendement faradique calculés par rapport à la réaction de réduction des ions nitrate en ammonium, ainsi que le rendement chimique des ions nitrite.

Pour une intensité du courant appliquée égale à la valeur théorique, le taux de transformation des ions nitrate (% τ) varie entre 60% et 80% (Tableau III.15) et est maximum à faible débit, c'est-à-dire 80% à pH = 4,8 et 70% à pH = 7,2. L'écart à 100% est dû à la réaction de formation du dihydrogène (Réaction III.31) qui est en compétition avec la réaction de réduction des ions nitrate (Réactions III.33, III.26 et III.34).

Tableau III.15 : Effet du débit et du pH sur l'électroréduction des ions nitrates en ammonium (concentration initiale en nitrates = 3 g.L⁻¹).

Débit (mL.min ⁻¹)	i _{app} (A)	pH 4,8			pH 7,2		
		% τ	%S _{NH4} ⁺	%X _{NO2} ⁻	% τ	%S _{NH4} ⁺	%X _{NO2} ⁻
1	0,62	80	71	1	75	86	0,5
2	1,24	70	75	3,5	73	96	1
3	1,86	76	82	2	63	92	3

L'optimisation du taux de transformation des ions nitrate est reliée au temps de séjours dans l'électrode. Pour un volume d'électrode de 7,8 cm³, le temps correspondant au passage d'un même volume de solution est de 7,8 min pour un débit de 1 mL.min⁻¹, de 3,9 min pour un débit de 2 mL.min⁻¹ et de 2,6 min pour un débit de 3 mL.min⁻¹. Plus le débit est lent et plus la probabilité de contact

augmente entre les ions nitrate et l'électrode. La fraction de courant non utilisé pour la réduction des ions nitrate est ainsi plus faible lorsque le débit diminue. Au-delà d'un débit de 3 mL.min⁻¹, la quantité de dihydrogène formé devient importante et perturbe fortement l'électrolyse des ions nitrate par accumulation du gaz dans le compartiment de travail (compartiment cathodique).

Le dosage des sous-produits d'électrolyse des ions nitrate fait apparaître une très faible proportion en ions nitrite (Tableau III.15). Et, de façon certaine l'hydrazine (H₂N-NH₂) en solution et le protoxyde d'azote (N₂O) en phase gaz n'ont pas été détectés et ceci quelles que soient les conditions de travail. La sélectivité de la réduction des ions nitrate en ammonium (%S_{NH₄⁺}) (Réaction III.33) est fortement influencée par le pH de la solution. En milieu neutre (pH = 7,2) la réduction des nitrates est quasi quantitative cependant en milieu acide (pH = 4,8) une diminution significative de la sélectivité est observée. Compte tenu de la faible présence des ions nitrite dans la solution cette diminution est probablement due à la formation d'azote gazeux (réaction III.34) [188].

La sélectivité maximale en ammonium (%S_{NH₄⁺} = 96%) est obtenue pour un débit de 2 mL.min⁻¹. Compte tenu de ce résultat, c'est ce débit qui sera utilisé dans la suite de ce travail pour étudier l'influence de l'intensité du courant de réduction.

III.2.1.2. Effet de l'intensité du courant appliqué et du pH sur l'efficacité de l'électroréduction

Plusieurs expériences ont été réalisées de telle sorte que l'intensité du courant appliquée (i_{app}) soit un multiple de l'intensité théorique calculée (i_{th}). L'intensité théorique est calculée pour la réaction de réduction des nitrates en ammoniacque (Réaction III.33) qui met en jeu 8 électrons. Les deux intensités sont reliées par le rapport $R_i = i_{app} / i_{th}$ et R_i varie de 0,5 à 1,5. Autrement dit le courant appliqué varie de 0,5 à 1,5 fois le courant théorique. Le taux de transformation théorique de la réaction de réduction des nitrates en ammoniacque est égal à 100 % pour $i_{app} \geq i_{th}$, mais pour $i_{th} < i_{app}$ le taux de transformation théorique est égal à : $R_i \times 100\%$. Comme il est mentionné dans la section précédente de ce chapitre, toutes les électrolyses sont réalisées avec un débit de 2 mL.min⁻¹.

Les résultats regroupés dans le tableau III.16 font apparaître que les taux de transformation de réduction des ions nitrates (% τ) enregistrés aux pH de 4,8 et de 7,2 sont similaires et augmentent progressivement avec l'intensité du courant appliqué. Mais en ce qui concerne la sélectivité de la réaction de transformation des ions nitrate en ammoniacques (%S_{NH₄⁺}) les résultats sont très différents.

Tableau III.16 : Effet de l'intensité du courant appliquée et du pH sur l'efficacité d'électroreduction. ($R_i = i_{app} / i_{th}$; concentration initiale de nitrate = 3 g.L⁻¹; débit = 2 mL.min⁻¹).
 $\% \tau_{théorique} = \% \tau$ pour une sélectivité $\% S_{NH_4^+} = 100 \%$

R_i	pH 4,8					pH 7,2				
	$\% \tau$	$\% \tau_{théorique}$	$\% X_{NH_4^+}$	$\% S_{NH_4^+}$	$\% X_{NO_2^-}$	$\% \tau$	$\% \tau_{théorique}$	$\% X_{NH_4^+}$	$\% S_{NH_4^+}$	$\% X_{NO_2^-}$
0,5	50	50	20	40	1,5	46	50	28	60	0,5
0,75	68	75	41	60	2,5	66	75	52	79	0,5
1	70	100	53	75	3,5	73	100	70	96	1
1,25	75	100	51	68	3,5	79	100	76	96	1,5
1,5	82	100	51	62	4	83	100	77	93	1,5

a. pH = 4,8

Pour R_i égal 0,5 le taux de transformation ($\% \tau$) est égal à 50 %. Ce résultat signifie que la moitié de la quantité initiale en ions nitrates a été réduite pour une intensité du courant appliqué de moitié égale à la valeur théorique. Or la transformation des ions nitrates en ammonium (Réaction III.33) qui représente la voie à 8 électrons (avec laquelle l'intensité théorique du courant est calculée) a une sélectivité ($\% S_{NH_4^+}$) égale à 40%. En prenant en compte le faible taux de transformation des ions nitrate en nitrite ($\% X_{NO_2^-}$), il est possible de conclure que la majorité des ions nitrate disparus ont été transformés en diazote (Réaction III.34). La voie vers l'azote échange 5 électrons, valeur plus faible que la voie vers l'ammoniaque ce qui implique qu'une fraction de l'intensité du courant est utilisée pour le dégagement de dihydrogène ce qui est très visible au-delà de $R_i = 0,5$ par l'écart entre $\% \tau$ et $\% \tau_{théorique}$. Avec $\% \tau_{théorique} = \% \tau$ (pour une sélectivité $\% S_{NH_4^+} = 100 \%$). Finalement à pH = 4,8 une augmentation de R_i augmente la sélectivité en ammoniaque jusqu'à un plafond de 53 % obtenu pour $R_i = 1$ et diminue ensuite pour des valeurs plus élevées de R_i . Ce phénomène est probablement dû à une forte électrolyse de l'eau dès l'instant où i_{app} devient supérieur à i_{th} et qui perturbe fortement les différents mécanismes d'adsorption à la surface de l'électrode au détriment de la formation en ammoniaque.

b. pH = 7,2

A ce pH les sélectivités sont beaucoup plus élevées que celles obtenues à pH = 4,8 et atteignent un pourcentage pratiquement égal à 100 % dès lors que $R_i \geq 1$. La formation de diazote n'apparaît que pour une valeur de $R_i < 1$ et l'écart entre $\% \tau$ et $\% \tau_{théorique}$ montre que la formation du dihydrogène est toujours présente et augmente avec le rapport R_i .

D'après les voltampérogrammes des Fig. III. 20 et 21, la cinétique de réduction des ions nitrate est plus rapide à pH 7,2 qu'à pH 4,8. Ainsi, la quantité d'électricité est utilisée quasi totalement pour réduire les nitrates en ammoniums à pH 7,2, alors qu'à pH 4,8, une partie du courant sert à réduire les nitrates en diazote.

L'évolution du rendement faradique basé sur la réduction des ions nitrate en ammonium en fonction de R_i est représentée dans la figure III.28. Pour R_i proche de 0,9 des rendements maxima de 72 % et 50% sont obtenus respectivement pour un pH de 7,2 et un pH de 4,8. La formation du diazote (Réaction III.34) et du dihydrogène (Réaction III.31) sont les deux réactions secondaires qui vont affecter le rendement faradique. En milieu acide, la formation d'azote gazeux et celle de H_2 se déroulent quelle que soit la valeur de R_i . En revanche en milieu neutre, la formation d'azote gazeux n'existe plus lorsque R_i a atteint la valeur de 1. Au-delà de $R_i = 1$ seule la réaction de dégagement du dihydrogène limite le rendement faradique.

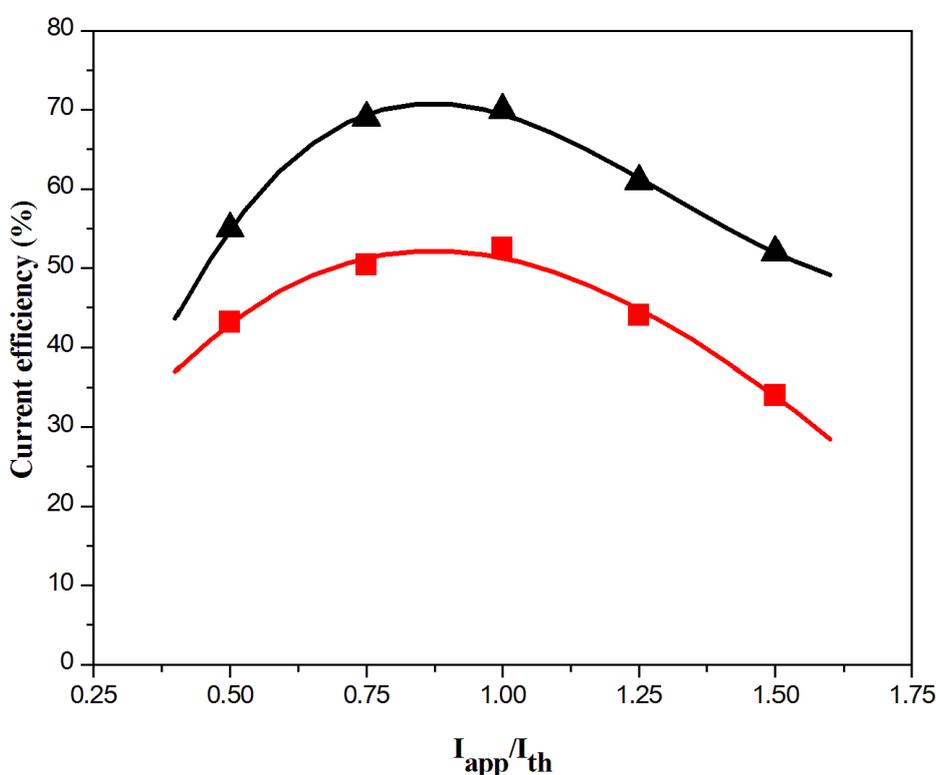


Figure III.28 : Effet de l'intensité du courant appliqué et du pH sur le rendement faradique.

■ pH = 4,8
▲ pH = 7,2

Il est intéressant de noter que le rendement de conversion des nitrates (% τ) et l'efficacité du courant sont principalement limités par la probabilité de contact entre les ions nitrate et les fibres métallisées au cuivre. Par conséquent, une électrode poreuse de cuivre de surface spécifique plus élevée que celle utilisée dans cette étude permettrait de diminuer la réaction de formation du dihydrogène. Dans ces conditions un rendement faradique proche de 100 % pourrait être envisageable.

III.2.2. Réduction électrochimique des NO_3^- en NH_4^+ en milieu alcalin

Les conditions optimales de réduction des ions nitrate obtenues à pH 7,2 sont appliquées à une solution de soude 0,1 mol.L⁻¹ contenant 3 g.L⁻¹ de nitrate. Les paramètres suivants sont adaptés à l'électrolyse :

- Débit de la solution = 2 mL.min⁻¹
- Intensité du courant appliquée = 1,24 A correspondant à un rapport ($i_{\text{app}}/i_{\text{th}}$) égal à 1

Les résultats sont présentés dans le tableau III.17. Les taux de conversion, la sélectivité en ammonium et le rendement faradique obtenus sont similaires à ceux enregistrés en milieu neutre (Tableau III.16).

Tableau III.17 : Réduction électrochimique des nitrates en milieu alcalin (NaOH 0,1 mol.L⁻¹). ($R_i = 1$; concentration initiale de nitrate = 3 g.L⁻¹; débit = 2 mL.min⁻¹)

R_i	% τ	% SNH_4^+	% XNO_2^-	%CE
1	75 ± 1,5	91 ± 2,5	1,5 ± 2	68 ± 4

Le pH de la solution de l'ordre de 13 fait que l'ammoniac formé est sous sa forme moléculaire NH_3 (gazeuse) de sorte qu'au cours de l'électrolyse (et des différentes manipulations qui suivent l'électrolyse) une faible quantité d'ammoniac se volatilise. Ceci implique que la sélectivité calculée qui est déjà élevée (91 %) est probablement minimisée. De même qu'une solution de pH neutre, en milieu basique la formation de diazote sur cuivre n'apparaît probablement pas et le rendement faradique est altéré par une seule réaction secondaire qui est celle de la formation du dihydrogène.

IV. CONCLUSION

La métallisation des feutres de graphite qui est un matériau poreux de grande surface spécifique est réalisée par électrodéposition selon une méthode décrite dans ce chapitre. Ce procédé appliqué à

l'électrodéposition du cuivre a échoué. En revanche la métallisation au cuivre a pu être réalisée en utilisant un feutre de graphite préalablement métallisé au nickel comme support pour l'électrodéposition.

Les feutres métallisés au cuivre ont été utilisés comme cathode dans une cellule à percolation pour réaliser la réduction d'une solution concentrée de nitrates à 3 g.L^{-1} . La transformation en ammonium, au cours d'un passage unique de la solution à travers l'électrode, s'avère efficace. Le cuivre comme nature d'électrode, couplé au procédé par percolation permet d'obtenir une excellente sélectivité réactionnelle avec des rendements chimiques et faradiques élevés et ceci plus particulièrement dans un milieu neutre. A $\text{pH} = 7,2$ en imposant un courant appliqué égal au courant théorique, une sélectivité maximale en NH_4^+ de 96 % et un rendement faradique élevé de 72 % sont obtenus pour la réaction de réduction des ions nitrate en ammonium. L'utilisation de ces conditions optimales pour étudier la réduction des ions nitrate en milieu alcalin ($\text{NaOH } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) donne des résultats équivalents à ceux enregistrés en milieu neutre. L'avantage de ce système est qu'il est possible de contrôler le rapport $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ simplement en modifiant l'intensité du courant appliquée.

La réussite de cette transformation sélective et quantitative des ions nitrate en ammonium permet d'aborder l'objectif suivant qui est de transformer la solution d'ammoniaque de façon à achever le cycle de destruction des nitrates. Deux voies vont être développées pour finaliser cette élimination. L'une transformera l'ammoniaque en azote gazeux par électrolyse couplée et sera détaillée dans le chapitre IV. L'autre conduira à la synthèse de biohydrogène, une molécule à haute valeur ajoutée via une culture bactériologique et sera détaillée dans le chapitre V.

***Chapitre IV : Elimination des ions nitrate
par électrolyses couplées***

INRODUCTION

Depuis quelques années, un procédé électrochimique de transformation des ions nitrate en azote gazeux a été particulièrement étudié. Ce procédé consiste à réduire électrochimiquement les ions nitrate en ammoniac sur une électrode métallique puis à oxyder NH_3 en milieu basique par de l'hypochlorite (ClO^-) généré électrochimiquement à partir d'ions chlorure. Cette combinaison de deux réactions successives permet une transformation des ions nitrate en azote gazeux. Le procédé est très prometteur d'un point de vue environnemental car il est propre et simple d'utilisation et du fait de la transformation des ions nitrate exclusivement sous forme d'azote gazeux, aucun déchet ne sera produit [19,189].

Toutefois, jusqu'à nos jours, le développement de ce procédé se heurte à deux difficultés majeures. La première est de trouver les conditions adéquates pour réaliser dans une même cellule électrochimique la réduction des ions nitrate en ammoniac et l'oxydation des ions chlorure en ions hypochlorite (ClO^-). En effet, la difficulté est d'obtenir un mélange stœchiométrique de NH_3 et ClO^- pour obtenir de l'azote gazeux sans excès de l'un des réactifs [100]. Dans la pratique, ce procédé entraîne une production excessive d'ions hypochlorite (ClO^-) qui est un oxydant très fort, ce qui empêche l'utilisation ultérieure des eaux traitées. La deuxième difficulté souvent rencontrée est que la réduction des ions NO_3^- en ions ammonium est considérée comme une réaction difficile car la sélectivité et la vitesse de réaction sont habituellement faibles [20], et un grand nombre de sous-produits tels que NO_2 , NO_2^- , NO , N_2O , NH_2OH , NH_3 , peuvent être formés.[20]. Finalement, l'excès de ClO^- ajouté à un taux de transformation des ions nitrate le plus souvent non optimisé entraînent un rendement faradique faible conduisant à une consommation énergétique élevée [190], ce qui rend le procédé très coûteux.

Le premier problème énoncé ci-dessus concernant la transformation sélective des ions nitrate en ammoniac a pu être résolu par le système électrochimique développé dans le chapitre III de ce manuscrit. Ainsi, l'association des propriétés de la cellule à percolation et de l'électrode poreuse de cuivre s'est montrée efficace pour réduire les ions nitrate avec un taux de transformation élevé et une sélectivité en ammoniac proche de 100%, conduisant à un bon rendement faradique. En conséquence, le problème restant à résoudre est le contrôle de la quantité de ClO^- nécessaire à l'oxydation de l'ammoniac total en azote gazeux. En conclusion, l'objectif de ce chapitre est le développement d'un procédé électrochimique en flux offrant le meilleur contrôle possible de la

transformation quantitative et sélective des ions nitrate en ammoniac et des ions chlorure en hypochlorite tout en respectant la stœchiométrie.

La première partie de ce chapitre est un rappel bibliographique présentant les études réalisées pour convertir électrochimiquement les ions nitrate en azote gazeux par électrolyses couplées. La deuxième partie décrit les évolutions apportées à la cellule à percolation pour optimiser la transformation des ions nitrate en diazote gazeux. A l'issue de ce travail, la consommation énergétique du procédé mis en place sera discutée.

I. BIBLIOGRAPHIE

I.1. Origine et principe du couplage électrochimique

Entre les années 1960 et 1970, l'oxydation électrochimique de l'ammoniac en diazote a été très étudiée car cette réaction était pressentie comme potentiellement adaptable aux piles à combustible H_2/O_2 [191–193]. Il ressort de ces études que le milieu basique est le plus performant et que les transformations en diazote les plus abouties se font par oxydation sur des métaux nobles (Pt, Rh, Ir) [194]. Quelques années plus tard, Marinčić *et al.* [195] ont discuté de la pertinence à utiliser ces systèmes pour détruire l'ammoniac des eaux résiduelles issues de l'agriculture et des villes. Ces auteurs concluent que le système n'est pas viable économiquement du fait de l'utilisation du platine comme électrode et que malheureusement la réaction d'oxydation de l'ammoniac en azote gazeux est sélective uniquement avec ce métal comme catalyseur.

Par la suite, Chiang *et al.* [196] ont développé un procédé indirect d'oxydation de l'ammoniac en étudiant l'oxydation des ions chlorure en hypochlorite à un pH égal à 8 avec des anodes de nature différente (graphite, PbO_2/Ti , DSA et $Sn-Pd-Ru/Ti$). Cette approche est judicieuse car les ions chlorure sont présents en abondance dans les eaux résiduelles. De plus, parmi les méthodes physico-chimiques d'élimination des nitrates, ce sont les résines échangeuses d'ions qui sont les plus efficaces [197] et la récupération des ions nitrates adsorbés sur la résine se fait par élution avec une saumure qui est en fait une solution concentrée en chlorure de sodium. Selon le volume des éluats récupérés, la concentration en ion nitrates peut atteindre 10 g.L^{-1} et celle de $NaCl$ est comprise entre 2 et 3 mol.L^{-1} . Par suite, des traitements complémentaires sont mis en place pour séparer les ions nitrates de l'éluat [198]. En conclusion, la méthode idéale pour le traitement de ces saumures résiduaires consisterait à convertir complètement les ions nitrate en azote gazeux [199]. Dans ce contexte, le procédé par électrolyses successives est fortement étudié depuis quelques années [13,16,20,49,95–98] et à ce jour,

cette approche semble être la méthode la plus efficace pour éliminer les ions nitrate [41]. Les réactions de réduction des ions nitrate en ammoniac en milieu basique (Réaction III.28 du chapitre III) et d'oxydation des ions chlorure en ions hypochlorite (Réaction IV.36) sont les suivantes :



En milieu alcalin, une réaction d'oxydation de l'ammoniac par les ions hypochlorite conduit à la formation de diazote et d'ions chlorure (Réaction IV.37) :



Il est à noter qu'il existe également une réaction d'oxydation des nitrites par les ions hypochlorites conduisant à la formation de nitrate (Réaction IV.38) [188] :



L'efficacité du système est liée à la quantité de ClO^- formée, c'est-à-dire à la quantité d'ions chlorure oxydés. Dans ces conditions, il convient de déterminer avec précision la quantité de NaCl ajoutée au milieu électrolytique car un excès conduit à une quantité non contrôlée de ClO^- qui est un oxydant très fort.

En conclusion, ce procédé pour être performant doit combiner (i) une conversion sélective des ions nitrate en NH_3 (ii) un taux de transformation des nitrates élevé (iii) un rendement faradique élevé (current efficiency %CE) [190] et (iiii) la méthode ne doit pas être influencée par la présence d'autres ions comme par exemple les ions chromate connus pour ralentir l'électroréduction des ions nitrate en solution alcaline [200].

Actuellement, il n'existe pas de modèle répondant de façon complète aux exigences précitées. En règle générale, le taux de transformation des ions nitrate est souvent faible ou bien la sélectivité n'est pas complète ce qui engendre une consommation énergétique élevée [190] et rend le procédé non transposable à plus grande échelle. Toutefois, dans la littérature, quelques procédés à l'échelle pilote ont été étudiés.

I.2. Pilote de laboratoire

Le défi des pilotes de laboratoire est de trouver les conditions appropriées pour exécuter simultanément la réduction cathodique des ions nitrate et l'oxydation anodique des sous-produits (ammoniaque) en azote gazeux [188]. De nombreuses recherches ont été menées ces dernières années pour développer de tels procédés à l'échelle du laboratoire en étudiant plus particulièrement l'influence de la nature du matériau d'électrode, de l'intensité du courant imposée, du pH, de la conductivité et des concentrations initiales en chlorure de sodium (NaCl) et en ions nitrate. Un résumé des principaux résultats est présenté dans le tableau IV.18. Pour améliorer l'efficacité de la réduction des ions nitrate, Li *et al.* [16] ont testé différents types de matériaux comme anodes pour l'oxydation des ions chlorure. Ces auteurs obtiennent un taux d'élimination en ions nitrate élevé en utilisant Ti/IrO₂-Pt et Ti/Pt comme matériaux d'anodes avec la formation d'une quantité négligeable d'ammoniaque et d'ions nitrite. Ils remarquent que sans l'ajout de NaCl au milieu électrolytique l'efficacité de la réduction des ions nitrate est supérieure à celle enregistrée en présence de NaCl. Avec une cathode en alliage de cuivre et de zinc (Cu-Zn) et une anode Ti/IrO₂-Pt, Li *et al.* [201] trouvent qu'en présence de 0,5 g.L⁻¹ de NaCl utilisé comme électrolyte support, la concentration en ions nitrate diminue de 100 à 9,7 mg.L⁻¹ après 300 min d'électrolyse ($\tau = 90,3\%$). L'ammoniac et les ions nitrite n'ont pas été détectés dans la solution traitée.

Ces mêmes auteurs [202] ont étudié l'année suivante l'influence de l'addition de NaCl, de la densité du courant, du pH initial, de la température et de la concentration en ions nitrate en utilisant respectivement le fer et Ti/IrO₂ comme cathode et anode. En présence de 0,5 g.L⁻¹ de NaCl, le taux d'élimination des ions nitrate est de 87,1% pour une durée d'électrolyse de 112 min. Comme le montre le tableau IV.18, en présence de NaCl, l'ammoniaque et les ions nitrite n'ont pas été détectés du fait de leur oxydation par les ions hypochlorite formés *in situ*. La vitesse d'élimination des ions nitrate augmente linéairement avec la densité du courant mais diminue avec l'augmentation de la concentration de NaCl. En ce qui concerne l'influence de la température, le taux de conversion des ions nitrate paraît plus important à haute température.

Tableau IV.18 : récapitulatif des résultats des électrolyses couplées des ions nitrate obtenus par différents laboratoires [41].

Proces sus	Electrodes		Composition de l'électrolyte support	Conditions expérimentales	Résultats	Référence
	Anode	Cathode				
Batch	Ti/Pt	Plaque Cu/Zn	[NO ₃ ⁻] = 100 mg.L ⁻¹ Na ₂ SO ₄ 0,5 g.L ⁻¹	NaCl 0,75 g.L ⁻¹	*τ = 86,7% NH ₃ formé = 20 mg.L ⁻¹	[16]
	Ti/IrO ₂ -Pt			NaCl 0,5 g.L ⁻¹	*τ = 82,7% NH ₃ formé = 14,7 mg.L ⁻¹	[202]
	Ti/IrO ₂ -Pt			NaCl 0,75 g.L ⁻¹	*τ = 77,4% NH ₃ formé = 46,7 mg.L ⁻¹	[202]
	Ti/RuO ₂ -Pt			NaCl 0,75 g.L ⁻¹	*τ = 87,27% NH ₃ formé = 60 mg.L ⁻¹	[202]
Batch	Plaque Ti/IrO ₂ -Pt	Plaque Fer	[NO ₃ ⁻] 50-200 mg.L ⁻¹ Na ₂ SO ₄ 0,5 g.L ⁻¹	Densité du courant 20 mA.cm ⁻² NaCl 0,50 g.L ⁻¹ pH = 7	*τ = 87,1%	[201]
Batch	Ti/IrO ₂ -Pt	Cu/Zn	[NO ₃ ⁻] 100 mg.L ⁻¹ Na ₂ SO ₄ 0,5 g.L ⁻¹	Densité du courant 40 mA.cm ⁻² NaCl 0,5 g.L ⁻¹	*τ = 90,3%	[198]
Batch	Plaque de Sn	Plaque de Pt	0,05M NaNO ₃	NaCl 2 mol.L ⁻¹ Potentiel de -1,8 à -2,8 V vs Ag/AgCl	*τ = 99% %N ₂ = 85%	[16]

*τ = Taux d'élimination des ions nitrate en %

Katsounaros et Kyriacou [198] ont étudié l'influence du potentiel et de la concentration en NaCl sur le taux de réduction des ions nitrate en azote gazeux en utilisant l'étain (Sn) comme cathode. Les expériences électrolytiques sont réalisées à potentiels constants. Ces auteurs trouvent que le taux de réduction des ions nitrate et la sélectivité en diazote augmentent aussi bien avec l'augmentation du potentiel imposé de -1,8 à - 2,8 V/ ECS qu'avec la concentration de NaCl. Le taux d'élimination des ions nitrate est de l'ordre de 99% et le rendement chimique en N₂ est de 85% à un potentiel très

négatif de -2,8 V/ECS. Cependant ces bons résultats sont inexploitable compte tenu des problèmes liés à l'utilisation de l'étain comme cathode : (a) la réduction a lieu à haute surtension cathodique et (b) la corrosion cathodique de l'étain lors de l'électrolyse conduit à une solution finale dont la concentration en ions étain est inacceptable du point de vue environnementale.

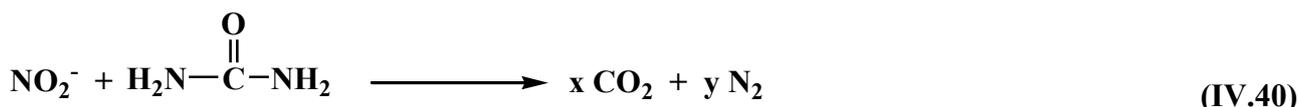
Outre la formation des produits secondaires comme les ions nitrite, l'ammonium, le peroxyde d'azote..., le tableau IV.18 montre que la majorité des études d'électrolyses couplées existant dans la littérature sont des études analytiques réalisées avec des électrodes planes et faites à des concentrations relativement faibles en ions nitrate (50 à 200 mg.L⁻¹).

I.3. Pilote pour l'industrie : Brevet

Dans le même contexte de transformation électrochimique des ions nitrates en azotes gazeux, quelques travaux de recherche ont été brevetés parmi lesquels le travail réalisé par Dziewinski et Marczak [203]. Les ions nitrates sont mis en contact avec des ions cadmium pour les transformer en nitrites selon la réaction suivante :



Le cadmium est utilisé comme métal réactif et le cuivre comme métal catalyseur. Les ions nitrite formés sont ensuite mis en contact avec de l'urée à une concentration de 0,03 mol.L⁻¹ pour produire du dioxyde de carbone et de l'azote (Réaction IV.40).



Le taux maximum d'élimination des ions nitrate obtenus par ce procédé est de 51,5 % et la sélectivité en N₂ est de 97,2%. Mais ce procédé fait apparaître des inconvénients majeurs. Les effluents ne contenant pas d'ions métalliques ne peuvent pas être traités. Il faut utiliser une quantité de métal élevée, de 100 à 600% en poids exprimé par rapport au poids de NO₃⁻ car l'utilisation d'une faible quantité conduira à une réduction incomplète des ions nitrate en nitrite. Le pH du milieu doit être maintenu à 1,7 par l'ajout d'acide chlorhydrique à 4 mol.L⁻¹. Ces exigences rendent cette technique très compliquée et très lourde pour être appliquée à grand échelle.

Dominique *et al.* [204] ont adapté le procédé d'électrolyses couplées à une cellule électrochimique de type filtre-pressé composée de plusieurs cellules électrochimiques divisée chacune en deux

compartiments distincts, cathodique (1) et anodique (2) séparés par une membrane cationique (3). Ils réduisent les ions nitrates contenus dans des eaux résiduaires avec un taux d'élimination de 96,4%. Les inventeurs proclament que ce procédé pourra être utilisé pour traiter des solutions concentrées en nitrate. Cependant la quantité d'ions nitrate traitée reste faible et varie entre 168 mg.L⁻¹ et 595 mg.L⁻¹. De plus la consommation d'électricité est élevée (27 à 55,4 kW.h/m³ d'eau traitée) (Tableau IV.19), ce qui rend le procédé très cher.

Tableau IV.19 : Comparaison de la consommation d'électricité enregistrée dans différents brevets.

Année	[NO ₃ ⁻] initial (mg.L ⁻¹)	Consommation d'électricité Optimale	Références
2001	6000	Non indiquée	[203]
2005	168 – 559	27 kW/m ³	[204]
2013	620	20 kW.h/kgNO ₃ ⁻	[189]

Plus récemment, Reyter et Bélanger [189] ont développé le système filtre-presse de Dominique *et al.* [204] de façon à obtenir un électrolyseur multi cellulaires à écoulement non divisé (Figure IV.29). Chaque cathode est un alliage à base de cuivre et de nickel et les anodes sont de structure Ti/IrO₂. Les électrodes sont des languettes intercalées les unes avec les autres, ce qui crée une convection sous forme de turbulence lors de l'écoulement de la solution.

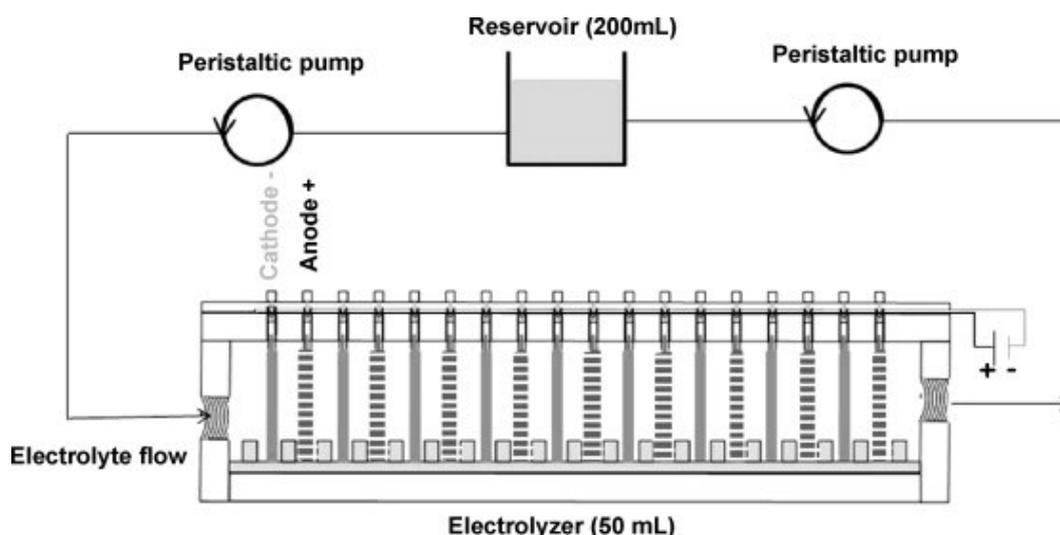


Figure IV.29 : Schéma représentant l'électrolyseur multi cellulaires [189].

Malgré les améliorations apportées dans ce procédé par rapport à celui de Dominique *et al.* les limites sont inhérentes à l'agencement filtre-presse et la quantité en ions nitrate traitée reste faible (620 mg.L⁻¹) avec une consommation moyenne d'énergie de 20 kW.h/ kg de NO₃⁻ (Tableau IV.19).

En conclusion, probablement du fait de la consommation électrique excessive et des concentrations en ions nitrate traitées relativement faible, ces brevets n'ont jamais été développés industriellement. En partant de ce constat, l'objectif de ce chapitre est de développer un système électrochimique transformant les ions nitrates en azote gazeux avec un taux de transformation et une sélectivité élevés. Ce procédé doit être capable de traiter des concentrations élevées en ions nitrates avec un bon rendement faradique pour minimiser la consommation électrique.

II. CELLULE A PERCOLATION ET PROCEDE PAR COUPLAGE ELECTROCHIMIQUE

Le couplage électrochimique est réalisé en milieu alcalin (pH = 13) pour les raisons suivantes :

- au cours de l'électroréduction des ions NO₃⁻ (Réaction III.28), des anions OH⁻ sont formés et au pH de 13, cette valeur varie peu pendant le temps de l'expérience [4].



- la production de chloramines provenant de l'oxydation de l'ammoniac par ClO⁻ est évitée [10].

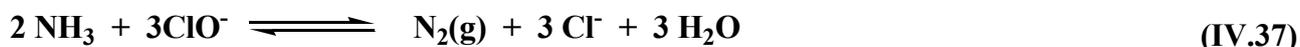


- l'ammoniaque existe majoritairement sous sa forme non ionisée (NH₃) qui est l'espèce réagissant avec les ions hypochlorite permettant ainsi sa conversion en N₂ (Réaction 3) [25].
- Pour être efficace, les solutions d'électrolyse doivent contenir des ions chlorure.

C'est dans ce sens qu'il est intéressant d'utiliser des solutions issues des procédés physico-chimiques puisqu'elles contiennent en forte concentration des ions nitrates mais également des ions chlorure provenant des saumures pour régénérer les résines échangeuses d'ions. La cellule à percolation s'adapte remarquablement à ce procédé car l'agencement de la cathode dans la cellule permet de réduire rapidement et quantitativement les ions nitrates en ammoniac qui en milieu basique sont gérés par l'équilibre entre la phase aqueuse et la phase gazeuse (Réaction IV.41).



En milieu basique, cet équilibre est en faveur de l'ammoniac gazeux. Par conséquent il est impératif que l'ammoniac une fois formé soit aussitôt oxydé par les ions hypochlorites (Réaction IV.37).



L'oxydation des ions chlorure est réalisée à l'anode qui sera en platine ou bien en graphite. De leur efficacité sur ces deux matériaux dépendra l'adaptation des électrolyses couplées à une cellule à percolation.

II.1. Etude analytique de l'oxydation des ions chlorure en milieu basique

Les voltampérogrammes sont effectués dans une solution de soude $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. La concentration en NaCl utilisée est de 10 g.L^{-1} . Pour étudier l'oxydation de l'ammoniac en présence ou non d'ions chlorure une solution de nitrate d'ammonium de concentration égale à $7,68 \text{ g.L}^{-1}$ est utilisée ($1,73 \text{ g NH}_4^+.\text{L}^{-1}$). En milieu basique, les ions nitrate ne sont pas électroactifs en oxydation aussi bien sur le platine que sur le carbone vitreux et les ions ammonium (NH_4^+) sont principalement sous la forme NH_3 .

II.1.1. Oxydation des ions chlorure sur une électrode de platine

La variation du potentiel est effectuée entre $0,5 \text{ V/ECS}$ et $0,9 \text{ V/ECS}$ avec une vitesse de 20 mV.s^{-1} . L'oxydation des ions chlorure est clairement visible sur la figure IV.30 et débute vers $0,57 \text{ V/ECS}$. La verticalité de la courbe démontre une cinétique rapide du transfert électronique. Le dégagement de dioxygène n'interfère pas sur cette réaction puisque le dégagement d' O_2 débute lentement à partir de $0,65 \text{ V/ECS}$.

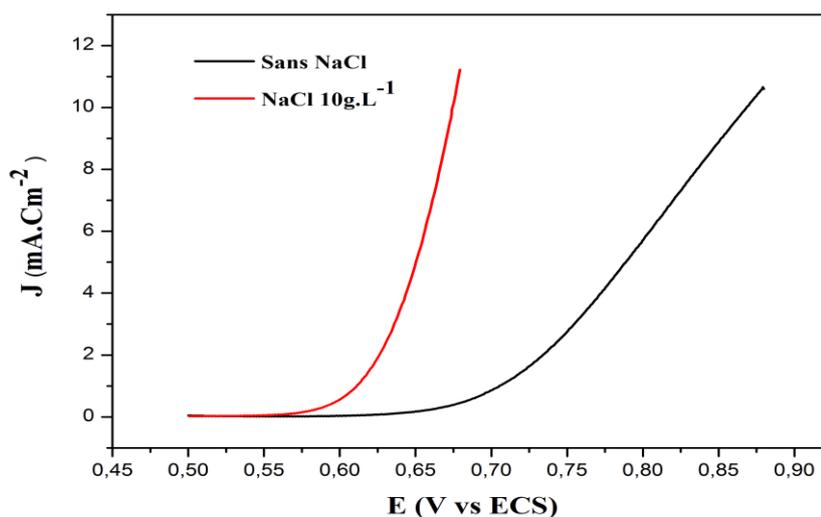


Figure IV.30 : Voltampérogrammes linéaires obtenus sur une électrode de platine en milieu basique ($\text{NaOH } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) en absence et en présence de NaCl à 10 g.L^{-1} . Vitesse de balayage = 20 mV.s^{-1} , $\text{pH} = 13$ et T ambiante.

Par rapport à la figure IV.30, la figure IV.31 montre que sur le platine l'ammoniac s'oxyde dans le domaine d'oxydation de l'eau, et à des potentiels plus élevés (courbe rouge) que les ions chlorure (courbe noire). Au vue de ces deux courbes, l'oxydation de l'ammoniac semble cinétiquement plus lente étant donné une pente plus faible.

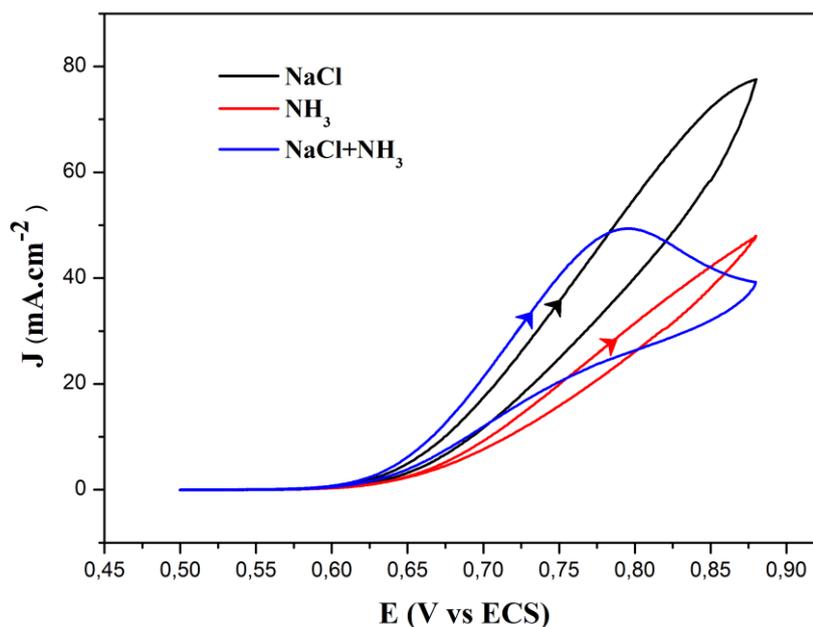


Figure IV.31 : Voltampérogrammes cycliques obtenus pour l'oxydation de NH_3 sur une électrode de platine en milieu basique ($\text{NaOH } 0,1\text{M}$) en absence et en présence de NaCl à 10 g.L^{-1} . Vitesse de balayage = 20 mV.s^{-1} , $\text{pH} = 13$ et T ambiante.

Lorsque la solution se compose d'un mélange d'ions chlorure et d'ammoniac le début de la courbe d'oxydation se comporte de façon similaire à l'oxydation des ions chlorure et ceci jusqu'à une intensité maximale située au potentiel de 0,78 V/ECS. Au-delà de cette valeur, le courant d'oxydation diminue et semble indiquer que la présence d'ammoniac limite le processus. La réaction redox en solution entre l'ammoniac et l'hypochlorite implique une régénération d'ions chlorure ce qui stabilise leur concentration à l'interface électrode-solution. Dans ces conditions, le courant d'oxydation des ions chlorure devrait être plus élevé que la référence (courbe noire). Les résultats expérimentaux montrent que ce n'est pas le cas et ceci est probablement dû à une forte adsorption de l'ammoniac sur le platine qui limite la cinétique globale du système.

II.1. 2. Oxydation de Cl⁻ sur une électrode de carbone vitreux

L'oxydation des ions chlorure (Réaction IV.36) débute sur carbone vitreux vers 0,7 V/ECS (Figure IV.32) à une valeur supérieure à celle obtenue sur une électrode de platine. A partir de 1V/ECS, cette oxydation se fait préférentiellement par rapport au dégagement de O₂ et ceci jusqu'à un potentiel de 1,4 V/ECS.

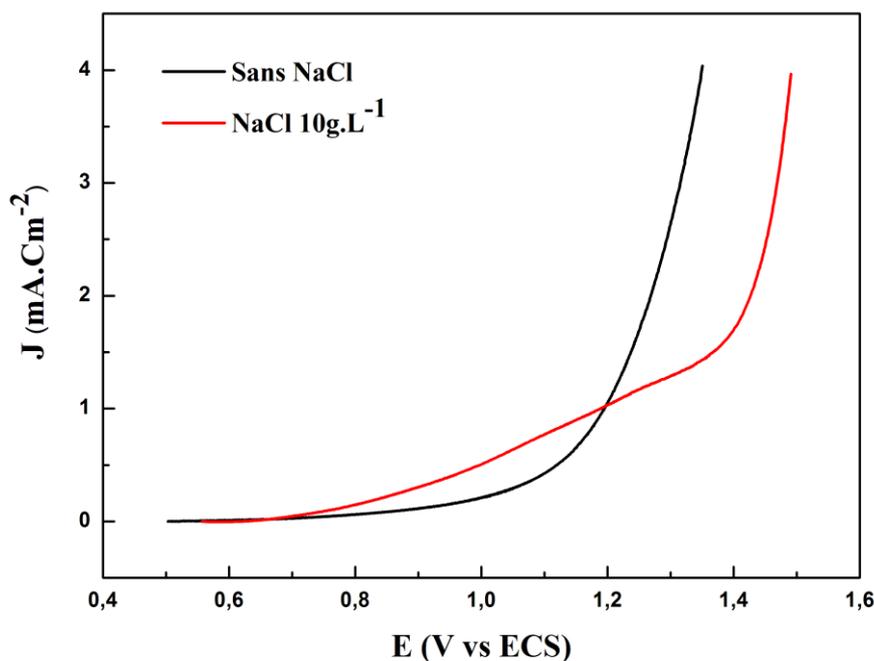


Figure IV.32 : Voltampérogrammes linéaires obtenus sur une électrode de carbone vitreux en absence et en présence de NaCl à 10 g.L⁻¹. Vitesse de balayage = 20 mV.s⁻¹, pH = 13 et T ambiante.

La cinétique électrochimique d'oxydation des ions chlorure ne semble pas rapide et compte tenu du comportement obtenu avec une électrode de platine, il semble peu probable que cette limitation soit due à la diffusion des ions chlorure. Etant donné le recul du dégagement du dioxygène en présence des ions chlorure, il semble probable que les ions Cl^- s'adsorbent fortement à la surface de l'électrode. L'oxydation de l'ammoniac sur carbone vitreux réalisée figure IV.33 est très visible et débute lentement à un potentiel se situant vers 0,9 V/ECS correspondant également au début du dégagement du dioxygène (Figure IV.32). Par conséquent, l'oxydation des ions Cl^- qui débute vers 0,7 V/ECS comme on peut le voir nettement figure IV.32 se fait avant celle de l'ammoniac.

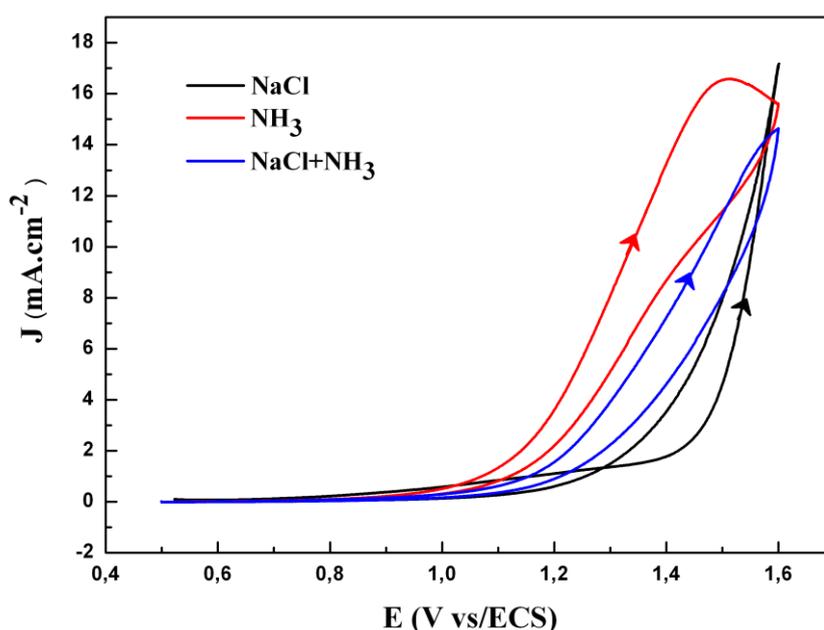


Figure IV.33 : Voltampérogrammes cycliques obtenus pour l'oxydation de NH_3 sur une électrode de carbone vitreux en absence et en présence de NaCl à 10 g.L^{-1} . Vitesse de balayage = 20 mV.s^{-1} , $\text{pH} = 13$ et T ambiante.

En présence des ions chlorure, le signal d'oxydation de l'ammoniac s'effondre fortement et la courbe (Bleu) qui en résulte représente une combinaison entre l'oxydation sur l'électrode des ions chlorure et de l'ammoniac. Mais, l'oxydation de l'ammoniac sur une électrode conduit à la formation d'espèces NO_x qui consomment beaucoup plus d'électrons que l'oxydation vers le diazote. Compte tenu de la forte chute du courant, il paraît probable que le courant d'oxydation soit celui des ions chlorure. La réaction redox entre les ions hypochlorite formés et l'ammoniac régénère les ions chlorure à l'interface électrode/solution selon le schéma (proposé) représenté figure IV.34, ce qui accentue le signal d'oxydation des ions chlorure.

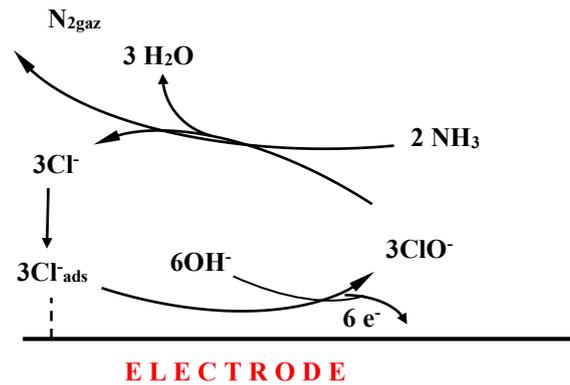


Figure IV.34 : Schéma proposé d'oxydation de l'ammoniac à l'interface électrode/solution.

Cette hypothèse peut être confortée par la forte interaction entre les ions chlorure et l'électrode de carbone déduite de la figure IV.33.

II.2. Electrolyses couplées

Le tableau IV.20 présente le bilan théorique en ammoniac et hypochlorite en sortie de cellule d'électrolyse. Ce calcul est réalisé dans le cas d'une transformation et d'une sélectivité totale de chaque réaction avec comme hypothèse une concentration en NaCl élevée de telle sorte que l'oxydation des ions chlorure ne soit pas un facteur limitant. D'un point de vue stœchiométrique, pour oxyder 2 équivalents en ammoniac il faut 3 équivalents en chlorure (réaction IV.20), ce qui revient à un rapport $[\text{ClO}^-] / [\text{NH}_3] = 1,5$. Or la réduction de 1 équivalent de nitrate à la cathode (8 électrons échangés) génère à l'anode la formation de 4 équivalents ions hypochlorite (2 électrons échangés par Cl^- oxydé).

Tableau IV.20: Bilan théorique en ammoniac et hypochlorites en sortie de cellule.

Gain : électrolyse	Perte : réaction redox	Bilan en solution
1 éq NH_3	1 éq NH_3	ε éq NH_3
4 éq ClO^-	1,5 éq ClO^-	2,5 éq ClO^-

Au bout du compte, dans le cas d'une oxydation quasi complète de l'ammoniac, un excès en hypochlorite de 2,5 équivalents apparaît dans la solution. La quantité « ε » du tableau IV.20 est considérée comme très petite pour l'ammoniac.

L'objectif du dispositif expérimental à mettre en œuvre est :

- Assurer une sélectivité proche de 100 % pour la transformation des ions nitrate en diazote.
- Assurer une transformation complète des ions chlorure en hypochlorite.
- Ne pas former d'excès d'ions hypochlorite.

Les électrolyse sont effectuées avec 1 L d'une solution basique (pH = 13) et contiennent 3 grammes de nitrate ce qui correspond à une concentration molaire de 0,048 mol.L⁻¹. Deux solutions seront testées dont les compositions sont identifiées dans le tableau IV.21.

Tableau IV.21 : Concentration des solutions en nitrates et hypochlorites.

Réaction redox	[NO ₃ ⁻] (mol.L ⁻¹)	[ClO ⁻] (mol.L ⁻¹)	[ClO ⁻] / [NO ₃ ⁻] (1,5 théorique)
Solution 1	0,048	0,085	1,7
Solution 2	0,048	0,17	3,5

La quantité en hypochlorites est légèrement supérieure à la stœchiométrie requise pour la solution 1 et est le double dans le cas de la solution 2.

II.2.1. Cellule à percolation à deux contre électrode en platine : conception n°1

Les premiers tests d'électrolyse sont effectués avec la cellule à percolation dans sa conception classique telle qu'elle est représentée figure IV.35. Deux grilles de platine sont placées de chaque côté de l'électrode poreuse métallisée au cuivre. L'intensité du courant de réduction i_t se dissocie en deux intensités de courant i_1 et i_2 qui circulent respectivement dans les deux contre électrodes et dans la solution en direction de chaque face de l'électrode de travail. Les valeurs des intensités correspondent à $i_1 = i_2 = i_t/2$. Ce système permet une meilleure homogénéisation du potentiel à l'intérieur du feutre et entraîne la formation d'hypochlorite sur chaque contre électrode.

L'objectif des expériences est d'étudier l'influence de la concentration en chlorures et l'influence de l'intensité du courant appliqué. Les résultats sont regroupés dans le tableau IV.22. Quelle que soit la concentration en chlorure, les sélectivités obtenues pour la transformation des ions nitrate en diazote se situent vers 65%. Mais le taux de transformation des ions nitrate (% τ) semble plus sensible aux conditions expérimentales étudiées puisqu'il varie entre 60 et 70% et reste inférieur à la valeur obtenue au chapitre III qui est de l'ordre de 80% en milieu alcalin.

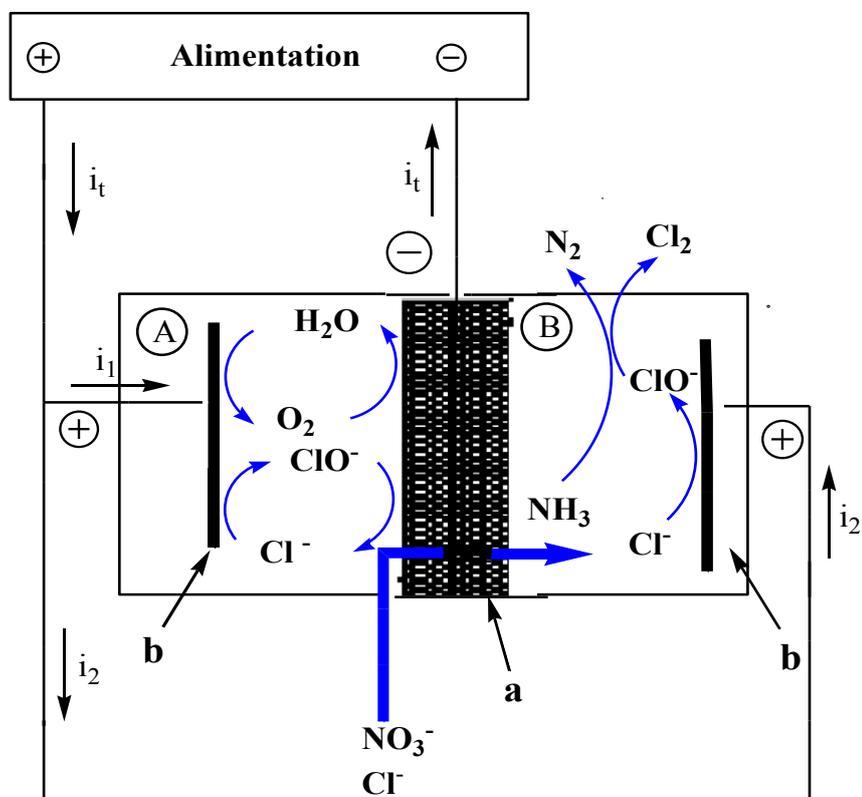


Figure IV.35 : Conception n°1 du montage de la cellule à percolation.

a : Electrode de platine

b : Feutre de graphite métallisé au cuivre

Ce phénomène est probablement dû à la réduction des ions hypochlorite (Réaction IV.42) au contact du feutre de cuivre qui rentre en compétition avec la réduction des ions nitrates (Réaction III.28). Mais il est également nécessaire de prendre en compte la réaction de réduction du dioxygène préalablement formé à l'anode (Réaction III.31 du chapitre III). La réduction des ions nitrates est en compétition avec deux autres réactions.



Une augmentation de la concentration en chlorure de sodium à 10 g.L⁻¹ augmente la formation d'hypochlorite et au bout du compte affecte légèrement le taux de transformation des ions nitrates. Contre toute attente, celui-ci augmente, mais de façon modérée. Sur électrode de platine (anode), les ions chlorure s'oxydent avant l'eau et dans ce cas diminuent la quantité de dioxygène formé susceptible de venir se réduire à la cathode. Il semble que la diminution en dioxygène formé couplée à l'augmentation de la formation d'hypochlorite influence dans le bon sens le taux de transformation des ions nitrate. Mais un excès d'ions hypochlorite entraîne une augmentation de la concentration des nitrites en solution (tableau IV.21), ce qui affecte une amélioration conséquente de la sélectivité vers la transformation en diazote.

Tableau IV.22 : Effet de l'intensité du courant appliqué et de la concentration initiale en NaCl sur l'efficacité d'électrolyses couplées des nitrates : [NO₃⁻] = 3 g.L⁻¹; débit = 2 mL.min⁻¹.

<i>R_i</i>	[NaCl]	%τ	%NH ₃ *	%S _{N2}	% X _{NO₂⁻}	% CE
1	5 g.L ⁻¹	61 ± 0,1	22,8 ± 2,5	64 ± 3,3	0,5 ± 0,04	39 ± 2,6
1,5	5 g.L ⁻¹	70,5 ± 4,5	20,8 ± 2,8	65,6 ± 4,0	4,2 ± 1,8	30,8 ± 0,5
1	10 g.L ⁻¹	67 ± 0,04	19,7 ± 0,9	65,6 ± 2,2	3,3 ± 0,08	43,9 ± 0,06

%NH₃* = Pourcentage d'ammonium restant en solution après électrolyse.

Pour une concentration en chlorure de sodium égale à 5 g.L⁻¹ une augmentation de *R_i* entraîne une augmentation du taux de transformation ce qui était prévisible. Mais cette augmentation se fait au détriment du rendement faradique puisque un courant appliqué correspondant à 1,5 fois le courant théorique consomme au minimum 33% de l'énergie fournit pour réduire l'eau en dihydrogène. Dans ce cas le rendement faradique (% CE) se calcul de la façon suivante :

$$\% \text{ CE} = (\% \tau \times \% S_{N2} / 100) / R_i \quad \text{(Eq.IV.9)}$$

En conclusion, pour cette configuration à deux contre électrodes de platine, ce sont les conditions en excès de chlorure couplées à une intensité du courant appliqué égale à la valeur théorique qui fournissent le rendement faradique le plus élevé (43,9 %) pour un taux de transformation des nitrates de 67% et une sélectivité de 65,6%. Dans cette configuration, le procédé n'est pas complet et notamment environ 20% d'ammoniac ne sont pas transformés pour une quantité d'hypochlorite formé en excès.

II.2.2. Cellule à percolation à une contre électrode en platine : conception n°2

Dans la configuration précédente à deux électrodes de platine, une partie de l'hypochlorite formé en aval de la cathode semble être un frein pour une transformation performante des nitrates en diazote. Pour améliorer l'efficacité de la cellule électrochimique, le deuxième agencement proposé repose sur l'emploi d'une seule contre électrode située en sortie de cellule. Ainsi, dans un premier temps la réduction des ions nitrate devrait s'effectuer avec un taux de transformation attendu de l'ordre de 80% identique aux résultats obtenus au chapitre III et dans un second temps, les ions chlorure seront oxydés proportionnellement au courant imposé sur l'électrode de platine située dans le compartiment B. La réaction en solution entre l'ammoniac et l'hypochlorite se fait alors en sortie de cellule. Le tableau IV.23 regroupe les résultats obtenus et fait apparaître que quelle que soit la concentration en chlorure de sodium, le taux de transformation des ions nitrate est compris entre 50 et 60 % ce qui est relativement éloigné des 80% attendu.

Tableau IV.23 : Effet de la concentration initiale en NaCl sur l'efficacité d'électrolyses couplées des NO_3^- . $[\text{NO}_3^-] = 3 \text{ g.L}^{-1}$; $R_i = 1$; débit = 2 mL.min^{-1} ; anode : contre électrode de platine.

$[\text{NaCl}]$ g.L^{-1}	% τ	% NH_3^*	% S_{N_2}	% $X_{\text{NO}_2^-}$	%CE
5	$52 \pm 1,1$	$12 \pm 1,9$	$66 \pm 2,0$	$6 \pm 0,2$	$34,5 \pm 0,5$
10	$58 \pm 0,3$	$17 \pm 0,1$	$82,5 \pm 1,3$	$8 \pm 0,0$	$48 \pm 0,6$

% NH_3^* = Pourcentage d'ammonium restant en solution après électrolyse.

Ces résultats montrent la très mauvaise répartition du potentiel lorsqu'une seule contre électrode est utilisée. Le potentiel est correctement appliqué sur la face de la cathode poreuse située en vis-à-vis de la contre électrode, mais en se dirigeant vers la profondeur de l'électrode s'écarte très rapidement de la valeur requise. En conséquence, la réduction des nitrates débute lorsque la solution est sur le point de sortir de la cathode vers le compartiment B.

Dans cette configuration la sélectivité atteint une très bonne de valeur de 82 % pour un excès d'ions chlorure ce qui montre qu'il est impératif de réaliser la réduction des ions nitrate en ammoniac avant l'oxydation des ions chlorure.

En conclusion, la mise en place d'une seule contre électrode située en amont de la cathode améliore la sélectivité de la réaction de transformation des ions nitrate en diazote, mais le taux de transformation des ions nitrate est plus faible par rapport au montage à deux électrodes de platine

II.2.3. Cellule à percolation à une contre électrode en feutre de graphite : conception n°3

L'agencement des contre électrodes dans les conceptions 1 et 2 mettent à jour les freins qui limitent le rendement de transformation des ions nitrate en diazote. Pour améliorer significativement les performances de la cellule électrochimique, il convient de répondre aux points suivants :

- Nécessité d'homogénéiser la distribution du potentiel dans la cathode poreuse.
- Nécessité d'éviter le transport du dioxygène dissous dans la cathode poreuse.
- Nécessité d'oxyder les ions chlorure après la réduction des ions nitrate en ammoniac.
- Nécessité de transformer quantitativement les ions chlorure en ions hypochlorite.

Pour résoudre le premier point, il est obligatoire d'utiliser deux contre électrodes positionnées de chaque côté de la cathode poreuse. Dans ce cas, le courant de réduction (i_1) sera égal à la somme des deux courants d'oxydation i_1 et i_2 . Par la suite, le second point peut être facilement résolu en introduisant une membrane semi-perméable entre la contre électrode en platine et l'électrode poreuse délimitant ainsi les compartiments d'entrées A et C, figure IV.36.

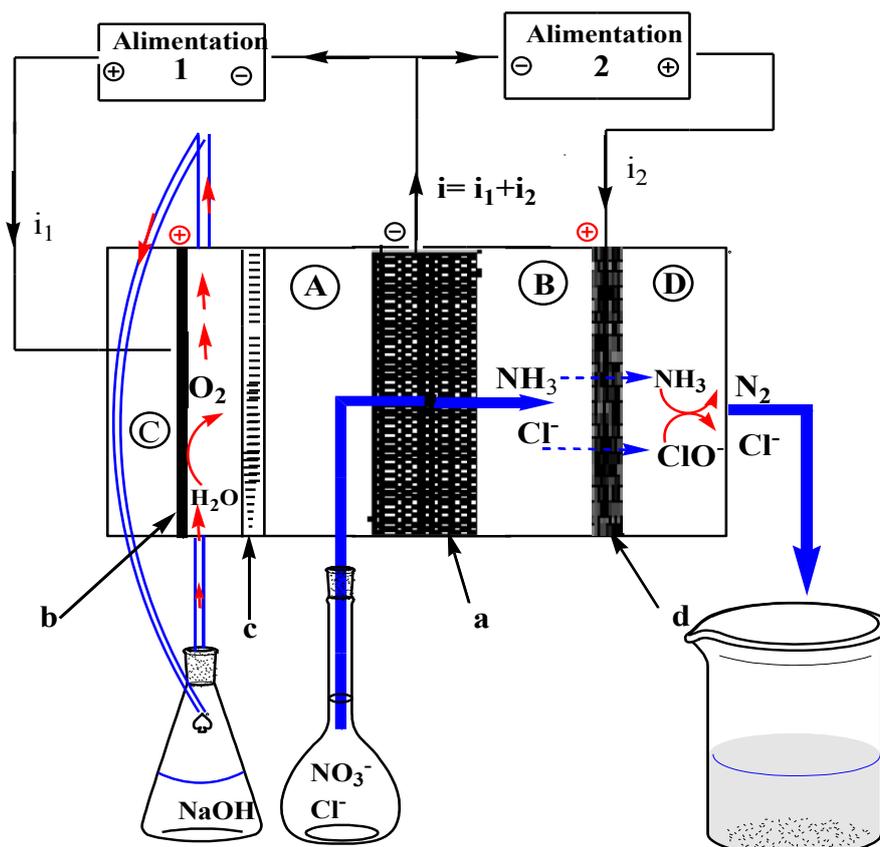


Figure IV.36 : Schéma de la cellule à percolation avec membrane utilisée dans le procédé d'électrolyses couplées des ions nitrate. a, cathode poreuse de Cu; b, Anode de Pt ; c, membrane cationique ; d, anode poreuse de feutre de graphite.

La figure IV.37 détaille le montage expérimental avec la cellule à percolation utilisé au laboratoire (conception n°3)

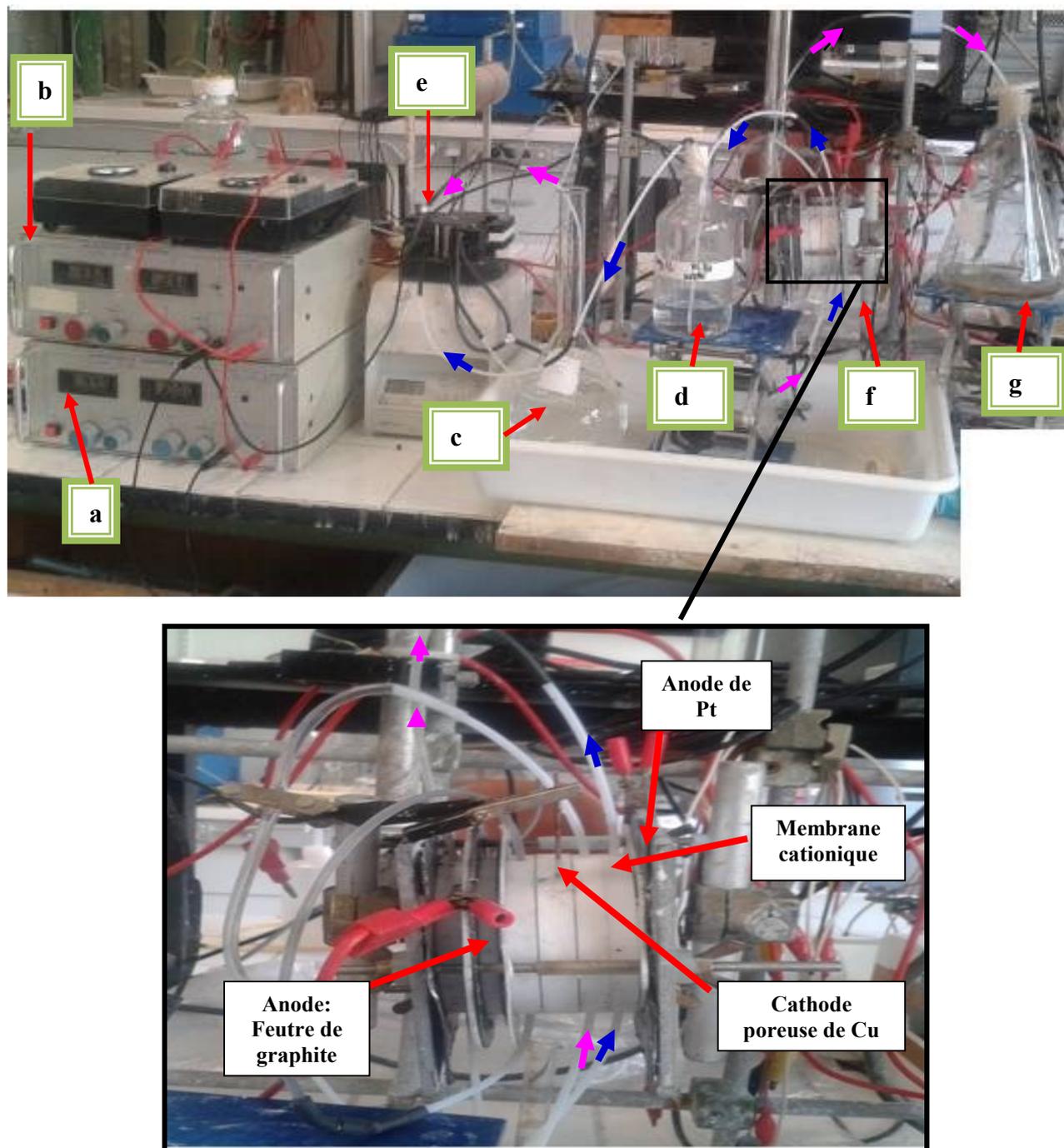


Figure IV.37 : Montage expérimental utilisé pour l'électrolyse couplée des ions nitrate (cellule avec membrane).

- a : 1^{ère} alimentation en courant
 - b : 2^{ème} alimentation en courant
 - c : Solution à électrolyser : $[\text{NO}_3^-] = 3\text{g.L}^{-1}$; $[\text{NaOH}] = 0,1\text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{NaCl}] = \text{en test}$
 - d : Electrolyte support : $\text{NaOH} = 0,1\text{mol.L}^{-1}$; $[\text{saccharose}] = 0,2\text{ mol.L}^{-1}$)
 - e : Pompe péristaltique
 - f : Cellule à percolation avec membrane
 - g : Solution traitée (sortie de la cellule).
- Flèches de couleur rose : circulation de la solution d'électrolyse
 Flèches de couleur bleu : circulation de l'électrolyte support

Pour résoudre l'oxydation quantitative des ions chlorure et rester dans un cadre stœchiométrique trois modifications majeures sont réalisées :

II.2.3.1. Nature de l'anode

La nature de l'anode utilisée pour l'oxydation des ions chlorure est un feutre de graphite d'épaisseur 3 mm. Cette conception délimite les compartiments B et D. L'électrode en feutre de graphite est directement branchée à une alimentation et constituera le pôle positif. L'oxydation des ions chlorure s'effectue pendant la percolation de la solution à travers l'électrode de graphite et la solution d'électrolyse est réceptionnée en sortie du compartiment D. Ce système peut garantir une transformation quasi quantitative des ions chlorure en ions hypochlorite. Mais, si l'ammoniac s'oxyde sur l'électrode de graphite alors la sélectivité vers l'azote gazeux ne sera pas améliorée et ceci au détriment de la formation d'espèce NO_x .

II.2.3.2. Circuit d'électrolyse

La membrane impose la mise en place de deux circuits d'électrolyse.

- Circuit de contre électrode : ce circuit situé en entrée de cellule (compartiment C) assure la conductivité électrique et ionique entre l'électrode de platine et la cathode poreuse. La solution utilisée est de la soude $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ qui s'oxyde à l'anode pour former du dioxygène. La solution circule en continu afin d'évacuer efficacement le dioxygène. Un dégagement trop important de dioxygène peut conduire à son accumulation progressive dans le compartiment C et nuire au bon fonctionnement de la cellule. Pour résoudre ce problème, il suffit d'introduire dans la solution un polyalcool tel que le saccharose ou bien le glucose qui s'oxydera préférentiellement sur le platine sans dégagement gazeux.
- Circuit d'électrolyse des nitrates : c'est le circuit d'électrolyse classique contenant les ions nitrates à réduire et les ions chlorure à oxyder après que la solution ait traversé la cathode poreuse. Dans cette configuration, le dioxygène présent est dû à sa solubilité naturelle dans l'eau.

II.2.3.3. Contrôle de la quantité d'ions chlorure oxydés

La quantité en ions chlorure oxydés est proportionnelle à l'intensité du courant appliqué à l'électrode. D'un point de vue stœchiométrique la réduction de un équivalent en nitrate conduit à l'oxydation de 4 équivalents en chlorure. Or en solution, 1,5 équivalents en hypochlorite sont nécessaires pour oxyder un équivalent en ammoniac (Tableau IV.20). Pour éviter un excès en ions hypochlorites, il suffit d'appliquer à l'anode en feutre de graphite une intensité du courant correspondant à la quantité stœchiométrique voulue. Pour une concentration en nitrate de 3 g.L^{-1} , l'intensité théorique doit être de 1,24 A. En conséquence, l'intensité requise (i_2) pour oxyder 1,5 équivalents en chlorure doit être de $1,24 \times (1,5 / 4) = 0,465 \text{ A}$. Mais, sachant que la transformation maximale en nitrate est de l'ordre de 80%, une diminution de l'intensité du courant appliqué de l'ordre de 10% est effectuée de façon à minimiser l'excès d'hypochlorite. Finalement, les conditions moyennes choisies sont :

- $i_2 = 0,4 \text{ A}$. Ce courant est imposé entre la cathode poreuse de cuivre et l'anode de feutre de graphite. Il sera utilisé pour oxyder les ions Cl^- en ClO^- de façon à oxyder en solution la totalité de l'ammoniac produit sans avoir un excès de ClO^- . Ce courant permettra de polariser la face de la cathode poreuse en sortie de la solution d'électrolyse.
- $i_1 = 0,84 \text{ A}$. Ce Courant est imposé entre la cathode poreuse de cuivre et l'anode en platine. Il sera utilisé pour l'électrolyse de l'eau et permettra de polariser la face de l'électrode poreuse en entrée de la solution d'électrolyse.

La somme des deux intensités de courant $i_1 + i_2 = 1,24 \text{ A}$. Pour imposer ces courants, deux alimentations sont utilisées reliées ensemble à la borne négative. La borne positive de l'alimentation 1 est reliée à l'électrode de platine ($i_1 = 0,84 \text{ A}$) et la borne positive de l'alimentation 2 est reliée au feutre de graphite ($i_2 = 0,4 \text{ A}$).

L'électrolyse des nitrates est réalisée dans une solution basique de pH égal à 13. Le tableau IV.24 illustre les résultats des électrolyses couplées obtenus pour une intensité du courant appliquée correspondant à la valeur théorique ($R_i = 1$). La concentration en chlorure de sodium est choisie à 10 g.L^{-1} de façon à se positionner dans un milieu riche en ions chlorure.

Tableau IV.24 : Effet du pH sur l'efficacité du procédé d'électrolyses couplées des ions nitrate (cellule à percolation avec membrane). $[\text{NO}_3^-] = 3 \text{ g.L}^{-1}$; $R_i = 1$; débit = 2 mL.min^{-1} ; $[\text{NaCl}] = 10 \text{ g.L}^{-1}$; cathode : électrode poreuse de cuivre, anodes : électrode de platine et électrode de feutre graphite.

Conditions		Résultats d'électrolyse				
Milieu	Courant Imposé	% τ	% NH_3	% S_{N_2}	% $\text{X}_{\text{NO}_2^-}$	%CE
Alcalin (NaOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$)	$i_1 = 0,84 \text{ A}$ $i_2 = 0,4 \text{ A}$	$76 \pm 2,3$	$1,5 \pm 0,02$	$91,5 \pm 1,6$	$5,5 \pm 0,5$	$70 \pm 1,4$

Les électrolyses couplées des ions nitrate conduisent principalement à la formation d'azote gazeux. Comme attendu, le taux de transformation chimique des ions nitrate est de l'ordre de 80% et la sélectivité vers la formation de N_2 enregistrée est très élevée puisqu'elle atteint pratiquement 92 %. Le dosage des espèces réduites après un passage unique de la solution à travers la cellule à percolation met en évidence une faible proportion en ammoniac (1,5%) et en nitrites (5,5 %). Dans ces conditions, le rendement faradique calculé est de 70%.

Le dosage des ions hypochlorite et des ions chlorure par chromatographie ionique met en évidence l'absence d'ions hypochlorite et une concentration en ions chlorure identique à celle initialement préparée. Compte tenu de ces résultats, la réaction en solution d'oxydo-réduction entre l'ammoniac et l'hypochlorite s'est réalisé de façon stœchiométrique et continuellement au cours du passage de la solution à travers l'électrode. La structure fibrillaire du feutre crée un phénomène interne de turbulence qui doit aider à la transformation complète de cette réaction. De ces résultats, il est intéressant de noter que l'oxydation de l'ammoniac directement sur le feutre de graphite est peu conséquente compte tenu de la quantité limitée de NO_x formés et détectés uniquement sous la forme NO_2^- avec un taux de formation égal à 5,5 %.

II.3. Consommation électrique

La conception n° 3 est la plus performante pour la transformation des ions nitrates en diazote. Il est intéressant d'estimer la consommation électrique nécessaire pour transformer un kilogramme de nitrate et comparer ce résultat avec les données existantes dans la littérature.

II.3.1. Calcul du travail électrique

L'intensité appliquée pour réduire les ions nitrate avec une concentration de 3 g.L^{-1} est $1,24 \text{ A}$.

Les différences de potentiels (d.d.p.) mesurées aux bornes des électrodes une fois le système stabilisé sont :

- d.d.p. entre l'électrode de platine et la cathode de cuivre = 8 V
- d.d.p. entre la cathode de cuivre et le feutre de graphite = 4 V

Au bilan, la d.d.p. totale est égale à 12 V .

La d.d.p. entre l'électrode de platine et la cathode poreuse (8 V) est la plus élevée à cause de la présence de la membrane semi perméable.

La puissance (P) électrique vaut :

$$P = U \times i = 14,88 \text{ W} \quad (\text{Eq.IV.10})$$

Le travail électrique (W_{el}) :

$$W_{el} = P \times t \quad (\text{Eq.IV.11})$$

Ceci revient à dire que le travail électrique développé pendant une seconde est : $W_{el} = 14,88 \text{ J}$.

Par conséquent pour une heure de travail : $W_{el} = 14,88 \times 3600 \text{ J}$ ou encore $W_{el} = 14,88 \text{ W.h}$

Enfin le travail électrique peut être calculé pour 1 kg de nitrate :

$$W_{el} = 14,88 \times (1000/3) = 4960 \text{ W.h} / (\text{kg de NO}_3^-) \text{ ou encore : } W_{el} = 4,9 \text{ kW.h} / (\text{kg de NO}_3^-)$$

II.3.2. Comparaison aux autres procédés

Comme le montre le tableau IV.25, le procédé par percolation développé dans ce travail est le plus performant à la fois pour la consommation électrique et pour le rendement faradique en comparaison d'autres procédés décrits dans la littérature.

Tableau IV.25 : comparaison des consommations électriques de divers procédés développés dans la littérature.

Année	Etude	[NO ₃ ⁻] initial (mg.L ⁻¹)	Consommation d'électricité Optimale	Rendement faradique pour la formation de N ₂	Références
2005	Continu	168 - 559	48,3 kW/m ³	53,7%	[204]
2005	Continu	998,2	40,1 kW.h/(kg NO ₃ ⁻)	24,5%	[152]
2010	Continu	6200	14,7 kW.h/(kg NO ₃ ⁻)	Non indiqué	[13]
2013	Batch (analytique)	620	20 kW.h/(kg NO ₃ ⁻)	42%	[189]
2014	Continu	3000	5 kW.h/(kg NO ₃ ⁻)	70%	Cette étude

D'un point de vue économique, en considérant un prix moyen pour la consommation d'électricité de 0,0771 € le kW.h (source E.D.F.), le prix du traitement de 1 kg de nitrate avec un abattement de 80% correspond à 0,378 €. A partir de cette donnée, il est facile d'extrapoler à des traitements d'effluents de grand volume. C'est le cas d'une station de traitement des eaux qui filtre par exemple 1000 m³ d'effluent contenant 50 mg.L⁻¹ de nitrates, ce qui revient à une masse totale en nitrate de 50 kg. Après un passage sur une résine échangeuse d'ions, ces 50 kg de nitrate confinés dans un volume de 20 m³ sont traités par un procédé à percolation au coût minimal de 18,9 €.

IV. CONCLUSION

Ce chapitre décrit les résultats obtenus pour l'élimination des nitrates sous forme d'azote gazeux. Le procédé d'électrolyse développé est une combinaison entre deux réactions électrochimiques se déroulant simultanément à la cathode et à l'anode et une réaction d'oxydoréduction en solution. Différents modèles de cellule à percolation ont été étudiés, se caractérisant par la nature de l'anode, l'agencement des électrodes entre elles et l'emploi d'une membrane semi perméable.

Les résultats les plus performants sont obtenus avec une cellule à percolation fonctionnant avec deux circuits d'électrolyse. Le premier circuit circule à l'entrée de la cellule et est bloqué par une membrane semi perméable de façon à ne pas se mélanger avec le circuit d'électrolyse des nitrates. De chaque côté de la membrane se trouve une anode de platine (pôle positive) et une cathode poreuse en cuivre. Le deuxième circuit contient la solution de nitrate et traverse successivement l'électrode poreuse de

cuivre (pôle négatif) et un feutre de graphite (pôle positif). La solution est récupérée après être sortie de l'anode poreuse.

Avec ce modèle de réacteur électrochimique, le taux de transformation des nitrates est optimisé à 80% avec une sélectivité en diazote de 91,5%. Ces bons résultats entraînent un excellent rendement faradique égal à 70%, ce qui engendre une consommation énergétique raisonnable de l'ordre de 5 kW.h/kg NO_3^- . Ces résultats permettent d'entrevoir une application à plus grande échelle pour le traitement des effluents industriels concentrés en nitrates.

En conclusion, l'objectif de développer un procédé électrochimique de destruction des ions nitrate offrant le meilleur contrôle possible de la sélectivité en azote gazeux et de la quantité en ions hypochlorite produite a été atteint.

***Chapitre V : Production de biohydrogène à
partir d'une solution d'ammonium
résultant de l'électroréduction des ions
nitrate***

INTRODUCTION

Le début de ce siècle fait face à plusieurs défis environnementaux dont trois sont majeurs : la pollution des eaux par des composés organiques et inorganiques le réchauffement planétaire et la maîtrise de nouvelles sources d'énergie en substitution des combustibles fossiles. Ces deux derniers sont intimement liés car la majeure partie du dioxyde de carbone (CO_2), considéré comme le principal responsable de l'effet de serre résulte de l'utilisation de combustibles fossiles. Ainsi, les nouvelles sources d'énergie devront avoir comme caractéristique principale un bilan presque nul en CO_2 . Parmi ces sources d'énergie à venir, le dihydrogène est considéré comme un vecteur énergétique prometteur et devrait prendre une place importante dans le paysage énergétique futur. Mais le dihydrogène n'est pas une molécule naturelle, d'où l'intérêt d'étudier différentes formes de production en tenant compte de l'aspect économique et environnemental. Une voie relativement récente et innovante repose sur la production directe de dihydrogène par fermentation de composés organiques par des bactéries anaérobies (fermentation obscure). Cette voie est actuellement considérée comme prometteuse pour la production de biohydrogène.

La production biologique de dihydrogène demande des nutriments pour l'activité bactérienne comme tous les autres procédés biologiques de traitement. Parmi les différents nutriments, le substrat azoté est l'un des facteurs clés de toute croissance microbienne. Pour ce qui concerne les bactéries productrices de H_2 , la majorité des études récentes se focalise sur l'utilisation d'ammonium comme source d'azote, dont le coût est inférieur aux sources d'azote organiques comme les peptides et les extraits de levures [129,205–207]. Certains auteurs [129,208] ont démontré que les boues activées traitées thermiquement peuvent produire du dihydrogène en utilisant des solutions concentrées en ammonium (allant de 0,66 à 14 g.L^{-1}). De même il a été prouvé que les eaux usées provenant des activités agricoles (utilisation d'engrais et élevages porcins) contenant des concentrations élevées en ammonium ($> 2 \text{ g.L}^{-1}$) étaient une source potentielle pour la production biologique de dihydrogène [209].

En résumé, les concentrations en ammonium nécessaire à la production de biohydrogène sont similaires à celles obtenues après le traitement électrochimique par percolation de solutions concentrées en nitrates (chapitre III). L'intérêt de cette étude est que la destruction des ions nitrate pourrait-être réalisée en deux étapes avec au final la production de biohydrogène (H_2) et de diazote (N_2). En effet, dans la voie biologique conduisant à la formation de dihydrogène, la solution

ammoniacale générée électrochimiquement est utilisée comme source nutritive par des boues activées traitées thermiquement terminant ainsi le cycle de l'azote sous forme gazeuse (N₂).

Ce chapitre est constitué de trois parties principales. La première consiste en une étude bibliographique dans laquelle sont exposés les divers modes de production du dihydrogène. Le métabolisme et les principaux facteurs d'optimisation concernant les bactéries anaérobies productrices de dihydrogène y sont particulièrement discutés. La deuxième partie porte sur la production de biohydrogène par fermentation obscure *via* des boues collectées dans un bassin d'aération d'une station d'épuration d'eaux usées urbaines. Dans la troisième partie la production de biohydrogène par fermentation obscure *via* des boues issues d'un digesteur anaérobie sera étudiée. Dans ces deux dernières parties, une étude des paramètres optimaux et une interprétation des résultats pour la production de H₂ par les deux types de boues y sont présentées. Une conclusion est donnée en fin de ce chapitre.

I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Contexte énergétique

De profondes mutations, aussi bien sur le plan technologique et économique que sociétal, s'annoncent dans le domaine des sources d'énergie pour ce siècle. La dépendance par rapport aux combustibles fossiles, la pollution qu'ils génèrent et la diminution progressive de leurs ressources amènent les économies mondiales à repenser leur politique énergétique en matière de ressources, de consommation et de vecteur énergétiques. Parmi les différentes molécules énergétiques le dihydrogène semble être le candidat le plus adéquat pour être le futur vecteur d'énergie pour les raisons suivantes :

- Sa densité énergétique est élevée : 33 kW.h/kg contre 12 kW.h/kg pour les carburants liquides essences ou diesels et 14 kW.h/kg dans le cas du méthane
- sa combustion produit uniquement de l'eau : $\text{H}_2 + \frac{1}{2} \text{O}_2 \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$ (V.43)
- Son rendement dans les piles à combustibles (30-45%) est plus élevé que les moteurs à essence (25-30%) et son pouvoir calorifique y est également supérieur [210].

Actuellement, si le dihydrogène n'est quasiment pas utilisé dans le domaine de l'énergie en revanche c'est l'une des matières de base de l'industrie chimique (production d'ammoniaque, de méthanol et d'autres produits chimiques) et pétrochimique [211]. Pour couvrir ces besoins, 50 millions de tonnes de H_2 sont déjà produits chaque année. Mais si ces 50 millions de tonnes devaient servir à la production d'énergie, ils ne représenteraient que 1,5 % de la demande mondiale [212]. L'utilisation du dihydrogène comme vecteur énergétique suppose donc une augmentation radicale de sa production mais celle-ci doit être écologiquement et économiquement viable ; elle doit donc répondre aux trois critères principaux suivants :

- **Respectueuse de l'environnement** : le processus de fabrication doit être non polluant, sous peine d'annuler l'un des principaux atouts du dihydrogène.
- **Le rendement énergétique** : la production ne doit pas nécessiter trop d'énergie.
- **La compétitivité** : les coûts de production ne doivent pas être trop élevés.

I.2. Différentes voies de production du dihydrogène

Alors que le dihydrogène est l'élément le plus répandu dans l'univers et qu'il est présent dans les trois quarts des molécules rencontrées sur la terre, on le trouve à peine à quelques dixièmes de pourcents sous forme moléculaire à l'état naturel [213]. Aujourd'hui, plus de 95% de la production industrielle du dihydrogène est effectuée aux dépens des sources d'énergie fossile par des procédés thermochimiques (Tableau V.26) particulièrement énergivores : reformage du méthane à la vapeur (48% de la production mondiale); reformage ou oxydation partielle d'autres hydrocarbures (30%) et gazéification du charbon (18%). Au cours de ces réactions les molécules d'hydrocarbure sont soumises à des pressions élevées et à des températures supérieures à 850°C pour les casser et en libérer le dihydrogène. Mais, outre la consommation énergétique élevée, ce processus a l'inconvénient de rejeter du dioxyde de carbone (CO₂), principal gaz responsable de l'effet de serre dans l'atmosphère [211,212].

Tableau V.26 : Principaux procédés chimiques et biologiques de production du dihydrogène [214].

Procédé (nature de l'apport énergétique)	Equation de transformation chimique du procédé complet
Procédés thermochimiques (calories)	
Reformage du méthane	$\text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + 4\text{H}_2$
Oxydation partielle d'hydrocarbures	$\text{C}_{10}\text{H}_{14} + 3 \text{H}_2\text{O} + 4\text{O}_2 \rightarrow 9 \text{CO} + \text{CO}_2 + 10\text{H}_2$
Gazéification du charbon	$3\text{C} + 4 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightarrow 3\text{CO}_2 + 4\text{H}_2$
Gazéification de la biomasse	$\text{C}_6\text{H}_9\text{O}_4 + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 6\text{CO} + 13/2 \text{H}_2$
Procédé électrochimique (électricité)	
Electrolyse de l'eau	$2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{H}_2 + \text{O}_2$
Procédés biologiques phototrophes (énergie lumineuse)	
Biophotolyse directe	$2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{H}_2 + \text{O}_2$
Biophotolyse indirecte	$\left\{ \begin{array}{l} 6\text{H}_2\text{O} + 6\text{CO}_2 \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 \\ \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 6\text{CO}_2 + 12\text{H}_2 \end{array} \right.$
Décomposition photosynthétique	$\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2$
Procédés biologiques chimiotrophes (substrat organique)	
Fermentation acétique	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2$
Fermentation butyrique	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH} + 2\text{CO}_2 + 2\text{H}_2$

Récemment, de nombreuses recherches se sont orientées vers l'exploitation biologique ou chimique de sources d'énergies renouvelables telles que la biomasse et l'énergie solaire. Dans ce paysage, l'électrolyse de l'eau et la gazéification de la biomasse sont des candidats importants à court ou moyen terme pour produire du dihydrogène à grande échelle et avec des installations de taille réduite par rapport aux techniques actuelles de production. L'électrolyse, avec un coût électrique représentant 80% des coûts de production de H₂, n'est toutefois rentable que si elle est couplée à une production d'électricité peu coûteuse ou excédentaire par système hydraulique ou photovoltaïque par exemple [215]. Actuellement, la production de H₂ par électrolyse coûte 3 à 4 fois plus cher que la production

par reformage du gaz naturel. La gazéification (Tableau V.26) n'est a priori rentable que pour de la biomasse peu humide (plus de 25% de matière sèche) sachant que l'évaporation de H₂O associée à la matière première implique du point de vue économique une perte de rendement énergétique.

Les avancées au niveau de la valorisation énergétique de la biomasse laissent entrevoir une place non négligeable pour la production biologique du dihydrogène. Ces procédés sont répartis en deux grandes catégories selon les types de microorganismes utilisées : ceux qui utilisent la lumière (*i.e.*, les photobioprocédés) y compris la photofermentation et la biophotolyse de l'eau par des cyanobactéries et des microalgues vertes (Tableau V.26) et ceux qui mettent en œuvre une fermentation obscure (Dark fermentation) [216]. Parmi ces voies biologiques de production de H₂, le procédé de fermentation obscure qui met en jeu un consortium bactérien anaérobie sans apport de lumière et d'oxygène offre d'importantes perspectives. Ce processus utilise des déchets organiques tels que les sous-produits d'origine agricole ou eaux résiduaires des industries agro-alimentaire dont la dégradation non contrôlée est par exemple responsable de 10% des gaz à effets de serre au Canada [217]. Selon plusieurs auteurs [215,218–220] il s'agit d'une voie prometteuse et incontournable pour produire du biohydrogène et pour résoudre simultanément de nombreux problèmes environnementaux liés à la production de CO₂. Outre son applicabilité à différents types d'eaux usées et de déchets organiques [221], les besoins énergétiques des procédés anaérobies sont relativement faibles puisqu'ils se déroulent à pression atmosphérique et à des températures comprises entre 20 et 90°C [222]. De plus la vitesse de production élevée et la possibilité de travailler en absence de lumière et donc, aussi bien le jour que la nuit, donnent un avantage considérable aux procédés de fermentation obscure par rapport aux procédés photobiologiques.

I.3 Processus biologiques anaérobies de production de dihydrogène

I.3 .1. Digestion anaérobie

Durant la dernière décennie en Europe, la digestion anaérobie de résidus biodégradables a reçu une attention remarquable de la part de la communauté scientifique [223,224]. Cette attention s'est portée en particulier, sur la dégradation des matières organiques municipales soumises à une réglementation de plus en plus contraignante par l'UE et qui concerne : le stockage et le rejet des déchets biodégradables ; le recyclage des déchets valorisables et l'amélioration de la production d'énergie à partir de sources renouvelables.

La digestion anaérobie n'est autre que l'exploitation par l'homme du processus de fermentation méthanogène de la matière organique. Les micro-organismes métabolisent la matière organique en absence de dioxygène et produisent du biogaz composé essentiellement de méthane (CH_4) et de dioxyde de carbone. Généralement le processus de biodégradation anaérobie de la matière organique complexe s'exprime en quatre étapes successives [225] : l'hydrolyse, l'acidogénèse, l'acétogénèse et la méthanogénèse (Figure V.38).

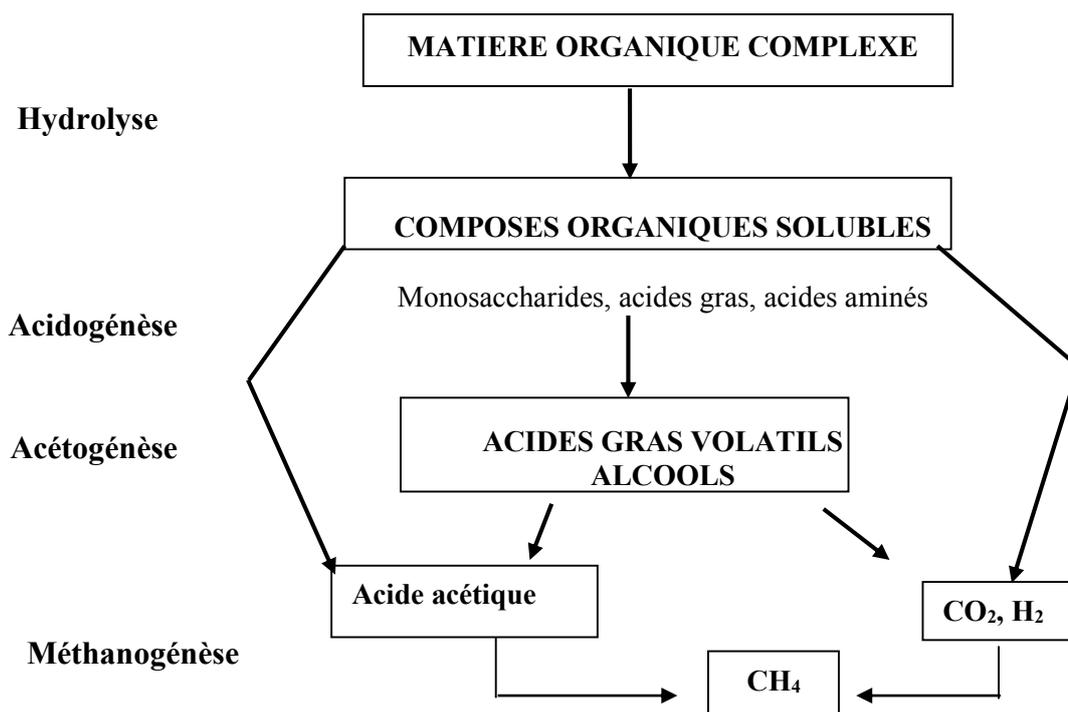


Figure V.38 : Schéma réactionnel général du processus de biodégradation anaérobie de la matière organique complexe [226].

Au bout des deux premières étapes la matière organique est fractionnée en acides, sucres et alcools, lesquels sont ensuite réduits lors de l'acétogénèse en acétate, dihydrogène et dioxyde de carbone. Un groupe hétérogène de deux populations bactériennes sont impliqués dans l'acétogénèse : (1) les bactéries acétogènes productrices de dihydrogène qui produisent du H_2 et de l'acétate à partir des acides qui contiennent au moins trois atomes de carbone dans leur structure; (2) les acétogènes non syntrophes qui produisent majoritairement de l'acétate et peuvent également utiliser le CO_2 comme accepteur final d'électrons [227]. Finalement, l'acétate, le CO_2 et le H_2 sont convertis en méthane par des archaebactéries.

C'est un schéma réactionnel relativement complexe étudié depuis de nombreuses années mais dont la compréhension des premières étapes est encore limitée. Or, ces premières étapes sont essentielles pour la production anaérobie de dihydrogène, car il s'agit de les favoriser tout en limitant les dernières étapes qui consomment le dihydrogène produit.

I.3.2. Biochimie des systèmes enzymatiques producteurs de dihydrogène

La production de dihydrogène par certains micro-organismes anaérobies se fait grâce aux systèmes enzymatiques des hydrogénases comme le montre la figure V.39.

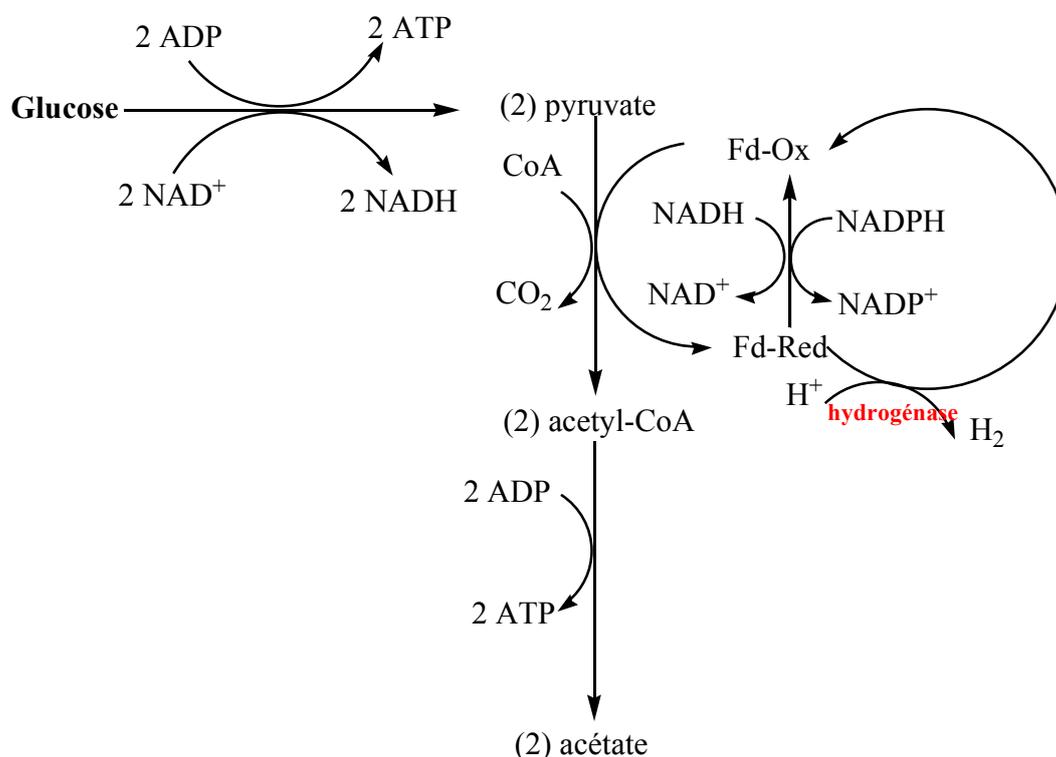


Figure V.39 : Production anaérobie de dihydrogène à partir du glucose [228].

Les hydrogénases sont des enzymes qui peuvent aussi bien produire du dihydrogène ou de manière réversible catalyser son oxydation selon les réactions redox V.44 et V.45.



Fd est une protéine, la ferrédoxine et NAD un coenzyme, la nicotinamide adénine dinucléotide.

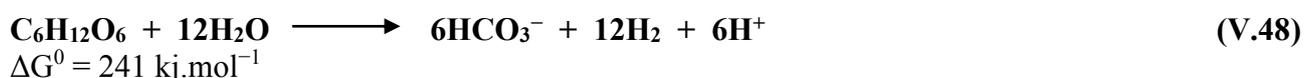
Dans la nature, les hydrogénases sont produites sous conditions microaérobies ou anaérobies par plusieurs bactéries dont des *archaea* qui utilisent le H₂ comme source d'électrons [229]. Les hydrogénases sont classées en trois types selon les centres actifs qui agissent comme coenzymes : les hydrogénases sans métaux, les hydrogénases à Fe, et les hydrogénases à NiFe. Les deux derniers types d'hydrogénases sont souvent liés à la consommation de dihydrogène [230]. La configuration de leurs centres actifs leur permet d'avoir une bonne affinité aux molécules de gaz hydrophobes comme le dihydrogène [229]. Cependant, les hydrogénases présentent l'inconvénient de nécessiter un environnement anaérobie.

I.3.3. Principes généraux de production de biohydrogène par voie anaérobie

La production de dihydrogène par fermentation anaérobie des composés organiques se fait essentiellement durant l'acidogénèse (Figure V.38) par des bactéries anaérobies facultatives ou strictes, appartenant, entre autres, aux genres *Enterobacter*, *Bacillus* et *Clostridium*[231,232]. Les différentes voies métaboliques qui peuvent s'établir pendant la fermentation anaérobie peuvent favoriser ou inhiber la production de H₂, selon les conditions opératoires adoptées, qui régissent la production d'acides gras volatils (AGV) et d'alcool, tels que l'acétate, le propionate, le butyrate, le lactate et l'éthanol [233]. Dans le cas d'une culture mixte, seules les voies acétate et butyrate conduisent à la production de, respectivement, 4 et 2 moles de dihydrogène par mole de glucose dégradé. Cependant, l'éthanol, le lactate et le propionate affectent négativement la production de H₂. Le propionate est un métabolite associé aux voies consommatrices de dihydrogène tandis que l'éthanol (Réaction V.46) et l'acide lactique (Réaction V.47) sont associés aux voies non productrices de H₂ (zero-H₂ pathways) [234], comme indiqué dans les réactions suivantes :



Les réactions ((V.48), (V.49) et (V.50)) représentent quelque réactions de production de dihydrogène par fermentation du glucose[216]. Dans le cas où l'acétate est le produit majeur de la fermentation, du point de vue théorique, au maximum 33% de demande chimique en dioxygène (DCO) peut être convertie du glucose en H₂ et le reste de l'énergie est libérée sous forme d'acétate (réaction V.49).



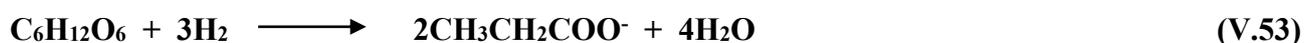
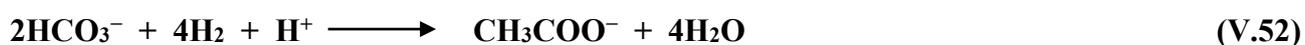


Théoriquement comme le montre la réaction (V.48), 12 moles de H₂/mole de glucose peuvent être produites [235]. Dans les réactions (V.48), (V.49), et (V.50) sont mentionnées également les valeurs respectives de l'énergie libre de Gibbs (ΔG°) obtenues à une température de 25°C. Les ΔG° sont calculés à partir des données fournies par Amend et Shock [236] et indiquent que la production de 12 moles de H₂ par mole de glucose (Réaction (V.48)) est thermodynamiquement défavorable et que le produit final majoritaire attendu doit-être l'acétate. En effet, d'un strict point de vue stœchiométrique, il est possible de produire jusqu'à 12 moles de H₂ (Réaction V.48) alors que c'est presque impossible d'un point de vue thermodynamique. Cette limitation énergétique est connue sous le nom de limite de Thauer [237] et établit que l'oxydation enzymatique du NADH, réalisée par les hydrogénases, associée à la limite supérieure de la production anaérobie de dihydrogène est de 4 moles par mole de glucose. Toutefois, dans la littérature, les rendements de dihydrogène obtenus sont proches de 2 moles par mole de glucose accompagnés d'une production combinée de butyrate et d'acétate [238].

Contrairement aux réactions productrices de H₂, la production de propionate par fermentation anaérobie (V.51) consomme de l'hydrogène comme l'on montré expérimentalement Shinet *al.*[239].



Il existe une autre possibilité de consommation indésirable de dihydrogène (V.52) ou de glucose (V.53) identifiée chez les bactéries homoacetogènes comme *Clostridium aceticum*[240] :



En conclusion les réactions V.47 à V.53 montrent la complexité du schéma réactionnel de production du dihydrogène, due aux voies métaboliques consommatrices de dihydrogène qui peuvent se dérouler en parallèle avec la réaction désirée (V.49) correspondant à la formation d'acétate et de H₂.

I.3.4. Facteurs affectant la fermentation anaérobie des composés organiques

Obtenir une production optimale de H₂ pour rendre le processus économiquement viable et par suite compétitif à la production de dihydrogène via des sources d'énergie fossiles est probablement le principal problème technique à résoudre. A cet égard différents facteurs affectent l'étape

d'acidogénèse et donc la production de dihydrogène. Pour améliorer l'efficacité du procédé il est nécessaire de tenir compte du choix de l'inoculum, du type du prétraitement appliqué à l'inoculum, et d'optimiser la quantité et le type de minéraux ajoutés, la température, la nature du substrat utilisé et le pH du milieu [233].

I.3.4.1. Choix de l'inoculum et du prétraitement de la biomasse

Des inoculums purs ou mixtes ont été utilisés pour la production de dihydrogène. *Clostridium butyricum* a été l'espèce la plus utilisée en culture pure [208,221,241,242] mais d'autres espèces telles que *Enterobacter* ont été également étudiées [243–245]. La majorité des études qui mettent en œuvre des cultures bactériennes pures pour la production de H₂ est réalisée en mode batch avec du glucose comme substrat carboné [246]. L'inconvénient de ce type de cultures est qu'elles doivent être réalisées sous des conditions aseptiques avec stérilisation et autoclavage de toutes les verreries qui seront utilisées, ce qui n'est pas nécessairement le cas des cultures mixtes. De plus, le prix relativement élevé des souches bactériennes pures rend le procédé biologique de production du dihydrogène non économique pour être appliqué à grand échelle.

Les cultures mixtes quant à elles proviennent de plusieurs sources, telles que les boues de stations d'épuration [247,248], les boues des digesteurs mésophiles et de compostage [249]. L'utilisation de cultures mixtes comme inoculum dans les procédés de production de dihydrogène par fermentation obscure semble être plus pratique que celle de cultures pures, puisque les premières sont plus simples à manipuler, plus facile à contrôler et peuvent s'adapter à une gamme plus large de déchets organiques [250]. La dégradation de matière organique dans un environnement anaérobie par une culture mixte implique la coopération de populations de micro-organismes afin de générer une fermentation autorégulée. Le consortium initial contient des microorganismes hydrogénotrophes qui vont consommer le dihydrogène pour la synthèse du méthane (*archées* méthanogènes hydrogénotrophes) ou de l'acide acétique (bactéries homoacétogènes)[130].

Trois méthodes sont généralement utilisées afin de sélectionner les espèces productrices de H₂ à partir de cultures mixtes. Ces méthodes de prétraitement mettent à profit la capacité de sporulation présente chez des espèces comme *Clostridium*. Dans ce contexte, la méthode la plus couramment utilisée est le traitement thermique des boues [130,231,250]. Elle consiste à chauffer les inoculums, typiquement sous une centaine de degrés Celsius et pendant quelques dizaines de minutes. Des chocs de pH,

inférieurs à 4 ou supérieurs à 10, sont la deuxième méthode appliquée afin d'enrichir une culture mixte [247,251]. L'application de temps de séjour hydrauliques courts pour lessiver les bactéries consommatrices de dihydrogène lors du fonctionnement en continu des réacteurs est la dernière méthode de traitement utilisée [251]. Cette méthode repose sur le fait que les bactéries productrices de dihydrogène se développent avec des taux de croissances supérieurs à celui des *archae*.

Certains auteurs utilisent une combinaison de ces différentes méthodes dans le but d'obtenir une bonne sélection des bactéries, par exemple des chocs thermiques associés au choc de pH [251,252]. Cependant d'autres auteurs ont préféré travailler avec de faibles temps de séjour associés à un prétraitement thermique [231,251] ou à un pH bas [253,254].

Il est intéressant de signaler que le traitement thermique non seulement réduit le nombre des bactéries non productrices de H₂, mais aussi favorise la germination des spores de *Clostridium* en modifiant leurs récepteurs de germination [240]. Dans leur études Mu *et al.* [255] ont prouvé que parmi les trois prétraitements, thermique, acide et alcalin, le traitement thermique de cultures mixtes (boues anaérobies issues d'un digesteur) est la méthode la plus efficace pour supprimer les méthanogènes et par suite enrichir les microorganismes producteurs de dihydrogène. Le meilleur rendement en H₂ (2,00 mole H₂/mole de glucose) a été obtenu suite à ce type de prétraitement et celui le plus bas (0,48 mole H₂/mole glucose) a été enregistré avec les boues activées subissant un traitement alcalin. Des résultats similaires ont été obtenus avec des boues anaérobies [256,257].

1.3.4.2. pH du milieu de culture

De nombreuses études ont prouvé la forte corrélation entre le pH du milieu et l'activité des hydrogénases [230,258]. C'est pourquoi ce paramètre a été considéré comme l'un des plus influents sur le processus de production du biohydrogène. En fermentation anaérobie, la principale bactérie productrice de dihydrogène est *Clostridium. sp.* Ces bactéries ont plusieurs voies métaboliques et les réactions hydrogéniques sont dominantes de pH 5,0 à 6,5 tandis que les réactions non-hydrogéniques sont déclenchées en dehors de cette gamme [259].

Dans le cas de la fermentation obscure le pH du milieu est généralement maintenu dans un domaine compris entre 5,5 et 8,0, soit par l'ajustement du pH initial à l'aide d'un tampon ou en utilisant un régulateur automatique de pH. Dans leur review Li et Fang [250] ont répertorié 22 pH optimaux dans la littérature ; ces différents pH étant principalement obtenus lors d'études en réacteurs discontinus et sans régulation du pH. Cependant pour les études comportant une régulation du pH et utilisant comme

substrat un effluent ou un déchet organique, les valeurs optimales sont comprises entre 5,2 et 5,6. En revanche, lorsque le substrat est synthétique la gamme de pH est plus large et est comprise entre 5,2 et 7,0. Le pH du milieu de culture n'affecte pas seulement les rendements de production du dihydrogène, mais peut également modifier son métabolisme de production, avec pour conséquence un impact considérable sur la structure des communautés microbiennes d'une culture mixte [260]. Fang et Liu [261] ont par exemple prouvé que la production d'acétate est favorisée à un pH de 6,5 alors que celle du butyrate est favorisée à un pH inférieur à 6,0. D'autres gammes de pH optimales ont été reportées favorisant d'autres produits comme l'éthanol entre 4,5 et 6,0, le butanol aux alentours de 4,3 [262] et le propionate entre 5,0 et 6,0 [263].

1.3.4.3. Température

Dans les procédés biologiques de production de dihydrogène, la température est un facteur à contrôler puisqu'elle réduit l'énergie d'activation des hydrogénases. Bien que, pour ces enzymes, la température optimale soit de 50 °C [230], des températures mésophiles comprises entre 35 et 37 °C [129,130,248,253,264] ont été utilisées pour la plupart des études qui s'intéressent à la production biologique de dihydrogène. La principale raison de ce choix est liée à une instabilité plus grande des procédés biologiques thermophiles par rapport aux procédés mésophiles. Lin et Chang [265] ont prouvé qu'une température inférieure à 35 °C nécessite des temps de séjour plus longs afin d'avoir un bon rendement de production en dihydrogène. Mu *et al.* [266] ont, quant à eux, étudié le changement du rendement de conversion du substrat en H₂ pour une gamme de températures variant de 33 à 41°C. Ils ont trouvé que l'augmentation de la température augmentait le rendement de conversion en orientant le métabolisme de l'éthanol vers le butyrate. Ils ont également estimé l'énergie d'activation nécessaire pour la production de H₂ à environ 107,66 kJ.mol⁻¹. Finalement, Li et Fang [250] ont montré, au travers d'une étude bibliographique, que les taux et les rendements de production de dihydrogène pour des températures ambiantes étaient plus faibles que ceux enregistrés aux températures thermophiles et mésophiles.

1.3.4.4. Nature et concentration des substrats

Les espèces de type *Clostridium* ont une prédilection pour les sucres et plus particulièrement pour le glucose puisqu'il est facilement assimilable [267,268]. Ainsi, le glucose [130,258,261,264,269] et le saccharose [270–273] sont les substrats synthétiques les plus simples utilisés dans la littérature pour

produire du biohydrogène. Néanmoins les concentrations des sucres ajoutées doivent être suffisamment basses pour réduire au minimum les changements de pH par les acides gras volatiles produits durant la fermentation. Des sucres plus complexes ont été étudiés comme la cellulose [274–276] et ceux contenus dans les effluents d'une distillerie de riz [277,278], les effluents de levureries [279], les déchets de la production du biodiesel [280], les déchets des industries agro-alimentaires [248,281], les mélasses [208,282] et les déchets ménagers [283].

1.3.4.5. Composition du milieu en nutriments et en métaux

De nombreuses références montrent l'importance de la composition du milieu pour les bactéries productrices de dihydrogène [284,285]. Outre le substrat principal, la production de H₂ par fermentation anaérobie requiert des nutriments pour l'activité bactérienne comme tous les autres procédés biologiques de traitement. Les nutriments regroupent l'azote (N), le phosphore (P), le fer (Fe) et d'autres métaux sous forme de traces.

a. Azote

L'azote est un nutriment essentiel pour la croissance bactérienne. C'est un élément majeur pour la formation des protéines, des acides nucléiques et des enzymes. De ce fait, l'ajout d'une quantité adéquate d'azote est avantageux pour la production de dihydrogène par fermentation obscure [205]. L'azote est fourni sous différentes formes ; inorganiques comme l'ion ammonium ou organiques comme les extraits de levure, les peptones et les poly-peptones. Le tableau V.27 résume plusieurs études portant sur l'effet de la concentration en azote sur la production de dihydrogène par fermentation anaérobie.

Comme le montre le tableau V.27, l'azote ammoniacal d'origine commerciale (NH₄⁺) est la source d'azote la plus largement utilisée dans ce type d'études étant donné qu'il est moins onéreux que les sources d'azote organiques [129,205–207]. Cependant, il existe un certain désaccord sur la concentration optimale d'azote à ajouter dans les bioréacteurs. Par exemple, la concentration optimale d'azote ammoniacal rapporté par Bisailon *et al.* [205] est de 0,01 g N.L⁻¹ tandis que celle rapporté par Salerno *et al.* [2] est de 7,0 g N.L⁻¹ ; des différences dans la nature de l'inoculum et dans la gamme des concentrations d'azote ammoniacal étudiée peuvent expliquer ce désaccord. Le tableau V.27, montre également que le glucose est la source de carbone la plus largement utilisée lors de l'étude de l'effet de la concentration en azote sur la production de dihydrogène par fermentation anaérobie et que toutes ces études ont été réalisées en mode batch

Tableau V.27 : Effet de la concentration de l'azote sur la production de dihydrogène par fermentation obscure [246].

Inoculum	Substrats	Type du réacteur	Source d'azote	Concentration en azote (N)		Rendement maximal de H ₂	Référence
				Gamme étudiée	Optimale		
Escherichia coli	Glucose 0,4%	Batch	NH ₄ Cl	0 à 0,2 g.L ⁻¹	0,01 g.L ⁻¹	1,7 mole H ₂ / mole de glucose	[205]
Boues anaérobies traitées thermiquement	Glucose 3,76 g.L ⁻¹	Batch	NH ₄ Cl	0,5 à 10 g.L ⁻¹	7 g.L ⁻¹	0,96 mole H ₂ / mole de glucose	[129]
Compost des herbes	Déchets alimentaires	Batch	NH ₄ HCO ₃	0 à 0,6 g.L ⁻¹	0,4 g.L ⁻¹	3,2 mmole H ₂ / g de MVS*	[286]
Boues anaérobies enrichies à partir de céréales concassées	amidon de maïs 15 g.L ⁻¹	Batch	NH ₄ HCO ₃	0,1 à 2 g.L ⁻¹	1 g.L ⁻¹	0,5 mmole H ₂ / g d'amidon	[207]
Compost	Glucose 1%	Batch	Extrait de levures	Extrait de levures 2 à 8%	4%	2,1 mole H ₂ / mole de glucose	[206]
Enterobacter aérogènes	Glucose 1%	Batch	Poly-peptones	Poly-peptones 0 à 5%	2%	1,0 mole H ₂ / mole de glucose	[287]

*MVS : matières volatiles sèches.

Les concentrations en carbone et en azote sont intimement liées et le rapport C/N a été expérimenté dans un large domaine variant de 6,7 [207] à 47 [288]. Certains auteurs soulignent un changement de métabolisme de la production d'acétate vers celle d'éthanol quand le ratio C/N diminue [86]. Mais ces changements de métabolisme pourraient être liés à la nature du substrat carboné [246].

b. Phosphore

La limitation de la concentration en phosphore affecte les voies métaboliques de *Clostridium* avec comme conséquence une diminution du potentiel de production en dihydrogène. Le phosphore est la principale source pour la formation d'ATP et il a de nombreuses fonctions au niveau des liaisons enzymatiques [289]. Lin et Lay [290] ont également montré que le phosphate tamponne le milieu de manière plus performante que le carbonate, ce qui se traduit par une amélioration de la production de H₂ d'un facteur 1,9. Il existe un certain désaccord sur le rapport C/P optimal demandé pour la production fermentative de dihydrogène. Le ratio C/P optimal pour la production de dihydrogène par fermentation obscure rapporté par Argun *et al.* [291] est de 1000, tandis que celui rapporté par O-Thong *et al.* [292] est de 559. La raison possible de ce désaccord est la différence entre ces études en termes de substrat et de gamme de rapport C/P étudiés.

c. Ions métalliques

Bien que des concentrations élevées en ions métalliques peuvent diminuer le rendement de production de H₂ en inhibant l'activité des bactéries productrices de dihydrogène, la présence de trace d'ions métalliques est nécessaire pour la production de dihydrogène par fermentation obscure.

Parmi les différents ions métalliques, l'effet de la concentration en ions Fe²⁺ sur la production de dihydrogène est le plus étudié puisque c'est l'un des constituants de l'hydrogénase [218]. Dans la littérature, deux concentrations en Fe²⁺ sont jugées optimales à 35 °C. A cette température Lin et Lay [284] en faisant varier la concentration de plusieurs minéraux ont trouvé une concentration optimale en Fe²⁺ de 3 mg.L⁻¹. Cependant à cette même température et en ne modifiant que la concentration en Fe²⁺, Zhang et Shen [285] ont observé que la concentration optimale d'ions Fe²⁺ est de 48 mg.L⁻¹. Mais la différence entre ces deux études peut s'expliquer par la gamme de concentrations en Fe²⁺ considérée. Lin et Lay [284] ont utilisé des concentrations comprises entre 0 et 5 mg.L⁻¹ tandis que Zhang *et al.* [293] ont travaillé à des concentrations comprises entre 0 et 1200 mg.L⁻¹ en Fe²⁺.

Outre les ions Fe²⁺, les microorganismes assimilent pour leur croissance des ions Cu²⁺ en faible quantité pour être utilisés en tant que cofacteurs par les métalloprotéines [294]. Cependant à de très fortes concentrations, supérieures à 150 µmol.L⁻¹, les ions cuivriques agissent comme un antibactérien en inhibant la croissance des bactéries productrices de dihydrogène [295].

I.3.4.6. Autres difficultés

La production de dihydrogène au sein d'un réacteur anaérobie peut être perturbée par divers facteurs comme les problèmes de transfert de matière entre la phase liquide et la phase gazeuse. En conséquence, les réacteurs anaérobies se caractérisent par une sur saturation des gaz dans la phase liquide, qui favorise la formation de bulles [296]. Cette sur saturation peut empêcher thermodynamiquement les réactions productrices de H₂ et la conversion du NADH en dihydrogène par les hydrogénases [238], voire en faciliter sa consommation. Pour cette raison, il est très important de maintenir un bon contrôle de la concentration en gaz dissous. Dans ce contexte, seulement deux méthodes ont été proposées pour extraire du milieu réactionnel le dihydrogène produit sous forme dissous et limiter ainsi sa consommation : l'augmentation de la vitesse d'agitation et l'utilisation d'un courant de gaz inerte (N₂ ou CO₂) pour entraîner le dihydrogène.

Plusieurs études [297,298] ont montré un gain important de la production en H₂ (rendement quasi-double) entre un fonctionnement sans et avec un courant de gaz inerte (azote) [297]. Kim *et al.* [299] ont testé l'utilisation de différents gaz inertes (biogaz interne, CO₂ et N₂) dans un bioréacteur en mode continu et ont observé les meilleurs résultats en utilisant du CO₂, à un débit de 300 mL.min⁻¹ (1,68

mole H₂/mole d'hexose consommé). Dans son étude Lay [300] a montré que l'augmentation de la vitesse d'agitation de 100 à 500 tr/min entraîne un doublement du rendement en H₂ qui passe de 0,74 mole H₂/mole d'hexose à 1,70 moles H₂/mole d'hexose en utilisant l'amidon comme substrat azoté. La sporulation est une autre difficulté pouvant se rencontrer avec les bactéries productrices de H₂, surtout chez les espèces *Clostridium*. Elle résulte de la mise en place d'un système de protection lorsque les conditions sont défavorables à la croissance des bactéries, comme l'excès ou la carence de nutriments, la présence de dioxygène, la baisse du pH [301], ou l'interruption de l'alimentation pendant plus de six heures [232]. Les spores ne sont pas des formes de dissémination mais des formes de résistance.

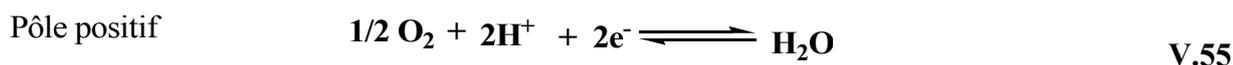
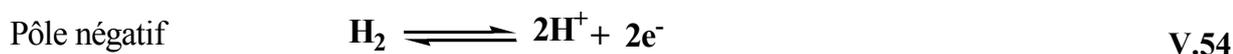
Enfin, la solvantogénèse est un troisième problème qui peut apparaître lorsque les bactéries produisent un solvant (butanol, acétone, etc.) à la place de l'hydrogène et des acides. Ce phénomène est dû à l'accumulation toxique des acides et des substrats à un pH inférieur à 5 [301].

I.4. Valorisation du dihydrogène

Par rapport aux autres combustibles, l'avantage principal du dihydrogène réside dans son pouvoir à stocker l'énergie issue d'autres sources énergétiques. Il est considéré comme un vecteur d'énergie idéal et propre, en permettant le transport et le stockage d'énergies à courte, moyenne et longue durée [302,303].

Le dihydrogène stocké peut être ensuite converti en électricité au moyen d'une pile à combustible. Une pile à combustible fonctionne comme une batterie, dans laquelle une membrane sépare une cathode poreuse et une anode poreuse. Dans le cas de la pile Hydrogène/Oxygène (Figure V.40), l'alimentation en continu de l'anode et de la cathode respectivement par du dihydrogène et du dioxygène conduit à la production d'un courant électrique et à la formation d'eau [304].

Les réactions aux électrodes sont les suivantes :



En fonctionnement, la pile produit de l'eau :



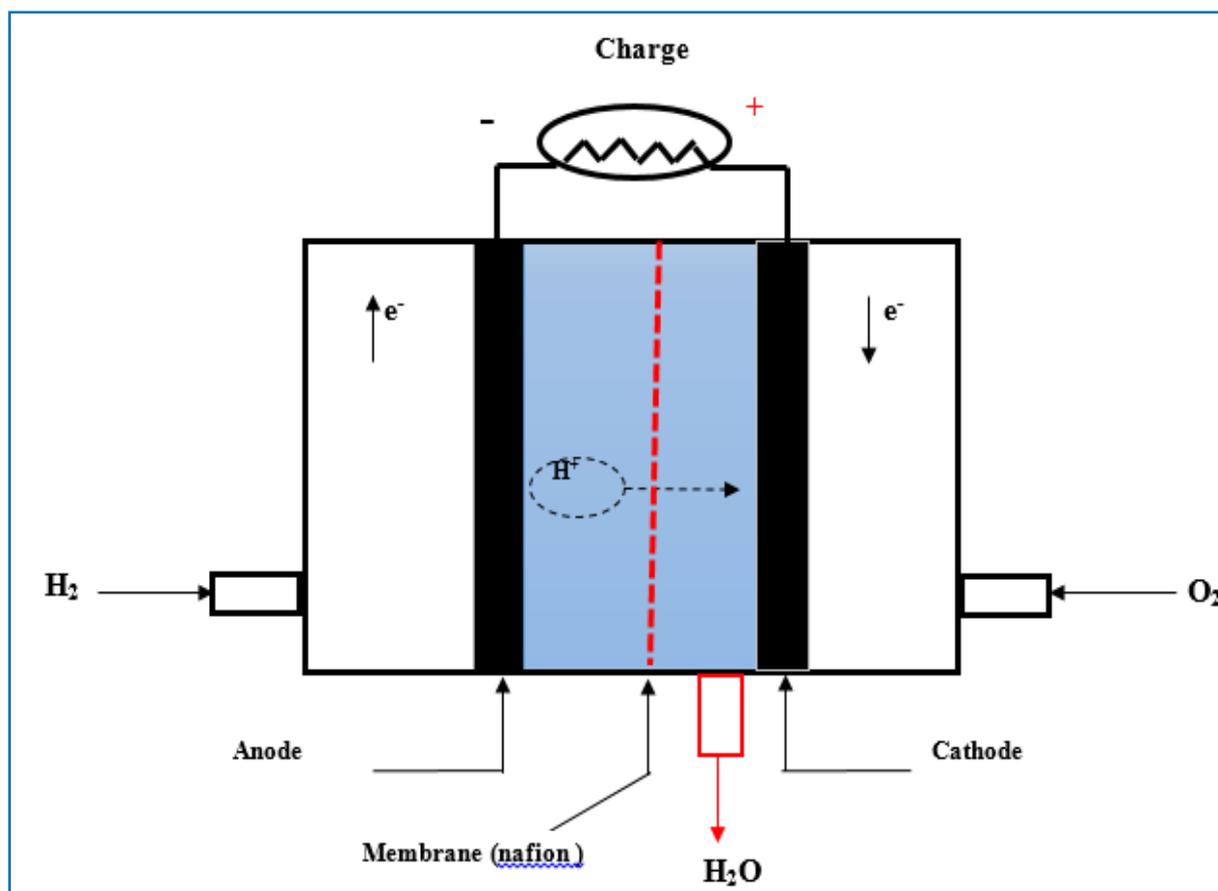


Figure V.40 : Schéma de principe d'une pile à combustible Hydrogène / Oxygène [304].

La principale différence entre une pile à combustible et une batterie est que la première fonctionne uniquement s'il y a un débit de dihydrogène et de dioxygène et qu'elle ne consomme pas d'électrolyte. Leur inconvénient majeur réside dans la nécessité d'utiliser un catalyseur comme le platine qui est coûteux et très sensible à l'empoisonnement par le dioxyde de carbone et par des impuretés telles que les dérivés soufrés [226].

Il est à noter que le principe de la pile à combustible date de 1839 [304] c'est-à-dire bien avant le moteur à combustion interne. Le développement de cette pile s'est ensuite accéléré en 1960, grâce aux programmes spatiaux de la NASA [303,305]. Cependant, un développement commercial à court terme ne semble pas envisageable. De nombreux verrous technologiques existent, pour l'instant insurmontables, tels que le remplacement du platine par un catalyseur peu cher ou encore le développement d'une membrane plus efficace que celle existante au nafion également très onéreuse [306].

En conclusion, associé aux piles à combustible, l'hydrogène pourrait être utilisé beaucoup plus largement à l'avenir comme vecteur d'énergie pour les transports et la production d'électricité. Par

contre aujourd'hui, il est notamment utilisé comme matière de base pour la production d'ammoniac et de méthanol, et pour le raffinage des produits pétroliers, carburants et biocarburants.

II. PRODUCTION DE DIHYDROGÈNE VIA DES BOUES COLLECTÉES DANS UN BASSIN D'AÉRATION

La plupart des travaux de fermentation obscure par des cultures mixtes rapportés dans la littérature sont menés avec des boues activées préalablement acclimatées à des conditions anaérobies [252,261,284,290,307,308]. Cependant, à l'heure actuelle il existe peu d'études portant sur la capacité des boues activées prélevées des bassins aérés sans acclimatation à produire du biohydrogène [270,309]. Dans ces études, les boues sont acclimatées aux conditions anaérobies pendant une période supérieure à 1 mois avant d'être utilisées pour la production de H₂. Dans ces conditions et après cette période d'acclimatation, seules les boues anaérobies, strictes et aérobies-anaérobies facultatives, peuvent survivre et se multiplier.

L'intérêt de considérer des boues collectées d'un bassin d'aération est qu'elles contiennent en majorité des souches anaérobies facultatives qui sont très robustes et non inhibées par la présence de dioxygène. Ces boues sont capables d'instaurer des conditions d'anaérobiose propices à la production de dihydrogène ; elles sont de ce fait des candidats de choix pour les associer à des bactéries anaérobies strictes et consommer les traces éventuelles de dioxygène qui entreraient fortuitement dans le bioréacteur [214]. La plus grande disponibilité des boues aérobies par rapport aux boues anaérobies représente également un autre avantage pour l'utilisation de ce type de boues. En effet, toutes les stations d'épuration sont équipées de bassins aérés pour le traitement biologique de la matière organique.

Pour ces raisons, l'objectif principal de la partie suivante est d'évaluer la faisabilité à produire du dihydrogène en utilisant des boues activées issues des bassins d'aération. Ces populations mixtes en microorganismes subiront d'éventuels prétraitements thermiques pour isoler les bactéries sporulantes les plus intéressantes pour leur production en dihydrogène. Afin de déterminer, d'une part le pH optimal, l'un des paramètres clés dans la production de dihydrogène, et d'autre part pour étudier l'effet de la concentration du substrat carboné (glucose) sur la production de H₂ ; deux valeurs de pH (pH 5,5 et 6,2) et cinq concentrations en glucose (5, 10, 15, 20 et 30 g.L⁻¹) ont été évaluées en utilisant la solution commerciale d'ammonium (0,86 g.L⁻¹). Les valeurs optimales de pH et de glucose sont ensuite utilisées pour produire du biohydrogène en utilisant la solution expérimentale de NH₄⁺, résultant du traitement électrochimique d'une solution de nitrate à 3 g.L⁻¹.

Pour compléter cette partie, les rendements optimaux en H₂ sont comparés aux résultats de la littérature obtenus avec une solution commerciale d'ammonium.

II.1. Production de biohydrogène en utilisant une solution commerciale de NH₄⁺

La production de biohydrogène par les boues aérobies traitées thermiquement est étudiée à pH 5,5 et 6,2 et à des concentrations initiales en glucose comprises entre 5 et 30 g.L⁻¹. La source d'azote est une solution commerciale d'ammonium à 0,86 g.L⁻¹. Les différentes mesures pour les analyses des produits en solution et en phase gazeuse sont réalisées 48 heures après l'inoculation du milieu de culture préparé selon les procédures décrites dans les sections V.3 et V.5 du chapitre II.

III.1.1. Production de biohydrogène à un pH de 5,5

Les rendements de production du dihydrogène sont exprimés en moles de dihydrogène par mole de glucose consommé et calculés sur la base de la quantité de H₂ mesurés par chromatographie gazeuse. La figure V.41 représente la variation du rendement en dihydrogène et de la consommation du glucose en fonction de la concentration initiale en glucose. A pH = 5,5 (Figure V.41-A) le rendement en H₂ augmente avec la concentration en glucose pour atteindre une valeur optimale de 0,3 mole H₂/mole de glucose consommée pour 15 g.L⁻¹ de glucose présent initialement. Au-delà de 15 g.L⁻¹, le rendement décroît et reste constant à 0,23 mole H₂/mole de glucose quelle que soit la concentration initiale en glucose. En ce qui concerne la consommation du glucose la figure V.41-A montre que l'augmentation de la concentration initiale en glucose de 5 à 20 g.L⁻¹ a conduit à une augmentation de la quantité du glucose consommé par les boues activées de 4,7 g.L⁻¹ à 10 g.L⁻¹. En revanche, au-delà de 20 g.L⁻¹, la quantité en glucose assimilé diminue jusqu'à 3,8 g.L⁻¹ ce qui correspond à une consommation d'environ 13% de la quantité initiale de glucose.

En conclusion, à pH = 5,5 le comportement entre la production de H₂ et la consommation du glucose montre que la production biologique de dihydrogène est considérablement influencée par la concentration en substrat carboné.

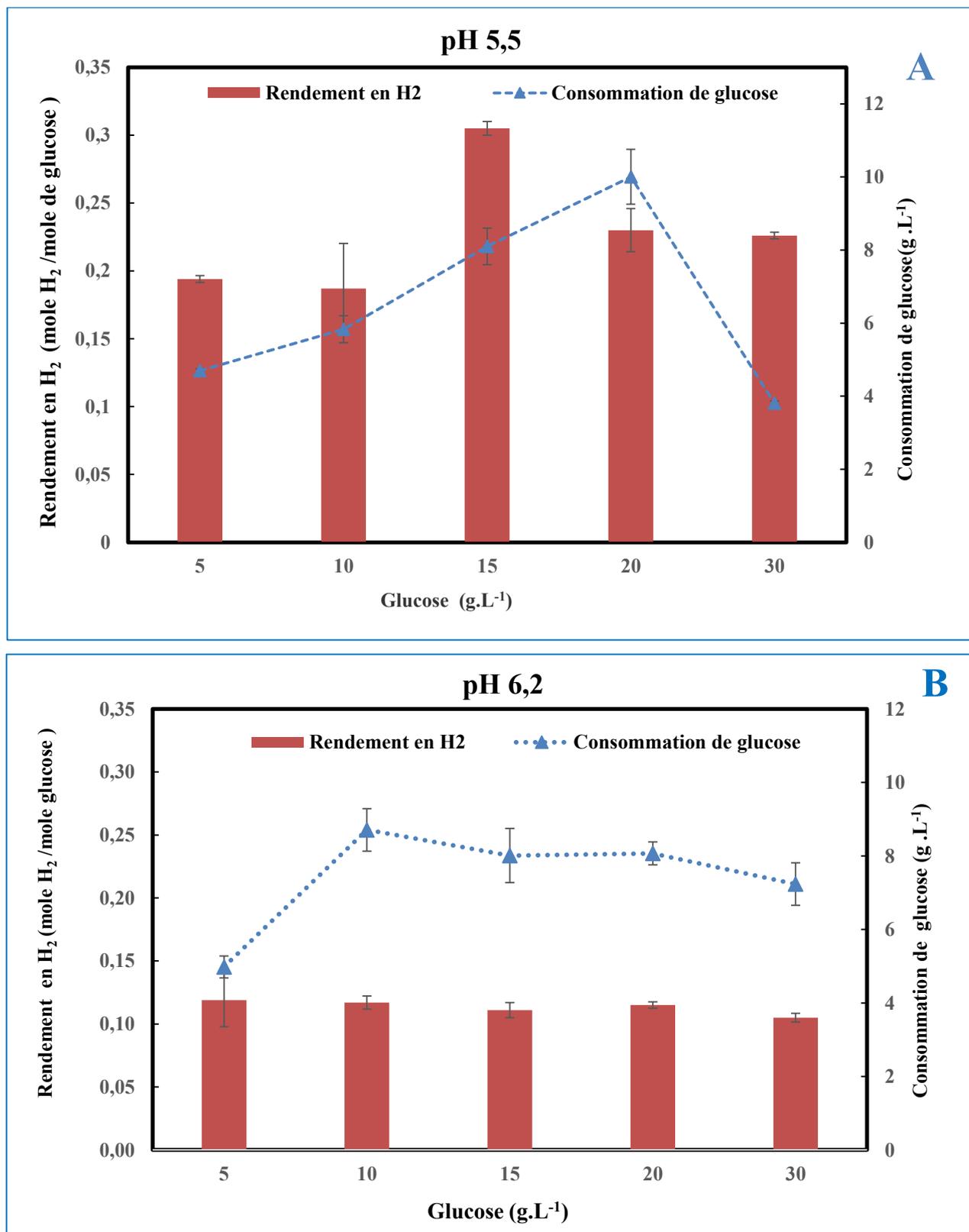


Figure V.41 : Variation des rendements en H₂ et de la consommation de glucose en fonction de la concentration initiale de glucose à pH 5,5 (A) et pH 6,2 (B). Les barres d'erreur sont basées sur des expériences dupliquées. (Solution commerciale de NH₄⁺ ; concentration initiale des boues aérobies traitées thermiquement : 4 g.L⁻¹).

II.1.2. Production de biohydrogène à un pH de 6,2

A pH = 6,2, la figure V.41-B montre que l'augmentation de la concentration initiale de glucose ne conduit pas à une amélioration du rendement de la production en dihydrogène. Quelle que soit la concentration initiale de glucose le rendement en dihydrogène est de l'ordre de 0,11 mole H₂/mole de glucose. En ce qui concerne la consommation du glucose, celle-ci atteint rapidement un optimum pour 10 g.L⁻¹ de glucose pour ensuite diminuer très légèrement jusqu'à 30 g.L⁻¹ de glucose présents initialement.

II.1.3. Effet du pH et de la concentration initiale en glucose sur la production de biohydrogène

Le pH du milieu a un effet plus prononcé sur la production de dihydrogène que sur la consommation du glucose (figures V.41-A et V.41-B). Quelles que soient les concentrations en glucose initiale les rendements en dihydrogène enregistrés à pH = 5,5 sont toujours significativement plus élevés que ceux obtenus à pH = 6,2, en particulier pour la concentration optimale en glucose (15 g.L⁻¹). Cet effet du pH est probablement attribuable à l'activité spécifique des hydrogénases, qui est supérieure à pH = 5,5 par rapport à 6,2. Xiao *et al.*[258] ont étudié leur activité dans la gamme de pH (5-8) et ont conclu que l'activité des hydrogénases diminue avec l'augmentation du pH du milieu de culture. Par conséquent, les milieux légèrement acides favorisent la production de dihydrogène avec une activité maximale des hydrogénases à pH = 5, qui est une valeur très proche de celle retenus dans ce travail.

La diminution du rendement de production de H₂ au-delà d'une certaine quantité de glucose est également discutée dans la littérature. Dans leur étude concernant l'effet de la concentration de substrat carboné sur la cinétique de production de biohydrogène à partir des eaux usées des industries agro-alimentaires, Chu *et al.*[248] ont trouvé que les vitesses de croissance des bactéries productrices de dihydrogène diminuent significativement à des concentrations élevées de substrat. Des comportements similaires ont été également observés par VanGinkel et Logan [310] et cela au même pH optimal que celui obtenu dans cette étude (pH 5,5). Ces auteurs constatent une production de dihydrogène constante pour les effluents contenant une quantité en glucose variant de 10 à 30 g.L⁻¹, pour ensuite chuter significativement à partir d'une concentration initiale en glucose de 40 g.L⁻¹. Ils expliquent ce résultat par le fait qu'une concentration trop élevée favorise l'autoproduction d'acides gras volatils par les bactéries. En particulier les acides butyrique et acétique ont un effet inhibiteur prouvé sur la production du biohydrogène par fermentation obscure. Ces observations sont en accord avec nos résultats, puisqu'à des pH de 5,5 et de 6,2 la production des deux acides, principaux

métabolites dosés au deux pH, augmente avec la quantité initiale de glucose comme le montre le tableau V.28.

Tableau V.28 : Concentrations en métabolites liquides à différentes concentrations initiales en glucose et à pH= 5,5 et 6,2. Les incertitudes sont basé sur des expériences dupliquées (Solution commerciale de NH_4^+ ; concentration initiale des boues anaérobies traitées thermiquement : 4 g.L^{-1}).

Glucose (g.L^{-1})	pH 5,5		pH 6,2	
	AC acétique (mg.L^{-1})	AC butyrique (mg.L^{-1})	AC acétique (mg.L^{-1})	AC butyrique (mg.L^{-1})
5	$151 \pm 4,3$	42 ± 12	544 ± 15	$84 \pm 3,0$
10	512 ± 24	96 ± 18	934 ± 9	315 ± 11
15	1054 ± 8	$253 \pm 5,4$	984 ± 16	615 ± 14
20	1465 ± 20	467 ± 30	1100 ± 7	$615 \pm 3,5$
30	1595 ± 110	738 ± 45	1456 ± 13	$754 \pm 6,5$

Dans le cadre de ce travail, il est intéressant de signaler que dans le but de rendre le procédé plus économique, un tampon acétique ($\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COO}^-$ $10^{-2} \text{ mol.L}^{-1} / 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$) a été testé. Son intérêt est double, car il peut, d'une part, être source de carbone et, d'autre part, se substituer au tampon biologique (MES) en bloquant le pH du milieu à 5,5. Malheureusement, au bout de 48 h de contact entre les boues aérobies traitées thermiquement et le milieu de culture tamponné avec le tampon acétique à $2 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$, aucune production de dihydrogène ni de méthane n'a été remarquée. En revanche la production d'une très faible quantité de CO_2 a été détectée (Tableau V.29).

Tableau V.29 : Inhibition de la production de biohydrogène par le tampon acétique $2 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$. Les incertitudes sont basées sur des expériences dupliquées. (Solution commerciale de NH_4^+ ; concentration initiale des boues aérobies traitées thermiquement : 4 g.L^{-1} ; pH initial = 5,5 ; concentration initiale de glucose = 5 g.L^{-1}).

H_2 (mol.L^{-1})	CH_4 (mol.L^{-1})	CO_2 (mol.L^{-1})	Consommation de glucose (%)	Consommation de NH_4^+ (%)	pH Final
0	0	$6 \cdot 10^{-6} \pm 10^{-9}$	$10 \pm 2,3$	$12 \pm 1,2$	$5,1 \pm 0,05$

D'autre part, de faibles consommations de glucose (10%) et d'ammonium (12%) ont été observées. Ces résultats montrent que le tampon acétique utilisé inhibe très certainement la croissance de la communauté bactérienne présente dans les boues aérobies et par conséquent la production de dihydrogène.

II.1.4. Consommation de l'ammonium et mesure du pH final

Pour toutes les expériences, les deux histogrammes de la figure V.42 montrent que le pourcentage de consommation de l'ammonium en fonction de la concentration en glucose initiale varie entre 39% et 52%. Ceci montre que l'ammonium n'est pas limitant.

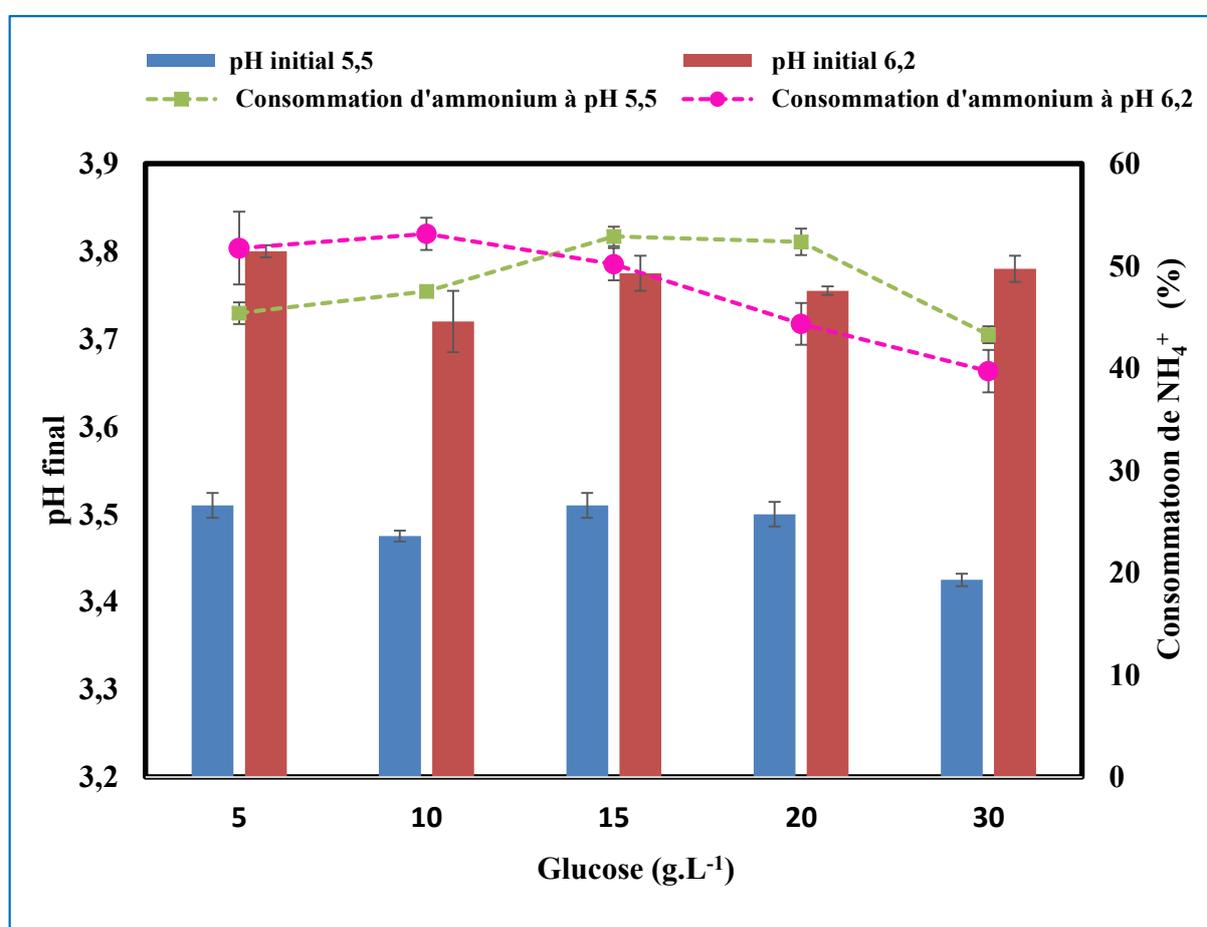


Figure V.42 : Influence du pH initial et de la concentration initiale de glucose sur la consommation de NH_4^+ et le pH final. Les barres d'erreur sont basées sur des expériences dupliquées. (Solution commerciale de NH_4^+ ; concentration initiale des boues aérobies traitées thermiquement : 4 g.L^{-1}).

Par contre les valeurs finales du pH (Figure V.42) sont indépendantes de la quantité initiale de glucose ; de l'ordre de 3,4 à 3,5 pour un pH initial de 5,5 et de l'ordre 3,7 à 3,8 pour un pH initial de

6,2. La diminution du pH peut être attribuée à la formation de produits acides et principalement de l'acide acétique qui est généré au cours de la fermentation anaérobie du glucose. Ce comportement est en accord avec les observations faites par Niu *et al.* [269].

II.1.5. Analyse du biogaz

L'analyse par microGC des gaz produits montre que dans toutes les expériences, le biogaz est constitué uniquement de dihydrogène (H_2), de diazote (N_2) et de dioxyde de carbone (CO_2) avec une absence de formation de H_2S et de méthane (CH_4). Les différentes valeurs du paramètre R (CO_2/H_2) représentant le rapport entre les concentrations en mole. L^{-1} de CO_2 et de H_2 sont présentées dans la figure V.43.

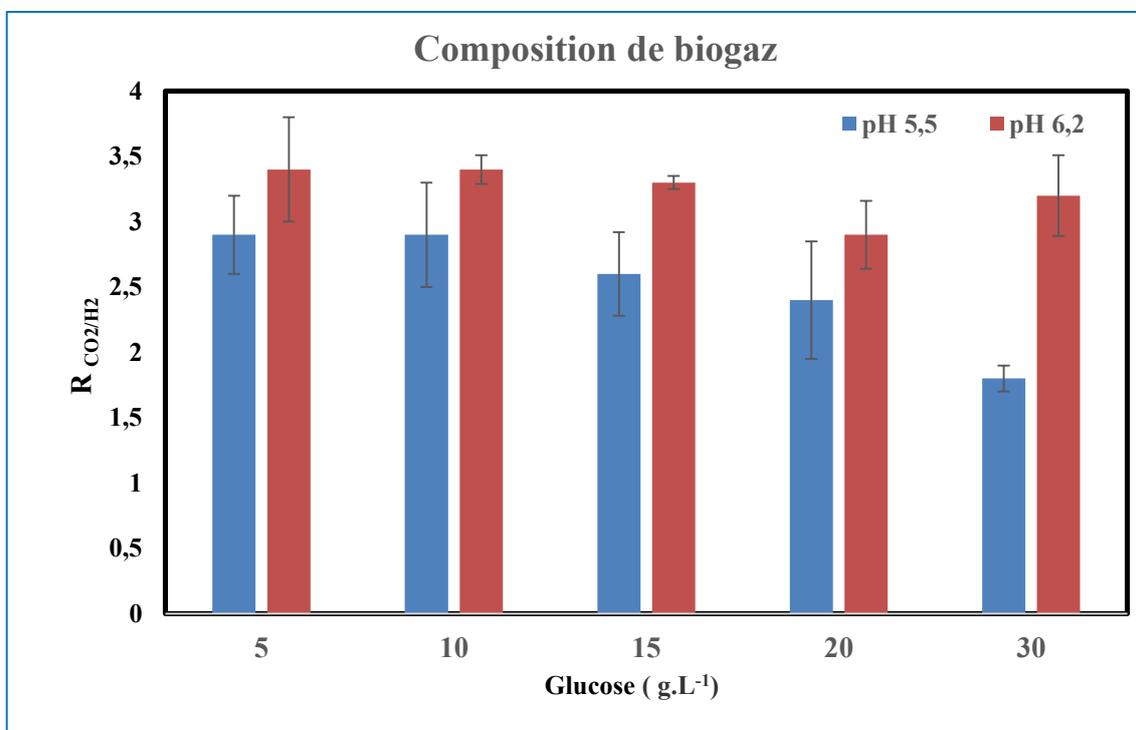


Figure V.43 : Composition du biogaz à pH 5,5 et 6,2. Les barres d'erreur sont basées sur des expériences dupliquées. (Solution commerciale de NH_4^+ ; concentration initiale des boues aérobies traitées thermiquement : 4 g.L⁻¹).

L'absence du méthane prouve l'efficacité du prétraitement thermique utilisé pour sélectionner les bactéries productrices de dihydrogène à partir des boues activées prélevées des bassins biologiques aérés. La présence de dihydrogène et l'absence de méthane peuvent être expliqués par le fait qu'au cours de l'enrichissement, les bactéries méthanogènes hydrogénotrophes consommatrices de H_2 ont été inactivés ou inhibés, alors que les bactéries productrices de H_2 , surtout les bactéries du genre

Clostridium, sont encore viables. Les endospores de ces dernières sont très résistantes à la chaleur et ne sont pas nécessairement inactivées ou inhibées, même par des produits chimiques agressifs [311].

II.1.6. Conclusion

La meilleure productivité en biohydrogène, correspondant à 0,35 mole H₂/mole de glucose consommé, est obtenue avec une concentration en glucose de 15 g.L⁻¹ et un pH de 5,5. Ce sont les conditions qui seront appliquées dans la suite de ce travail pour produire du biohydrogène à partir d'une solution d'ammonium issue de l'électroréduction d'une solution concentrée en nitrates à 3 g.L⁻¹. L'objectif étant de développer un procédé original et éco-environnemental dont la finalité est de traiter les nitrates tout en produisant biologiquement du dihydrogène.

II.2. production de biohydrogène en utilisant la solution de NH₄⁺ résultant de l'électroreduction des nitrates

Les expériences d'électrolyse sont réalisées telles qu'elles sont décrites dans le chapitre III en utilisant une solution de nitrate de concentration égale à 3g.L⁻¹. Cette concentration a été choisie car elle est proche de celles observées dans les effluents réels ciblés, c'est-à-dire obtenues après traitement par échange d'ions d'eaux pollués par les ions nitrates [312]. Chaque électrolyse est effectuée à l'aide d'une cellule à percolation (Figure II.6; chapitre II) à un débit de 2mL.min⁻¹ et une intensité de courant de 1,24A calculée selon la formule Eq.II.1, chapitre II.

La composition de la solution électrolytique est extrêmement importante puisqu'elle sera utilisée par une population bactérienne très sensible à son environnement. Il convient prioritairement de déterminer l'électrolyte support qui pourra être assimilée par les boues en se basant sur le travail réalisé dans le chapitre III, dans lequel trois solutions électrolytiques ont été étudiées : (1) un milieu légèrement acide (tampon acétique 1 mol.L⁻¹); (2) un milieu neutre (tampon phosphate 0,5 mol.L⁻¹) (3) un milieu basique (NaOH 0,1 mol.L⁻¹).

II.2.1. Milieu tampon acétique

Du fait du caractère inhibiteur de l'acide acétique sur les bactéries productrices de H₂ (voir tableau V.29), l'utilisation du tampon acétique comme électrolyte support doit être évitée.

II.2.2. Milieu basique NaOH 0,1 mol.L⁻¹

Le pKa du couple acide-base NH₄⁺/NH₃ est égal à 9,2. Par conséquent pour une solution de pH supérieur à 9,2 la forme majoritaire de l'ammoniaque est la forme moléculaire NH₃. La réduction des nitrates dans un milieu très basique conduit à la formation d'ammoniac sous la forme moléculaire (NH₃) qui est un complexant très fort pour le cuivre. Un tel composé entraîne la corrosion du cuivre selon la réaction suivante :



Le complexe Cu(NH₃)₂⁺ est très stable avec une constante de complexation de 10^{10,9} [313] (Réaction V. 58). Il est à noter que ce complexe est facilement détectable grâce à sa couleur bleue.



Les microorganismes requièrent des ions Cu²⁺ en faible quantité pour leur croissance. Ainsi 10 mg.L⁻¹ de CuCl₂.2H₂O correspondant à 58 μmol.L⁻¹ de Cu²⁺ sont ajoutés dans chaque milieu de culture. Les ions Cu²⁺ agissent en tant que cofacteurs pour les métalloprotéines et les enzymes [294], cependant des concentrations élevées supérieures à 150 μmol.L⁻¹ peuvent empêcher la prolifération des bactéries productrices de dihydrogène en agissant comme un antibactérien naturel [295]. La corrosion de la cathode de cuivre implique la formation du complexe Cu(NH₃)₄²⁺ qui entraîne une augmentation significative du cuivre soluble assimilable par l'ensemble de la communauté bactérienne y compris les bactéries productrices de dihydrogène [314]. Par ce mécanisme la solution électrolytique devient un agent biocide pour la population bactérienne.

II.2.3. Milieu phosphorique

Le choix d'une solution tamponnée à pH = 7,2 par le couple H₂PO₄⁻/HPO₄²⁻ comme solution électrolytique semble opportun, d'autant que ce milieu permet d'apporter du phosphore, qui est un élément essentiel à la croissance microbienne. Dans ce contexte, une première électrolyse est réalisée avec une solution de H₂PO₄⁻ (3.10⁻³ mol.L⁻¹) / HPO₄²⁻ (3.10⁻³ mol.L⁻¹). Les concentrations sont calculées pour obtenir un apport direct en phosphore total nécessaire à la croissance bactérienne qui est de l'ordre de 6.10⁻³ mol.L⁻¹ [231].

Après un seul passage de la solution de nitrate tamponnée à un pH de 7,2 dans la cellule électrochimique à percolation, une augmentation du pH jusqu'à 14, accompagnée d'une légère

coloration bleue de la solution d'électrolyse apparaît en sortie de cellule. Par conséquent la force du tampon est trop faible pour compenser la consommation en protons nécessaires à la transformation des nitrates (NO_3^-) en ammonium (NH_4^+) qui, comme il a été discuté dans le chapitre III, est favorable à une augmentation du pH en sortie de cellule. Dans ces conditions, et même si une légère corrosion du cuivre est inévitable, la solution après électrolyse a été testée.

Avant utilisation de l'effluent collecté après l'électrolyse comme source d'azote pour les boues aérobies traitées thermiquement, le pH de ce dernier est ajusté à 5,5 à l'aide du tampon MES. Le milieu de culture est ensuite complété sans ajout de phosphate à la même composition en minéraux que ceux mentionnés précédemment (section IV.2.1 du chapitre II). Malheureusement, après 48 heures d'incubation les dosages de biogaz par micro GC montrent l'absence de production de dihydrogène et de tous les autres biogaz (CO_2 , CH_4 , H_2S , etc.). D'autre part, en mesurant les matières solides en suspension après 48h de culture aucune croissance cellulaire n'a été observée.

En conclusion le taux de cuivre dissous dans la solution est trop élevé et il est donc nécessaire d'acidifier la solution d'électrolyse de façon à obtenir en sortie de cellule à percolation un pH neutre ou acide qui sera plus convenable pour la stabilité de la cathode de cuivre. Une première approche en utilisant de l'acide phosphorique (H_3PO_4) à la concentration de $10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ conduit aux mêmes résultats obtenus avec le tampon phosphate. La concentration en acide pur à $10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ est donc insuffisante pour bloquer la montée du pH et le stabiliser. Il est donc nécessaire d'augmenter de nouveau l'acidité des solutions d'électrolyse. Cette augmentation n'a pas été réalisée avec de l'acide phosphorique. En effet, un excès de phosphore favorise le phénomène d'eutrophisation, qui consiste en une prolifération anarchique d'algues vertes et de cyanobactéries. Par conséquent, afin d'augmenter l'acidité de l'électrolyte support et résoudre le problème lié à la corrosion de l'électrode de travail tout en gardant en tête l'impact d'un excès de phosphore sur l'environnement, la même concentration en acide phosphorique ($10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$) est conservée et de l'acide sulfurique à la concentration de $5 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ est ajouté à la solution électrolytique. La composition de la solution électrolytique est donc la suivante :

$$[\text{NO}_3^-] = 3 \text{ g.L}^{-1}$$

$$[\text{H}_3\text{PO}_4] = 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$$

$$[\text{H}_2\text{SO}_4] = 5 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$$

Le pH de la solution est d'environ 1. Après électrolyse la mesure du pH donne une valeur comprise entre 2 et 3, ce qui permet ensuite d'ajuster facilement le pH à la valeur étudiée (5,5 – voir section II.1.6 de ce chapitre), à l'aide du tampon MES.

III.2.3.1. Analyse de la solution après électrolyse

L'analyse des différents sous-produits azotés obtenus après électrolyse montre l'absence d'oxydes nitreux (N_2O) et d'hydrazine (H_2N-NH_2) et la formation d'une quantité négligeable en NO_2^- . La réduction des nitrates en ammonium en milieu acide est donc quasi quantitative avec un rendement chimique de formation de NH_4^+ de 98,8% et la sélectivité en ammonium obtenue dans ce milieu est de l'ordre de 97%.

III.2.3.2. Résultats de la production de biohydrogène

Le pH de la solution électrolysée est ajusté à 5,5 ; les composés indiqués dans le tableau II.6 du chapitre II sont ajoutés (excepté le phosphore déjà présent) et le milieu est mis à incuber après ajout de boues aérobies. Après 48 heures d'incubation, la production de biohydrogène mesurée est de 0,35 mole H_2 /mole de glucose et le pourcentage de consommation de NH_4^+ et de glucose sont de 97 % et de 82 % respectivement. Ce sont des valeurs légèrement supérieures à celles obtenues avec la solution commerciale d'ammonium comme le montre le tableau V.30. Quant au pH final il est similaire à ceux obtenus dans le cas de la solution commerciale de 3,5.

Tableau V.30 : Comparaison des résultats de la production de H_2 entre la solution d'ammonium (3 g.L^{-1}) résultant de l'électroreduction des ions nitrate et la solution commerciale. Les incertitudes sont basées sur des expériences dupliquées. (Glucose initial 15 g.L^{-1} ; pH initial = 5,5 ; concentration initiale des boues aérobies traitées thermiquement = 4 g.L^{-1} ; temps d'incubation = 48 h).

R (CO_2/H_2) est le rapport entre la concentration en mole.L^{-1} de CO_2 et de H_2 produit à différents pH.

source d'azote	Résultats de la production de H_2				
	Rendement (mole H_2 /mole de glucose)	Consommation de glucose (%)	Consommation de NH_4^+ (%)	pH final	R CO_2/H_2
A	$0,35 \pm 0,01$	$82,0 \pm 2,0$	$97,0 \pm 3,5$	$3,51 \pm 0,02$	0,47
B	$0,30 \pm 0,03$	$55,0 \pm 3,3$	$53,0 \pm 3,4$	$3,51 \pm 0,01$	2,9

a : solution d'ammonium résultant de l'électroreduction des ions nitrate à 3 g.L^{-1}

b : solution commerciale d'ammonium

Par contre le rapport $R(\text{CO}_2/\text{H}_2) = 0,47$ enregistré avec la solution d'ammonium générée électrochimiquement est beaucoup plus faibles que ceux enregistrés en solution commerciale (Tableau V.30).

II.2.4. Conclusion

Dans cette étude une solution d'ammonium résultant de l'électroréduction des ions nitrate est utilisée comme source d'azote pour produire du dihydrogène via des boues activée collectées de bassins d'aération. La comparaison des rendements de production du dihydrogène obtenus dans cette étude en utilisant des boues aérobies prétraitées thermiquement à ceux de la littérature utilisant des boues activées anaérobies et au même pH optimal (pH 5,5) montre que le rendement enregistré dans ce travail (0,35 mole H_2 /mole de glucose) peut être considéré comme acceptable par rapport à 0,44 mol H_2 /mole de sucre total et 0,5 mol H_2 /mole d'hexose obtenus respectivement par les auteurs Chu *et al.*[248] et Kim *et al.*[315]. En raison de la plus grande disponibilité des boues aérobies par rapport aux boues anaérobies, le procédé de production de dihydrogène via des boues collectées des bassins a l'avantage d'être plus pratique pour la production biologique de dihydrogène.

Dans la littérature, la production biologique de dihydrogène est principalement décrite en utilisant des boues anaérobies. C'est pourquoi l'étape suivante de cette étude sera de tester dans les mêmes conditions des boues collectées d'un digesteur anaérobie pour la production de H_2 .

III. PRODUCTION DE BIOHYDROGÈNE VIA DES BOUES ANAÉROBIES

Dans la suite de ce travail, la première démarche est d'appliquer les conditions optimales obtenues précédemment avec les boues aérobies à des boues anaérobies collectées d'un digesteur pour la production de méthane. Après électrolyse d'une solution de nitrate à 3 g.L^{-1} , le pH de la solution ammoniacale obtenue est relevé à 5,5 avec un tampon MES. Les minéraux indiqués dans le tableau II.6 (excepté le phosphore contenu dans la solution d'électrolyse) sont ajoutés, ainsi que 15 g.L^{-1} de glucose. Des boues aérobies sont ajoutées au milieu obtenu et après 48 heures d'incubation le rendement obtenu est de 0,24 moles H_2 /mole de glucose, c'est-à-dire plus faible que celui enregistré avec les boues aérobies. Cette différence, malgré des conditions opératoires identiques, est probablement due à la différence entre les communautés microbiennes existant dans les deux types de boues étudiées (aérobies et anaérobies). Les conditions opératoires doivent être ajustées pour ce type de boues. En effet, Venkata et Mohan [316] ont indiqué une production biologique optimale de H_2 pour des pH initiaux variant entre 5,5 et 7,5 et ont constaté que le rendement en dihydrogène peut

nettement chuter pour des pH choisis en dehors de cette gamme. Par conséquent, la production de H₂ est examinée à différents pH (5,5, 6,5 et 7,5) puis à différentes teneurs en glucose (5, 10, 15, 20, 25 et 30 g.L⁻¹).

III.1. Effet du pH initial

Trois solutions d'ammonium résultant de la réduction électrochimique d'une solution de nitrate à 3g.L⁻¹, à différents pH (5,5, 6,5 et 7,5) sont inoculées avec des boues anaérobies prétraitées thermiquement. Pour chacune la concentration initiale en glucose est fixée à 15 g.L⁻¹, concentration optimale en glucose dans le cas de boues aérobies (Figure V.41-A). Le traitement thermique a pour but d'inactiver les bactéries méthanogènes hydrogénotrophes et d'enrichir les bactéries productrices de H₂.

Le dosage du glucose restant dans le milieu de culture après la fermentation (glucose non consommé) montre qu'après 48 heures de fermentation obscure, le pourcentage de dégradation du glucose en fonction du pH suit la même tendance que celle des rendements en dihydrogène (Figure V.44).

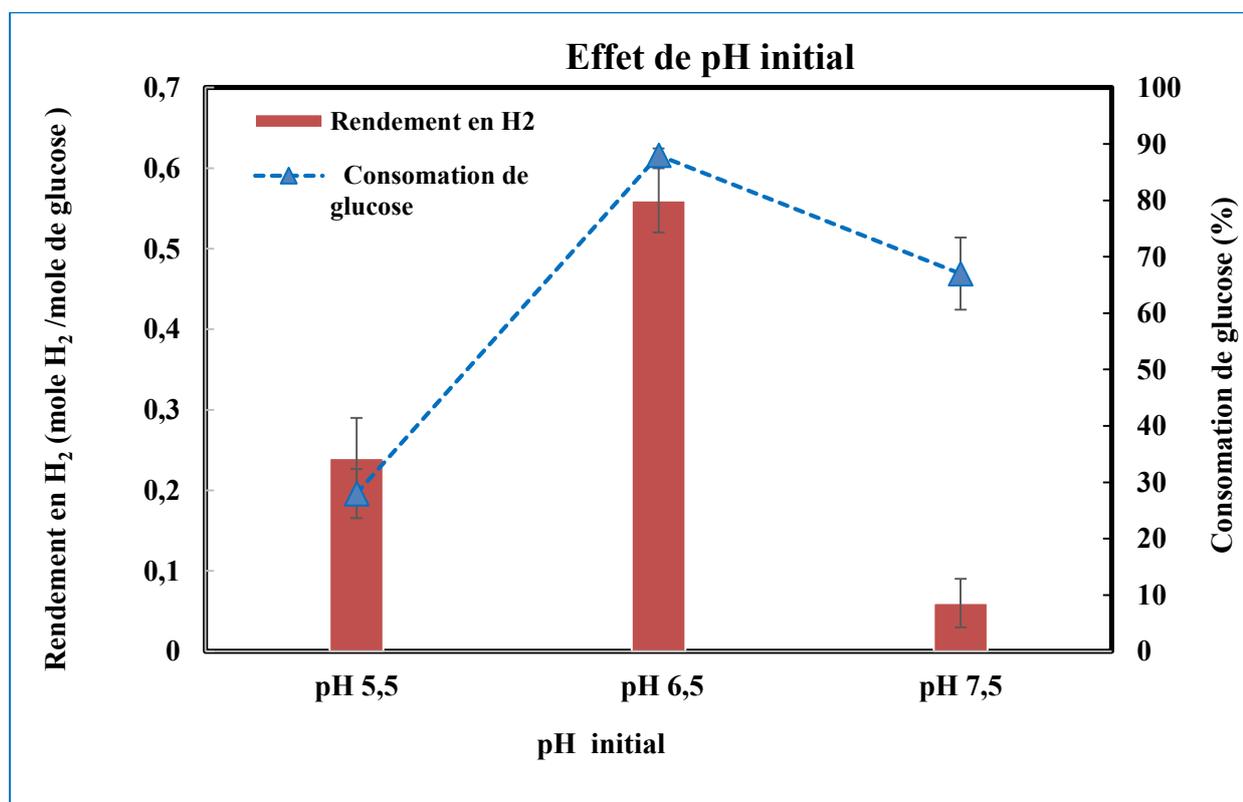


Figure V.44 : Variation des rendements en H₂ et consommation du glucose en fonction du pH initial. Les barres d'erreurs sont basées sur des expériences dupliquées. (Solution expérimentale de NH₄⁺ ; concentration initiale en glucose : 15 g.L⁻¹ ; Concentration initiale des boues anaérobies traitées thermiquement : 4 g.L⁻¹).

A pH = 6,5 les boues ont consommé 88 % de la quantité initiale de glucose ajoutée dans le milieu de culture (15 g.L⁻¹) contre respectivement 24 % et 76 % enregistrés à pH = 5,5 et 7,5. Le rendement en dihydrogène le plus élevé (0,56 mole H₂/mole de glucose) est obtenue pour un pH initial de 6,5 et le plus faible (0,006 mole H₂/mole de glucose) est obtenu pour un pH initial de 7,5. Un rendement intermédiaire de 0,24 mole H₂/mole de glucose consommé est obtenu à pH 5,5 (Figure V.44). Parallèlement à la production du dihydrogène le rendement de consommation en ammonium est également important. Après 48 heures d'incubation, le pourcentage d'ammonium (Tableau V.31) varie entre 75% et 85 %. Et, de façon similaire à la production de biohydrogène, le maximum de consommation est également observé à pH 6,5. Un autre paramètre important à examiner est la qualité du biogaz formé, qui doit-être majoritairement du H₂ ; il s'agit donc de minimiser autant que faire se peut les autres gaz. L'analyse des biogaz par micro GC montre l'absence de formation de méthane. Le paramètre R (CO₂/H₂) est un bon indice de pureté du biogaz. R (CO₂/H₂) est minimal (0,1) pour un pH initial de 6,5, puis augmente rapidement dès que le pH s'écarte de cette valeur aussi bien vers 5,5 que vers 7,5.

Tableau V.31 : Effet du pH initial sur la production de H₂ par des boues anaérobies traitées thermiquement. Les incertitudes sont basées sur des expériences dupliquées. (Solution expérimentale de NH₄⁺ ; concentration initiale en inoculum : 4 g.L⁻¹ ; concentration initiale en glucose : 15 g.L⁻¹).

pH initial	Consommation de NH ₄ ⁺ (%)	pH Final	H ₂ (mol.L ⁻¹)	^a R (CO ₂ /H ₂)	CH ₄ (mol.L ⁻¹)	Inoculum après 48 h (g.L ⁻¹)
5,5	75 ± 2,5	5,1 ± 0,1	0,006 ± 0,001	1,1 ± 0,1	0	15 ± 1,5
6,5	85 ± 3,2	4,98 ± 0,2	0,052 ± 0,040	0,1 ± 0,01	0	14 ± 4,5
7,5	80 ± 2,4	5,53 ± 0,3	0,004 ± 0,004	1,5 ± 0,2	0	15,5 ± 2,8

^aR (CO₂/H₂) est le rapport entre la concentration en mole.L⁻¹ de CO₂ et de H₂ produit à différents pH.

Dans la gamme de pH étudiée (Tableau V.31), la quantité finale de l'inoculum reste similaire. En revanche, les différences entre les pH finaux, mêmes si elles sont limitées, peuvent entraîner d'importantes fluctuations de l'activité métabolique caractérisées par des quantités de dihydrogène et de CO₂ produites très différentes. Ce comportement est probablement dû à une modification des voies métaboliques du consortium bactérien, en fonction du pH, qui favorise ou non la production de dihydrogène. Pour confirmer cette hypothèse les résultats d'un suivi analytique des différents métabolites en solution issus de la fermentation du glucose sont présentés figure V.45.

Il est intéressant de constater que le principal acide produit est l'acide acétique suivi par l'acide butyrique et iso butyrique et qu'une très faible quantité d'acétaldéhyde est dosée dans les trois milieux (Figure V.45). La production de dihydrogène est accompagnée principalement par la formation d'acide acétique et d'éthanol à pH 5,5 puis, avec l'augmentation du pH du milieu le métabolisme est progressivement déplacé vers la voie acides acétiques/acides butyriques contribuant à la production d'acides gras volatiles (AGV) et à la diminution de la formation d'éthanol. En résumé et comme l'illustre la figure V.45, avec l'augmentation du pH initial, les concentrations en acides acétiques, butyriques et iso butyriques augmentent progressivement, tandis que celle de l'éthanol diminue rapidement.

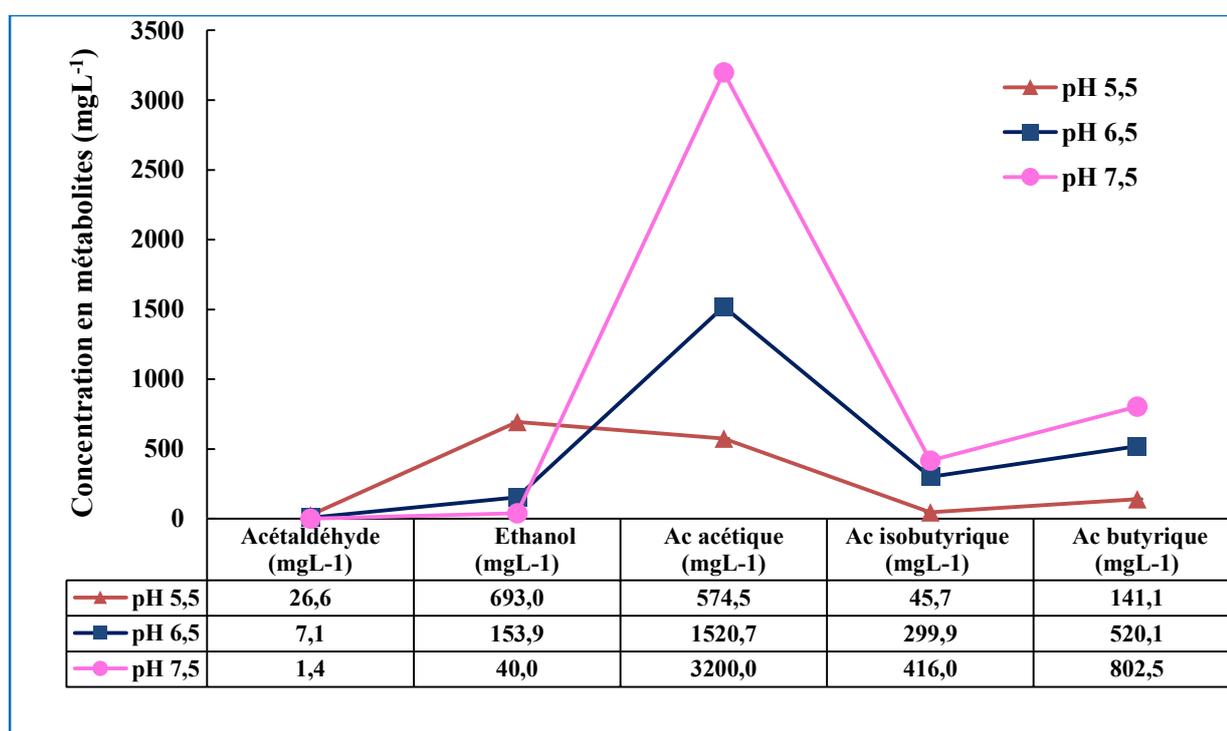


Figure V.45 : concentration en métabolites présents en phase liquides à différents pH initiaux. Les barres d'erreur sont basées sur des expériences en doubles (Solution expérimentale de NH_4^+ ; concentration initiale de glucose : 25 g.L⁻¹ ; concentration initiale des boues anaérobies traitées thermiquement : 4 g.L⁻¹).

Il est à noter que les pH finaux assez proches (Tableau V.31), malgré des valeurs initiales différentes, doivent être corrélés aux quantités d'acides organiques produits.

En comparant la figure V.45 au tableau V.31, il est clair que la faible production de dihydrogène à pH = 5,5 est liée à la forte production en éthanol (639 mg.L⁻¹) issu de la dégradation du glucose. Cette production d'éthanol peut être due au fait que les spores productrices de dihydrogène ne sont pas la communauté dominante à ce pH. Mais, également au fait que les bactéries ont utilisé la voie métabolique conduisant à l'éthanol, laquelle passe par l'acétaldéhyde et ne produit pas de

dihydrogène, contrairement aux voies acétate et butyrate. Cette dernière supposition est clairement confortée par la figure V.45, qui montre que la quantité d'acétaldéhyde la plus élevée (26,6 mg.L⁻¹) est enregistrée à pH 5,5. Les faibles concentrations d'acides acétiques et butyriques détectées à ce pH prouvent que les voies produisant du dihydrogène n'ont pas été utilisées. Au contraire, à pH 6,5, le niveau élevé d'acide acétique obtenu est révélateur d'une production en dihydrogène (0,56 mole H₂/mole de glucose) non négligeable. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Fang et Liu [261] qui ont montré que l'acétate était favorisé à un pH de 6,5 alors qu'un pH compris entre 4,5 et 6,0 favorise la production d'éthanol. En revanche, à pH = 7,5 une diminution drastique de la productivité en dihydrogène est observée, accompagnée d'une augmentation significative du taux d'acides gras volatils (AGV) et une diminution de deux unités du pH initial. Ces résultats peuvent être interprétés par le fait que l'autoproduction excessive d'acides gras volatils, surtout l'acide acétique à pH 7,5, a inhibé la croissance des bactéries productrices de dihydrogène réduisant ainsi le rendement de production en bio-hydrogène [317]. L'ensemble de ces résultats montre que le pH initial a un effet considérable sur le métabolisme de production de dihydrogène.

Dans cette étude, l'acide propionique est absent, ce qui tend à démontrer que le prétraitement thermique a été efficace et que les conditions utilisées ne sont pas favorables à la croissance de bactéries productrices de cet acide. De même l'acide lactique n'a pas été détecté ce qui est en faveur d'une production soutenue en dihydrogène. En effet l'accumulation d'acide lactique est l'un des problèmes majeurs rencontrés durant les expériences de fermentation obscure via des boues anaérobies, car il joue un rôle majeur dans la diminution du rendement, puisque le lactate est associé à une voie métabolique neutre qui ne produit ni ne consomme de l'hydrogène [318].

Concernant la variation des rapports R (CO₂/H₂) obtenue à différents pH, le tableau V.31 montre que le rapport le plus faible (0,1) est enregistré à pH 6,5. Ce qui se traduit par la formation d'une importante quantité en acides organiques, particulièrement sous forme d'acide acétiques (Figure V.45). Par contre, pour un pH supérieur à 6,5, le rapport est supérieur à 0,1 traduisant une augmentation de la quantité de CO₂ produite pour une baisse en carbone organique qui se retrouve également en majorité sous la forme d'acide acétique. Pour un pH inférieur à 6,5 le rapport R(CO₂/H₂) est supérieur à 0,1 traduisant une augmentation du CO₂ au détriment du carbone organique qui se retrouve principalement sous la forme d'éthanol. C'est donc à un pH égal à 6,5 que la quantité de CO₂ est la plus faible et que la quantité de biohydrogène est la plus importante.

En conclusion, un pH initial de 6,5 paraît favorable à la production de dihydrogène par les bactéries anaérobies traitées à la chaleur. Ce résultat est en accord avec ceux de Karadag *et al.* [130] et Oh et

al.[131] qui, dans des conditions similaires à celles considérées dans ce travail, ont respectivement obtenus des pH optimaux de 6,2 et 6,5. Une valeur de 6,5 est donc retenue pour étudier l'effet de la concentration en glucose.

III.2. Effet de la concentration initial de glucose

La production de dihydrogène est examinée pour des concentrations en glucose de 5, 10, 15, 20, 25 et 30 g.L⁻¹ en glucose. Le pH initial est fixé à 6,5. D'après la figure V.46, il apparaît clairement que la productivité en dihydrogène augmente avec la concentration en glucose pour atteindre une valeur maximale de 1,1 mole H₂/mole de glucose ce qui équivaut à 0,128 mol.L⁻¹ de dihydrogène (Tableau V.32) pour une concentration initiale en glucose de 25 g.L⁻¹. Au-delà d'une concentration en glucose de 25 g.L⁻¹ la production de dihydrogène chute très fortement et se retrouve rapidement divisée par deux à 30 g.L⁻¹ de glucose initial (cette baisse sera discutée ci-dessous). Ce comportement montre que l'augmentation de la production de dihydrogène est liée à la quantité de substrat carboné. Le tableau V.32 montre que jusqu'à 10 g.L⁻¹ de glucose, celui-ci est limitant.

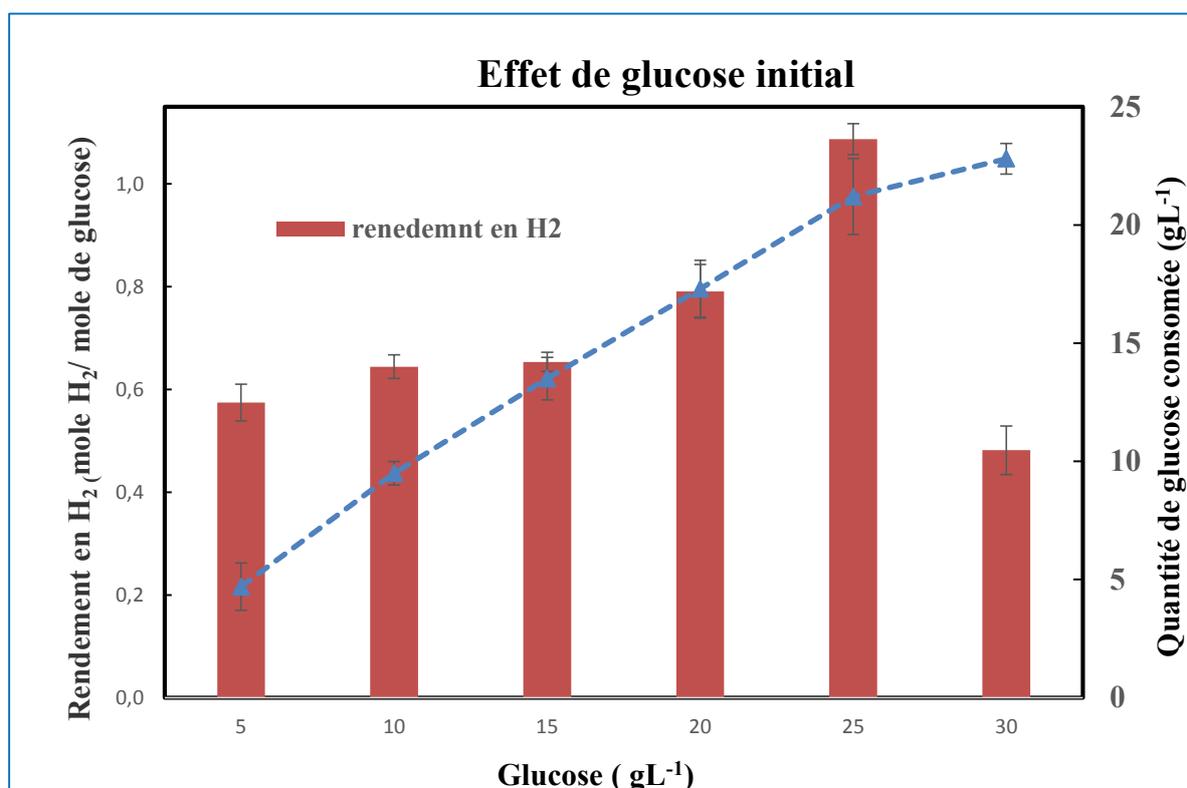


Figure V.46 : Effet de la concentration initiale de glucose sur la production de H₂ par des boues anaérobies traitées thermiquement. (Solution expérimentale de NH₄⁺ (0,86g.L⁻¹) ; pH= 6,5 ; concentration initiale de glucose : 25 g.L⁻¹).

Il est à noter que ce comportement est similaire à celui des boues prélevées dans le bassin biologique et cultivées sur un milieu synthétique d'ammonium (section II.1.1 de ce chapitre).

La variation du rendement de consommation de l'ammonium en fonction de la concentration initiale en glucose suit la même allure que celle de la production du dihydrogène (Tableau V.32). L'ammonium ne devient limitant qu'à partir de 25 g.L⁻¹ de glucose (98% de consommation – tableau V.32). La croissance bactérienne est également favorisée, puisqu'elle augmente de 10,5 g.L⁻¹ à 24 g.L⁻¹ pour une teneur initiale en glucose qui passe de 5 à 25 g.L⁻¹.

Tableau V.32 : Production de dihydrogène en fonction de la concentration initiale de glucose. Les incertitudes sont basées sur des expériences dupliquées. (Solution expérimentale de NH₄⁺; pH = 6,5 ; concentration initiale des boues anaérobies traitées thermiquement : 4 g.L⁻¹).

Glucose (g.L ⁻¹)	Consommation de glucose (%)	Consommation de NH ₄ ⁺ (%)	H ₂ (mol.L ⁻¹)	R _{CO₂/H₂} ^a	Inoculum (g.L ⁻¹)	pH Final
5	94,1 ± 3,3	41,1 ± 2,1	0,015 ± 0,007	0,4 ± 0,002	10,5 ± 3,9	5,8 ± 0,02
10	95,2 ± 0,7	59,7 ± 3,5	0,034 ± 0,008	0,2 ± 0,005	16 ± 0,8	4,7 ± 0,03
15	90,3 ± 1,5	74,4 ± 0,8	0,049 ± 0,002	0,15 ± 0,002	18 ± 0,5	4,8 ± 0,01
20	86,3 ± 5,9	78,2 ± 4,6	0,076 ± 0,007	0,1 ± 0,003	20 ± 3,3	4,9 ± 0,02
25	85,1 ± 1,5	98,8 ± 3,1	0,128 ± 0,053	0,025 ± 0,0006	21,5 ± 1,9	5,0 ± 0,02
30	69,1 ± 2,3	98 ± 0,3	0,061 ± 0,031	0,13 ± 0,007	24 ± 0,5	4,75 ± 0,02

^aR (CO₂/H₂) est le rapport entre la concentration en mole L⁻¹ de CO₂ et de H₂ produits à différentes concentrations en glucose

En conclusion pour des concentrations initiales en glucose inférieures à 15 g.L⁻¹ le glucose est le facteur limitant pour la croissance des bactéries productrices de dihydrogène et la quantité d'ammonium ajoutée initialement dans le milieu de culture est suffisante pour offrir l'apport azoté nécessaire à la croissance de l'inoculum bactérien.

Il est intéressant de signaler que quel que soit la concentration initiale en glucose le biogaz produit se compose principalement de dihydrogène et de dioxyde de carbone (Tableau V.32). Cependant de l'azote gazeux est probablement formé mais il est très difficilement quantifiable. En effet chaque milieu de culture est préalablement désaéré avec de l'azote gazeux, ce qui rend impossible la quantification du diazote formé, qui est très faible par rapport à celui utilisé pour la désaération. Finalement, comme aucune trace de méthane gazeux ni de N₂O n'a été détecté durant les expériences, le paramètre R (CO₂/H₂) pourra caractériser la pureté du biogaz.

A pH = 6,5 et indépendamment de la concentration initiale en glucose, la quantité de dioxyde de carbone produite reste très faible par rapport à la quantité de biohydrogène. Le rapport R (CO₂/H₂) varie de 0,4 à 0,025 pour des valeurs initiales de glucose variant de 5 à 25 g.L⁻¹ (Tableau V.32). Au-delà de 25 g.L⁻¹ en glucose le rapport R (CO₂/H₂) augmente de nouveau jusqu'à 0,13. Ces rapports sont beaucoup plus faibles que ceux enregistrés à pH 5,5 et 7,5 (section III.1 de ce chapitre), ce qui justifie de nouveau le choix du pH (6,5).

Les concentrations des différents métabolites dosés en phase liquide sont présentées dans le tableau V.33.

Tableau V.33 : Concentrations en métabolites liquides à différentes concentrations initiales en glucose. Les incertitudes sont basées sur des expériences dupliquées (Solution expérimentale de NH₄⁺ ; pH initial : 5,5 ; concentration initiale des boues anaérobies traitées thermiquement : 4 g.L⁻¹).

Glucose (g.L ⁻¹)	Acétaldéhyde (mg.L ⁻¹)	Ethanol (mg.L ⁻¹)	Ac acétique (mg.L ⁻¹)	ac butyrique (mg.L ⁻¹)	ac isobutyrique (mg.L ⁻¹)
5	4,2 ± 1,6	825 ± 101,5	437 ± 29,6	60 ± 13,0	78 ± 23,9
10	2,1 ± 0,6	515 ± 16,6	874 ± 84,4	30 ± 4,2	156 ± 18,2
15	7,1 ± 3,8	154 ± 50,3	1521 ± 203,4	300 ± 36,4	520 ± 59,7
20	4,3 ± 0,3	126 ± 25,1	1755 ± 219,1	554 ± 56,0	1945 ± 191,6
25	10,7 ± 3,0	111 ± 17,2	2101 ± 419,5	419 ± 85,0	1158 ± 265,8
30	3,5 ± 1,1	25 ± 2,3	3157 ± 321,0	1320 ± 199,4	1543 ± 79,4

A 5 g.L⁻¹ en glucose initial la production de biohydrogène s'accompagne principalement d'une formation d'éthanol (825 mg.L⁻¹) puis avec l'augmentation de la concentration en glucose le métabolisme est progressivement déplacé vers la voie acides acétiques-butyriques. Les concentrations des acides acétiques, butyriques et iso butyriques augmentent avec la teneur initiale en glucose, tandis que la concentration en éthanol diminue rapidement au-delà de 5 g.L⁻¹ de glucose. Ce comportement est en accord avec l'augmentation du rendement de production de dihydrogène avec un maximum (1,1 mole H₂/mole de glucose) obtenu pour 25 g.L⁻¹ de glucose (Figure V.46). Mais pour 30 g.L⁻¹ de glucose, une production excessive d'acide acétique (3157 mg.L⁻¹) inhibe le métabolisme de production de dihydrogène, ce qui se traduit par une chute du rendement de production du dihydrogène.

En conclusion, un pH égal à 6,5 et une concentration initiale en glucose de 25 g.L⁻¹ sont les conditions optimales pour la production de dihydrogène à partir d'une solution d'ammonium générée

électrochimiquement via des boues anaérobies collectées d'un digesteur anaérobies et prétraitées thermiquement. Ces conditions orientent le métabolisme du glucose vers la production d'acide acétique, qui est la voie de production du biohydrogène

III. 3. Comparaison des rendements de production du biohydrogène avec ceux de la littérature

Dans le but d'évaluer l'efficacité de production de dihydrogène, une comparaison est effectuée avec les rendements indiqués dans la littérature dans des conditions expérimentales similaires (étude en batch, glucose comme source de carbone, même pH optimal). Les résultats sont illustrés dans le tableau V.34.

Tableau V.34 : Comparaisons des rendements de production de biohydrogène avec quelques études de la littérature.

Type de Réacteur	Inoculum prétraité thermiquement	pH optimal	Substrat carboné	source d'azote	Rendement maximal (mole H ₂ /mole de glucose)	Référence
Batch	Boues de bassin d'aération	5,5	Glucose 15 g.L ⁻¹	NH ₄ ⁺ généré par électroreduction de NO ₃ ⁻	0,35	Cette étude
Batch	Boues de digesteur	6,5	Glucose 15 g.L ⁻¹	NH ₄ ⁺ généré par électroreduction de NO ₃ ⁻	1,1	Cette étude
Batch	Boues de digesteur	6,5	Glucose 3,75 g.L ⁻¹	NH ₄ Cl	0,5	[129]
Batch	Boues de digesteur	6,2	Glucose 3,2 g.L ⁻¹	NH ₄ Cl	0,96	[131]
Batch	<i>Enterobacter aérogenes</i> HO-39	6-7	Glucose 0,1%	Poly-peptones	1,0	[287]

La production de dihydrogène par des boues prélevées d'un digesteur anaérobie est supérieure aux boues activées issues de bassins d'aération. L'amélioration est significative puisque le rendement en dihydrogène est augmenté de 3,1 fois, passant de 0,35 mole H₂/mole de glucose (boues issues de bassins aérés) à 1,1 mole H₂/mole de glucose (boues issues de digesteurs).

Dans la majorité des études, la source azotée pour la production de dihydrogène est du chlorure d'ammonium ($\text{NH}_4^+, \text{Cl}^-$) commerciale [129,131,319]. Et, comme le montre le tableau V.34 le rendement en dihydrogène varie entre 0,5 [129] et 0,96 mole H_2 /mole de glucose [131] pour des boues anaérobies prétraitées thermiquement. Dans le cas d'une culture pure d'*enterobacter aerogenes* inoculée par une solution de poly-peptones comme source d'azote, le rendement est de 1,0 mole H_2 /mole de glucose [287], c'est-à-dire similaire à celui obtenu dans ce travail. Mais il est intéressant de noter que l'utilisation de la solution d'ammonium obtenue après traitement électrochimique des ions nitrate conduit à de meilleurs rendements en comparaison de ceux obtenus avec le même type d'inoculum (boues anaérobies) et sous les mêmes conditions expérimentales comme le montre le tableau V.34.

La production de dihydrogène obtenue avec un bon rendement (1,1 mole H_2 /mole de glucose) par le couplage d'un traitement électrochimique avec un système biologique est beaucoup plus avantageuse du point de vue environnemental et économique, en comparaison avec les procédés de fermentation obscure rapportés dans la littérature. En effet la méthode de production de biohydrogène développée dans cette étude permet de répondre à un problème environnemental majeur lié au traitement des effluents concentrés en nitrates issue des résines échangeuses d'ions. La source d'azote générée électrochimiquement est peu coûteuse et est facilement assimilable par les microorganismes. Au contraire les sources d'azotes commerciales utilisées habituellement dans les procédés biologiques de production de dihydrogène sont relativement coûteuses ; elles représentent 30 à 40% des coûts totaux de production du dihydrogène [208].

IV. CONCLUSION

L'objectif principal de ce travail était d'examiner la faisabilité de coupler un procédé électrochimique et un procédé biologique pour traiter des solutions concentrées en nitrates tout en produisant une quantité importante de biohydrogène. Dans ce processus intégré les ions nitrate (NO_3^-) de concentration égale à 3 g.L⁻¹ ont été convertis en ammonium en utilisant une cellule électrochimique à percolation développée au laboratoire. La sélectivité de la transformation en ammoniacale est très élevée, de l'ordre de 98,8% et correspond à une concentration de 0.86 g.L⁻¹. La solution d'ammonium est ensuite testée en tant que source d'azote pour des bactéries produisant du dihydrogène. Les études ont été faites dans un réacteur en mode batch en utilisant soit des boues activées collectées d'un bassin d'aération soit des boues prélevées d'un digesteur anaérobie.

Avec le premier type d'inoculum à pH 5,5 et pour une concentration initiale de 15 g.L⁻¹ de glucose, un rendement maximal de 0,35 mole H_2 /mole de glucose est obtenu. En revanche avec les boues

anaérobies, 1,1 mole H₂/mole de glucose sont produites à un pH de 6,5 et une concentration en glucose de 25 g.L⁻¹.

Cependant, pour les deux types d'inoculum, la production de dihydrogène conduit aux remarques suivantes :

- la fermentation est de type acides acétiques-butyriques ;
- l'acide acétique est le métabolite dominant par rapport aux acides gras volatiles;
- une consommation complète de la quantité d'ammonium présente initialement dans la solution d'électrolyse est obtenue.

En résumé les objectifs visés ont bien été atteints puisque, d'une part, une conversion électrochimique sélective et quantitative de NO₃⁻ en NH₄⁺ a été obtenue et, d'autre part, la solution d'ammonium obtenue a été complètement assimilée par la flore bactérienne pour produire une quantité significative de biohydrogène.

La simplicité et l'efficacité élevée de la production d'ammonium à partir d'effluents concentrés en nitrate ajouté au rendement conséquent de production de dihydrogène sont deux résultats qui encouragent l'utilisation d'ammonium généré électrochimiquement comme substituant aux substrats azotés commerciaux. Ces deux aspects peuvent participer à une ouverture des procédés biologiques de production de dihydrogène vers des applications à plus grande échelle.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives

L'objectif principal de ce travail a été de développer une méthode techniquement et économiquement fiable permettant une destruction quantitative et d'une manière respectueuse pour l'environnement de solutions concentrées en nitrates. Dans ce contexte, deux procédés différents ont été étudiés. Le premier consiste en deux procédés d'électrolyse successifs ayant comme objectif une transformation sélective et quantitative des nitrates en azote gazeux. Le deuxième est un couplage électrochimique / biologique dont le but est d'utiliser la solution d'ammonium obtenue après traitement électrochimique comme substrat azoté pour produire du biohydrogène *via* une culture bactérienne mixte. La finalité est de valoriser la solution ammoniacale sous formes de molécules à haute valeur ajoutée.

Une première étape commune aux deux procédés de traitement des nitrates étudiés dans ce travail consiste à réduire électrochimiquement les nitrates en ammonium. Cette étude a fait l'objet du chapitre III. Une recherche bibliographique a permis de sélectionner le cuivre comme matériau catalytique performant et sélectif pour la réduction des nitrates en ammonium. Ainsi, une électrode poreuse métallisée au cuivre de surface spécifique élevée ($2 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) et de faible densité ($0,265 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$) a pu être préparée par une technique particulière d'électrodéposition du cuivre sur un feutre de graphite préalablement métallisé au nickel. L'analyse du feutre métallisé au cuivre par microscopie électronique à balayage montre qu'un dépôt homogène de cuivre sur toutes les fibres du feutre a été obtenu aussi bien en surface qu'en profondeur. La méthode expérimentale est basée sur l'application d'une forte densité du courant d'électrodéposition en présence d'une faible concentration en ions métalliques, le tout étant couplé à un programme d'alternance d'application du courant.

Les électrodes poreuses de cuivre ont ensuite été utilisées comme cathode dans une cellule électrochimique à percolation pour réaliser la réduction d'une solution concentrée de nitrates à $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ en ammonium. Afin d'optimiser l'étape de transformation des nitrates en ammonium, l'influence du pH, du débit de la solution et de l'intensité du courant appliqué a été étudiée. Une conversion totale des nitrates en ammonium a pu être obtenue en un seul passage de la solution à travers l'électrode. Ainsi, les propriétés de l'électrode poreuse de cuivre, couplées au procédé par percolation permet d'obtenir une excellente sélectivité réactionnelle avec des rendements chimiques et faradiques élevés et ceci particulièrement dans un milieu neutre. A pH 7,2 en imposant un courant appliqué égal au courant théorique et avec un débit de $2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ une sélectivité maximale en NH_4^+ de 96 % et un rendement faradique élevé de 72 % sont obtenus pour la réaction de réduction des nitrates en ammonium. L'utilisation de ces conditions optimales pour étudier la réduction des nitrates en milieu

alcalin (NaOH 0,1 mol.L⁻¹) donne des résultats équivalents à ceux enregistrés en milieu neutre. En résumé dans ce chapitre un procédé électrochimique par percolation destiné à la transformation sélective et quantitative de solutions concentrées d'ions nitrate en ions ammonium a été développé.

Dans le quatrième chapitre, des solutions de nitrates de 3g.L⁻¹ sont transformées sous forme d'azote gazeux en utilisant un procédé couplant deux électrolyses successives. Dans une première étape, les nitrates ont été réduits en ions ammonium en appliquant les conditions optimales déterminées dans le chapitre précédent soit un débit de 2 mL.min⁻¹ et une intensité de courant de 1,24 A. Dans une seconde étape, les ions ammonium sont oxydés en azote sous l'action des ions hypochlorite (ClO⁻) lesquels résultent de l'oxydation d'ions chlorure sur une anode poreuse en feutre de graphite. Ces deux étapes sont réalisées simultanément dans une même cellule à percolation. Dans le but d'optimiser la sélectivité de la réaction de transformation des ions ammonium en azote gazeux, l'effet de la concentration initiale de NaCl, du pH du milieu, de la nature des contres électrodes, de l'intensité du courant appliquée et de la configuration de la cellule électrochimique (avec et sans membrane cationique) a été évalué. La sélectivité de la transformation des ions nitrate en azote s'est montrée très dépendante de la configuration de la cellule électrochimique. Les meilleurs résultats sont ainsi obtenus avec la cellule électrochimique à percolation équipée d'une membrane cationique et contenant une anode de platine et une autre de graphite, l'oxydation des ions chlorure ayant lieu sur le feutre de graphite. Dans cette configuration, les conditions optimales permettant de réaliser simultanément la réduction des nitrates en ammoniacque et l'oxydation de l'ammoniacque produit en azote ont été déterminées : un débit de 2 mL.min⁻¹, un milieu basique (NaOH 0,1 M), une concentration en NaCl de 10 g.L⁻¹ et un rapport de (i_{app}/i_{th}) égal à 1. Dans ces conditions, nous avons pu obtenir une excellente sélectivité réactionnelle en azote de 91,5 % avec des rendements chimiques (76%) et faradiques élevés (% CE 70 %) pour la réaction de réduction des nitrates en azote accompagné d'une consommation énergétique basse (5 kW.h/kg NO₃⁻). En conclusion, le taux élevé de transformation en diazote obtenu couplé à une baisse du coût énergétique s'est révélé très prometteur pour un développement du procédé à plus grande échelle.

Dans le dernier chapitre de ce manuscrit, la faisabilité de coupler un procédé électrochimique et un procédé biologique pour traiter des solutions concentrées en nitrates tout en produisant du biohydrogène a été confirmé. Dans ce processus intégré, dans un premier temps les solutions de nitrate (3 g.L⁻¹) ont été converties en ammonium en milieu fortement acide (H₃PO₄ 10⁻² mol.L⁻¹ + H₂SO₄ 5.10⁻² mol.L⁻¹), en utilisant la cellule électrochimique à percolation développée au laboratoire et sous les conditions optimales prédéterminées dans le chapitre III. La sélectivité de la transformation

en ammonium étant très élevée, de l'ordre de 98,8%, une solution contenant majoritairement des ions ammonium à une concentration de 0,86 g.L⁻¹ est obtenue. La solution d'ammonium est ensuite testée en tant que source d'azote pour des bactéries produisant du dihydrogène.

Les études biologiques sont réalisées dans un premier temps à l'aide de boues activées collectées d'un bassin d'aération puis à l'aide des boues prélevées d'un digesteur anaérobie. La production de dihydrogène est réalisée selon un mode « batch » et est optimisée en étudiant l'influence du pH du milieu et de la concentration de glucose ajouté au milieu de culture, comme source de carbone pour les boues prétraitées thermiquement.

Avec le premier type d'inoculum à pH 5,5 et pour une concentration initiale de 15 g.L⁻¹ de glucose, un rendement maximal de 0,35 mole H₂/mole de glucose est obtenu. En revanche avec les boues anaérobies, 1,1 mole H₂/mole de glucose sont produites à un pH de 6,5 et une concentration en glucose de 25 g.L⁻¹. Cependant, pour les deux types d'inoculum, la production de dihydrogène a pu être observée alors qu'une consommation complète de la quantité d'ammonium présent initialement dans la solution d'électrolyse avait pu être réalisée.

Il est à noter que ces travaux constituent la première étude cherchant à combiner la réduction électrochimique des nitrates en ammonium et l'utilisation de la solution d'ammonium générée électrochimiquement comme substituant aux sources d'azote commerciales pour produire du biohydrogène. Ces résultats préliminaires sont très prometteurs pour un traitement efficace et valorisé les solution de nitrate. En effet, les objectifs visés ont bien été atteints puisque, d'une part, une conversion électrochimique sélective et quantitative de NO₃⁻ en NH₄⁺ a été obtenue et, d'autre part, la solution d'ammonium préparée a été complètement assimilée par la flore bactérienne pour produire une quantité significative de biohydrogène.

Ces travaux ont été réalisés avec des solutions préparées à partir de sel de nitrate commerciaux dont la concentration est similaire à celle obtenue après traitement par des résines échangeuses d'ions de l'eau contaminée par des ions nitrate. La production biologique de dihydrogène *via* des boues anaérobies prétraitées thermiquement est réalisée selon un mode « batch » dans des flacons en verre de 125mL. Sous ces conditions un rendement de production de dihydrogène égal à 1,1 mole H₂/mole de glucose est produit. Ainsi, il serait intéressant d'effectuer les travaux suivants pour compléter cette étude :

- Réaliser le traitement électrochimique sur des effluents réels concentrés en ions nitrate issus d'industries ou des résines échangeuses d'ions et tester les solutions d'ammoniums résultants comme substrat azotés pour les bactéries productrices de dihydrogène.
- Convertir les ions nitrate en azote gazeux par électrolyses successives dans un réacteur électrochimique de dimensions plus grandes (échelle pilote) en prenant en considération les surfaces des électrodes par rapport au volume traité. Cela permettrait en effet de vérifier la possibilité de traiter des volumes plus importants et l'applicabilité du procédé à l'échelle d'une éventuelle station de traitement d'eau.
- Utiliser des Réacteurs Séquentiels Discontinus ou continus pour produire du biohydrogène. Si ceux-ci nécessitent une certaine prise en main comparés aux simples réacteurs batch utilisés dans le cadre de ces travaux, ils présenteraient très probablement, grâce à leur flexibilité, de meilleures performances et de meilleurs rendements de production de dihydrogène.
- L'étape ultime sera alors de coupler le traitement électrochimique des ions nitrate présents dans des effluents réels à fortes charges organiques en utilisant un réacteur électrochimique à percolation de grande dimension (échelle pilote) avec la production biologique de dihydrogène dans un bioréacteur en continu. Cela rendrait le procédé combiné beaucoup plus économique permettant d'envisager alors une application à l'échelle industrielle.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] L. Paugam, S. Taha, J. Cabon, N. Gondrexon, G. Dorange, Nanofiltration de solutions de nitrate d'ammonium. Étude des paramètres influents, *Rev. Sci. Eau*. 14 (2001) 511–523.
- [2] J.N. Galloway, F.J. Dentener, D.G. Capone, E.W. Boyer, R.W. Howarth, S.P. Seitzinger, et al., Nitrogen cycles: past, present, and future, *Biogeochemistry*. 70 (2004) 153–226.
- [3] L.J. Puckett, Identifying the major sources of nutrient water pollution, *Environ. Sci. Technol.* 29 (1995) 408–414.
- [4] P.M. Vitousek, J.D. Aber, R.W. Howarth, G.E. Likens, P.A. Matson, D.W. Schindler, et al., Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences, *Ecol. Appl.* 7 (1997) 737–750.
- [5] I. Bogardi, R.D. Kuzelka, W.G. Ennenga, Nitrate contamination: exposure, consequence, and control, *NATO ASI Ser. Ser. G Ecol. Sci. USA*. (1991).
- [6] S.S. Mirvish, The significance for human health of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds, in: *Nitrate Contam.*, Springer, 1991: pp. 253–266.
- [7] C. Directive, 80/778/EEC [European Economic Community] concerning the quality of drinking water intended for human consumption, July, 1980.
- [8] W.H. Organization, Rolling Revision of the WHO Guidelines for Drinking-Waters Quality, Nitrates and Nitrites in Drinking-Waters, World Health Organ. (2004).
- [9] Christophe, Jennifer, Etude de l'électroactivité du cuivre pour la réduction du dioxyde de carbone et pour la réduction de l'ion nitrate / Jennifer Christophe, Faculté des sciences - Bruxelles, 2007.
- [10] Y. Wang, J. Qu, R. Wu, P. Lei, The electrocatalytic reduction of nitrate in water on Pd/Sn-modified activated carbon fiber electrode, *Water Res.* 40 (2006) 1224–1232.
- [11] V. Mateju, S. Cizinska, J. Krejci, T. Janoch, Biological water denitrification—A review, *Enzyme Microb. Technol.* 14 (1992) 170–183.
- [12] L. Foglar, F. Briški, L. Sipos, M. Vuković, High nitrate removal from synthetic wastewater with the mixed bacterial culture, *Bioresour. Technol.* 96 (2005) 879–888.
- [13] D. Reyter, D. Bélanger, L. Roué, Nitrate removal by a paired electrolysis on copper and Ti/IrO₂ coupled electrodes – Influence of the anode/cathode surface area ratio, *Water Res.* 44 (2010) 1918–1926.

- [14] N. Aouina, Réduction électrochimique des ions nitrate et nitrite sur électrode de cuivre, en milieu neutre: Apport à la compréhension du mécanisme réactionnel., Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2010.
- [15] N. Bolong, A. Ismail, M.R. Salim, T. Matsuura, A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal, *Desalination*. 239 (2009) 229–246.
- [16] M. Li, C. Feng, Z. Zhang, Z. Shen, N. Sugiura, Electrochemical reduction of nitrate using various anodes and a Cu/Zn cathode, *Electrochem Commun*. 11 (2009) 1853–1856.
- [17] C. Burton, V. Jaouen, J. Martinez, Traitement des effluents d'élevage des petites et moyennes exploitations: Guide technique à l'usage des concepteurs, bureaux d'études et exploitants, Quae éditions, 2007.
- [18] B. Talhi, Optimisation de la réduction des nitrates par voie électrochimique, École de technologie supérieure, 2010.
- [19] K. Rajeshwar, J.G. Ibanez, Environmental electrochemistry: Fundamentals and applications in pollution sensors and abatement, Academic Press, 1997.
- [20] M. Dortsiou, G. Kyriacou, Electrochemical reduction of nitrate on bismuth cathodes, *J. Electroanal. Chem*. 630 (2009) 69–74.
- [21] S. Ghafari, M. Hasan, M.K. Aroua, Bio-electrochemical removal of nitrate from water and wastewater—a review, *Bioresour. Technol*. 99 (2008) 3965–3974.
- [22] J.A. Camargo, A. Alonso, A. Salamanca, Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates, *Chemosphere*. 58 (2005) 1255–1267.
- [23] H.D. Doan, J. Wu, R. Mitzakov, Combined electrochemical and biological treatment of industrial wastewater using porous electrodes, *J. Chem. Technol. Biotechnol*. 81 (2006) 1398–1408.
- [24] W.G. Hopkins, *Physiologie végétale*, De Boeck Supérieur, 2003.
- [25] L. Idrissi, Etude et développement de nouvelles méthodes électrochimiques pour la détermination des ions orthophosphate, nitrite, nitrate et ammonium, Université Mohammed V - Agdal, Faculté des Sciences, Rabat, 2006.
- [26] Z. Feleke, Y. Sakakibara, A bio-electrochemical reactor coupled with adsorber for the removal of nitrate and inhibitory pesticide, *Water Res*. 36 (2002) 3092–3102.
- [27] J. Shen, R. He, W. Han, X. Sun, J. Li, L. Wang, Biological denitrification of high-nitrate wastewater in a modified anoxic/oxic-membrane bioreactor (A/O-MBR), *J. Hazard. Mater*. 172 (2009) 595–600.
- [28] M.W. Killingstad, M.A. Widdowson, R.L. Smith, Modeling enhanced in situ denitrification in groundwater, *J. Environ. Eng*. 128 (2002) 491.

- [29] N. Wehbe, Dénitratation de l'eau potable en réacteur catalytique membranaire et photocatalytique, Université Claude Bernard - Lyon I, 2008.
- [30] A. Brun, Les politiques territoriales de l'eau en France: le cas des contrats de rivière dans le bassin versant de la Saône, INAPG (AgroParisTech), 2003.
- [31] E. McAdam, S. Judd, A review of membrane bioreactor potential for nitrate removal from drinking water, *Desalination*. 196 (2006) 135–148.
- [32] A. Bhatnagar, M. Sillanpää, A review of emerging adsorbents for nitrate removal from water, *Chem. Eng. J.* 168 (2011) 493–504.
- [33] B. Gingras, J.M. Leclerc, P. Chevalier, D.G. Bolduc, M. Laferrière, S.H. Fortin, Les risques à la santé publique associés aux activités de production animale, *Dir. Santé Publique Inst. Natl. Santé Publique Cent. Hosp. Univ. Qué. Doc. Numéro SANTE8*. (2002).
- [34] P. Levallois, M. Theriault, J. Rouffignat, S. Tessier, R. Landry, P. Ayotte, et al., Groundwater contamination by nitrates associated with intensive potato culture in Quebec, *Sci. Total Environ.* 217 (1998) 91–101.
- [35] M. Shrimali, K. Singh, New methods of nitrate removal from water, *Environ. Pollut.* 112 (2001) 351–359.
- [36] S. Samatya, N. Kabay, Ü. Yüksel, M. Arda, M. Yüksel, Removal of nitrate from aqueous solution by nitrate selective ion exchange resins, *React. Funct. Polym.* 66 (2006) 1206–1214.
- [37] A. El Midaoui, F. Elhannouni, M. Taky, L. Chay, M.A. Menkouchi Sahli, L. Echihabi, et al., Optimization of nitrate removal operation from ground water by electrodialysis, *Sep. Purif. Technol.* 29 (2002) 235–244.
- [38] J. Schoeman, A. Steyn, Nitrate removal with reverse osmosis in a rural area in South Africa, *Desalination*. 155 (2003) 15–26.
- [39] K. Inazu, M. Kitahara, K. Aika, Decomposition of ammonium nitrate in aqueous solution using supported platinum catalysts, *Catal. Today*. 93 (2004) 263–271.
- [40] M.-O. Ratel, Elimination des nitrates de l'eau potable, Office international de l'eau, 1992.
- [41] W. Mook, M. Chakrabarti, M. Aroua, G. Khan, B. Ali, M. Islam, et al., Removal of total ammonia nitrogen (TAN), nitrate and total organic carbon (TOC) from aquaculture wastewater using electrochemical technology: A review, *Desalination*. (2011).
- [42] H. Strathmann, Electrodialysis, a mature technology with a multitude of new applications, *Desalination*. 264 (2010) 268–288.
- [43] V.M. Monsalvo, A. FERNANDEZ MOHEDANO, J.J. Rodriguez, Activated carbons from sewage sludge Application to aqueous-phase adsorption of 4-chlorophenol, *Desalination*. 277 (2011) 377–382.

- [44] A.D. Fonseca, Denitrification in Membrane Bioreactors, Virginia Polytechnic Institute and State University, 1999.
- [45] W. Fuchs, G. Schatzmayr, R. Braun, Nitrate removal from drinking water using a membrane-fixed biofilm reactor, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48 (1997) 267–274.
- [46] S. Biswas, P. Bose, Zero-valent iron-assisted autotrophic denitrification, *J. Environ. Eng.* 131 (2005) 1212–1220.
- [47] M.A. Gomez, J.M. Galvez, E. Hontoria, J. González-López, Influence of ethanol concentration on biofilm bacterial composition from a denitrifying submerged filter used for contaminated groundwater, *J. Biosci. Bioeng.* 95 (2003) 245–251.
- [48] B.O. Mansell, E.D. Schroeder, Biological denitrification in a continuous flow membrane reactor, *Water Res.* 33 (1999) 1845–1850.
- [49] G.E. Badea, Electrocatalytic reduction of nitrate on copper electrode in alkaline solution, *Electrochimica Acta.* 54 (2009) 996–1001.
- [50] B.L. Brazil, Performance and operation of a rotating biological contactor in a tilapia recirculating aquaculture system, *Aquac. Eng.* 34 (2006) 261–274.
- [51] Y.J. Chan, M.F. Chong, C.L. Law, D. Hassell, A review on anaerobic-aerobic treatment of industrial and municipal wastewater, *Chem. Eng. J.* 155 (2009) 1–18.
- [52] P. Chowdhury, T. Viraraghavan, A. Srinivasan, Biological treatment processes for fish processing wastewater – A review, *Bioresour. Technol.* 101 (2010) 439–449.
- [53] A.A. delos Reyes Jr, T.B. Lawson, Combination of a bead filter and rotating biological contactor in a recirculating fish culture system, *Aquac. Eng.* 15 (1996) 27–39.
- [54] D. Leyval, M. Fick, Etudes cinétiques, physiologiques et modélisation de la dénitrification par une culture mixte en bioréacteurs, Institut national polytechnique de Lorraine, 2000.
- [55] R. Crab, M. Kochva, W. Verstraete, Y. Avnimelech, Bio-flocs technology application in overwintering of tilapia, *Aquac. Eng.* 40 (2009) 105–112.
- [56] C. Martins, E. Eding, M. Verdegem, L. Heinsbroek, O. Schneider, J.P. Blancheton, et al., New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability, *Aquac. Eng.* 43 (2010) 83–93.
- [57] D. Clifford, L. Xiaosha, Ion exchange for nitrate removal, *J.-Am. Water Works Assoc.* 85 (1993) 135–143.
- [58] J.P. Van Der Hoek, A. Klapwijk, Nitrate removal from ground water, *Water Res.* 21 (1987) 989–997.

- [59] J.P. van der Hoek, P.J. van der Ven, A. Klapwijk, Combined ion exchange/biological denitrification for nitrate removal from ground water under different process conditions, *Water Res.* 22 (1988) 679–684.
- [60] J.P. Van Der Hoek, J. Verheijen, P.I.M. Vis, A. Klapwijk, Disinfection of anion exchange resins in the combined ion exchange/biological dinitrification process. I: Effect on water quality, *Z. Für Wasser- Abwasser-Forsch.* 20 (1987) 155–160.
- [61] G. Claus, H.J. Kutzner, Physiology and kinetics of autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 22 (1985) 283–288.
- [62] M. Soares, Biological denitrification of groundwater, *Water. Air. Soil Pollut.* 123 (2000) 183–193.
- [63] M.E.H. Rojas, Bioréacteur à membranes immergées pour le traitement d'eaux usées domestiques: influence des conditions biologiques sur les performances du procédé, Institut National Polytechnique de Toulouse, 2006.
- [64] B.O. Mansell, E.D. Schroeder, Hydrogenotrophic denitrification in a microporous membrane bioreactor, *Water Res.* 36 (2002) 4683–4690.
- [65] A.D. Fonseca, J.G. Crespo, J.S. Almeida, M.A. Reis, Drinking water denitrification using a novel ion-exchange membrane bioreactor, *Environ. Sci. Technol.* 34 (2000) 1557–1562.
- [66] M. Kraume, A. Drews, Membrane Bioreactors in Waste Water Treatment – Status and Trends, *Chem. Eng. Technol.* 33 (2010) 1251–1259.
- [67] D. Bahnemann, J. Cunningham, M.A. Fox, E. Pelizzetti, P. Pichat, N. Serpone, et al., Aquatic and surface photochemistry, Lewis Boca Raton FL. (1994) 261.
- [68] I. Oller, S. Malato, J.A. Sánchez-Pérez, Combination of advanced oxidation processes and biological treatments for wastewater decontamination—a review, *Sci. Total Environ.* 409 (2011) 4141–4166.
- [69] F. Zaviska, P. Drogui, G. Mercier, J.F. Blais, Procédés d'oxydation avancée dans le traitement des eaux et des effluents industriels: Application à la dégradation des polluants réfractaires, (2009).
- [70] C. Galey, D. Paslawski, Elimination des micropolluants par l'ozone couplé avec le peroxyde d'hydrogène dans le traitement de potabilisation de l'eau, *Eau Ind. Nuis.* (1993) 46–49.
- [71] J. Mack, J.R. Bolton, Photochemistry of nitrite and nitrate in aqueous solution: a review, *J. Photochem. Photobiol. Chem.* 128 (1999) 1–13.
- [72] M. Doré, Chimie des oxydants et traitement des eaux, Lavoisier Paris, France, 1989.
- [73] P. Striolo, J. Besombes-Vailhé, Oxydation d'effluents organiques aqueux par le peroxyde d'hydrogène à haute température, 1992.

- [74] M. Millet, L'oxygène et les radicaux libres. I, Bios. 23 (1992) 67–70.
- [75] D. Meyerstein, A. Treinin, Absorption spectra of NO₃⁻ in solution, Trans. Faraday Soc. 57 (1961) 2104–2112.
- [76] P. King, V. Anderson, J. Edwards, G. Gustafson, R. Plumb, J. Suggs, A stable solid that generates hydroxyl radical upon dissolution in aqueous solutions: reaction with proteins and nucleic acid, J. Am. Chem. Soc. 114 (1992) 5430–5432.
- [77] P. Bilski, C. Chignell, J. Szychlinski, A. Borkowski, E. Oleksy, K. Reszka, Photooxidation of organic and inorganic substrates during UV photolysis of nitrite anion in aqueous solution, J. Am. Chem. Soc. 114 (1992) 549–556.
- [78] R.J.H. Clark, R.E. Hester, Spectroscopy in environmental science, John Wiley & Son Ltd, 1995.
- [79] J. Suzuki, T. Sato, A. Ito, S. Suzuki, Mutagen formation and nitration by exposure of phenylphenols to sunlight in water containing nitrate or nitrite ion, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 45 (1990) 516–522.
- [80] M. Grätzel, S. Taniguchi, A. Henglein, Pulsradiolytische Untersuchung der NO-Oxydation und des Gleichgewichts $N_2O_3 \rightleftharpoons NO + NO_2$ in wässriger Lösung, Berichte Bunsenges. Für Phys. Chem. 74 (1970) 488–492.
- [81] A. Torrents, B.G. Anderson, S. Bilbouljian, W.E. Johnson, C.J. Hapeman, Atrazine photolysis: mechanistic investigations of direct and nitrate-mediated hydroxy radical processes and the influence of dissolved organic carbon from the Chesapeake Bay, Environ. Sci. Technol. 31 (1997) 1476–1482.
- [82] J. Suzuki, T. Hagino, S. Suzuki, Formation of 1-nitropyrene by photolysis of pyrene in water containing nitrite ion, Chemosphere. 16 (1987) 859–867.
- [83] C. Minero, F. Bono, F. Rubertelli, D. Pavino, V. Maurino, E. Pelizzetti, et al., On the effect of pH in aromatic photonitration upon nitrate photolysis, Chemosphere. 66 (2007) 650–656.
- [84] A. Alif, P. Boule, J. Lemaire, Photochemistry and environment XII: Phototransformation of 3-nitrophenol in aqueous solution, J. Photochem. Photobiol. Chem. 50 (1990) 331–342.
- [85] G. Schedel, D. Lenoir, P. Boule, Phototransformation of monochlorophenols induced by excitation of nitrate ions, Chemosphere. 22 (1991) 1063–1069.
- [86] F. Machado, P. Boule, Photonitration and photonitrosation of phenolic derivatives induced in aqueous solution by excitation of nitrite and nitrate ions, J. Photochem. Photobiol. Chem. 86 (1995) 73–80.
- [87] J.F. Pilichowski, P. Boule, J.P. Billard, Comportement photochimique du 4-nitrosophenol en solution aqueuse, Can. J. Chem. 73 (1995) 2143–2147.

- [88] J. Virkutyte, V. Jegatheesan, Electro-Fenton, hydrogenotrophic and Fe²⁺ ions mediated TOC and nitrate removal from aquaculture system: Different experimental strategies, *Bioresour. Technol.* 100 (2009) 2189–2197.
- [89] M. Dortsiou, I. Katsounaros, C. Polatides, G. Kyriacou, Electrochemical removal of nitrate from the spent regenerant solution of the ion exchange, *Desalination.* 248 (2009) 923–930.
- [90] I. Katsounaros, D. Ipsakis, C. Polatides, G. Kyriacou, Efficient electrochemical reduction of nitrate to nitrogen on tin cathode at very high cathodic potentials, *Electrochimica Acta.* 52 (2006) 1329–1338.
- [91] E. Lacasa, P. Cañizares, J. Llanos, M.A. Rodrigo, Effect of the cathode material on the removal of nitrates by electrolysis in non-chloride media, *J. Hazard. Mater.* 213–214 (2012) 478–484.
- [92] A.S. Lima, M.O. Salles, T.L. Ferreira, T.R.L.C. Paixão, M. Bertotti, Scanning electrochemical microscopy investigation of nitrate reduction at activated copper cathodes in acidic medium, *Electrochimica Acta.* 78 (2012) 446–451.
- [93] A. De Vooy, R. Van Santen, J. Van Veen, Electrocatalytic reduction of NO₃⁻ on palladium/copper electrodes, *J. Mol. Catal. Chem.* 154 (2000) 203–215.
- [94] J.F.E. Gootzen, P.G.J.M. Peeters, J.M.B. Dukers, L. Lefferts, W. Visscher, J.A.R. van Veen, The electrocatalytic reduction of NO₃⁻ on Pt, Pd and Pt + Pd electrodes activated with Ge, *J. Electroanal. Chem.* 434 (1997) 171–183.
- [95] M. Li, C. Feng, Z. Zhang, N. Sugiura, Efficient electrochemical reduction of nitrate to nitrogen using Ti/IrO₂-Pt anode and different cathodes, *Electrochimica Acta.* 54 (2009) 4600–4606.
- [96] D. Reyter, D. Belanger, L. Roue, Study of the electroreduction of nitrate on copper in alkaline solution, *Electrochimica Acta.* 53 (2008) 5977–5984.
- [97] T. Ohmori, M.S. El-Deab, M. Osawa, Electroreduction of nitrate ion to nitrite and ammonia on a gold electrode in acidic and basic sodium and cesium nitrate solutions, *J. Electroanal. Chem.* 470 (1999) 46–52.
- [98] A.S. Lima, M.O. Salles, T.L. Ferreira, T.R.L.C. Paixão, M. Bertotti, Scanning electrochemical microscopy investigation of nitrate reduction at activated copper cathodes in acidic medium, *Electrochimica Acta.* 78 (2012) 446–451.
- [99] M.H. Chakrabarti, M. Saleem, M.F. Irfan, S. Raza, D. Hasan, W. Daud, Application of Waste Derived Activated Carbon Felt Electrodes in Minimizing NaCl Use for Electrochemical Disinfection of Water, *Int J Electrochem Sci.* 6 (2011) 4470–4480.
- [100] D. Reyter, D. Bélanger, L. Roué, Optimization of the cathode material for nitrate removal by a paired electrolysis process, *J. Hazard. Mater.* 192 (2011) 507–513.

- [101] Y. Vanlangedonck, D. Corbisier, D. Van Lierde, Electrodegradation des ions nitrates et de l'ammoniaque des effluents de centrale électrique technique ElonitaTM, (2004).
- [102] D. Pletcher, Z. Poorabedi, The reduction of nitrate at a copper cathode in aqueous acid, *Electrochimica Acta*. 24 (1979) 1253–1256.
- [103] K. Bouzek, M. Paidar, A. Sadilkova, H. Bergmann, Electrochemical reduction of nitrate in weakly alkaline solutions, *J. Appl. Electrochem.* 31 (2001) 1185–1193.
- [104] C. Lamoureux, C. Moinet, A. Tallec, An electrolysis cell with close consecutive flow-through porous electrodes for particular organic electrosynthesis, *J. Appl. Electrochem.* 16 (1986) 819–824.
- [105] M. Do Trong, Mise au point du fonctionnement d'un réacteur pilote à anode en lit fluidisé pour les traitements des effluents industriels par oxydation électrochimique, Faculte des ktudes supérieures et de la recherche, 1999.
- [106] D. Floner, F. Geneste, Homogeneous coating of graphite felt by nickel electrodeposition to achieve light nickel felts with high surface area, *Electrochem. Commun.* 9 (2007) 2271–2275.
- [107] M. Coulon, C. Reynvaan, J. Maire, Le carbone en électrotechnique, *Tech. Ing. Matér. Fonct.* N3 (1994).
- [108] F. Cœuret, Conductivité Electrique Apparente de Lits Fixes Non-Consolidés de Matériaux Carbonés Utilisés comme Electrodes Poreuses, *J New Mat Electrochem Syst.* 10 (2007) 255–262.
- [109] S. Petit Moussailly, V. Le Bacle, R. Vincent, others, Les fibres de carbone et de graphite. Eléments pour une évaluation du risque, *Doc. Pour Med. Trav.* (2002).
- [110] N.A. Salles, F. Fourcade, F. Geneste, D. Floner, A. Amrane, Relevance of an electrochemical process prior to a biological treatment for the removal of an organophosphorous pesticide, phosmet, *J. Hazard. Mater.* 181 (2010) 617–623.
- [111] G. Chamoulaud, D. Floner, C. Moinet, C. Lamy, E.M. Belgsir, Biomass conversion II: simultaneous electrosyntheses of furoic acid and furfuryl alcohol on modified graphite felt electrodes, *Electrochimica Acta*. 46 (2001) 2757–2760.
- [112] D. Floner, L. Laglaine, C. Moinet, Indirect electrolysis involving an ex-cell two-phase process. Reduction of nitrobenzenes with a titanium complex as mediator, *Electrochimica Acta*. 42 (1997) 525–529.
- [113] C. Moinet, Electrosynthèse organique en continu. Méthodes directes et indirectes, *J. Phys. IV.* 4 (1994) C1–175.
- [114] A. Col, M. Colombié, L'emboutissage des aciers, Dunod, 2010.
- [115] B. Nguyen, Electrodeposition par courants pulsés, Ed. Techniques Ingénieur, 1998.

- [116] N. Kanani, *Electroplating: basic principles, processes and practice*, Elsevier Science, 2004.
- [117] A. Mallik, *Effects of Temperature and Ultrasound on Nucleation Behavior during Electrochemical Synthesis of Copper Thin Films*, 2010.
- [118] H.G. Creutz, R.W. Herr, others, *Electrodeposition of copper*, Google Patents, 1978.
- [119] V.S. Donepudi, R. Venkatachalapathy, P.O. Ozemoyah, C.S. Johnson, J. Prakash, *Electrodeposition of copper from sulfate electrolytes: Effects of Thiourea on resistivity and electrodeposition mechanism of copper*, *Electrochem. Solid-State Lett.* 4 (2001) C13–C16.
- [120] L. Greenspan, *Electrodeposition of copper*, Google Patents, 1940.
- [121] D. Grujicic, B. Pesic, *Electrodeposition of copper: the nucleation mechanisms*, *Electrochimica Acta.* 47 (2002) 2901–2912.
- [122] A.M. Max, *Electrodeposition of copper*, Google Patents, 1949.
- [123] R.P. Nevers, *Electrodeposition of copper*, Google Patents, 1954.
- [124] F. Passal, *Electrodeposition of copper*, Google Patents, 1962.
- [125] S. Varvara, L. Muresan, I.C. Popescu, G. Maurin, *Copper electrodeposition from sulfate electrolytes in the presence of hydroxyethylated 2-butyne-1, 4-diol*, *Hydrometallurgy.* 75 (2004) 147–156.
- [126] S. Zein El Abedin, A.Y. Saad, H.K. Farag, N. Borisenko, Q.X. Liu, F. Endres, *Electrodeposition of selenium, indium and copper in an air- and water-stable ionic liquid at variable temperatures*, *NANOSCALE Electrochem. Mater. Sci. CHARACTERISATION Appl. Sel. Pap. 4th ISE Spring Meet. 17-20 April 2006.* 52 (2007) 2746–2754.
- [127] C.L. Hussey, L.A. King, R.A. Carpio, *The electrochemistry of copper in a room temperature acidic chloroaluminate melt*, *J. Electrochem. Soc.* 126 (1979) 1029–1034.
- [128] C. Nanjundiah, R.A. Osteryoung, *Electrochemical Studies of Cu (I) and Cu (II) in an Aluminum Chloride-N-(n-Butyl) Pyridinium Chloride Ionic Liquid*, *J. Electrochem. Soc.* 130 (1983) 1312–1318.
- [129] M.B. Salerno, W. Park, Y. Zuo, B.E. Logan, *Inhibition of biohydrogen production by ammonia*, *Water Res.* 40 (2006) 1167–1172.
- [130] D. Karadag, A.E. Mäkinen, E. Efimova, J.A. Puhakka, *Thermophilic biohydrogen production by an anaerobic heat treated-hot spring culture*, *Bioresour. Technol.* 100 (2009) 5790–5795.
- [131] S.-E. Oh, S. Van Ginkel, B.E. Logan, *The relative effectiveness of pH control and heat treatment for enhancing biohydrogen gas production*, *Environ. Sci. Technol.* 37 (2003) 5186–5190.
- [132] C. Couturier, S. Berger, I. Meiffren, *La digestion anaérobie des boues urbaines: état des lieux, état de l'art*, *Toulouse SolagroAgence Eau Adour Garonne.* 36 (2001).

- [133] J.-M. Fontmorin, F. Fourcade, F. Geneste, D. Floner, S. Huguet, A. Amrane, Combined process for 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid treatment—Coupling of an electrochemical system with a biological treatment, *Biochem. Eng. J.* 70 (2013) 17–22.
- [134] M. Mayor, G. Bourrié, Validation d'une méthode de chimie analytique, (https://www.inra.fr/content/download/26244/339730/version/1/file/117_mayor_valid-1.pdf (accessed March 13, 2014).
- [135] D.S. Frear, R.C. Burrell, Spectrophotometric method for determining hydroxylamine reductase activity in higher plants, *Anal. Chem.* 27 (1955) 1664–1665.
- [136] A.E. Greenberg, L.S. Clesceri, A.D. Eaton, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, American Public Health Association, Washington, DC, (1992).
- [137] Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, Détermination de l'hydrazine: méthode colorimétrique-MA. 315 - Hydrazine 1.0, (2011).
- [138] J. Caporal-Gautier, J.M. Nivet, P. Algranti, M. Guilloteau, M. Histe, M. Lallier, et al., Guide de validation analytique. Rapport d'une commission SFSTP. I: Méthodologie, *STP Pharma Prat.* 2 (1992) 205–226.
- [139] I.T. Somé, M.-N. Zagré, P.E. Kafando, M.A. Bendeck, S.K. Baker, H. Deslile, et al., Validation d'une méthode de dosage des caroténoïdes par CLHP : application à la détermination de teneur en caroténoïdes dans dix variétés de patates douces (*Ipomea batata*), *Comptes Rendus Chim.* 7 (2004) 1063–1071.
- [140] D. MacDougall, W.B. Crummett, Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in environmental chemistry, *Anal. Chem.* 52 (1980) 2242–2249.
- [141] S.J. Tabatabaei, M. Yusefi, J. Hajiloo, Effects of shading and NO₃:NH₄ ratio on the yield, quality and N metabolism in strawberry, *Sci. Hortic.* 116 (2008) 264–272.
- [142] T.A. Nell, J.E. Barrett, Nitrate-ammonium nitrogen ratio and fertilizer application method influence bract necrosis and growth of poinsettia, *HortScience.* 20 (1985) 1130–1131.
- [143] T. Sadat Taghavi, M. Babalar, The effect of nitrate and plant size on nitrate uptake and in vitro nitrate reductase activity in strawberry (*Fragaria × ananassa* cv. Selva), *Sci. Hortic.* 112 (2007) 393–398.
- [144] M. Da Cunha, J.P.I. De Souza, F.C. Nart, Reaction pathways for reduction of nitrate ions on platinum, rhodium, and platinum-rhodium alloy electrodes, *Langmuir.* 16 (2000) 771–777.
- [145] T.Y. Safonova, O.A. Petrii, Effect of inorganic cations on the electroreduction of nitrate anions on Pt|Pt electrodes in sulfuric acid solutions, *J. Electroanal. Chem.* 448 (1998) 211–216.
- [146] S.J. Hsieh, A.A. Gewirth, Nitrate reduction catalyzed by underpotentially deposited Cd on Au (111): Identification of the electroactive surface structure, *Langmuir.* 16 (2000) 9501–9512.

- [147] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical methods: fundamentals and applications*, Alibazaar, 2006.
- [148] P. Clauwaert, J. Desloover, C. Shea, R. Nerenberg, N. Boon, W. Verstraete, Enhanced nitrogen removal in bio-electrochemical systems by pH control, *Biotechnol. Lett.* 31 (2009) 1537–1543.
- [149] Y. Sakakibara, T. Nakayama, A novel multi-electrode system for electrolytic and biological water treatments::: electric charge transfer and application to denitrification, *Water Res.* 35 (2001) 768–778.
- [150] X. Mao, A. Ciblak, K. Baek, M. Amiri, R. Loch-Caruso, A.N. Alshwabkeh, Optimization of electrochemical dechlorination of trichloroethylene in reducing electrolytes, *Water Res.* 46 (2012) 1847–1857.
- [151] P.T. Kissinger, W.R. Heineman, *Laboratory techniques in electroanalytical chemistry*, CRC, 1996.
- [152] H. Cheng, K. Scott, P.A. Christensen, Paired electrolysis in a solid polymer electrolyte reactor—Simultaneously reduction of nitrate and oxidation of ammonia, *Chem. Eng. J.* 108 (2005) 257–268.
- [153] S. Cattarin, Electrochemical reduction of nitrogen oxyanions in 1 M sodium hydroxide solutions at silver, copper and CuInSe 2 electrodes, *J. Appl. Electrochem.* 22 (1992) 1077–1081.
- [154] M. Paidar, K. Bouzek, H. Bergmann, Influence of cell construction on the electrochemical reduction of nitrate, *Chem. Eng. J.* 85 (2002) 99–109.
- [155] H. Li, D.H. Robertson, J.Q. Chambers, D.T. Hobbs, Electrochemical reduction of nitrate and nitrite in concentrated sodium hydroxide at platinum and nickel electrodes, *J. Electrochem. Soc.* 135 (1988) 1154.
- [156] H.L. Li, J.Q. Chambers, D.T. Hobbs, Electroreduction of nitrate ions in concentrated sodium hydroxide solutions at lead, zinc, nickel and phthalocyanine-modified electrodes, *J. Appl. Electrochem.* 18 (1988) 454–458.
- [157] D.H. Coleman, R.E. White, D.T. Hobbs, A Parallel-Plate Electrochemical Reactor Model for the Destruction of Nitrate and Nitrite in Alkaline Waste Solutions, *J. Electrochem. Soc.* 142 (1995) 1152–1161.
- [158] K. Shimazu, R. Goto, K. Tada, Electrochemical reduction of nitrate ions on tin-modified platinum and palladium electrodes, *Chem. Lett.* 31 (2002) 204–205.
- [159] J.W. Peel, K.J. Reddy, B.P. Sullivan, J.M. Bowen, Electrocatalytic reduction of nitrate in water, *Water Res.* 37 (2003) 2512–2519.

- [160] B.P. Dash, S. Chaudhari, Electrochemical denitrification of simulated ground water, *Water Res.* 39 (2005) 4065–4072.
- [161] Y. Xiang, D.L. Zhou, J.F. Rusling, Electrochemical conversion of nitrate to ammonia in water using Cobalt-DIM as catalyst, *J. Electroanal. Chem.* 424 (1997) 1–3.
- [162] N. Chebotareva, T. Nyokong, Metallophthalocyanine catalysed electroreduction of nitrate and nitrite ions in alkaline media, *J. Appl. Electrochem.* 27 (1997) 975–981.
- [163] O.A. Petrii, T.Y. Safonova, Electroreduction of nitrate and nitrite anions on platinum metals: a model process for elucidating the nature of the passivation by hydrogen adsorption, *J. Electroanal. Chem.* 331 (1992) 897–912.
- [164] G.E. Dima, A.C.A. De Vooy, M.T.M. Koper, Electrocatalytic reduction of nitrate at low concentration on coinage and transition-metal electrodes in acid solutions, *J. Electroanal. Chem.* 554 (2003) 15–23.
- [165] M.T. De Groot, M.T.M. Koper, The influence of nitrate concentration and acidity on the electrocatalytic reduction of nitrate on platinum, *J. Electroanal. Chem.* 562 (2004) 81–94.
- [166] D. Reyter, G. Chamoulaud, D. Bélanger, L. Roué, Electrocatalytic reduction of nitrate on copper electrodes prepared by high-energy ball milling, *J. Electroanal. Chem.* 596 (2006) 13–24.
- [167] O.A. Petrii, T.Y. Safonova, Electroreduction of nitrate and nitrite anions on platinum metals: A model process for elucidating the nature of the passivation by hydrogen adsorption, *Int. J. Devoted Asp. Electrode Kinet. Interfacial Struct. Prop. Electrolytes Colloid Biol. Electrochem.* 331 (1992) 897–912.
- [168] J.F.E. Gootzen, L. Lefferts, J.A.R. Van Veen, Electrocatalytic nitrate reduction on palladium based catalysts activated with germanium, *Appl. Catal. Gen.* 188 (1999) 127–136.
- [169] D. De, J.D. Englehardt, E.E. Kalu, Cyclic Voltammetric Studies of Nitrate and Nitrite Ion Reduction at the Surface of Iridium-Modified Carbon Fiber Electrode, *J. Electrochem. Soc.* 147 (2000) 4224–4228.
- [170] J.O.M. Bockris, J. Kim, Electrochemical treatment of low-level nuclear wastes, *J. Appl. Electrochem.* 27 (1997) 623–634.
- [171] M. Paidar, I. Roušar, K. Bouzek, Electrochemical removal of nitrate ions in waste solutions after regeneration of ion exchange columns, *J. Appl. Electrochem.* 29 (1999) 611–617.
- [172] K. Jha, J.W. Weidner, Evaluation of porous cathodes for the electrochemical reduction of nitrates and nitrites in alkaline waste streams, *J. Appl. Electrochem.* 29 (1999) 1305–1315.

- [173] O. Brylev, M. Sarrazin, D. Bélanger, L. Roué, Rhodium deposits on pyrolytic graphite substrate: Physico-chemical properties and electrocatalytic activity towards nitrate reduction in neutral medium, *Appl. Catal. B Environ.* 64 (2006) 243–253.
- [174] P. Pascal, *Nouveau Traité de Chimie Minérale*. Tome III—Groupe Ia: Rubidium, césium, francium; Groupe Ib: Généralités, cuivre, argent, or, Paris: Masson & Cie, 1957.
- [175] M. Pourbaix, N. de Zoubov, J. Van Muylder, *Atlas d'équilibres électrochimiques*, Gauthier-Villars Paris, 1963.
- [176] A.J. Bard, R. Parsons, J. Jordan, *Standard potentials in aqueous solution*, (1985).
- [177] T.R.L.C. Paixão, J.L. Cardoso, M. Bertotti, Determination of nitrate in mineral water and sausage samples by using a renewable in situ copper modified electrode, *Talanta*. 71 (2007) 186–191.
- [178] A. Pintar, J. Batista, J. Levec, T. Kajiuichi, Kinetics of the catalytic liquid-phase hydrogenation of aqueous nitrate solutions, *Appl. Catal. B Environ.* 11 (1996) 81–98.
- [179] L. Durivault, O. Brylev, D. Reyter, M. Sarrazin, D. Belanger, L. Roué, Cu-Ni materials prepared by mechanical milling: Their properties and electrocatalytic activity towards nitrate reduction in alkaline medium, *J. Alloys Compd.* 432 (2007) 323–332.
- [180] G. Horányi, E.M. Rizmayer, Electrocatalytic reduction of NO₂⁻ and NO₃⁻ ions at a platinized platinum electrode in alkaline medium, *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* 188 (1985) 265–272.
- [181] N.G. Carpenter, D. Pletcher, Amperometric method for the determination of nitrate in water, *Anal. Chim. Acta.* 317 (1995) 287–293.
- [182] L. Szpyrkowicz, S. Daniele, M. Radaelli, S. Specchia, Removal of NO₃⁻ from water by electrochemical reduction in different reactor configurations, *Appl. Catal. B Environ.* 66 (2006) 40–50.
- [183] J. Christophe, V. Tsakova, C. Buess-Herman, Electroreduction of Nitrate at Copper Electrodes and Copper-PANI Composite Layers, *Z. Für Phys. Chem.* 221 (2007) 1123–1136.
- [184] K. Soropogui, M. Sigaud, O. Vittori, Alert Electrodes for Continuous Monitoring of Nitrate Ions in Natural Water, *Electroanalysis*. 18 (2006) 2354–2360.
- [185] A. Storck, M.A. Enriquez-Granados, M. Roger, F. Coeuret, The behaviour of porous electrodes in a flow-by regime—I. theoretical study, *Electrochimica Acta.* 27 (1982) 293–301.
- [186] T. Doherty, J.G. Sunderland, E.P.L. Roberts, D.J. Pickett, An improved model of potential and current distribution within a flow-through porous electrode, *Electrochem. Eng.* 41 (1996) 519–526.

- [187] D. Floner, D. Paris, F. Geneste, O. Lavastre, Method for the Treatment, by Percolation, of a Felt Element by Means of Electrodeposition, WO/2012/168447, 2012.
- [188] C. Polatides, M. Dortsiou, G. Kyriacou, Electrochemical removal of nitrate ion from aqueous solution by pulsing potential electrolysis, *Electrochimica Acta*. 50 (2005) 5237–5241.
- [189] D. Reyter, L. ROUÉ, D. BÉLANGER, Method and system for electrochemical removal of nitrate and ammonia, EP2619142 A1, 2013.
- [190] I. Katsounaros, M. Dortsiou, G. Kyriacou, Electrochemical reduction of nitrate and nitrite in simulated liquid nuclear wastes, *J. Hazard. Mater.* 171 (2009) 323–327.
- [191] A.R. Despić, D.M. Dražić, P.M. Rakin, Kinetics of electrochemical oxidation of ammonia in alkaline solution, *Electrochimica Acta*. 11 (1966) 997–1005.
- [192] T. Katan, R.J. Galiotto, Current efficiencies for the anodic oxidation of ammonia in potassium hydroxide solution, *J. Electrochem. Soc.* 110 (1963) 1022–1023.
- [193] K. Sasaki, Y. Hisatomi, Oxidation and adsorption of ammonia on a platinized platinum electrode, *J. Electrochem. Soc.* 117 (1970) 758–762.
- [194] N.J. Bunce, D. Bejan, Mechanism of electrochemical oxidation of ammonia, *Electrochimica Acta*. 56 (2011) 8085–8093.
- [195] L. Marinčić, F.B. Leitz, Electro-oxidation of ammonia in waste water, *J. Appl. Electrochem.* 8 (1978) 333–345.
- [196] L.-C. Chiang, J.-E. Chang, T.-C. Wen, Indirect oxidation effect in electrochemical oxidation treatment of landfill leachate, *Water Res.* 29 (1995) 671–678.
- [197] A. Kapoor, T. Viraraghavan, Nitrate Removal From Drinking Water—Review, *J. Environ. Eng.* 123 (1997) 371–380.
- [198] I. Katsounaros, G. Kyriacou, Influence of the concentration and the nature of the supporting electrolyte on the electrochemical reduction of nitrate on tin cathode, *Electrochimica Acta*. 52 (2007) 6412–6420.
- [199] T.A. Pressley, D.F. Bishop, S.G. Roan, Ammonia-nitrogen removal by breakpoint chlorination, *Environ. Sci. Technol.* 6 (1972) 622–628.
- [200] G. Lindbergh, D. Simonsson, Inhibition of cathode reactions in sodium hydroxide solution containing chromate, *Electrochimica Acta*. 36 (1991) 1985–1994.
- [201] M. Li, C. Feng, Z. Zhang, X. Lei, R. Chen, Y. Yang, et al., Simultaneous reduction of nitrate and oxidation of by-products using electrochemical method, *J. Hazard. Mater.* 171 (2009) 724–730.
- [202] M. Li, C. Feng, Z. Zhang, S. Yang, N. Sugiura, Treatment of nitrate contaminated water using an electrochemical method, *Bioresour. Technol.* 101 (2010) 6553–6557.

- [203] J. Dziewinski, S. Marczak, Reduction electrochimique de nitrate en presence d'un amide, WO2001092603 A1, 2001.
- [204] C. Dominique, V.L. Andre, V. Yves, Procédé et équipement électrochimique d'élimination des ions nitrates et ammonium contenus dans des effluents liquides, WO2005097686 A1, 2005.
- [205] A. Bisailon, J. Turcot, P.C. Hallenbeck, The effect of nutrient limitation on hydrogen production by batch cultures of *Escherichia coli*, IHEC 2005 COST Action 841 Final Meet. 31 (2006) 1504–1508.
- [206] M. Morimoto, M. Atsuko, A.A.Y. Atif, M.A. Ngan, A. Fakhru'l-Razi, S.E. Iyuke, et al., Biological production of hydrogen from glucose by natural anaerobic microflora, *Int. J. Hydrog. Energy*. 29 (2004) 709–713.
- [207] G. Liu, J. Shen, Effects of culture and medium conditions on hydrogen production from starch using anaerobic bacteria, *J. Biosci. Bioeng.* 98 (2004) 251–256.
- [208] X. Wang, B. Jin, D. Mulcahy, Impact of carbon and nitrogen sources on hydrogen production by a newly isolated *Clostridium butyricum* W5, *Int. J. Hydrog. Energy*. 33 (2008) 4998–5005.
- [209] H.J. Cruz, C.M. Freitas, P.M. Alves, J.L. Moreira, M.J.T. Carrondo, Effects of ammonia and lactate on growth, metabolism, and productivity of BHK cells, *Enzyme Microb. Technol.* 27 (2000) 43–52.
- [210] N.M. Sammes, R.B. Yanhai Du, Fuel cell Principles and Perspectives, *Biofuels Fuel Cells Renew. Energy Biomass Ferment.* (2005) 235–247.
- [211] OECD/IEA, Hydrogen production and distribution, *Energy Technol. Essent.* in I. E. Agency, editor (2007). <http://www.iea.org/publications/freepublications/publication/essentials5.pdf>.
- [212] CEA, Modes de production du dihydrogène, www.cea.fr. (2014).
- [213] D. Das, T.N. Veziroğlu, Hydrogen production by biological processes: a survey of literature, *Int. J. Hydrog. Energy*. 26 (2001) 13–28.
- [214] S. Hiligsmann, Production de biohydrogène par fermentation anaérobie chimiotrophe de substrats carbohydratés, (2012).
- [215] I.K. Kapdan, F. Kargi, Bio-hydrogen production from waste materials, *Enzyme Microb. Technol.* 38 (2006) 569–582.
- [216] M.Y. Azwar, M.A. Hussain, A.K. Abdul-Wahab, Development of biohydrogen production by photobiological, fermentation and electrochemical processes: A review, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 31 (2014) 158–173.
- [217] D.B. Levin, H. Zhu, M. Beland, N. Cicek, B.E. Holbein, Potential for hydrogen and methane production from biomass residues in Canada, *Bioresour. Technol.* 98 (2007) 654–660.

- [218] D. Das, T.N. Veziroglu, Advances in biological hydrogen production processes, *Int. J. Hydrog. Energy*. 33 (2008) 6046–6057.
- [219] D.B. Levin, Re: Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application—Erratum, *Int. J. Hydrog. Energy*. 29 (2004) 1425–1426.
- [220] J. Wang, W. Wan, Experimental design methods for fermentative hydrogen production: A review, *Int. J. Hydrog. Energy*. 34 (2009) 235–244.
- [221] J. Masset, S. Hiligsmann, C. Hamilton, L. Beckers, F. Franck, P. Thonart, Effect of pH on glucose and starch fermentation in batch and sequenced-batch mode with a recently isolated strain of hydrogen-producing *Clostridium butyricum* CWBI1009, *Int. J. Hydrog. Energy*. 35 (2010) 3371–3378.
- [222] S. Hiligsmann, L. Beckers, J. Masset, C. Hamilton, P. Thonart, La production de biohydrogène à partir de substrats carbohydratés: état de l'art, *Récents Prog. En Génie Procédés*. (2011).
- [223] J. Mata-Alvarez, S. Mace, P. Llabres, Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives, *Bioresour. Technol.* 74 (2000) 3–16.
- [224] A. Karagiannidis, G. Perkoulidis, A multi-criteria ranking of different technologies for the anaerobic digestion for energy recovery of the organic fraction of municipal solid wastes, *Bioresour. Technol.* 100 (2009) 2355–2360.
- [225] L. Fährasmane, B. Ganou-Parfait, *De la canne au rhum*, Editions Quae, 1997.
- [226] C.A. Aceves-Lara, E. Trably, J.-R. Bastidas-Oyenadel, I. Ramirez, E. Latrille, J.-P. Steyer, Production de bioénergies à partir de déchets: Exemples du biométhane et du biohydrogène, *J. Société Biol.* 202 (2008) 177–189.
- [227] H. Buschhorn, P. Dürre, G. Gottschalk, Production and utilization of ethanol by the homoacetogen *Acetobacterium woodii*, *Appl. Environ. Microbiol.* 55 (1989) 1835–1840.
- [228] R.P. Desai, L.K. Nielsen, E.T. Papoutsakis, Stoichiometric modeling of *Clostridium acetobutylicum* fermentations with non-linear constraints, *Model. Biochem. Eng.* 71 (1999) 191–205.
- [229] Y. Nicolet, C. Cavazza, J.C. Fontecilla-Camps, Fe-only hydrogenases: structure, function and evolution, *J. Inorg. Biochem.* 91 (2002) 1–8.
- [230] M.W. Adams, L.E. Mortenson, The physical and catalytic properties of hydrogenase II of *Clostridium pasteurianum*. A comparison with hydrogenase I., *J. Biol. Chem.* 259 (1984) 7045–7055.
- [231] P. Iyer, M.A. Bruns, H. Zhang, S. Van Ginkel, B.E. Logan, H₂-producing bacterial communities from a heat-treated soil inoculum, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 66 (2004) 166–173.

- [232] F.R. Hawkes, R. Dinsdale, D.L. Hawkes, I. Hussy, Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation, *Int. J. Hydrog. Energy*. 27 (2002) 1339–1347.
- [233] G. De Gioannis, A. Muntoni, A. Poletti, R. Pomi, A review of dark fermentative hydrogen production from biodegradable municipal waste fractions, *Waste Manag.* 33 (2013) 1345–1361.
- [234] X.M. Guo, E. Trably, E. Latrille, H. Carrère, J.-P. Steyer, Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: A review, *Int. J. Hydrog. Energy*. 35 (2010) 10660–10673.
- [235] P.C. Hallenbeck, J.R. Benemann, Biological hydrogen production; fundamentals and limiting processes, *BIOHYDROGEN 2002*. 27 (2002) 1185–1193.
- [236] J.P. Amend, E.L. Shock, Energetics of overall metabolic reactions of thermophilic and hyperthermophilic Archaea and Bacteria, *FEMS Microbiol. Rev.* 25 (2001) 175–243.
- [237] R.K. Thauer, K. Jungermann, K. Decker, Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria., *Bacteriol. Rev.* 41 (1977) 100.
- [238] P. Hallenbeck, Fundamentals of the fermentative production of hydrogen, *Water Sci. Technol.* 52 (2005) 21–29.
- [239] H.-S. Shin, J.-H. Youn, S.-H. Kim, Hydrogen production from food waste in anaerobic mesophilic and thermophilic acidogenesis, *Int. J. Hydrog. Energy*. 29 (2004) 1355–1363.
- [240] F.R. Hawkes, I. Hussy, G. Kyazze, R. Dinsdale, D.L. Hawkes, Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: principles and progress, *Int. J. Hydrog. Energy*. 32 (2007) 172–184.
- [241] H. Yokoi, S. Mori, J. Hirose, S. Hayashi, Y. Takasaki, H₂ production from starch by a mixed culture of *Clostridium butyricum* and *Rhodobacter* sp. M [h] 19, *Biotechnol. Lett.* 20 (1998) 895–899.
- [242] R. Rafieenia, A metabolic model for investigation of the fermentative hydrogen production by *Clostridium butyricum* w5 grown on xylose., *Asian J. Exp. Biol. Sci.* 4 (2013) 472–475.
- [243] Y. Lu, H. Zhao, C. Zhang, Q. Lai, X.-H. Xing, Perturbation of formate pathway for hydrogen production by expressions of formate hydrogen lyase and its transcriptional activator in wild *Enterobacter aerogenes* and its mutants, *Int. J. Hydrog. Energy*. 34 (2009) 5072–5079.
- [244] B.T. Maru, M. Constanti, A.M. Stchigel, F. Medina, J.E. Sueiras, Biohydrogen production by dark fermentation of glycerol using *Enterobacter* and *Citrobacter* sp, *Biotechnol. Prog.* 29 (2013) 31–38.
- [245] S.J. Sarma, S.K. Brar, Y. Le Bihan, G. Buelna, L. Rabeb, C.R. Soccol, et al., Evaluation of different supplementary nutrients for enhanced biohydrogen production by *Enterobacter*

- aerogenes NRRL B 407 using waste derived crude glycerol, *Int. J. Hydrog. Energy*. 38 (2013) 2191–2198.
- [246] J. Wang, W. Wan, Factors influencing fermentative hydrogen production: A review, *Int. J. Hydrog. Energy*. 34 (2009) 799–811.
- [247] C.-C. Chen, C.-Y. Lin, M.-C. Lin, Acid–base enrichment enhances anaerobic hydrogen production process, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 58 (2002) 224–228.
- [248] C.-Y. Chu, L. Tung, C.-Y. Lin, Effect of substrate concentration and pH on biohydrogen production kinetics from food industry wastewater by mixed culture, *Int. J. Hydrog. Energy*. 38 (2013) 15849–15855.
- [249] Y. Akutsu, Y.-Y. Li, H. Harada, H.-Q. Yu, Effects of temperature and substrate concentration on biological hydrogen production from starch, *Int. J. Hydrog. Energy*. 34 (2009) 2558–2566.
- [250] C. Li, H.H. Fang, Fermentative hydrogen production from wastewater and solid wastes by mixed cultures, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 37 (2007) 1–39.
- [251] Z.-P. Zhang, K.-Y. Show, J.-H. Tay, D.T. Liang, D.-J. Lee, W.-J. Jiang, Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production and anaerobic microbial community, *Process Biochem.* 41 (2006) 2118–2123.
- [252] S. Venkata Mohan, V. Lalit Babu, P.N. Sarma, Effect of various pretreatment methods on anaerobic mixed microflora to enhance biohydrogen production utilizing dairy wastewater as substrate, *Bioresour. Technol.* 99 (2008) 59–67.
- [253] H. Fang, T. Zhang, H. Liu, Microbial diversity of a mesophilic hydrogen-producing sludge, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 58 (2002) 112–118.
- [254] Y.J. Lee, T. Miyahara, T. Noike, Effect of pH on microbial hydrogen fermentation, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 77 (2002) 694–698.
- [255] Y. Mu, H.-Q. Yu, G. Wang, Evaluation of three methods for enriching H₂-producing cultures from anaerobic sludge, *Enzyme Microb. Technol.* 40 (2007) 947–953.
- [256] E. Kan, Effects of pretreatments of anaerobic sludge and culture conditions on hydrogen productivity in dark anaerobic fermentation, *Renew. Energy*. 49 (2013) 227–231.
- [257] J. Wang, W. Wan, Comparison of different pretreatment methods for enriching hydrogen-producing bacteria from digested sludge, *Int. J. Hydrog. Energy*. 33 (2008) 2934–2941.
- [258] Y. Xiao, X. Zhang, M. Zhu, W. Tan, Effect of the culture media optimization, pH and temperature on the biohydrogen production and the hydrogenase activities by *Klebsiella pneumoniae* ECU-15, *Bioresour. Technol.* 137 (2013) 9–17.
- [259] D.T. Jones, D.R. Woods, Acetone-butanol fermentation revisited., *Microbiol. Rev.* 50 (1986) 484.

- [260] N.-F. Ye, F. Lü, L.-M. Shao, J.-J. Godon, P.-J. He, Bacterial community dynamics and product distribution during pH-adjusted fermentation of vegetable wastes, *J. Appl. Microbiol.* 103 (2007) 1055–1065.
- [261] H.H. Fang, H. Liu, Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture, *Bioresour. Technol.* 82 (2002) 87–93.
- [262] I.S. Kim, M.H. Hwang, N.J. Jang, S.H. Hyun, S.T. Lee, Effect of low pH on the activity of hydrogen utilizing methanogen in bio-hydrogen process, *Int. J. Hydrog. Energy.* 29 (2004) 1133–1140.
- [263] M.H. Hwang, N.J. Jang, S.H. Hyun, I.S. Kim, Anaerobic bio-hydrogen production from ethanol fermentation: the role of pH, *J. Biotechnol.* 111 (2004) 297–309.
- [264] B. Wang, Y.N. Yin, R. Cheng, Q. Zhang, L. Wang, Y. Yang, et al., Effect of Sulfate Concentration on Biohydrogen Production by Enriched Anaerobic Sludge, *Adv. Mater. Res.* 884-885 (2014) 433–436.
- [265] C.-Y. Lin, R.-C. Chang, Fermentative hydrogen production at ambient temperature, *Int. J. Hydrog. Energy.* 29 (2004) 715–720.
- [266] Y. Mu, X.-J. Zheng, H.-Q. Yu, R.-F. Zhu, Biological hydrogen production by anaerobic sludge at various temperatures, *Int. J. Hydrog. Energy.* 31 (2006) 780–785.
- [267] W.J. Mitchell, K.A. Albasheri, M. Yazdanian, Factors affecting utilization of carbohydrates by clostridia, *FEMS Microbiol. Rev.* 17 (1995) 317–329.
- [268] K.-W. Jung, D.-H. Kim, S.-H. Kim, H.-S. Shin, Bioreactor design for continuous dark fermentative hydrogen production, *Spec. Issue Biofuels-III Biohydrogen.* 102 (2011) 8612–8620.
- [269] K. Niu, X. Zhang, W.-S. Tan, M.-L. Zhu, Characteristics of fermentative hydrogen production with *Klebsiella pneumoniae* ECU-15 isolated from anaerobic sewage sludge, *Int. J. Hydrog. Energy.* 35 (2010) 71–80.
- [270] C.C. Chen, C.Y. Lin, Using sucrose as a substrate in an anaerobic hydrogen-producing reactor, *Adv. Environ. Res.* 7 (2003) 695–699.
- [271] C.C. Chen, C.Y. Lin, J.S. Chang, Kinetics of hydrogen production with continuous anaerobic cultures utilizing sucrose as the limiting substrate, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57 (2001) 56–64.
- [272] C.-Y. Lin, C.-H. Jo, Hydrogen production from sucrose using an anaerobic sequencing batch reactor process, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 78 (2003) 678–684.
- [273] C.-Y. Lin, C.-Y. Lee, I. Tseng, I.Z. Shiao, Biohydrogen production from sucrose using base-enriched anaerobic mixed microflora, *Process Biochem.* 41 (2006) 915–919.

- [274] S.M. Carver, M.C. Nelson, R. Lepistö, Z. Yu, O.H. Tuovinen, Hydrogen and volatile fatty acid production during fermentation of cellulosic substrates by a thermophilic consortium at 50 and 60 C, *Bioresour. Technol.* 104 (2012) 424–431.
- [275] J.-J. Lay, Biohydrogen generation by mesophilic anaerobic fermentation of microcrystalline cellulose, *Biotechnol. Bioeng.* 74 (2001) 280–287.
- [276] A. Wang, D. Sun, G. Cao, H. Wang, N. Ren, W.-M. Wu, et al., Integrated hydrogen production process from cellulose by combining dark fermentation, microbial fuel cells, and a microbial electrolysis cell, *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 4137–4143.
- [277] C.-M. Liu, C.-Y. Chu, W.-Y. Lee, Y.-C. Li, S.-Y. Wu, Y.-P. Chou, Biohydrogen production evaluation from rice straw hydrolysate by concentrated acid pre-treatment in both batch and continuous systems, *Int. J. Hydrog. Energy.* 38 (2013) 15823–15829.
- [278] H. Yu, Z. Zhu, W. Hu, H. Zhang, Hydrogen production from rice winery wastewater in an upflow anaerobic reactor by using mixed anaerobic cultures, *Int. J. Hydrog. Energy.* 27 (2002) 1359–1365.
- [279] A.J. Guwy, F.R. Hawkes, D.L. Hawkes, A.G. Rozzi, Hydrogen production in a high rate fluidised bed anaerobic digester, *Water Res.* 31 (1997) 1291–1298.
- [280] N. Nishio, Y. Nakashimada, Recent development of anaerobic digestion processes for energy recovery from wastes, *J. Biosci. Bioeng.* 103 (2007) 105–112.
- [281] S.-K. Han, H.-S. Shin, Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste, *Int. J. Hydrog. Energy.* 29 (2004) 569–577.
- [282] Y. Ueno, S. Otsuka, M. Morimoto, Hydrogen production from industrial wastewater by anaerobic microflora in chemostat culture, *J. Ferment. Bioeng.* 82 (1996) 194–197.
- [283] J.-J. Lay, Y.-J. Lee, T. Noike, Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste, *Water Res.* 33 (1999) 2579–2586.
- [284] C.Y. Lin, C.H. Lay, A nutrient formulation for fermentative hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora, *Int. J. Hydrog. Energy.* 30 (2005) 285–292.
- [285] Y. Zhang, J. Shen, Effect of temperature and iron concentration on the growth and hydrogen production of mixed bacteria, *Int. J. Hydrog. Energy.* 31 (2006) 441–446.
- [286] J.-J. Lay, K.-S. Fan, J.-I. Hwang, J.-I. Chang, P.-C. Hsu, Factors affecting hydrogen production from food wastes by *Clostridium*-rich composts, *J. Environ. Eng.* 131 (2005) 595–602.
- [287] H. Yokoi, T. Ohkawara, J. Hirose, S. Hayashi, Y. Takasaki, Characteristics of hydrogen production by aciduric *Enterobacter aerogenes* strain HO-39, *J. Ferment. Bioeng.* 80 (1995) 571–574.:10.

- [288] C.Y. Lin, C.H. Lay, Carbon/nitrogen-ratio effect on fermentative hydrogen production by mixed microflora, *Int. J. Hydrog. Energy*. 29 (2004) 41–45.
- [289] J.-J. Lay, K.-S. Fan, J.-I. Hwang, J.-I. Chang, P.-C. Hsu, Factors affecting hydrogen production from food wastes by Clostridium-rich composts, *J. Environ. Eng.* 131 (2005) 595–602.
- [290] C.-Y. Lin, C.H. Lay, Effects of carbonate and phosphate concentrations on hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora, *Int. J. Hydrog. Energy*. 29 (2004) 275–281.
- [291] H. Argun, F. Kargi, I.K. Kapdan, R. Oztekin, Biohydrogen production by dark fermentation of wheat powder solution: effects of C/N and C/P ratio on hydrogen yield and formation rate, *Int. J. Hydrog. Energy*. 33 (2008) 1813–1819.
- [292] S. O-Thong, P. Prasertsan, N. Intrasingkha, S. Dhamwichukorn, N.-K. Birkeland, Optimization of simultaneous thermophilic fermentative hydrogen production and COD reduction from palm oil mill effluent by Thermoanaerobacterium-rich sludge, *Int. J. Hydrog. Energy*. 33 (2008) 1221–1231.
- [293] Y. Zhang, G. Liu, J. Shen, Hydrogen production in batch culture of mixed bacteria with sucrose under different iron concentrations, *Int. J. Hydrog. Energy*. 30 (2005) 855–860.
- [294] G. Faúndez, M. Troncoso, P. Navarrete, G. Figueroa, Antimicrobial activity of copper surfaces against suspensions of *Salmonella enterica* and *Campylobacter jejuni*, *BMC Microbiol.* 4 (2004) 19.
- [295] A.S. Gordon, L.D. Howell, V. Harwood, Responses of diverse heterotrophic bacteria to elevated copper concentrations, *Can. J. Microbiol.* 40 (1994) 408–411.
- [296] A. Pauss, G. Andre, M. Perrier, S.R. Guiot, Liquid-to-gas mass transfer in anaerobic processes: inevitable transfer limitations of methane and hydrogen in the biomethanation process, *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (1990) 1636–1644.
- [297] J.T. Kraemer, D.M. Bagley, Optimisation and design of nitrogen-sparged fermentative hydrogen production bioreactors, *Int. J. Hydrog. Energy*. 33 (2008) 6558–6565.
- [298] O. Mizuno, R. Dinsdale, F.R. Hawkes, D.L. Hawkes, T. Noike, Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging, *Bioresour. Technol.* 73 (2000) 59–65.
- [299] D.-H. Kim, S.-K. Han, S.-H. Kim, H.-S. Shin, Effect of gas sparging on continuous fermentative hydrogen production, *Int. J. Hydrog. Energy*. 31 (2006) 2158–2169.
- [300] J.-J. Lay, Modeling and optimization of anaerobic digested sludge converting starch to hydrogen, *Biotechnol. Bioeng.* 68 (2000) 269–278.

- [301] U. Sauer, J.D. Santangelo, A. Treuner, M. Buchholz, P. Dürre, Sigma factor and sporulation genes in *Clostridium*, *FEMS Microbiol. Rev.* 17 (1995) 331–340.
- [302] F. Orecchini, The era of energy vectors, *Int. J. Hydrog. Energy.* 31 (2006) 1951–1954.
- [303] G.D. Berry, S.M. Aceves, The case for hydrogen in a carbon constrained world, *J. Energy Resour. Technol.* 127 (2005) 89–94.
- [304] F. NOVEL-CATTIN, P. STEVENS, L. Claude, A. HAMMOU, M. CASSIR, Piles a Combustible, Ed. Techniques Ingénieur,
- [305] J. Maddy, S. Cherryman, F.R. Hawkes, D.L. Hawkes, R.M. Dinsdale, A.J. Guwy, et al., Hydrogen 2003: Report Number 1: ERDF Part-funded Project Entitled: 'A Sustainable Energy Supply for Wales: Towards the Hydrogen Economy', University of Glamorgan, 2003.
- [306] J. Hetland, G. Mulder, In search of a sustainable hydrogen economy: how a large-scale transition to hydrogen may affect the primary energy demand and greenhouse gas emissions, *Int. J. Hydrog. Energy.* 32 (2007) 736–747.
- [307] C.-C. Chen, J.-H. Wu, C.-H. Lay, B. Sen, J.-S. Chang, Kinetics of hydrogen production from condensed molasses fermentation solubles using sewage sludge in a continuous stirred tank reactor. *Sustain, Env. Res.* 21 (2011) 117–121.
- [308] M. Rivero, R. Solera, M. Perez, Anaerobic mesophilic co-digestion of sewage sludge with glycerol: Enhanced biohydrogen production, *Int. J. Hydrog. Energy.* 39 (2014) 2481–2488.
- [309] C.C. Chen, C.Y. Lin, Start-up of Anaerobic Hydrogen Producing Reactors Seeded with Sewage Sludge, *Acta Biotechnol.* 21 (2001) 371–379.
- [310] S. Van Ginkel, B.E. Logan, Inhibition of Biohydrogen Production by Undissociated Acetic and Butyric Acids, *Environ. Sci. Technol.* 39 (2005) 9351–9356.
- [311] M. Young, N.P. Minton, W.L. Staudenbauer, Recent advances in the genetics of the clostridia, *FEMS Microbiol. Lett.* 63 (1989) 301–325.
- [312] J. Kim, M.M. Benjamin, Modeling a novel ion exchange process for arsenic and nitrate removal, *Water Res.* 38 (2004) 2053–2062.
- [313] J. Kotz, P. Treichel, J. Townsend, Chemistry and chemical reactivity, Cengage Learning, 2011.
- [314] D. Strmčnik, M. Gaberšček, B. Pihlar, D. Kočar, J. Jamnik, Copper Dissolution in Ammonia Solutions: Identification of the Mechanism at Low Overpotentials, *J. Electrochem. Soc.* 156 (2009) C222–C229.
- [315] D.-H. Kim, S.-H. Kim, K.-Y. Kim, H.-S. Shin, Experience of a pilot-scale hydrogen-producing anaerobic sequencing batch reactor (ASBR) treating food waste, *Int. J. Hydrog. Energy.* 35 (2010) 1590–1594.

- [316] S. Venkata Mohan, Harnessing of biohydrogen from wastewater treatment using mixed fermentative consortia: process evaluation towards optimization, *Int. J. Hydrog. Energy*. 34 (2009) 7460–7474.
- [317] J. Tang, Y. Yuan, W.-Q. Guo, N.-Q. Ren, Inhibitory effects of acetate and ethanol on biohydrogen production of *Ethanoligenens harbinese* B49, 11th China Hydrog. Energy Conf. 37 (2012) 741–747.
- [318] J.-S. Bourque, Production de biohydrogène par digestion anaérobie dans un réacteur UASB, Université Laval, 2008.
- [319] J.-S. Chang, K.-S. Lee, P.-J. Lin, Biohydrogen production with fixed-bed bioreactors, *BIOHYDROGEN* 2002. 27 (2002) 1167–1174.