



HAL
open science

Valorisation des extrêmophiles dans le traitement des effluents salins et la production d'énergie par des systèmes bioélectrochimiques microbiens

Sirine Saadaoui

► **To cite this version:**

Sirine Saadaoui. Valorisation des extrêmophiles dans le traitement des effluents salins et la production d'énergie par des systèmes bioélectrochimiques microbiens. Génie des procédés. Université de Toulouse; École nationale d'ingénieurs de Tunis (Tunisie), 2024. Français. NNT : 2024TLSEP008 . tel-04548893

HAL Id: tel-04548893

<https://theses.hal.science/tel-04548893>

Submitted on 16 Apr 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Doctorat de l'Université de Toulouse

préparé à Toulouse INP

Valorisation des extrémophiles dans le traitement des effluents
salins et la production d'énergie par des systèmes
bioélectrochimiques microbiens

Thèse présentée et soutenue, le 25 janvier 2024 par

Sirine SAADAoui

École doctorale

MEGEP - Mécanique, Energétique, Génie civil, Procédés

Spécialité

Génie des Procédés et de l'Environnement

Unité de recherche

LGC - Laboratoire de Génie Chimique

Thèse dirigée par

Benjamin ERABLE et Ameer CHERIF

Composition du jury

M. Mathieu ETIENNE, Président, LCPME, Nancy

M. Maxime PONTIE, Rapporteur, Université d'Angers

M. Haitham SGHAIER, Rapporteur, Centre National des Sciences et Technologies Nucléaires, Tunisie

M. Benjamin ERABLE, Directeur de thèse, Institut National Polytechnique de Toulouse

M. Ameer CHERIF, Co-directeur de thèse, Université de la Manouba

Membres invités

M. Habib CHOUCANE, Institut Supérieur de Biotechnologie de Sidi Thabet

Écoles Doctorales :

ED MEGeP (Université de Toulouse, France)
ED STVST (Université de Tunis El Manar, Tunisie)

Valorisation des extrêmophiles dans le traitement des effluents salins et la production d'énergie par des systèmes bioélectrochimiques microbiens

Présentée et soutenue par

Sirine SAADAOU

Le 25 janvier 2024

Thèse pour obtenir le grade de docteur en Sciences

Spécialité : Génie des Procédés et de l'Environnement

Délivré par l'Institut National Polytechnique de Toulouse et la Faculté des Sciences de Tunis

Unité de recherche :

LGC - Laboratoire de Génie Chimique

LBVBGR - Laboratoire de Biotechnologie & Valorisation des Bio-Géo Ressources

Thèse dirigée par Benjamin ERABLE et Ameer CHERIF

Jury

M. Maxime PONTIE, Rapporteur

M. Haitham SGHAIER, Rapporteur

M. Benjamin ERABLE, Directeur de thèse

M. Ameer CHERIF, Co-directeur de thèse

M. Mathieu ETIENNE, Président

M. Habib CHOUCANE, Invité

Remerciement

Les travaux de recherche présentés dans cette thèse ont été menés en cotutelle entre le Laboratoire de Génie Chimique sous la direction du Dr. Benjamin ERABLE, et le Laboratoire de Biotechnologie & Valorisation des Bio-Géo Ressources, sous la direction du Pr. Ameer CHERIF et Dr. Habib CHOUCANE.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude envers mon directeur de thèse, Benjamin ERABLE, pour son suivi attentif, son engagement inébranlable envers la perfection, et son esprit critique constructif. Sa guidance experte a été déterminante dans le succès de ma thèse, façonnant non seulement la qualité de mes recherches, mais également mon approche critique envers le travail académique.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers mon directeur, Ameer CHERIF, pour ses précieux conseils, son soutien constant et ses efforts inlassables tout au long de ma recherche. Sa bienveillance et son expertise ont grandement enrichi mon travail.

Je tiens à exprimer ma sincère reconnaissance envers mon encadrant, Habib CHOUCANE, qui a été l'architecte de mon parcours académique, me donnant l'opportunité de poursuivre en thèse. Son suivi dévoué, ses idées créatives et son expertise ont façonné le développement de ma recherche. Au-delà de son rôle académique, je salue également ses qualités humaines exceptionnelles qui ont rendu cette collaboration enrichissante.

Je tiens à adresser mes vifs remerciements à M. Maxime PONTIE ainsi qu'à M. Haitham SGHAIER pour avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse. Merci à M. Mathieu ETIENNE d'avoir accepté le rôle d'examineur.

Un grand merci à Luc Etcheverry pour sa précieuse assistance sur la partie technique. Mais au-delà de cela, je tiens à exprimer ma gratitude pour sa bonne humeur constante, son optimisme et sa positivité.

Un grand merci à Marie-Line Délia et Régine Basseguy pour leur bonne humeur, leur générosité et leur gentillesse exceptionnelles.

Kamila, la secrétaire exceptionnelle de l'école doctorale MEGeP, je tiens à t'exprimer ma profonde gratitude. Ta disponibilité constante pour résoudre mes problèmes a été d'une aide précieuse. Merci pour ta bienveillance et les ondes positives que tu diffuses. Merci sincèrement pour ton soutien exceptionnel.

Un immense merci à Corine et Christine du LGC. Pour moi, vous avez été bien plus que de simples membres du personnel administratif. Votre dévouement, votre tendresse, et votre gentillesse ont été des soutiens inestimables. Je vous suis profondément reconnaissante pour tout ce que vous avez fait.

Je voudrais également remercier mes amis au LGC. Un grand merci à Lucila, Julien, Anthony, Diego, Silvia, Laura pour leur collaboration, leur aide, leur amitié et les bons moments passés ensemble. Les éclats de rire, les moments de folie partagés ont ajouté une dimension spéciale à notre expérience commune. Merci à chacun de vous pour ces moments inoubliables de légèreté et de complicité. Votre contribution va au-delà du professionnel, créant une atmosphère chaleureuse et joyeuse que je n'oublierai pas de sitôt.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers tous les membres du LBVBGR :

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude envers M. Ahmed Masmoudi, M. Amor Mosbeh et M. Mohamed Neifar, qui m'ont apporté leur soutien et leurs conseils depuis mes débuts en tant que stagiaire de Master 2 au sein du laboratoire. Leur expertise, disponibilité et bienveillance ont grandement contribué à faciliter mon intégration et à enrichir mon expérience.

Un grand merci à Mme. Soumaya Kouidhi pour ses précieux encouragements. Depuis l'époque où j'étais votre étudiante, votre intelligence, votre charisme et votre élégance ont continuellement été une source

d'inspiration pour moi. Vous demeurez un modèle indéniable de la femme tunisienne authentique que nous aspirons à promouvoir.

Un immense merci à Olfa, Imen S, Imen K, Mouna, Nesrine, Manel, Malika , Hayet, Ranya, Chayma, Refka, Khawla et Yosra pour leur bienveillance exceptionnelle. Hayet, je suis reconnaissante pour ta bonne humeur contagieuse et ton soutien inestimable.

Un sincère merci à mon amie Yasmine. Ces trois années passées à Toulouse avec toi ont créé bien plus qu'une simple amitié ; tu étais une véritable famille. Merci pour tes encouragements constants, ta gentillesse sans faille, et les moments précieux que nous avons partagés ensemble. Chacun de ces instants est empreint de souvenirs chaleureux et de complicité, contribuant à rendre cette période inoubliable. Ta présence a été un cadeau précieux dans ma vie.

Papa, aucune expression de gratitude ne pourrait véritablement rendre hommage à tout ce que tu as sacrifié. Je n'oublierai jamais les 300 kilomètres que tu as parcourus chaque jour, année après année, avec une détermination inébranlable, tout simplement pour offrir le meilleur à notre famille. Merci infiniment pour ton amour indéfectible, qui a été le pilier de notre foyer et qui a éclairé chacun de mes pas. Tu es bien plus qu'un père, tu es mon exemple vivant, la personne que j'aime le plus au monde, et je suis incroyablement fière que tu sois mon papa. J'espère sincèrement que mes réussites actuelles sont une forme de récompense pour les longues journées d'hiver rigoureux et les étés épuisants que tu as endurés. Ton dévouement infatigable restera gravé dans ma mémoire, et je m'efforcerai de faire honneur à l'héritage que tu m'as légué. Merci pour tout, papa

Maman, comment pourrais-je exprimer suffisamment ma gratitude envers toi, celle qui a consacré toute sa vie à mon bonheur ? Tes larmes, versées à chaque fois que tu m'accompagnais à l'aéroport, étaient pour moi une source inépuisable de motivation, un carburant précieux qui me poussait à persévérer et à réaliser mes rêves. Merci pour chaque sacrifice, chaque sourire, et pour avoir été le pilier solide qui a soutenu chacune de mes aspirations. Je t'aime infiniment.

C'est avec une profonde gratitude que je remercie mes sœurs Siwar, Sameh et Souha pour leurs encouragements. Leur soutien inestimable a été une source d'inspiration et de motivation pour moi. Merci infiniment à mes chères sœurs pour leur présence précieuse dans ma vie et pour leur soutien constant.

Enfin, je rends hommage et j'exprime ma reconnaissance à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Résumé :

L'industrie textile génère de grandes quantités d'eaux usées contenant jusqu'à 80 g/L de NaCl et de fortes concentrations de colorants synthétiques. Les colorants azoïques, qui sont des produits chimiques toxiques et persistants, sont les plus largement utilisés dans la fabrication des textiles. Lorsqu'ils sont déversés dans les plans d'eau, ces colorants peuvent poser une menace significative pour les écosystèmes aquatiques, pouvant également avoir des répercussions sur la santé humaine. Pour remédier à cette problématique, plusieurs méthodes physico-chimiques conventionnelles ont été mises en œuvre. Ces méthodes ne sont pas largement adoptées principalement en raison de leur coût élevé, de la pollution secondaire qu'ils génèrent et de leur forte consommation d'énergie. D'autres traitements biologiques anaérobies ont été également explorés. Ces méthodes prennent de longues périodes de décomposition avec une dégradation souvent incomplète. De plus, si les cellules des microorganismes sont exposées à une solution très concentrée en sel, le phénomène d'osmose peut entraîner une perte d'eau intracellulaire significative, conduisant à la déshydratation et éventuellement à la mort cellulaire.

L'objectif principal de cette thèse est de coupler deux méthodes biologique et électrochimique au sein d'une seule unité appelée système bioélectrochimique (SBE) en vue de traiter des eaux usées textiles salines chargées en colorants azoïques récalcitrants, tout en générant de l'énergie sous forme d'électricité. Ce SBE se distingue par l'utilisation de bactéries électroactives halothermophiles provenant des environnements extrêmes tunisiens, lesquelles forment des bioanodes capables de tolérer le stress salin. Les paramètres impactant les performances du SBE ont été optimisés, notamment la source d'inoculum, la présence d'un co-substrat et sa concentration, le matériau de l'électrode ainsi que sa surface et le potentiel appliqué à l'électrode de travail. Ces optimisations ont été réalisées initialement à partir d'eaux usées synthétiques avant d'être validées avec des eaux usées industrielles réelles. Les bioanodes obtenues ont fait l'objet d'une analyse comparative à l'aide d'outils électrochimiques, microscopiques, analytiques et moléculaires. En complément, les milieux réactionnels ont également été examinés à l'aide d'outils analytiques et moléculaires.

Avec des eaux usées synthétiques, une densité de courant maximale de 5,2 A/m², un taux de décoloration de 100 % et un taux d'élimination de la DCO de 96 % ont été obtenus. Par ailleurs, avec les eaux usées réelles, la même densité de courant maximal 5,2 A/m² a été observée simultanément avec un taux de décoloration de 93 % et un taux d'abattement de la DCO de 70 %. Ainsi, pour la première fois, l'espèce bactérienne *Orenia metallireducens* a été identifiée dans les différentes matrices du SBE alimenté avec des eaux usées synthétiques. Cette découverte suggère des perspectives prometteuses pour la dégradation des colorants azoïques.

Mots clés : Traitement des eaux usées textiles, Colorants azoïques, Systèmes bioélectrochimiques, Bactéries halothermophiles.

Abstract :

The textile industry generates large amounts of wastewater containing up to 80 g/L of NaCl and high concentrations of synthetic dyes. Azo dyes, which are toxic and persistent chemicals, are widely used in textile manufacturing. When discharged into water bodies, these dyes pose a significant threat to aquatic ecosystems and can also have implications for human health. To address this issue, several conventional physico-chemical methods have been implemented. However, these methods are not widely adopted primarily due to their high cost, the secondary pollution they generate, and their high energy consumption. Other anaerobic biological treatments have also been explored, but they often involve long decomposition periods with incomplete degradation. Additionally, exposure of microorganism cells to highly concentrated salt solutions can lead to significant water loss through osmosis, resulting in dehydration and potential cell death.

The main objective of this thesis is to combine two methods, biological and electrochemical, within a single unit called a bioelectrochemical system (BES) to treat saline textile wastewater loaded with refractory azo dyes while generating energy in the form of electricity. This BES is distinguished by the use of halothermophilic electroactive bacteria from extreme Tunisian environments, which form bioanodes capable of tolerating saline stress. Parameters affecting the performance of the BES have been optimized, including the inoculum source, the presence of a co-substrate and its concentration, the electrode material and surface, and the applied potential to the working electrode. These optimizations were initially carried out using synthetic wastewater before being validated with real industrial wastewater. The obtained bioanodes were subject to comparative analysis using electrochemical, microscopic, analytical, and molecular tools. Additionally, reaction media were also examined using analytical and molecular tools.

With synthetic wastewater, a maximum current density of 5.2 A/m², a decolorization rate of 100 %, and a COD removal rate of 96 % were achieved. Moreover, with real wastewater, a maximum current density of 5.2 A/m² was observed simultaneously with a decolorization rate of 93 % and a COD removal rate of 70 %. Thus, for the first time, the bacterial species *Orenia metallireducens* was identified in different matrices of the BES fueled with synthetic wastewater. This discovery suggests promising prospects for the degradation of azo dyes.

Keywords: Textile wastewater treatment, Azo dyes, Bioelectrochemical systems, Halothermophilic bacteria.

Table des matières

Table des matières

Introduction générale.....	11
Chapitre I	16
Rapport bibliographique	16
1. Données historiques sur les colorants.....	17
2. Classification des colorants appliqués dans le secteur textile (Mansour et al., 2011)	18
3. Propriétés physico-chimiques des eaux usées textiles chargées avec des colorants azoïques	20
3.1. Diversité chimique des colorants azoïques dans les eaux usées textiles	20
3.2. Les sels solubles	20
3.3. Métaux lourds	21
3.4. Haute température	21
3.5. Demande chimique en oxygène élevée (DCO)	21
3.6. pH variable	21
4. Impacts des colorants azoïques.....	22
4.1. Impacts environnementaux	22
4.2. Impact sur la santé humaine.....	23
5. Méthodes de traitement des eaux usées textiles chargées en colorants azoïques.....	24
5.1. Méthodes physicochimiques	24
5.2. Méthodes biologiques	25
5.3. Traitement bioélectrochimique	30
6. Biofilm	32
6.1. Notion et étapes de formation	32
6.2. Biofilms électroactifs (EA)	34
7. Les systèmes bioélectrochimiques (SBE).....	34

7.1. Constituants et principe de fonctionnement.....	34
7.2. Mécanismes de transfert d'électrons vers l'anode	35
7.3. Sources de microorganismes EA.....	37
8. Mécanisme de réduction des colorants azoïques textiles dans un SBE.....	41
8.1. Voie de réduction extracellulaire des colorants azoïques	42
8.2. Voie de réduction intracellulaire des colorants azoïques.....	42
8.3. Voie de réduction par les médiateurs redox	43
9. Effet des paramètres opérationnels.....	44
9.1. Effet de la concentration de colorant	44
9.2. Effet du co-substrat.....	44
9.3. Effet de la qualité des eaux usées.....	45
9.4. Effet du matériau des électrodes.....	46
9.5. Effet de surface anodique	48
9.6. Effet de potentiel anodique	49
10. Conditions extrêmes et extrémophiles	49
10.1. Conditions extrêmes	49
10.2. Les extrémophiles	50
10.3. Extrémophiles dans la bioremédiation	54
10.4. Le lac hypersalin de Chott el Djérid : diversité microbienne et applications biotechnologiques.....	56
11. Conclusion du chapitre	57
Chapitre II	60
Matériels et méthodes	60
1. Echantillonnage des sédiments hypersalins.....	61
2. Les milieux réactionnels étudiés.....	62
2.1. Eaux usées textiles synthétiques	62
2.2. Eaux usées textiles réelles.....	64
3. Méthodologie de formation des bioanodes sous potentiel imposé	64

3.1. SBE.....	65
3.2. Electrodes.....	65
4. Techniques électrochimiques.....	66
4.1. Chronoampérométrie (CA)	66
4.2. Voltammétrie Cyclique (VC).....	67
5. Caractérisation des eaux usées	68
5.1. Suivi de la décoloration par un spectrophotomètre UV-visible	68
5.2. Suivi de la Demande Chimique en Oxygène (DCO).....	68
5.3. Suivi de la dégradation des molécules azoïques par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR).....	69
5.4. Suivi de la consommation du co-substrat par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).....	69
6. Caractérisation microscopique des biofilms EA	70
6.1. Microscopie électronique à balayage (MEB)	70
6.2. Microscopie à épifluorescence	71
7. Méthodologie des plans d'expériences.....	72
8. Extraction d'ADN, Next-generation sequencing (NGS) et analyse des communautés bactériennes	74
Chapitre III	76
Sélection des biofilms anodiques pour traiter des eaux usées textiles synthétiques et réelles ...	76
Introduction	77
1. Approche expérimentale	77
1.1. Source d'inoculum et substrat	77
1.2. Matériau de l'anode et potentiel de polarisation	78
1.3. Température et salinité.....	78
2. Résultats (Synthèse de l'article 1)	78
2.1. Effet de la concentration initiale des colorants sur la décoloration.....	78
2.2. Influence de la nature du co-substrat.....	80

2.3. Effet du sédiment utilisé comme inoculum	82
2.4. Vérification de la disparition du groupement AZO dans la structure des colorants ...	89
2.5. Caractérisation microscopique des biofilms formés sur les électrodes par microscopie à épifluorescence	90
2.6. Caractérisation microscopique des biofilms formés sur les électrodes par microscopie électronique à balayage (MEB)	92
2.7. Analyse de la diversité des populations bactériennes.....	95
Conclusion du chapitre et perspectives.....	100
Chapitre IV	102
Optimisation des performances des biofilms anodiques pour traiter des eaux usées textiles synthétiques	102
Introduction	103
1. Approche expérimentale	104
2. Synthèse de l'article 2 et résultats complémentaires	105
2.1. Analyses des effets synchroniques du matériau, de la surface de l'anode, de la concentration de glucose et du potentiel appliqué à l'électrode de travail sur la production du courant, le taux de décoloration et l'abattement de la DCO	105
2.2. Résultats des expériences réalisées avec les paramètres correspondant au point central	119
2.3. Résultats des expériences réalisées avec les paramètres correspondants aux conditions optimales.....	120
2.4. Analyse synchronique de la consommation de glucose, de la décoloration, de l'abattement de la DCO et de la production de courant	122
2.5. Discussion.....	125
2.6. Caractérisation microscopique des biofilms formés sur les électrodes par microscopie à épifluorescence 3D.....	128
2.7. Caractérisation microscopique des biofilms formés sur les électrodes par microscopie électronique à balayage (MEB)	131
2.8. Vérification de la disparition du groupement azo dans la structure des colorants	133
2.9. Analyse de la diversité des populations bactériennes.....	134
Conclusion du chapitre	138

Chapitre V	141
Validation des conditions optimales avec des eaux usées textiles industrielles réelles	141
Introduction	142
1. Approche expérimentale.....	143
2. Résultats	144
2.1. Effets des eaux usées réelles sur la production de courant	144
2.2. Suivi de la décoloration globale par spectroscopie UV-Visible.....	148
2.3. Suivi de l'abattement de la DCO	150
Conclusion du chapitre	154
Conclusion générale et perspectives.....	156
Références bibliographiques.....	162

Liste des abréviations

Acier 254 SMO : Acier inoxydable, marque déposée de la société Suédoise OUTOKUMPU

AI : Acier inoxydable

BBD : Design de Box-Behnken

BR: Bezaktive rouge S-Matrix 150

CA : Chronoampérométrie

CE : Conductivité électrique

DCO : Demande chimique en oxygène

DO : Densité optique

EA : Electroactif/ve

ECS : Electrode au calomel saturé

EPS : Substances polymériques extracellulaires

ESH : Electrode standard à hydrogène

FC : Feutre de carbone

FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

HMDS : Hexamethyldisilazane

HPLC : Chromatographie en phase liquide haute performance

MEB : Microscopie électronique à balayage

ND : Noir direct 22

POA : Procédés d'oxydation avancés

RTWW : Eaux usées textiles réelles

SBE : Système bioélectrochimique

SCD : Sédiment de Chott el Djérid

SG: Sirius Light Gris CG-LL

SSM : Sédiment de sebkhat el Melah

STWW : Eaux usées textiles synthétiques

TB : Tubantin bleu

TC : Tissu de carbone

TDE : Transfert direct des électrons

TEE : Transfert extracellulaire d'électrons

TIE : Transfert indirect d'électrons

VC : Voltammétrie cyclique

Introduction générale

L'industrie textile est reconnue comme l'une des plus polluantes et des plus gourmandes en eau et en énergie à l'échelle mondiale (Niinimäki et al., 2020 ; Leal Filho et al., 2022). En effet, elle génère d'importantes quantités d'eaux usées salines contenant des produits chimiques nocifs pour les écosystèmes aquatiques et terrestres. Selon la bibliographie, le traitement industriel des textiles nécessite un apport massif d'eau propre estimée à environ 150 à 250 litres d'eau par kg de tissu (Jadhav et al., 2010 ; Gasmi et al., 2022 ; Uddin et al., 2023).

Les principaux contaminants des eaux usées textiles sont sans conteste les colorants, notamment les colorants azoïques. En plus de ceux-là, on retrouve des matières organiques et inorganiques dissoutes, comme les sels (NaCl et Na₂SO₄), ainsi que des substances potentiellement nocives telles que les agents de fixation, les agents de blanchiment, les métaux lourds et les détergents. Les colorants, en particulier, représentent une menace majeure pour l'environnement en raison de leur stabilité chimique, ce qui signifie qu'ils persistent dans l'environnement pendant de longues périodes. Ces colorants sont également connus pour leur haute toxicité. En effet, une fois rejetés dans les cours d'eau, ils peuvent subir des processus de décomposition photochimique, libérant ainsi des sous-produits toxiques tels que les amines aromatiques, connues pour leur caractère cancérigène et mutagène.

Les colorants azoïques, définis comme deux ou plusieurs cycles aromatiques reliés par une ou plusieurs liaisons azoïques (-N=N-), sont la catégorie de colorants la plus couramment utilisée. Ils représentent plus de 70 % de l'ensemble des colorants synthétiques. À l'échelle mondiale, plus de 300 000 tonnes de divers colorants azoïques sont consommées chaque année pour les opérations de teinture des textiles. Il a été estimé que près de 10 à 15 % de ces colorants azoïques sont inutilisés et rejetés dans l'environnement via les eaux usées.

Le rejet de ces eaux usées colorées sans aucun traitement entraîne d'importants impacts néfastes sur les milieux aquatiques récepteurs, soulignant ainsi la nécessité d'adopter des procédés de traitement efficaces. Les eaux usées textiles sont généralement traitées par des méthodes conventionnelles telles que l'oxydation biologique, la coagulation chimique et l'adsorption par charbon actif. Cependant, ces méthodes conventionnelles présentent certaines limitations ou inconvénients liés au coût, à l'efficacité et à la production de boues (Eslami et al., 2013 ; Imran et al., 2015 ; Jadhav et al., 2019 ; Lellis et al. 2019 ; Shahi et al., 2020).

Le traitement des eaux usées textiles dans des systèmes bioélectrochimiques (SBE) constitue une approche novatrice qui vise à aborder les défis de la double crise environnementale et énergétique. Cette double crise résulte de la pression croissante exercée sur les ressources naturelles et de la détérioration de l'environnement due aux activités industrielles, notamment celles liées à l'industrie textile.

Ces SBE offrent une alternative prometteuse en couplant des processus biologiques et électrochimiques pour dégrader les polluants présents dans les eaux usées textiles. Ils exploitent les interactions complexes entre les microorganismes, les électrodes et les substrats organiques pour favoriser la dégradation des composés toxiques. De plus, ils présentent l'avantage de pouvoir générer de l'énergie sous forme d'électricité tout en traitant les eaux usées, offrant ainsi une solution innovante à la fois pour le traitement de ces eaux usées et pour la production d'énergie renouvelable.

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail de thèse réalisé dans le cadre du projet « *Gestion Durable Des Eaux Usées Textiles : Traitement, Valorisation Énergétique De La Pollution Et Recyclage De L'eau* » du programme *PHC-UTIQUE*, mis en place en 2020 et dont les principaux enjeux sont de valoriser les eaux usées textiles salines chargées avec des colorants azoïques en les utilisant comme combustibles dans un SBE de traitement et de valorisation énergétique. Ce SBE a la particularité de mettre en jeu des bactéries halothermophiles électroactives, provenant des sédiments hypersalins des milieux extrêmes tunisiens. Ces bactéries sont capables de tolérer le stress salin issus des eaux usées textiles et de catalyser l'oxydation de la matière organique permettant ainsi de coupler l'extraction d'énergie au traitement et à la valorisation des déchets. Les bactéries électroactives décomposent la matière organique, générant ainsi des électrons. Ces électrons sont ensuite acheminés vers l'extérieur des cellules bactériennes par un mécanisme de transfert extracellulaire d'électrons (TEE), soit pour être acceptés par l'électrode, soit pour être acceptés par le colorant à travers leurs participations au clivage réducteur de la liaison azoïque.

Ce travail a été réalisé en partenariat avec l'industrie textile Global-Washing (Gitex groupe en Tunisie) qui nous a fourni les colorants synthétiques et les eaux usées réelles durant les différents stades de la thèse. Ce partenariat est contractualisé dans le cadre du projet *MOBIDOC-2020* dont les partenaires sont l'Agence Nationale de Promotion de la Recherche Scientifique en Tunisie, l'Institut Supérieur de Biotechnologie de Sidi Thabet en Tunisie et l'industrie textile Global-Washing à Korba, Nabeul en Tunisie.

La plupart des recherches antérieures sur le traitement des eaux usées textiles dans les SBE se sont focalisées sur des milieux synthétiques caractérisés par une faible salinité et la présence d'un seul colorant. Cependant, ces conditions ne reflètent pas fidèlement la complexité des eaux usées réelles, lesquelles se distinguent par une salinité élevée et une composition plus variée en termes de colorants. La nouvelle approche de cette thèse consiste à optimiser les performances du SBE dans des milieux synthétiques qui se rapprochent davantage des conditions réelles des eaux usées (considérant la salinité, la température et le nombre de colorants) et de valider ensuite toutes les optimisations réalisées dans ces milieux synthétiques en les appliquant à des eaux usées industrielles réelles.

Structure du mémoire :

Ce mémoire de thèse est organisé en cinq chapitres. Le premier chapitre se concentre sur une synthèse bibliographique portant sur les caractéristiques des eaux usées textiles contenant des colorants azoïques et sur la technologie des SBE. Il aborde également les divers mécanismes de réduction des colorants azoïques et les facteurs affectant la dégradation bioélectrochimique. De plus, ce premier chapitre présente un état de l'art sur les conditions extrêmes et les bactéries extrêmophiles, ainsi que leurs rôles dans la bioremédiation.

Le deuxième chapitre présente les sources d'inoculum utilisées dans les SBE, ainsi que les colorants synthétiques et les eaux usées réelles à traiter. Il détaille aussi les matériels et méthodes électrochimique, analytique, microscopique et moléculaire utilisés pour la caractérisation des biofilms et des eaux usées.

Le troisième chapitre a été consacré à la sélection des sédiments hypersalins pour le traitement des eaux usées textiles synthétiques et réelles. Deux sources principales d'inoculum récupérées à partir de deux environnements extrêmes tunisiens, à savoir le sédiment de Chott el Djérid et le sédiment de Sebkhath el Melah, ont été utilisés pour former des biofilms électroactifs (EA). Les performances de ces différents biofilms EA ont été évaluées et comparées en termes de production de courant, de décoloration des colorants et d'abattement de la DCO. Une étude comparative des communautés bactériennes qui ont colonisé les différentes électrodes a été présentée à la fin du chapitre.

Le quatrième chapitre a été consacré à l'étude, par la méthodologie du plan d'expériences, des effets synchroniques de quatre paramètres qui affectent directement les performances d'une

bioanode formée pour le traitement des eaux usées textiles synthétiques. Pour ce faire, l'inoculum qui a donné le potentiel de dégradation le plus élevé et la densité de courant la plus importante dans les résultats du premier chapitre a été sélectionné. Les quatre paramètres qui ont été étudiés sont le matériau anodique, sa quantité de surface, la concentration du co-substrat et le potentiel appliqué à l'électrode de travail. Les performances du SBE ont été évaluées en termes de production de courant, de décoloration des colorants et d'abattement de la DCO. Une étude comparative de la diversité des communautés bactériennes présentes au niveau de l'inoculum initiale, le milieu réactionnel et le biofilm anodique a été réalisée dans le but d'identifier les espèces clés jouant un rôle prépondérant dans le SBE.

Les travaux présentés dans le cinquième chapitre ont visé à valider les conditions opératoires établies à partir des eaux usées synthétiques dans le chapitre précédent. En effet, l'utilisation des eaux usées réelles, qui peuvent avoir une composition chimique différente de celles des eaux synthétiques, est un pas supplémentaire pour observer comment le SBE se comporte face à des eaux usées d'origine industrielle. De la même manière, les performances du SBE ont été évaluées en termes de production de courant, de décoloration des colorants et d'abattement de la DCO.

La conclusion générale propose une mise en lumière des résultats marquants de cette thèse tout en traçant les perspectives ouvertes par ces travaux, que ce soit dans le domaine de la recherche (poursuite des optimisations, exploration des mécanismes microbiens) ou du développement (mise en œuvre d'un SBE pilote et industrialisation).

Chapitre I

Rapport bibliographique

1. Données historiques sur les colorants

L'utilisation de colorants par l'homme remonte à environ 40 000 ans, comme en témoignent les peintures rupestres d'Altamira et de Lascaux, les céramiques mésopotamiennes, les vêtements retrouvés dans les tombes égyptiennes, ainsi que les décors corporels des populations primitives (Mansour et al., 2011). Initialement, les pigments provenaient de "terres colorées", puis de fibres animales et végétales. Les premiers colorants utilisés semblaient être d'origine minérale, extraits de minéraux présents en surface ou dans les mines. Des minéraux tels que l'hématite pour le rouge, la limonite pour le jaune et la lazurite pour le bleu étaient employés pour teindre les textiles. En grattant la surface des roches, une poudre était obtenue, prête à être utilisée après dissolution dans de l'eau ou de l'huile.

Lorsque l'homme a maîtrisé la technique du tissage avant le XI^e millénaire, il a commencé à utiliser des teintures d'origine végétale ou animale.

- ❖ **Teintures d'origine végétale** : fabriquées à partir de feuilles, d'écorces ou de racines d'arbres et de plantes. Ces colorants étaient les plus utilisés dans l'Antiquité, car ils étaient les plus faciles à trouver. Les teintures les plus courantes étaient faites de garance pour le rouge, de safran et de carthame pour le jaune et d'indigo pour le bleu et le violet bleuté.
- ❖ **Teintures d'origine animale** : fabriquées à partir d'insectes, de lichens et de crustacés. Les insectes les plus connus qui ont été utilisés dans l'Antiquité sont le kermès et la cochenille, qui produisaient donc du rouge écarlate et du rouge cramoisi.

Tout cela a changé au milieu du XIX^e siècle, avec la découverte d'une teinture synthétique. De nombreuses familles de colorants ont été fabriquées, cette fabrication repose essentiellement sur des imitations de la composition chimique des colorants naturels, ce qui a contribué à un grand développement de la chimie organique (Uddin et al., 2023).

La mauvéine représente le premier colorant synthétique qui a été découvert en 1856 par William Perki. Cette substance a été obtenue à partir de l'aniline (tirée du goudron de houille) par action de l'acide sulfurique en présence de bicarbonate de potassium permettant ainsi de colorer la soie en violet. Entre le milieu et la fin du XIX^e siècle, des scientifiques du monde entier ont commencé à développer des colorants pour la teinture des tissus à partir de produits chimiques.

Aujourd'hui, l'industrie des colorants constitue un domaine capital de la chimie. Les colorants sont employés pour l'impression et la teinture des fibres textiles, des papiers, des cuirs, des fourrures, des bois et des matières plastiques. Ils servent aussi à préparer des peintures, des encres d'imprimerie, des vernis et, comme additifs, à colorer des produits alimentaires et pharmaceutiques. Ils sont utilisés dans l'industrie des cosmétiques, la coloration des métaux (aluminium anodisé), la photographie (sensibilisateurs), la biologie (coloration des préparations microscopiques), les indicateurs colorés, et certains d'entre eux sont employés dans les techniques colorimétriques de dépistage (antiseptiques et antimalariques). On compte aujourd'hui deux familles de colorants : les colorants naturels extraits essentiellement de matières minérales ou organiques et ceux issus de la synthèse chimique.

Les premiers colorants dits « azoïques » ont été découverts en 1860 en Grande-Bretagne. Ces colorants ont rapidement éliminé les colorants à base d'aniline du marché, dont la résistance à la lumière était faible. La plus importante contribution au développement de l'industrie des colorants revient à l'industrie allemande (Badische Anilinund Soda Fabrick : BASF) qui représente le plus grand groupe chimique au monde qui a été capable de synthétiser une large gamme des colorants alizarine, indigo et indanthrène.

2. Classification des colorants appliqués dans le secteur textile

La classification des colorants synthétiques repose essentiellement sur la nature du groupement chromophore (groupement d'atomes qui, au sein d'une molécule, lui donne sa couleur en absorbant certaines longueurs d'ondes). On distingue alors six classes (Mansour et al., 2011) : **Les colorants nitrés et nitrosés** qui constituent la classe de colorants la plus ancienne. Ils sont actuellement encore utilisés, du fait de leur faible coût lié à la simplicité de leur structure moléculaire caractérisée par la présence d'un groupe nitro (-NO₂) en position ortho par rapport à un groupement électrodonneur (hydroxyle ou groupes aminés). **Les colorants anthraquinoniques**, leur chromophore est un noyau quinonique sur lequel peuvent s'attacher des groupes hydroxyles ou amino. **Les colorants phtalocyanines** qui ont une structure complexe basée sur l'atome central de cuivre. Les colorants de ce groupe sont obtenus par réaction du dicyanobenzène en présence d'un halogénure métallique (Cu, Ni, Co, Pt, etc.). **Les colorants indigoïdes** qui tirent leur dénomination de l'indigo dont ils dérivent. Ainsi, les homologues sélénié, soufré et oxygéné du bleu indigo provoquent d'importants effets hypsochromes avec des coloris pouvant aller de l'orange au

turquoise. **Les colorants xanthène** qui sont caractérisés par une intense fluorescence. Bien qu'ils soient peu utilisés en tant que teinture, ces colorants sont utilisés comme marqueurs lors d'accidents maritimes ou comme traceurs d'écoulement pour des rivières souterraines et des flux de rejets. le composé le plus connu de cette famille est la fluorescéine. **Les colorants azoïques** : Ces colorants représentent la classe de colorants sur laquelle est porté ce travail de thèse. Ces colorants tirent leur nom de la présence du groupe fonctionnel azo (-N=N-), caractérisé par la liaison double entre deux atomes d'azote, qui relie deux groupes aromatiques (Figure 1). La formation de la liaison azo se produit généralement par la réaction entre deux composés aromatiques contenant des groupes amino (-NH₂) en présence de certains réactifs, tels que les sels de diazonium. Cette réaction est connue sous le nom de réaction de diazotation et de couplage azoïque.

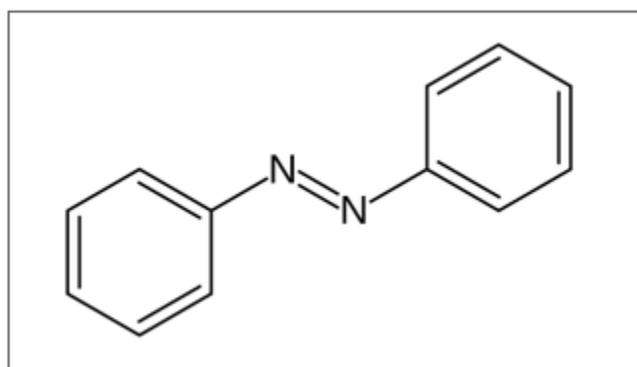


Figure 1 : Structure de base d'une molécule azoïque.

Le nombre de colorants azoïques a connu une évolution importante dans les années 90, on compte aujourd'hui plus de 10000 molécules commercialisées. Ces molécules représentent environ 70 % de la production mondiale de colorants et sont impliquées dans un large éventail de domaines : textile, imprimerie, alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. L'industrie textile représente la partie majeure du marché de ces colorants.

L'introduction de groupes azo entre deux noyaux aromatiques déplace le spectre d'absorption du benzène vers les grandes longueurs d'onde de telle sorte que la couleur apparaît (effet bathochrome); également, l'introduction de groupes amines ou phénols a un effet bathochrome permettant ainsi d'obtenir presque toutes les nuances du spectre. Les colorants azoïques forment une gamme étendue de nuances (du jaune au bleu, au vert et même au noir) et se rencontrent dans

diverses classes tinctoriales : les colorants basiques, acides, directs et réactifs solubles dans l'eau, les azoïques dispersés et à mordant non ioniques insolubles dans l'eau.

3. Propriétés physico-chimiques des eaux usées textiles chargées avec des colorants azoïques

Les eaux usées textiles contiennent une variété de colorants azoïques structurellement différents, des sels, des agents de fixation, des agents de blanchiment, des métaux, ainsi que d'autres composés qui rendent la décoloration de ces eaux brutes très différente de celle des eaux usées contenant des mélanges de colorants simples et de chlorure de sodium (Saratale et al., 2009 ; Xu et al., 2018 ; Cui et al., 2021). Ces eaux usées comprennent un certain nombre de composés différents, notamment l'alcool polyvinylique, la carboxyméthylcellulose, les tensioactifs, le sulfure, le formaldéhyde, les détergents qui sont utilisés soit pour donner de la résistance à la fibre, soit pour améliorer l'adsorption des colorants (Rosli et Habibah., 2006). Certaines caractéristiques des eaux usées textiles brutes sont discutées en suivant.

3.1. Diversité chimique des colorants azoïques dans les eaux usées textiles

Les colorants azoïques utilisés dans l'industrie textile présentent une diversité de structures en fonction du nombre de groupes azoïques, de la position et du type de substituant, ainsi que de leurs masses moléculaires. La biodégradation de ces colorants dépend étroitement de ces caractéristiques. En effet, les colorants contenant des groupes méthyle, méthoxy, nitro ou sulfo se révèlent plus résistants à la dégradation par rapport à ceux comportant des groupes hydroxyle ou amino. De manière similaire, les colorants de poids moléculaires élevés sont dégradés plus lentement que leurs homologues de faibles poids moléculaires (Nigam et al., 1996). Par ailleurs, des études ont démontré que les colorants directs, reconnaissables par leur solubilité dans l'eau et leur affinité pour les fibres cellulosiques grâce à des liaisons hydrogène, sont plus facilement dégradés que les colorants réactifs. Ces derniers se caractérisent par la présence de groupes fonctionnels réactifs, tels que les groupes triaziniques ou vinylsulfone, assurant la formation de liaisons covalentes fortes avec les fibres (Saratale et al., 2009).

3.2. Les sels solubles

Les sels (NaCl et Na_2SO_4) sont généralement ajoutés aux bains de teinture pour améliorer la fixation des colorants sur les tissus dans les bains de teinture. Selon (Qiu et al., 2022), environ 10-80 g/L de NaCl sont utilisés au cours du processus de teinture. Ces concentrations élevées de sels dans les eaux usées colorées peuvent réduire le taux de biodégradation des colorants, car le sel peut

provoquer une plasmolyse des cellules microbiennes et réduire l'activité biologique, notamment pour les microorganismes non adaptés aux concentrations élevées en sels (Gopinath et al., 2011).

3.3. Métaux lourds

Les eaux usées textiles colorées contiennent également des quantités importantes de métaux lourds. Environ 30 % des colorants à complexe métallique sont utilisés pour la teinture de la laine et 40 % pour la teinture du polyamide (Lazar et al., 2005). En effet, afin d'augmenter la résistance à la lumière et au lavage, un procédé de production des colorants azoïques à complexe métallique a été inventé dans lequel un colorant azoïque et un métal sont mis en réaction dans un processus appelé gravure. Par conséquent, les teintures sont considérées comme une source majeure de divers métaux, notamment Cd, Cr, Co, Cu, Hg, Ni, Mg, Fe et Mn qui sont rejetés dans les eaux usées textiles (Igiri et al., 2018). Ces métaux ont fait l'objet d'une étude en raison de leur impact sur la décoloration de divers colorants azoïques par des cultures microbiennes. En général, les métaux lourds entravent la croissance microbienne et les activités enzymatiques. Cependant, il est important de noter que les différentes souches microbiennes présentent des niveaux variables de tolérance à ces métaux dans les eaux usées. (Sharma et al., 2008 ; Igiri et al., 2018).

3.4. Haute température

Une température élevée est nécessaire pour augmenter l'efficacité de la fixation des colorants sur les tissus. Ce qui se traduit par le rejet d'eaux usées à haute température à la sortie des unités de teinture. La température des eaux usées textiles peut atteindre 70 °C. Ceci entraîne une inhibition des activités microbiennes dans les stations d'épuration (Telke et al., 2008 ; Selvaraj et al., 2021).

3.5. Demande chimique en oxygène élevée (DCO)

La DCO correspond à la concentration d'oxygène consommée pour l'oxydation chimique des contaminants organiques et inorganiques. Des valeurs élevées de DCO ont été observées dans les eaux usées textiles qui peuvent aller jusqu'à 30 000 mg O₂/L (Imran et al., 2015, Selvaraj et al., 2021).

3.6. pH variable

Une autre caractéristique importante des eaux usées textiles est leur pH hétéroclite (Imran et al. 2015). En fait, le pH varie en fonction du procédé de teinture utilisé. Il peut être alcalin, neutre ou acide en fonction de la nature des sels et des colorants appliqués dans le bain de teinture. Yusuff et Sonibare. (2004) ont enregistré le pH de cinq unités textiles différentes et ont rapporté que le pH

de tous les échantillons était supérieur à 10,0. Ali et al. (2009) ont rapporté des valeurs de pH des eaux usées textiles allant jusqu'à 13,0. Contrairement à ces résultats, Diwaniyan et al. (2010) ont rapporté un pH très bas, autour de 2,5. Il a été démontré que le pH des eaux usées contenant des colorants peut modifier le taux de biodégradation des colorants (Hussain et al. 2013). Par conséquent, dans un procédé biologique de traitement, soit le pH des eaux usées doit être ajusté en fonction de la culture microbienne, soit il faut utiliser des populations microbiennes capables de dégrader efficacement les colorants azoïques dans une large gamme de pH.

4. Impacts des colorants azoïques

La concentration des colorants azoïques dans les eaux usées textiles varie de 10 à 300 mg/L (Sun et al., 2022). Les colorants azoïques sont considérés comme persistants et récalcitrants dans les environnements naturels, car ils sont précisément conçus pour être stables à la lumière et aux agents chimiques (Saratale et al., 2009 ; Selvaraj et al., 2021). Le rejet d'eaux usées textiles contenant des colorants a plusieurs impacts négatifs sur les ressources en eau et la vie humaine (Lellis et al., 2019 ; Padhiyar et al., 2020).

4.1. Impacts environnementaux

Les colorants azoïques réduisent la pénétration de la lumière solaire dans l'eau, modifient la couleur de l'eau et affectent la réaction photosynthétique, ce qui nuit à la vie aquatique (Imran et al., 2015 ; Lellis et al., 2019 ; Jadhav et al., 2019). La présence de métaux dans les eaux usées textiles peut également être nuisible à certaines formes de vie marine. En effet, leur présence avec les colorants peut altérer la qualité de l'eau par eutrophisation et perturber les conditions écologiques de la flore et de la faune aquatiques (Figure 2).

Certains colorants textiles agissent également comme des agents toxiques, persistent en tant que polluants environnementaux et traversent des chaînes alimentaires, ce qui entraîne une bioaccumulation (Sandhya., 2010 ; Mansour et al., 2011). Dans ce sens, une mention spéciale doit être faite aux colorants textiles de type azoïque dont les rejets peuvent représenter 15-50%, ne se lient pas au tissu pendant le processus de teinture, et sont rejetés dans les eaux usées qui sont couramment utilisées, particulièrement dans les pays en développement, à des fins d'irrigation dans l'agriculture. L'utilisation de ces composés azoïques est très négative pour les communautés microbiennes du sol et pour la germination et la croissance des plantes (Rehman et al., 2018).



Figure 2 : Evacuation des déchets colorés de l'industrie textile vers les plans d'eau : A : Tunisie ; B et C : Bangladesh ; D : Mexique.

4.2. Impact sur la santé humaine

La toxicité aiguë des colorants textiles est causée par l'ingestion orale et l'inhalation, notamment par l'exposition à la poussière, déclenchant des irritations de la peau et des yeux (Lellis et al., 2019). La toxicité des colorants azoïques a été observée la première fois en 1895. En effet, une augmentation du nombre de cancers de la vessie a été observée chez des ouvriers de l'industrie textile. Plus tard, cette augmentation de nombres des malades a été liée à leur exposition prolongée aux colorants azoïques (Rehn., 1895). Depuis, les travaux effectués sur ces colorants azoïques ont démontré que ces composés chimiques présentent des effets cancérigènes pour l'homme et l'animal (Chen et al., 2006). Des tests effectués *in vitro* ont démontré que ces composés peuvent provoquer des sarcomes locaux et des tumeurs au niveau du foie, de la vessie, des glandes mammaires et du système hématopoïétique (Chung., 2016).

En plus, la réduction du groupement azoïque chromophore génère la formation des amines aromatiques qui sont connues pour être mutagènes et cancérigènes. Le centre international de recherche sur le cancer a classé la benzidine (4,4'-diaminobiphényle) et la β -naphtylamine (2-naphtylamine), qui sont deux amines aromatiques utilisées pour la fabrication des colorants

azoïques, comme des amines à effet cancérigène pour la vessie. Selon l'agence danoise de protection de l'environnement, l'estimation des risques de cancer impose de fixer une concentration limite de 3,1 µg/L en colorant azoïque dans l'eau potable.

5. Méthodes de traitement des eaux usées textiles chargées en colorants azoïques

5.1. Méthodes physico-chimiques

▪ Adsorption

Le traitement par adsorption sur charbons actifs consiste à transférer le colorant de la phase liquide vers la phase solide. Le charbon actif est le résultat d'un traitement thermique des eaux usées en atmosphère strictement contrôlée, il s'agit d'une activation thermique (séchage, carbonisation à 500-600 °C et oxydation ménagée à 850-1000 °C). Le processus d'adsorption des colorants dans ce procédé peut être divisé en quatre étapes : convection des molécules de colorants, diffusion des molécules de colorants à travers une couche limite de diffusion, diffusion des molécules de colorants de la surface vers la couche d'adsorption et diffusion des molécules de colorants de la surface vers la partie intérieure des matériaux adsorbants (Husien et al., 2022). Ce traitement ne laisse que le squelette carboné des matériaux. L'inconvénient majeur de cette technique est qu'elle n'est efficace que sur certaines familles de colorants.

▪ Filtration sur membrane

La nanofiltration et l'osmose inverse peuvent être appliquées comme processus de traitement principal ou de post-traitement pour la séparation des sels et des colorants, des eaux usées textiles. La filtration avec des membranes très poreuses, c'est-à-dire l'ultrafiltration et la microfiltration, ne convient généralement pas, car la taille des pores de la membrane est trop grande pour empêcher les molécules de colorant de passer, mais elle peut être efficace en tant que prétraitement pour une nanofiltration ultérieure ou un processus d'osmose inverse. La filtration sur nano-membrane est une méthode rapide qui nécessite peu d'espace et qui présente l'avantage de pouvoir séparer et réutiliser certains des composés y compris les colorants non réactifs (Klatt et al., 2022). Les principaux inconvénients des techniques membranaires sont la diminution du flux et l'encrassement des membranes, ce qui nécessite un nettoyage fréquent et un remplacement régulier des modules ou des composants des stations d'épuration. Un autre inconvénient important est que les déchets générés doivent être traités pour un processus d'oxydation supplémentaire.

▪ **Coagulation – floculation**

Le principe du processus repose sur l'ajout de coagulants tels que le magnésium, le fer et les sels d'aluminium à l'eau polluée qui peut conduire à une association chimique rapide entre le coagulant et les polluants et, par conséquent, des floes ou des précipités seront formés et peuvent être éliminés de la phase aqueuse par le processus de filtration. Cependant, ces composés inorganiques ne sont généralement pas très appropriés pour éliminer les colorants très solubles (sulfonés) de la solution (Imran et al., 2015 ; Dotto et al., 2019). En outre, la coagulation/floculation avec des produits chimiques inorganiques génère des volumes considérables de boues, voire toxiques, qui doivent être incinérées et posent des problèmes d'élimination, ce qui entraîne des coûts élevés et des problèmes secondaires liés à l'environnement.

▪ **Procédés d'oxydation avancés (POA)**

L'oxydation avancée est l'une des alternatives potentielles pour décolorer et réduire les colorants des eaux usées textiles. Les POA peuvent être classés en quatre familles : les procédés d'oxydation chimique en phase homogène ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ et $\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_3$), les procédés photocatalytiques en phase homogène et/ou hétérogène ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, O_3/UV et $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$; TiO_2/UV), les procédés d'oxydation sonochimique et les procédés d'oxydation électrochimique (Zaviska et al., 2019). Ces procédés ont donné de très bons résultats, soit pour la minéralisation complète des colorants réactifs ou leur transformation en structures moins complexes et plus facilement biodégradables (Hassan et al., 2018). L'inconvénient majeur est leur coût relativement élevé comparé à un traitement biologique.

5.2. Méthodes biologiques

En plus des méthodes physico-chimiques conventionnelles utilisées pour le traitement des eaux usées textiles, le traitement biologique est une alternative qui présente plusieurs avantages. En effet, les colorants sont décomposés dans une large mesure à un coût comparable, tout en nécessitant moins d'eau et en produisant moins de boues (Ngo et Tischler., 2022 ; Bhatt et al., 2022).

Par définition, le traitement biologique englobe l'ensemble des techniques utilisées pour dépolluer un site naturel, qu'il s'agisse du sol, des eaux de surface ou souterraines, en mobilisant des microorganismes (Lynch et Moffat, 2005). Ces microorganismes opèrent en consommant les contaminants environnementaux en tant que source de carbone, les dégradant ainsi. Les colorants

azoïques, par exemple, peuvent être décomposés par une diversité de microorganismes, tels que des bactéries, des champignons, des actinomycètes et des algues. L'efficacité de la décoloration des colorants azoïques dépend également du milieu de croissance spécifique et du mécanisme métabolique impliqué. Cependant, il convient de noter que ces techniques ne sont pas toujours applicables à toutes les eaux usées industrielles en raison des concentrations élevées de polluants et de leur toxicité, pouvant entraîner la mort des microorganismes.

Le processus de dégradation biologique des colorants azoïques se déroule en deux étapes. La première étape implique le clivage réducteur de la liaison azoïque du colorant (azoréduction) (-N = N-) et la deuxième étape consiste à dégrader les amines aromatiques formées lors de l'étape précédente. En outre, la réduction du colorant azoïque est catalysée dans des conditions anaérobies par des enzymes cytoplasmiques généralement des azoréductases. Cette réduction implique le transfert de quatre électrons, qui passent par deux étapes au niveau de la liaison azoïque et, à chaque étape, deux électrons sont transférés au colorant, qui agit comme un accepteur final d'électrons, ce qui entraîne la décoloration. Les métabolites intermédiaires qui en résultent sont ensuite dégradés en aérobie ou en anaérobie (Mansour et al., 2011).

Les facteurs qui influent sur la dégradation des colorants se répartissent principalement en deux catégories : les facteurs environnementaux, tels que le pH et la température, et les facteurs nutritionnels, comprenant la source de carbone ou d'azote ainsi que la présence de NaCl. Le pH revêt une importance cruciale pour la croissance bactérienne et constitue une caractéristique essentielle dans le traitement des eaux usées (Varjani et al., 2020). Il peut être acide, alcalin ou neutre en fonction du type d'eaux usées. La dégradation des colorants dans les eaux usées contenant ces composés peut varier en fonction du pH. Ajuster le pH des eaux usées pour favoriser la croissance des bactéries dégradant les colorants ou sélectionner des espèces microbiennes capables de se développer dans le pH spécifique de ces eaux usées, peut résoudre ce problème (Al-Amrani et al., 2014). La température exerce également une influence significative sur le traitement biologique des colorants. Des températures extrêmes peuvent entraîner la mort des bactéries et affecter leur croissance (Al-Amrani et al., 2014 ; Varjani et Upasani, 2017). Accélérer la dégradation des colorants est possible en maintenant une température optimale (entre 30 et 40 °C) pour la culture bactérienne. Das et Mishra (2017) ont utilisé un consortium bactérien composé de *Bacillus pumilus* et *Zobellella taiwanensis* pour dégrader le vert réactif 19, obtenant le meilleur

résultat à 32°C. Cependant, le nombre de bactéries thermophiles signalées pour la dégradation des colorants azoïques à température élevée est limité. Les facteurs nutritionnels jouent également un rôle dans la biodégradation. Les microorganismes nécessitent des suppléments nutritionnels pour dégrader rapidement les colorants (Varjani et Upasani, 2019). Des sources organiques telles que la peptone, l'extrait de levure ou le saccharose ont été signalées pour obtenir des taux élevés et rapides de décoloration, que ce soit avec des cultures pures ou mixtes. L'efficacité de la décoloration peut être améliorée en ajoutant du glucose, identifié comme la source de carbone la plus efficace et facilement disponible pour le métabolisme microbien (Khan et al., 2013). Le tableau 1 est une synthèse de la littérature sélectionnée sur la biodégradation des colorants en utilisant des souches/consortia de bactéries, de champignons et de levures.

Tableau 1 : Microorganismes impliqués dans le traitement microbien des colorants azoïques.

Bactéries				
Souche/consortium	Colorant	Décoloration %	Mécanisme	Référence
Consortium bactérien	Noir direct G	100	Réduction	(Qiu et al., 2022)
<i>Pseudomonas-stutzeri</i>	Bleu acide 113	86	Réduction	(Joshi et al., 2020)
<i>Alishewanella, Halomonas, Jonesia et Pseudomonas</i>	Rouge disperse 60	95	Réduction	(Seyedi et al., 2020)
<i>Priestia sp. RA1</i>	Noir réactif 5	97	Réduction	(Vinayak et al., 2022)
<i>Pseudomonas extremorientalis BU118</i>	Rouge congo	36–94	Réduction	(Neifar et al., 2016)
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Rouge 3B	93	Azoréduction	(Saha et al., 2017)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Rouge RBN	> 90	Azoréduction	(Chen et al., 2003)
Consortium bactérien	Eaux usées réelles chargées par plusieurs colorants azoïques	99	Azoréduction	(Agrawal et al., 2023)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Jaune réactif 145	100	Azoréduction	(Garg et al., 2020)
<i>Alishewanella sp. CBL-2</i>	Bleu sumifex tourqi	83	ND	(Ajaz et al., 2018)
<i>Alcaligenes aquatilis 3C</i>	Rouge synazol 6HBN	82	ND	(Ajaz et al., 2019)
Champignons				
Souche	Colorant	Décoloration %	Mécanisme	Référence

<i>Peurotus florida</i>	Bleu rémazol	96	Réduction	(Montiague et al., 2020)
<i>Oudemansiella canarii</i>	Rouge congo	80	Réduction	(Lark et al., 2019)
Souche	Colorant	Décoloration %	Mécanisme	Référence
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Rouge disperse 1	85	Réduction	(Ameen et al., 2021)
<i>Aspergillus terreus</i>	Noir direct 1	98	Réduction	(Singh et Dwivedi., 2020)
<i>Aspergillus flavus</i>	Bleu acide 29	86	Azoréduction	(Khan et al, 2020)
<i>Trichoderma tomentosum</i>	Rouge acide 3R	99	ND	(He et al., 2018)
Levures				
Souche	Colorant	Décoloration %	Mécanisme	Référence
<i>Candida tropicalis</i>	Bleu acide 93	100	Dégradation aérobie	(Taha et al., 2014)
<i>Trichosporon akiyoshidainum</i>	Noir réactif 5	89	Réduction	(Martorell et al., 2017)
<i>Sterigmatomyces halophilus</i>	Noir réactif 5	100	Azoréduction	(Al-Tohamy et al., 2020)
<i>Scheffersomyces spartinae TLHS-SF1</i>	Rouge acide 18	98	Azoréduction	(Tan et al., 2016)

*ND : Non défini

5.3. Traitement bioélectrochimique

Les procédés de traitement des eaux usées industrielles, chargées de colorants azoïques, au sein des systèmes bioélectrochimiques (SBE) connaissent une expansion significative (Figure 3). Ces procédés peuvent être définis comme des dispositifs électrochimiques exploitant l'action catalytique des bactéries électroactives (EA), organisées en biofilms, pour oxyder des composés organiques ou inorganiques, générant ainsi un courant électrique (Logan et al., 2006 ; Cui et al 2021 ; Teoh et al., 2023). Actuellement, cette technologie fait l'objet d'études approfondies en tant que domaine multidisciplinaire intégrant l'électrochimie, la microbiologie et la science des matériaux pour résoudre des problèmes environnementaux et produire de l'électricité (Patade et al., 2016 ; Perazzoli et al., 2018 ; Sun et al., 2022). L'évaluation de l'efficacité de ce procédé de traitement repose sur la mesure de l'abattement de la demande chimique en oxygène (DCO) et l'élimination de la matière colorante, ainsi que sur les densités de courant produites.

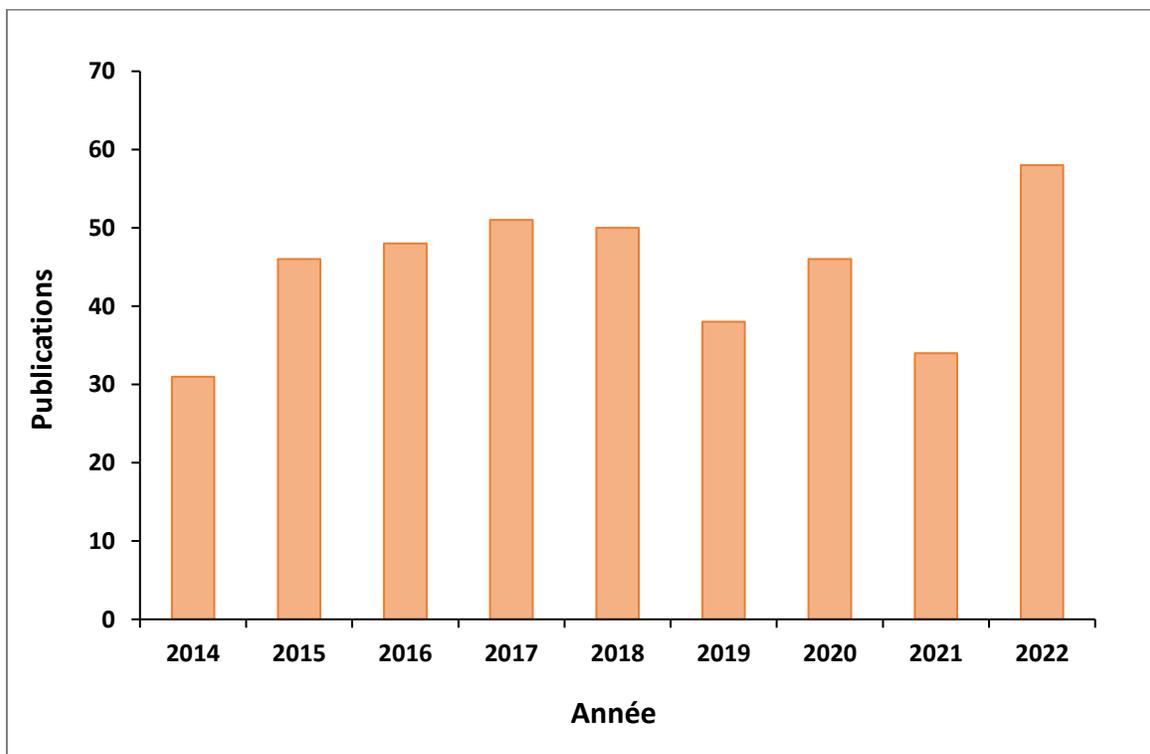


Figure 3 : Évolution annuelle du nombre d'articles scientifiques publiés sur le traitement bioélectrochimique des colorants azoïques.

Comme le montre le tableau 2, plusieurs colorants azoïques ont été traités dans les SBE (le rouge congo, l'orangé de méthyle et l'orange acide), étant donné que la liaison azoïque est capable d'accepter les électrons du co-métabolisme conduisant ainsi à un clivage réducteur du groupement

chromophore azoïque ($-N=N-$) (Solanki et al., 2013 ; Fernando et al., 2014 ; Holkar et al., 2018 ; Teoh et al., 2023). Les métabolites secondaires décolorés qui sont des amines aromatiques formées lors de l'étape de l'azoréduction peuvent également booster la génération de bioélectricité en agissant comme des navettes d'électrons parallèlement à la dégradation du colorant par clivage réducteur.

Tableau 2 : Liste des colorants azoïques traités dans des SBE.

Colorant	Configuration du SBE	Décoloration %	Références
Rouge congo	Deux chambres	60	(Sun et al., 2016)
Rouge cochenille A	Deux chambres	70	(Oon et al., 2017)
Bleu Victoria R	Deux chambres	95	(Chen et al., 2018)
Orangé de méthyle	Deux chambres	84	(Huang et al., 2018)
Orange acide 7	Deux chambres	80	(Kong et al., 2018)
Mix de 18 colorants azoïques	Chambre unique	90	(Fernando et al., 2013)
Jaune d'alizarine R	Chambre unique	96	(Cui et al., 2014)
Rouge réactif X-3B	Chambre unique	81	(Liu et al., 2015)
Rouge congo	Chambre unique	88	(Dai et al., 2020)
Orange réactif 16	Chambre unique	98	(Ilamadhi et al., 2019)

6. Biofilm

6.1. Notion et étapes de formation

Les biofilms peuvent être définis de manière simple et générale comme des communautés de microorganismes enrobés d'une matrice polymérique et fixées à une surface telles que les métaux, les matériaux naturels (sable, roches), les tissus vivants (tissus végétaux, tissus humains) et le plastique. (Ruhel et Kataria., 2021 ; Liu et al., 2023). La capacité de former un biofilm est maintenant considérée comme une caractéristique propre à plusieurs microorganismes. Il est estimé que 80 % de la biomasse microbienne de notre planète réside sous forme d'un biofilm (Richards et Melander., 2009).

Les bactéries contenues dans un biofilm présentent des caractéristiques très différentes de leurs homologues planctoniques (bactéries libres en suspension) parmi lesquelles la production d'exopolymères, la mise en place d'un système de communication chimique "quorum sensing" (Suppiger et al., 2013), une augmentation significative de leur résistance aux agents antimicrobiens et aux stress environnementaux (déshydratation, privation nutritionnelle et rayonnements ultraviolets) (Yin et al., 2019 ; Rather et al., 2021 ; Liu et al., 2023). Les bactéries des biofilms expriment donc un phénotype différent des bactéries en suspension.

La formation d'un biofilm mature nécessite cinq étapes (figure 4) :

Étape 1 : Lors de cette étape de la formation du biofilm, les cellules microbiennes s'attachent à une surface grâce à leurs appendices comme les pili (McBride., 2001) et les flagelles (Gavin et al., 2003) et peuvent également s'attacher par d'autres forces physiques comme les forces de van der Waals, les interactions électrostatiques (Jamal et al., 2018). Cette adhésion primaire des bactéries peut être réversible.

Étape 2 : Il s'agit d'une adhésion irréversible au cours de laquelle les microorganismes sécrètent des exopolymères qui vont permettre une fixation permanente sur la surface (Tremblay et al., 2014).

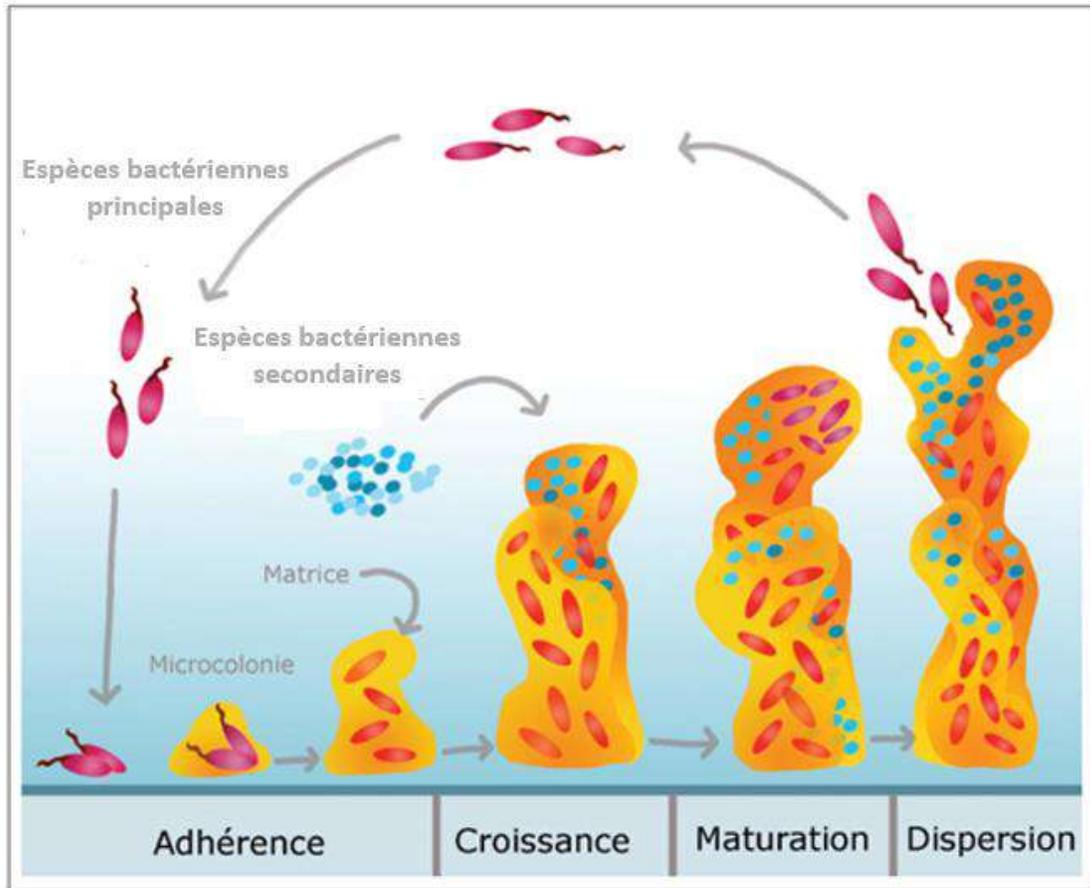


Figure 4 : Les étapes de formation et évolution d'un biofilm à la surface d'un matériau selon Tremblay et al. (2014).

 tape 3 : Après la fixation de microorganismes sur une surface et que cet attachement devient stable, un processus de multiplication et de division des cellules microbiennes commence. Ce processus conduit ensuite à la formation de microcolonies. Les microcolonies grandissent et forment ensuite des films continus (Tremblay et al., 2014).

 tape 4 : Cette étape correspond à une croissance exponentielle du biofilm qui se traduit par une augmentation de son épaisseur jusqu'à former un film hétérogène tridimensionnel (Costerton et al., 1999). Des canaux interstitiels sont alors produits dans la matrice, qui sont utilisés pour distribuer les nutriments et éliminer les déchets issus du métabolisme bactérien (Vasudevan et al., 2014).

 tape 5 : Cette étape correspond au détachement ou la dispersion du biofilm. Des facteurs tels que la limitation de la disponibilité en oxygène, le manque de nutriments et l'accumulation de déchets

permettent le détachement et la dispersion des biofilms matures (Yin et al., 2019). Les bactéries peuvent alors migrer afin de trouver un environnement plus favorable à leur développement.

6.2. Biofilms électroactifs (EA)

De nombreux microorganismes phylogénétiquement divergents peuvent échanger des électrons avec des surfaces solides conductrices, en effectuant un transfert extracellulaire d'électrons (TEE). Ces surfaces peuvent être des conducteurs minéraux comme les oxydes métalliques dans les environnements naturels, ou des électrodes artificielles dans des SBE (Cahoon et Freitag., 2018 ; Gupta et al., 2020 ; Logan et al., 2019).

Les microorganismes qui peuvent échanger des électrons avec des électrodes sont connus sous le nom de microorganismes électroactifs. À ce jour, plusieurs microorganismes ont été décrits comme électroactifs. Il peut s'agir de bactéries à Gram négatif ou à Gram positif, d'archées ou de levures, que l'on retrouve dans de nombreux environnements, notamment lacs et rivières, la mer, les boues, les sédiments, les sols, les aquifères souterrains profonds et même dans l'intestin et la plaque buccale des mammifères (Logan et al., 2019 ; Zhao et al., 2021).

Le domaine de recherche qui étudie ces microorganismes électroactifs est connu comme l'électromicrobiologie, un domaine qui a beaucoup progressé au cours des dernières décennies compte tenu de son importance dans de nombreuses applications biotechnologiques (Li et al., 2019 ; Rotaru et al., 2021 ; Paquete et al., 2022).

7. Les systèmes bioélectrochimiques (SBE)

7.1. Constituants et principe de fonctionnement

Un SBE est un dispositif dans lequel des bactéries électroactives sont utilisées comme catalyseur des réactions d'oxydoréductions. Il se compose généralement d'un réacteur biologique dans lequel est placée une anode (bioanode) et sur laquelle est adhérent le biofilm EA, d'une cathode et éventuellement d'un séparateur entre les deux compartiments (optionnel). Au niveau du milieu réactionnel (l'anolyte) se trouve l'inoculum qui contient les bactéries ainsi que le substrat (source de carbone et donneur d'électrons). L'anode et la cathode sont reliées par un circuit électrique externe (Figure 5). Les microorganismes oxydent une grande variété de molécules organiques en produisant l'énergie utile pour leur croissance et le maintien de leur métabolisme, les électrons issus de cette oxydation sont transférés à l'anode directement ou indirectement par les microorganismes, ils circulent ensuite dans un circuit électrique externe jusqu'à la cathode où les

électrons et les protons peuvent se réagir entre eux pour, par exemple, former le H_2 ou bien avec un oxydant en solution (ex : l'oxygène O_2 pour former H_2O). En anaérobiose, d'autres composés dissous dans le milieu tel que les sulfates ou les nitrates peuvent jouer le rôle d'accepteur final d'électrons (Park et Zeikus., 1999 ; Kumar et al., 2016).

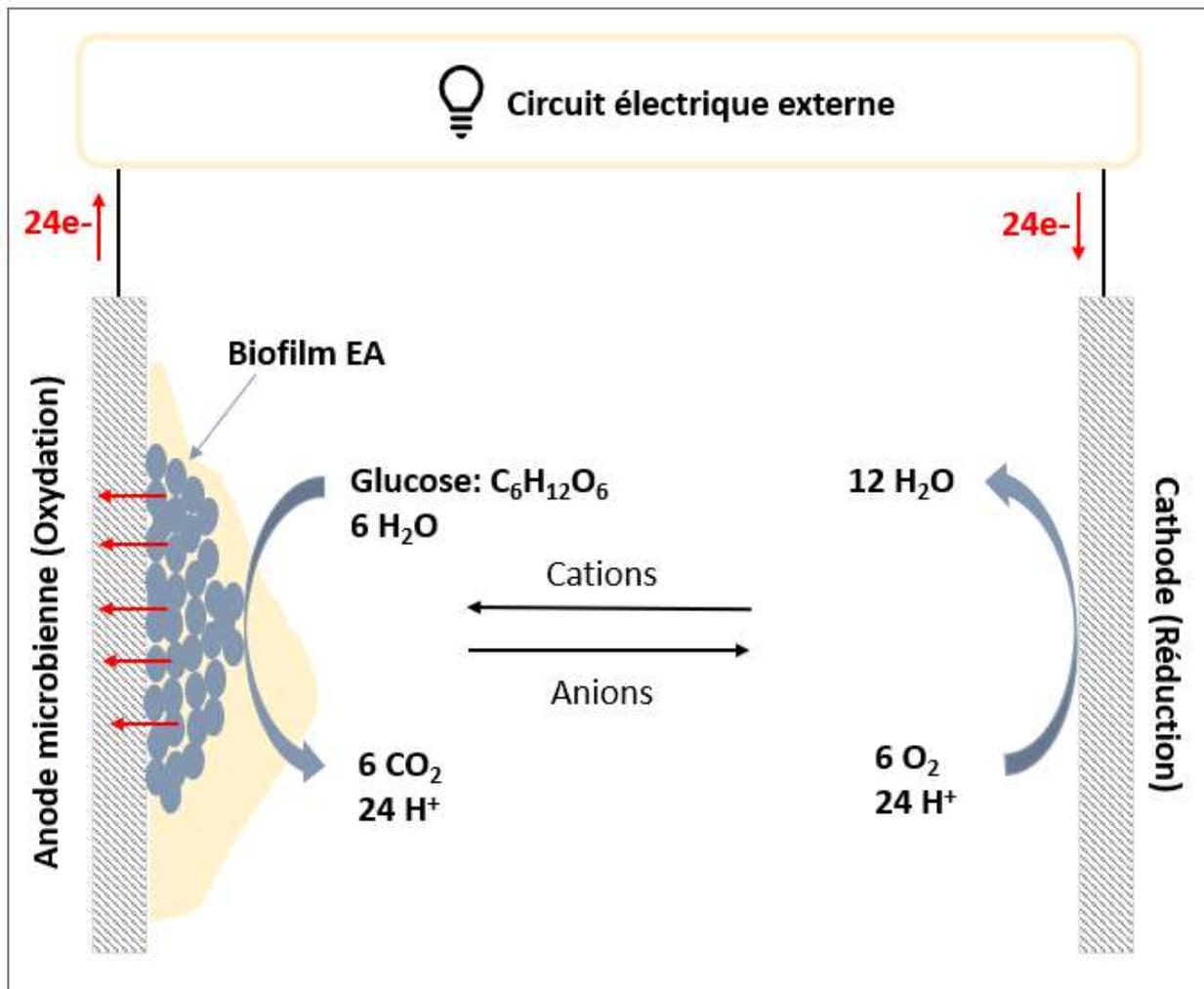


Figure 5 : Schéma de fonctionnement d'un SBE utilisant le glucose comme substrat.

7.2. Mécanismes de transfert d'électrons vers l'anode

L'oxydation d'un substrat organique (donneur d'électrons) entraîne la libération d'électrons et de protons. Ces électrons sont transférés à la surface conductrice de l'électrode (anode) puis ils passent par un circuit électrique externe jusqu'à la cathode. Plusieurs travaux ont étudié les mécanismes de transfert d'électrons entre les bactéries et l'anode (Lovley., 2006 ; Schröder., 2007 ; Kumar et al., 2016). Ce transfert peut être effectué : i) directement grâce à un contact physique direct entre la

cellule bactérienne et l'anode, ii) indirectement via des composés chimiques mobiles en solution jouant le rôle de navette d'électron entre la cellule bactérienne et l'anode.

7.2.1. Transfert direct des électrons (TDE)

Ce mode de transfert implique un contact direct entre la bactérie et l'anode. Ce transfert est médié par des protéines cytochromes de type C intra et extra-membranaires (Figure 6.B) (Liu et al., 2013). La limitation principale de ce processus est que les bactéries doivent adhérer à l'anode (sous la forme d'un biofilm) pour le transfert d'électrons. De nombreuses bactéries à Gram positif sont impliquées dans le TDE en formant des biofilms sur les surfaces anodiques, fournissant ainsi un contact direct avec les protéines liées à la membrane. Les seules populations bactériennes présentes dans la première couche de biofilm sont impliquées dans le TDE par les protéines cytochromes.

Un autre mécanisme proposé pour le transfert direct d'électrons met en jeu des nanofils, encore appelés des pili conducteurs (Figure 6.C) (Reguera et al., 2005) produits par de nombreux microorganismes électroactifs. Ces nanofils permettent de conduire le flux électronique des couches internes du biofilm vers l'anode. Des bactéries des genres *Geobacter* et *Shewanella* sont capables de produire ces nanofils électriquement conducteurs et de former des biofilms électroactifs épais, entraînant ainsi une augmentation des performances des anodes (Malvankar et al., 2011).

7.2.2. Transfert indirect d'électrons (TIE)

Le transfert indirect d'électrons vers l'anode implique des navettes d'électrons, appelées "médiateurs" assurant la médiation du flux d'électrons du métabolisme bactérien vers l'anode (Figure 6.A). Les couches externes de la majorité des espèces microbiennes se composent de membranes lipidiques, de peptidoglycanes et de lipopolysaccharides qui empêchent le transfert direct des électrons vers l'anode. En effet, lorsque ces médiateurs sont utilisés à l'anode, les bactéries sont capables de les réduire au niveau de leurs membranes puisque la chaîne de transport d'électrons est située dans la membrane plasmique. Le médiateur sous forme réduite peut ensuite être réoxydé au contact de l'électrode, assurant ainsi le transfert d'électrons entre les bactéries et l'anode.

Le TIE se produit, soit par un médiateur endogène synthétisé par le microorganisme lui-même tels que les métabolites primaires et secondaires du métabolisme bactérien (Schröder et al., 2007), soit par addition de médiateurs artificiels. Un médiateur idéal devrait être capable de traverser

facilement la membrane cellulaire, capable de capter les électrons des porteurs d'électrons des chaînes de transport d'électrons, soluble dans le milieu réactionnel, non biodégradable et non toxique. Les médiateurs artificiels comprennent les colorants et les composés organiques tels que le rouge neutre (NR), le bleu de méthylène (MB), la thionine, le bleu de Meldola (MeIb), la 2-hydroxy-1,4-naphtoquinone (HNQ) et le Fe(III) EDTA (Du et al., 2007 ; Babanova et al., 2011).

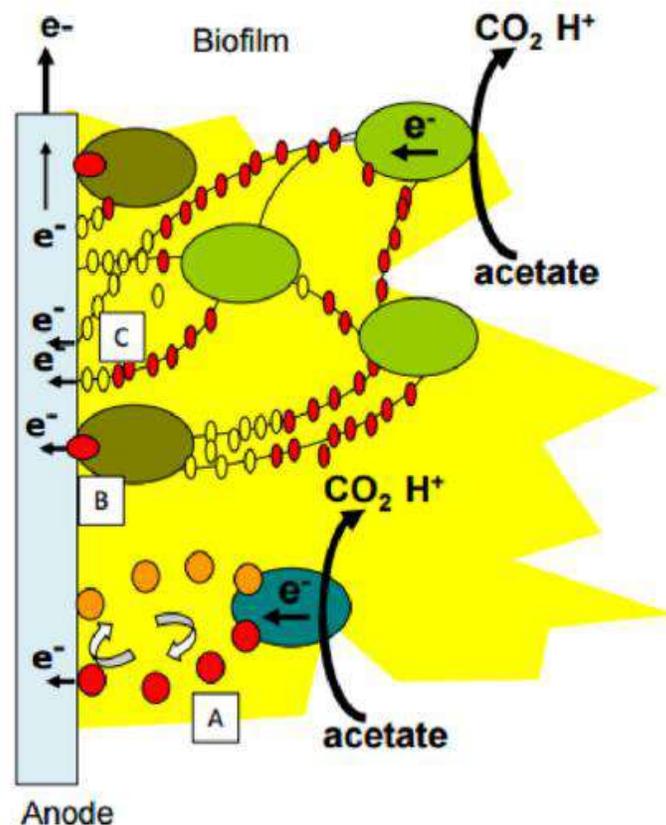


Figure 6 : Mécanisme de transfert des électrons entre une cellule bactérienne et une surface anodique : (A) Transfert indirect par des médiateurs. (B) Transfert direct par les cytochromes, (C) Transfert direct via les pili conducteurs (Santoro et al., 2017).

7.3. Sources de microorganismes EA

Un SBE peut être inoculé soit par un inoculum simple, c'est-à-dire une culture pure mono-espèce ou par un inoculum complexe, c'est-à-dire un consortium multi-espèces.

7.3.1. Cultures pures

Plusieurs souches pures sont capables de transférer des électrons hors de leurs cellules vers une surface conductrice. Dans la littérature, on trouve des bactéries telles que *Geobacter sulfurreducens*, *Geobacter metallireducens*, *Rhodospirillum rubrum*, *Desulfuromonas acetoxidans* et *Shewanella oneidensis*. Ces souches servent de souches modèles pour comprendre les phénomènes de transfert électronique entre une bactérie et une électrode. Il a été démontré que des souches pures telles que *Proteus hauseri* (Chen et al., 2010) et *Pseudomonas aeruginosa* (Jayapriya et Ramamurthy, 2012) génèrent de l'électricité dans des SBE sans médiateur et dégradent simultanément les colorants. Différents colorants azoïques tels que l'hélianthine, le rouge congo, le bleu réactif 172, le jaune réactif 145 et le rouge réactif 2 ont été traités dans des SBEs inoculés avec des bactéries du genre *Pseudomonas* (Jayaprakash et al., 2016). *Geobacter sulfurreducens* a également montré une décoloration complète dans des SBEs conçus pour la dégradation du rouge réactif ABRX3 (Fang et al., 2013).

7.3.2. Inocula complexes

Les biofilms multi-espèces sont obtenus à partir d'inocula complexes souvent collectés des milieux naturels ou industriels riches en microorganismes. Les inocula complexes proviennent généralement des eaux usées domestiques, des eaux usées industrielles, des sédiments marins, des boues ou du sol. Des différentes densités de puissance jusqu'à 5 W/m^2 ont été obtenues avec les sédiments marins (Erable et al., 2009), les eaux usées textiles (223 mW/m^2) (Kalathil et al., 2011) ou avec les eaux usées domestiques ($1,3 \text{ W/m}^2$) (Liu et al., 2005). Les SBE qui adoptent des cultures bactériennes mixtes présentent d'importants avantages à celles conduites avec des cultures pures, tels qu'un accès à une large gamme de substrats (Ketep et al., 2012) et une adaptation aux changements de conditions environnementales (Ilamadhi et Jayapriya., 2018).

Quelques exemples d'espèces bactériennes (cultures mixtes et cultures pures) utilisés comme des catalyseurs biologiques dans des SBE et leur rendement en termes de décoloration et de production d'électricité sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Résumé des différents inocula (simple ou complexe) utilisés pour le traitement bioélectrochimique des eaux usées textiles.

Nature de l'inoculum	Inoculum	Colorant	Concentration (mg/L)	Puissance ou densité de courant	Décoloration (%)	Références
Simple	<i>Clostridium</i> et <i>Eubacterium</i>	Un mix de 18 colorants azoïques	360	25 mW/m ²	90	(Fernando et al., 2013)
	<i>Chlorella vulgaris</i>	Un mix de colorants	ND	7 mW/m ²	93	(Logrono et al., 2017)
	<i>Bacillus subtilis</i> et <i>Flavobacterium sp. hydrophila</i>	Bleu Victoria R	80-100	80 mW/m ²	95–100	(Chen et al., 2018)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Rouge réactif 16	360	3 mW/m ²	98	(Ilamadhi et al., 2019)
	<i>Des protéobactéries</i>	Rouge congo	100– 500	23 mW/m ²	88	(Dai et al., 2020)
	<i>Ganoderma lucidum</i>	Orange acide 7	250	223 mW/m ²	100	(Liu et al., 2020)
	<i>Zobellella</i> , <i>Rheinheimera</i> et <i>Marinobacterium</i>	Jaune acide 36	100	ND	90	(Guo et al., 2020)
	<i>Shewanella putrefaciens</i> et <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Bleu Victoria R	1000	14 mW/m ²	99	(Wu et al., 2020)
	Culture mixte	Bleu réactif 5	50	58 mW/m ³	92	(Teoh et al., 2023)

Complexe	Boues anaérobies	Rouge congo	100	3 A/m ²	89	(Li et al., 2010)
	Boues anaérobies	Orangé de méthyle	10-20	ND	74	(Ding et al., 2010)
	Boues aérobies et anaérobies	Rouge congo	300	192 mW/m ²	90	(Hou et al., 2011)
	Boues anaérobies	Rouge congo	300	27 mW/m ²	65	(Sun et al., 2016)
	Boues de cultures mixtes	Rouge cochenille A	25	20 mW/m ²	70	(Oon et al., 2017)
	Boues anaérobies	Rouge acide 114	100–1000	1 A/m ²	85	(Miran et al., 2018)
	Boues anaérobies	Orange acide 7	800	52 mW/m ³	65	(Yang et al., 2018)
	Boues activées	Orangé de méthyle	30	ND	82	(Zou et al., 2019)
	Boues activées	Rouge congo	100–300	ND	93	(Khan et al., 2020)
	Sédiment hypersalin	Un mix de colorants	ND	12 A/m ²	-	(Askri et al., 2020)
	Boues anaérobies	Rouge réactif X-3B	200	60 mW/m ³	85	(Li et al., 2022)
	Boues activées	Orangé de méthyle	20	Nd	82	(Zou et al., 2023)

8. Mécanisme de réduction des colorants azoïques textiles dans un SBE

La réaction du co-métabolisme est probablement le principal mécanisme de dégradation des colorants azoïques dans un SBE dans lequel les équivalents réducteurs (électrons) sont formés pendant l'oxydation anaérobie de la source de carbone (co-substrat). En général, le co-substrat est oxydé et une partie des électrons produits durant cette oxydation est transférée aux bactéries électrochimiquement actives accumulées sur l'anode qui passent dans un circuit externe produisant du courant. L'autre partie des électrons est transférée pour le clivage réducteur de la liaison azoïque dans la structure du colorant (Figure 7). Par conséquent, il y aura une compétition pour les équivalents réducteurs entre les molécules de colorant et l'anode (accepteur d'électrons). L'électricité est donc produite au cours du processus de co-métabolisme du co-substrat et la liaison azoïque est biologiquement clivée en anaérobiose.

Par exemple, lorsque le glucose est oxydé à l'anode, les électrons libérés circulent vers les colorants azoïques et l'anode. Les réactions se produisent à l'anode sont comme le montre la figure 7.

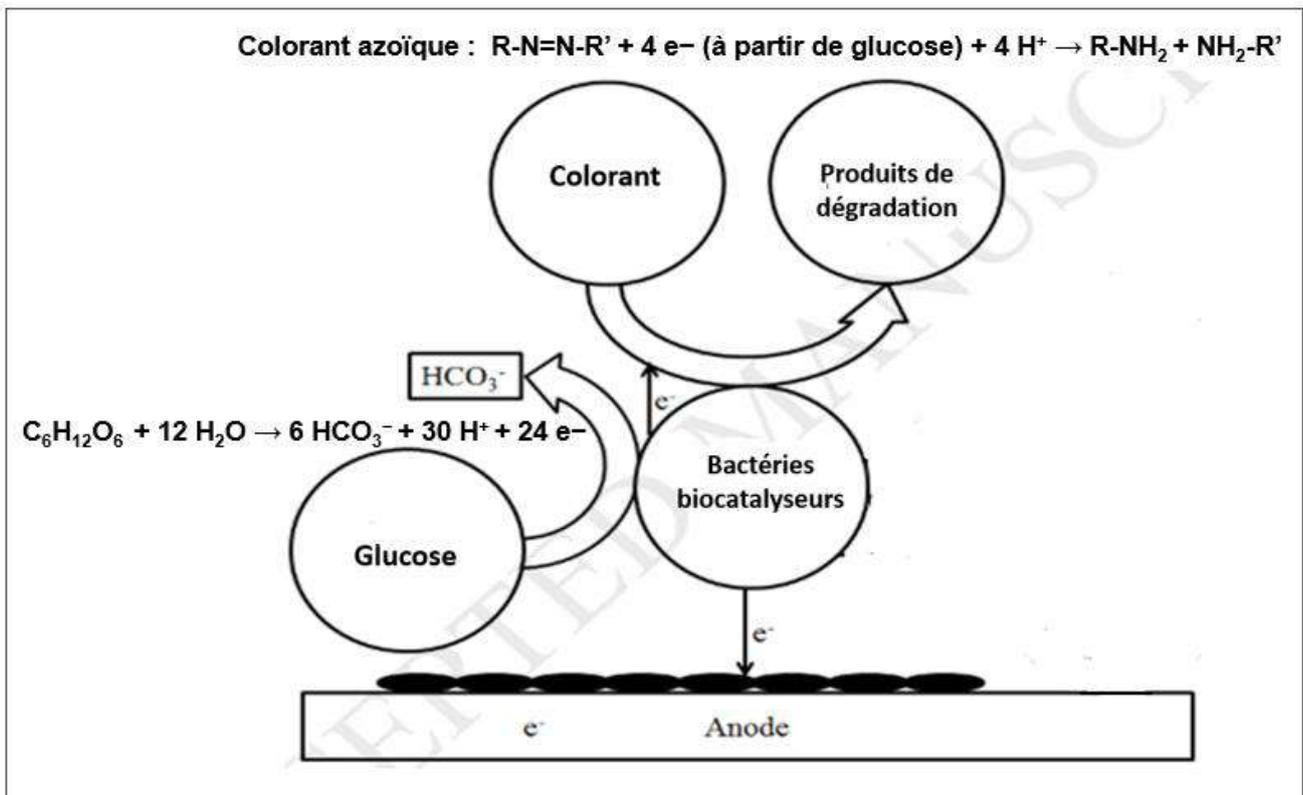


Figure 7 : Mécanisme de dégradation des colorant dans un SBE. Adapté de Miran et al. (2015).

Trois mécanismes de réduction possibles ont été rapportés par la bibliographie.

8.1. Voie de réduction extracellulaire des colorants azoïques

Premièrement, le rôle de bactéries électroactives enrichies à l'anode est crucial pour accélérer la réduction des colorants azoïques. En effet, la capacité des bactéries EA pour le TEE correspond parfaitement aux exigences de la voie de réduction extracellulaire des colorants azoïques (Figure 8, voie 1). Ainsi, les bactéries EA ayant une forte capacité de TEE devraient également être des réducteurs efficaces des colorants azoïques. Les protéines cytochromes c extracellulaires (OmcB, OmcC et OmcE) ont été identifiées comme les protéines de la membrane externe pour la réduction extracellulaire (Liu et al., 2017).

8.2. Voie de réduction intracellulaire des colorants azoïques

Deuxièmement, les bactéries non électroactives pourraient également contribuer à la réduction des colorants (Yang et al., 2018). Ces bactéries enrichies dans le milieu réactionnel qui utilisent d'autres composés inorganiques comme accepteurs finaux des électrons (par exemple, la respiration du fumarate, des nitrates ou bien du sulfate) pourraient avoir une réductase fonctionnelle abondante (enzyme cytoplasmique) tel que l'azoréductase, la nitrate réductase, la sulfate réductase qui sont considérés comme les enzymes clés pour la décoloration des colorants azoïques. Les colorants azoïques sont alors réduits par voie intracellulaire (Figure 8, voie 2). Les azoréductases sont considérées comme les principales enzymes de réduction produites par les bactéries. Ces enzymes provoquent le clivage des liaisons azoïques (-N=N-).

Le clivage des liaisons azoïques est une réaction de réduction à quatre électrons et quatre protons (Nam et Renganathan., 2000). Cependant, le mécanisme de réaction par lequel les azoréductases transfèrent des électrons aux molécules de colorant n'est pas clair, et peut impliquer une réduction directe et indirecte. Dans le cas d'un mécanisme direct, les azoréductases sont censées interagir physiquement avec le colorant afin de le réduire (Bragger et al., 1997). Dans le cadre d'un mécanisme indirect, la réduction se produit lorsque les azoréductases transfèrent des électrons à un médiateur redox qui transfère les électrons aux molécules de colorant (Dafale et al., 2008).

En comparant la réduction extracellulaire spécifique aux bactéries électroactives et la réduction intracellulaire classique observée dans les réactions biologiques conventionnelles, il apparaît que la réduction extracellulaire peut être entièrement catalysée par les protéines cytochromes extracellulaires. Cette caractéristique confère aux bactéries électroactives une protection contre

les effets toxiques, en maintenant les colorants azoïques ainsi que leurs produits décolorés à l'extérieur des cellules (Liu et al., 2017 ; Cui et al., 2021).

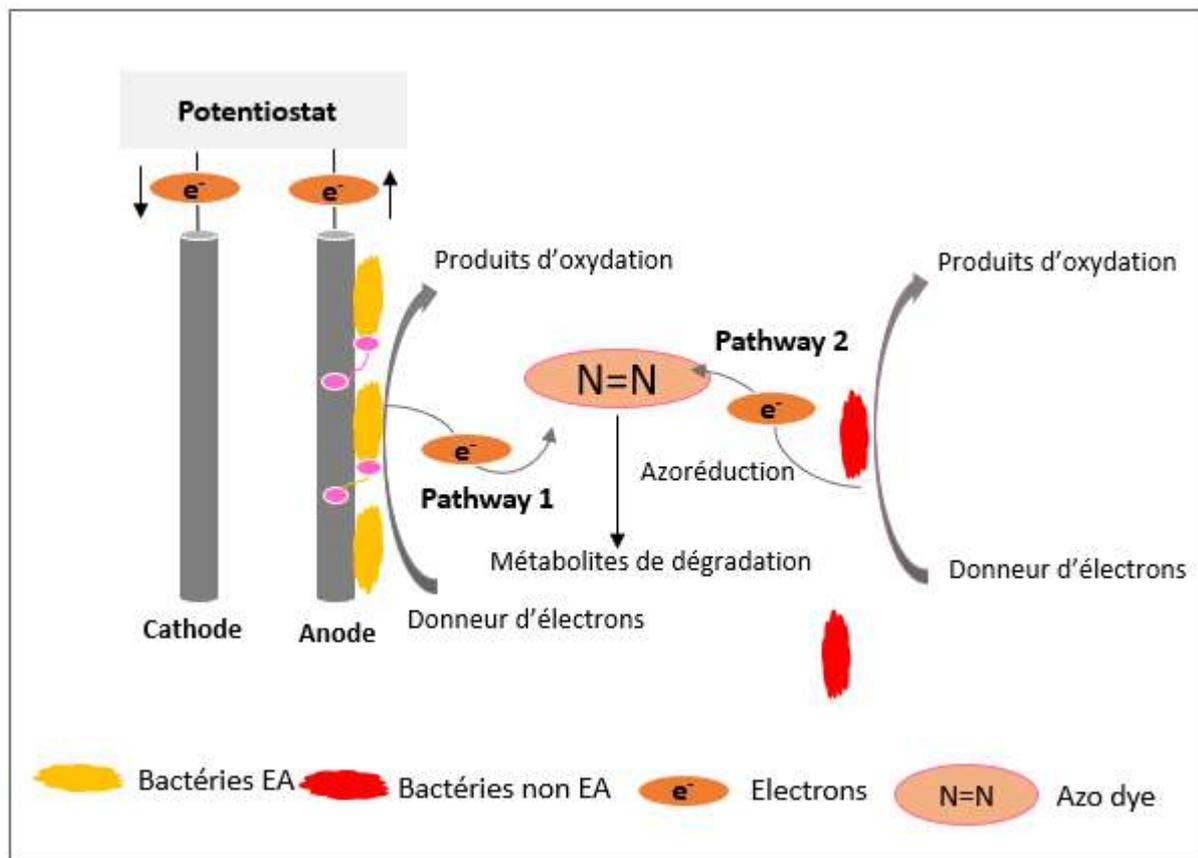


Figure 8 : Différentes voies de réduction bactérienne des colorants azoïques dans un SBE (Adapté de Cui et al., 2021).

8.3. Voie de réduction par les médiateurs redox

Troisièmement, l'ajout d'un médiateur redox est une autre alternative pour améliorer la décoloration et la production de bioélectricité à l'anode. Les médiateurs redox pourraient promouvoir cinétiquement le TEE entre les bactéries, l'anode, et les colorants azoïques (Van der Zee et al., 2005 ; Dos Santos et al., 2005 ; Oon et al., 2018). L'introduction de médiateurs redox, qu'ils soient d'origine artificielle ou naturelle, tels que la riboflavine et l'acide humique, a démontré une augmentation significative de 36 % et 26 % respectivement de la densité de puissance maximale, ainsi qu'une amélioration notable de 450 % et 258 % des taux de décoloration du rouge congo (Sun et al., 2013). Par ailleurs, des recherches supplémentaires ont mis en lumière le rôle des métabolites décolorés, tels que les amines aromatiques, agissant en tant que médiateurs redox pour stimuler à la fois la décoloration et la production d'électricité (Chen et al., 2013 ; Sun et al., 2022).

9. Effet des paramètres opérationnels

9.1. Effet de la concentration de colorant

Une concentration initiale élevée de colorant peut être toxique pour les microorganismes, entravant ainsi leur activité et entraînant une diminution de l'efficacité de la décoloration des colorants azoïques (Zou et al., 2019 ; Shahi et al., 2020). En général, les performances d'un SBE dépendent de la concentration et du type de colorant utilisé. Mu et al. (2009) ont examiné l'impact de la concentration de l'orange acide 7 sur la décoloration dans un SBE. Leur étude a révélé que l'efficacité de décoloration a diminué de 81 % à 75 % avec une augmentation de la concentration de colorant de 50 à 75 mg/L. De manière similaire, Sun et al. (2009) ont signalé une diminution du taux de décoloration avec l'augmentation de la concentration du colorant azoïque rouge brillant actif X-3B, passant de 300 à 1500 mg/L. Miran et al. (2018) ont également obtenu des taux de décoloration de 91 %, 86 %, 81 %, 73 % et 67 % à des concentrations initiales de colorant d'environ 100, 250, 500, 750 et 1000 mg/L respectivement. Plus récemment, Shahi et al. (2020) ont noté que des concentrations d'orange réactif dépassant 500 mg/L sont considérées comme inhibitrices pour la décoloration et la production d'électricité.

Ces études ont indiqué de manière cohérente une diminution de l'efficacité de décoloration avec l'augmentation de la concentration du colorant, suggérant ainsi une sensibilité des microorganismes à des niveaux élevés de ces composés.

9.2. Effet du co-substrat

Les microorganismes ont besoin d'une source de carbone et d'énergie pour leur croissance et le maintien de leur métabolisme. Les colorants peuvent contenir des composés aromatiques qui ne sont pas toujours assimilables de manière efficace par les microorganismes en tant que source de carbone. L'introduction d'un co-substrat peut alors offrir aux microorganismes une alternative comme source de carbone, facilitant ainsi leur métabolisme.

D'après la bibliographie, les principaux donneurs d'électrons utilisés pour la réduction des colorants azoïques comprennent le glucose, le saccharose, l'acétate, l'éthanol et les extraits de levure (Solanki et al., 2013 ; Cui et al., 2021). Il a été démontré qu'ils peuvent conduire avec succès le clivage réducteur de la liaison azoïque (Miran et al., 2015 ; Pushkar et Mungray., 2016 ; Fernando et al., 2016). Actuellement, la concentration d'un co-substrat est estimée dans une fourchette de 100 à 5000 mg/L dans les eaux usées (Xu et al., 2020).

D'après la littérature, le glucose est donneur d'électrons le plus efficace pour la réduction des colorants azoïques (Dos Santos et al., 2005). Dans la même logique, Mansour et al. (2011) ont rapporté que le glucose semble être le donneur d'électrons préféré pour la décoloration dans des conditions strictement anaérobies. Kalathil et al. (2012) ont utilisé des eaux usées réelles de teinture comme substrat. Grâce à cela, il n'y avait pas besoin de co-substrat supplémentaire, ce qui a permis de réduire considérablement les coûts. En fait, le glucose et autres matières organiques complexes présents naturellement dans les eaux usées pourraient être utilisés par les microorganismes comme des donneurs d'électrons afin de déclencher la réaction du co-métabolisme.

9.3. Effet de la qualité des eaux usées

L'origine et la composition des eaux usées jouent également un rôle important dans la production d'électricité. Les caractéristiques physico-chimiques des eaux usées les plus étudiés pour leurs traitements sont : la demande chimique en oxygène (DCO), le total des solides dissous (TSD), la conductivité électrique (CE), la température et le pH.

En se basant sur le Tableau 4, on constate que le taux moyen de la DCO dans les eaux usées textile est comparable à celui des eaux usées alimentaires et trois fois plus important que ceux enregistrés avec les eaux usées domestiques et agricoles, suggérant ainsi la présence d'une charge importante de matière organique et inorganique dans ces eaux usées. Le pH variable aussi est une caractéristique des eaux usées textiles. Comme expliqué dans le début de ce chapitre, le pH des eaux usées textiles varie en fonction du procédé de teinture utilisé, la nature des sels et des colorants appliqués dans les bains de teintures. En conséquence, dans un procédé biologique de traitement, soit le pH des eaux usées doit être ajusté en fonction de la culture microbienne, soit il faut utiliser des populations microbiennes capables de dégrader efficacement les colorants dans une large gamme de pH.

Tableau 4 : Caractéristiques physico-chimiques des différentes eaux usées.

Eaux usées	pH	STD (mg/L)	CE (μ S/cm)	DCO (mg O ₂ /L)
Eaux usées alimentaires	5	572	282	1562
Eaux usées domestiques	7	486	103	671
Eaux usées agricoles	7	98	68	397

Eaux usées textiles	Variable	195	39	1400
Eaux usées papetières	8	571	76	1250

9.4. Effet du matériau des électrodes

Les matériaux des électrodes ont été étudiés pour optimiser l'efficacité de décoloration et la production d'électricité. Le matériau de l'électrode doit être très approprié en termes de résistance mécanique, de stabilité chimique, de biocompatibilité, d'hydrophobie, de surface spécifique et de conductivité électrique.

Beaucoup de matériaux peuvent être utilisés pour fabriquer des électrodes pour les SBE (Figure 9). La nature du matériau est un paramètre déterminant étant donné qu'elle offre une surface d'adhésion pour les microorganismes anaérobies pour oxyder les substrats (Srivastava et al., 2015). Les sources les plus couramment utilisées sont les matériaux à base de carbone, les métaux ou les polymères conducteurs qui sont considérés comme des matériaux robustes pour la préparation des anodes.



Figure 9 : Les électrodes couramment utilisées : (A) papier de carbone, (B) tissu de carbone, (C) fibre de carbone, (D) carbone vitrifié réticulé, (E) maille de carbone, (F) granules de graphite granulé graphitiques, (G) brosses de carbone, (H) tige de graphite, (I) graphite polycristallin, (J) feutre de carbone, (K) Grille de platine, (L) différentes plaques d'électrodes métalliques, (M) plaques à base de polymère conducteur (Yakoob et al., 2020).

9.4.1. Matériaux à base de carbone

Les matériaux à base de carbone sont couramment utilisés pour fabriquer des électrodes en raison de leur grande stabilité chimique et mécanique, leur haute conductivité, leur bonne biocompatibilité et leur bonne cinétique de transfert d'électrons. Des matériaux à base de carbone tels que le feutre de carbone, la tige, la fibre, le tissu, le papier, le carbone vitreux, les brosses, et le graphite ont été étudiés. En effet, ces matériaux sont faciles à manipuler et à se procurer auprès de divers fournisseurs. Ils peuvent être produits en laboratoire à partir de sources naturelles (par exemple, l'écorce de pomelo), faciles à trouver, et on peut leur donner des formes tridimensionnelles bien contrôlées (Rimbaud et al., 2014). Récemment, l'équipe de Teoh et al. (2023) a conçu un système de traitement des eaux usées textiles utilisant des granules de charbon actif comme matériau d'électrode. Cette configuration a permis d'enregistrer des taux de décoloration supérieurs à 90 %. Dai et al. (2020) ont conçu un SBE utilisant un tissu de carbone comme matériau d'électrode. Le système a atteint une efficacité de décoloration des colorants azoïques d'environ 88 %. De même, les travaux de Oon et al. (2017) ont conçu un SBE pour le traitement d'un mélange de 4 colorants azoïques en utilisant le feutre de carbone comme matériau anodique. Ce système a atteint une efficacité de décoloration d'environ 95 %.

9.4.2. Matériaux à base de métaux

Les métaux et les oxydes métalliques sont des matériaux utilisés pour la fabrication d'électrodes anodiques, mais la corrosion est le principal inconvénient qui limite leur utilisation (Erable et al., 2017). Les métaux sont généralement plus conducteurs que les matériaux à base de carbone (Yakoob et al., 2020). En effet, l'acier inoxydable a suscité un intérêt croissant en tant que matériau anodique dans les SBE et a commencé à concurrencer les matériaux conventionnels à base de carbone. En effet, les capacités de plaque de graphite et de l'acier inoxydable à former des anodes microbiennes ont été comparées dans des conditions identiques dans l'étude de Pocaznoi et al. (2012). La comparaison était en faveur de l'acier inoxydable qui a fourni une densité de courant de l'ordre de 35 A/m², tandis qu'avec le graphite la densité de courant était deux fois plus faible et n'a pas dépassé 11 A/m². Dans le même sens, des bioanodes microbiennes conçues sur l'acier inoxydable dans l'étude de Ketep et al. (2014), ont donné des densités très élevées de l'ordre de 80 A/m² par rapport au tissu de carbone qui a donné une densité moins importante de l'ordre de 33 A/m² dans les mêmes conditions opératoires. Les électrodes anodiques à base de métaux nobles tels que l'or et l'argent ont été aussi utilisés dans les SBE, mais leur coût plus élevé et leur faible adhérence bactérienne empêchent leurs applications (Yakoob et al., 2020).

Néanmoins, Rimboud et al. (2014) suggèrent que l'aptitude des différents matériaux à former des bioanodes microbiennes est difficilement comparée, car leurs performances ont été décrites dans conditions opératoires différentes souvent en utilisant différents inocula, avec différentes configurations d'anodes et à différents potentiels appliqués.

9.4.3. Matériaux composites à base de polymères conducteurs

Les polymères conducteurs tels que la polyaniline, le polythiophène et bien d'autres peuvent servir de matériaux anodiques en raison de leurs caractéristiques de conductivité électronique élevée (Kaur et al., 2015 ; Shi et al., 2015 ; Mohd Radzuan et al., 2017). Les polymères conducteurs offrent d'excellents résultats lorsqu'ils sont modifiés avec d'autres matériaux à base de carbone. Par exemple, la modification d'un tissu de carbone avec de la polyaniline a montré une excellente production d'électricité par rapport aux matériaux non modifiés (Shahadat et al., 2014). Un autre polymère conducteur appelé le polypyrrole est l'un des bons matériaux qui a montré une densité de puissance de 452 mW/m^2 avec la modification du papier carbone (Phoon et al., 2019). D'après la littérature, le polypyrrole peut pénétrer dans les membranes cellulaires des bactéries et transporter l'électron à travers la voie métabolique. Dumitru et al. (2018) ont étudié le polypyrrole et la polyaniline avec des nanotubes de carbone (NTC) sous la forme d'une anode à base de nanocomposites. La densité de puissance obtenue était, pour les nanocomposites NTC/polyaniline ($202,3 \text{ mW/m}^2$) et NTC/polypyrrole ($167,8 \text{ mW/m}^2$), plus élevée que celle des nanocomposites NTC non modifiés ($145,2 \text{ mW/m}^2$).

9.5. Effet de surface anodique

Très peu d'études ont étudié l'effet de la surface de l'électrode dans un SBE conçu pour le traitement des eaux usées textiles. Sun et al. (2012) ont évalué l'effet de la surface de l'anode pour la décoloration simultanée du rouge congo et la production de bioélectricité. Il a été observé que des surfaces anodiques les plus larges (72 cm^2) entraînent une décoloration accélérée du rouge congo en comparant avec les surfaces moins larges (18 et 36 cm^2). En effet, les auteurs ont conclu que les surfaces larges peuvent fournir plus d'espace pour la colonisation microbienne, favorisant ainsi une meilleure activité catalytique. Dans le même sens Ketep et al. (2012) ont étudié l'effet de la surface anodique dans un réacteur alimenté par des eaux usées papetières. Deux surfaces différentes (10 et 20 cm^2) ont été comparées en utilisant deux matériaux différents (le feutre et le tissu de carbone). La comparaison était en faveur des surfaces plus grandes (20 cm^2) avec les deux matériaux. Le système a atteint des densités de courant maximales d'environ $2,3$ et $1,8 \text{ A/m}^2$ avec le tissu de carbone et le feutre de carbone, respectivement, lorsqu'une anode de 20 cm^2 a été utilisée. Ces densités ont été légèrement

réduites avec les anodes de 10 cm² pour atteindre des valeurs de 1,8 et 1,5 A/m² avec le tissu et le feutre de carbone, respectivement.

9.6. Effet de potentiel anodique

Le potentiel de l'anode dans un SBE peut varier dans une large gamme, ce qui modifie l'énergie disponible pour les bactéries capables de transférer des électrons à l'électrode. Le potentiel anodique est donc un paramètre électrochimique important qui détermine la croissance, le transfert d'électrons et l'activité électrique des biofilms (Kumar et al., 2012).

En théorie, plus le potentiel appliqué est élevé, plus les microorganismes disposent d'énergie pour se développer rapidement. Wei et al. (2010) ont évalué l'impact de la variation du potentiel dans une étude utilisant une culture pure de *Geobacter Sulfurreducens*. Les anodes ont été polarisées à 3 potentiels différents : -0,16 ; 0 et 0,4 V vs. ECS. Les auteurs ont montré un démarrage plus rapide, des densités de courant plus élevées et une production de biomasse plus importante pour les anodes polarisées à des potentiels positifs par rapport à celles polarisées à -0,16 V vs. ECS. Ils ont conclu ensuite que favoriser le développement rapide d'un biofilm épais à la surface de l'électrode permet d'obtenir une densité de courant élevée. Dans le même sens, des associations positives entre le potentiel de l'anode et le courant d'oxydation ont été signalées dans les plages approximatives de -0,2 V vs. ECS à +0,1 V vs. ECS (Ishii et al., 2014) ; de +0,1 V vs. ECS à +0,6 V vs. ECS (Finkelstein et al., 2006) et de +0,2 V vs. ECS à +0,8 V vs. ECS (Torres et al., 2009).

Dumas et al. (2008) ont polarisé des électrodes en acier inoxydable et en graphite à différents potentiels dans un SBE pour induire la croissance de biofilms de *Geobacter sulfurreducens*. Aucun courant n'a été obtenu à des valeurs de potentiel inférieur à 0 V vs. ECS, alors qu'à un potentiel de 0,2 V vs. ECS ils ont observé des densités de courant maximales de 2,4 A/m² avec l'acier inoxydable et de 8 A/m² avec le graphite.

10. Conditions extrêmes et extrêmophiles

10.1. Conditions extrêmes

Les conditions extrêmes sont celles considérées comme nocives pour la plupart des formes de vie sur la planète Terre. Elles englobent à la fois des conditions physiques, telles que les températures élevées ou basses, les hautes et basses pressions et des conditions géochimiques, comme les concentrations élevées de métaux ou les limitations nutritionnelles extrêmes. Les milieux extrêmes peuvent être d'origine naturelle, comme le lac Mono en Californie, qui est à la fois alcalin et hypersalin (Paul Antony et al., 2013), les sites polaires avec des températures

basses et, dans certains cas, une aridité prononcée (Cowan et al., 2014), les cheminées hydrothermales à haute température (Dick et al., 2013), et les lacs hypersalins tels que Chott el Djérid dans le sud tunisien (Askri et al., 2019). De plus, les environnements extrêmes peuvent être d'origine anthropique, comme les eaux minières acides et chargées en métaux (Dopson et Holmes, 2014) ou les sites de déchets nucléaires à forte radioactivité (Morozkina et al., 2010).

La radiorésistance observée chez de nombreux organismes reste une énigme évolutive. Plusieurs théories ont été avancées pour expliquer son apparition, notamment l'origine ancestrale des protéines chez les hyperthermophiles et l'adaptation aux conditions sèches. Des éléments tels que la présence de revêtements de carbone autour de grains d'apatite contenant de l'uranium et la découverte de bactéries résistantes dans des environnements sous-marins profonds suggèrent une corrélation entre la résistance aux radiations et des conditions environnementales spécifiques. De plus, l'augmentation de l'oxygène dans l'atmosphère terrestre a conduit à la solubilisation de l'uranium dans l'eau, favorisant ainsi l'émergence de réacteurs nucléaires naturels (Holland et al., 2006).

Actuellement, la vie microbienne s'étend sur toute la planète où l'on trouve dans les milieux aquatiques à l'état liquide, des calottes polaires jusqu'aux sources hydrothermales sous-marines, dans les déserts, dans des lacs hypersalins, dans des eaux acides, à l'intérieur de la croûte terrestre. Les organismes qui se développent dans des environnements où les conditions physico-chimiques sont incompatibles avec la vie pour la plupart des autres êtres vivants sont qualifiés de "extrémophiles". Ces conditions mettent à l'épreuve les propriétés de stabilité et de fonctionnalité des macromolécules biologiques (acides nucléiques et enzymes). Il convient de souligner que les dommages aux protéines, plutôt qu'à l'ADN, sont des indicateurs de la mort microbienne. En outre, il est remarquable que les extrémophiles puissent protéger leurs protéines tandis que leur ADN ne peut subir que des réparations (Krisko et al., 2013).

Les analyses moléculaires montrent que ces microorganismes peuvent s'adapter aux conditions extrêmes et que leurs molécules ne fonctionnent pas dans des milieux plus doux. D'où l'intérêt biotechnologique que les extrémophiles ont suscité au cours de ces dernières années.

10.2. Les extrémophiles

Les microorganismes évoluant dans des milieux extrêmes sont communément appelés extrémophiles. Ils ont été répertoriés dans les trois domaines du vivant (Pikuta et al., 2007).

Selon la littérature, quinze classes d'extrémophiles ont été définies, parmi lesquelles figurent les psychrophiles qui vivent dans des conditions de froid extrême entre -20°C et +10°C, les

environnements naturels à basse température comprennent les océans profonds, l'Antarctique et l'Arctique et les zones montagneuses (Rivkina et al., 2000). Les oligotrophes qui sont les microorganismes capables de survivre dans des environnements extrêmement pauvres en nutriments (par exemple, la biosphère profonde et les plaines de sable du sud de l'Australie occidentale). Ils sont généralement caractérisés par des faibles taux de croissance (Hoehler et Jorgensen., 2013). Les xérophiles qui sont capables de survivre dans des conditions très sèches. Les acidophiles qui sont les microorganismes capables de croître à un pH optimale inférieur à 5. Les alcalophiles qui sont les microorganismes capables de croître dans une gamme de pH supérieur à 9, on les trouve souvent dans des environnements tels que les lacs de soude et les sols alcalins (Slonczewski et al., 2009 ; Hicks et al., 2010). Les barophiles qui regroupent les microorganismes adaptés à croître sous des pressions élevées. Les endolithiques qui vivent à l'intérieur des roches. Les hipolithes qui vivent dans les déserts froids. Les radiorésistants, les métallotolérants et les toxicotolérants qui sont les microorganismes caractérisés par leurs tolérances à de fortes doses ou concentrations de radiations, de métaux ou d'agents toxiques, respectivement.

Les polyextrêmophiles regroupent l'ensemble des microorganismes capables de résister à différents types de stress et de croître dans divers environnements hostiles. On peut citer à titre d'exemple : *Virgibacillus salarii* qui est une espèce alcalohalothermophile (Ellazy et al., 2014), *Halorubrum lacusprofundi*, une archée psychohalophile adaptée au froid et à la salinité élevée (Karan et al., 2013) et *Natroniella acetigena* une espèce alcalohalophile qui se développe de manière optimale dans des conditions de pH et de salinité élevés dans des environnements naturels tels que les lacs de soude (Soussa et al., 2015).

Dans cette thèse, nous nous intéressons à la catégorie des halothermophiles, que nous allons détailler dans le paragraphe suivant :

Les halophiles : sont définis comme les microorganismes capables de se développer dans des concentrations élevées de NaCl qui normalement entrave la survie des organismes en raison d'un déséquilibre osmolaire (Gunde-Cimerman et al., 2018). On distingue trois groupes : les halophiles faibles (10-50 g/L) ; les modérés (50-100 g/L) et les halophiles extrêmes (100-300 g/L). La plupart des espèces bactériennes halophiles peuvent être décrites comme des halophiles modérés. Néanmoins, elles sont souvent capables de croître sur une large gamme de concentrations de sel allant jusqu'à 350 g/L (Mouna et al., 2003).

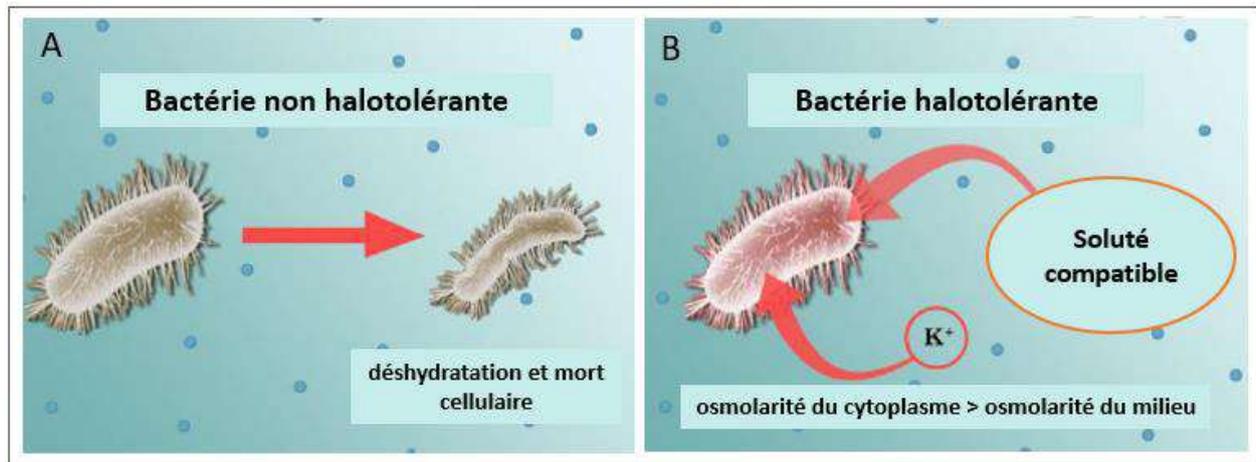


Figure 10 : (A) Représentation schématique des effets d'une forte salinité sur les bactéries non halotolérantes. (B) Représentation schématique des stratégies d'adaptation des bactéries halotolérantes à une forte salinité (Adapté de Grattieri et Minter., 2018).

Les bactéries halotolérantes utilisent deux stratégies principales pour s'adapter à la présence d'une forte teneur en sel : la stratégie "Salt in" et "l'accumulation de solutés compatibles". Dans la stratégie du "Salt in", les cellules bactériennes sont capables d'accumuler des ions (principalement du potassium) pour augmenter la concentration d'ions intracellulaire, ce qui permet d'équilibrer la pression osmotique. Dans la stratégie "Accumulation de solutés compatibles", les cellules bactériennes peuvent s'adapter à un stress osmotique accru en accumulant des solutés compatibles. Ces composés sont définis comme de petites molécules organiques solubles telles que les polyols, la glycine-bétaïne et la glutamine qui peuvent être présentes à l'intérieur de la membrane cellulaire à des concentrations élevées sans affecter le métabolisme cellulaire (Figure 10). Ces solutés organiques jouent un rôle critique dans la réduction de l'activité thermodynamique de l'eau pour compenser la pression osmotique externe (Grattieri et Minter., 2018 ; Vandrich et al., 2020). Le tableau 5 résume les différents inocula (purs et complexes) utilisés dans les SBEs en conditions halophiles.

Tableau 5 : Inoculum (purs et complexes) halophiles appliqués dans des SBE.

Cultures pures		
Inoculum	Salinité (g/L)	Référence
<i>Haloflex volcanii</i>	158	(Abrevaya et al., 2011)
<i>Geoalkalibacter subterraneus</i>	17	(Badalamenti et al., 2013)

<i>Geoalkalibacter subterraneus</i>	35	(Carmona-Martinez et al., 2013)
Inoculums complexes		
Inoculum	Salinité (g/L)	Référence
Eaux usées	18	(Liu et al., 2008)
Marais salant	45	(Rousseau et al., 2013)
Sédiments hypersalins	165	(Askri et al., 2019)
Sédiments hypersalins	150	(Saidi et al., 2022)
Consortium halophile	40	(Jamal et Pugazhendi ., 2021)
Marais salant	45	(Martinez Ostormujof et al., 2023)

Les thermophiles : sont des microorganismes qui poussent à des températures supérieures à 45 °C et jusqu'à une température actuelle maximale de croissance de 122 °C (Takai et al., 2008). Parmi les environnements naturels qui hébergent les thermophiles, on trouve les sites volcaniques terrestres avec des températures légèrement supérieures à la température ambiante, les systèmes hydrothermaux sous-marins (sédiments et volcans sous-marins) et les sites souterrains tels que les réservoirs pétroliers, avec une température qui peut atteindre 65 °C (Oshima et Moriya., 2008). Pour s'adapter à ces conditions difficiles, les microorganismes ont développé plusieurs mécanismes d'adaptation physiologique, notamment le contrôle de la fluidité membranaire et la modification de la composition lipidique (Collins et al., 2019 ; De Maayer et al., 2014). Par exemple, *Bacillus acidocalidus*, une bactérie thermophile qui module la fluidité des lipides membranaires en augmentant le nombre d'hopanoïdes pour résister aux températures élevées (Ranawat et Rawat., 2017). *Metahnocaldococcus jannaschii* peut résister à des températures élevées en régulant la composition des lipides membranaires (chaînes plus longues, saturation des lipides) afin rigidifier la membrane pour empêcher les fuites d'eau et des ions, phénomènes naturellement favorisés par les températures élevées. D'autres espèces thermophiles ont développé diverses biomolécules pour induire une stabilité thermique, par exemple, en augmentant la teneur en guanine/cytosine de l'ADN ou en développant une structure d'ADN super enroulée (Valenti et al, 2011).

Le tableau 6 résume les différents inoculums (purs et complexes) utilisés dans les SBE en conditions thermophiles.

Tableau 6 : Inoculums (purs et complexes) thermophiles appliquées dans des SBE.

Cultures pures		
Inoculum	Température (°C)	Référence
<i>Thermincola ferriacetica</i>	60	(Parameswaran et al., 2013)
<i>Alditerrivibrio nitroreducens</i>	55	(Fu et al., 2013a)
<i>Thermoanaerobacter pseudethanolicus</i>	60	(Lusk et al., 2015)
<i>Ferroglobus placidus</i>	85	(Yilmazel et al., 2017)
<i>Geoglobus ahangari</i>	80	(Yilmazel et al., 2017)
Inoculums complexes		
Inoculum	Température (°C)	Référence
Sédiment de marais marin	60	(Mathis et al., 2008)
Eaux usées	55	(Ha et al., 2012)
Culture mixte	50	(Fu et al., 2013b)
Culture mixte	60	(Lusk et al., 2018)
Culture mixte	50	(Rovira-Alsina et al., 2022)

10.3. Extrêmophiles et la bioremédiation

Comme expliqué au début de ce premier chapitre, la présence d'une salinité élevée dans les eaux usées textiles peut avoir un effet négatif sur l'efficacité du procédé de traitement, car le NaCl peut inhiber l'activité des espèces bactériennes. Le déséquilibre entre la concentration en sel à l'intérieur de la membrane des cellules bactériennes et la solution externe provoque une pression osmotique. De ce fait, lorsque les cellules bactériennes sont dans une solution caractérisée par des concentrations osmotiques élevées, elles peuvent souffrir de

déshydratation, entraînant ainsi la mort de la cellule (Khalid et al., 2012 ; Liu et al., 2013 ; Guo et al., 2020).

Cependant, les microorganismes halotolérants et halophiles ont des avantages naturels spécifiques pour faire face à une pression osmotique élevée dans des eaux usées textiles salins. Étant donné que ces eaux usées contiennent des concentrations élevées (10-80 g/L) de NaCl (Giovanella et al., 2020 ; Guo et al., 2020), il serait intéressant de faire appel à des consortia microbiens qui peuvent tolérer de telles concentrations élevées de sel. D'autre part, l'avantage de faire fonctionner des SBE dans des conditions thermophiles pourrait inclure un taux de transport de matière élevé et un risque de contamination réduit. Cependant, l'inconvénient majeur qui peut se présenter est les taux d'évaporation plus élevés dans des systèmes conçus à la base pour des applications à des températures basses ou mésophiles. Deux solutions à ce problème sont possibles, soit de faire fonctionner le système en mode continu, soit d'utiliser un système qui empêche l'évaporation, comme celui conçue par Carver et al. (2011).

En effet, ces espèces extrémophiles peuvent non seulement détoxifier des polluants par le biais du métabolisme cellulaire microbien, mais également résister à des conditions extrêmement difficiles. Les microorganismes halophiles offrent de grands avantages dans le traitement des polluants toxiques dans les environnements à forte teneur en sel. Par exemple, des bactéries marines telles que *Vibrio harveyi* et *Enterobacter cloacae* ont montré une haute performance dans le traitement de l'eau de mer contaminée avec des métaux lourds toxiques (Hanan et al., 2011 ; Iyer et al., 2005). D'autres microorganismes halophiles ont également montré d'excellentes performances dans le traitement des hydrocarbures. En effet, *Marinobacter sedimentalis*, *Marinobacter falvimarvis*, et *Marinobacter nanhaiticus* ont été capables de transformer le biphényle, le phénanthrène, l'anthracène, et le naphthalène en sources de carbone utiles dans des environnements hypersalins (par exemple, lacs salés, marais salés et les sols hautement salés) (Gao et al., 2013 ; Al Mailem et al., 2013). Récemment, une étude qui visait à traiter les eaux usées des marchés aux poissons et à produire de l'électricité en utilisant des microorganismes halophiles dans un SBE mené dans des conditions salines (4,6 %) a été réalisé par Jamal et Pugazhendi (2021). L'élimination de la demande chimique totale en oxygène était de l'ordre de 84 %. L'analyse de la population bactérienne a révélé l'abondance des genres *Ochrobactrum*, *Marinobacter*, *Bacillus* et *Rhodococcus*.

Il faut dire que la conception des SBE en conditions thermophiles est moins développée que celle des SBE en conditions halophiles. Dessi et al. (2019) ont étudié les performances des

communautés microbiennes développées à partir d'une culture d'espèces mixtes thermophiles dans un SBE alimenté avec de l'acétate qui fonctionnait à 55 °C. Le système a atteint une densité de puissance moyenne de 0,13 W/m³. L'analyse génomique a révélé l'abondance de l'espèce *Tepidiphilus thermophilus*. Dans le même sens, Zhang et al., (2015) ont mis en place un système thermophile qui a été établi pour améliorer le traitement des eaux usées industrielles. En effet, le taux d'élimination dans le SBE conduit en condition thermophile était 79 % plus élevé que celui de son analogue fonctionnant en condition mésophile. Récemment, Vemuri et al. (2021) ont inoculé un SBE avec un consortium thermophile de *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* et *Arcobacter sp* qui était capable d'éliminer 73 % de la DCO des eaux usées domestiques. D'autres microorganismes thermophiles tels que *Geobacillus thermantarcticus* et *Anoxybacillus amylolyticus* ont montré une forte capacité d'élimination des métaux lourds, ce qui suggère leur applicabilité pour l'élimination des métaux lourds dans les environnements pollués (O'zdemir et al., 2013).

D'autres études ont rapporté la dégradation d'hydrocarbures aromatiques polycycliques et d'alcanes à longues chaînes à l'aide des souches thermophiles de *Bacillus*, *Thermus* et *Geobacillus* isolées de zones contaminées par du pétrole (Feitkenhauer et al., 2003 ; Sun et al., 2015).

10.4. Le lac hypersalin de Chott el Djérid : diversité microbienne et applications biotechnologiques

Chott el Djérid fait partie de la région des lacs salés du sud de la Tunisie (Afrique du Nord) et représente le plus vaste lac salé du Sahara, avec une longueur de 250 km, une largeur de 20 km, une superficie totale de 5360 km² et une salinité dépassant 330 g/L de NaCl. La température moyenne annuelle de cet environnement est de 21 °C, avec des précipitations annuelles moyennes comprises entre 80 et 140 mm, et un taux d'évaporation d'environ 1500 mm/j, générant ainsi un bilan hydrique fortement négatif (Stivaletta et Barbieri, 2009).

Les analyses chimiques révèlent que les eaux sont principalement dominées par le sodium, suivi du chlorure et du magnésium, classant le lac Chott el Djérid comme un environnement thalassohalin malgré son origine continentale (Kbir-Arigoib et al., 2001). Cet environnement évaporitique terrestre a été l'objet de nombreuses études sédimentologiques et hydrochimiques. Toutefois, sa diversité microbienne n'a été explorée qu'en 2009 grâce à des approches moléculaires dans l'étude de Hedi et al. (2009). L'analyse génomique a révélé que, au niveau taxonomique du phylum, les phyla les plus abondants étaient des Firmicutes, des

Protéobactéries, des Cyanobactéries, des Bacteroidetes et des Actinobactéries. Les espèces bactériennes prédominantes appartenaient aux genres *Salicola*, *Pontibacillus*, *Halomonas*, *Marinococcus* et *Halobacillus*.

Askri et al. (2019) ont développé un SBE en utilisant les sédiments hypersalins de Chott el Djérid comme source principale d'inoculum. L'analyse génomique a identifié *Halomonas spp*, *Psychrobacter aquaticus*, *Psychrobacter alimentarius*, *Halanaerobium praevalens* et *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* comme les espèces les plus dominantes au niveau des biofilms.

Les applications biotechnologiques de ces microorganismes halophiles du lac salé de Chott el Djérid font l'objet d'une attention croissante. Parmi celles-ci, on peut citer la production de biopolymère Poly 3-Hydroxybutyrate (PHB) avec les espèces *Halorubrum chaoviator*, *Natrinema pallidum* et *Haloarcularia tradensis* (Karray et al., 2021), la production de polyesters biodégradables (polyhydroxyalcanoates, PHA) par les espèces *Natrinema altunense* et *Haloterrigena jeotgali* (Ben Abdallah et al., 2020), le traitement des eaux usées textiles en utilisant un sédiment hypersalin comme source d'inoculum dans un SBE (Askri et al., 2020) et la dégradation du pétrole couplée à la production de biosurfactants par *Halomonas desertis G11* (Neifar et al., 2019).

11. Conclusion du chapitre

Nous avons abordé dans ce premier chapitre l'état de l'art dans lequel s'inscrit la thématique de recherche développée dans cette thèse. Après quinze ans de développement de ces SBE dans le traitement des eaux usées textiles chargées avec des colorants azoïques, cette technologie n'est pas encore adaptée à l'échelle industrielle et nécessite encore plus d'investigations. En effet, des recherches plus approfondies devraient être menées sur les microorganismes utilisés comme source d'inoculum, les co-substrats utilisés comme donneurs d'électrons, les matériaux anodiques utilisés comme surfaces d'adhésion pour les microorganismes et les conditions opératoires dans lesquelles l'expérience de traitement bioélectrochimique est mise en œuvre.

Les microorganismes jouent un rôle crucial dans les SBE pour la dégradation des colorants azoïques. Actuellement, les microorganismes les plus utilisés sont principalement anaérobies, probablement parce qu'un environnement anoxique est propice au clivage des liaisons azoïques, mais surtout parce que la plupart des microorganismes électroactifs identifiés sont des espèces anaérobies. Néanmoins, les mécanismes fondamentaux de clivage et de bioélectrodégradation ne sont pas complètement connus. Les microorganismes dans les SBE peuvent être soit

électrochimiquement actifs, soit non électrochimiquement actifs, mais les deux peuvent contribuer à la dégradation des colorants azoïques. L'utilisation d'un consortium microbien capable de tolérer aux conditions environnementales et d'échapper au stress salin et aux conditions extrêmes des eaux usées textiles détaillées dans ce premier chapitre reste toujours un défi à relever. En effet, Les microorganismes impliqués dans les processus de traitement bioélectrochimique peuvent être sensibles à certaines conditions environnementales, essentiellement la salinité, la température et le pH variable. Il peut être nécessaire de fournir des conditions optimales pour leur activité.

De nombreuses études utilisant des souches pures ainsi que des cultures microbiennes mixtes ont été réalisées pour le traitement bioélectrochimique des eaux usées textiles chargées en colorants azoïques. La plupart de ces études ont conclu que les électrons sont fournis par les co-substrats pour le clivage réducteur de la double liaison azoïque des colorants et la production d'électricité (Solanki et al., 2013). Les co-substrats les plus couramment utilisés sont des composés organiques tels que le glucose, l'éthanol, et le saccharose. Certains acides gras volatils, tels que le propionate et le butyrate et l'acétate, peuvent également servir de co-substrats dans un SBE. Cependant, La plupart de ces études ont été réalisées dans des milieux synthétique, très souvent avec un seul colorant et dans des conditions opératoires relativement éloignées des conditions réelles.

Contrairement aux eaux usées textiles synthétiques, pour lesquelles la nature et la concentration initiale du co-substrat donneur d'électrons sont bien définies et maîtrisées, les eaux usées réelles se caractérisent par la présence d'une large concentration de substrats organiques naturellement présents dans l'échantillon à traiter. En effet, les eaux usées évacuées portent une charge de DCO provenant essentiellement des produits d'ensimage, notamment les amidons et leurs dérivés, la carboxyméthylcellulose et les glucomannanes. Étant donné que ces substances ne sont ni absorbées ni fixées par les fibres, elles sont rejetées dans les eaux usées avec une charge de DCO élevée.

Le passage d'un SBE alimenté avec des eaux usées textiles synthétiques à son analogue alimenté avec des eaux usées textiles réelles reste une étape très importante pour valider la faisabilité de ce procédé de traitement à l'échelle industrielle. En effet, les conditions de laboratoire ou des environnements contrôlés peuvent différer considérablement des conditions réelles d'une industrie de traitement des eaux usées textiles. Les eaux usées textiles réelles se révèlent nettement plus complexes en raison de la grande variabilité des matières colorantes

(azoïques ou non azoïques), des auxiliaires de teinture, des agents de blanchiment, des détergents et des métaux lourds.

Dans un SBE, le choix du matériau de l'électrode de travail est un grand défi dans l'architecture des réacteurs bioélectrochimiques. Ce matériau doit être approprié en termes de stabilité chimique, de conductivité électrique et de biocompatibilité. Le coût du matériau de l'électrode est un facteur important à considérer, surtout dans le contexte industriel. En effet, des matériaux abordables et facilement disponibles peuvent rendre le SBE plus économiquement viable. En effet, il n'existe aucun consensus concernant les meilleurs matériaux d'électrode, que ce soit pour objectif de concevoir des anodes microbiennes, ou bien d'utiliser des cathodes dans les SBE. Une variété de matériaux carbonés ou métalliques a été explorée pour développer des anodes microbiennes depuis le début de l'utilisation de cette technologie pour le traitement des eaux usées textiles. Les plus adoptés étant les matériaux à base de carbone tels que le tissu de carbone, le feutre de carbone, le papier de carbone et la tige de carbone. Ces matériaux ont montré des taux de décolorations supérieurs à 90 %, citons à titre d'exemple : 98 % de décoloration de rouge brillant réactif X-3B obtenu avec le graphite plate (Cao et al., 2017) ; 96 % de décoloration du jaune alizarine R obtenu avec le graphite granulaire (Cui et al., 2014) ; 96 % de décoloration de l'orange acide 7 obtenu avec le feutre de carbone (Thung et al., 2015) et 92 % de décoloration de l'hélianthine obtenu avec le papier de carbone (Guo et al., 2020).

Les coûts opérationnels et énergétiques sont des facteurs qui doivent aussi être pris en compte dans une telle technologie. Les SBE nécessitent souvent une alimentation électrique pour faciliter les réactions d'oxydoréduction. Les densités de courant doivent être obtenues avec des potentiels faibles afin de réduire au maximum le taux de fonctionnement de cette technologie. La valeur de ce potentiel détermine la force motrice pour les réactions d'oxydoréduction qui se produisent à l'électrode. Par conséquent, il influence la vitesse des réactions et l'efficacité globale du système. Un biofilm électroactif anodique est plus performant lorsqu'il est capable de produire des densités de courant élevées aux potentiels les plus bas possibles. Le choix judicieux du potentiel imposé peut donc contribuer à diminuer la consommation d'énergie nécessaire pour le fonctionnement du SBE.

Chapitre II

Matériels et méthodes

1. Echantillonnage des sédiments hypersalins

Les sédiments hypersalins utilisés comme source d'inoculum dans les expériences ont été récupérés à Chott el Djérid (SCD) (N 33°59'965" E 08° 25'332'") (Figure 1.A) et Sebkhath el Melah (SSM) (N 33°23'4.192" E 10°57'51.468") (Figure 1.B), situés dans le sud Tunisien durant les mois de Novembre 2019 (pour les travaux présentés dans le chapitre III) et Juin 2021 (pour les travaux présentés dans les chapitres IV et V). Les échantillons se présentent sous la forme d'un mélange d'eau saline et de sédiments collectés dans une zone proche de la surface (jusqu'à 5 cm de profondeur environ). Les sédiments ont été stockés à + 4 °C jusqu'à utilisation. Les mesures *in situ* de la température, du pH, et de la salinité ainsi que la composition des éléments minéraux du sédiment (présentés dans le Chapitre III) ont été effectuées.

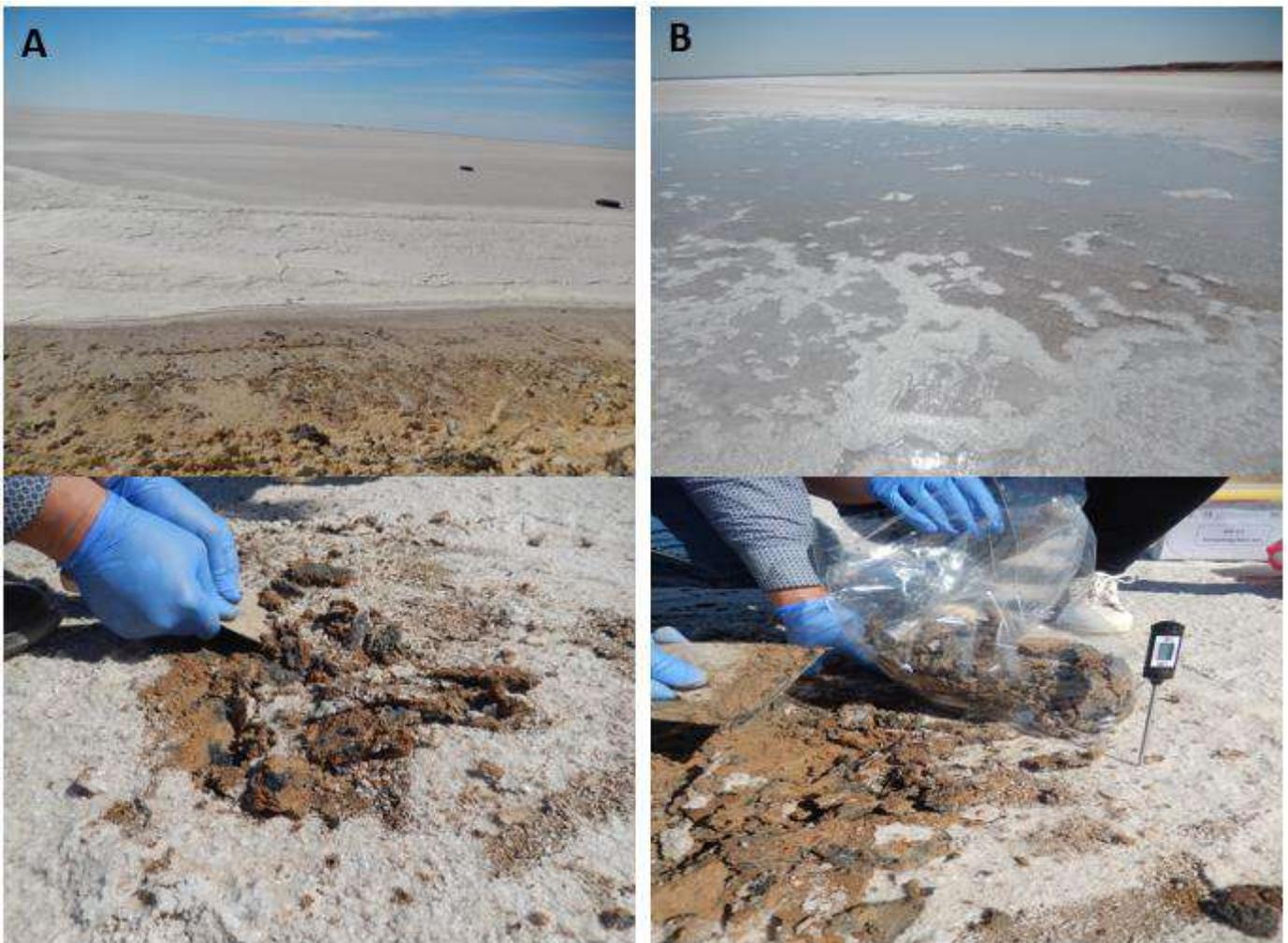


Figure 1 : Sites de prélèvement des sédiments hypersalins. (A) Sédiments de Chott el Djérid (SCD), (B) Sédiments de Sebkhath el Melah (SSM).

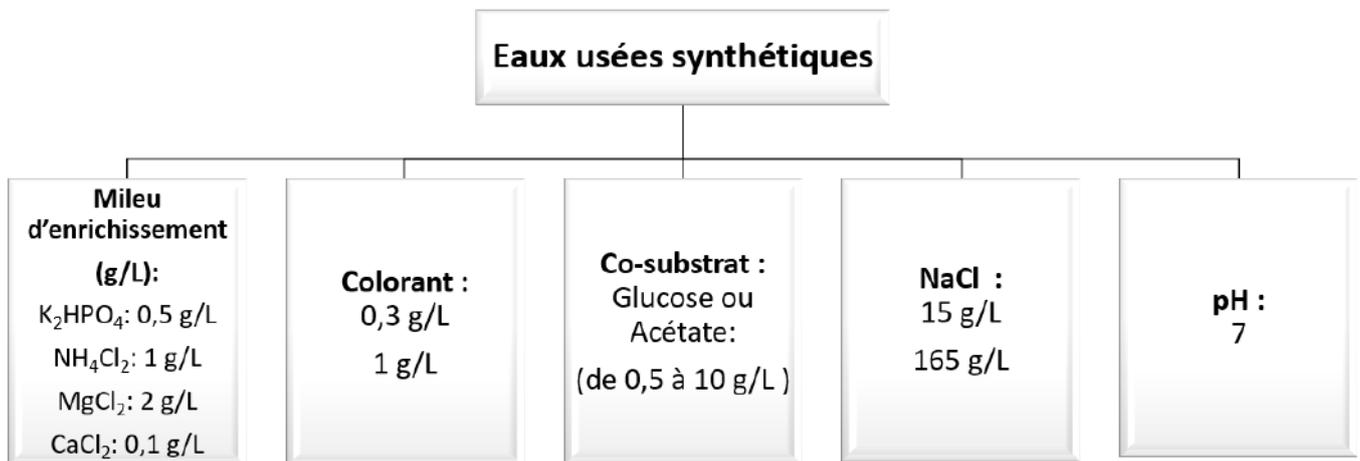
2. Les milieux réactionnels étudiés

Plusieurs milieux réactionnels liquides ont été étudiés. Ils étaient soit synthétiques (80 % de milieu d'enrichissement, colorants et 20 % d'inoculum) ou soit réels (80 % d'effluents réels et 20 % de source d'inoculum).

2.1. Eaux usées textiles synthétiques

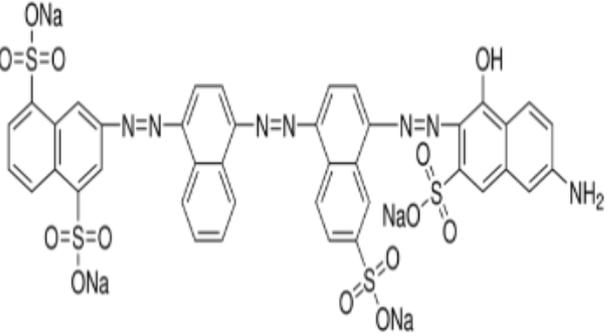
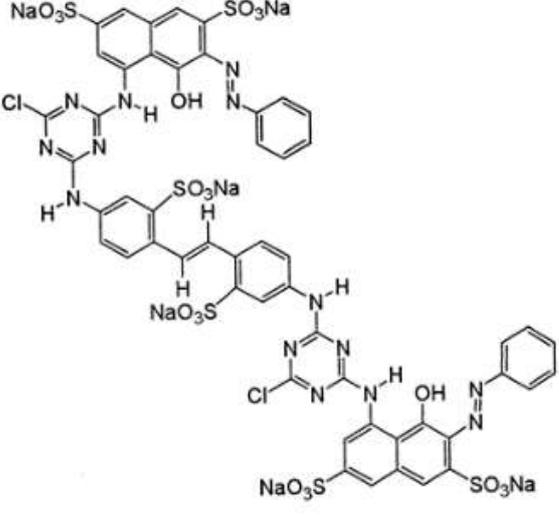
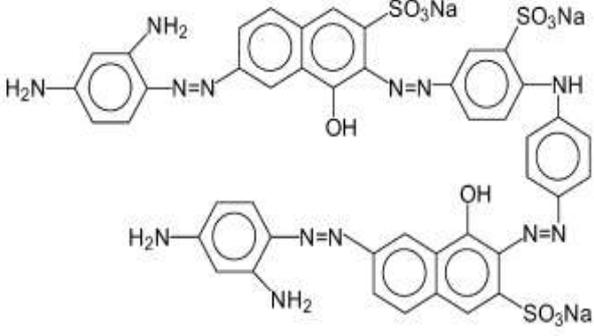
Les eaux usées synthétiques correspondent à un milieu de base appelé « milieu d'enrichissement » auquel sont additionnés un ou plusieurs colorants, une concentration de NaCl et un co-substrat (donneur d'électrons).

Le diagramme ci-dessous résume les différents composants de l'effluent synthétique.



Les différents colorants azoïques (Bleu direct 71 ou Tubantin bleu (TB), Bezaktive rouge S-Matrix 150 (BR), Noir direct 22 (ND), Sirius Light Gris CG-LL (SG)) (Groupe CHT) ont été collectés sous forme de poudres sèches auprès de l'industrie textile Global-Washing (Groupe Gitex) situé à Korba, Nabeul, Tunisie [3634024.6360 0 N et 1051031.4630 0 E]. La tableau 1 présente les différents colorants utilisés dans ce travail, ainsi que leurs formules développées et brutes.

Tableau 1 : Colorants utilisés dans les expériences réalisées avec des milieux synthétiques.

Colorants	Formule développée	Formule brute
Bleu direct 71 Tubantin bleu		$C_{40}H_{23}N_7Na_4O_{13}S_4$
Bezaktive rouge S-Matrix 150		$C_{52}H_{30}Cl_2N_{14}Na_6O_{20}S_6$
Noir direct 22		$C_{44}H_{32}N_{13}Na_3O_{11}S$
Sirius Light Gris CG-LL	Non disponible	$C_{44}H_{24}Cu_2N_8Na_4O_{17}S_4$

2.2. Eaux usées textiles réelles

Les effluents textiles réels chargés en colorants azoïques ont été collectés sur le site de l'industrie textile Global-Washing (Groupe Gitex). Un volume de 10 litres a été prélevé puis expédié par FedEx, compagnie aérienne spécialisée dans le transport international de marchandises. En laboratoire, les premières mesures de DCO ont été effectuées. Les eaux usées ont été ensuite stockées à +4 °C jusqu'à utilisation.

3. Méthodologie de formation des bioanodes sous potentiel imposé

La formation des biofilms électroactifs (EA) a été étudiée dans un système bioélectrochimique (SBE) à 3 électrodes. La figure 2 montre schématiquement le SBE utilisé.

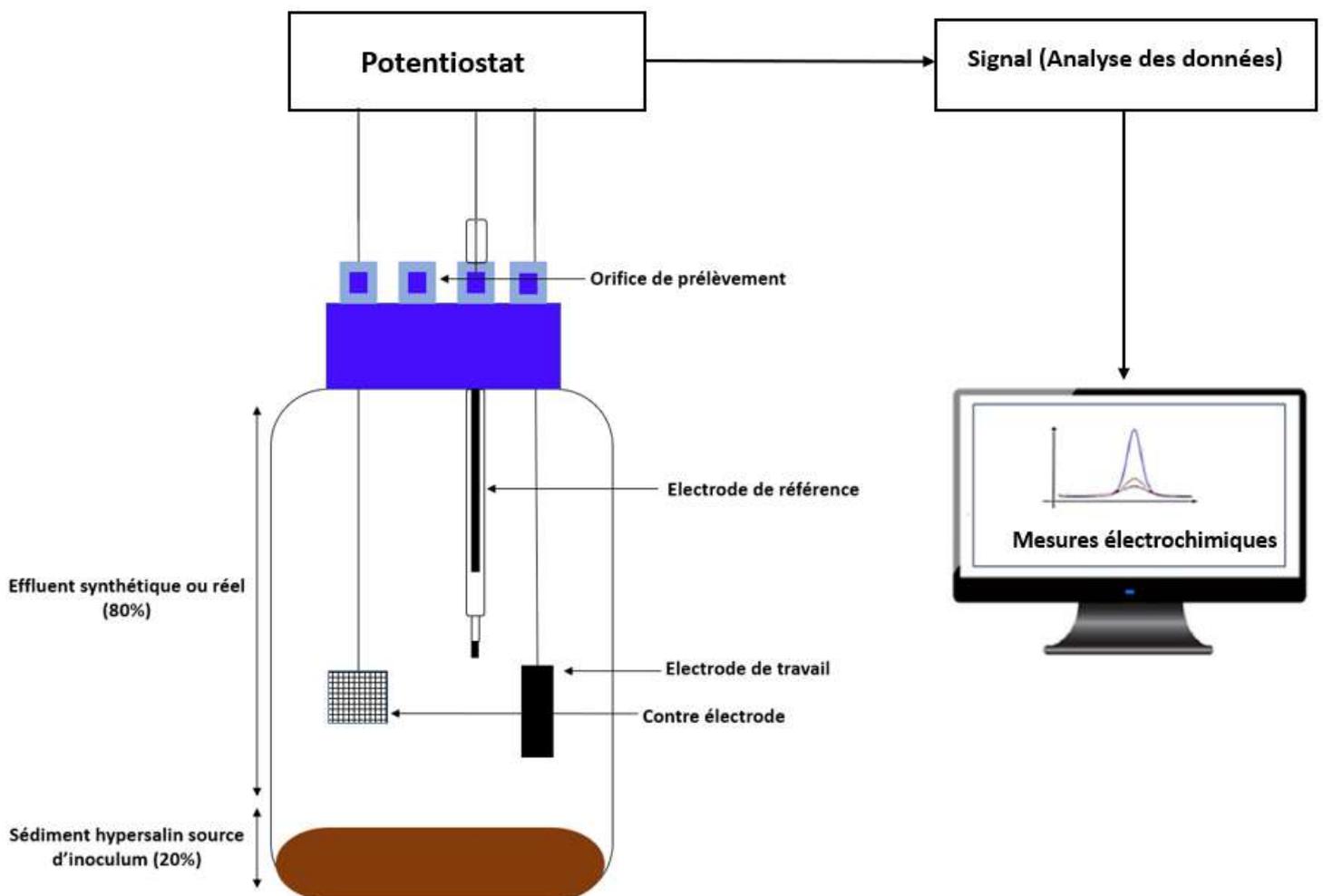


Figure 2 : Représentation schématique d'un SBE pour le traitement des eaux usées textiles.

3.1. SBE

Un montage conventionnel à trois électrodes (électrode de travail, contre électrode et électrode de référence) (Figure 2 et 3) a été utilisé avec un potentiostat multivoie de type MPG (BioLogic SA) fonctionnant avec le logiciel de contrôle et d'analyse EC-lab (version 11.43).

Des réacteurs en verre de 750 ml de volume total ont été utilisés. Ils ont été fermés par un couvercle qui contient des orifices permettant l'introduction des électrodes à l'intérieur du réacteur. L'orifice inutilisé a été fermé par un bouchon et a été utilisé comme orifice de prélèvement pour les différentes analyses. Les réacteurs ont été disposés dans un bain thermostaté à 45 °C pendant toute la durée des expérimentations. L'oxygène soluble a été purgé avant le démarrage des expériences par un barbotage d'azote gazeux durant 20 minutes afin d'établir des conditions anoxiques dans les réacteurs.



Figure 3 : SBE de 750 ml alimenté en batch avec des eaux usées synthétiques et inoculé à 20 % avec le SCD.

3.2. Electrodes

Plusieurs matériaux et géométries d'électrode ont été testés comme électrodes de travail dans ce travail de thèse (Tableau 2). La liste détaillée des électrodes de travail ainsi que des contre-électrodes et des électrodes de référence qui ont été testées, leurs dimensions, leurs

fournisseurs, les collecteurs de courant et leurs protocoles de nettoyage ou de préparation est donnée dans le tableau ci-après :

Tableau 2 : Liste des électrodes utilisées pendant les expérimentations.

Électrodes	Dimensions	Collecteurs de courant	Protocoles de nettoyage	Fournisseur
Feutre de carbone (électrode de travail)	3 x 2 cm ² 5 x 6 cm ² 10 x 10 cm ²	Une tige de titane (2 mm de diamètre et 15 cm de longueur)	Sans traitement préliminaire	Mersen
Tissu de carbone (électrode de travail)	3 x 2 cm ² 5 x 6 cm ²	Un fil de platine (0,5 mm de diamètre et 10 cm de longueur)	Sans traitement préliminaire	Paxitech SAS
Plaques en acier inoxydable 254 SMO brutes (électrode de travail)	3 x 2 cm ² 9 x 2 cm ²	Une tige de titane (2 mm de diamètre et 15 cm de longueur) filetée et vissée dans le matériau	Nettoyés dans une solution 50/50 (% v/v) d'acétone/éthanol pendant 15 min puis rincées dans un bain d'eau distillée pendant 10 min	CEA Saclay
Grille de platine (contre électrode)	4 à 10 cm ²	Un fil de platine (0,5 mm de diamètre et 10 cm de longueur)	Nettoyée à la flamme pendant 10 min	Heraeus Vectra
Electrode de référence au calomel saturée (ECS)		Non applicable	Le potentiel (+0.244 V/ESH) est contrôlé avant chaque expérience par rapport à une électrode de référence ECS neuve	OrigaLys

ESH* : Électrode standard à hydrogène

4. Techniques électrochimiques

4.1. Chronoampérométrie (CA)

Il s'agit d'une technique couramment utilisée pour suivre la formation et la croissance des biofilms EA. La chronoampérométrie consiste à imposer un potentiel constant à l'électrode de travail et à mesurer la réponse en courant électrique en fonction du temps. Durant les expérimentations, les électrodes de travail ont été polarisées à -0,3, -0,1 ou +0,2 V vs. ECS. La durée totale des chronoampérométries pour former des biofilms EA, durant nos expérimentations, varie de 15 à 40 jours. Les courants enregistrés ont été exprimés en densités de courant (A/m²), c'est-à-dire en normalisant le courant mesuré par rapport à la surface géométrique de l'électrode de travail. La formation du biofilm EA dans un SBE s'accompagne en principe de l'apparition d'un courant électrique croissant. Le courant augmente alors progressivement au fur et à mesure de la croissance du biofilm et de la consommation du

substrat. L'arrêt du courant, ou au moins sa diminution, correspond à l'épuisement du substrat (Figure 4).

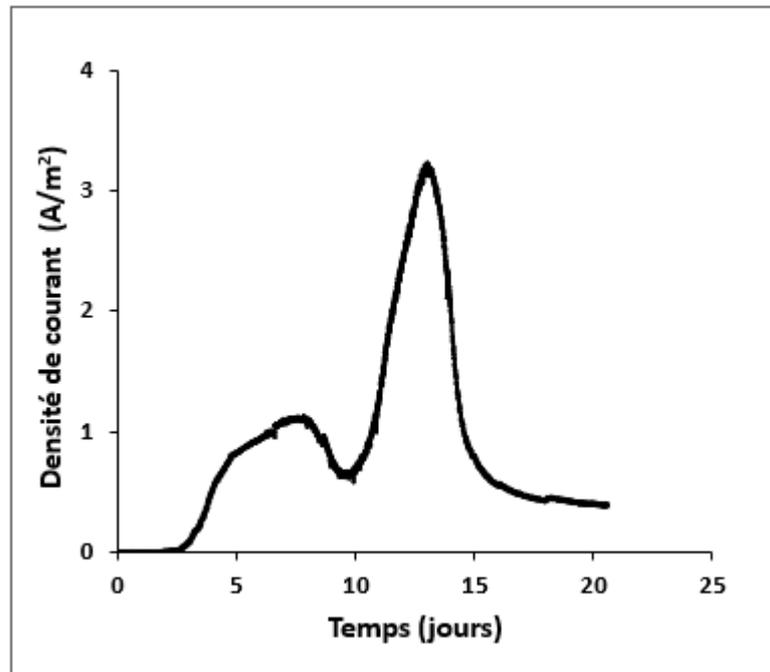


Figure 4 : Exemple d'un profil de chronoampérométrie mesurée sur un biofilm EA formé sur l'électrode de travail en tissu de carbone de 6 cm² polarisée à -0,1 V vs. ECS à partir de SCD dans les eaux usées synthétiques.

4.2. Voltammétrie Cyclique (VC)

Cette technique consiste à appliquer un balayage du potentiel de l'électrode de travail au cours du temps et d'enregistrer la réponse en courant généré. Dans ce travail, les VCs ont été effectuées sur une fenêtre de potentiels allant de - 0,6 V à + 0,3 V vs. ECS (Figure 5) avec une vitesse de balayage du potentiel de 1 mV/s. Les VCs ont été systématiquement réalisées avant la chronoampérométrie, c'est-à-dire à $t=0$, puis lorsque le courant mesuré en CA atteignait une valeur maximale. Trois cycles successifs ont été effectués pour chaque VC. Généralement, la réponse en courant généré du premier cycle diffère légèrement des deux suivantes. Le deuxième cycle est alors celui qui est systématiquement présenté dans les chapitres III, IV et V de ce manuscrit.

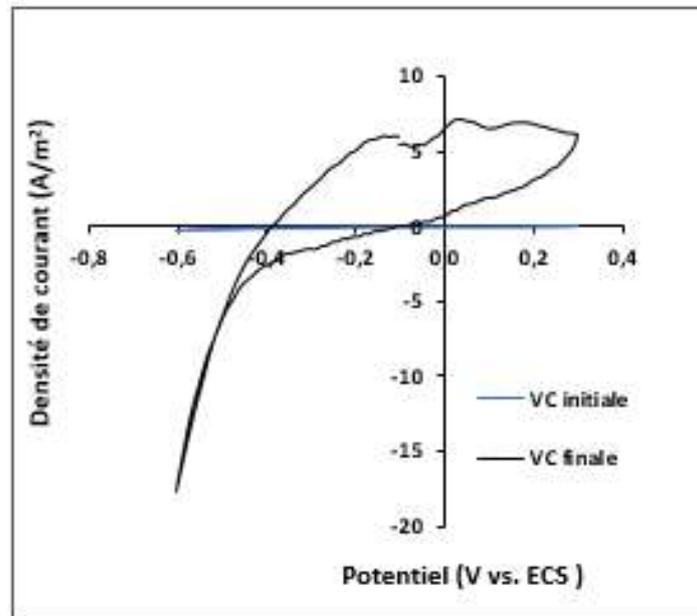


Figure 5 : Exemple d'un voltammogramme réalisé sur un biofilm EA formé sur l'électrode de travail en tissu de carbone de 6 cm² polarisée à -0,1 V vs. ECS à partir de SCD dans les eaux usées synthétiques.

5. Caractérisation des eaux usées

5.1. Suivi de la décoloration par un spectrophotomètre UV-visible

La décoloration des différents colorants azoïques utilisés dans les expériences avec des eaux usées synthétiques et réelles a été mesurée en observant la diminution de l'absorbance de la solution aux longueurs d'onde d'absorption maximale en utilisant un spectromètre Jenway 7315 (Cole-Parmer). La longueur d'onde d'absorption maximale de chaque colorant a été déterminé à l'aide d'un balayage spectral (TB : 480 nm ; BR : 520 nm ; ND : 420 nm et SG : 460 nm). Le taux de décoloration a été exprimé en pourcentage de décoloration comme suit :

$$\text{Taux de décoloration (\%)} = \frac{A_i - A_t}{A_i} * 100 \quad (\text{Eq 1})$$

A_i : l'absorbance initiale ; *A_t* : l'absorbance au temps *t*

5.2. Suivi de la Demande Chimique en Oxygène (DCO)

La demande chimique en oxygène exprimée en mg d'O₂/L est l'un des paramètres les plus utilisés pour déterminer le degré de la pollution des eaux usées. Elle exprime la concentration d'oxygène nécessaire pour oxyder la matière organique et minérale (biodégradable ou non).

D'abord, les échantillons ont été prélevés, filtrés avec un filtre acétate de 0,22 μm, dilués avec de l'eau distillée et filtrés pour éliminer les chlorures en utilisant un kit Hach Lange LCW 925.

La DCO dans le milieu réactionnel a été ensuite déterminée à l'aide du kit Hach Lange LCK 514 (100-2000 mg/O₂). Le milieu réactionnel à analyser est oxydé par une solution sulfurique chaude de dichromate de potassium avec du sulfate d'argent comme catalyseur, la concentration des ions Cr₂O₇ jaunes non consommés est ensuite dosée par photométrie.

L'efficacité de traitement des eaux usées est jugée en se référant au taux d'abattement de la DCO calculé comme suit :

$$\text{Abattement de la DCO (\%)} = \frac{DCO_i - DCO_t}{DCO_i} \times 100 \quad (\text{Eq 2})$$

DCO i : DCO initiale ; *DCO t* : DCO au temps *t*

5.3. Suivi de la dégradation des molécules azoïques par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)

La FTIR est une classe de spectroscopie qui traite de la région infrarouge du spectre électromagnétique. Elle couvre un large éventail de techniques, la plus courante étant un type de spectroscopie d'absorption. La FTIR a été utilisée dans cette étude pour vérifier la dégradation des chromophores azoïques et la disparition des produits de dégradation. Des échantillons de milieu réactionnel ont été prélevés au début et à la fin de l'expérience. Les analyses FTIR ont été réalisées dans la gamme 400-4000 cm⁻¹ avec une vitesse de 16 scans.

5.4. Suivi de la consommation du co-substrat par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

Des échantillons du milieu réactionnel ont été prélevés au cours du traitement bioélectrochimique des eaux usées et sont analysés par HPLC (Thermo Scientific) afin de suivre la consommation du glucose et de quantifier l'acétate néoformé. La colonne utilisée est une colonne Aminex 87H, 300*6,8 mm (Biorad) thermostatée à 50 °C et associée à deux détecteurs en série : un détecteur UV et un réfractomètre. La phase mobile est une solution aqueuse d'acide sulfurique 10 mM (pH 2,2). Son débit est fixé à 0,6 ml/min.

Les courbes d'étalonnages pour le dosage par HPLC de glucose et de l'acétate sont représentés dans la figure 6.

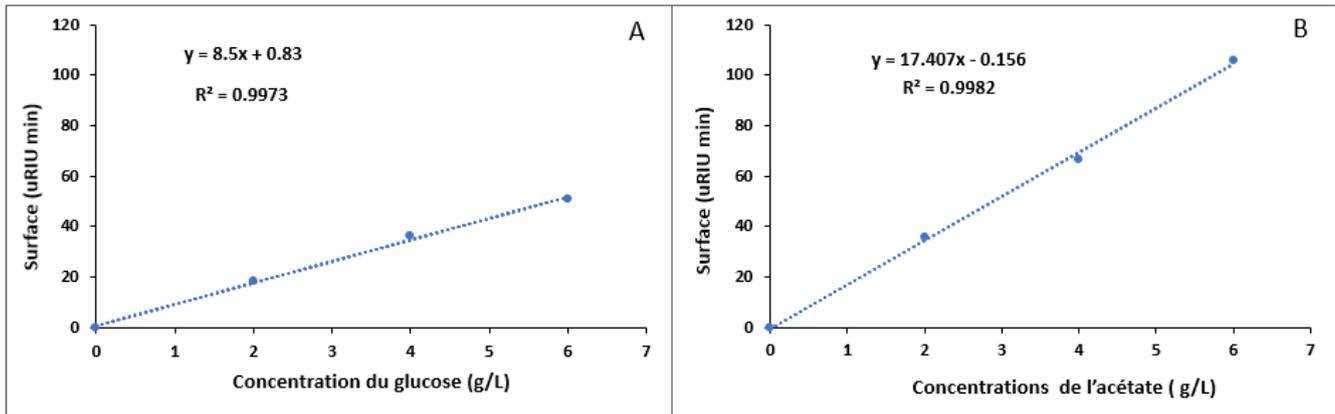


Figure 6 : Courbes d'étalonnages pour le dosage par HPLC de : (A) le glucose, (B) l'acétate.

6. Caractérisation microscopique des biofilms EA

6.1. Microscopie électronique à balayage (MEB)

Les observations MEB des biofilms formés sur les différents matériaux utilisés comme électrode de travail ont été effectuées au Service « Analyse et Procédés » du Laboratoire de Génie Chimique par Marie-Line De Solan Bethmale sur un MEB modèle Leo 435 VP-Carl Zeiss SMT (JEOL JSM-7100F + EDX Oxford ASDD X-Max 50mm²). La figure 7 est un exemple de biofilm imagé à partir d'une électrode qui a été polarisée pendant 15 jours à un potentiel de -0,1 V vs. ECS dans un milieu réactionnel synthétique inoculé avec le SCD.

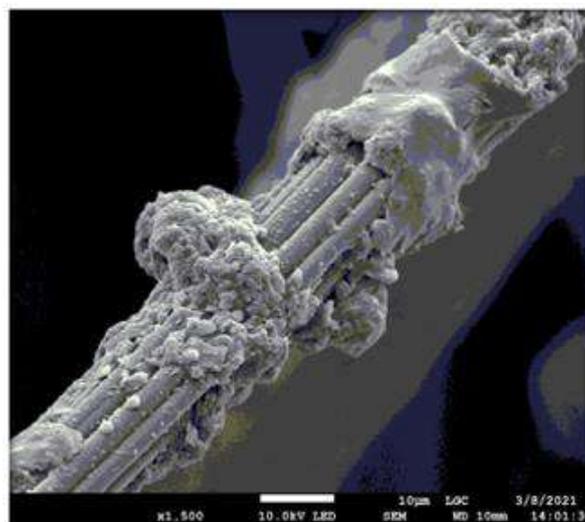


Figure 7 : Image MEB d'un biofilm formé dans des eaux usées textiles synthétiques inoculé avec SCD sur l'électrode de travail en feutre de carbone de 6 cm² polarisée à -0,1 V vs. ECS.

L'observation de biofilms au MEB a nécessité un prétraitement des électrodes colonisées. Ce traitement se décompose en 3 parties successives : la fixation, la déshydratation, la métallisation.

Fixation : Cette étape consiste à placer les échantillons dans un bain de fixation qui contient 2 volumes de glutaraldéhyde à 5 %, 1 volume de tampon phosphate (0,4 M à pH 7,4) et 1 volume d'eau distillée pendant 25 min. Les échantillons sont ensuite lavés soigneusement dans deux bains successifs pendant 20 min en utilisant une solution composée de 1 volume de tampon phosphate (10 mM - pH 7,4), 2 volumes de saccharose à 0,4 M et 1 volume d'eau distillée.

Déshydratation : Cette étape est essentielle pour éviter que l'eau vienne perturber le vide dans la chambre du MEB. La déshydratation s'effectue de façon graduelle afin d'éviter le stress osmotique pour les microorganismes adhérents sur l'échantillon à analyser. Dans un premier temps, l'échantillon est plongé dans des bains en proportion croissante en acétone : 50 %, 70 % et 100 % pendant 5 minutes, ensuite l'échantillon est placé dans une solution contenant 50 % acétone et 50 % hexamethyldisilazane (HMDS) pendant 35 min, et finalement dans un bain de 100 % de HDMS jusqu'à évaporation totale du solvant.

Métallisation : Avant l'observation microscopique, les électrodes sont recouvertes par pulvérisation cathodique à froid d'une fine couche d'or d'environ 10 nm pour rendre la surface de l'échantillon conductrice.

6.2. Microscopie à épifluorescence

La microscopie à épifluorescence a été utilisée pour examiner la répartition globale des microorganismes sur les électrodes colonisées. Une fois les SBE arrêtés, les électrodes de travail sont retirées, marquées pendant 15 minutes dans un bain contenant une solution de 0,03 % d'acridine orange (A6014 Sigma) capable de s'intercaler ou se lier aux acides nucléiques (ADN ou ARN), et puis rincées soigneusement avec de l'eau physiologique. Les électrodes sont ensuite laissées à l'air libre et à l'abri de la lumière pour réaliser le séchage pendant au moins 24 à 48 heures avant les observations.

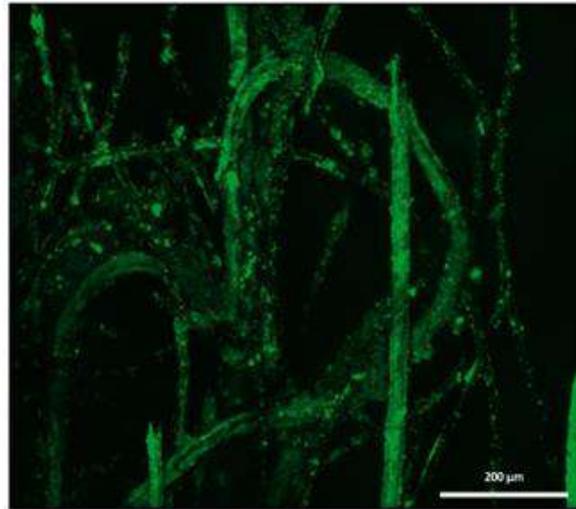


Figure 8 : Image par microscopie à épifluorescence d'un biofilm formé dans des eaux usées textiles synthétiques inoculé avec SCD sur l'électrode de travail en feutre de carbone de 6 cm² polarisée à +0,2 V vs. ECS.

Les biofilms ont ensuite été imagés avec un microscope Carl Zeiss Axio Imager-M2 (Carl Zeiss) équipé pour l'épifluorescence avec une source lumineuse HXP 200C et un filtre Zeiss 09 (Source lumineuse excitatrice HP450r HP450200 C). Les images ont été acquises avec une caméra numérique (Zeiss AxioCam MRm) et l'ensemble des images a été traité avec le logiciel Zen (Carl Zeiss) pour obtenir des projections et des reconstructions en 2D. La figure 8 est un exemple de biofilm imagé à partir d'une électrode qui a été polarisée pendant 20 jours à un potentiel de +0,2 V vs. ECS dans un milieu réactionnel synthétique contenant du glucose (5g/L) comme co-substrat et inoculé avec le SCD. A noter que le marquage fluorescent permet d'imager principalement les cellules et les acides nucléiques extracellulaires, mais ne permet pas de visualiser les exopolymères.

7. Méthodologie des plans d'expériences

Le plan d'expériences est à la fois une démarche expérimentale et un outil d'analyse empirique dont l'objectif est d'affiner la compréhension et l'optimisation d'un système et qui utilise des méthodes mathématiques cherchant à apporter un maximum d'informations pertinentes à partir d'un minimum d'essais.

Cette méthodologie a été appliquée dans le quatrième chapitre de ce manuscrit afin d'étudier l'impact synchronique du matériau de l'anode (Θ_1), de sa surface (Θ_2), de la concentration du co-substrat (Θ_3), et du potentiel imposé (Θ_4) sur les performances du SBE. La production de courant

(ψ_1), l'abattement de la DCO (ψ_2) et le taux de décoloration (ψ_3) ont été évalués expérimentalement, en utilisant un plan de Box-Behnken généré par le logiciel NemrodW.

Le plan de Box-Behnken implique quatre variables $\Theta_1, \Theta_2, \Theta_3$ et Θ_4 , chacune à trois niveaux (-1, 0, +1). Un total de 27 expériences a été obtenu (Chapitre 4). Les limites sélectionnées des variables pour le plan de Box-Behnken étaient basées sur des tests expérimentaux préliminaires réalisés avec le SCD ainsi que sur les résultats d'études précédentes (Rousseau et al., 2016 ; Askri et al., 2019). Un modèle du second ordre est utilisé pour trouver une approximation appropriée pour la relation fonctionnelle entre $\Theta_1, \Theta_2, \Theta_3$ et Θ_4 et les réponses données ψ (ψ_1, ψ_2, ψ_3) et définie par l'équation suivante (Eq 3).

$$\psi(\psi_1, \psi_2, \psi_3) = \beta_0 + \sum_{i=1}^K \beta_i \Theta_i + \sum_{i=1}^K \beta_{ii} \Theta_{ii}^2 + \sum_{i=1}^{K-1} \sum_{j=i+1}^K \beta_{ij} \Theta_{x_i} \Theta_{x_j} + \varepsilon \text{ (Eq 3)}$$

Un modèle de régression contenant 15 coefficients, dont les effets linéaire et quadratique sur les variables et l'effet linéaire sur les interactions, a été généré par le logiciel NemrodW (Eq 4) :

$$\Psi(\Psi_1, \Psi_2, \Psi_3) = \beta_0 + \beta_1\Theta_1 + \beta_2\Theta_2 + \beta_3\Theta_3 + \beta_4\Theta_4 + \beta_{11} \Theta_{12} + \beta_{22} \Theta_{22} + \beta_{33}\Theta_{32} + \beta_{44}\Theta_{42} + \beta_{12} \Theta_{1\Theta_2} + \beta_{13} \Theta_{1\Theta_3} + \beta_{23} \Theta_{2\Theta_3} + \beta_{14} \Theta_{1\Theta_4} + \beta_{24} \Theta_{2\Theta_4} + \beta_{34}\Theta_{3\Theta_4} \text{ (Eq 4)}$$

Où Ψ (Ψ_1, Ψ_2, Ψ_3) sont les réponses données ; β_0 est la constante du modèle ; $\Theta_1, \Theta_2, \Theta_3$ et Θ_4 sont les variables indépendantes ; $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ et β_4 sont les coefficients linéaires ; $\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}, \beta_{14}, \beta_{24}$ et β_{34} sont les coefficients croisés, et $\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}$ et β_{44} sont les coefficients quadratiques pour chaque réponse Ψ_1, Ψ_2 et Ψ_3 .

Le tableau 3 présente le domaine expérimental du plan de Box-Behnken avec les valeurs des variables, les limites hautes et les limites basses.

Tableau 3 : Domaine expérimental du plan Box-Behnken.

Variabiles	-1	0	1
Matériau anodique (Θ_1)	Tissu de carbone	Feutre de carbone	Acier inoxydable
Surface anodique (Θ_2) (cm ²)	6	30	100
Concentration de glucose (Θ_3) (g/L)	5	0	10
Potentiel appliqué (Θ_4) (V)	-0.3	-0.1	+0.2

8. Extraction d'ADN, Next-generation sequencing (NGS) et analyse des communautés bactériennes

Plusieurs types d'échantillons ont été prélevés pour analyser la communauté bactérienne au cours des expériences. Trois matrices ont été ciblées :

1. L'inoculum initial : prélevé sur le site d'échantillonnage et conservé dans un tube stérile. Un poids de 250 mg a été utilisé pour chaque extraction d'ADN.
2. Le biofilm présent à la surface de l'électrode : prélevé à la fin de l'expérience à l'aide d'un scalpel et placé dans un microtube de 2 ml dans un tampon phosphate stérile (10 mM - pH 8,4).
3. Le milieu réactionnel : prélevé dans le milieu liquide du réacteur à la fin de l'expérience. Un volume de 2 ml a été utilisé pour chaque extraction d'ADN.

Afin de pouvoir analyser les populations des biofilms EA formés sur les matériaux d'électrode ainsi que celles présentes dans les différents inocula et milieux, une extraction d'ADN a été effectuée à partir des différentes matrices (biofilm, milieux et inoculums) en utilisant le kit d'extraction « DNeasy Power Biofilm Kit » (QIAGEN).

Le protocole proposé par QIAGEN se déroule en 5 étapes :

- Une lyse cellulaire (thermique, chimique et mécanique) afin de rompre les membranes cellulaires pour libérer l'ADN.
- Une purification de l'ADN par précipitation des polluants (acide humique, débris de cellules, protéines et polysaccharides).
- Une filtration de l'ADN en utilisant les tubes à membrane fournis dans le kit. En effet, Les tubes à membrane sont dotés de pores de taille spécifique qui permettent le passage de l'ADN tout en retenant les contaminants tels que les ARN, les protéines, les sels et autres impuretés.
- Un lavage de l'ADN fixée sur la colonne pour éliminer les impuretés en utilisant un réactif de lavage spécifique fourni dans le kit.
- Une élution de l'ADN retenue sur la colonne en utilisant un tampon d'élution fourni dans le kit.

Les mesures de concentrations d'ADN (ng/ μ L) et les ratios de pureté [rapport d'absorbance (A260/A280)] ont été ensuite vérifiés par Nanodrop (Thermo Fisher Scientific). Les échantillons d'ADN ont été conservés à -20 °C avant d'être envoyés (par voie postale) au

séquençage qui a été sous-traité à Molecular Research LP (*MR DNA*) (Texas, États-Unis) et à la Plateforme Génomique GeT – INRAE Transfert Metys (Toulouse, France).

Une amplification par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) de la région hyper variable bactérienne V4 ou V4-V5 du gène de l'ARNr 16S a été d'abord réalisée. Cette région de l'ARN ribosomique est souvent utilisée comme cible pour le séquençage afin d'identifier et de caractériser les microorganismes. Elle contient des séquences conservées qui sont essentielles à la structure et à la fonction des ribosomes, ainsi que des séquences variables qui sont spécifiques à chaque espèce. En comparant les séquences de l'ARNr 16S d'un échantillon inconnu à celles de bases de données contenant des séquences connues, on peut identifier et classer taxonomiquement un organisme.

Le séquençage de l'ADN consiste à déterminer l'ordre d'enchaînement des nucléotides afin de déterminer la classe, l'ordre, la famille, le genre et l'espèce des bactéries. Le traitement des données de séquençage a été pris en charge par nos sous-traitants. Les séquences sont soumises à un nettoyage avec plusieurs niveaux des filtres (répétition des motifs, élimination des extrémités de mauvaise qualité, taille minimale des séquences). Ensuite, les séquences qui ont passé les filtres sont regroupées en groupe de séquences redondantes par clusterisation avec une identité de 96 %. Enfin, un fichier FASTA est créé pour chaque cluster regroupant des séquences homologues interrogées contre une base de données issue du NCBI (National Center for Biotechnology Information) en utilisant BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool nucleotidic).

Chapitre III

Sélection des biofilms anodiques pour traiter des eaux usées textiles synthétiques et réelles

Introduction

L'objectif principal des travaux présentés dans ce troisième chapitre est de sélectionner des sédiments hypersalins pour traiter des eaux usées textiles synthétiques (STWW) et réelles (RTWW). En effet, deux sources principales d'inoculum, récupérés à partir de deux environnements extrêmes tunisiens, le sédiment de Chott el Djérid (SCD) et le sédiment de Sebkhath el Melah (SSM), ont été utilisés comme inoculum pour former des biofilms EA. Les performances de ces différents biofilms EA ont été évaluées et comparées en termes de production de courant, de décoloration des colorants et d'abattement de la DCO.

Le second objectif des travaux de ce chapitre est d'étudier l'influence de la concentration initiale du colorant et la nature du co-substrat sur la dégradation bioélectrochimique et la production de courant. Une comparaison entre une dégradation bioélectrochimique et une dégradation purement biologique a été étudiée, en se référant aux contrôles biologiques (réacteurs conduits sans polarisation dans les mêmes conditions opératoires).

Le dernier objectif est d'établir une étude comparative des communautés bactériennes qui colonisent les électrodes en feutre de carbone en fonction des deux sources d'inoculum, des colorants présents dans les eaux usées, et en présence de la flore indigène présente dans les eaux usées textiles réelles.

1. Approche expérimentale

1.1. Source d'inoculum et substrat

Les eaux usées textiles contiennent une forte concentration de sel qui peut varier de 10 à 80 g/L de NaCl (Gratiieri et al., 2018). En effet, si les cellules des microorganismes présents dans le SBE sont exposées à une solution très concentrée en sel, l'eau à l'intérieur des cellules va diffuser vers l'extérieur afin de diluer la concentration de sel. Ce qui peut entraîner une perte d'eau importante pour les cellules des microorganismes, conduisant ainsi à la déshydratation et, éventuellement, à la mort cellulaire. Pour éviter les conséquences négatives, nous avons ciblé des environnements extrêmes dans le sud tunisien afin d'y récupérer des sédiments hypersalins qui hébergent des microorganismes halothermophiles. Ces microorganismes sont capables de vivre et se développer dans les conditions de stress salin des eaux usées textiles. Pour ce troisième chapitre, deux colorants azoïques ont été utilisés comme colorants modèles des eaux usées textiles pour les eaux usées textiles synthétiques dans le SBE : Le Tubantin noir (TB) et le Bezaktive rouge (BR), à deux concentrations initiales différentes : 0,3 et 1,0 g/L. Ces deux

colorants ont été sélectionnés en raison de leurs larges applications par notre partenaire industriel Global-Washing. L'acétate et le glucose ont été utilisés comme co-substrats avec une concentration allant de 0,5 à 2,0 g/L. Il s'agit de sources d'énergie qui sont facilement consommées par les microorganismes et qui sont disponibles dans de nombreux environnements naturels et eaux usées.

1.2. Matériau de l'anode et potentiel de polarisation

Les travaux de Askri et al. (2019 ; 2020) ont montré que le feutre de carbone, quand il est polarisé à -0,1 V vs. ECS, est un matériau d'électrode robuste et performant, au regard d'autres matériaux carbonés, pour la formation des biofilms EA à partir de sédiments hypersalins et d'eaux usées textiles réelles. Ces mêmes travaux ont montré un taux d'abattement de la DCO de l'ordre de 91 % et une densité de courant maximale qui a dépassé 12 A/m² dans un SBE alimenté avec des eaux usées textiles réelles. Pour les travaux présentés dans ce chapitre, ce même feutre de carbone avec une surface de 6 cm² a été étudié sous polarisation constante à -0,1 V vs. ECS.

1.3. Température et salinité

Toutes les expériences ont été réalisées à 45 °C et une salinité de 165 g/L. Ce choix est justifié sur la base de la publication de Askri et al. (2019) qui a étudié les conditions optimales pour la production d'électricité dans un SBE inoculé avec des sédiments hypersalins (Askri et al., 2019).

2. Résultats (Synthèse de l'article 1)

Dans cette section, nous détaillons les résultats de l'article 1 intitulé « *Saline Sediments as a Suitable Source for Halophilic Inoculums to Degrade Azo Dyes in Synthetic and Real Textile Wastewaters by Microbial Electrochemical Systems* » publié en Avril 2023 dans la revue "APPLIED SCIENCES " (13, 5581. [https://doi.org/ 10.3390/app13095581](https://doi.org/10.3390/app13095581)) avec quelques résultats supplémentaires.

2.1. Effet de la concentration initiale des colorants sur la décoloration

L'effet de la concentration initiale des colorants sur la décoloration a été étudié dans des eaux usées synthétiques contenant le TB et le BR.

La décoloration du TB et la production d'électricité ont été étudiées avec deux concentrations initiales, 0,3 et 1,0 g/L, en utilisant une concentration de 2 g/L de glucose comme co-substrat.

L'utilisation du SCD comme source d'inoculum avec une concentration initiale de 0,3 g/L (STWW/TB/SCD) a donné une densité de courant maximale de 12 A/m² (Figure 1.A) en 12 jours avec un taux de décoloration de l'ordre de 84 %. Cependant, en augmentant la concentration de TB de 0,3 à 1,0 g/L, le taux de décoloration a diminué de 84 % à 55 % (Figure 1.B) en produisant une faible densité de courant de l'ordre de 0,2 A/m². Des taux de décolorations plus faibles de l'ordre de 33 % et 32 % ont été respectivement obtenus avec les réacteurs « contrôles biologiques » alimentés avec une concentration de 0,3 g/L et 1,0 g/L de TB.

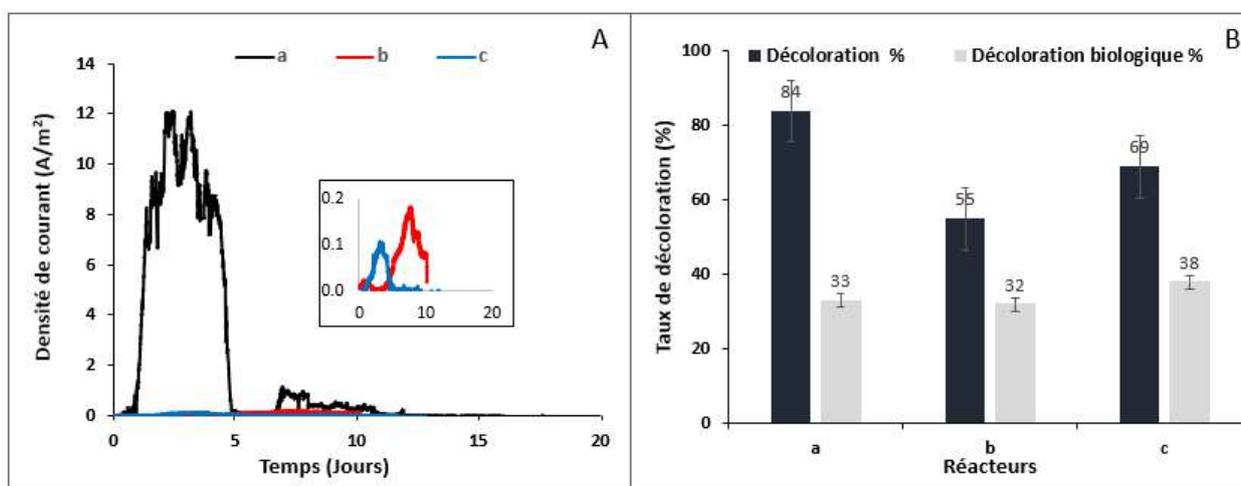


Figure 1 : (A) Évolution de la densité de courant enregistrée sur l'électrode de travail en feutre de carbone de 6 cm² polarisée à -0,1 V vs. ECS, (B) Taux de décoloration obtenu avec le SBE ou le contrôle biologique ; (a) Réacteur alimenté avec 0,3 g/L de TB, SCD ; (b) Réacteur alimenté avec 1,0 g/L de TB, SCD ; (c) Réacteur alimenté avec 0,3 g/L de TB, SSM.

L'utilisation du SCD comme source d'inoculum avec une concentration initiale de 0,3 g/L de BR (STWW/BR/SCD) a produit une densité de courant maximale de 3,6 A/m² (Figure 2.A) en 15 jours. Cependant, en augmentant la concentration de BR de 0,3 à 1,0 g/L, un taux de décoloration plus faible (moins de 55 %) et une production de courant inférieure à 0,1 A/m² ont été enregistrés (figure 2.B).

Ces expériences ont été ensuite réalisées avec la deuxième source d'inoculum (SSM) en appliquant la concentration en colorants qui a permis d'atteindre les meilleurs taux de décoloration, c'est-à-dire 0,3 g/L. Une chute drastique dans les densités de courant générées et les taux de décoloration a été remarquée. En effet, avec le TB (STWW/TB/SSM) (Figure 1.C), un courant d'oxydation maximal d'environ 0,1 A/m² a été enregistré parallèlement avec un taux de décoloration de l'ordre de 69 %. Cependant, avec le BR (STWW/BR/SSM) (Figure 2.C),

une densité de courant proche de 1.0 A/m^2 a été obtenue avec un taux final de décoloration de 72 %. Ces premiers résultats indiquent que la communauté microbienne qui constitue le SCD est plus efficace que celle du SSM pour la dégradation des colorants et la production d'électricité. La comparaison des inocula a également été étudiée avec des eaux usées réelles dans le paragraphe 2.3.

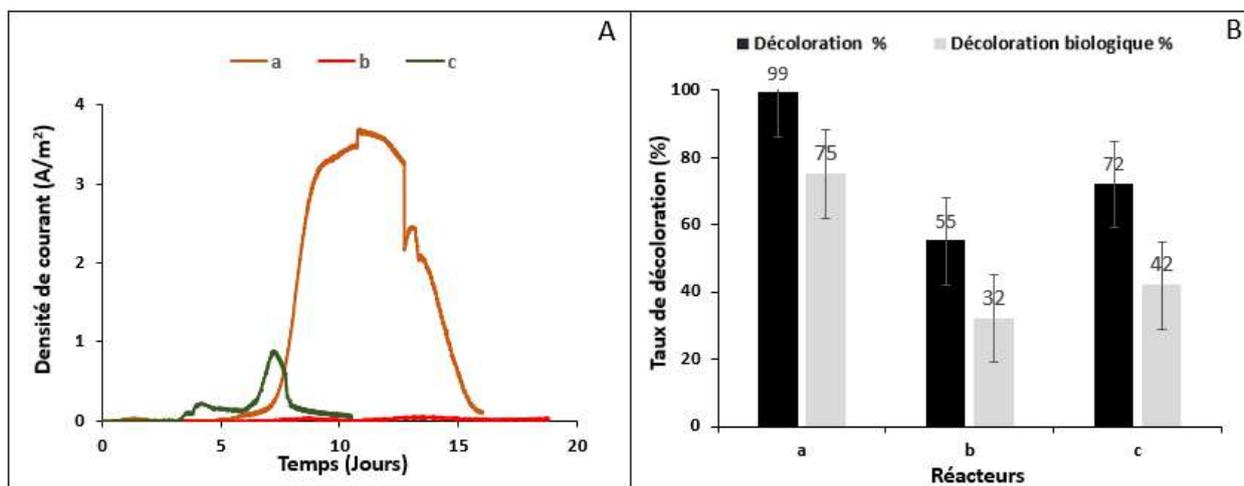


Figure 2 : (A) Évolution de la densité de courant enregistrée sur l'électrode de travail en feutre de carbone de 6 cm^2 polarisée à $-0,1 \text{ V vs. ECS}$, (B) Taux de décoloration obtenu avec le SBE ou le contrôle biologique ; (a) Réacteur alimenté avec $0,3 \text{ g/L}$ de BR, (b) Réacteur alimenté avec 1 g/L de BR, (c) Réacteur alimenté avec $0,3 \text{ g/L}$ de BR, SSM.

2.2. Influence de la nature du co-substrat

L'acétate, le glucose et l'extrait de levure sont généralement utilisés dans les SBE comme des co-substrats étant donné qu'ils sont capables de booster la réduction des colorants azoïques (Sun et al., 2022 ; Cui et al., 2021). La concentration de ces co-substrats peut varier de $0,1$ à $5,0 \text{ g/L}$ dans les eaux usées textiles chargées avec des colorants azoïques (Cui et al., 2016 ; Xu et al., 2020). En effet, une faible concentration de co-substrat(s) ne pourrait pas répondre aux exigences de la croissance et du métabolisme des microorganismes anaérobies, affectant ainsi la dégradation des colorants azoïques dans les SBE. Pour cette expérience, deux concentrations identiques d'acétate et de glucose ($0,5 \text{ g/L}$) ont été appliquées dans le SBE afin de tester l'effet de la nature du co-substrat sur la décoloration.

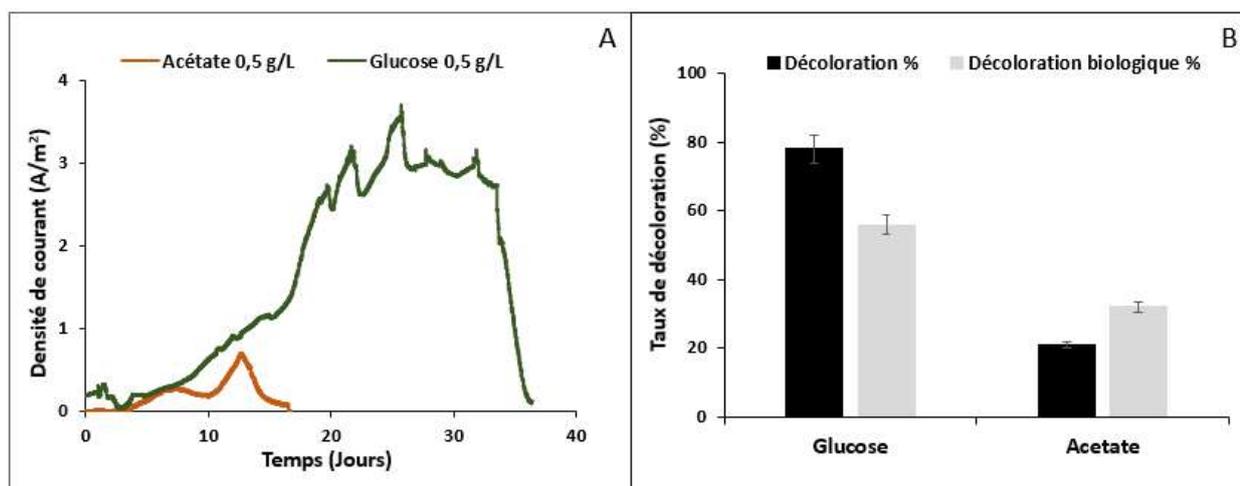


Figure 3 : (A) Évolution de la densité de courant enregistrée sur l'électrode de travail en feutre de carbone de 6 cm² polarisée à -0,1 V vs. ECS en utilisant deux co-substrat différents (acétate ou glucose) ; (B) Taux de décoloration obtenu avec le SBE ou le contrôle biologique.

Lorsque le glucose à 0,5 g/L a été utilisé comme co-substrat, le taux de décoloration était de l'ordre de 78 % après 16 jours de polarisation, le biofilm a produit une densité de courant allant de 3,0 à 3,7 A/m². Comme le montre la figure 3.A, l'utilisation du glucose comme co-substrat a permis une production de courant stable pendant 7 jours. Néanmoins, les expériences réalisées avec l'acétate comme co-substrat avec la même concentration massique et le SCD comme source d'inoculum ont montré un pourcentage de décoloration faible de 21 % et une production de courant électrique de l'ordre de 0,7 A/m².

Théoriquement, le taux de décoloration augmente si le co-substrat libère plus d'électrons lors de son oxydation, ce qui indique qu'il fournit davantage d'électrons disponibles pour les réactions de co-métabolisme qui sont responsables de la décoloration. Ici, la réaction d'oxydation du glucose libère 24 électrons. Une concentration de 0,5 g/L équivaut à une DCO de 533 mg/L. La réaction d'oxydation de l'acétate libère quant à elle 8 électrons. Une concentration d'acétate de 0,5 g/L équivaut à une DCO de 542 mg/L. Il est à noter que cette expérience a été réalisée avec l'acétate de sodium qui a une teneur d'acétate de l'ordre de 72 %, ce qui signifie que la concentration massique en acétate appliquée dans le SBE était d'environ 0.36 g/L (équivaut à une DCO de 390 mg/L) (Tableau 1). Une DCO élevée indique théoriquement une forte concentration de matière organique susceptible d'être oxydée dans l'échantillon à traité et plus de donneurs d'électrons nécessaires aux réactions de réduction à l'origine de la décoloration.

Ces résultats sont en accord avec d'autres travaux antérieurs où le taux maximal de décoloration a été observé avec le glucose comme co-substrat pour la réduction des colorants azoïques comme le rouge ABRX3 (Sun et al., 2009) et le rouge congo (Cao et al., 2010 ; Hou et al., 2019).

Tableau 1 : Récapitulatif de l'influence du co-substrat sur la production de courant et la décoloration.

Co-substrat	Concentration massique (g/L)	Equivalent DCO (mg/L)	Densité de courant (A/m²)	Décoloration SBE (%)	Décoloration contrôle biologique (%)
Glucose	0,5	533	3,7	78	56
Acétate	0,36	390	0,7	21	32

2.3. Effet du sédiment utilisé comme inoculum

Les expériences réalisées avec les eaux usées synthétiques ont montré une meilleure densité de courant et un taux de décoloration élevé quand le SCD est utilisé comme source d'inoculum. Afin de confirmer ce résultat, deux nouvelles expériences complémentaires ont été réalisées en appliquant les mêmes conditions opératoires mais cette fois-ci en utilisant des eaux usées textiles réelles contenant les deux colorants BR et le TB.

Nos eaux usées collectées auprès de l'industrie Global-Washing ont été introduites dans le SBE avec les deux sédiments précédemment utilisés comme source d'inoculum durant la première partie de ce travail. La polarisation a été maintenue pendant 30 jours pour RTWW1 (les eaux usées traitées avec SSD) et 15 jours pour RTWW2 (les eaux usées traitées avec SSM). Des densités de courant maximales de l'ordre de 2,0 A/m² et 0,8 A/m² ont été respectivement obtenues (Figure 4).

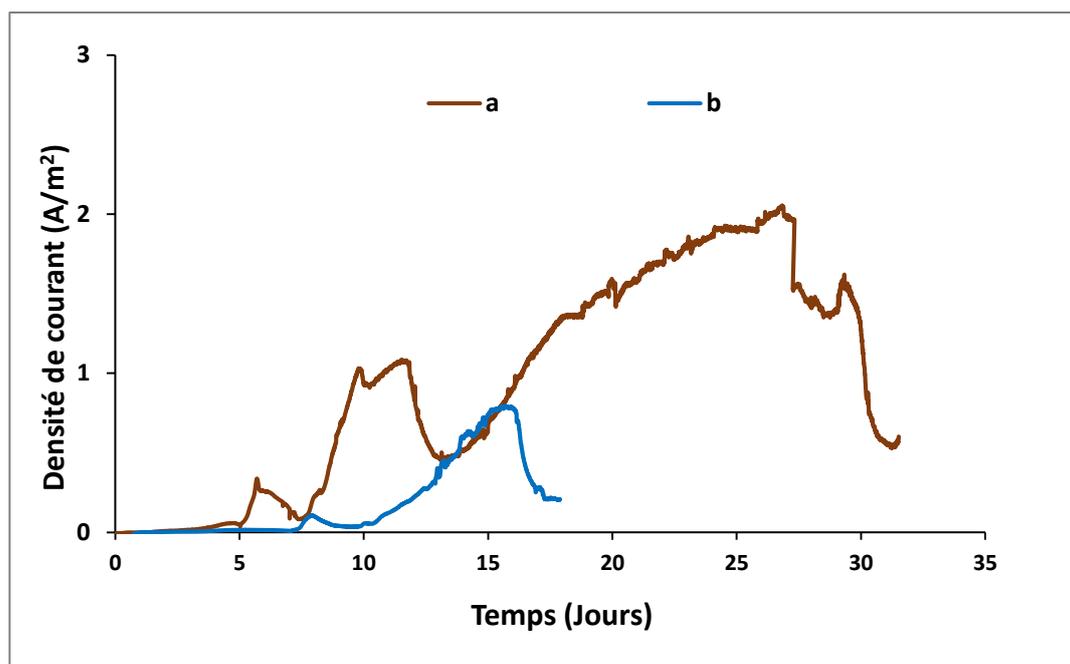


Figure 4 : Évolution de la densité de courant enregistrée sur l'électrode de travail en feutre de carbone de 6 cm² polarisée à -0,1 V *vs.* ECS dans un réacteur contenant (a) RTWW 1 ou (b) RTWW 2 comme inoculum.

Les voltammétries cycliques (VCs) réalisées à une vitesse de balayage relativement lente ont été utilisées comme outil pour mettre en avant des propriétés électrocatalytiques du biofilm sur la surface de l'électrode (Figure 5). Pour les VCs initiales, un courant de réduction a été observé à partir du potentiel -0,2 V *vs.* ECS. Il s'agit probablement de la réduction de l'oxygène restant qui n'a pas été complètement purgé par le barbotage d'azote. Ce courant a continué à augmenter jusqu'à la limite inférieure de potentiel de -0,6 V *vs.* ECS. Les VCs finales ont été réalisées à la fin de chaque expérience (jour 32 pour RTWW1 et jour 18 pour RTWW2). Une différence remarquable dans l'aspect général a été identifiée par rapport à leurs états initiaux, confirmant l'établissement d'un biofilm aux propriétés électrocatalytiques sur les électrodes en feutre de carbone, ainsi qu'un enrichissement réussi de ce biofilm électroactif avec des bactéries capables d'utiliser des électrodes comme des accepteurs finaux d'électrons. Le courant d'oxydation a été maintenu dans la gamme [-0,2 V *vs.* ECS, +0,3 V *vs.* ECS] avec des pics maximums de 5 et 2 A/m² pour RTWW1 et RTWW2 respectivement.

À noter que pour mesurer une cinétique maximale, les VCs auraient dû être réalisées au moment où les densités de courant étaient maximales sur la chronoampérométrie (jour 27 pour RTWW1 et jour 16 pour RTWW2) et non pas à la fin des expériences.

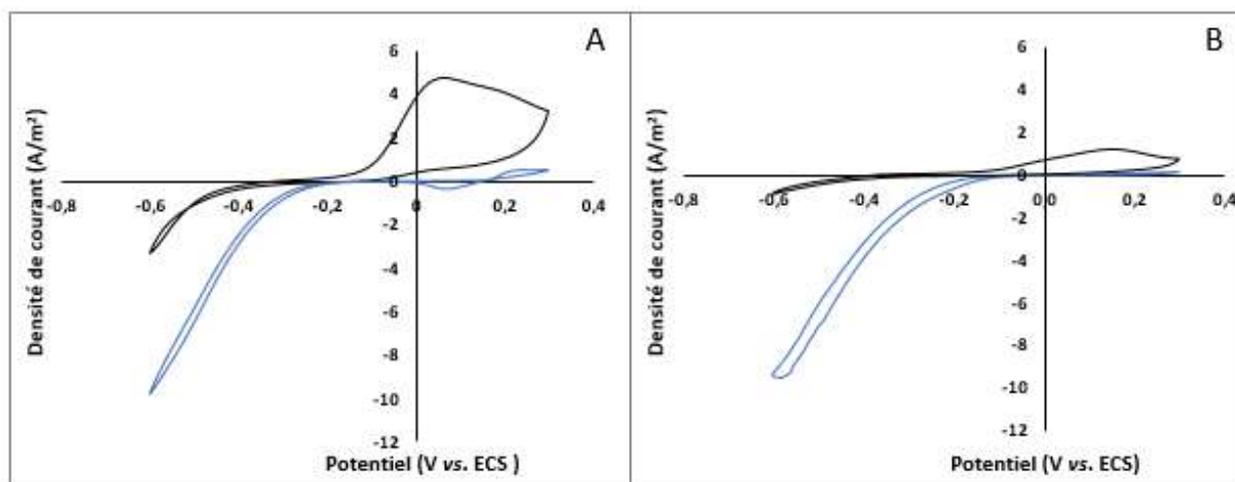


Figure 5 : Voltammétrie cyclique enregistrée sur l'électrode de travail en feutre de carbone de 6 cm² dans un réacteur contenant (A) RTWW 1 ou (B) RTWW 2. — VC initiale ; — VC finale.

Le tableau 2 montre les différents taux de décoloration et d'abattement de la DCO obtenus avec les deux sédiments. Pour RTWW1, un taux d'élimination de la DCO de 85 % a été obtenu simultanément avec un taux de décoloration de 88 % pour le TB et de 84 % pour le BR. L'élimination de la DCO dans le contrôle biologique était plus faible de l'ordre de 67 %. Pour RTWW2, un taux d'élimination de la DCO de 46 % a été enregistré, contre 30 % pour le réacteur contrôle. Les pourcentages de décoloration du TB et BR étaient respectivement d'environ 72 % et 81 %. Ces résultats obtenus avec les eaux usées réelles sont en accord avec ceux observés avec les eaux usées synthétiques dans la partie précédente. En effet, la communauté bactérienne hébergée par le SCD a montré une performance supérieure à celle de SSM confirmant l'efficacité de la communauté microbienne ubiquitaire de ce sédiment.

Tableau 2 : Efficacité de l'élimination de la DCO et de la décoloration dans les eaux usées réelles RTWW1 et RTWW2, SCD et SSM utilisés comme inoculum.

	Eaux usées	
	RTWW1	RTWW2
DCO initiale (mg/L)	654	950
DCO finale (mg/L)	98	514
DCO contrôle finale (mg/L)	211	682
Abattement DCO (%)	85	46
Abattement DCO contrôle (%)	67	30
Décoloration TB (%)	88	72
Décoloration TB contrôle (%)	75	64
Décoloration BR (%)	84	81
Décoloration BR contrôle (%)	80	73

L'inoculum SCD héberge probablement une communauté plus électroactive que l'inoculum SSM. En comparant les aspects visuels des deux sédiments, le SCD apparaît plus hétérogène que le SSM avec une texture mixte (humide et sèche) et trois couleurs différentes (noir, brun et beige). Au contraire, le SSM apparaît plus homogène avec une seule couleur et une texture moins humide. D'autre part, les conditions physico-chimiques (pH, Température et conductivité) de SCD sont plus proches des conditions des eaux usées textiles réelles (Tableau 3). Lorsque les propriétés physico-chimiques des eaux usées et de l'inoculum sont proches, plusieurs avantages dans le SBE peuvent se présenter. Premièrement, l'adaptation des microorganismes est facilitée, ils peuvent fonctionner de manière optimale car les conditions environnementales sont quasi similaires. Deuxièmement, si les propriétés physico-chimiques sont proches, il est moins nécessaire de modifier ou réguler des paramètres, tels que la température et le pH, conduisant ainsi à une gestion plus simple et moins coûteuse du SBE.

Tableau 3 : Propriétés physico-chimiques des eaux usées réelles, de SCD et de SSM.

Sédiment/Sédiments	pH	Température (°C)	Conductivité (µS/cm)
Eaux usées réelles	7,0	-	35,4 10 ³
SCD	7,2	17,5	30,7 10 ³
SSM	8,2	25,7	45,8 10 ³

Par ailleurs, l'analyse minérale réalisée sur les différents sédiments (Tableau 4) montre que le SCD est plus riche en éléments minéraux. En effet, les concentrations en calcium, magnésium, potassium, sodium et fer exprimées en g/Kg de matière sèche dans le SCD étaient supérieures à celles du SSM. La différence de performances des biofilms formés avec les deux sédiments pourrait probablement être liée à la différence de composition élémentaire des minéraux qui fait du SCD un environnement plus favorable au développement des microorganismes.

Tableau 4 : Composition des éléments minéraux dans les deux sédiments SCD et SSM.

	SCD	SSM
Calcium (g/Kg MS*)	196,3	130,0
Magnésium (g/Kg MS*)	9,5	6,3
Potassium (g/Kg MS*)	3,2	1,8
Sodium (g/Kg MS*)	35,2	54,8
Fer (g/Kg MS*)	4,5	2,1

*MS : Masse sèche

Discussion

Dans les deux séries d'expériences de décoloration du TB et du BR détaillés au début de ce chapitre, le pourcentage de décoloration et la production de courant diminuent significativement lorsque la concentration initiale du colorant augmente. En effet, le taux de décoloration a baissé de 84 à 69 % et de 99 à 55 % lorsque les concentrations de TB et BR ont été augmentées de 0,3 à 1,0 g/L dans les eaux usées synthétiques. Il est néanmoins intéressant de noter qu'avec 1,0 g/L de colorant, la quantité de colorant perdue au cours du processus de traitement bioélectrochimique était supérieure à celle observée avec 0,3 g/L (0,55 g/L contre 0,29 g/L pour BR et 0,69 g/L contre 0,25 g/L pour TB). De plus, avec une concentration de 1,0 g/L de colorant, une chute drastique de la génération de courant a été constatée. Pour bien interpréter cette chute dans la densité de courant généré, il faut se rappeler du mécanisme de dégradation des colorants azoïques dans un SBE (Figure 7, Chapitre I). Ce mécanisme implique une compétition entre deux voies possibles pour accepter les électrons : l'électrode pour la production d'électricité et la liaison N=N pour son clivage.

Une plus grande concentration de colorant azoïque a certainement tendance à diriger en majorité les électrons vers la voie de réduction. Ici, une concentration de 1,0 g/L de BR ou TB a fortement limité le transfert d'électrons vers l'électrode et, par conséquent, la densité de courant produite a été très faible. Probablement, les électrons ont été préférentiellement utilisés par le groupement chromophore azoïque, ce qui explique cette différence dans la quantité de matière colorante disparue entre les deux concentrations initiales.

De même, Thung et al. (2015) ont rapporté qu'une augmentation de la concentration initiale de l'orange acide 7 de 0,5 à 0,75 g/L a conduit à une diminution de la décoloration du colorant de 81 à 75 %. Miran et al. (2018) ont également rapporté que les pourcentages de décoloration du rouge acide 114 étaient de l'ordre de 91, 86, 81, 73 et 67 % pour respectivement des concentrations initiales de colorant de 0,1 ; 0,25 ; 0,5 ; 0,75 et 1,0 g/L. Récemment, Shahi et al. (2020) ont également rapporté que les concentrations d'orange réactif supérieures à 0,5 g/L sont considérées comme des concentrations inhibitrices pour la décoloration. Les auteurs ont attribué cette chute du taux de décoloration à une toxicité bactérienne provoquée par les concentrations élevées des colorants.

Avec les eaux usées réelles sans co-substrat additionnel, des taux de décoloration très proches de ceux observés avec les eaux usées synthétiques additionnées de glucose ont été obtenus. Sur la base de ces données, il est donc apparemment inutile d'ajouter un co-substrat additionnel

pour initier la réaction de co-métabolisme dans un SBE alimenté avec des eaux usées réelles. En fait, il semble que les glucides et autres matières organiques complexes présents naturellement dans ces eaux usées pourraient être utilisés par la communauté microbienne comme des donneurs d'électrons. En effet, ces eaux usées portent une charge de DCO importante qui provient principalement des produits d'ensimage, principalement les amidons et leurs dérivés, la carboxyméthylcellulose et les glucomannanes. On trouve également des détergents dans les eaux usées textiles, qui contribuent à l'augmentation de la DCO (Document de référence sur les meilleures techniques disponibles dans l'industrie textile, Commission européenne, 2003).

La comparaison des taux d'élimination de la DCO entre le SBE et le contrôle biologique a montré une amélioration significative. Pour RTWW1, l'abattement de la DCO a varié de 85 à 67 % entre le SBE et le contrôle biologique suggérant une amélioration de 18 %. Tandis que pour RTWW2, l'abattement de la DCO a varié de 46 à 30 % soit une amélioration de 16 %. (Figure 6). Selon la littérature, le traitement biologique des eaux usées textiles chargées en colorants azoïques montre dans la plupart des études des éliminations de DCO faibles à modérées allant de 37 à 63 % (Yuzer et Selcuk., 2021 ; V et Krishnaswamy., 2021 ; Teoh et al., 2023). En effet, la lenteur du processus microbien, la dégradation incomplète des colorants azoïques et la toxicité microbienne provoquée par les colorants sont les trois principales limites du traitement biologique conventionnel (Ihsanullah et al., 2020).

En revanche, les taux d'abattement de la DCO observés avec le SBE sont beaucoup plus élevés. Dans ce chapitre, nous avons démontré que le taux d'abattement peut augmenter de manière significative jusqu'à 85 %, et d'autres travaux récents dans la littérature ont rapporté des taux d'abattement avec des eaux usées textiles allant jusqu'à 90 % (Logroño et al., 2017 ; Huang et al., 2018). Ces résultats suggèrent que la présence d'une électrode polarisée pourrait entraîner une sélection différente des population microbiennes, offrant ainsi un mécanisme d'action différent qui est à l'origine de cette différence dans les taux de décoloration et les abattements de la DCO.

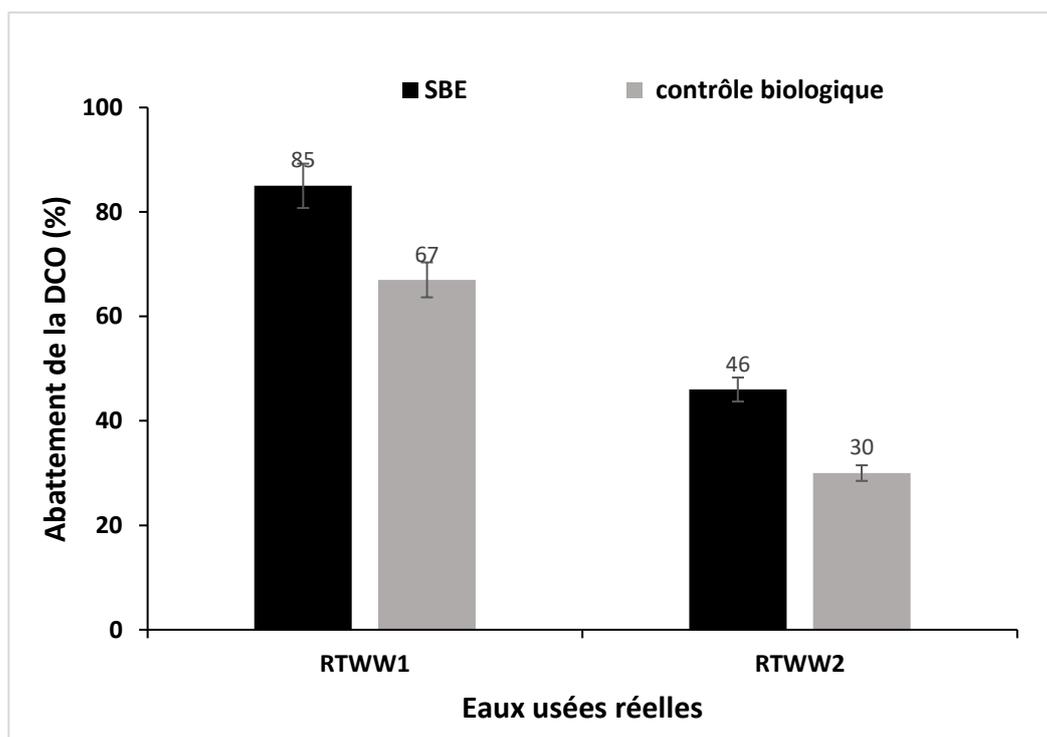


Figure 6 : Abattement de la DCO obtenu par bioremédiation ou bioélectrorémédiation avec des eaux usées réelles.

Il semble que les bactéries électroactives ayant une capacité élevée de transfert d'électrons devraient également être des réducteurs efficaces de colorants azoïques en raison du rôle des cytochromes c extracellulaires (OmcB, OmcC et OmcE) qui ont été identifiés comme étant des protéines clés de la membrane externe pour la réduction extracellulaire des colorants (Cui et al., 2021). D'un autre côté, les bactéries présentes dans le milieu réactionnel pourraient par ailleurs contribuer au taux de décoloration (Yang et al., 2018). Ces bactéries qui respirent d'autres composants (par exemple la respiration des nitrates) pourraient avoir une réductase cytoplasmique fonctionnelle comme l'azoréductase et la nitrate-réductase, qui sont impliquées dans la décoloration des colorants azoïques. (Liu et al., 2015 ; Cui et al., 2021). Il faut mentionner que par rapport à la décoloration intracellulaire commune aux bactéries non électroactives, la décoloration extracellulaire peut être complètement catalysée par ces protéines cytochromes c extracellulaires, permettant ainsi de protéger les bactéries de la toxicité des colorants en empêchant ces derniers et leurs produits décolorés de pénétrer dans les cellules.

La dégradation des colorants dans un SBE offre donc une combinaison de deux voies de réduction : extracellulaire (qui implique la communauté EA) et intracellulaire (qui implique la communauté EA ou non EA). Cette combinaison permet ainsi d'obtenir un taux supérieur de décoloration dans les réacteurs bioélectrochimiques contenant une électrode polarisée.

2.4. Vérification de la disparition du groupement AZO dans la structure des colorants

En plus de la DCO et de la mesure de décoloration, la FTIR a été utilisé comme outil analytique pour vérifier la dégradation des colorants. En effet, les spectres FTIR permettent de mettre en évidence des bandes caractéristiques associées à différentes vibrations moléculaires des colorants.

Le spectre FTIR des deux colorants azoïques témoins (contrôle) TB et BR a révélé la présence de pics à 2900 et 2850 cm^{-1} qui montrent un étirement C-H qui représentent les bandes d'absorption des liaisons aromatiques. Le pic à 1610 cm^{-1} représente la vibration d'étirement de la liaison C=C sur le cycle benzénique. Le pic à 1400-1600 cm^{-1} correspond à la vibration d'étirement de liaison azoïque (-N=N-). Le pic à 1350 cm^{-1} représente l'absorption caractéristique C-N des atomes de N associés au cycle benzénique.

En comparant avec le spectre FTIR des eaux usées traitées (TB traité, BR traité et RTWW1 et RTWW2), il est possible d'observer que le pic d'absorption des vibrations azoïques de nombre d'onde à 1400-1600 cm^{-1} a été significativement réduit, ce qui explique que les doubles liaisons -N=N- du TB et du BR ont été détruites. En effet, la dégradation des colorants azoïques commence par la rupture de la double liaison azoïque, qui représente le groupe chromatique fonctionnel des colorants azoïques. En même temps, les deux pics observés à 2900 et à 2850 cm^{-1} ont complètement disparu (Figure 7), suggérant ainsi la dégradation des amines aromatiques issus du clivage réducteur de la liaison azoïque.

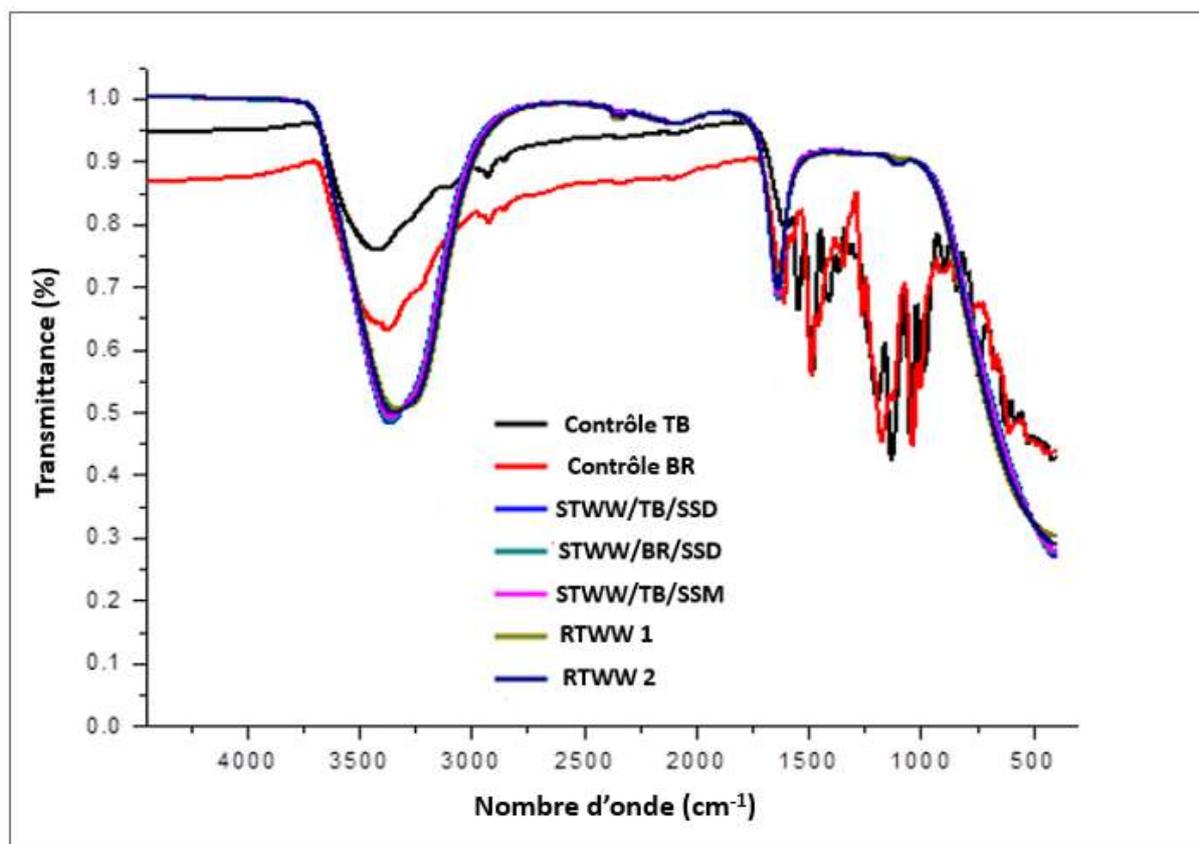


Figure 7 : Spectres FTIR des échantillons de STWW et RTWW prélevés dans différents réacteurs avant et après traitement bioélectrochimiques.

2.5. Caractérisation microscopique des biofilms formés sur les électrodes par microscopie à épifluorescence

À la fin des expériences, les électrodes de travail ont été retirées des SBE, traitées, séchées et observées au microscope à épifluorescence 2D afin d'observer les biofilms qui avaient colonisé leurs surfaces.

Les images suggèrent une quantité de biofilm plus importante sur l'électrode formée dans les eaux usées réelles inoculées avec SCD (Figure 8.A). La colonisation semble moins importante sur les électrodes formées dans les mêmes eaux usées inoculées avec SSM (Figure 8.B). En effet, un biofilm qui recouvre partiellement les fibres de carbone a été détecté sur la surface du matériau anodique. Ces informations suggèrent que le développement des microorganismes de SMM sur la surface de l'électrode est moindre. Ce faible développement peut être attribué à la différence entre les conditions physico-chimiques des eaux usées et du SMM comme détaillé dans le paragraphe « 2.3. Effet du sédiment utilisé comme inoculum ». En effet, la croissance microbienne peut être influencée négativement lorsque les conditions environnementales (pH,

température et conductivité) sont inappropriées ou défavorables. Par ailleurs, ce faible développement peut être attribué aussi à une vitesse de croissance lente qui se manifeste par un temps de génération plus prolongé dû à divers facteurs environnementaux ou intrinsèques qui limitent leur capacité à se multiplier rapidement. D'autre part, la présence d'inhibiteurs peut aussi ralentir le développement de certains microorganismes. En effet, certains composés chimiques comme les métaux lourds présents dans les eaux usées peuvent être toxiques pour les microorganismes, affectant ainsi la vitesse de croissance.

Les biofilms formés dans des eaux usées synthétiques ($[\text{NaCl}] = 165 \text{ g/L}$) ont pour caractéristique de gainer les fibres de carbone de l'électrode (Figure 8.C et 8.D). Cependant, ceux qui ont été retirés des eaux usées réelles ($[\text{NaCl}] = 15 \text{ g/L}$) ont montré une colonisation beaucoup plus développée notamment dans l'espace inter-fibre de carbone (Figure 8.A). Dans ce sens, Rousseau et al. (2016) ont montré que les biofilms formés dans des milieux synthétiques de forte salinité ont la particularité de gainer les fibres de carbone, laissant ainsi les pores libres de biofilm et favorisant le transfert de matières depuis le milieu liquide (électrolyte) vers l'intérieur de l'électrode. En effet, ces mêmes auteurs ont observé dans des conditions de stress salin ($[\text{NaCl}] > 60 \text{ g/L}$) des biofilms beaucoup plus gainants et compacts que dans le cas de concentrations en sel plus faibles ($[\text{NaCl}] = 30$ et 45 g/L) où les biofilms deviennent beaucoup plus diffus et se développent entre les fibres de carbone. Suggérant ainsi que le stress salin a un impact direct sur l'architecture et l'organisation du biofilm au sein d'une électrode poreuse.

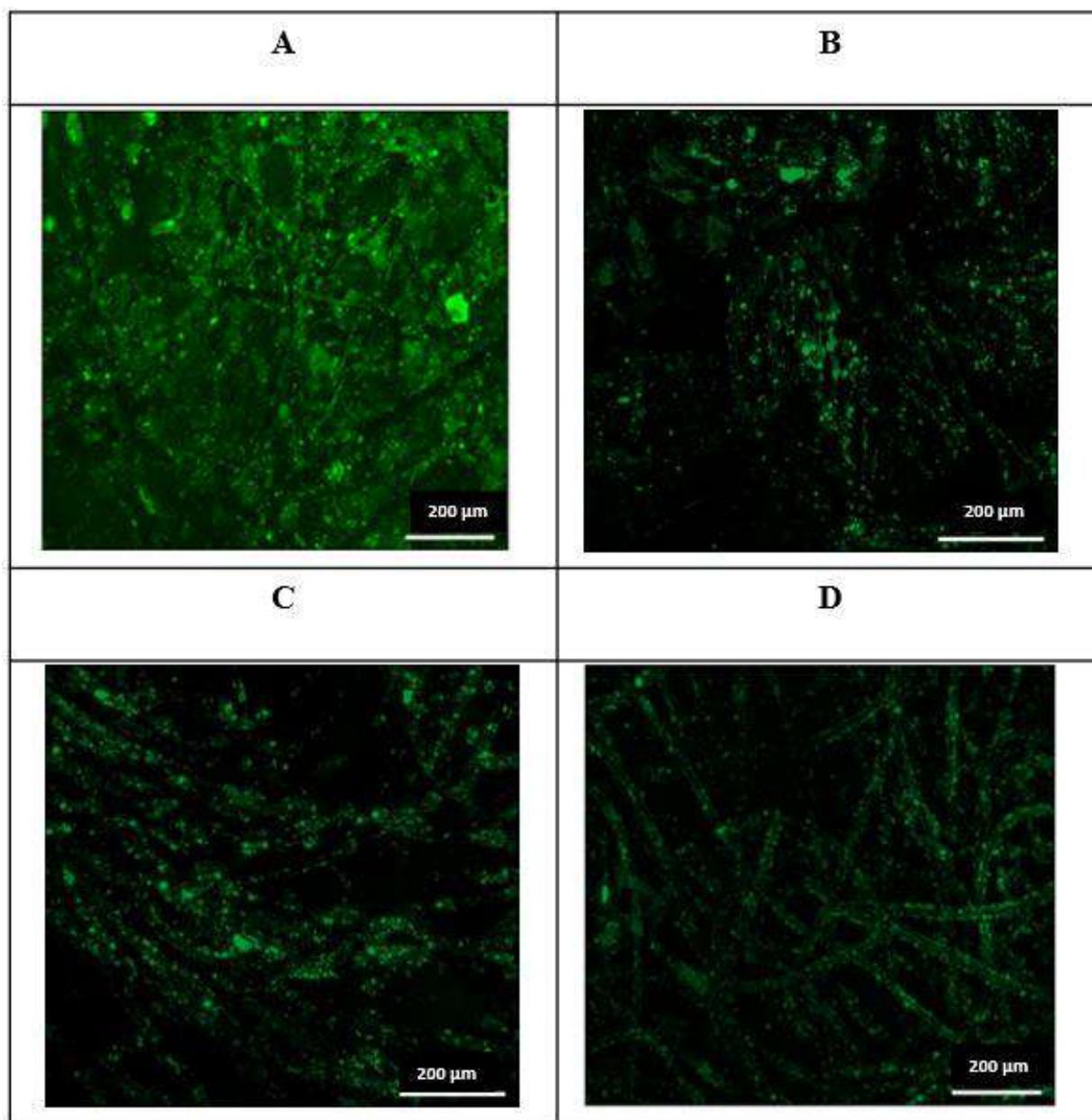


Figure 8 : Photographies par microscopie à épifluorescence des biofilms formés sur des électrodes en feutre de carbone de 6 cm² polarisée à -0,1 V vs. ECS à la fin de l'expérience : A : RTWW1 ; B : RTWW2 ; C : STWW/TB/SCD ; D : STWW/BR/SCD.

2.6. Caractérisation microscopique des biofilms formés sur les électrodes par microscopie électronique à balayage (MEB)

À la fin des expériences, les électrodes de travail ont aussi été observées par MEB. Le MEB utilise un faisceau d'électrons pour balayer la surface du biofilm et créer une image en 2D à haute résolution de la morphologie du biofilm. Il fournit des informations détaillées sur la

structure, la morphologie et la distribution des différentes cellules, et éventuellement des substances polymériques extracellulaires (EPS) qui les entourent.

Une communauté bactérienne avec des formes morphologiques différentes a été détectée sur la surface des électrodes. Il est important de mentionner que les électrodes formées dans les eaux usées inoculées avec le SCD sont plus colonisées que ceux formées avec l'inoculum SSM.

Pour le biofilm formé dans les eaux usées synthétiques contenant une concentration de 0,3 g/L de TB et inoculé avec le SCD (figure 9.A), la colonisation semble hétérogène et les cellules sont à peine distinguables, ce qui suggère la présence de substances polymériques extracellulaires (EPS). Cependant, au niveau du biofilm formé dans les eaux usées synthétiques contenant une concentration de 0,3 g/L de BR et inoculé avec le SCD (figure 9.B), un tapis épais de cellules microbiennes assez homogène et très dense a été observé. Il semble également qu'au-dessus de cette couche basale se trouvent des amas plus isolés, d'une taille d'environ 10 μ m. Ces biofilms semblent être plus concentrés en EPS. Le biofilm formé dans le SBE alimenté avec les eaux usées réelles et inoculé avec le SCD (Figure 9.C) montre une répartition du biofilm sur les fibres de carbone qui semble assez homogène et qui colonise toute la surface des fibres de carbone. Cependant, l'aspect morphologique des cellules microbiennes est beaucoup plus hétérogène dans le biofilm avec des cellules de tailles et de formes très variables.

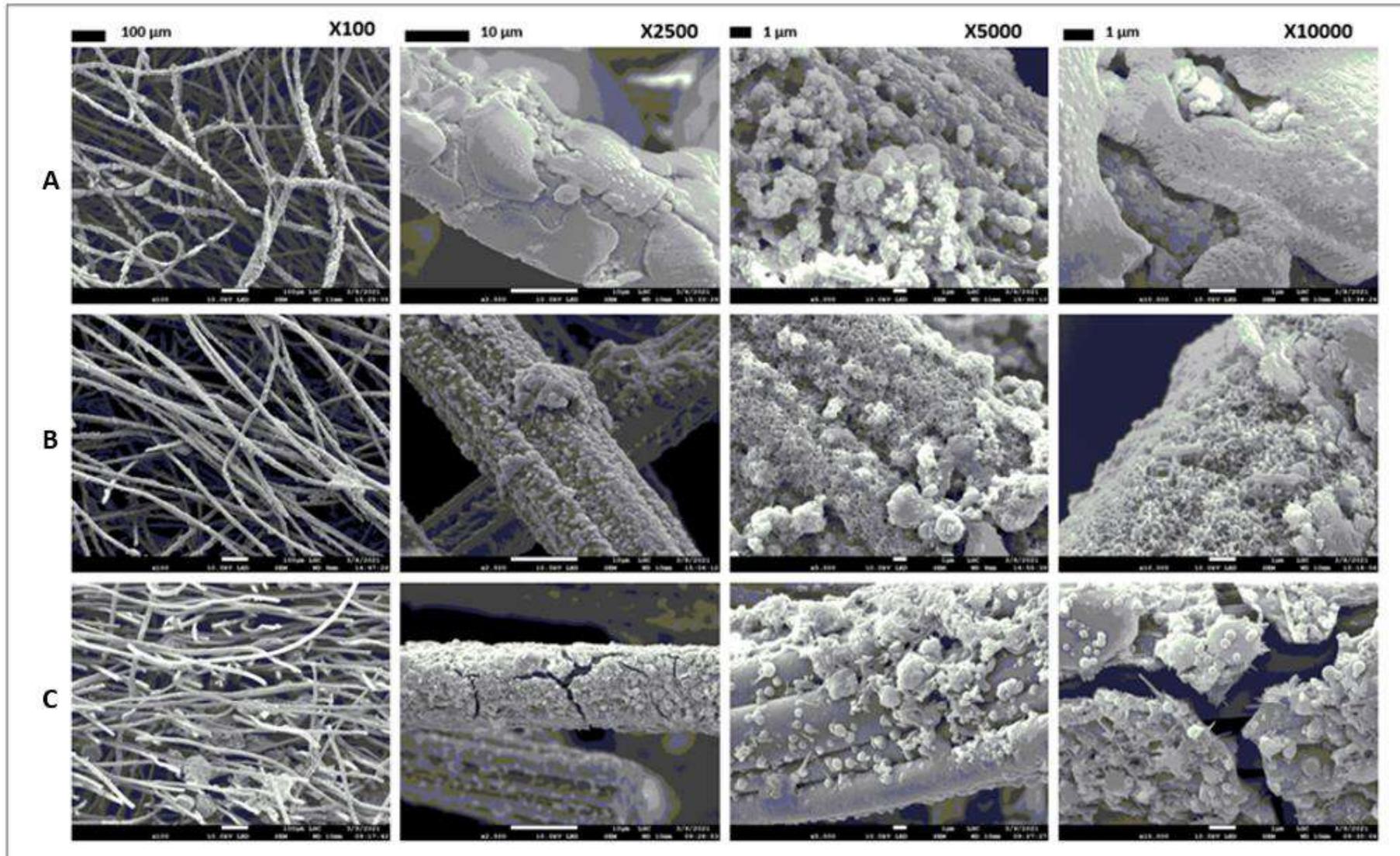


Figure 9 : Photographie MEB des électrodes en feutre de carbone de 6 cm² polarisée à -0,1 V vs. ECS sous différents grossissements à la fin de l'expérience : A : STWW/TB/SCD ; B : STWW/BR/SCD ; C : RTWW 1.

2.7. Analyse de la diversité des populations bactériennes

À la fin des expériences, différentes électrodes nommées dans le texte : a (STWW/TB/SSM), b (STWW/BR/SCD), c (STWW/BR/SCD), d (STWW/BR/SSM), e (RTWW 1) et f (RTWW 2) ont été retirées des SBE pour une analyse de la communauté bactérienne. La composition et la distribution de l'abondance aux niveaux taxonomiques du phylum et de l'espèce sont présentées dans les figures 10 et 11.

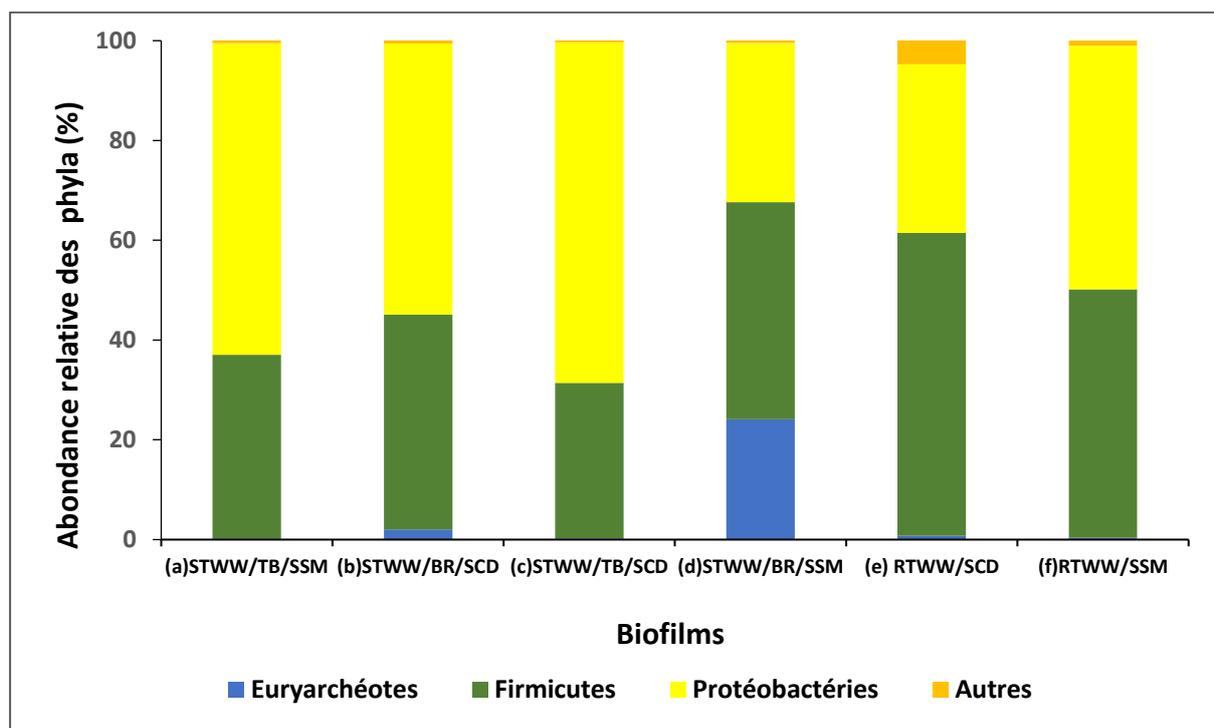


Figure 10 : Abondances relatives des populations bactériennes au niveau taxonomique du phylum dans les biofilms formés sur des électrodes en feutre de carbone polarisé à -0,1 V vs. ECS.

Au niveau du phylum, les biofilms étaient principalement colonisés par deux phyla : les Protéobactéries et les Firmicutes. Les Protéobactéries étaient enrichies dans l'ordre d'abondance suivant : c (68 %) > a (62 %) > b (54 %) > f (48 %) > e (33 %) > d (31 %). Cependant, les Firmicutes étaient enrichies dans un ordre d'abondance différent : e (60%) > f (50 %) > d (43 %) = b (43 %) > a (36 %) > c (31 %). En effet, les bactéries appartenant à ces deux phyla sont très ubiquitaires et connus par leurs capacités de se développer dans divers milieux tels que les milieux salins et hypersalins. Des études antérieures (Abdallah et al., 2016 ; Ben Abdallah et al., 2018) ont démontré que la communauté bactérienne dans le SCD était dominée essentiellement par les Protéobactéries et les Firmicutes, suivies par d'autres phyla mineurs tels que les Bacteroidetes, les Cyanobactéries et les Actinobactéries. Askri et al. (2020) ont aussi utilisé le SCD pour traiter des eaux usées textiles dans un SBE utilisé le même inoculum dans

un SBE conçu pour le traitement des eaux usées textiles. Ils ont mis en évidence l'abondance de ces deux phyla dans les différentes matrices étudiées (inoculum, eaux usées et biofilm). Il a déjà été démontré dans la littérature que les bactéries appartenant à ces deux phyla sont bien connus pour leur capacité à dégrader une grande variété de polluants, en particulier les pesticides, les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les métaux lourds (Mahjoubi et al., 2013 ; de Lima Silva et al., 2018 ; Li et al., 2020).

Le phylum des Euryarchéotes était présent au niveau des bioanodes formées dans les eaux usées synthétiques contenant le BR avec des pourcentages d'abondance de 24 % et 2 % pour d (STWW/BR/SSM) et b (STWW/BR/SSD), respectivement. Il a été déjà décrit que ce phylum regroupe des halophiles connus pour leurs capacités à survivre et à se développer dans des environnements très salins. Certaines espèces appartenant à ce phylum sont spécialement adaptés pour vivre dans des conditions extrêmement salines ($[NaCl] > 35 \text{ g/L}$), comme celles des lacs salés, des marais salants ou même des environnements sous-marins riches en sel (Casamayor et al., 2013).

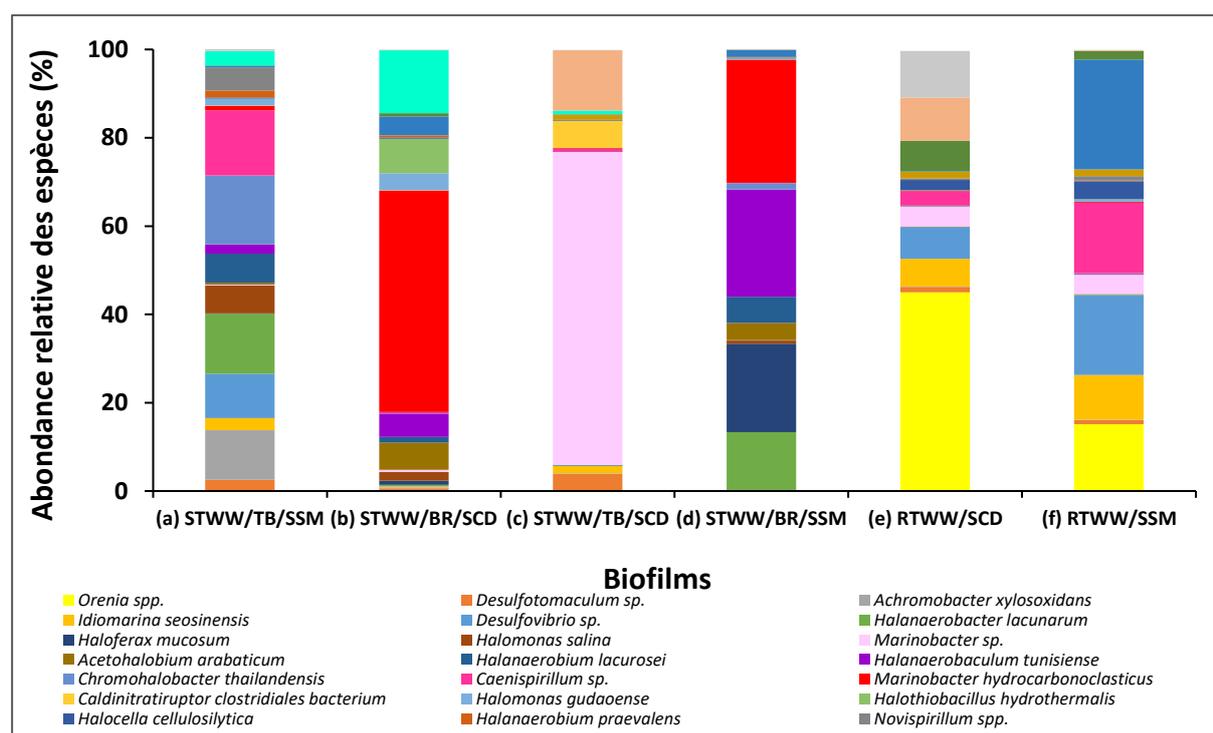


Figure 11 : Abondances relatives des populations bactériennes au niveau taxonomique de l'espèce dans les biofilms formés sur des électrodes en feutre de carbone polarisé à -0,1 V vs. ECS.

Au niveau des espèces, le biofilm formé dans les eaux usées synthétiques contenant le BR inoculé avec SSM (STWW/BR/SSM) a été colonisée par *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* (27 %), *Halanaerobaculum tunisiense* (24 %), *Haloferax mucosum* (20 %), *Halanaerobacter*

lacunarum (13 %), *Halanaerobium lacurosei* (6 %), *Acetohalobium arabaticum* (4 %) et *Orenia marismortui* (2 %). L'électrode formée dans les eaux usées synthétiques contenant le TB traité avec le même sédiment (STWW/TB/SSM) a été principalement colonisée par *Chromohalobacter thailandensis* (16 %), *Halanaerobacter lacunarum* (14 %), *Achromobacter xylosoxidans* (11 %), *Desulfovibrio sp* (10 %), *Halanaerobium lacurosei* (7 %), *Azospirillum oryzae* (6 %), *Novispirillum spp*, (5 %), *Desulfotomaculum sp* (3%), *Orenia salina* (3 %), *Halanaerobaculum tunisiense* (2 %) et *Caenispirillum sp*, (1 %).

Cependant, le biofilm formé dans les eaux usées synthétiques contenant le TB inoculées avec le SCD (STWW/TB/SCD) a été colonisée essentiellement par les espèces *Marinobacter sp* (71 %), *Clostridium sp* (14 %), *Caldinitratiruptor clostridiales* (5 %) et *Desulfotolaculum sp* (4 %). Dans le cas des eaux usées synthétiques contenant des BR traitées avec le même sédiment (STWW/BR/SCD), l'électrode était principalement colonisée par *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* (50 %), *Orenia salina* (14 %), *Sporohalobacter sp*, (12 %), *Acetohalobium arabaticum* (6 %), *Halothiobacillus hydrothermalis* (5 %) et *Halanaerobaculum tunisiense* (4 %).

Ces résultats ont clairement révélé une importante biodiversité dans la communauté microbienne qui a colonisé les différentes électrodes. Il est important de rappeler que les eaux usées traitées avec le SCD ont montré les taux de dégradation et les densités de courant électrique les plus élevés. Ceci pourrait être attribué à la communauté microbienne hébergé par ce sédiment, qui a été principalement colonisé par le genre *Marinobacter*. Ce genre a été décrit comme extrêmement halotolérant avec un grand potentiel dans la bioremédiation des sols contaminés par des hydrocarbures pétroliers (Fathepur et al., 2014).

Il a déjà été démontré que *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* dégrade une large gamme d'alcane (Klein et al., 2008) et d'hydrocarbures (Cui et al., 2016 ; Fathepur et al., 2014 ; Mounier et al., 2016). Par ailleurs, l'électroactivité de cette bactérie est de plus en plus avérée. Elle a été décrite comme une espèce majeure dans un biofilm halothermotolérant conçu par Askri et al. (2019), ce biofilm était capable de produire une densité de courant de l'ordre de 7 A/m².

Dans le même sens, Rousseau et al. (2016) ont formé quatre électrodes à quatre potentiels différents -0,4, -0,2, 0,0 et 0,2 V vs. ECS. En effet, les électrodes formées à -0,4 V vs. ECS étaient largement dominées par *Marinobacter spp* (présente fortement dans le SCD). Le voltammogramme a montré qu'ils fournissaient des courants plus élevés que les autres biofilms

formés dans la gamme des faibles potentiels ce qui suggère que le genre *Marinobacter* est probablement un genre bactérien prometteur pour la conception de bioanodes halotolérantes. Néanmoins, l'isolement et les tests électrochimiques des isolats restent nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

En ce qui concerne les expériences réalisées avec des eaux usées réelles et le SCD comme source d'inoculum, l'électrode a été essentiellement colonisée par *Orenia spp* (45 %), *Caenispirillum bisanense* (11 %), *Clostridium sp* (10 %), *Desulfovibrio sp* (7 %), *Caenispirillum sp* (3 %), *Idiomarina seosinensis* (6 %) et *Marinobacter sp* (5%). Tandis que pour les eaux usées réelles traitées avec SSM, l'électrode a été colonisée par *Orenia marismortui* (25 %), *Desulfovibrio sp* (18 %), *Caenispirillum sp* (16 %), *Orenia spp* (15 %), *Idiomarina seonensis* (10 %), *Marinobacter sp* (4 %) et *Halocella cellulosityca* (4 %). En comparant avec la diversité bactérienne des communautés détectées dans les biofilms formés dans les eaux usées synthétiques, nous remarquons que les espèces appartenant aux genres *Orenia*, *Idiomarina* et *Desulfovibrio* sont seulement présentes dans les biofilms formés dans les eaux usées réelles. D'après la littérature, ces bactéries sont considérées comme des bactéries sulfato-réductrices, et ont été largement utilisées pour la remédiation des sols contaminés.

D'après la littérature, la présence des bactérie sulfato-réductrices dans les biofilms EA est de plus en plus avérée. Le genre *Thiothrix* a été identifié comme le genre majoritaire présent à 41 % dans les biofilms formés dans des eaux usées synthétiques inoculées avec des boues activées (Chang et al., 2020). Ce genre était présent également à 50 % dans des biofilms formés dans des eaux usées domestiques (Hoareau et al., 2021). L'étude de Martinez Ostormojof et al. (2023), qui a étudié l'évolution de la composition de la communauté bactérienne au cours des différentes étapes de la formation du biofilm, a montré une dominance du genre *Desulfuromonas* lors de l'étape finale, avec un taux de 70 %. En outre, les bactéries appartenant au genre *Desulfovibrio* sont bien connues pour leur potentiel à traiter efficacement les colorants azoïques (Yoo et al., 2001 ; Diniz et al., 2002). Il est également intéressant de noter que *Desulfovibrio* possède une abondance de cytochromes c liés à la membrane qui sont impliqués dans le transfert direct d'électrons extracellulaires (Miran et al., 2018). En effet, les *Desulfovibrio* sont connus pour avoir une grande diversité de cytochromes c (cytochrome c-553, cytochrome c3). Ces protéines sont des hémoprotéines qui contiennent un groupe hème et qui sont capables de transférer des électrons. Les cytochromes c des *Desulfovibrio* sont spécifiquement adaptés pour participer aux voies métaboliques anaérobies de ces bactéries, en particulier dans les réactions de réduction du sulfate. Les gènes qui codent pour les cytochromes

Sélection des biofilms anodiques pour traiter des eaux usées textiles synthétiques et réelles

c des *Desulfovibrio* sont régulés en fonction des conditions environnementales, notamment la disponibilité des substrats énergétiques.

Conclusion du chapitre et perspectives

Dans ce chapitre, deux milieux synthétiques et réels ont été traités en utilisant deux sources d'inoculum (SCD et SSM) pour l'étude de la décoloration du TB et BR et la production simultanée de courant. Les taux de décoloration et les densités de courant les plus élevés ont été observés dans les SBEs inoculé avec le SCD comme source d'inoculum. Avec le TB, un taux de décoloration de 84 % couplé avec la génération d'une densité de courant de 12 A/m² ont été enregistrés. Cependant, avec le BR, un taux de décoloration de 99 % a été observé simultanément avec la génération d'une densité de courant de l'ordre de 3,6 A/m².

En ce qui concerne la concentration initiale du colorant, Il a été prouvé que le taux de décoloration a baissé de 84 à 69 % et de 99 à 55 % lorsque les concentrations de TB et BR ont été augmentées de 0,3 à 1,0 g/L dans les eaux usées synthétiques. Cependant, avec 1,0 g/L de colorant, la quantité de colorant perdue au cours du processus de traitement bioélectrochimique était supérieure à celle observée avec 0,3 g/L (0,55 g/L contre 0,29 g/L pour BR et 0,69 g/L contre 0,25 g/L pour TB).

La comparaison des inocula a également été étudiée avec des eaux usées réelles. En effet, des densités de courants de 2,5 A/m² et 0,8 A/m² avec des taux d'abattement de la DCO de 85 % et 46 % ont été respectivement obtenus avec SCD et SSM. Ces résultats suggèrent donc que la communauté microbienne hébergée par SCD semble être plus électroactive comparée à celle hébergée par SSM ou naturellement plus adaptée aux conditions des eaux usées, ce qui pourrait plutôt être interprété comme de l'adaptation. En d'autres termes, il est possible qu'il s'agisse d'une adaptation sélective opportuniste favorisant des caractères qui se révèlent utiles pour une nouvelle fonction, bien qu'ils n'aient pas été initialement sélectionnés dans ce but. L'analyse de la communauté bactérienne a révélé que les électrodes formées avec le SCD comme source d'inoculum ont été majoritairement colonisées par le genre *Marinobacter*. Ce genre a été décrit comme extrêmement halotolérant, certains membres de ce genre ont montré des capacités de bioremédiation et de transfert extracellulaire des électrons. Il s'agit donc d'un genre bactérien prometteur pour la conception de bioanodes halotolérantes.

Contrairement aux eaux usées textiles synthétiques, le traitement des eaux usées réelles ne nécessite pas forcément l'ajout d'un co-substrat pour déclencher la réaction de co-métabolisme. Ces eaux usées sont naturellement chargées avec des concentrations élevées de glucides qui peuvent jouer le rôle de donneur d'électrons dans le SBE. Il est donc possible d'exploiter les composés organiques naturellement présents dans les eaux usées pour alimenter les processus

bioélectrochimique, sans avoir besoin d'ajouter des co-substrats externes, permettant ainsi de réduire considérablement les coûts et la complexité du traitement des eaux usées.

Des taux de décoloration plus élevés ont été obtenus dans les SBE contenant une électrode polarisée. En effet, les bactéries électroactives ayant une capacité élevée de transfert d'électrons sont des réducteurs efficaces des colorants azoïques grâce aux cytochromes C extracellulaires (OmcB, OmcC et OmcE). Ces protéines cytochromes ont été identifiées comme des protéines de réduction extracellulaire des colorants.

Quelques perspectives sont donc envisageables à l'issue des travaux présentés dans ce chapitre. L'étude de l'influence de l'inoculum, le co-substrat, et la concentration initiale du colorant a permis de déterminer des conditions opératoires pour le fonctionnement du SBE alimenté avec des eaux usées textiles. Néanmoins, d'autres paramètres qui entrent en jeu dans la performance des SBE peuvent être également étudiés, notamment la nature du matériau de l'anode, sa surface mise en jeu, le potentiel appliqué à l'électrode de travail et la concentration initiale du co-substrat. En se basant sur des études bibliographiques antérieures, l'optimisation de ces paramètres peut avoir un impact significatif sur la performance des SBE.

L'étude du matériau de l'électrode et sa surface revêt une importance fondamentale dans un SBE. Le matériau doit avoir une bonne conductivité électrique pour assurer un transfert efficace des électrons entre les microorganismes et l'électrode. Il doit être biologiquement compatible, favorisant ainsi une interaction efficace entre le matériau et les microorganismes. Enfin, il doit avoir une surface d'interaction avec les microorganismes qui permet d'augmenter la réactivité et l'efficacité des réactions bioélectrochimiques.

Le potentiel appliqué à l'électrode est aussi un paramètre déterminant car il influence la vitesse à laquelle les réactions bioélectrochimiques se produisent. Le potentiel appliqué peut être également utilisé pour influencer la sélection des microorganismes sur un matériau donné. Une concentration appropriée du co-substrat est importante pour assurer un traitement efficace et économique. En effet, si la concentration est trop faible ou insuffisante, cela peut limiter la disponibilité en électrons et ralentir la réaction de réduction des colorants azoïques. L'ajustement d'une concentration appropriée de co-substrat favorise une croissance optimale des microorganismes.

Chapitre IV

Optimisation des performances des biofilms anodiques pour traiter des eaux usées textiles synthétiques

Introduction

Le travail présenté dans le chapitre précédent consistait principalement à sélectionner des sources d'inoculum halothermophiles capables de former des biofilms EA dans les eaux usées textiles synthétiques et réelles. L'utilisation du sédiment de Chott el Djérid (SCD) comme source d'inoculum a permis d'obtenir les densités de courant électrique les plus élevées et les taux d'élimination (décoloration et abattement de la DCO) les plus importants, avec un milieu synthétique contenant deux colorants azoïques différents. La confirmation de l'efficacité de cette source d'inoculum a été validée avec des eaux usées réelles. Une densité de courant de 2,5 A/m² a été obtenue avec un taux d'élimination de la DCO d'environ 85 % et un taux de décoloration de l'ordre de 88 % et 84 % respectivement pour TB et BR. L'analyse de la communauté bactérienne qui a colonisé les matériaux anodiques a révélé la présence d'une communauté halotolérante capable de survivre dans les conditions de stress salin des eaux usées textiles. Les électrodes formées avec le SCD comme source d'inoculum ont été majoritairement colonisées par le genre *Marinobacter*, présent à hauteur de 71 % et 50 % dans les eaux usées synthétiques contenant respectivement du TB et du BR.

La performance des bactéries EA dans le traitement des eaux usées textiles chargées avec des colorants azoïques dans un SBE dépend de plusieurs paramètres (matériaux des électrodes, surfaces des électrodes, co-substrat, potentiel imposé à l'électrode de travail) souvent complexes dont la contribution individuelle de chaque paramètre est difficilement évaluable. En effet, de nombreuses interactions entre les différents paramètres du SBE interviennent dans les performances finales, résultant en des interprétations souvent supposées et non précises.

L'objectif principal de ce quatrième chapitre est alors de comprendre les effets synchroniques de quatre paramètres qui affectent directement les performances d'un SBE utilisé pour le traitement des eaux usées textiles synthétiques et la production de l'électricité. Les paramètres qui ont été étudiés sont : le matériau anodique, sa quantité de surface, la concentration du co-substrat et le potentiel appliqué à l'électrode de travail. Les performances du SBE ont été évaluées en termes de production de courant, de décoloration des colorants et d'abattement de la DCO. Pour cela, nous avons utilisé l'inoculum qui nous a donné le potentiel de dégradation le plus élevé et la densité de courant la plus importante dans le chapitre III, à savoir le sédiment SCD.

Le deuxième objectif est d'établir une étude comparative de la diversité des communautés bactériennes présentes au niveau des trois matrices du SBE, notamment l'inoculum initial, le

milieu réactionnel (électrolyte) et le biofilm anodique. Cette étude a été réalisée afin d'identifier les espèces clés jouant un rôle prépondérant dans le SBE.

1. Approche expérimentale

L'ensemble des expériences a été réalisé avec les mêmes dispositifs expérimentaux que ceux déjà utilisés dans le chapitre précédent. Pour rappel, les biofilms EA ont été formés dans des SBE de 750 ml. Chaque SBE a été inoculé avec 20 % de SCD 80 % des eaux usées synthétiques contenant une concentration finale de 0,3 g/L des trois colorants azoïques largement appliqués dans le secteur de la teinture des jeans, Noir direct 22 ($C_{44}H_{32}N_{13}Na_3O_{11}S_3$), Bleu direct 71 ($C_{40}H_{23}N_7Na_4O_{13}S_4$) et Sirius Light Gris CG-LL ($C_{44}H_{24}Cu_2N_8Na_4O_{17}S_4$). La salinité était de 15 g/L. La température a été maintenue constante à 45 °C.

Afin d'étudier l'impact synchronique du matériau de l'anode (Θ_1), de la surface de l'anode (Θ_2), de la concentration du co-substrat (Θ_3) et du potentiel appliqué (Θ_4) sur les performances du SBE, la production de courant (ψ_1), le taux de décoloration (ψ_2) et le taux d'abattement de la DCO (ψ_3) ont été évalués expérimentalement, en utilisant un plan d'expérience de type Box-Behnken généré par le logiciel NemrodW (Mathieu et al., 2000).

Ce plan comprend quatre variables Θ_1 , Θ_2 , Θ_3 et Θ_4 , chacune à trois niveaux (-1, 0, +1). Dans ces conditions le logiciel génère 27 expériences (R1 à R27). Les limites sélectionnées des variables pour le plan Box-Behnken (Tableau 1) sont basées sur des tests expérimentaux préliminaires effectués avec le SCD ainsi que sur les résultats d'études antérieures (Rousseau et al., 2016 ; Askri et al., 2019).

Tableau 1 : Domaine expérimental du plan Box-Behnken.

Variables	-1	0	1
Matériau anodique (Θ_1)	Tissu de carbone	Feutre de carbone	Acier inoxydable
Surface anodique (Θ_2) (cm ²)	6	30	100
Concentration de glucose (Θ_3) (g/L)	5	0	10
Potentiel appliqué (Θ_4) (V vs. ECS)	- 0,3	- 0,1	+ 0,2

Un modèle de second ordre est généré par l'outil statistique ANOVA permettant de trouver une approximation appropriée pour la relation fonctionnelle entre Θ_1 , Θ_2 , Θ_3 et Θ_4 et la surface de réponse ψ (ψ_1 , ψ_2 , ψ_3) et définie par l'équation suivante (1).

$$\psi(\psi_1, \psi_2, \psi_3) = \beta_0 + \sum_{i=1}^K \beta_i \theta_i + \sum_{i=1}^K \beta_{ii} \theta_{ii}^2 + \sum_{i=1}^{K-1} \sum_{j=i+1}^K \beta_{ij} \theta_i \theta_j + \varepsilon \quad (\text{Eq 1})$$

Afin d'assurer la répétabilité et d'estimer la variance de l'erreur pure, les expériences réalisées avec les paramètres correspondant au point central (0, 0, 0) ont été répétées trois fois (R25, R26, R27).

Après avoir acquis les données pour chaque point expérimental (densité de courant, taux de décoloration et abattement de la DCO), l'équation mathématique (Eq 1) a été ajustée décrivant le comportement de la réponse en fonction des niveaux des valeurs étudiées. Un modèle de régression contenant 15 coefficients, dont les effets linéaire et quadratique sur les variables et l'effet linéaire sur les interactions, a été généré par le logiciel NemrodW à partir de l'Eq 1. Cette deuxième équation est nommée Eq 2.

$$\Psi(\Psi_1, \Psi_2, \Psi_3) = \beta_0 + \beta_1\Theta_1 + \beta_2\Theta_2 + \beta_3\Theta_3 + \beta_4\Theta_4 + \beta_{11}\Theta_{12} + \beta_{22}\Theta_{22} + \beta_{33}\Theta_{32} + \beta_{44}\Theta_{42} + \beta_{12}\Theta_1\Theta_2 + \beta_{13}\Theta_1\Theta_3 + \beta_{23}\Theta_2\Theta_3 + \beta_{14}\Theta_1\Theta_4 + \beta_{24}\Theta_2\Theta_4 + \beta_{34}\Theta_3\Theta_4 \quad (\text{Eq 2})$$

Où $\Psi(\Psi_1, \Psi_2, \Psi_3)$ sont les réponses données ; β_0 est la constante du modèle ; $\Theta_1, \Theta_2, \Theta_3$ et Θ_4 sont les variables indépendantes ; $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ et β_4 sont les coefficients linéaires ; $\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}, \beta_{14}, \beta_{24}$ et β_{34} sont les coefficients de produit croisé, et $\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}$ et β_{44} sont les coefficients quadratiques pour chaque réponse Ψ_1, Ψ_2 et Ψ_3 .

2. Synthèse de l'article 2 et résultats complémentaires

Dans cette section, nous abordons de manière détaillée les résultats de l'article 2 intitulé « *Joint Multi-Optimization of an Extremophilic Microbial Bioanode for Mitigation of Mixed Hazardous Azo Dyes in Textile Synthetic Wastewater* » publié en Aout 2023 dans le journal "Fermentation MDPI" (9(9), 782 ; <https://doi.org/10.3390/fermentation9090782>) avec quelques résultats supplémentaires.

2.1. Analyses des effets synchroniques du matériau, de la surface de l'anode, de la concentration de glucose et du potentiel appliqué à l'électrode de travail sur la production du courant, le taux de décoloration et l'abattement de la DCO

Une étude d'optimisation des effets synchroniques du matériau, de la surface de l'anode, de la concentration de glucose et du potentiel appliqué à l'électrode de travail sur la production de courant, le taux de décoloration et l'abattement de la DCO a été réalisée.

Après avoir acquis les données relatives à chaque point expérimental, les équations mathématiques décrivant le comportement de chaque réponse (ψ_1, ψ_2 , et ψ_3) ont été ajustées en fonction des niveaux des valeurs étudiées des différentes variables ($\Theta_1, \Theta_2, \Theta_3$ et Θ_4). Trois

modèles de régression avec 15 coefficients pour chacun, incluant l'effet linéaire et quadratique sur les variables déterminées par le logiciel sont les suivants :

Ψ1 (production de courant) A/m² = 1,1139 - 0,685 (matériau de l'anode) - 0,602 (surface de l'anode) + 1,064 (concentration de glucose) + 0,608 (potentiel appliqué) - 0,289 (matériau de l'anode) (matériau de l'anode) + 1,066 (surface de l'anode) (surface de l'anode) - 0,659 (concentration de glucose) (concentration de glucose) - 0,109 (potentiel appliqué) (potentiel appliqué) + 0,272 (matériau de l'anode) (surface) - 0,719 (matériau de l'anode) (concentration de glucose) - 0,427 (surface de l'anode) (concentration de glucose) + 0,044 (matériau de l'anode) (potentiel appliqué) - 0,473 (surface de l'anode) (potentiel appliqué) + 0,216 (concentration de glucose) (potentiel appliqué) (Eq 3)

Ψ2 (décoloration du colorant) % = 88,222 - 2,833 (matériau de l'anode) - 0,556 (surface de l'anode) + 26,778 (concentration de glucose) + 1,222 (potentiel appliqué) - 5,833 (matériau de l'anode) (matériau de l'anode) + 1,667 (surface de l'anode) (surface de l'anode) - 28,333 (concentration de glucose) (concentration de glucose) - 0,667 (potentiel appliqué) (potentiel appliqué). 667 (potentiel appliqué) (potentiel appliqué) + 0,938 (matériau de l'anode) (surface de l'anode) - 2,938 (matériau de l'anode) (concentration de glucose) + 0,188 (surface de l'anode) (concentration de glucose) + 0,438 (matériau de l'anode) (potentiel appliqué) - 2,438 (surface de l'anode) (potentiel appliqué) + 0,438 (concentration de glucose) (potentiel appliqué) (Eq 4).

Ψ3 (abattement de la DCO) % = 7,321 - 3 (matériau de l'anode) - 2,333 (surface de l'anode) + 8,333 (concentration de glucose) - 3,333 (potentiel appliqué) - 6,815 (matériau de l'anode) (matériau de l'anode) + 6,185 (surface de l'anode) (surface de l'anode) - 6,815 (concentration de glucose) (concentration de glucose) - 12,815 (potentiel appliqué) (potentiel appliqué) + 2,438 (matériau de l'anode) (surface de l'anode) - 4,188 (matériau de l'anode) (concentration de glucose) - 1,188 (surface de l'anode) (concentration de glucose) - 0,188 (matériau de l'anode) (potentiel appliqué) - 5,688 (surface de l'anode) (potentiel appliqué) - 1,563 (concentration de glucose) (potentiel appliqué) (Eq 5)

Tableau 2 : Plan statistique pour les variables codées et les réponses expérimentales et prédites correspondantes.

Réacteur	Variables codées				Variables naturelles				Réponses (ψ)					
	Θ_1	Θ_2	Θ_3	Θ_4	Matériau anodique	Surface anodique (cm ²)	[Glucose] (g/L)	Potentiel (V vs. ECS)	Ψ_1 Exp (A/m ²)	Ψ_1 Pred (A/m ²)	Ψ_2 Exp (%)	Ψ_2 Pred (%)	Ψ_3 Exp (%)	Ψ_3 Pred (%)
R1	-1	-1	-1	-1	FC	6	0	-0,3	0,00	-0,02	29,00	25,02	30,00	28,40
R2	1	-1	-1	-1	AI	6	0	-0,3	0,00	-0,59	28,00	22,89	27,00	25,86
R3	-1	1	-1	-1	FC	100	0	-0,3	0,00	0,23	20,00	29,23	29,00	29,92
R4	1	1	-1	-1	AI	100	0	-0,3	0,00	0,75	25,00	36,85	27,00	31,13
R5	-1	-1	1	-1	FC	6	10	-0,3	3,30	3,97	72,00	75,56	90,00	86,58
R6	1	-1	1	-1	AI	6	10	-0,3	0,23	0,53	42,00	56,69	64,00	72,29
R7	-1	1	1	-1	FC	100	10	-0,3	3,50	2,51	80,00	75,02	89,00	88,85
R8	1	1	1	-1	AI	100	10	-0,3	0,42	0,17	75,00	65,89	82,00	78,31
R9	-1	-1	-1	1	FC	6	0	+0,2	0,02	0,82	25,00	33,23	33,00	33,97
R10	1	-1	-1	1	AI	6	0	+0,2	0,02	0,43	26,00	30,35	31,00	33,18
R11	-1	1	-1	1	FC	100	0	+0,2	0,05	-0,82	30,00	14,69	32,00	25,74
R12	1	1	-1	1	AI	100	0	+0,2	0,01	-0,12	26,00	21,56	28,00	28,69
R13	-1	-1	1	1	FC	6	10	+0,2	7,00	5,67	90,00	77,52	96,00	93,91
R14	1	-1	1	1	AI	6	10	+0,2	2,10	2,41	68,00	57,89	85,00	81,36
R15	-1	1	1	1	FC	100	10	+0,2	1,20	2,32	50,00	54,23	88,00	86,42
R16	1	1	1	1	AI	100	10	+0,2	0,70	0,15	41,00	44,35	74,00	77,63
R17	-1	0	0	0	FC	30	5	-0,1	1,14	1,54	56,00	67,51	72,00	85,22
R18	1	0	0	0	AI	30	5	-0,1	0,40	0,16	67,00	61,51	90,00	79,57
R19	0	-1	0	0	TC	6	5	-0,1	3,25	2,71	89,00	89,84	90,00	90,44
R20	0	1	0	0	TC	30	5	-0,1	1,00	1,70	80,00	85,17	87,00	89,33
R21	0	0	-1	0	TC	30	0	-0,1	0,00	-0,58	35,00	30,17	33,00	33,11
R22	0	0	1	0	TC	30	10	-0,1	0,80	1,54	56,00	66,84	84,00	86,67
R23	0	0	0	-1	TC	30	5	-0,3	0,90	0,82	78,00	61,84	91,00	87,67
R24	0	0	0	1	TC	30	5	+0,2	1,00	1,24	33,00	55,17	84,00	90,11
R25	0	0	0	0	TC	30	5	-0,1	1,00	1,14	75,00	71,32	89,00	88,22
R26	0	0	0	0	TC	30	5	-0,1	1,50	1,14	76,00	71,32	92,00	88,22
R27	0	0	0	0	TC	30	5	-0,1	1,40	1,14	81,00	71,32	92,00	88,22

Exp : expérimentale, Pred : prédit, FC : feutre de carbone, AI : acier inoxydable, TC : tissu de carbone

Les modèles exprimés par les équations 3, 4 et 5 sont considérés comme adéquats si les variances dues au manque d'ajustement ne sont pas significativement différentes des variances d'erreur pure (Askri et al., 2019). L'analyse de la variance pour les trois modèles a montré que la somme des carrés de la régression du modèle est statistiquement significative aux niveaux de 99,0 % pour Ψ_1 et Ψ_3 et de 99,9 % pour Ψ_2 . Nous pouvons donc conclure que les trois modèles sont bien corrélés avec les données mesurées.

L'intégrité du modèle peut également être testée par le coefficient de détermination R^2 qui mesure la proportion de variation déterminée par le modèle par rapport à la moyenne. Les valeurs R^2 obtenues de 0,901, 0,971 et 0,895 pour la production de courant, le taux de décoloration et l'abattement de la DCO, respectivement, indiquent une bonne relation entre les valeurs expérimentales et prédites. En outre, les modèles ont pu expliquer plus de 89,5 % de la variabilité des réponses.

Le tableau 2 indique une absence de production de courant électrique dans les expériences réalisées sans co-substrat (R1, R2, R3, R4, R9, R10, R11, R12 et R21), indépendamment de la surface de l'anode, du matériau ou du potentiel appliqué. De la même manière, nous avons obtenu des taux de décoloration très faibles d'environ 30 % et des taux d'abattement de la DCO compris entre 27 et 33 %. Toutefois, l'ajout d'une concentration de co-substrat a permis d'enregistrer des densités de courant allant de 0,2 à 7,0 A/m², des taux de décoloration de 33 à 90 % et des taux d'abattement de la DCO de 64 à 96 %. Les résultats concernant la production de courant, la décoloration et l'abattement de la DCO sont hétérogènes. Lorsque le feutre de carbone (6 cm²) polarisé à +0,2 V vs. ECS a été utilisé comme matériau d'électrode (R13), une densité de courant de 7,0 A/m², un taux de décoloration de 90 % et un abattement de la DCO de 96 % ont été obtenus, respectivement. Néanmoins, pour R5, une densité de courant de 3,3 A/m², un taux de décoloration de 72 % et un taux d'abattement de la DCO de 90 % ont été enregistrés lorsque le feutre de carbone (6 cm²) polarisé à -0,3 V vs. ECS a été utilisé comme matériau anodique. Ces résultats montrent qu'il est très important de comprendre comment ces variables interagissent entre elles, puis d'établir les effets synchroniques des différentes variables sur la production de courant, le taux de décoloration et l'abattement de la DCO. NemrodW est un outil efficace pour analyser ces interactions en utilisant deux approches différentes : i) calculer les coefficients de l'équation 2 pour Ψ_1 , Ψ_2 et Ψ_3 en tant que réponses à des valeurs P seuils, et ii) tracer les courbes de surface de réponse (2D et 3D) en fonction de deux variables indépendantes significatives tout en maintenant les deux autres variables constantes au niveau du centre.

2.1.1. Effets synchroniques du matériau et de la surface de l'anode, de la concentration en glucose et du potentiel appliqué sur la production de courant

D'après le tableau 3, le terme linéaire β_3 a eu les effets les plus importants sur la production de courant ($P < 0,0001$), suivi des coefficients des termes linéaires β_1 , β_2 , et β_4 , et du terme d'interaction β_{23} avec un effet significatif ($P < 0,01$), et enfin des coefficients des termes quadratiques (β_{22} et β_{33}), et des termes d'interactions (β_{23} et β_{24}) avec un effet significatif ($P < 0,05$). Les termes d'interactions β_{12} , β_{14} , et β_{34} ainsi que les termes quadratiques β_{11} , β_{44} n'étaient pas significatifs.

Tableau 3 : Valeurs P des variables étudiées et de leurs termes quadratiques et d'interaction pour l'équation 3.

Nom	Coefficient	F.Inflation	Écart-type	t.exp.	Valeurs P
β_0	1,139		0,332	3,43	< 0,01**
β_1	-0,685	1,00	0,212	-3,23	< 0,01**
β_2	-0,602	1,00	0,212	-2,36	< 0,01**
β_3	1,064	1,00	0,212	5,01	< 0,0001***
β_4	0,608	1,00	0,212	0,98	< 0,01 **
β_{11}	-0,289	2,33	0,562	-0,51	=0,62 NS
β_{22}	1,066	2,33	0,562	1,90	< 0,05 *
β_{33}	-0,659	2,33	0,562	-1,17	< 0,05 *
β_{44}	-0,109	2,33	0,562	-0,19	=0,84NS
β_{12}	0,272	1,00	0,225	1,21	=0,25NS
β_{13}	-0,719	1,00	0,225	-3,19	<0,01**
β_{23}	-0,427	1,00	0,225	-1,90	< 0,05 *
β_{14}	0,044	1,00	0,225	0,20	=0,84 NS
β_{24}	-0,473	1,00	0,225	-2,10	< 0,05 *
β_{34}	0,216	1,00	0,225	0,96	=0,35NS

NS : non-significative, ***Significative au niveau de 99,9%, ** Significative au niveau de 99,0%, * Significative au niveau de 95,0%.

En ce qui concerne les effets des différentes interactions, il a été déterminé que l'interaction matériau anodique/concentration de glucose avait un impact important sur la production de courant dans le modèle, suivie des interactions surface anodique/concentration de glucose et surface anodique/potentiel appliqué.

Le tracé des courbes d'isoréponses 2D et 3D a permis d'analyser les impacts du matériau de l'anode, de la surface de l'anode, de la concentration de glucose et du potentiel appliqué en combinaison sur la génération de courant par la bioanode. La figure 3 présente les surfaces de réponse et les courbes de niveau correspondantes pour la densité de courant générée. La forme géométrique des courbes d'isoréponses 2D renseigne sur la force de l'interaction entre les

variables étudiées. En effet, une courbe de contour ovale ou elliptique implique une interaction considérable entre les deux variables indépendantes comparées, tandis qu'une courbe de contour circulaire suggère une faible interaction (Chouchane et al., 2017 ; Askri et al., 2019).

Les figures 1.A et 1.B représentent les surfaces de réponses (2D) et les surfaces de réponse tridimensionnelle (3D) correspondants exprimant l'effet croisé de la concentration de glucose (Θ_3) et du matériau de l'anode (Θ_1) sur la densité du courant maximale lorsque la surface de l'anode (Θ_2) et le potentiel appliqué (Θ_4) sont maintenus constants au niveau du centre (30 cm^2 et $-0,2 \text{ V vs. ECS}$).

Il est à noter que quel que soit le matériau de l'anode, la production d'électricité reste extrêmement faible à de faibles concentrations de glucose, comme le montre le diagramme 2D. Pour les trois matériaux d'anode, les concentrations de glucose supérieures à 5 g/L ont donné lieu à des densités de courant les plus élevées. Cependant, à une concentration de glucose comprise entre 5 et 10 g/L , une surface de 30 cm^2 et un potentiel appliqué de $-0,1 \text{ V vs. ECS}$, les anodes en tissu de carbone ou en feutre de carbone permettent de générer les meilleures densités de courant, à savoir $1,8 \pm 0,6$ et $2,6 \pm 0,5 \text{ A/m}^2$, respectivement.

De même, les figures 1.C et 1.D décrivent les surfaces de réponse (2D) et les surfaces de réponse tridimensionnel (3D) correspondants exprimant l'effet croisé de la concentration de glucose (Θ_3) et de la surface de l'anode (Θ_2) sur la densité du courant maximale lorsque le matériau de l'anode (Θ_1) et le potentiel appliqué (Θ_4) sont maintenus constants au niveau du centre (feutre de carbone et $-0,1 \text{ V vs. ECS}$). Les figures 2.C et 2.D révèlent qu'une concentration de glucose inférieure à 5 g/L et une surface d'anode supérieure à 30 cm^2 ont diminué la production de courant par les bioanodes ($1,2 \pm 0,5 \text{ A/m}^2$). Cependant, la production de courant a augmenté à une concentration de glucose supérieure à 5 g/L et quand une surface anodique de 6 cm^2 a été utilisée ($3,5 \pm 0,2 \text{ A/m}^2$).

Les figures 1.E et 1.F montrent comment les interactions entre le matériau de l'anode et le potentiel appliqué influencent fortement la production de courant lorsque la concentration de glucose et la surface de l'anode sont maintenues constantes au niveau du centre. Des densités de courant différentes sont produites pour le même potentiel appliqué pour des anodes constituées de divers matériaux. Par exemple, l'utilisation de tissu de carbone polarisé à $-0,3 \text{ V vs. ECS}$ ou de feutre de carbone à $-0,1 \text{ V vs. ECS}$ a produit les mêmes densités de courant, $1,2 \pm 0,7$ et $1,2 \pm 0,3 \text{ A/m}^2$, respectivement. Par rapport aux anodes en feutre de carbone ou en tissu,

celles construites en acier inoxydable ont produit des densités très faibles (0,6 à 0,4 A/m²), quel que soit le potentiel appliqué.

Les conditions optimales pour une production maximale de courant ont été établies comme suit : le feutre de carbone comme matériau d'anode, 6 cm² comme surface d'anode, -0,1 V vs. ECS comme potentiel imposé et 5 g/L comme concentration de glucose. Dans ces conditions, le modèle de second ordre a prédit une production maximale de courant de $4,9 \pm 0,5$ A/m².

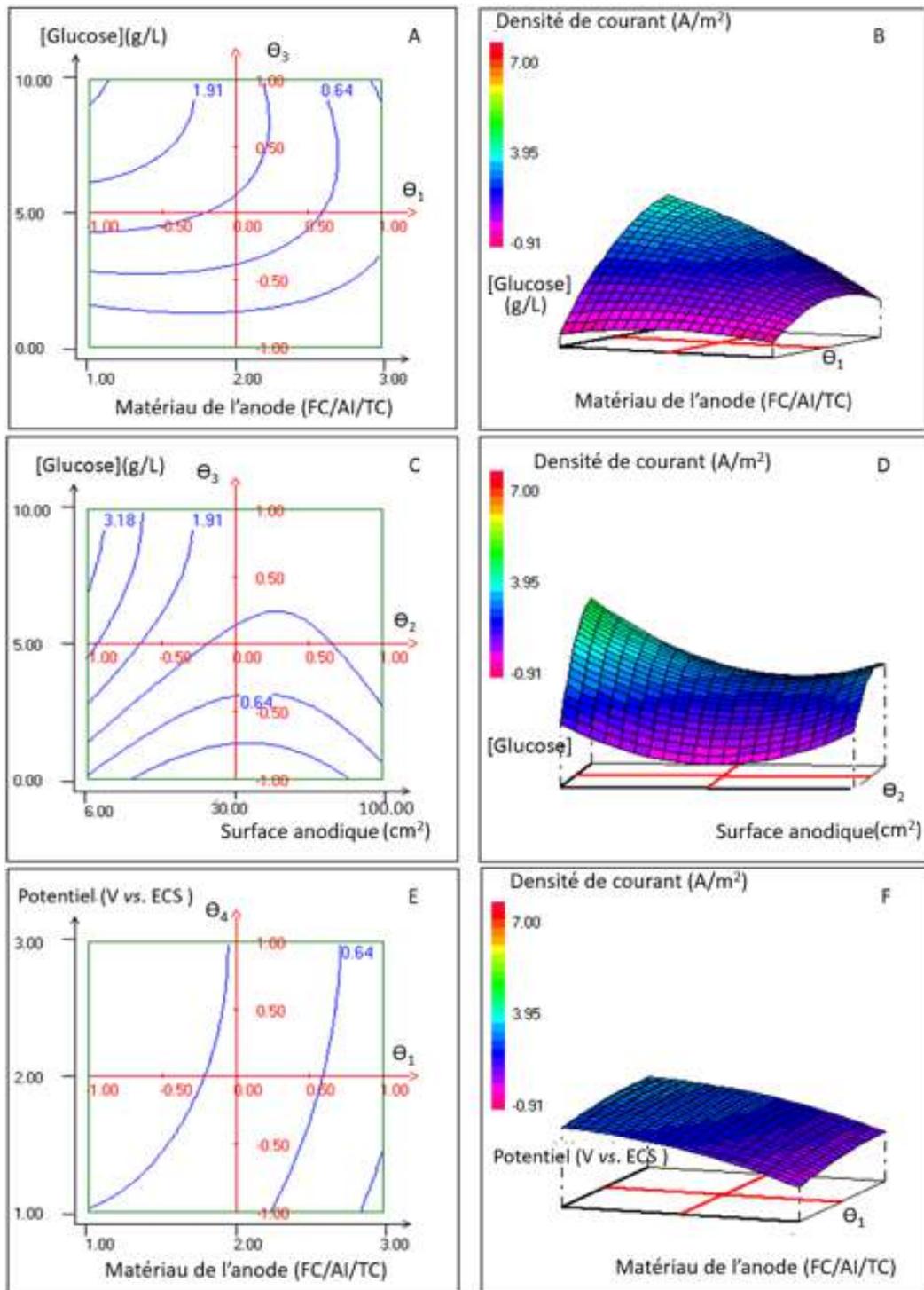


Figure 1 : Courbes d'isoréponses 2D et 3D de la production de courant A/m² en fonction des variables testées : concentration de glucose et matériau de l'anode [A et B] avec la surface de l'anode et le potentiel appliqué maintenus constants au niveau du centre ; concentration de glucose et surface de l'anode [C et D] avec le matériau de l'anode et le potentiel appliqué maintenus constants au niveau du centre ; potentiel appliqué et matériau de l'anode [E et F] avec la concentration de glucose et la surface de l'anode maintenus constants au niveau du centre.

2.1.2. Effets synchroniques du matériau de l'anode, de la surface de l'anode, de la concentration en glucose et du potentiel appliqué sur le taux de décoloration

D'après le tableau 4, le terme linéaire β_3 et le terme quadratique β_{33} ont eu les effets les plus significatifs sur le taux de décoloration ($P < 0,0001$), suivis par les coefficients du terme linéaire β_1 , et les termes d'interaction β_{13} et β_{24} avec un effet significatif ($P < 0,05$). Cependant, les termes linéaires β_2 et β_4 , les termes quadratiques β_{11} , β_{22} et β_{44} , les termes d'interaction β_{12} , β_{23} , β_{14} et β_{34} n'étaient pas significatifs. En ce qui concerne les effets des interactions des variables, il a été conclu que, dans le modèle ajusté (Eq 4), l'influence la plus importante sur le taux de décoloration était les interactions entre le matériau de l'anode et la concentration de glucose, et entre la surface de l'anode et le potentiel appliqué.

Tableau 4 : Valeurs P des variables étudiées et de leurs termes quadratiques et d'interaction pour l'équation 4.

Nom	Coefficient	F.Inflation	Écart-type	t.exp.	Valeurs P
β_0	88,222		2,537	34,77	< 0,0001***
β_1	-2,833	1,00	1,623	-1,75	< 0,05 *
β_2	-0,556	1,00	1,623	-0,34	= 0,7 NS
β_3	26,778	1,00	1,623	16,50	***
β_4	1,222	1,00	1,623	0,75	= 0,47 NS
β_{11}	-5,833	2,33	4,293	-1,36	= 0,19 NS
β_{22}	1,667	2,33	4,293	0,39	= 0,70 NS
β_{33}	-28,333	2,33	4,293	-6,60	< 0,0001 ***
β_{44}	0,667	2,33	4,293	0,16	= 0,87 NS
β_{12}	0,938	1,00	1,721	0,54	= 0,60 NS
β_{13}	-2,938	1,00	1,721	-1,71	< 0,05 *
β_{23}	0,188	1,00	1,721	0,11	= 0,91 NS
β_{14}	0,438	1,00	1,721	0,25	= 0,79 NS
β_{24}	-2,438	1,00	1,721	-1,42	< 0,05 *
β_{34}	0,438	1,00	1,721	0,25	= 0,79 NS

NS : non-significative, ***Significative au niveau de 99,9%, ** Significative au niveau de 99,0%, * Significative au niveau de 95,0%.

Pour le taux de décoloration, les figures 2.A et 2.B décrivent le tracé des courbes d'isoréponse 2D et 3D exprimant l'effet croisé de la concentration de glucose (Θ_3) et du matériau de l'anode (Θ_1) sur le taux de décoloration maximal lorsque la surface de l'anode (Θ_2) et le potentiel appliqué (Θ_4) sont maintenus constants au niveau du centre (30 cm^2 et $-0,1 \text{ V vs. ECS}$). Le tracé 2D montre que le taux de décoloration est encore très faible pour de faibles concentrations de glucose (Figure 3.A). Des concentrations de glucose inférieures à 2 g/L ont conduit au taux de décoloration le plus bas ($52 \pm 4 \%$) pour les trois matériaux d'anode. Cependant, lorsque le

feutre de carbone est utilisé comme matériau anodique, le taux de décoloration a augmenté progressivement à partir d'une concentration de glucose de 2 g/L jusqu'à plus de 95 % à 7,4 g/L de glucose (exactement $95 \pm 2\%$). Avec le feutre de carbone comme matériau anodique, le taux de décoloration est resté élevé ($93 \pm 4\%$). Cependant, il a relativement chuté en utilisant l'acier inoxydable comme matériau d'électrode ($84 \pm 4\%$).

Les figures 2.C et 2.D indiquent que lorsque la concentration de glucose varie de 0 à 5 g/L, le taux de décoloration augmente avec l'augmentation de la concentration de glucose (de 33 % à 89 %) indépendamment de la surface de l'anode. Dans cette gamme de concentration, la surface de l'anode ne semble pas avoir un impact sur le taux de décoloration. Toutefois, le taux de décoloration varie en fonction de la surface de l'anode pour des concentrations comprises entre 5 g et 7,5 g/L. Pour les surfaces proches de 7 cm², le taux de décoloration augmente jusqu'à $96 \pm 4\%$ et il diminue significativement pour les surfaces inférieures à 30 cm². Il est important de constater que, pour des concentrations de glucose supérieures à 7,5 g/L, le taux de décoloration diminue indépendamment de la surface de l'anode.

Les figures 2.E et 2.F montrent comment les interactions entre le matériau de l'anode et le potentiel appliqué influencent le taux de décoloration lorsque la concentration de glucose et la surface de l'anode sont maintenues constantes au niveau du centre. Avec le tissu de carbone comme matériau anodique, le taux de décoloration était constamment proche de 86 % ($86 \pm 5\%$) pour tous les potentiels appliqués. Le taux de décoloration avec le feutre de carbone a cependant légèrement augmenté pour atteindre $90 \pm 5\%$ et $89 \pm 2\%$ avec des potentiels appliqués de -0,1 et +0,2 V vs. ECS, respectivement. le taux de décoloration le plus faible a été observé avec l'acier inoxydable comme matériau anodique, indépendamment du potentiel appliqué ($83 \pm 4\%$).

Les conditions optimales pour le taux de décoloration maximal ont ensuite été en utilisant les données expérimentales et le logiciel NemrodW. Ces conditions étaient les suivantes : feutre de carbone comme matériau anodique, 6 cm² comme surface anodique, -0,1 V vs. ECS comme potentiel imposé et 7 g/L comme concentration de glucose. Le taux de décoloration le plus élevé dans ces conditions a été prédit par le modèle de second ordre à $96 \pm 3\%$.

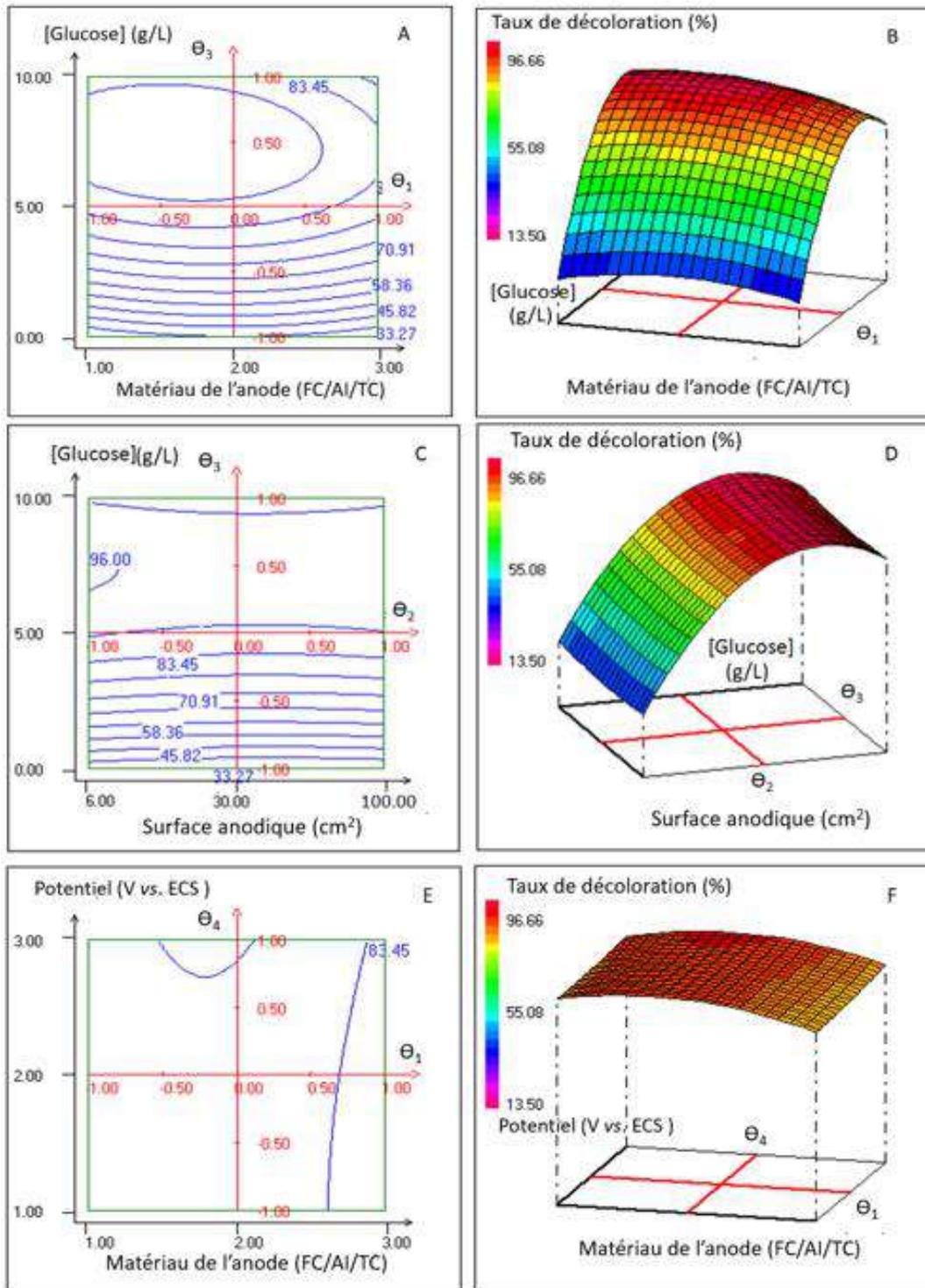


Figure 2 : Courbes d'isoréponses 2D et 3D du taux de décoloration en fonction des variables testées : concentration de glucose et matériau de l'anode [A et B] avec la surface de l'anode et le potentiel appliqué maintenus constants au niveau du centre ; concentration de glucose et surface de l'anode [C et D] avec le matériau de l'anode et le potentiel appliqué maintenus constants au niveau du centre ; potentiel appliqué et matériau de l'anode [E et F] avec la concentration de glucose et la surface de l'anode maintenus constants au niveau du centre.

2.1.3. Effets synchroniques du matériau de l'anode, de la surface de l'anode, de la concentration en glucose et du potentiel appliqué sur le taux d'abattement de la DCO

D'après le tableau 5, le terme linéaire β_3 et le terme quadratique β_{33} ont influencé significativement le taux d'abattement de la DCO ($P < 0,01$), suivis par les termes linéaires β_1 , β_3 et les termes quadratiques β_{22} , β_{44} , et les termes d'interaction β_{13} et β_{14} avec un effet significatif ($P < 0,05$). Cependant, l'interaction entre les termes β_{12} , β_{23} , β_{14} et β_{34} ainsi que le terme linéaire β_2 et le terme quadratique β_{11} n'étaient pas significatifs. En ce qui concerne les effets des interactions des variables étudiées, il a été noté que les interactions entre le matériau de l'anode et la concentration de glucose d'une part, et la surface de l'anode et le potentiel appliqué d'autre part, avaient un impact direct sur le taux d'abattement de la DCO.

Tableau 5 : Valeurs P des variables étudiées et de leurs termes quadratiques et d'interaction pour l'équation 5.

Nom	Coefficient	F.Inflation	Écart-type	t.exp.	Valeurs P
β_0	71,321		1,185	60,21	***
β_1	-3,000	1,00	0,758	-3,96	*
β_2	-2,333	1,00	0,758	-3,08	0,09
β_3	18,333	1,00	0,758	24,20	**
β_4	-3,333	1,00	0,758	-4,40	*
β_{11}	-6,815	2,33	2,005	-3,40	0,07
β_{22}	16,185	2,33	2,005	8,07	*
β_{33}	-22,815	2,33	2,005	-11,38	**
β_{44}	-12,815	2,33	2,005	-6,39	*
β_{12}	2,438	1,00	0,804	3,03	0,09
β_{13}	-4,188	1,00	0,804	-5,21	*
β_{23}	-1,188	1,00	0,804	-1,48	0,27
β_{14}	-0,188	1,00	0,804	-0,23	0,82
β_{24}	-5,688	1,00	0,804	-7,08	*
β_{34}	-1,563	1,00	0,804	-1,94	0,19

NS : non-significative, ***Significative au niveau de 99,9%, ** Significative au niveau de 99,0%, * Significative au niveau de 95,0%.

Les figures 3.A et 3.B décrivent l'effet croisé de la concentration de glucose et du matériau de l'anode sur le taux maximal d'abattement de la DCO lorsque la surface de l'anode et le potentiel appliqué sont maintenus constants au niveau du centre. La figure 5.A montre que lorsque la concentration de glucose passe de 0 à 5 g/L, le taux d'abattement de la DCO varie de 26 à 70 %. Dans cette gamme de concentration de glucose, le taux d'abattement de la DCO évolue de manière indépendante du matériau de l'anode.

Lorsque le feutre de carbone est utilisé comme matériau anodique, le taux d'abattement de la DCO a atteint un maximum de 76 % à des concentrations de glucose comprises entre 6,5 et 8 g/L. L'utilisation de tissu de carbone comme matériau a entraîné une légère diminution (73 ± 1 %). Cependant, le taux d'abattement de la DCO chute à 61 ± 1 % pour les mêmes concentrations de glucose (6,5 - 8 g/L) quand une anode en acier inoxydable a été utilisée.

Selon les figures 3.C et 3.D, le taux d'abattement de la DCO ne semble pas être influencé de manière significative par la surface de l'anode dans une gamme de concentration de glucose comprise entre 0 à 5 g/L. Cependant, la surface de l'anode a un impact sur le taux d'abattement de la DCO à des concentrations de glucose comprises entre 5 et 10 g/L. Dans ce cas, différents taux d'abattement de la DCO ont été enregistrés avec différentes surfaces d'anodes. À une concentration de glucose de 7,5 g/L, l'anode en feutre de carbone de 6 cm² a été capable d'atteindre un taux d'abattement de la DCO de l'ordre de 94 ± 2 %. La figure 4.C montre une diminution du taux d'abattement de la DCO pour des surfaces anodiques supérieures à 6 cm². Ces taux d'abattement se situent autour de 74 ± 1 , % et 86 ± 2 %, respectivement, pour les surfaces anodiques de 30 cm² et 100 cm².

Les figures 3.E et 3.F montrent comment les interactions entre le matériau de l'anode et le potentiel appliqué influencent le taux d'abattement de la DCO lorsque la concentration de glucose et la surface de l'anode sont maintenues constantes au niveau du centre. Le taux d'abattement de la DCO avec une anode en tissu de carbone est fortement influencé par le potentiel appliqué. En fait, un taux maximum d'abattement de la DCO de 67 ± 2 % a été atteint avec un potentiel appliqué de -0,1 V vs. ECS. En outre, l'abattement de la DCO a diminué jusqu'à 58 ± 2 et 52 ± 2 % pour des potentiels appliqués de -0,3 et +0,2 V vs. ECS, respectivement. Les mêmes résultats ont été obtenus avec des anodes en feutre de carbone ou en acier inoxydable. Une interaction importante entre le matériau de l'anode et le potentiel appliqué est illustrée dans les figures 4.E et 4.B. Le meilleur taux d'abattement de la DCO de 71 ± 1 % a été atteint avec une anode en feutre de carbone à un potentiel appliqué de -0,1 V vs. ECS.

Les données expérimentales et le programme NemrodW ont déterminé les paramètres optimaux pour le taux d'abattement de la DCO le plus élevé. Le matériau de l'anode était le feutre de carbone, la surface de l'anode était de 6 cm², le potentiel appliqué était -0,1 V vs. ECS et la concentration de glucose était de 7,5 g/L. Le modèle de second ordre a indiqué que le taux maximal d'abattement de la DCO dans ces conditions serait de 94 ± 2 %.

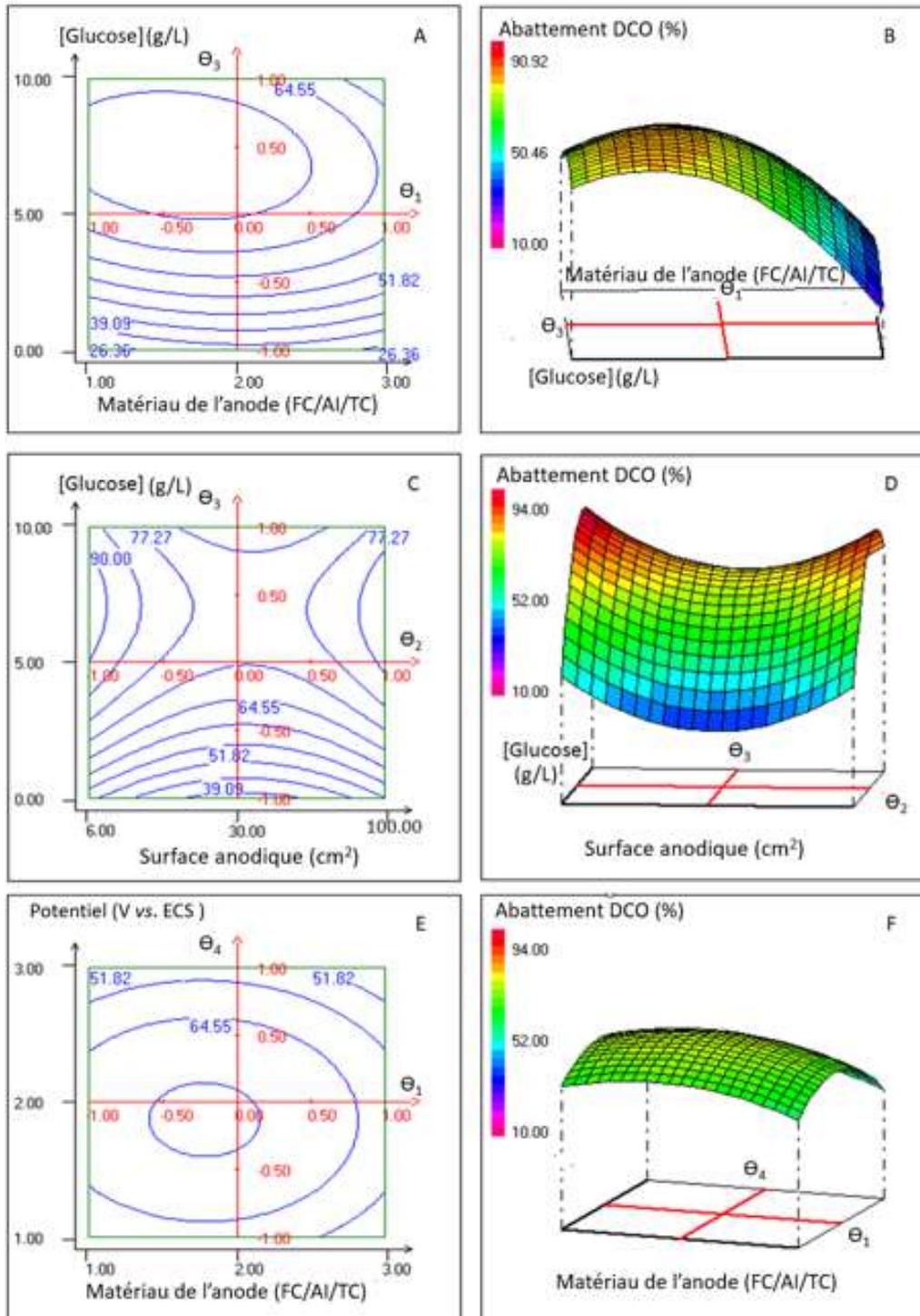


Figure 3: Courbes d'isoréponses 2D et 3D de la DCO en fonction des variables testées : concentration de glucose et matériau de l'anode [A et B] avec la surface de l'anode et le potentiel appliqué maintenus constants au niveau du centre ; concentration de glucose et surface de l'anode [C et D] avec le matériau de l'anode et le potentiel appliqué maintenus constants au niveau du centre ; potentiel imposé et matériau de l'anode [E et F] avec la concentration de glucose et la surface de l'anode maintenus constants au niveau du centre.

2.2. Résultats des expériences réalisées avec les paramètres correspondant au point central

L'expérience correspondant au point central a été réalisée afin de tester la répétabilité et estimer l'erreur pure. Au total, ce sont trois expériences, mentionnées R25, R26 et R27 dans le tableau 2, qui ont été réalisées dans les conditions suivantes : matériau anodique en tissu de carbone, surface anodique de 30 cm², potentiel appliqué de l'ordre de -0,1 V vs. ECS et une concentration de glucose de 5 g/L.

Les courbes chronoampérométriques des trois réplicas présentent des similitudes tant au niveau de leur forme que de la densité du courant générée. Ces courbes se caractérisent par une première phase de latence qui a duré deux jours, puis une première phase d'oxydation à partir du 3^{ème} jour qui continue à augmenter pour atteindre un maximum de 1,2 ; 0,4 et 0,4 A/m² pour R25, R26 et R27 respectivement (Figure 4.A). Une diminution du courant d'oxydation a été observée avant le 9^{ème} jour. A ce stade, les taux de décoloration maximaux ont varié de 89 % à 92 %. A partir du 10^{ème} jour pour R25 et R26 et du 8^{ème} jour pour R27, une deuxième phase de génération de courant a démarré, avec des densités de courant maximales observées entre les jours 12 et 17. Ces densités maximales de courant étaient de l'ordre de 1,0 ; 1,5 et 1,3 A/m² pour R25, R26 et R27, respectivement. À la fin de chaque expérience, des taux d'abattement de la DCO d'environ 75 %, 77 % et 83 % ont été obtenus pour R25, R26 et R27, respectivement (Figure 4.B).

Les écarts types ont été déterminés afin de mesurer la dispersion autour de la moyenne entre les trois répétitions. Il est essentiel de souligner que cette évaluation s'est concentrée uniquement à partir des résultats finaux (deuxième pic de densité de courant pour la chronoampérométrie, la décoloration finale, l'abattement final de la DCO). Les valeurs obtenues de 2 %, 4 % et 23 % révèlent une dispersion relativement faible pour le taux de décoloration et l'abattement de la DCO, mais une dispersion plus marquée pour la densité de courant maximale par rapport à la moyenne. Cela suggère que les mesures de décoloration et d'abattement de la DCO sont plus cohérentes entre les répétitions, tandis que la densité de courant maximale présente une plus grande variabilité.

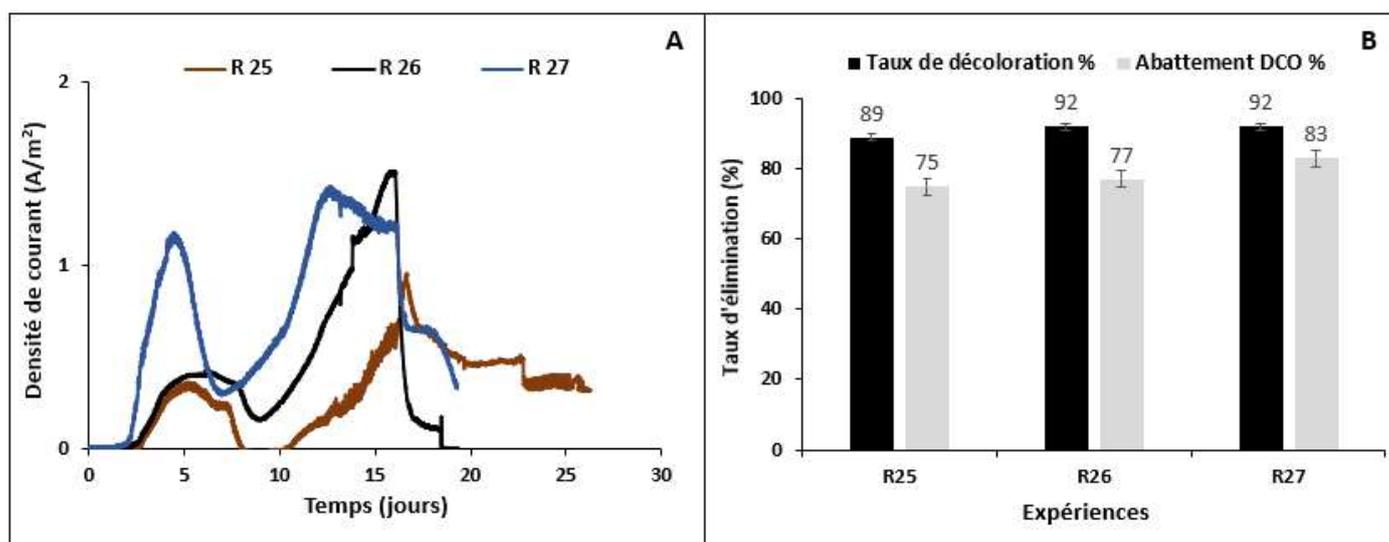


Figure 4 : (A) Evolution de la densité de courant en fonction du temps (B) Taux de décoloration et d'abattement de la DCO pour des expériences en milieu synthétique correspondant au point central. Potentiel : -0,1 V vs. ECS, matériau de l'anode : tissu de carbone, surface : 30 cm², co-substrat : glucose 5 g/L.

2.3. Résultats des expériences réalisées avec les paramètres correspondants aux conditions optimales

L'adéquation du modèle statistique a été validée par trois expériences de vérification réalisées dans des conditions théoriques optimales prédites par le modèle et conduisant à une densité de courant élevée, une décoloration complète et un taux d'abattement de la DCO maximal.

Les courbes chronoampérométriques des trois répliques ont démontré une tendance générale similaire, aussi bien pour la forme que pour la densité de courant maximale générée. Elles sont caractérisées par deux phases de génération de courant. La première phase a duré entre 9 et 10 jours, le pic maximal de 3 ± 1 A/m² a été enregistré entre le 6^{ème} et le 10^{ème} jour. La seconde phase a été observée entre le 11^{ème} et le 40^{ème} jour, la densité maximale de courant enregistrée était de $5,2 \pm 0,4$ A/m² (Figure 5).

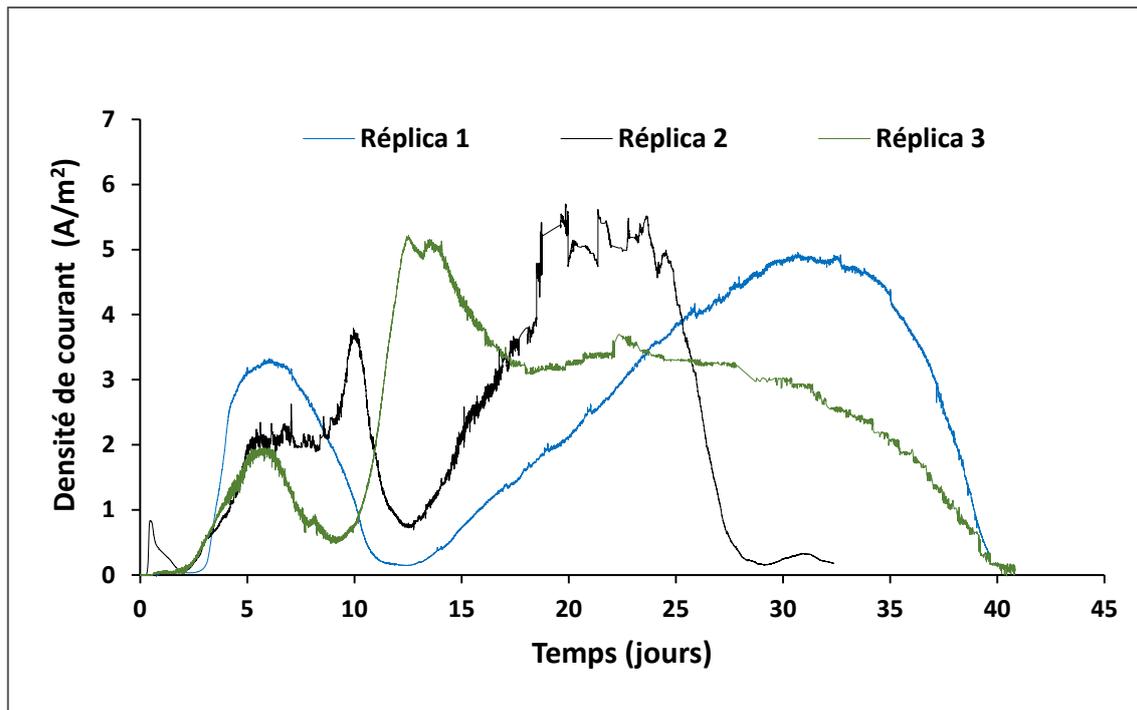


Figure 5 : Evolution de la densité de courant (A/m^2) en fonction du temps (jours) pour des expériences en milieu synthétique dans des conditions optimales déterminées par le modèle statistique pendant 40 jours : potentiel : $-0,1$ V vs. ECS, matériau de l'anode : feutre de carbone, surface : 6 cm^2 , co-substrat : glucose 7 g/L.

Un taux de décoloration de $94 \% \pm 1$ a été obtenu en 4 jours. Ce taux de décoloration a continué à augmenter graduellement pour atteindre une décoloration complète vers le 11^{ème} jour de l'expérience (Figure 6.A). Un taux d'abattement de la DCO de l'ordre de $96 \% \pm 1 \%$ a été atteint à la fin de l'expérience (Figure 6.B).

Les écarts types ont été calculés pour évaluer la dispersion par rapport à la moyenne entre les trois répétitions, concernant la densité de courant maximale, la décoloration, et l'abattement de la DCO à la fin de l'expérience. Les résultats obtenus, soit 8% , 1% , et 1% respectivement, indiquent une faible dispersion pour le taux de décoloration et l'abattement de la DCO, mettant ainsi en évidence une constance et une cohérence élevées entre les répétitions. En revanche, la densité de courant maximale présente une plus grande variabilité, démontrant une dispersion plus importante par rapport à la moyenne.

D'après la bibliographie, le traitement des eaux usées synthétiques dans les SBE a permis d'atteindre des taux d'abattement de la DCO variant de 50 à 92% . (Ihsanullah et al., 2020 ; Cui et al., 2021 ; Sun et al., 2022). En effet, ces taux d'abattement ont été obtenus sans avoir recours à une optimisation des paramètres opérationnels. De plus, il est important de souligner que la

plupart de ces études ont utilisé des boues activées ou des boues anaérobies comme source d'inoculum.

En comparant avec d'autres études de traitement bioélectrochimique de colorants azoïques, nos résultats ont révélé que l'utilisation du consortium bactérien extrêmophile SCD comme source d'inoculum en appliquant les conditions théoriques optimales prédites par le modèle est significativement plus efficace que d'autres inoculas tels que (i) des boues collectées dans une station d'épuration pour la décoloration du rouge cochenille A (abattement de la DCO = 77 %) dans l'étude de Oon et al. (2017), (ii) des boues activées pour la décoloration de l'orange acide 7 (abattement de la DCO = 50 %) dans l'étude de Kong et al. (2018), et (iii) des boues anaérobies pour la décoloration de l'hélianthine (abattement de la DCO = 84 %) dans les travaux de Huang et al. (2018).

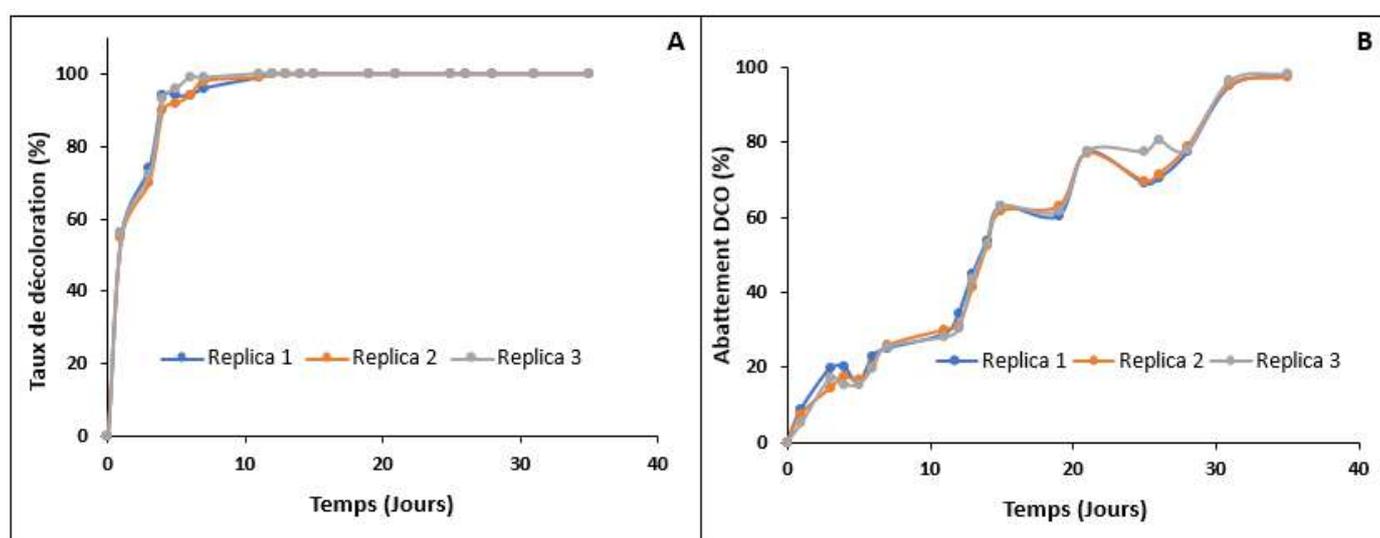


Figure 6 : (A) Variation du taux de décoloration en fonction du temps (B) Variation de l'abattement de la DCO en fonction du temps. Expériences réalisées en milieu synthétique dans des conditions optimales déterminées par le modèle statistique : potentiel : -0,1 V vs. ECS, matériau de l'anode : feutre de carbone, surface : 6 cm², co-substrat : glucose 7 g/L, température : 45 °C.

2.4. Analyse synchronique de la consommation de glucose, de la décoloration, de l'abattement de la DCO et de la production de courant

L'ensemble des résultats des densités de courant générées, des calculs d'abattement de la DCO, des taux de décoloration et de l'évolution de la consommation de glucose ont été confrontés pour mieux comprendre les interactions entre ces quatre réponses.

Durant les 2 premiers jours des expériences, une production de courant négligeable a été enregistrée, le taux de décoloration obtenu était de 80 ± 1 % et l'abattement de la DCO était de

l'ordre de 20 ± 2 %. Pendant ce même temps, le profil chromatographique en HPLC a révélé une diminution de la concentration de glucose, passant de 7,0 à 1,7 g/L. La réduction d'un colorant azoïque nécessite, comme déjà décrit dans les chapitres précédents, la présence d'un co-substrat comme le glucose qui joue le rôle d'un donneur d'électrons. Les électrons issus de l'oxydation de ce co-substrat entrent en compétition soit pour être acceptés par l'électrode, soit pour être acceptés par le colorant à travers leurs participations au clivage réducteur de la liaison azoïque du colorant. La décoloration quasi totale des colorants et l'absence d'un courant d'oxydation durant les deux premiers jours indiqueraient que les électrons ont été préférentiellement utilisés pour la réduction de la double liaison azoïque. Après que le glucose ait été entièrement consommé, un courant d'oxydation a ensuite été observé à partir du 4^{ème} jour. Afin d'identifier le donneur d'électrons qui est à l'origine de ce courant d'oxydation, nous avons eu recours à une analyse par HPLC. Cette analyse a été privilégiée pour caractériser le donneur d'électrons à l'origine du courant d'oxydation en raison de sa capacité à séparer efficacement les composés dans un échantillon liquide complexe, fournissant ainsi une identification précise du composé impliqué. Cette analyse a montré l'apparition d'un pic à partir du 2^{ème} jour de l'expérience. Le produit néoformé est l'acétate. Par la suite, une gamme étalon avec 4 standards de concentrations d'acétate croissantes entre 0 et 6 g/L ont été préparés afin de quantifier et suivre la production de l'acétate au cours du temps (Figure 7).

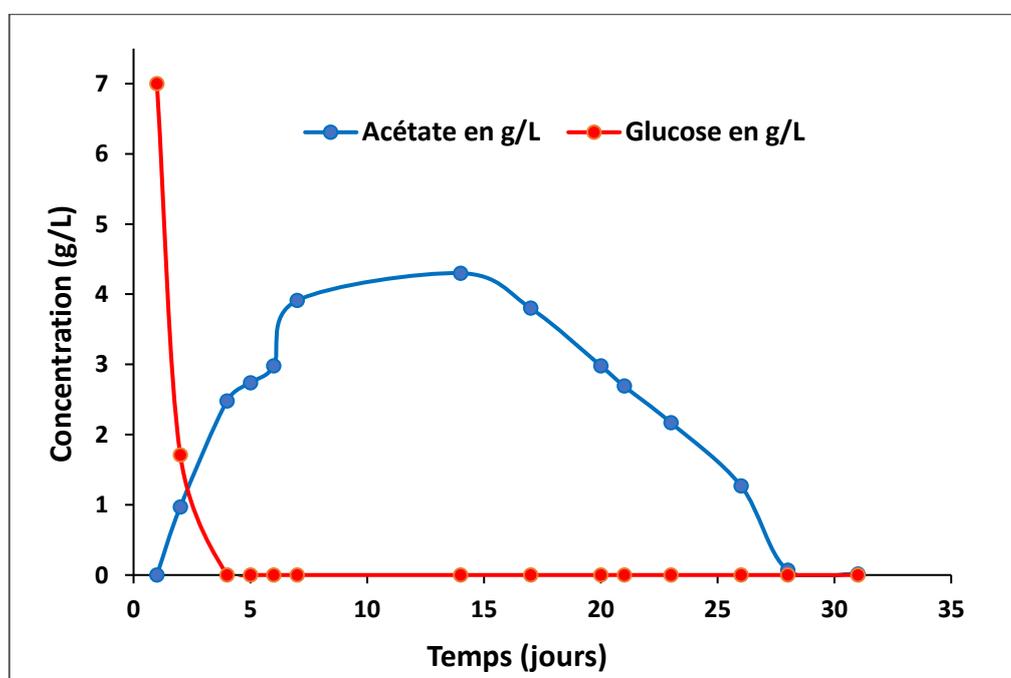


Figure 7 : Evolution des concentrations mesurées par HPLC de l'acétate et du glucose (expérience avec les conditions optimales : potentiel : -0,1 V vs. ECS, matériau de l'anode : feutre de carbone, surface : 6 cm², co-substrat : glucose 7 g/L, température : 45 °C).

Les résultats montrent que la production d'acétate a commencé à partir du 2^{ème} jour et parallèlement à la première phase de génération de courant. La concentration enregistrée le 2^{ème} jour était 0,9 g/L puis elle a augmenté d'abord rapidement entre le jour 2 et le jour 7. La concentration a continué à augmenter avec une cinétique plus ralentie pour atteindre son maximum le 14^{ème} jour avec une concentration de 4,3 g/L. Par la suite, une chute de la production de courant a été observée simultanément à la diminution progressive de la concentration en acétate (Figure 8). Le taux d'abattement final de la DCO obtenu était d'environ 62%. La densité de courant maximale qui a été obtenue le 10^{ème} jour était de 3,5 A/m².

Pour récapituler, durant les deux premiers jours, 76 % de la concentration en glucose a été consommée sans enregistrer aucune production de courant, ce qui indique que la compétition pour accepter les électrons entre l'anode et le colorant azoïque était en faveur de la liaison azoïque du colorant. Pour mieux comprendre cette dynamique, il est nécessaire de se focaliser sur le métabolisme du pyruvate, un composé clé formé lors de l'étape de la glycolyse qui représente la première étape de la dégradation du glucose. Il s'agit d'un processus au cours duquel une molécule de glucose est convertie en deux molécules de pyruvate, générant de l'ATP. Cependant, la suite du métabolisme du pyruvate peut varier selon les conditions environnementales, en particulier la disponibilité d'oxygène. En présence d'oxygène, le pyruvate peut suivre la voie aérobie du métabolisme, conduisant ainsi à la production d'énergie par le biais de la respiration cellulaire. Dans des conditions aérobies optimales, le pyruvate est acheminé vers le cycle de Krebs et la chaîne de transport d'électrons, permettant une production maximale d'ATP. Cependant, en l'absence d'oxygène, comme dans notre cas, le pyruvate peut subir une fermentation. Ce processus métabolique aboutit à la conversion du pyruvate en différents produits finaux, tels que le lactate (dans le cas de la fermentation lactique), l'éthanol (dans le cas de la fermentation alcoolique), et l'acétate (dans le cas de la fermentation acétique). La présence d'acétate durant la première phase d'oxydation pointe vers la réalisation probable d'une fermentation acétique.

Les courbes chronoampérométriques ont montré ensuite une deuxième augmentation de la densité de courant générée qui est plus importante que la densité générée durant la première phase. A ce stade, le taux d'abattement de la DCO enregistré avant l'apparition de cette deuxième phase était de l'ordre de 46 %.

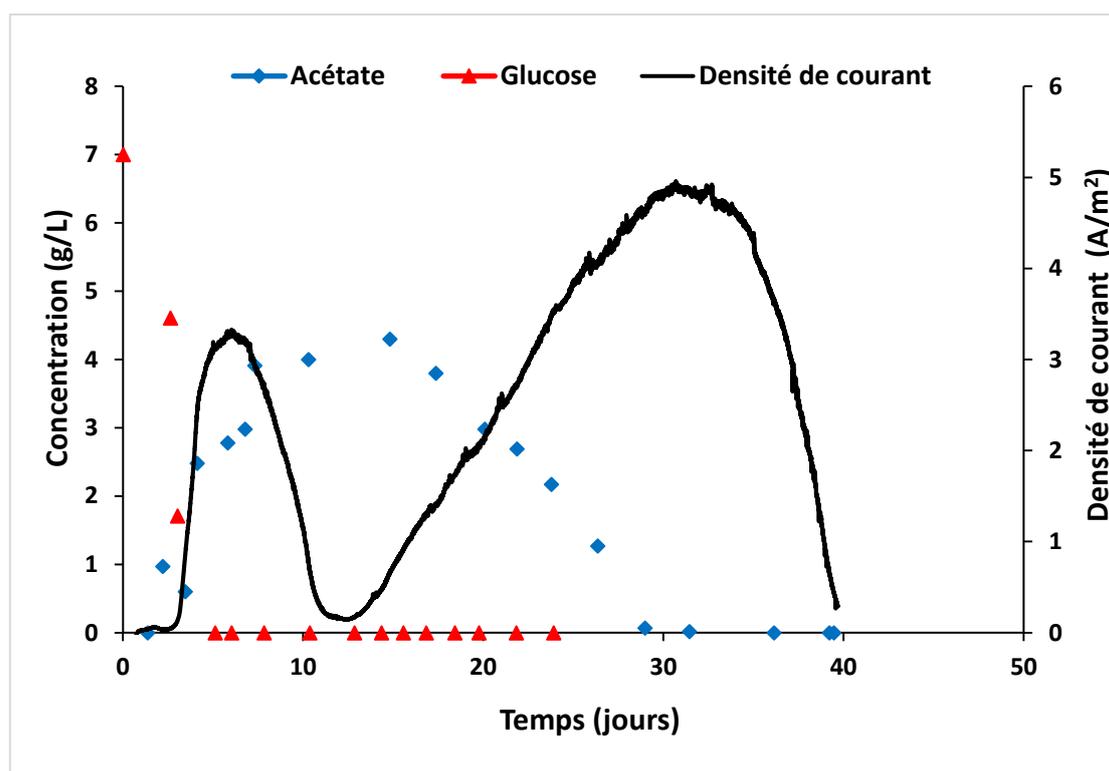


Figure 8 : Evolution de la densité de courant (A/m^2) et variation de la concentration de glucose et d'acétate (g/L) en fonction du temps (jours) (Expérience réalisée avec les conditions optimales : potentiel : $-0,1 V$ vs. ECS, matériau de l'anode : feutre de carbone, surface : $6 cm^2$, co-substrat : glucose $7 g/L$, température : $45 ^\circ C$).

2.5. Discussion

Contrairement aux recherches précédentes portant sur le traitement des colorants azoïques textiles dans les SBE, notre étude a démontré que l'ajustement des divers paramètres opérationnels à l'aide de la méthodologie du plan d'expériences a conduit à une augmentation significative de la production de courant, ainsi qu'à un taux de décoloration et un taux d'abattement de la DCO maximaux. En effet, les données rapportées à ce jour font état de densités de courant allant de $0,5$ à $3,0 A/m^2$ (Li et al., 2010 ; Miran et al., 2018 ; Ihsanullah et al., 2020). La décoloration des colorants azoïques par des cultures microbiennes mixtes provenant d'environnements thermohalophiles a été très peu étudiée, malgré la salinité élevée typique des eaux usées textiles. En effet, il est important de souligner que la plupart de ces recherches antérieures ont été menées dans des conditions de faible salinité et souvent avec un seul colorant azoïque. A notre connaissance, seule l'étude d'Oon et al. (2018) a mis en évidence l'effet de la salinité et de la concentration initiale en colorant sur l'efficacité du traitement dans une pile à combustible microbienne. Pour une concentration initiale de colorant de $0,5 g/L$, un

taux de décoloration maximal de 91 % a été rapporté. Cependant, la concentration de NaCl appliquée n'a variée que de 0,7 à 3,5 g/L dans ce travail, alors que dans les eaux usées réelles, la concentration de NaCl peut varier de 10 à 80 g/L (Gratierrri et Minter., 2018). Cela laisse supposer que les conditions opératoires appliquées dans cette étude ne tiennent pas vraiment compte de la réalité de la salinité des eaux usées réelles.

Trois matériaux ont été utilisés comme électrode de travail, deux matériaux carbonés (feutre de carbone et tissu de carbone) et un alliage métallique (acier inoxydable). Les meilleurs taux de décoloration et les densités de courant les plus élevées ont été obtenus avec le feutre de carbone. Yakoob et al. (2020) ont justifié le recours au feutre de carbone pour la fabrication des électrodes à sa grande stabilité chimique, sa haute conductivité et sa bonne biocompatibilité. Il est également important de mentionner que la structure tridimensionnelle du feutre de carbone offre une surface propice à l'attachement et au développement des microorganismes. Plusieurs études ont conçu avec succès des SBEs pour le traitement des colorants azoïques en utilisant le feutre de carbone comme matériau anodique. Des taux très élevés d'abattement de la DCO autour de 96 %, 70 % et 90 % ont été atteints dans les travaux de Thung et al. (2015), Oon et al. (2017) et Shahi et al. (2020) respectivement.

L'acier inoxydable s'est illustré comme le matériau d'électrode le moins performant. Les densités maximales de courant atteintes avec ce matériau d'électrode étaient 3 fois plus faibles que celles obtenues avec le feutre de carbone. Dans le même sens, Yakoob et al. (2020) ont déjà rapporté que les matériaux métalliques tel que l'acier inoxydable présentent des densités de courant comparativement moins élevées que celles des matériaux à base de carbone. Toutefois, l'étude de Ketep et al. (2014) a rapporté des résultats contradictoires. En effet, dans ces travaux, la densité de courant la plus élevée a été observée avec l'acier inoxydable (80 A/m^2). Elle était bien supérieure à celle obtenue avec le tissu de carbone (33 A/m^2) dans les mêmes conditions opératoires. Il est donc difficile de tirer des règles générales à propos de la capacité des différents matériaux d'électrode à former des bioanodes microbiennes, car leurs performances ont été décrites dans des conditions opératoires différentes, souvent en utilisant différents inocula microbiens provenant d'environnements naturels ou industriels très hétéroclites.

L'influence de la surface du matériau anodique dans les SBEs conçus pour le traitement des eaux usées textiles est très peu étudiée. Sun et al. (2022) ont montré que des surfaces d'anode plus grandes (72 cm^2) ont favorisé la colonisation des électrodes par la population microbienne par rapport à des surfaces plus petites (18 et 36 cm^2) dans un SBE conçu pour le traitement du rouge congo. Les auteurs ont indiqué qu'ils ne pouvaient pas garantir que le biofilm formé était

capable de couvrir complètement la plus grande surface d'anode avec une épaisseur uniforme, mais ils ont rapporté un attachement accru des bactéries (une augmentation de la quantité de fixation des bactéries) qui se produit sur la surface de l'anode de 72 cm², puisque le MEB a clairement révélé qu'un biofilm homogène s'était développé à différents endroits de la surface de l'anode. Ils ont conclu par conséquent qu'une plus grande surface anodique colonisée par une biomasse microbienne était responsable de la décoloration accélérée du rouge congo.

Dans le même sens, Ketep et al. (2012) ont étudié l'effet de la surface anodique dans un réacteur alimenté par des eaux usées papetières. Deux surfaces différentes (10 et 20 cm²) ont été comparées en utilisant le feutre et le tissu de carbone. En effet, le SBE a atteint des densités de courant maximales d'environ 2,3 et 1,8 A/m² avec le tissu de carbone et le feutre de carbone, respectivement, lorsqu'une anode de 20 cm² était utilisée. Ces densités ont été légèrement réduites avec les anodes de 10 cm² pour atteindre des valeurs de 1,8 et 1,5 A/m² avec le tissu et le feutre de carbone, respectivement. Nos constatations sont en désaccord avec ces conclusions. En effet, les expériences réalisées avec la surface de 100 cm² ont montré des faibles taux de décoloration par rapport à ceux observés avec les expériences réalisées sur des surfaces anodiques plus petites (6 et 30 cm²). Les SBE peuvent présenter des variations de distribution du courant sur la surface de l'anode. En effet, sur des surfaces moins larges comme dans notre cas, il est possible que la distribution du courant soit plus uniforme, conduisant ainsi à des performances plus élevées. Par ailleurs, les gradients de concentration et les phénomènes de diffusion peuvent être mieux maîtrisés sur des surfaces plus petites.

Nos travaux ont aussi montré que la présence du co-substrat s'avère indispensable pour la réaction de décoloration ainsi que pour la production d'électricité. Selon des études antérieures, plusieurs souches bactériennes impliquées dans la biodégradation des colorants azoïques ont été identifiées, mais beaucoup d'entre elles ne peuvent pas utiliser le colorant pour leur croissance et le maintien de leur métabolisme. La décoloration des composés azoïques peut entrer en compétition avec le transfert d'électrons à l'anode dans le SBE. En effet, les expériences menées en absence de co-substrat (glucose) ont montré de faibles taux de décoloration allant de 17 à 21 % avec un courant d'oxydation très faible qui n'a pas dépassé 0,05 A/m². L'ajout d'un co-substrat dans la composition du milieu réactionnel a entraîné une compétition des équivalents réducteurs (électrons) pour le clivage de la liaison azoïque et après pour le transfert d'électrons vers l'électrode qui génère un courant électrique. L'ajout du co-substrat dans la composition du milieu réactionnel a permis de déclencher la réaction de co-

métabolisme et d'atteindre un taux maximal de décoloration d'environ 90 % et une densité de courant supérieure à 7 A/m² (expérience 13, tableau 2 ou Figure 8).

Le potentiel imposé à l'électrode de travail est un paramètre clé pour la formation des biofilms EA et sa valeur impacte l'énergie disponible pour la croissance et le fonctionnement des bactéries électroactives. En théorie, plus le potentiel est élevé, plus il y a d'énergie disponible pour les bactéries. D'après les courbes chronoampérométriques, nous avons remarqué que les potentiels de -0,1 V et +0,2 V vs. ECS permettent d'obtenir des densités de courant plus élevées. Toutefois, les expériences avec les conditions optimales ont été réalisées avec le potentiel le plus bas -0,1 V vs. ECS. Le potentiel plus faible (-0,3 V vs. ECS) a donné des densités de courant en moyenne légèrement plus faibles.

Dans ce sens, Dumas et al. (2008) ont polarisé des électrodes en acier inoxydable et en graphite à différents potentiels dans un SBE pour induire la croissance de biofilms de *Geobacter sulfurreducens*. En effet, aucune densité de courant n'a été obtenue à des valeurs de potentiel inférieur à 0 V vs. ECS, alors qu'à un potentiel de 0,2 V vs. ECS, ils ont observé des densités de courant maximales de 2,4 A/m² avec l'acier inoxydable et de 8 A/m² avec le graphite. Pareillement, Wei et al. (2010) ont évalué l'impact de la variation du potentiel dans une étude utilisant une culture pure de la même espèce utilisée par Dumas et al. (2008) (*Geobacter Sulfurreducens*). Les anodes ont été polarisées à 3 potentiels différents : -0,16 ; 0 et 0,4 V vs. ECS. Les auteurs ont montré un démarrage plus rapide et des densités de courant plus élevées pour les anodes polarisées à des potentiels positifs par rapport à celles polarisées à -0,16 V vs. ECS. Ils ont conclu ensuite que favoriser le développement rapide d'un biofilm épais à la surface de l'électrode permet d'obtenir une densité de courant élevée.

2.6. Caractérisation microscopique des biofilms formés sur les électrodes par microscopie à épifluorescence 2D

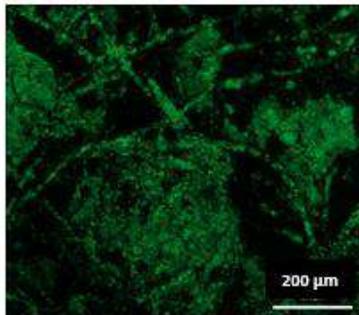
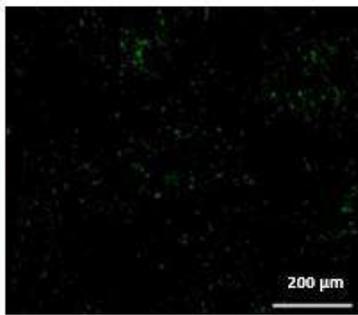
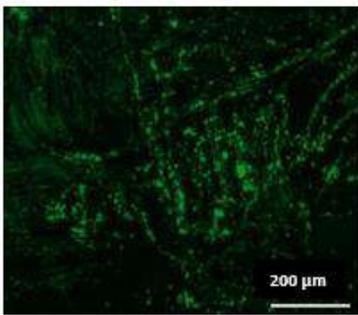
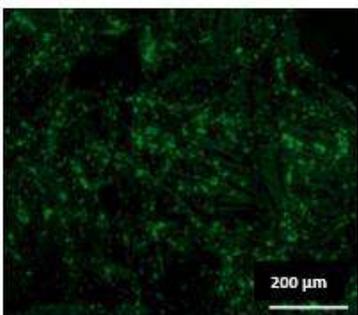
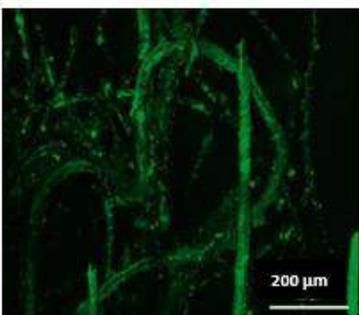
À la fin des expériences, les électrodes de travail ont été retirées des SBE, traitées, séchées et observées au microscope à épifluorescence 2D afin d'observer les biofilms qui avaient colonisé leurs surfaces.

La visualisation a été effectuée uniquement pour les électrodes en feutre et en tissu de carbone, qui ont montré une efficacité de traitement et une production d'électricité supérieures. Selon les conditions appliquées les images ont montré des aspects différents de biofilms en termes d'homogénéité et de répartition sur les fibres du feutre ou du tissu de carbone (Tableau 6, échantillons A, C et E). Une très faible colonisation (voire négligeable) a été observée sur la surface de l'électrode en feutre de carbone formée dans le SBE sans glucose comme co-substrat

(Tableau 6, échantillon B). Le biofilm qui a été formé sous un potentiel de $-0,3 \text{ V vs. ECS}$ (Tableau 6, échantillon D) a montré une colonisation moyenne ou légère avec des petits clusters individuels répartis de façon non uniforme sur les fibres. La plus forte colonisation a été observée avec les biofilms formés sous potentiel de $-0,1$ et $+0,2 \text{ V vs. ECS}$.

L'observation microscopique des biofilms formés à ces différents est en accord avec les densités de courant produites. Il est probable que les potentiels de $-0,1 \text{ V}$ et $+0,2 \text{ V vs. ECS}$ sont plus propices à la formation des biofilms EA dans les conditions opératoires de ces travaux. Ces potentiels ont permis d'enregistrer les densités de courant plus élevées par rapport le potentiel $-0,3 \text{ V vs. ECS}$.

Tableau 6 : Observation microscopique à épifluorescence 2D de la colonisation des électrodes en feutre et tissu de carbone dans les différentes conditions opératoires.

Échantillon A	Échantillon B	Échantillon C	Échantillon D	Échantillon E
Anode : Feutre de carbone	Anode : Feutre de carbone	Anode : Tissu de carbone	Anode : Tissu de carbone	Anode : Feutre de carbone
Glucose : 10 g/L	Glucose : 0 g/L	Glucose : 5 g/L	Glucose : 10 g/L	Glucose : 5 g/L
Potentiel : +0,2 V vs. ECS	Potentiel : -0,1 V vs. ECS	Potentiel : -0,1 V vs. ECS	Potentiel : -0,3 V vs. ECS	Potentiel : +0,2 V vs. ECS
Très forte colonisation qui couvre les fibres du feutre de carbone de façon homogène	Très peu de biofilm visible avec la présence de petits clusters répartis de façon individuelle sur les fibres	Forte colonisation couvrant de façon homogène les fibres du tissu de carbone	Moyenne colonisation couvrant partiellement les fibres du tissu de carbone.	Forte colonisation qui couvre la totalité des fibres du feutre de carbone.
				

2.7. Caractérisation microscopique des biofilms formés sur les électrodes par microscopie électronique à balayage (MEB)

L'observation au MEB des électrodes à la fin des expériences montre différents types de colonisation. Pour les expériences réalisées avec le feutre de carbone, nous avons observé une colonisation principalement sur les fibres. Cette colonisation semble hétérogène et les cellules sont difficilement distinguables (Figure 9.A), ce qui suggère la présence de substances polymériques extracellulaires (EPS). Cependant, les expériences réalisées avec le tissu de carbone, la colonisation a été observée uniquement entre les fibres (Figure 9.B). La colonisation observée sur la surface du feutre et du tissu de carbone est plus importante que celle observée sur l'acier inoxydable (Figure 9.C). Ceci peut être attribuée aux caractéristiques de ce matériau telle que la biocompatibilité de surface, la haute conductivité et la stabilité chimique. La porosité aussi est une caractéristique importante. En effet, les structures poreuses des matériaux à base de carbone offrent une plus grande surface spécifique pour la colonisation bactérienne, favorisant ainsi la formation d'un biofilm plus dense.

En outre, la composition du milieu réactionnel peut influencer également la colonisation bactérienne. Dans ce sens, Blanchet et al. (2016) ont étudié l'influence de la composition du milieu d'enrichissement sur les propriétés de la colonisation microbienne. En effet, l'utilisation d'un milieu synthétique riche et non sélectif a conduit à une formation rapide du biofilm sur la surface extérieure du feutre et du tissu de carbone qui a créé une sorte de barrière qui empêche les bactéries de pénétrer plus profondément à l'intérieur de la structure poreuse des électrodes. Les densités de courant relevées étaient en conséquence relativement moyennes (allant de 1,8 à 3,5 A/m²). En revanche, l'étude de Rousseau et al. (2016), qui a utilisé le feutre de carbone comme matériau d'électrode, a abouti à une densité de courant beaucoup plus élevée de l'ordre de 80 A/m², en présence de salinité sélective (45 g/L NaCl) et en utilisant comme inoculum des espèces microbiennes halotolérantes. Cette condition a donné lieu à la formation d'un biofilm enveloppant principalement autour des fibres internes à l'intérieur de la structure de feutre, plutôt que sur la surface extérieure.

En conclusion, la colonisation bactérienne d'une électrode dépend des caractéristiques du matériau utilisé (porosité, biocompatibilité et stabilité chimique), mais elle est aussi influencée par la composition du milieu réactionnel, représentée dans ces travaux par le sédiment salin SCD et la composition du milieu d'enrichissement.

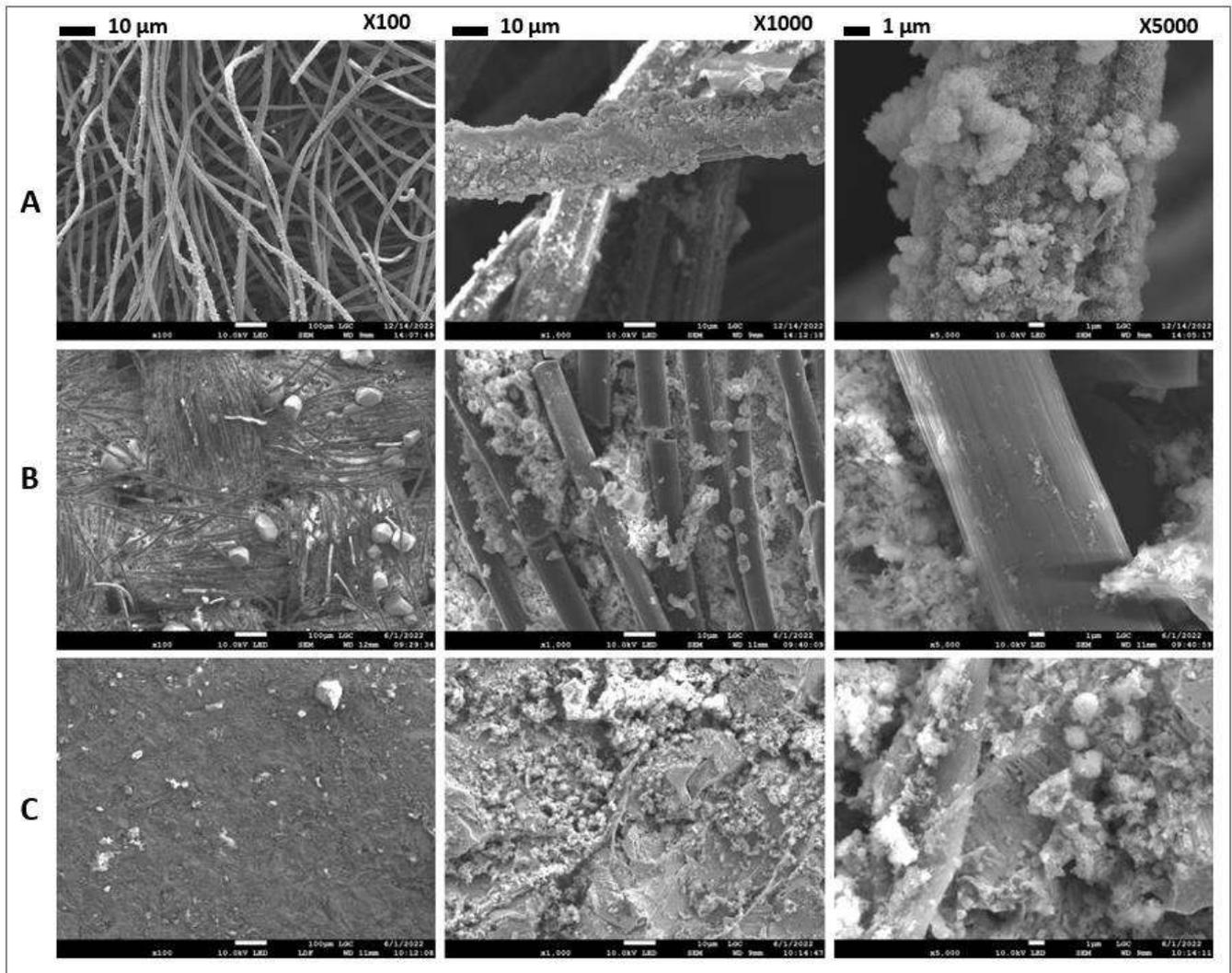


Figure 9 : Images au MEB de la surface des électrodes de travail à différents grossissements à la fin des expériences. (A) expérience menée dans des conditions optimales, matériau de l'anode : feutre de carbone, surface : 6 cm², potentiel : -0,1 V vs. ECS, co-substrat : glucose 7 g/L, (B) expérience 19 : matériau de l'anode : tissu de carbone, surface : 6 cm², potentiel : -0,1 V vs. ECS, co-substrat : glucose 5 g/L. (C) expérience 18 : matériau de l'anode : acier inoxydable, surface : 30 cm², potentiel : -0,1 V vs. ECS, co-substrat : glucose 5 g/L. Toutes les expérimentations ont été réalisées dans des SBE inoculés avec le SCD à une salinité de 15 g/L.

2.8. Vérification de la disparition du groupement azo dans la structure des colorants

Les spectres FTIR (Figure 10) obtenus après le traitement bioélectrochimique ont montré des changements significatifs dans la position des pics par rapport à l'échantillon avant traitement, indiquant la dégradation complète des groupes chromophores fonctionnels. Les spectres avant traitement ont montré un pic à $1592,44 \text{ cm}^{-1}$ pour la liaison azoïque, un pic à $2923,28 \text{ cm}^{-1}$ pour l'étirement asymétrique CH_3 , un pic à $1167,80 \text{ cm}^{-1}$ pour l'étirement C-N des amines aromatiques, un pic à $1489,04 \text{ cm}^{-1}$ pour l'étirement C-C des groupements aromatiques, un pic à $1125,46 \text{ cm}^{-1}$ qui représente les vibrations d'étirement des sulfonates qui sont introduits dans la molécule de deux colorants Bleu direct 71 et le Noir direct 22 pour améliorer leurs solubilité dans l'eau et leurs stabilité lors des procédés de teinture. En comparant avec le spectre FTIR de l'échantillon traité, le pic d'absorption des vibrations azoïques de nombre d'onde à $1592,44 \text{ cm}^{-1}$ a été significativement réduit indiquant la rupture de la liaison azoïque. L'absence d'un pic à $1167,80 \text{ cm}^{-1}$ démontre l'absence d'étirement C-N des amines aromatiques, alors que l'absence du pic à $1125,46 \text{ cm}^{-1}$ suggère la disparition du groupe sulfonique.

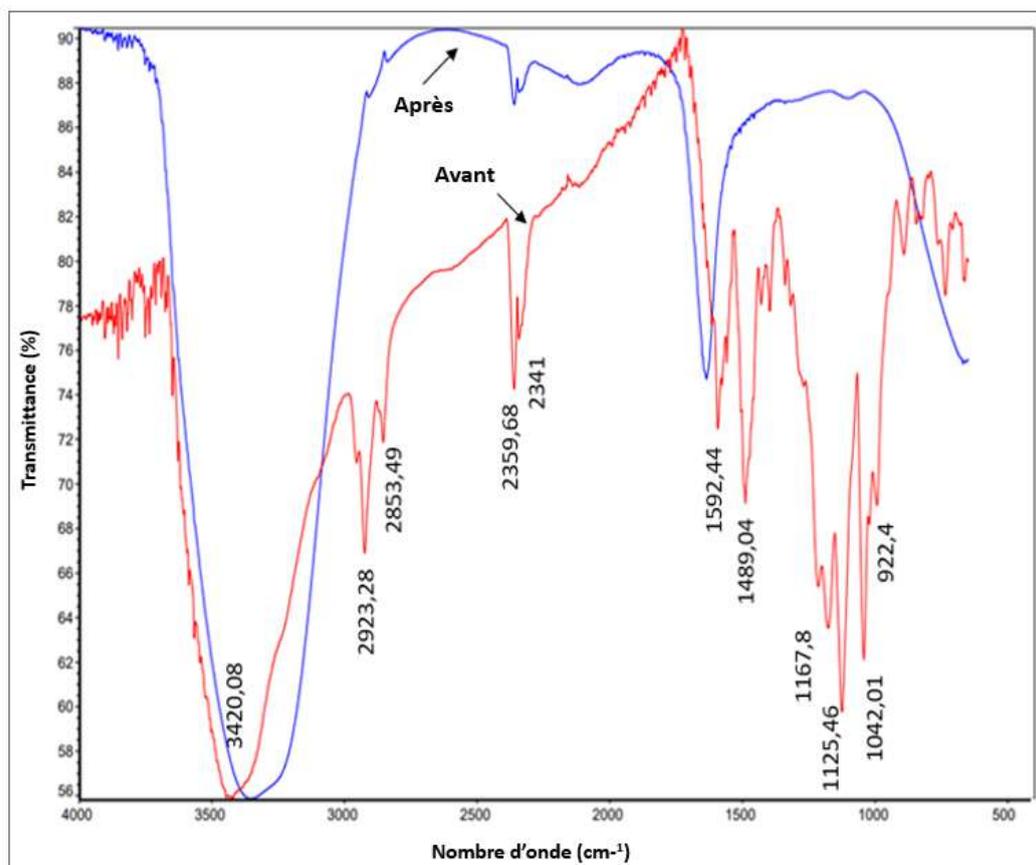


Figure 10 : Spectres FTIR du mélange de trois colorants azoïques avant et après traitement dans le SBE. (Expérience réalisée avec les conditions optimales : potentiel : $-0,1 \text{ V vs. ECS}$, matériau de l'anode : feutre de carbone, surface : 6 cm^2 , co-substrat : glucose 7 g/L).

2.9. Analyse de la diversité des populations bactériennes

L'analyse de la diversité des populations bactériennes dans ce chapitre a été effectuée dans le but d'établir une étude comparative de la composition bactérienne de : i) l'inoculum initial (le sédiment hypersalin SCD), ii) le milieu réactionnel (l'électrolyte inoculé) et iii) le biofilm anodique. Ces analyses concernent seulement l'expérience réalisée dans les conditions optimales.

Un changement dans la composition bactérienne au niveau du milieu réactionnel et du biofilm anodique par rapport à l'inoculum initial au niveau taxonomique du phylum a été révélé (Figure 11). L'inoculum initial renfermait majoritairement le phylum Firmicutes avec un taux de présence de 99,0 %. Les Firmicutes sont membres du super-groupe Terrabacteria, qui regroupe des bactéries principalement terrestres, soulignant ainsi leur importance écologique dans les écosystèmes terrestres tels que le sol et les sédiments. Ce groupe de bactéries est connu pour sa grande résistance à des conditions environnementales difficiles, tels que des niveaux élevés de sel, de chaleur et d'acidité (Oren et al., 2008 ; Tian et al., 2020 ; Hashmi et al., 2020). Au contraire, les communautés bactériennes du biofilm et du milieu réactionnel étaient plus complexes. Des phyla supplémentaires, Protéobactéries et Thermotogae, ont été identifiés. Les trois principaux phyla Firmicutes, Protéobactéries et Thermotogae *étaient* alors représentés à hauteur de 67,0 22,3 et 10,2 % dans le biofilm et à hauteur de 72,1 16,5 et 11,1 % dans le milieu réactionnel.

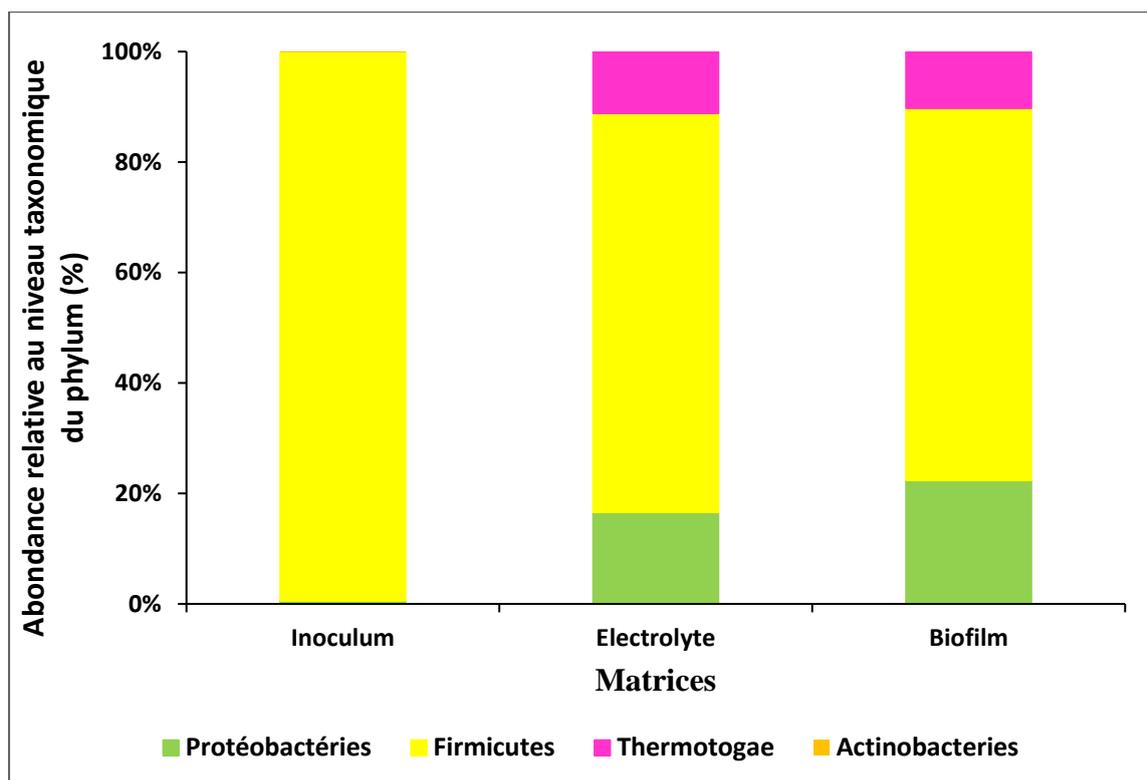


Figure 11 : Abondances relatives des populations bactériennes au niveau taxonomique du phylum. (Expérience avec les conditions optimales : potentiel : -0,1 V vs. ECS, matériau de l'anode : feutre de carbone, surface : 6 cm², co-substrat : glucose 7 g/L).

La figure 12 décrit les abondances relatives des populations bactériennes au niveau taxonomique de l'espèce. La communauté bactérienne de l'inoculum semble plus hétérogène que celle présente au niveau du biofilm anodique et du milieu réactionnel. Les espèces les plus abondantes au niveau de l'inoculum sont *Orenia metallireducens* (23,8 %), *Tepidibacillus infernus* (18,7 %), *Haloplasma contractile SSD-17B* (10,4 %), *Iocasia fonsfrigidae* (9,8 %), *Clostridiisalibacter paucivorans* (9,2 %), *Petroclostridium xylanilyticum* (8,9%), *Desulfovectis peckii* (3,7%), *Clostridium-halophilum* (3,5 %). Pour la communauté enrichie dans le milieu réactionnel, les espèces bactériennes les plus abondantes étaient *Orenia metallireducens* (59,7 %), *Desulfobaculum senezii* (13,3 %), *Geotoga subterranea* (11,1 %), *Clostridiisalibacter paucivorans* (6,2 %), *Desulfolucianica intricata* (2,6 %), *Pseudomonas-stutzeri* (2,2 %) et *Iocasia fonsfrigidae* (2,1 %). Cependant, au niveau du biofilm les espèces les plus dominantes étaient *Orenia metallireducens* (59,5 %), *Desulfobaculum senezii* (15,1 %), *Geotoga subterranea* (10,2 %), *Pseudomonas stutzeri* (5,1 %), *Clostridiisalibacter paucivorans* (3,1 %).

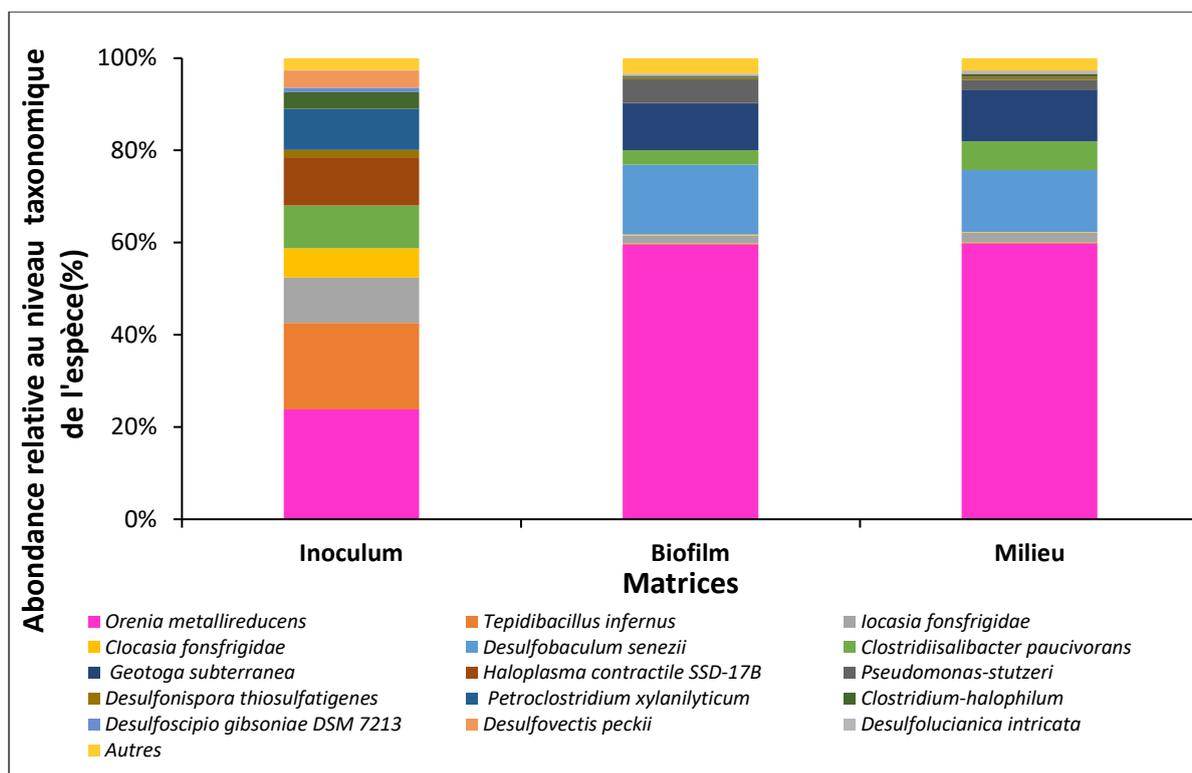


Figure 12 : Abondances relatives des populations bactériennes au niveau taxonomique de l'espèce. (Expérience avec les conditions optimales : potentiel : -0,1 V vs. ECS, matériau de l'anode : feutre de carbone, surface : 6 cm², co-substrat : glucose 7 g/L).

La plupart des espèces bactériennes identifiées dans les différentes matrices étudiées sont des halothermophiles, adaptées à des environnements caractérisés par une forte concentration en sel et des températures élevées.

Dans les trois matrices étudiées, nous avons constaté que l'espèce majoritaire était *Orenia metallireducens*. Elle a été décrite comme une bactérie halophile, capable de réduire les métaux, isolée la première fois à partir des eaux souterraines de la rivière Oregon (Dong et al., 2016). Toutefois, il semble que l'électroactivité de cette espèce et son implication dans le transfert extracellulaire des électrons n'ont pas encore été rapportées dans la bibliographie. Les espèces *Petroclostridium xylanilyticum*, *Haloplasma contractile* et *Tepidibacillus infernus* étaient uniquement présentes dans l'inoculum, suggérant ainsi qu'ils ne sont sûrement pas électroactifs dans les conditions des travaux de cette étude.

Ces résultats montrent clairement aussi que la composition des communautés bactériennes de l'électrolyte et du biofilm anodique a changé par rapport à celle qui est renfermée dans l'inoculum. Il est important aussi de signaler que *Desulfobaculum senezii* et *Geotoga subterranea* ont été uniquement présentes dans le milieu réactionnel et le biofilm anodique. Ces conclusions

reposent sur des prédictions *in silico* basées sur la technique de séquençage employée dans cette étude. Les espèces bactériennes appartenant au genre *Desulfovibrio* ont été rapportées comme des bactéries impliquées dans le traitement des eaux usées chargées avec des colorants azoïques (Miran et al., 2018 ; Diniz et al., 2002). Les espèces qui appartiennent à ce genre possèdent une abondance de cytochromes c liés à la membrane qui sont impliqués dans le transfert direct d'électrons extracellulaires (Dai et al., 2020 ; Kang et al., 2014). Pareillement, le genre *Geotoga* qui a été présent dans le milieu et dans le biofilm anodique a été décrit comme étant un genre thermophile capable de croître à une température qui peut atteindre 60 °C. Ces deux genres (*Desulfovibrio* et *Geotoga*) sont également capables de réduire les sulfates en sulfure d'hydrogène (H₂S). En effet, la décoloration des colorants azoïques peut être réalisée par l'action du sulfure d'hydrogène (H₂S) généré par des bactéries sulfato-réductrices. Ces bactéries ont la capacité de réduire les sulfates présents dans leur environnement en sulfure d'hydrogène. Ce dernier peut ensuite réagir avec les colorants azoïques et provoquer leur décoloration en agissant comme un donneur d'électrons pour le clivage réducteur de la liaison azoïque (Selvaraj et al., 2021).

Pseudomonas-stutzeri a colonisé aussi le biofilm anodique (5,7 %). Le rôle de cette espèce dans la décoloration du colorant textile diazoïque bleu acide 113 a été rapporté dans l'étude de Joshi et al. (2020). Plusieurs autres espèces appartenant à ce genre ont été identifiées comme des espèces capables de réduire les colorants azoïques. A titre d'exemple, on cite *Pseudomonas sp.* pour la biodégradation du colorant azoïque textile rouge H-3B (Bera et Tank., 2021) et *Pseudomonas aeruginosa* pour la décoloration du colorant textile diazoïque jaune réactif 145 (Garg et al., 2020). En effet, ces bactéries ont montré des activités significatives d'azoréductase, de laccase et de NADH déshydrogénase, les trois enzymes les plus impliquées dans l'azoréduction. *Clostridiisalibacter paucivorans* qui est considérée une espèce modérément halophile et strictement anaérobie, était aussi présente dans l'inoculum ainsi que, à des taux d'abondance moins importants, dans le milieu réactionnel et le biofilm anodique. Son rôle dans le traitement des colorants azoïques a été récemment rapporté dans l'étude de Guo et al. (2020) qui ont utilisé un consortium bactérien halophile composé de 50 % d'*Halomonas*, 30 % de *Marinobacter* et 20 % de *Clostridiisalibacter*. Ce consortium a conduit à un taux final de décoloration du jaune de métanile de 93,3 %.

Conclusion du chapitre

L'objectif principal du travail présenté dans ce quatrième chapitre était de comprendre les effets synchroniques des différents paramètres qui affectent directement les performances d'un SBE conçu pour le traitement des eaux usées textiles synthétiques et la production d'énergie sous forme d'électricité. Dans cette optique, la méthodologie du plan d'expériences a été utilisée pour optimiser l'impact du matériau de l'anode, de sa surface, de la concentration du co-substrat, et du potentiel imposé, sur les performances du SBE. Les réponses qui ont été suivies sont la production de courant, le taux de décoloration des colorants azoïques et l'abattement de la DCO.

Deux matériaux ont été utilisés comme électrodes de travail, un matériau en carbone (feutre de carbone et tissu de carbone) et un alliage métallique (acier inoxydable). Nos résultats ont montré que les densités de courant les plus élevées et les taux d'élimination les plus importants (abattement de la DCO et décoloration) ont été obtenus avec le feutre de carbone doté de la plus petite surface anodique (6 cm²). D'autre part, quel que soit le matériau d'anode utilisé, la production d'électricité est restée extrêmement faible en l'absence de glucose comme co-substrat. L'ajout du co-substrat à une concentration de 5 ou 10 g/L dans le milieu réactionnel a initié la réaction de co-métabolisme et produit des électrons pour réduire les colorants puis générer de l'électricité. De plus, les densités de courant les plus élevées ont été observées avec des potentiels de -0,1 V vs. ECS et +0,2 V vs. ECS. Le potentiel le plus bas (-0,3 V vs. ECS) a donné des densités de courant légèrement plus faibles en moyenne. Les conditions optimales pour atteindre une production électrique optimale, un abattement de la DCO maximal et une décoloration totale ont été définies comme : une anode en feutre de carbone, une surface anodique de 6 cm², une concentration de glucose de 7 g/L et un potentiel appliqué de -0,1 V vs. ECS. Dans ces conditions, le modèle prédictif a suggéré une production maximale de courant de l'ordre de $4,9 \pm 0,2$ A/m², un taux de décoloration de 96 ± 3 %, et un taux d'abattement de la DCO d'environ 94 ± 2 %.

Afin de s'assurer que les conditions optimales prédites par le plan d'expériences produisent effectivement les résultats escomptés et de valider la robustesse du modèle prédictif qui a été établi et vérifier la répétabilité des résultats expérimentaux, une expérience en appliquant les conditions optimales a été réalisée. Cette expérience a permis d'enregistrer une densité de courant maximale de $5,2 \pm 0,4$ A/m², un taux de décoloration de 100 % et un taux d'abattement de la DCO de 96 ± 1 %. La comparaison entre les réponses théoriques du modèle prédictif et les réponses expérimentales montre des différences de 0,3 A/m² pour la densité de courant

générée, 4 % pour la décoloration et 2 % pour l'abattement de la DCO. Ces résultats indiquent la validité du modèle théorique utilisé.

Par ailleurs, des écarts types d'environ 8 %, 1 % et 1 % ont été respectivement calculés pour la densité de courant générée, la décoloration et l'abattement de la DCO entre les trois répétitions. Ces résultats indiquent une faible variabilité pour le taux de décoloration et l'abattement de la DCO, soulignant une cohérence élevée entre les différentes itérations. En revanche, la densité de courant maximale a présenté une variabilité plus prononcée, démontrant ainsi une dispersion plus importante par rapport à la moyenne.

De plus, en comparant le spectre FTIR de l'échantillon traité à celui de l'échantillon initial, une diminution significative du pic d'absorption lié aux vibrations azoïques a été constatée, spécifiquement à la longueur d'onde $1592,44 \text{ cm}^{-1}$. Cette diminution marquée témoigne de manière évidente de la rupture de la liaison azoïque dans l'échantillon traité et confirme les résultats de l'abattement de la DCO.

L'introduction d'un co-substrat dans la composition du milieu réactionnel a suscité une compétition entre les électrons que ce soit pour le clivage de la liaison azoïque ou le transfert d'électrons vers l'électrode, induisant ainsi la décoloration et puis la génération d'un courant électrique. L'ajout du co-substrat dans la composition du milieu réactionnel a favorisé le déclenchement d'une réaction de co-métabolisme, conduisant à l'obtention d'un taux maximal de décoloration.

La comparaison de la diversité des communautés bactériennes a montré une différence entre la communauté hébergée dans le SCD qui a servi d'inoculum (avant traitement) et les communautés présentes au niveau du milieu réactionnel et du biofilm EA (à la fin du traitement). L'espèce bactérienne *Orenia metallireducens*, dont les propriétés liées à l'azoréduction n'ont jamais été mentionnées dans la bibliographie, a été identifiée au niveau des trois matrices étudiées (inoculum, milieu réactionnel et biofilm) comme une espèce majoritaire (de 24 % à 60 %).

Cette espèce pourrait jouer un rôle significatif dans la biodégradation des colorants azoïques. L'isolement de cette espèce bactérienne dominante et l'analyse individuelle de sa capacité à biodégrader les colorants et à produire du courant sont indispensables pour confirmer ces hypothèses. En outre, *Desulfovibrio senezii* et *Geotoga subterranea* étaient exclusivement présentes dans le milieu réactionnel et le biofilm anodique. Les espèces bactériennes du genre *Desulfovibrio* ont été largement associées au traitement des eaux usées contenant des colorants

azoïques et se distinguent par leur abondance de cytochromes c liés à la membrane, jouant un rôle dans le transfert extracellulaire direct d'électrons.

Les recherches présentées dans ce chapitre dévoilent plusieurs pistes prometteuses pour les travaux futurs. En effet, il demeure essentiel de valider les paramètres optimisés en utilisant des eaux usées industrielles réelles, qui peuvent présenter une complexité différente. En effet, les eaux usées industrielles réelles sont souvent plus complexes sur le plan de la composition chimique, et surtout biologique, que les effluents synthétiques artificiellement créés en laboratoire. Ces eaux peuvent renfermer une diversité considérable de composés, notamment des colorants (azoïques ou non azoïques), des auxiliaires de teinture, des agents de blanchiment, des détergents et des métaux lourds toxiques. De surcroît, les eaux usées industrielles peuvent contenir des substrats organiques plus complexes que le glucose utilisé dans les eaux usées synthétiques, ce qui pourrait également exercer une influence sur les performances finales du SBE. Ainsi, tester le SBE dans des conditions réelles d'eaux usées industrielles est essentiel pour garantir son efficacité dans des environnements plus représentatifs.

Chapitre V

Validation des conditions optimales avec des eaux usées textiles industrielles réelles

Introduction

Pour les travaux présentés dans le chapitre précédent, plusieurs optimisations des conditions opératoires qui peuvent entrer en jeu dans les performances d'un SBE conçu pour le traitement des eaux usées textiles synthétiques ont été réalisées en utilisant la méthodologie des plans d'expériences. Pour rappel, les conditions optimales prédites par le modèle statistique ont permis d'obtenir une décoloration totale, un taux d'abattement de la DCO de l'ordre de 96 % et une densité de courant qui a dépassé 5 A/m².

Il est à noter que les eaux usées synthétiques artificiellement créées au laboratoire sont souvent des milieux à la composition bien définie qui ne reflètent pas la complexité réelle des eaux usées industrielles textiles. Les expériences de traitement des eaux usées textiles dans des SBE ont été dans la plupart des études antérieures menées dans des conditions physico-chimiques qui ne représentent pas la réalité de ces eaux usées et généralement en présence d'un seul colorant (Solanki et al., 2013 ; Ihsanullah et al., 2020 ; Cui et al., 2021). Les eaux usées textiles réelles sont d'abord caractérisées par une complexité importante dans leurs compositions. La composition chimique de ces eaux usées varie en fonction des étapes spécifiques de production (lavage, rinçage, teinture ou blanchiment) et des produits chimiques utilisés dans l'industrie textile. En effet, ces eaux usées industrielles peuvent contenir divers contaminants, essentiellement des colorants (azoïques ou non azoïques), des auxiliaires de teinture qui facilitent la pénétration des colorants dans les fibres textiles, des agents de blanchiment qui permettent d'avoir des couleurs plus vives, des détergents ou des agents de dégraissage qui permettent d'éliminer les taches et les salissures incrustées dans les fibres et des métaux lourds qui stabilisent les colorants et renforcent leur fixation (Selvaraj et al., 2021).

Une autre différence majeure entre les eaux usées réelles et leurs analogues synthétiques réside dans la complexité de la source de carbone présente dans ces deux types d'eaux usées. En effet, les eaux usées industrielles contiennent des substrats organiques plus complexes que le glucose utilisé dans les eaux usées synthétiques. Il s'agit principalement de l'amidon, de la carboxyméthyl cellulose et du glucomannane. Les eaux usées réelles contiennent d'autres éléments nutritifs essentiels tels que l'azote et le phosphore, pouvant être utilisés par la communauté bactérienne. Cela permet de réduire la nécessité d'ajouter des suppléments nutritionnels dans les eaux usées (Solanki et al., 2013).

D'autre part, les eaux usées réelles peuvent contenir une diversité bactérienne supplémentaire à la communauté des sédiments. Cette communauté est normalement plus résiliente et adaptée

à supporter le stress salin des eaux usées industrielles. Il existe diverses interrogations possibles concernant l'interaction entre la communauté de l'inoculum et celle présente dans les eaux usées. En effet, ces communautés peuvent soit entrer en compétition pour les ressources disponibles, on parle donc d'une relation compétitive soit coexister en synergie afin d'accomplir des fonctions spécifiques, définissant ainsi une relation symbiotique. Ces interactions entre les communautés bactériennes peuvent avoir par conséquent des répercussions sur les performances du SBE en termes d'efficacité de traitement et de production d'électricité.

Les travaux présentés dans ce cinquième chapitre ont pour objectif de valider si les conditions opératoires optimales établies avec des eaux usées synthétiques, comme rapportées dans le chapitre précédent, sont aussi les conditions opératoires optimales pour les eaux usées réelles. Pour ce faire, des échantillons d'eaux usées industrielles réelles ont été utilisés afin de déterminer leurs impacts sur les performances des SBE. Le principal enjeu est d'observer comment le SBE se comporte face à des eaux usées d'origine industrielle qui peuvent présenter une composition chimique bien plus complexe que celle des eaux synthétiques utilisées précédemment. Les performances du SBE ont été évaluées en termes de production de courant, de décoloration des colorants et d'abattement de la DCO.

1. Approche expérimentale

Les expérimentations ont été réalisées avec les mêmes dispositifs expérimentaux détaillés dans les chapitres précédents. Les biofilms ont été formés dans des SBE de volume final de 750 ml. Chaque SBE a été inoculé avec 80 % d'eaux usées réelles (récupérées en septembre 2022 auprès de notre partenaire industriel Global-Wash) et 20 % de l'inoculum SCD. Ces expériences avec les eaux usées réelles ont été menées en absence d'un apport supplémentaire de co-substrat et en utilisant les conditions opératoires optimales que nous avons obtenues grâce aux travaux d'optimisation de la performance de l'anode microbienne présentés dans le chapitre précédent. Ces conditions sont rappelées dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Conditions opératoires optimales obtenues par l'optimisation des performances du SBE alimenté avec des eaux usées synthétiques.

Concentration initiale de colorant	Matériau anodique	Surface anodique	Potentiel	Co-substrat
0,3 g/L	Feutre de carbone	6 cm ²	-0,1 V vs. ECS	7 g/L

2. Résultats

2.1. Effets des eaux usées réelles sur la production de courant

La chronoampérométrie visant à suivre la densité de courant générée au cours du temps a été conduite en triplica. La polarisation des électrodes de travail a été maintenue pendant une période qui a varié de 34 à 40 jours pour les différents réplicas (Figure 1).

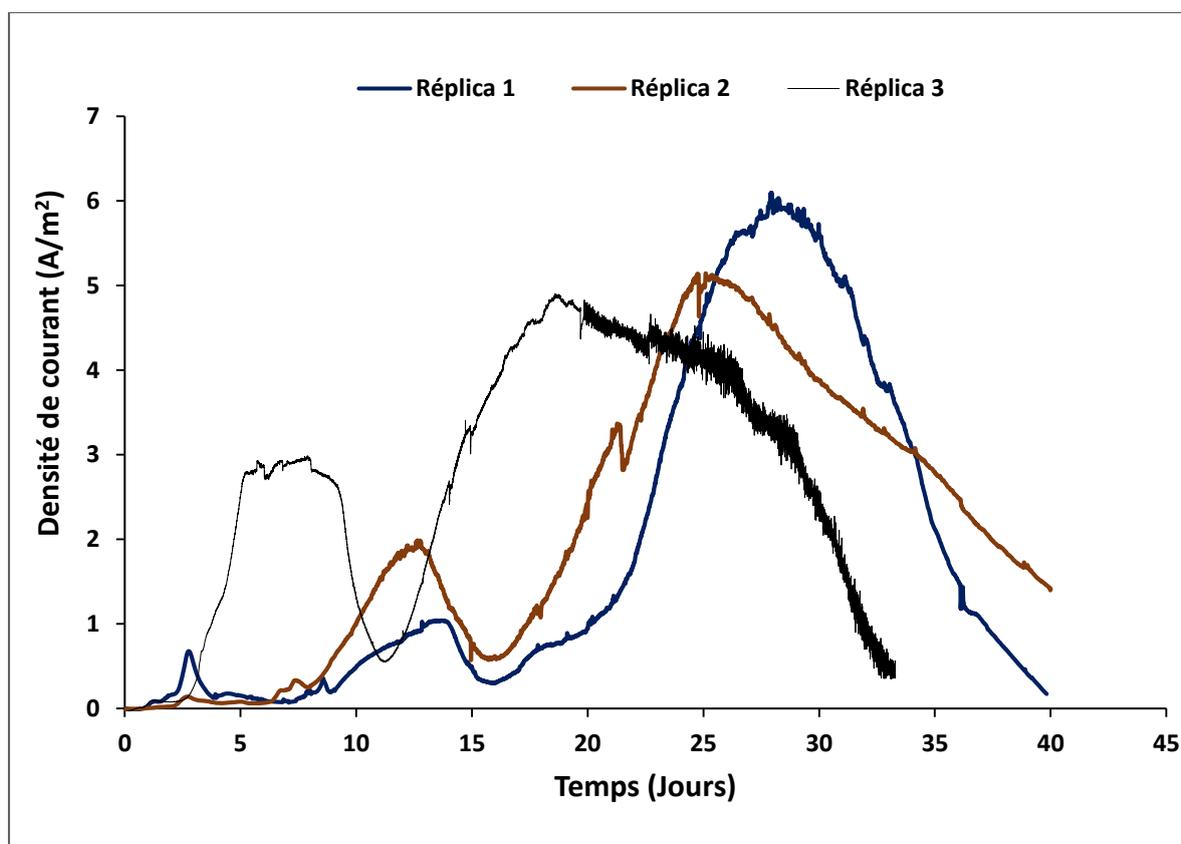


Figure 1 : Evolution de la densité de courant (A/m^2) en fonction du temps (jours) enregistrée sur l'électrode de travail en feutre de carbone de 6 cm^2 polarisée à $-0,1\text{ V vs. ECS}$ pour des expériences de traitement des eaux usées réelles dans un SBE.

Une première phase de génération de courant a été obtenue durant les deux premières semaines d'expérience. La densité de courant maximale était de l'ordre de $1,9 \pm 0,9\text{ A/m}^2$ et elle a été observée entre le jour 7 et le jour 14 en fonction des expériences. La densité de courant a ensuite chuté pour atteindre des valeurs situées entre $0,3$ et $0,6\text{ A/m}^2$ à la suite de cette première phase. La deuxième phase de génération de courant a été observée à partir du 16^{ème} jour pour les réplicas 1 et 2 et à partir du 11^{ème} jour pour le réplica 3. Une densité de courant maximale trois

fois plus importante que celle enregistrée durant la première phase, c'est à dire environ $5,2 \pm 0,6 \text{ A/m}^2$, a été observée entre le jour 17 et le jour 30. Après, les densités de courant ont commencé à diminuer progressivement (Figure 1). En comparant avec l'allure des courbes chronoampérométriques obtenues avec les eaux usées textiles synthétiques, on constate une similarité dans le nombre de phase de génération de courant. Aussi, la densité de courant maximale moyenne obtenue ici avec les eaux usées réelles était similaire à celle déjà observée avec des eaux usées synthétiques supplémentées avec une concentration de glucose supérieure à 5 g/L.

La charge Q renseigne sur la quantité totale de charge électrique échangée entre les électrodes à un moment de l'expérience. En d'autres termes, elle mesure la quantité d'électrons qui ont circulé dans le SBE à un moment précis de l'expérience. A la fin des expériences, la charge Q calculée pour les trois répliques représentait entre 3900 C et 4500 C.

Une nouvelle expérience (réplica 4) a été réalisée pour effectuer des voltammétries cycliques (CV) à différents temps stratégiques (VC 1, VC 2, VC 3, VC 4). En d'autres termes, cette expérience visait à étudier les variations de courant en fonction du potentiel électrochimique à différents moments durant la chronoampérométrie (VC 1 lorsque la densité de courant est presque nulle, VC 2 et VC 3 lorsque le biofilm commence à se former, et VC 4 lorsque la densité de courant est quasi maximale) (Figure 2).

Dans l'ensemble, l'allure de la CA est comparable à celle observée avec les trois premiers répliques. Une première phase de génération de courant a été détectée au cours des 13 premiers jours de l'expérience, suivie d'une diminution du courant généré. À partir du jour 14, une deuxième phase de génération de courant a été enregistrée, atteignant son maximum le jour 23 avec une densité de courant de $6,6 \text{ A/m}^2$.

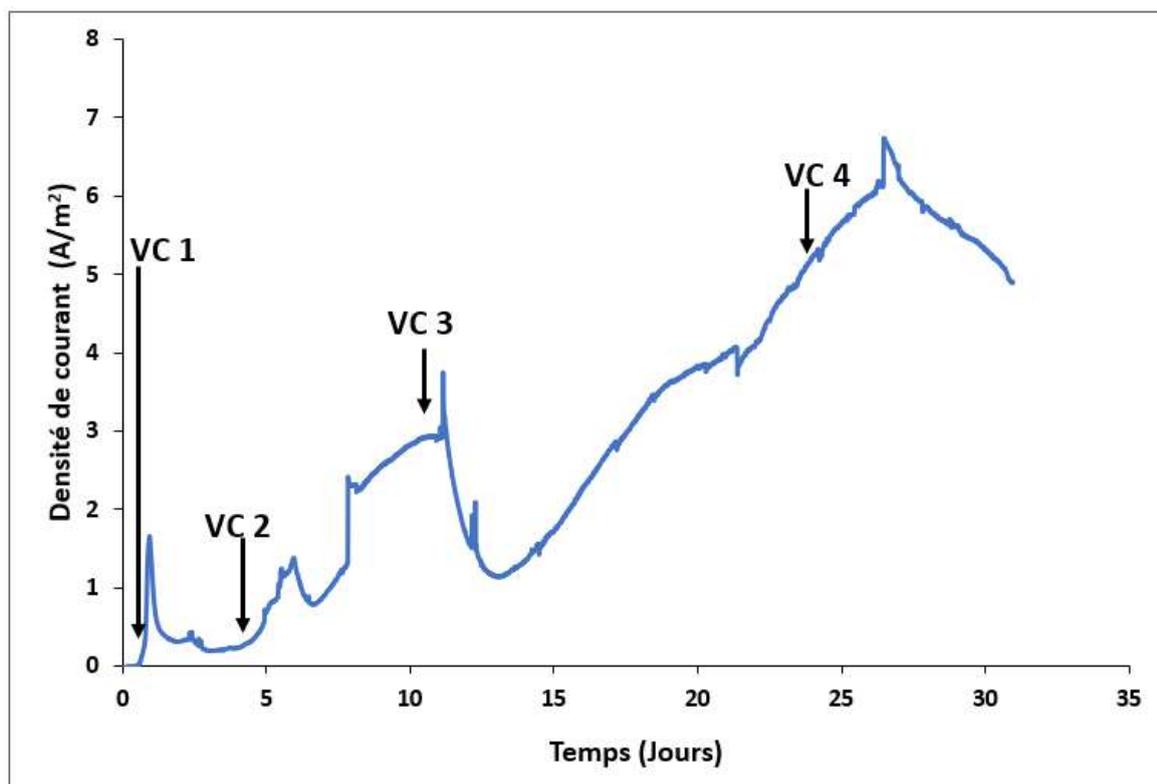


Figure 2 : Evolution de la densité de courant (A/m^2) en fonction du temps (jours) enregistrée sur l'électrode de travail en feutre de carbone de 6 cm^2 polarisée à $-0,1\text{ V vs. ECS}$ pour l'expérience de traitement des eaux usées réelles (Réplica 4) dans un SBE, cette expérience a été interrompue plusieurs fois pour réaliser des VC.

Pour la première VC réalisée au début de l'expérience (VC 1) sur une fenêtre de potentiels allant de $-0,6\text{ V}$ à $+0,3\text{ V vs. ECS}$, seul un courant de réduction a été détecté. Celui-ci augmente jusqu'à la limite inférieure de potentiel de $-0,6\text{ V vs. ECS}$ (Figure 3). Ce courant correspond probablement à la réduction de l'oxygène soluble résiduel qui n'a pas été entièrement chassé des eaux usées réelles par le barbotage de l'azote gazeux. Ce barbotage est pourtant systématiquement réalisé pendant 20 minutes en amont des expériences afin d'établir des conditions anoxiques.

La deuxième et la troisième voltammétrie cyclique (VC 2 et VC 3) ont été réalisées respectivement les jours 4 et 11 de l'expérience. Le biofilm a commencé à se former et des densités de courant maximales de 9 à 10 A/m^2 ont été obtenues entre $+0,1\text{ V vs. ECS}$ et $+0,3\text{ V vs. ECS}$.

La VC 4 réalisée le jour 24, quand la densité de courant générée par CA a atteint $5,2\text{ A/m}^2$, a montré un courant d'oxydation visible pour des potentiels supérieurs à $-0,4\text{ V vs. ECS}$. Ce courant a continué à augmenter de $-0,4\text{ V vs. ECS}$ à $+0,2\text{ V vs. ECS}$ (Figure 3). Au-delà de ces

valeurs de potentiel, c'est-à-dire pour des potentiels plus positifs, la limite en courant du potentiostat a été atteinte et une densité de courant constante de 17 A/m^2 a été observée entre $+0,1 \text{ V vs. ECS}$ et $+0,3 \text{ V vs. ECS}$.

Le courant mesuré par VC à $-0,1 \text{ V vs. ECS}$ ($6,3 \text{ A/m}^2$) est légèrement supérieur à celui mesuré en condition stationnaire quand la CA a été arrêtée ($5,2 \text{ A/m}^2$). Dans le même sens, les travaux de Ketep et al. (2012) ont aussi montré dans un SBE alimenté avec des effluents papetiers un courant mesuré par VC à $-0,3 \text{ V vs. ECS}$ de l'ordre de $6,5 \text{ A/m}^2$ qui était supérieur à celui mesuré en CA ($4,5 \text{ A/m}^2$). Les auteurs ont attribué cette différence par le fait que la voltammétrie a été réalisée sur une pente ascendante de la CA et a débuté par un balayage en réduction. Le balayage en réduction présente en effet une densité de courant similaire à celle observée sur la CA au potentiel de $-0,3 \text{ V vs. ECS}$, alors que le balayage retour (en oxydation) deux heures plus tard, donne un courant plus élevé ($6,5 \text{ A/m}^2$) à $-0,3 \text{ V vs. ECS}$. Ils ont supposé que le biofilm a poursuivi sa croissance ou son développement durant les deux heures de la réalisation de la VC. D'après la bibliographie, les eaux usées réelles utilisées pour alimenter les SBE sont soit des eaux usées domestiques, soit des eaux usées industrielles (brasseries, laiteries, raffineries, textiles). Les densités de courant les plus élevées enregistrées sont $12,3 \text{ A/m}^2$ pour les eaux usées textiles (Askri et al., 2020), $10,7 \text{ A/m}^2$ pour les eaux usées de bioraffinerie (Pannell et al., 2016) et $10,3 \text{ A/m}^2$ pour celles issues de brasseries (Yu et al., 2015). Cependant, pour les SBE alimentés par des eaux usées domestiques, les densités de courant les plus élevées obtenues sont seulement de $6,4 \text{ A/m}^2$ (Hoareau et al., 2021), $3,8 \text{ A/m}^2$ (Ullery et Logan, 2015) et $3,5 \text{ A/m}^2$ (Blanchet et al., 2016).

En effet, les eaux usées industrielles sont caractérisées par des concentrations de DCO beaucoup plus élevées, comprises entre 5 000 et 12 000 mg/L (Rajeshwari et al., 2000), par rapport aux eaux usées domestiques, qui se situent dans une fourchette beaucoup plus basse, entre 320 et 740 mg/L (Almeida et al., 1999). Cette variation de la charge organique dans les deux types d'eaux usées a donc un impact direct sur les densités de courant générées.

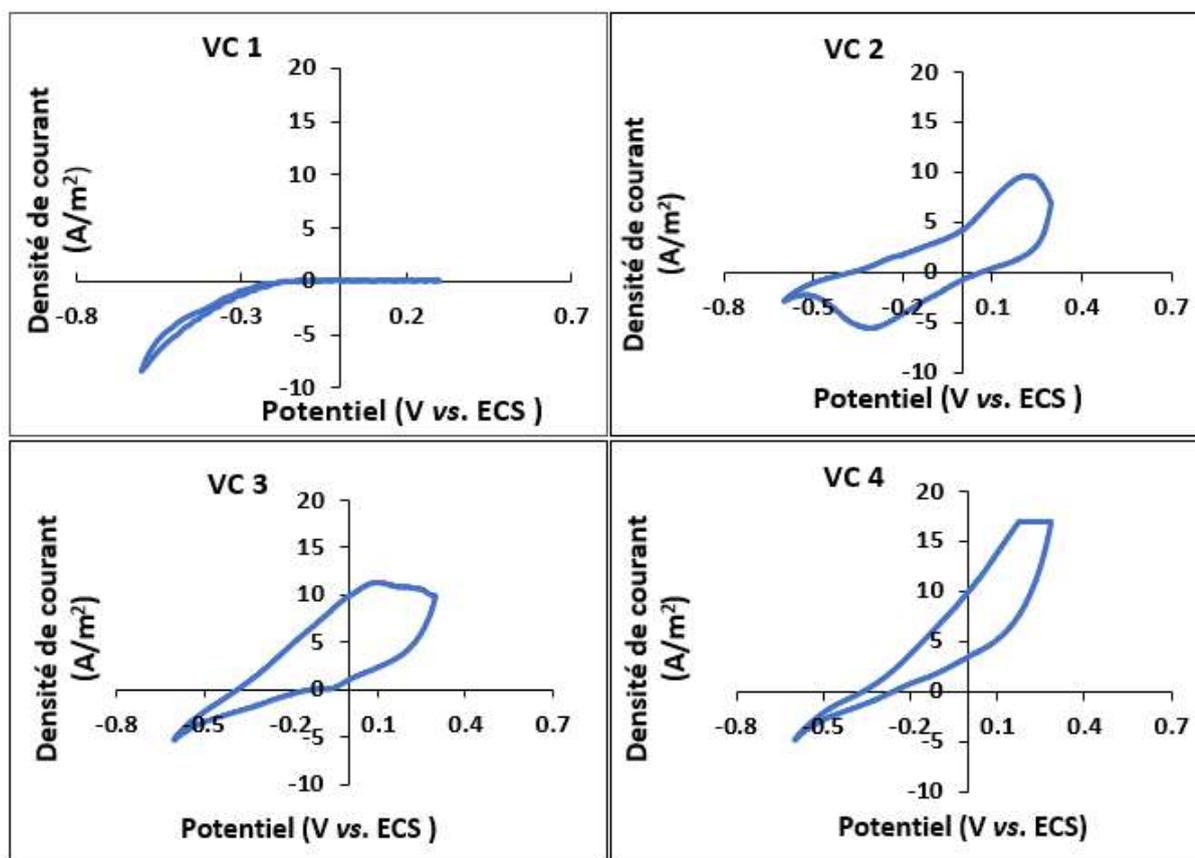


Figure 3 : Voltammétries cycliques enregistrées sur l'électrode de travail en feutre de carbone de 6 cm² pour l'expérience de traitement des eaux usées réelles dans un SBE à différents temps stratégiques de la chronoampérométrie.

2.2. Suivi de la décoloration globale par spectroscopie UV-Visible

La spectroscopie UV-Visible est utilisée pour suivre les taux de décoloration globale des colorants azoïques contenus dans les eaux usées textiles au cours du temps. Les colorants azoïques, comme décrit auparavant, absorbent certaines radiations contenues dans le spectre visible qui s'étend de 350 à 700 nm. Il est important de signaler que l'absorbance maximale observée à 600 nm représente l'absorbance intégrale de l'ensemble des molécules azoïques existants dans l'échantillon. (Figure 4). Nous présentons ici les résultats observés avec le premier réplica. La comparaison du spectre d'absorption entre le jour 0 et le jour 8 de l'expérience révèle un taux de décoloration de 93 % ce qui indique que les bandes azoïques centrées à 600 nm ont considérablement diminué après traitement dans le SBE. Le pic à 320 nm qui a diminué après traitement dans le SBE, indique selon la bibliographie la dégradation des groupes amines ($-NH_2$) sur les cycles aromatiques des molécules azoïques existantes dans les eaux usées industrielles (Li et al., 2010).

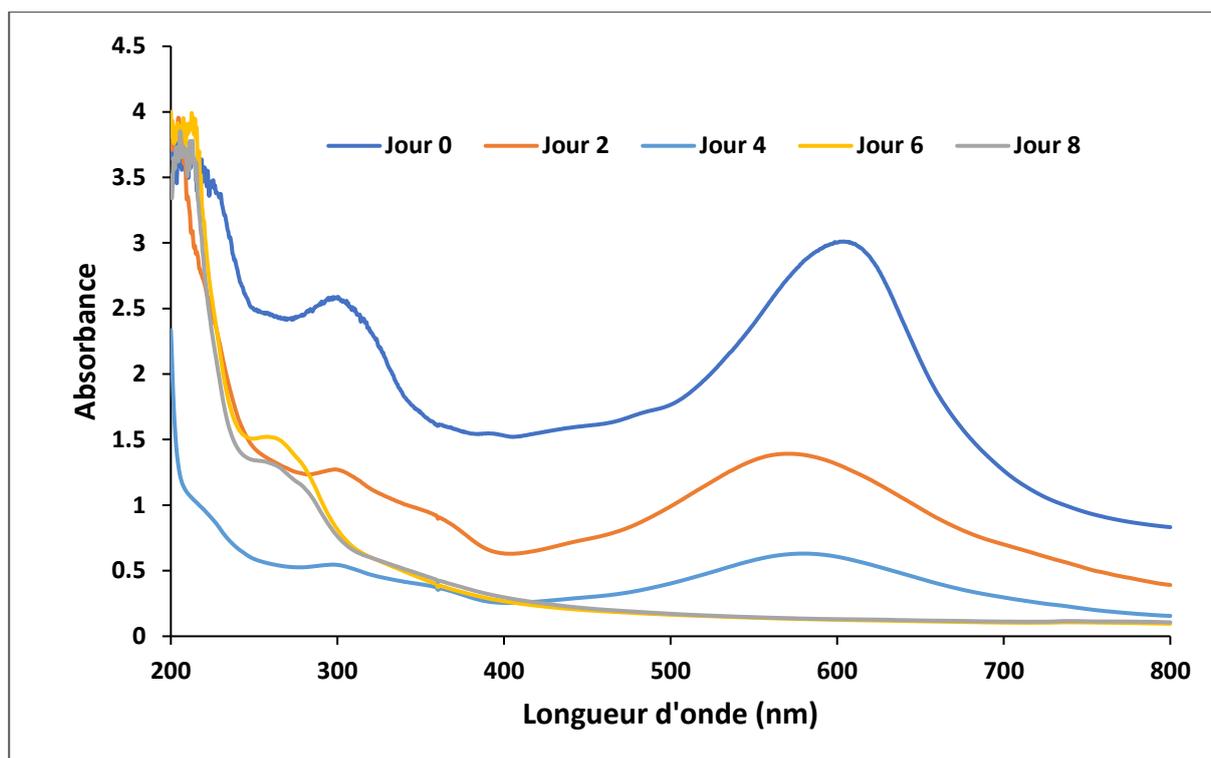


Figure 4 : Spectre d'absorption UV-Visible pour le suivi de la décoloration dans le SBE alimenté avec des eaux usées textiles réelles. Ce suivi a été réalisé sur le réplica 1.

Très peu d'études ont étudié la décoloration dans des eaux usées textiles. Généralement, l'efficacité de traitement de ces eaux usées est jugée par rapport à la diminution de la DCO et la DBO. La décoloration était souvent suivie quand il s'agissait d'eaux usées synthétiques contenant un ou plusieurs colorants dont la longueur d'onde maximale d'absorption était identifiée. Cependant, il existe dans la bibliographie quelques exceptions, à titre d'exemple l'étude de Kalathil et al. (2012) qui ont conçu un SBE qui intègre comme électrode des granules de carbone activé pour la décoloration des eaux usées textiles industrielles réelles. Ces recherches ont abouti à un taux final de décoloration de l'ordre de 77 % mesuré après 48 heures de fonctionnement du SBE en utilisant la méthode standard platine-cobalt (Kalathil et al., 2012). Dans le même sens, Aravind et al. (2016) qui ont utilisé un traitement séquentiel des eaux usées textiles industrielles (biologique et électrochimique) ont enregistré, après 24 heures, une décoloration globale de l'ordre de 95 %. En outre, l'étude de Selim et al. (2019) a aussi étudié le traitement des eaux usées textiles réelles dans un SBE. Les bactéries enrichies ont été prétraitées par exposition à un rayonnement gamma de 1 KGy afin d'établir une étude comparative entre les cellules traitées et les cellules non traitées. Les résultats ont indiqué que le prétraitement par rayonnement gamma a favorisé la formation d'un biofilm, ainsi qu'une

augmentation de la perméabilité des cellules et de la production de substances polymériques extracellulaires (EPS), ce qui s'est reflété par un taux de décoloration élevé d'environ 96 %, comparé à 60 % pour les cellules non traitées.

Il semble inapproprié de comparer les taux de décoloration obtenus avec ces travaux. En effet, il est essentiel de prendre en considération les différentes conditions opératoires dans lesquelles les expériences ont été menées. Les variations à prendre en compte englobent l'inoculum utilisé, le matériau des électrodes employées, leurs quantités de surface, le potentiel imposé à l'électrode de travail et la nature et la concentration du co-substrat.

En outre, le balayage spectral initial n'a pas pu fournir une caractérisation complète des colorants présents dans les eaux usées réelles, restreignant ainsi la possibilité de comparer les taux de décoloration obtenus avec les eaux usées synthétiques qui ont été rapportés dans les chapitres précédents.

2.3. Suivi de l'abattement de la DCO

La DCO a été mesurée pendant les 40 jours de la chronoampérométrie pour le premier réplica (Figure 5).

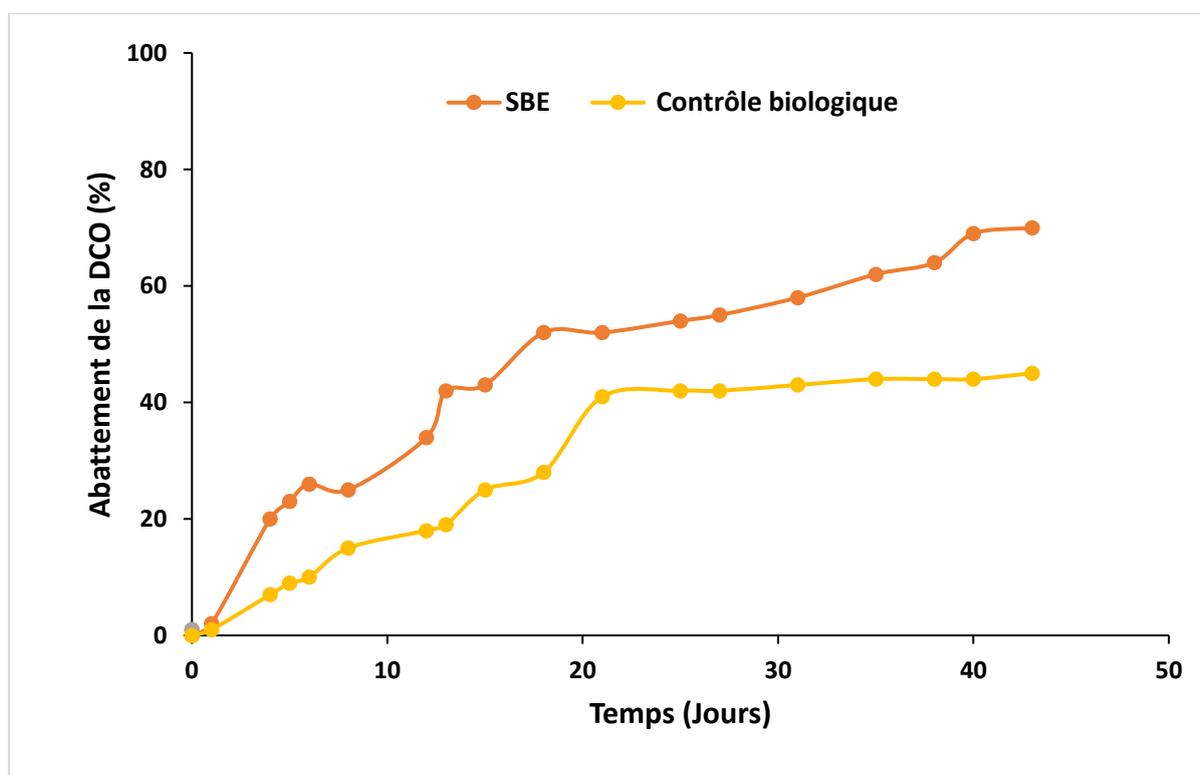


Figure 5 : Variation de la demande chimique en oxygène (DCO) au cours du temps observée avec le réplica 1 de traitement des eaux usées réelles.

La DCO initiale mesurée le premier jour de l'expérience était de 6500 mg/L. A la fin de la première semaine, un taux d'abattement de la DCO de l'ordre de 26 % a été enregistré parallèlement au début de la première période de génération de courant. La densité de courant maximale enregistrée durant cette semaine n'a pas dépassé 0,7 A/m².

Durant la deuxième semaine, les densités de courant commencent à augmenter pour atteindre 1,0 A/m². Le taux d'abattement de la DCO vers la fin de cette semaine était de l'ordre de 43 %. Les semaines 3, 4 et 5 représentent la période de l'apparition de la deuxième phase de génération de courant, un courant maximal qui a dépassé 6,0 A/m² a été enregistré vers le 30^{ème} jour de l'expérience. A la fin de la 5^{ème} semaine, un taux d'abattement de 61 % de la DCO a été observé. La dernière semaine (semaine 6) correspond à une chute brutale des densités de courant lorsque la DCO passe en dessous de 1950 mg/L. La densité de courant a passé de 5,0 A/m² à des valeurs inférieures à 0,5 A/m² entre les jours 38 et 40 de l'expérience. Le taux d'abattement final à la fin de l'expérience était de 71 % (Tableau 2).

Tableau 2 : Evolution hebdomadaire de la DCO et de la densité de courant pour le réplique 1.

Paramètre	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3	Semaine 4	Semaine 5	Semaine 6
DCO initiale (mg/L)	6504	4830	3138	3060	2700	2424
DCO (mg/L)	4818	3660	3114	2946	2484	1956
Densité de courant (A/m²)	0,7	1,0	1,3	6,1	-	-
Abattement de la DCO (%)	26	43	52	54	61	71

Au niveau du contrôle biologique sans électrode polarisée, le taux d'abattement de la DCO à la fin de l'expérience était de l'ordre de 44 %, cela indique une différence de 25 % d'abattement par rapport au SBE. D'après la bibliographie sur le traitement biologique des eaux usées textiles réelles, les taux d'abattement de la DCO obtenus sont très variables et différent d'une étude à une autre. Ferraz et al. (2011), Amaral et al. (2014) et Baeta et al. (2015) ont respectivement rapporté des taux d'abattement de la DCO de l'ordre de 86 %, 96 % et 94 % dans des réacteurs biologiques utilisant le traitement séquentiel anaérobie-aérobie. En revanche, le traitement

anaérobie, seul, permet d'atteindre des taux d'abattement de la DCO moins importants, soit environ 64 %, 30 % et 90 %.

Plusieurs autres études antérieures (Mansour et al., 2011 ; Solanki et al., 2013 ; Ilamathi et Jayapriya., 2018) ont mis en évidence que la dégradation complète ou la minéralisation des colorants azoïques par les bactéries englobe deux étapes : une azoréduction anaérobie suivie d'une oxydation aérobie des amines aromatiques issus de l'azoréduction. Concrètement, le traitement séquentiel offre un avantage significatif en favorisant une synergie entre les bactéries anaérobies et aérobies. Par exemple, les produits de dégradation de l'activité anaérobie (tels que les acides gras volatils) peuvent servir de substrat pour les bactéries aérobies, favorisant ainsi une dégradation plus complète des composés organiques.

La comparaison entre nos résultats et ceux obtenus par les méthodes de traitement séquentiel et le traitement anaérobie suggère que le traitement bioélectrochimique se positionne, en l'état actuel de son développement, entre le traitement séquentiel anaérobie-aérobie et le traitement anaérobie en termes d'abattement de la DCO des eaux usées textiles.

Rappelons que dans nos travaux, le traitement bioélectrochimique a abouti à un abattement de 71 % de la DCO. Bien que cet abattement soit inférieur aux résultats obtenus par le traitement séquentiel aérobie-anaérobie, il semble offrir, en moyenne, un taux d'abattement supérieur par rapport au traitement anaérobie seul. Il convient de noter que le taux d'abattement de la DCO obtenu avec les travaux du chapitre III en utilisant des eaux usées réelles et le SCD comme source d'inoculum était de l'ordre de 84 %. De même, l'étude d'Askri et al. (2020) avait déjà permis d'enregistrer un taux d'abattement de la DCO comparable à celui observé avec le traitement séquentiel (91 %). En examinant les conditions opératoires sous lesquelles ces trois expériences ont été conduites, toutes ces expériences ont pourtant été menées de manière quasi-identique, c'est-à-dire avec les mêmes paramètres opératoires (la source d'inoculum, le matériau et la surface de l'électrode, le potentiel imposé à l'électrode de travail, et la température). La seule vraie variable entre ces expériences est la nature des eaux usées réelles introduites dans le SBE.

Cette observation soulève des interrogations quant à la pertinence de la comparaison de l'efficacité entre les différentes méthodes, étant donné que les résultats peuvent varier considérablement en fonction des conditions spécifiques de l'étude, notamment la composition des eaux usées. Ces dernières présentent généralement une concentration de colorants, une salinité et une composition chimique variables, dépendant du type de tissu ou de l'article traité.

Le taux d'abattement final de la DCO obtenu avec les eaux usées synthétiques dans les travaux présentés dans le chapitre IV (96 %) est supérieur au taux d'abattement final observé avec les eaux usées réelles (71 %). La comparaison n'est pas réellement pertinente dans ce cas, car le déclencheur de la réaction de co-métabolisme, à savoir le "donneur d'électrons", diffère. Dans les eaux usées textiles synthétiques, le donneur d'électrons est le glucose, l'une des molécules les plus facilement métabolisées par les bactéries (Kawada-Matsuo et al., 2016). En revanche, dans les eaux usées réelles, l'identité exacte du donneur d'électrons n'est pas toujours clairement établie. Des études antérieures ont rapporté qu'il s'agit essentiellement de l'amidon et leurs dérivés tels que la maltodextrine et le glucose, la carboxyméthyl cellulose et le glucomannane. (Document de référence sur les meilleures techniques disponibles dans l'industrie textile, Commission européenne, 2003)

Conclusion du chapitre

Ce dernier chapitre a été consacré à la validation des conditions opératoires optimisées avec des eaux usées textiles réelles. En d'autres termes, l'objectif de cette étude était de voir comment le SBE se comporte face à des eaux usées d'origine industrielle, qui peuvent présenter une composition chimique de celles des eaux synthétiques.

Les expériences ont été réalisées dans le même dispositif expérimental avec le SCD comme source d'inoculum, en utilisant le feutre de carbone de 6 cm² de surface comme matériau d'électrode et en appliquant un potentiel de -0,1 V vs. ECS, sans ajouter de co-substrat. Les courbes chronoampérométriques ont montré une tendance similaire à celle déjà obtenue avec les eaux usées synthétiques. En effet, deux phases de production de courant ont été identifiées, la seconde générant un courant d'oxydation trois fois supérieur à la première. Une densité de courant maximale dépassant 5 A/m² a été obtenue, parallèlement à un taux d'abattement de la DCO final de 71 % et un taux de décoloration finale de l'ordre de 93 %. Le taux d'abattement de la DCO dans le SBE a été plus important que celui observé dans le réacteur biologique, confirmant ainsi les résultats et les conclusions des chapitres précédents concernant l'influence de l'électrode polarisée sur le traitement des eaux usées industrielles.

La comparaison entre le taux d'abattement final de la DCO obtenu avec les eaux usées textiles synthétiques et celui obtenu avec les eaux usées industrielles ne semble pas pertinente, même si ces deux expériences ont été réalisées avec les mêmes dispositifs expérimentaux et avec les mêmes conditions opératoires. En effet, les eaux usées textiles synthétiques ont été artificiellement créées avec un seul donneur d'électrons facilement métabolisable, contrairement aux eaux usées réelles qui contiennent une charge organique plus complexe accompagnée d'autres composés tels que des agents de fixation, des agents de blanchiment, des métaux lourds et des détergents. Ces composés chimiques augmentent la charge de DCO mais ils sont aussi majoritairement connus pour leurs effets néfastes sur les microorganismes ou les biofilms. En effet, certains métaux lourds tels que l'aluminium, l'arsenic, le sélénium le plomb, le cadmium, le chrome, le mercure et l'argent peuvent inhiber la croissance et l'activité bactérienne, réduisant ainsi leur capacité à dégrader les molécules récalcitrantes au niveau des eaux usées (Igiri et al., 2018).

Les expériences de validation présentées dans ce chapitre ont produit des résultats prometteurs à l'échelle du laboratoire, mettant en lumière des paramètres clés tels que le rôle du co-substrat, ainsi que les conditions optimales favorisant la formation d'une bioanode microbienne.

Néanmoins, de nombreux autres aspects nécessitent une exploration, que ce soit en lien avec l'architecture du SBE ou la complexité des eaux usées industrielles.

Certaines perspectives peuvent donc être envisagées à la suite des travaux présentés dans ce chapitre. Les eaux usées textiles réelles contiennent une diversité de contaminants autres que les colorants, il s'agit des agents de fixation, des agents de blanchiment, des métaux lourds et des détergents. Les recherches futures devront donc se concentrer sur la compréhension et le traitement spécifiques de ces contaminants.

Les analyses des communautés bactériennes présentes dans l'inoculum initial, les eaux usées réelles, le biofilm EA et le milieu réactionnel réel, ainsi que leur comparaison avec celles des chapitres précédents réalisées avec des eaux usées synthétiques, méritent d'être examinées de manière approfondie. Ces analyses peuvent mettre en lumière l'impact des communautés bactériennes déjà présentes dans les eaux usées réelles et leur interaction avec la communauté de l'inoculum initial. En effet, ces comparaisons peuvent offrir une perspective essentielle sur la dynamique des populations bactériennes au sein des différentes matrices du SBE. Elles peuvent également déterminer dans quelle mesure les conditions réelles influent sur la composition et l'activité des communautés bactériennes, par rapport à celles observées dans un milieu synthétique.

Comme présenté dans le chapitre I de ce manuscrit, les rejets des eaux usées textiles contenant des molécules toxiques récalcitrantes dans les cours d'eau, les lacs ou les océans peuvent avoir des effets nuisibles sur les écosystèmes aquatiques. L'impact écotoxicologique du traitement bioélectrochimique des eaux usées textiles industrielles pourraient faire l'objet d'une étude annexe complémentaire. Son objectif premier serait de démontrer que la technologie SBE diminue réellement la toxicité des effluents textiles. En fonction du niveau de la réduction de cette toxicité, une réflexion stratégique sur la gestion des eaux et effluents (rejets, recyclage, réutilisation) pourrait même être menée par la filière textile afin de réduire son empreinte environnementale.

Enfin, en vue du développement technologique du SBE, le passage d'un réacteur de petit volume (moins de 1 litre) à un démonstrateur continu d'une dizaine de litres par exemple, pourrait représenter une perspective de maturation technologique intéressante pour valider l'applicabilité dans la filière de traitement des eaux usées textiles. En effet, les réacteurs de plus grande taille ont tendance à mieux reproduire les conditions réelles que l'on peut rencontrer sur site industriel.

Conclusion générale et perspectives

Les recherches de cette thèse ont été focalisées sur l'optimisation de performance d'un système bioélectrochimique (SBE) visant à traiter les eaux usées de l'industrie textile tout en générant de l'électricité. Elles ont permis de créer un savoir-faire dans la mise en œuvre et l'optimisation du SBE, tout en établissant une évaluation concernant le potentiel de cette technologie innovante dans le traitement des eaux usées textiles salines contenant des colorants azoïques récalcitrants.

Cette thèse était principalement axée sur l'exploration de l'utilisation des consortia bactériens halothermophiles au sein d'un SBE spécialement conçu pour le traitement des eaux usées textiles caractérisées par une forte salinité. Les bactéries halothermophiles, naturellement adaptées aux environnements salins, sont reconnues pour leur capacité à surmonter le stress salin inhérent aux eaux usées textiles. L'objectif était d'optimiser l'efficacité du SBE en exploitant pleinement les propriétés uniques de ces bactéries halothermophiles, afin de proposer une solution novatrice et performante pour le traitement de ces eaux usées.

Nos premiers travaux ont été consacrés au traitement de deux milieux, synthétiques et réels, en utilisant deux sources d'inoculum microbien (SCD et SSM) pour la décoloration et/ou la dégradation du TB et du BR et la production simultanée de courant électrique. Il est à noter que le SBE a montré les taux de décoloration et les densités de courant les plus élevés à partir de l'utilisation de SCD comme source d'inoculum. En effet, avec le TB, un taux de décoloration de 84 % couplé à la génération d'une densité de courant maximale d'environ $12,0 \text{ A/m}^2$ ont été enregistrés. Toutefois, avec le BR, un taux de décoloration de 99 % accompagné simultanément de la génération d'une densité de courant de l'ordre de $3,6 \text{ A/m}^2$ ont été observés. Nos travaux avec les eaux usées synthétiques ont aussi montré que la présence d'un co-substrat semble être nécessaire pour la réaction de décoloration ainsi que pour la production d'électricité.

Ensuite, nous avons également examiné la comparaison des inocula en utilisant des eaux usées textile réelles non supplémentées avec un co-substrat. Des densités de courants de $2,5 \text{ A/m}^2$ et $0,8 \text{ A/m}^2$ avec des taux d'abattement de la DCO de 85 % et 46 % ont été respectivement obtenus avec SCD et SSM. Ces résultats suggèrent donc que la communauté microbienne hébergée par SCD semble être plus électroactive et plus efficace comparée à celle hébergée par SSM. L'analyse de la communauté bactérienne qui a colonisé les matériaux anodiques a révélé la présence d'une population halotolérante capable de survivre dans les conditions de stress salin

des eaux usées textiles. Les électrodes formées avec le SCD comme source d'inoculum ont été majoritairement colonisées par le genre *Marinobacter*, présent avec des taux d'abondance de 71 % et 50 % dans les biofilms formés dans les eaux usées synthétiques contenant respectivement du TB et du BR. Ce genre bactérien semble être prometteur pour la conception de bioanodes halotolérantes.

En outre, il a été constaté que le traitement des eaux usées réelles n'exige pas forcément l'ajout d'un co-substrat pour amorcer la réaction de co-métabolisme. En effet, ces eaux usées contiennent naturellement des concentrations élevées de composés organiques qui peuvent jouer le rôle de donneur d'électrons. Il est donc possible d'utiliser ces composés organiques naturellement présents dans ces eaux usées industrielles pour initier la réaction de co-métabolisme, sans recourir à l'ajout de co-substrats externes. Cette approche permettrait de diminuer les coûts et la complexité associées au traitement des eaux usées industrielles.

Pour la deuxième partie de ce travail, les effets synchroniques des paramètres qui affectent directement la performance d'un SBE conçu pour le traitement des eaux usées textiles synthétiques et la production d'électricité, ont été étudiés en utilisant la méthodologie du plan d'expériences. Cette approche méthodologique permet d'optimiser les paramètres opérationnels du SBE tout en réduisant au minimum le nombre d'essais nécessaires. Quatre paramètres ont été étudiés, à savoir le matériau de l'anode, sa surface, la concentration du co-substrat, et la valeur du potentiel imposé à l'électrode de travail. Les réponses qui ont été suivies pour évaluer la performance du SBE sont la production de courant, le taux de décoloration des colorants azoïques et l'abattement de la DCO.

A la fin de ces expériences, les conditions optimales définies par le modèle prédictif ont été identifiées pour chaque paramètre. Il s'agit d'un matériau anodique en feutre de carbone, une surface anodique de 6 cm^2 , une concentration de glucose de 7 g/L et un potentiel appliqué de $-0,1 \text{ V vs. ECS}$. Dans ces conditions, les modèles de second ordre ont prédit une production maximale de courant de l'ordre de $4,9 \pm 0,2 \text{ A/m}^2$, un taux de décoloration le plus élevé de $96 \pm 3 \%$ et un taux d'abattement de la DCO d'environ $94 \pm 2 \%$. Pour vérifier que les conditions optimales déterminées par le modèle prédictif génèrent effectivement les résultats attendus, une expérience de vérification a été menée en appliquant ces conditions optimales. Cette expérience a permis d'enregistrer une densité de courant maximale dépassant $5,2 \pm 0,4 \text{ A/m}^2$, un taux de décoloration de 100% et un taux d'abattement de la DCO de $96 \pm 1 \%$. La concordance entre les prédictions théoriques et les observations expérimentales renforce la confiance dans les

résultats obtenus. Par ailleurs, une stabilité et une cohérence élevées entre les différentes répétitions pour le taux de décoloration et l'abattement de la DCO, avec des écarts types relativement faibles de l'ordre de 1 %, ont été rapportées. En revanche, la densité de courant maximale montre une variabilité plus prononcée avec un écart type d'environ 8 %, suggérant une dispersion plus importante par rapport à la moyenne.

La comparaison de la diversité des communautés bactériennes a révélé une différence entre la communauté présente dans l'inoculum SCD et celle observée dans le milieu réactionnel ainsi que dans le biofilm EA (expérience réalisée avec les conditions optimales). L'espèce bactérienne *Orenia metallireducens*, qui n'a jamais été associée auparavant à une quelconque activité d'azoréduction dans la littérature, a été identifiée comme l'espèce prédominante dans les trois matrices étudiées (inoculum, biofilm EA et milieu réactionnel ou électrolyte), représentant de 24 % à 60 % de la communauté bactérienne. Cela suggère que cette espèce pourrait être impliquée dans la dégradation des colorants azoïques avec un potentiel d'électroactivité. Isoler cette espèce bactérienne et conduire une analyse en culture pure représentent une piste d'étude possible pour confirmer sa capacité à dégrader les colorants et évaluer son électroactivité, permettant ainsi la validation de l'hypothèse.

Nos derniers travaux ont été consacrés à la vérification et la validation des conditions opératoires optimales avec des eaux usées industrielles réelles. En effet, les conclusions tirées à partir des tests avec des eaux usées synthétiques peuvent fournir des informations précieuses pour évaluer les mécanismes fondamentaux d'un SBE. Toutefois, pour envisager l'application technologique de ce procédé de traitement, il est surtout essentiel de démontrer que le SBE fonctionne de manière efficace avec des eaux usées réelles.

Dans ce contexte, trois expériences ont été réalisées avec les eaux usées réelles en utilisant le même dispositif expérimental avec le SCD comme source d'inoculum et les mêmes conditions optimales déjà déterminées, à savoir le feutre de carbone de 6 cm² de surface comme matériau d'électrode et en appliquant un potentiel de -0,1 V vs. ECS, sans ajouter de co-substrat. À la fin des expériences, une densité de courant maximale supérieure à 5,2 A/m² a été atteinte, un taux d'abattement de la DCO de 71 % et un taux de décoloration final d'environ 93 %. Le taux d'abattement de la DCO dans le SBE s'est révélé plus élevé que celui observé dans le réacteur biologique sans électrode.

De plus, en examinant de manière comparative la composition d'un milieu synthétique créé artificiellement en laboratoire avec celle des eaux usées textiles prélevées directement d'une

industrie textile, nous avons pu tirer quelques conclusions. En effet, Il semble inapproprié de comparer la performance du SBE obtenues avec ces deux milieux car le donneur d'électrons qui déclenche la réaction de co-métabolisme, diffère. Pour les eaux usées synthétiques, le donneur d'électrons est une molécule modèle, à savoir le glucose qui est l'une des molécules les plus facilement métabolisées par les bactéries. Toutefois, dans les eaux usées réelles, l'identité précise du ou des donneur(s) d'électrons n'est pas toujours clairement définie. Des études antérieures ont indiqué qu'il s'agit principalement d'amidons, de la carboxyméthylcellulose et des glucomannanes.

Quelques perspectives sont donc envisageables à l'issue des travaux présentés dans ce manuscrit de thèse :

Poursuivre l'optimisation des conditions opératoires qui impactent la performance du SBE, en explorant d'autres paramètres tels que la température, le pH et la concentration de sels dans les eaux usées textiles, représente une piste de recherche prometteuse. Considérons, par exemple, le pH des eaux usées textiles, un paramètre qualifié d'hétéroclite en fonction du procédé de teinture utilisé. Ce pH peut adopter des valeurs alcalines, neutres ou acides en fonction des sels et colorants présents dans le bain de teinture. Optimiser ce paramètre peut se faire en optant pour l'utilisation de populations microbiennes capables de dégrader efficacement les colorants azoïques sur une gamme étendue de valeurs de pH. Cela pourrait permettre d'atteindre des performances encore meilleures et d'adapter le SBE à une variété de conditions industrielles.

Explorer plus en détail les mécanismes microbiens impliqués dans le traitement bioélectrochimiques constitue également une voie intéressante à approfondir. L'isolement et la caractérisation d'espèces bactériennes spécifiques, notamment *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*, *Marinobacter sp* et *Orenia metallireducens*, pourraient fournir des connaissances nouvelles sur leurs contributions à la dégradation des colorants azoïques ainsi que sur leurs électroactivités. Par exemple, en analysant les mécanismes enzymatiques ou métaboliques spécifiques à ces bactéries, il serait possible de mieux comprendre comment elles interagissent avec les composés azoïques et quels mécanismes de transfert d'électrons elles adoptent.

Explorer les sous-produits issus de la dégradation des colorants azoïques mériterait une attention particulière lors des futures investigations. L'identification et la caractérisation approfondies de ces sous-produits, principalement constitués d'amines aromatiques, sont essentielles pour évaluer leur impact environnemental et leur éventuelle toxicité.

En partant du constat que certains produits de dégradation des colorants azoïques ne sont éliminés qu'en aérobiose, il paraît alors particulièrement intéressant d'explorer les possibilités de combiner le traitement pas SBE à d'autres méthodes de traitement complémentaires. L'intégration du traitement bioélectrochimique avec d'autres méthodes de traitement des eaux usées peut constituer une stratégie efficace si on souhaite booster encore le taux d'abattement de la DCO. Cette combinaison peut inclure des méthodes de traitement aérobies telles que le traitement biologique aérobie, ainsi que d'autres procédés tels que la photocatalyse ou l'ozonation.

En complément de l'étude approfondie des colorants azoïques, une attention particulière devrait être accordée à l'investigation individuelle d'autres composés polluants présents dans les eaux usées textiles. Ces composés, souvent variés et complexes, peuvent inclure des agents tensioactifs, des agents de blanchiment, des métaux lourds, des solvants organiques (détergents), et d'autres substances chimiques provenant des processus industriels. L'évaluation de la dégradabilité et du devenir de ces polluants lors du traitement bioélectrochimique des eaux usées textiles réelles représente une étape supplémentaire pour une compréhension plus holistique de l'efficacité du traitement par SBE.

Enfin, le passage de la recherche en laboratoire sur le traitement des eaux usées textiles à des mises en œuvre industrielles concrètes s'avère déterminant pour évaluer l'efficacité d'un traitement dans des conditions plus réalistes. Ceci pourrait inclure des collaborations avec des industries textiles pour la mise en œuvre à l'échelle pilote de la technologie.

Références bibliographiques

- Abdallah, M. B.; Karray, F.; Mhiri, N.; Mei, N.; Quéméneur, M.; Cayol, J. L.; Erauso, G.; Tholozan, J. L.; Alazard, D.; Sayadi, S. Prokaryotic Diversity in a Tunisian Hypersaline Lake, Chott El Jerid. *Extremophiles* **2016**, *20* (2), 125–138. <https://doi.org/10.1007/s00792-015-0805-7>.
- Abrevaya, X. C.; Sacco, N.; Mauas, P. J. D.; Cortón, E. Archaea-Based Microbial Fuel Cell Operating at High Ionic Strength Conditions. *Extremophiles* **2011**, *15* (6), 633–642. <https://doi.org/10.1007/s00792-011-0394-z>.
- Agrawal, S.; Tipre, D.; Dave, S. R. Biotreatment of Azo Dye Containing Textile Industry Effluent by a Developed Bacterial Consortium Immobilised on Brick Pieces in an Indigenously Designed Packed Bed Biofilm Reactor. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **2023**, *39* (3), 83. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03521-7>.
- Ajaz, M.; Elahi, A.; Rehman, A. Degradation of Azo Dye by Bacterium, *Alishewanella Sp.* CBL-2 Isolated from Industrial Effluent and Its Potential Use in Decontamination of Wastewater. *Journal of Water Reuse and Desalination* **2018**, *8* (4), 507–515. <https://doi.org/10.2166/wrd.2018.065>.
- Ajaz, M.; Rehman, A.; Khan, Z.; Nisar, M. A.; Hussain, S. Degradation of Azo Dyes by *Alcaligenes Aquatilis* 3c and Its Potential Use in the Wastewater Treatment. *AMB Express* **2019**, *9* (1), 64. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0788-3>.
- Al Amrani, W. A.; Lim, P. E.; Seng, C. E.; Wan Ngah, W. S. Factors Affecting Bio-Decolorization of Azo Dyes and COD Removal in Anoxic–Aerobic REACT Operated Sequencing Batch Reactor. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* **2014**, *45* (2), 609–616. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2013.06.032>.
- Al Mailem, D. M.; Eliyas, M.; Radwan, S. S. Oil-Bioremediation Potential of Two Hydrocarbonoclastic, Diazotrophic *Marinobacter* Strains from Hypersaline Areas along the Arabian Gulf Coasts. *Extremophiles* **2013**, *17* (3), 463–470. <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0530-z>.
- Al Tohamy, R.; Kenawy, E.R.; Sun, J.; Ali, S.S. Performance of a Newly Isolated Salt-Tolerant Yeast Strain *Sterigmatomyces Halophilus* SSA-1575 for Azo Dye Decolorization and Detoxification. *Frontiers in Microbiology* **2020**, *11*, 1163. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01163>.
- Ali, N.; Hameed, A.; Ahmed, S. Physicochemical Characterization and Bioremediation Perspective of Textile Effluent, Dyes and Metals by Indigenous Bacteria. *Journal of Hazardous Materials* **2009**, *164* (1), 322–328. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.08.006>.
- Almeida, M. C.; Butler, D.; Friedler, E. At-Source Domestic Wastewater Quality. *Urban Water* **1999**, *1* (1), 49–55. [https://doi.org/10.1016/S1462-0758\(99\)00008-4](https://doi.org/10.1016/S1462-0758(99)00008-4).
- Amaral, F. M.; Kato, M. T.; Florêncio, L.; Gavazza, S. Color, Organic Matter and Sulfate Removal from Textile Effluents by Anaerobic and Aerobic Processes. *Bioresource Technology* **2014**, *163*, 364–369. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.026>.
- Ameen, F.; Dawoud, T. M.; Alshehrei, F.; Alsamhary, K.; Almansob, A. Decolorization of Acid Blue 29, Disperse Red 1 and CoRed by Different Indigenous Fungal Strains. *Chemosphere* **2021**, *271*, 129532. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129532>.

- Aravind, P.; Subramanyan, V.; Ferro, S.; Gopalakrishnan, R. Eco-Friendly and Facile Integrated Biological-Cum-Photo Assisted Electrooxidation Process for Degradation of Textile Wastewater. *Water Research* **2016**, *93*, 230–241. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.041>.
- Askri, R.; Erable, B.; Etcheverry, L.; Saadaoui, S.; Neifar, M.; Cherif, A.; Chouchane, H. Allochthonous and Autochthonous Halothermotolerant Bioanodes From Hypersaline Sediment and Textile Wastewater: A Promising Microbial Electrochemical Process for Energy Recovery Coupled With Real Textile Wastewater Treatment. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2020**, *8*, 609446. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.609446>.
- Askri, R.; Erable, B.; Neifar, M.; Etcheverry, L.; Masmoudi, A. S.; Cherif, A.; Chouchane, H. Understanding the Cumulative Effects of Salinity, Temperature and Inoculation Size for the Design of Optimal Halothermotolerant Bioanodes from Hypersaline Sediments. *Bioelectrochemistry* **2019**, *129*, 179–188. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2019.05.015>.
- Babanova, S.; Hubenova, Y.; Mitov, M. Influence of Artificial Mediators on Yeast-Based Fuel Cell Performance. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **2011**, *112* (4), 379–387. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.06.008>.
- Badalamenti, J. P.; Krajmalnik Brown, R.; Torres, C. I. Generation of High Current Densities by Pure Cultures of Anode-Respiring *Geothallobacter Spp.* under Alkaline and Saline Conditions in Microbial Electrochemical Cells. *mBio* **2013**, *4* (3), e00144-13. <https://doi.org/10.1128/mBio.00144-13>.
- Baêta, B. E. L.; Lima, D. R. S.; Silva, S. Q.; Aquino, S. F. Evaluation of Soluble Microbial Products and Aromatic Amines Accumulation during a Combined Anaerobic/Aerobic Treatment of a Model Azo Dye. *Chemical Engineering Journal* **2015**, *259*, 936–944. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.08.050>.
- Ben Abdallah, M.; Karray, F.; Kallel, N.; Armougom, F.; Mhiri, N.; Quéméneur, M.; Cayol, J.-L.; Erauso, G.; Sayadi, S. Abundance and Diversity of Prokaryotes in Ephemeral Hypersaline Lake Chott El Jerid Using Illumina Miseq Sequencing, DGGE and qPCR Assays. *Extremophiles* **2018**, *22* (5), 811–823. <https://doi.org/10.1007/s00792-018-1040-9>.
- Ben Abdallah, M.; Karray, F.; Sayadi, S. Production of Polyhydroxyalkanoates by Two Halophilic Archaeal Isolates from Chott El Jerid Using Inexpensive Carbon Sources. *Biomolecules* **2020**, *10* (1), 109. <https://doi.org/10.3390/biom10010109>.
- Bera, S. P.; Tank, S. K. Screening and Identification of Newly Isolated *Pseudomonas Sp.* for Biodegrading the Textile Azo Dye C.I. Procion Red H-3B. *Journal of Applied Microbiology* **2021**, *130* (6), 1949–1959. <https://doi.org/10.1111/jam.14920>.
- Bhatt, N.; Patel, K. C.; Keharia, H.; Madamwar, D. Decolorization of Diazo-Dye Reactive Blue 172 by *Pseudomonas Aeruginosa* NBAR12. *Journal of Basic Microbiology*. **2005**, *45* (6), 407–418. <https://doi.org/10.1002/jobm.200410504>.
- Blanchet, E.; Erable, B.; De Solan, M. L.; Bergel, A. Two-Dimensional Carbon Cloth and Three-Dimensional Carbon Felt Perform Similarly to Form Bioanode Fed with Food Waste. *Electrochemistry Communications* **2016**, *66*, 38–41. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2016.02.017>.
- Bragger, J. L.; Lloyd, A. W.; Soozandehfar, S. H.; Bloomfield, S. F.; Marriott, C.; Martin, G. P. Investigations into the Azo Reducing Activity of a Common Colonic Microorganism. *International Journal of Pharmaceutics* **1997**, *157* (1), 61–71. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(97\)00214-7](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(97)00214-7).

- Cahoon, L. A.; Freitag, N. E. The Electrifying Energy of Gut Microbes. *Nature* **2018**, 562 (7725), 43–44. <https://doi.org/10.1038/d41586-018-06180-z>.
- Cao, Y.; Hu, Y.; Sun, J.; Hou, B. Explore Various Co-Substrates for Simultaneous Electricity Generation and Congo Red Degradation in Air Cathode Single Chamber Microbial Fuel Cell. *Bioelectrochemistry* **2010**, 79 (1), 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2009.12.001>.
- Cao, X.; Wang, H.; Li, X.; Fang, Z.; Li, X. Enhanced Degradation of Azo Dye by a Stacked Microbial Fuel Cell-Biofilm Electrode Reactor Coupled System. *Bioresour Technol* **2017**, 227, 273–278. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.043>.
- Carmona-Martínez, A. A.; Pierra, M.; Trably, E.; Bernet, N. High Current Density via Direct Electron Transfer by the Halophilic Anode Respiring Bacterium *Geoalkalibacter Subterraneus*. *Physical Chemistry Chemical Physics*. **2013**, 15 (45), 19699. <https://doi.org/10.1039/c3cp54045f>.
- Carver, S. M.; Vuoriranta, P.; Tuovinen, O. H. A Thermophilic Microbial Fuel Cell Design. *Journal of Power Sources* **2011**, 196 (8), 3757–3760. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2010.12.088>.
- Casamayor, E. O.; Triadó-Margarit, X.; Castañeda, C. Microbial Biodiversity in Saline Shallow Lakes of the Monegros Desert, Spain. *FEMS Microbiol Ecology* **2013**, 85 (3), 503–518. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12139>.
- Chang, C. C.; Kao, W.; Yu, C. P. Assessment of Voltage Reversal Effects in the Serially Connected Biocathode-Based Microbial Fuel Cells through Treatment Performance, Electrochemical and Microbial Community Analysis. *Chemical Engineering Journal* **2020**, 397, 125368. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125368>.
- Chen, B. Y. Toxicity Assessment of Aromatic Amines to *Pseudomonas Luteola*: Chemostat Pulse Technique and Dose–Response Analysis. *Process Biochemistry* **2006**, 41 (7), 1529–1538. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.02.014>.
- Chen, B. Y.; Hsueh, C. C.; Liu, S. Q.; Ng, I. S.; Wang, Y. M. Deciphering Mediating Characteristics of Decolorized Intermediates for Reductive Decolorization and Bioelectricity Generation. *Bioresour Technol* **2013**, 145, 321–325. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.164>.
- Chen, B. Y.; Wang, Y. M.; Ng, I. S. Understanding Interactive Characteristics of Bioelectricity Generation and Reductive Decolorization Using *Proteus Hauseri*. *Bioresour Technol* **2011**, 102 (2), 1159–1165. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.09.040>.
- Chen, B. Y.; Zhang, M. M.; Ding, Y.; Chang, C. T. Feasibility Study of Simultaneous Bioelectricity Generation and Dye Decolorization Using Naturally Occurring Decolorizers. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* **2010**, 41 (6), 682–688. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2010.02.005>.
- Chen, K.-C.; Wu, J.-Y.; Liou, D.-J.; Hwang, S.-C. J. Decolorization of the Textile Dyes by Newly Isolated Bacterial Strains. *Journal of Biotechnology* **2003**, 101 (1), 57–68. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(02\)00303-6](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(02)00303-6).
- Chen, C. Y.; Tsai, T. H.; Wu, P. S.; Tsao, S. E.; Huang, Y. S.; Chung, Y. C. Selection of Electrogenic Bacteria for Microbial Fuel Cell in Removing Victoria Blue R from Wastewater. *Journal of Environmental Science and Health* **2018**, 53 (2), 108–115. <https://doi.org/10.1080/10934529.2017.1377580>.

- Chen, Y.; Feng, L.; Li, H.; Wang, Y.; Chen, G.; Zhang, Q. Biodegradation and Detoxification of Direct Black G Textile Dye by a Newly Isolated Thermophilic Microflora. *Bioresource Technology* **2018**, *250*, 650–657. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.092>.
- Chouchane, H.; Mahjoubi, M.; Ettoumi, B.; Neifar, M.; Cherif, A. A Novel Thermally Stable Heteropolysaccharide-Based Bioflocculant from Hydrocarbonoclastic Strain *Kocuria Rosea* BU22S and Its Application in Dye Removal. *Environmental Technology* **2018**, *39* (7), 859–872. <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1313886>.
- Chung, K. T. Azo Dyes and Human Health: A Review. *Journal of Environmental Science and Health, Part C* **2016**, *34* (4), 233–261. <https://doi.org/10.1080/10590501.2016.1236602>.
- Collins, T.; Margesin, R. Psychrophilic Lifestyles: Mechanisms of Adaptation and Biotechnological Tools. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2019**, *103* (7), 2857–2871. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09659-5>.
- Costerton, J. W.; Stewart, P. S.; Greenberg, E. P. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. *Science* **1999**, *284* (5418), 1318–1322. <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318>.
- Cowan, D. A.; Makhalanyane, T. P.; Dennis, P. G.; Hopkins, D. W. Microbial Ecology and Biogeochemistry of Continental Antarctic Soils. *Frontiers in Microbiology* **2014**, *5*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00154>.
- Cui, D.; Guo, Y. Q.; Lee, H. S.; Cheng, H. Y.; Liang, B.; Kong, F. Y.; Wang, Y. Z.; Huang, L. P.; Xu, M. Y.; Wang, A. J. Efficient Azo Dye Removal in Bioelectrochemical System and Post-Aerobic Bioreactor: Optimization and Characterization. *Chemical Engineering Journal* **2014**, *243*, 355–363. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.10.082>.
- Cui, M. H.; Liu, W. Z.; Tang, Z. E.; Cui, D. Recent Advancements in Azo Dye Decolorization in Bio-Electrochemical Systems (BESs): Insights into Decolorization Mechanism and Practical Application. *Water Research* **2021**, *203*, 117512. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117512>.
- Cui, Z.; Gao, W.; Xu, G.; Luan, X.; Li, Q.; Yin, X.; Huang, D.; Zheng, L. *Marinobacter Aromaticivorans* Sp. Nov., a Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Degrading Bacterium Isolated from Sea Sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **2016**, *66* (1), 353–359. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000722>.
- Dafale, N.; Rao, N. N.; Meshram, S. U.; Wate, S. R. Decolorization of Azo Dyes and Simulated Dye Bath Wastewater Using Acclimatized Microbial Consortium – Biostimulation and Halo Tolerance. *Bioresource Technology* **2008**, *99* (7), 2552–2558. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.044>.
- Dai, Q.; Zhang, S.; Liu, H.; Huang, J.; Li, L. Sulfide-Mediated Azo Dye Degradation and Microbial Community Analysis in a Single-Chamber Air Cathode Microbial Fuel Cell. *Bioelectrochemistry* **2020**, *131*, 107349. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2019.107349>.
- Das, A.; Mishra, S. Removal of Textile Dye Reactive Green-19 Using Bacterial Consortium: Process Optimization Using Response Surface Methodology and Kinetics Study. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **2017**, *5* (1), 612–627. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.10.005>.
- De Lima Silva, M. R.; Correa, R. C.; Sakamoto, I. K.; Varesche, M. B. A. Microbial Characterization of Methanogenic and Iron-Reducing Consortium in Reactors with

- Polychlorinated Biphenyls. *Current Microbiology* **2018**, 75 (6), 666–676. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1431-2>.
- De Maayer, P.; Anderson, D.; Cary, C.; Cowan, D. A. Some like It Cold: Understanding the Survival Strategies of Psychrophiles. *EMBO Reports* **2014**, 15 (5), 508–517. <https://doi.org/10.1002/embr.201338170>.
- Deng, D.; Lamssali, M.; Aryal, N.; Boadu, A.; Jha, M. K.; Samuel, R. E. Textiles Wastewater Treatment Technology: A Review. *Water Environment Research* **2020**, 92 (10), 1805–1810. <https://doi.org/10.1002/wer.1437>.
- Dessi, P.; Chatterjee, P.; Mills, S.; Kokko, M.; Lakaniemi, A.M.; Collins, G.; Lens, P. N. L. Power Production and Microbial Community Composition in Thermophilic Acetate-Fed up-Flow and Flow-through Microbial Fuel Cells. *Bioresource Technology* **2019**, 294, 122115. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122115>.
- Dick, G. J.; Anantharaman, K.; Baker, B. J.; Li, M.; Reed, D. C.; Sheik, C. S. The Microbiology of Deep-Sea Hydrothermal Vent Plumes: Ecological and Biogeographic Linkages to Seafloor and Water Column Habitats. *Frontiers in Microbiology* **2013**, 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00124>.
- Ding, H.; Li, Y.; Lu, A.; Jin, S.; Quan, C.; Wang, C.; Wang, X.; Zeng, C.; Yan, Y. Photocatalytically Improved Azo Dye Reduction in a Microbial Fuel Cell with Rutile-Cathode. *Bioresource Technology* **2010**, 101 (10), 3500–3505. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.107>.
- Diniz, P. E.; Lopes, A. T.; Lino, A. R.; Serralheiro, M. L. Anaerobic Reduction of a Sulfonated Azo Dye, Congo Red, by Sulfate-Reducing Bacteria. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **2002**, 97 (3), 147–164. <https://doi.org/10.1385/ABAB:97:3:147>.
- Diwaniyan, S.; Kharb, D.; Raghukumar, C.; Kuhad, R. C. Decolorization of Synthetic Dyes and Textile Effluents by Basidiomycetous Fungi. *Water, Air, & Soil Pollution* **2010**, 210 (1), 409–419. <http://drs.nio.org/drs/handle/2264/3642>
- Dong, Y.; Sanford, R. A.; Boyanov, M. I.; Kemner, K. M.; Flynn, T. M.; O’Loughlin, E. J.; Chang, Y.; Locke, R. A.; Weber, J. R.; Egan, S. M.; Mackie, R. I.; Cann, I.; Fouke, B. W. *Orenia Metallireducens* Sp. Nov. Strain Z6, a Novel Metal-Reducing Member of the Phylum *Firmicutes* from the Deep Subsurface. *Applied and Environmental Microbiology* **2016**, 82 (21), 6440–6453. <https://doi.org/10.1128/AEM.02382-16>.
- Dopson, M.; Holmes, D. S. Metal Resistance in Acidophilic Microorganisms and Its Significance for Biotechnologies. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2014**, 98 (19), 8133–8144. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5982-2>.
- Dos Santos, A. B.; Traverse, J.; Cervantes, F. J.; Van Lier, J. B. Enhancing the Electron Transfer Capacity and Subsequent Color Removal in Bioreactors by Applying Thermophilic Anaerobic Treatment and Redox Mediators. *Biotechnology and Bioengineering*. **2005**, 89 (1), 42–52. <https://doi.org/10.1002/bit.20308>.
- Dotto, J.; Fagundes Klen, M. R.; Veit, M. T.; Palácio, S. M.; Bergamasco, R. Performance of Different Coagulants in the Coagulation/Flocculation Process of Textile Wastewater. *Journal of Cleaner Production* **2019**, 208, 656–665. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.10.112>.

- Du, Z.; Li, H.; Gu, T. A State of the Art Review on Microbial Fuel Cells: A Promising Technology for Wastewater Treatment and Bioenergy. *Biotechnology Advances* **2007**, *25* (5), 464–482. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.05.004>.
- Dumas, C.; Basseguy, R.; Bergel, A. Electrochemical Activity of *Geobacter Sulfurreducens* Biofilms on Stainless Steel Anodes. *Electrochimica Acta* **2008**, *53* (16), 5235–5241. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2008.02.056>.
- Dumitru, A.; Vulpe, S.; Radu, A.; Antohe, S. Influence of nitrogen environment on the performance of conducting polymers/CNTs nanocomposites modified anodes for microbial fuel cells (MFCs). *Romanian Journal of Physics*. **2018**, *63*, 605–625. https://rjp.nipne.ro/2018_63_3-4/RomJPhys.63.605.pdf
- Elazzazy, A. M.; Abdelmoneim, T. S.; Almaghrabi, O. A. Isolation and Characterization of Biosurfactant Production under Extreme Environmental Conditions by Alkali-Halo-Thermophilic Bacteria from Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences* **2015**, *22* (4), 466–475. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.11.018>.
- Erbale, B.; Byrne, N.; Etcheverry, L.; Achouak, W.; Bergel, A. Single Medium Microbial Fuel Cell: Stainless Steel and Graphite Electrode Materials Select Bacterial Communities Resulting in Opposite Electrocatalytic Activities. *International Journal of Hydrogen Energy* **2017**, *42* (41), 26059–26067. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.08.178>.
- Erbale, B.; Bergel, A. First Air-Tolerant Effective Stainless Steel Microbial Anode Obtained from a Natural Marine Biofilm. *Bioresource Technology* **2009**, *100* (13), 3302–3307. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.025>.
- Eslami, A.; Moradi, M.; Ghanbari, F.; Mehdipour, F. Decolorization and COD Removal from Real Textile Wastewater by Chemical and Electrochemical Fenton Processes: A Comparative Study. *Journal of Environmental Health Science and Engineering* **2013**, *11* (1), 31. <https://doi.org/10.1186/2052-336X-11-31>.
- European Commission. Reference Document on Best Available Techniques. Textile Industry; European Commission: Brussels, Belgium, **2003**.
- Fang, Z.; Song, H. L.; Cang, N.; Li, X. N. Performance of Microbial Fuel Cell Coupled Constructed Wetland System for Decolorization of Azo Dye and Bioelectricity Generation. *Bioresource Technology* **2013**, *144*, 165–171. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.073>.
- Fathepure, B. Z. Recent Studies in Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons in Hypersaline Environments. *Frontiers in Microbiology* **2014**, *23* (5), 173. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00173>.
- Feitkenhauer, H.; Müller, R.; Märkl, H. Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Long Chain Alkanes at 6070 °C by *Thermus* and *Bacillus Spp.* *Biodegradation* **2003**, *14*, 367–372. <https://sci-hub.3800808.com/10.1023/a:1027357615649>
- Feng, Y.; Long, Y.; Wang, Z.; Wang, X.; Shi, N.; Suo, N.; Shi, Y.; Yu, Y. Performance and Microbial Community of an Electric Biological Integration Reactor (EBIR) for Treatment of Wastewater Containing Ibuprofen. *Bioresource Technology* **2019**, *274*, 447–458. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.015>.
- Fernando, E.; Keshavarz, T.; Kyazze, G. External Resistance as a Potential Tool for Influencing Azo Dye Reductive Decolourisation Kinetics in Microbial Fuel Cells. *International*

Biodeterioration & Biodegradation **2014**, 89, 7–14.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.12.011>.

Fernando, E.; Keshavarz, T.; Kyazze, G.; Fonseka, K. Treatment of Colour Industry Wastewaters with Concomitant Bioelectricity Production in a Sequential Stacked Mono-Chamber Microbial Fuel Cells–Aerobic System. *Environmental Technology* **2016**, 37 (2), 255–264. <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1068378>.

Fernando, E.; Keshavarz, T.; Kyazze, G. Simultaneous Co-Metabolic Decolourisation of Azo Dye Mixtures and Bio-Electricity Generation under Thermophilic (50°C) and Saline Conditions by an Adapted Anaerobic Mixed Culture in Microbial Fuel Cells. *Bioresource Technology* **2013**, 127, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.09.065>.

Ferraz, A. D. N.; Kato, M. T.; Florencio, L.; Gavazza, S. Textile Effluent Treatment in a UASB Reactor Followed by Submerged Aerated Biofiltration. *Water Science and Technology* **2011**, 64 (8), 1581–1589. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.674>.

Finkelstein, D. A.; Tender, L. M.; Zeikus, J. G. Effect of Electrode Potential on Electrode-Reducing Microbiota. *Environmental Science & Technology*. **2006**, 40 (22), 6990–6995. <https://doi.org/10.1021/es061146m>.

Fu, Q.; Kobayashi, H.; Kawaguchi, H.; Wakayama, T.; Maeda, H.; Sato, K. A Thermophilic Gram-Negative Nitrate-Reducing Bacterium, *Calditerrivibrio Nitroreducens*, Exhibiting Electricity Generation Capability. *Environmental Science & Technology*. **2013**, 47 (21), 12583–12590. <https://doi.org/10.1021/es402749f>.

Fu, Q.; Kobayashi, H.; Kuramochi, Y.; Xu, J.; Wakayama, T.; Maeda, H.; Sato, K. Bioelectrochemical Analyses of a Thermophilic Biocathode Catalyzing Sustainable Hydrogen Production. *International Journal of Hydrogen Energy* **2013**, 38 (35), 15638–15645. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.04.116>.

Gao, W.; Cui, Z.; Li, Q.; Xu, G.; Jia, X.; Zheng, L. *Marinobacter Nanhaiticus* Sp. Nov., Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Degrading Bacterium Isolated from the Sediment of the South China Sea. *Antonie van Leeuwenhoek* **2013**, 103 (3), 485–491. <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9830-z>.

Garg, N.; Garg, A.; Mukherji, S. Eco-Friendly Decolorization and Degradation of Reactive Yellow 145 Textile Dye by *Pseudomonas Aeruginosa* and *Thiosphaera Pantotropha*. *Journal of Environmental Management* **2020**, 263, 110383. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110383>.

Gasmi, A.; Ibrahimi, S.; Elboughdiri, N.; Tekaya, M. A.; Ghernaout, D.; Hannachi, A.; Mesloub, A.; Ayadi, B.; Kolsi, L. Comparative Study of Chemical Coagulation and Electrocoagulation for the Treatment of Real Textile Wastewater: Optimization and Operating Cost Estimation. *ACS Omega* **2022**, 7 (26), 22456–22476. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01652>.

Gavin, R.; Merino, S.; Altarriba, M.; Canals, R.; Shaw, J. G.; Tomas, J. M. Lateral Flagella Are Required for Increased Cell Adherence, Invasion and Biofilm Formation by *Aeromonas* Spp. *FEMS Microbiology Letters* **2003**, 224 (1), 77–83. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00418-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00418-X).

Giovanella, P.; Vieira, G. A. L.; Ramos Otero, I. V.; Pais Pellizzer, E.; De Jesus Fontes, B.; Sette, L. D. Metal and Organic Pollutants Bioremediation by Extremophile Microorganisms.

Journal of Hazardous Materials **2020**, 382, 121024.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121024>.

Gopinath, K. P.; Kathiravan, M. N.; Srinivasan, R.; Sankaranarayanan, S. Evaluation and Elimination of Inhibitory Effects of Salts and Heavy Metal Ions on Biodegradation of Congo Red by *Pseudomonas Sp.* Mutant. *Bioresource Technology* **2011**, 102 (4), 3687–3693.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.072>.

Grattieri, M.; Minter, S. D. Microbial Fuel Cells in Saline and Hypersaline Environments: Advancements, Challenges and Future Perspectives. *Bioelectrochemistry* **2018**, 120, 127–137.
<https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2017.12.004>.

Gunde-Cimerman, N.; Plemenitas, A.; Oren, A. Strategies of Adaptation of Microorganisms of the Three Domains of Life to High Salt Concentrations. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews* **2018**, 42 (3), 353–375.
<https://doi.org/10.1093/femsre/fuy009>.

Guo, G.; Li, X.; Tian, F.; Liu, T.; Yang, F.; Ding, K.; Liu, C.; Chen, J.; Wang, C. Azo Dye Decolorization by a Halotolerant Consortium under Microaerophilic Conditions. *Chemosphere* **2020**, 244, 125510. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125510>.

Gupta, D.; Guzman, M. S.; Bose, A. Extracellular Electron Uptake by Autotrophic Microbes: Physiological, Ecological, and Evolutionary Implications. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **2020**, 47 (9–10), 863–876. <https://doi.org/10.1007/s10295-020-02309-0>.

Ha, P. T.; Lee, T. K.; Rittmann, B. E.; Park, J.; Chang, I. S. Treatment of Alcohol Distillery Wastewater Using a Bacteroidetes-Dominant Thermophilic Microbial Fuel Cell. *Environmental Science & Technology*. **2012**, 46 (5), 3022–3030. <https://doi.org/10.1021/es203861v>.

Hanan, A. E.; Gehan, M. A. E.; Nermeen, A. E. S. Cadmium Resisting Bacteria in Alexandria Eastern Harbor (Egypt) and Optimization of Cadmium Bioaccumulation by *Vibrio Harveyi*. *African Journal of Biotechnology*. **2011**, 10 (17), 3412–3423.
<https://doi.org/10.5897/AJB10.1933>.

Hashmi, I.; Bindschedler, S.; Junier, P. Firmicutes. *Beneficial Microbes in Agro-Ecology* **2020**, pp 363–396. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00018-6>.

Hassan, M.; Wei, H.; Qiu, H.; Su, Y.; Jaafry, S. W. H.; Zhan, L.; Xie, B. Power Generation and Pollutants Removal from Landfill Leachate in Microbial Fuel Cell: Variation and Influence of Anodic Microbiomes. *Bioresource Technology* **2018**, 247, 434–442.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.124>.

He, X.; Song, C.; Li, Y.; Wang, N.; Xu, L.; Han, X.; Wei, D. Efficient Degradation of Azo Dyes by a Newly Isolated Fungus *Trichoderma Tomentosum* under Non-Sterile Conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2018**, 150, 232–239.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.043>.

Hedi, A.; Sadfi, N.; Fardeau, M. L.; Rebib, H.; Cayol, J. L.; Ollivier, B.; Boudabous, A. Studies on the Biodiversity of Halophilic Microorganisms Isolated from El-Djerid Salt Lake (Tunisia) under Aerobic Conditions. *International Journal of Microbiology* **2009**, 2009, 1–17.
<https://doi.org/10.1155/2009/731786>.

Hicks, D. B.; Liu, J.; Fujisawa, M.; Krulwich, T. A. F₁F₀-ATP Synthases of Alkaliphilic Bacteria: Lessons from Their Adaptations. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **2010**, 1797 (8), 1362–1377. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.02.028>.

- Hoareau, M.; Erable, B.; Chapleur, O.; Midoux, C.; Bureau, C.; Goubet, A.; Bergel, A. Oxygen-Reducing Bidirectional Microbial Electrodes Designed in Real Domestic Wastewater. *Bioresource Technology* **2021**, *326*, 124663. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124663>.
- Hoehler, T. M.; Jørgensen, B. B. Microbial Life under Extreme Energy Limitation. *Nat Rev Microbiol* **2013**, *11* (2), 83–94. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2939>.
- Holkar, C. R.; Arora, H.; Halder, D.; Pinjari, D. V. Biodegradation of Reactive Blue 19 with Simultaneous Electricity Generation by the Newly Isolated Electrogenic *Klebsiella Sp. CNCIM 5546* Bacterium in a Microbial Fuel Cell. *International Biodeterioration & Biodegradation* **2018**, *133*, 194–201. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.07.011>.
- Hou, B.; Lu, J.; Wang, H.; Li, Y.; Liu, P.; Liu, Y.; Chen, J. Performance of Microbial Fuel Cells Based on the Operational Parameters of Biocathode during Simultaneous Congo Red Decolorization and Electricity Generation. *Bioelectrochemistry* **2019**, *128*, 291–297. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2019.04.019>.
- Hou, B.; Sun, J.; Hu, Y. Effect of Enrichment Procedures on Performance and Microbial Diversity of Microbial Fuel Cell for Congo Red Decolorization and Electricity Generation. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2011**, *90* (4), 1563–1572. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3226-2>.
- Huang, T.; Liu, L.; Tao, J.; Zhou, L.; Zhang, S. Microbial Fuel Cells Coupling with the Three-Dimensional Electro-Fenton Technique Enhances the Degradation of Methyl Orange in the Wastewater. *Environmental Science and Pollution Research* **2018**, *25* (18), 17989–18000. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1976-4>.
- Husien, S.; Eltaweel, R. M.; Salim, A. I.; Fahim, I. S.; Said, L. A.; Radwan, A. G. Review of Activated Carbon Adsorbent Material for Textile Dyes Removal: Preparation, and Modelling. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry* **2022**, *5*, 100325. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2022.100325>.
- Hussain, S.; Maqbool, Z.; Ali, S.; Yasmeen, T.; Imran, M.; Mahmood, F.; Abbas, F. Biodecolorization of Reactive Black 5 by a Metal and Salt Tolerant Bacterial Strain *Pseudomonas Sp. RA20* Isolated from Paharang Drain Effluents in Pakistan. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2013**, *98*, 331–338. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.09.018>.
- Iark, D.; Buzzo, A. J. D. R.; Garcia, J. A. A.; Côrrea, V. G.; Helm, C. V.; Corrêa, R. C. G.; Peralta, R. A.; Peralta Muniz Moreira, R. D. F.; Bracht, A.; Peralta, R. M. Enzymatic Degradation and Detoxification of Azo Dye Congo Red by a New Laccase from *Oudemansiella Canarii*. *Bioresource Technology* **2019**, *289*, 121655. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121655>.
- Igiri, B. E.; Okoduwa, S. I. R.; Idoko, G. O.; Akabuogu, E. P.; Adeyi, A. O.; Ejiogu, I. K. Toxicity and Bioremediation of Heavy Metals Contaminated Ecosystem from Tannery Wastewater: A Review. *Journal of Toxicology* **2018**, *2018*, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2018/2568038>.
- Ihsanullah, I.; Jamal, A.; Ilyas, M.; Zubair, M.; Khan, G.; Atieh, M. A. Bioremediation of Dyes: Current Status and Prospects. *Journal of Water Process Engineering* **2020**, *38*, 101680. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101680>.
- Ilamathi, R.; Jayapriya, J. Microbial Fuel Cells for Dye Decolorization. *Environmental Chemistry Letters* **2018**, *16* (1), 239–250. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0669-4>.

- Ilamathi, R.; Merline Sheela, A.; Nagendra Gandhi, N. Comparative Evaluation of *Pseudomonas* Species in Single Chamber Microbial Fuel Cell with Manganese Coated Cathode for Reactive Azo Dye Removal. *International Biodeterioration & Biodegradation* **2019**, *144*, 104744. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104744>.
- Imran, M.; Crowley, D. E.; Khalid, A.; Hussain, S.; Mumtaz, M. W.; Arshad, M. Microbial Biotechnology for Decolorization of Textile Wastewaters. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* **2015**, *14* (1), 73–92. <https://doi.org/10.1007/s11157-014-9344-4>.
- Ishii, S.; Suzuki, S.; Norden-Krichmar, T. M.; Phan, T.; Wanger, G.; Nealson, K. H.; Sekiguchi, Y.; Gorby, Y. A.; Bretschger, O. Microbial Population and Functional Dynamics Associated with Surface Potential and Carbon Metabolism. *ISME Journal* **2014**, *8* (5), 963–978. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.217>.
- Iyer, A.; Mody, K.; Jha, B. Biosorption of Heavy Metals by a Marine Bacterium. *Marine Pollution Bulletin* **2005**, *50* (3), 340–343. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.11.012>.
- Jadhav, J. P.; Kalyani, D. C.; Telke, A. A.; Phugare, S. S.; Govindwar, S. P. Evaluation of the Efficacy of a Bacterial Consortium for the Removal of Color, Reduction of Heavy Metals, and Toxicity from Textile Dye Effluent. *Bioresource Technology* **2010**, *101* (1), 165–173. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.027>.
- Jadhav, S. A.; Garud, H. B.; Patil, A. H.; Patil, G. D.; Patil, C. R.; Dongale, T. D.; Patil, P. S. Recent Advancements in Silica Nanoparticles Based Technologies for Removal of Dyes from Water. *Colloid and Interface Science Communications* **2019**, *30*, 100181. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2019.100181>.
- Jamal, M. T.; Pugazhendi, A. Treatment of Fish Market Wastewater and Energy Production Using Halophiles in Air Cathode Microbial Fuel Cell. *Journal of Environmental Management* **2021**, *292*, 112752. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112752>.
- Jamal, M.; Ahmad, W.; Andleeb, S.; Jalil, F.; Imran, M.; Nawaz, M. A.; Hussain, T.; Ali, M.; Rafiq, M.; Kamil, M. A. Bacterial Biofilm and Associated Infections. *Journal of the Chinese Medical Association* **2018**, *81* (1), 7–11. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.07.012>.
- Jayaprakash, J.; Parthasarathy, A.; Viraraghavan, R. Decolorization and Degradation of Monoazo and Diazo Dyes in *Pseudomonas* Catalyzed Microbial Fuel Cell. *Environmental Progress & Sustainable Energy* **2016**, *35* (6), 1623–1628. <https://doi.org/10.1002/ep.12397>.
- Jayapriya, J.; Ramamurthy, V. Use of Non-Native Phenazines to Improve the Performance of *Pseudomonas Aeruginosa* MTCC 2474 Catalysed Fuel Cells. *Bioresource Technology* **2012**, *124*, 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.08.034>.
- Joshi, A. U.; Hinsu, A. T.; Kotadiya, R. J.; Rank, J. K.; Andharia, K. N.; Kothari, R. K. Decolorization and Biodegradation of Textile Di-Azo Dye Acid Blue 113 by *Pseudomonas Stutzeri* AK6. *3 Biotech* **2020**, *10* (5), 214. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02205-5>.
- Kalathil, S.; Lee, J.; Cho, M. H. Granular Activated Carbon Based Microbial Fuel Cell for Simultaneous Decolorization of Real Dye Wastewater and Electricity Generation. *New Biotechnology* **2011**, *29* (1), 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2011.04.014>.
- Kalathil, S.; Lee, J.; Cho, M. H. Efficient Decolorization of Real Dye Wastewater and Bioelectricity Generation Using a Novel Single Chamber Biocathode-Microbial Fuel Cell. *Bioresource Technology* **2012**, *119*, 22–27. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.059>.

- Kang, C. S.; Eaktasang, N.; Kwon, D.Y.; Kim, H. S. Enhanced Current Production by *Desulfovibrio Desulfuricans* Biofilm in a Mediator-Less Microbial Fuel Cell. *Bioresource Technology* **2014**, *165*, 27–30. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.148>.
- Karan, R.; Capes, M. D.; Das Sarma, P.; Das Sarma, S. Cloning, Overexpression, Purification, and Characterization of a Polyextremophilic β -Galactosidase from the Antarctic Haloarchaeon *Halorubrum Lacusprofundi*. *BMC Biotechnology* **2013**, *13* (1), 3. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-13-3>.
- Karray, F.; Ben Abdallah, M.; Baccar, N.; Zaghden, H.; Sayadi, S. Production of Poly(3-Hydroxybutyrate) by *Haloarcula*, *Halorubrum*, and *Natrinema Haloarchaeal* Genera Using Starch as a Carbon Source. *Archaea* **2021**, *2021*, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2021/8888712>.
- Kaur, G.; Adhikari, R.; Cass, P.; Bown, M.; Gunatillake, P. Electrically Conductive Polymers and Composites for Biomedical Applications. *RSC Advances* **2015**, *5* (47), 37553–37567. <https://doi.org/10.1039/C5RA01851J>.
- Kawada.Matsuo, M.; Oogai, Y.; Komatsuzawa, H. Sugar Allocation to Metabolic Pathways Is Tightly Regulated and Affects the Virulence of *Streptococcus Mutans*. *Genes* **2016**, *8* (1), 11. <https://doi.org/10.3390/genes8010011>.
- Kbir.Ariguib, N.; Chehimi, D. B. H.; Zayani, L. Treatment of Tunisian Salt Lakes Using Solubility Phase Diagrams. *Pure and Applied Chemistry* **2001**, *73* (5), 761–770. <https://doi.org/10.1351/pac200173050761>.
- Ketep, F. Piles à combustible microbiennes pour la production d'électricité couplée au traitement des eaux de l'industrie papetière (Thèse) **2012**. <https://theses.hal.science/tel-00872058/document>
- Ketep, S. F.; Bergel, A.; Calmet, A.; Erable, B. Stainless Steel Foam Increases the Current Produced by Microbial Bioanodes in Bioelectrochemical Systems. *Energy & Environmental Science* **2014**, *7* (5), 1633–1637. <https://doi.org/10.1039/C3EE44114H>.
- Khalid, A.; Kausar, F.; Arshad, M.; Mahmood, T.; Ahmed, I. Accelerated Decolorization of Reactive Azo Dyes under Saline Conditions by Bacteria Isolated from Arabian Seawater Sediment. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2012**, *96* (6), 1599–1606. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-3877-7>.
- Khan, R.; Bhawana, P.; Fulekar, M. H. Microbial Decolorization and Degradation of Synthetic Dyes: A Review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* **2013**, *12* (1), 75–97. <https://doi.org/10.1007/s11157-012-9287-6>.
- Khan, S. A.; Mehmood, S.; Nabeela; Iqbal, A.; Hamayun, M. Industrial Polluted Soil Borne Fungi Decolorize the Recalcitrant Azo Dyes Synozol Red HF–6BN and Synozol Black B. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2020**, *206*, 111381. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111381>.
- Klatt, M.; Beyer, F.; Einfeldt, J. Hospital Wastewater Treatment and the Role of Membrane Filtration – Removal of Micropollutants and Pathogens: A Review. *Water Science and Technology* **2022**, *86* (9), 2213–2232. <https://doi.org/10.2166/wst.2022.321>.
- Klein, B.; Grossi, V.; Bouriat, P.; Goulas, P.; Grimaud, R. Cytoplasmic Wax Ester Accumulation during Biofilm-Driven Substrate Assimilation at the Alkane–Water Interface by

Marinobacter Hydrocarbonoclasticus SP17. *Research in Microbiology* **2008**, 159 (2), 137–144. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2007.11.013>.

Kong, F.; Ren, H.Y.; Pavlostathis, S. G.; Wang, A.; Nan, J.; Ren, N.Q. Enhanced Azo Dye Decolorization and Microbial Community Analysis in a Stacked Bioelectrochemical System. *Chemical Engineering Journal* **2018**, 354, 351–362. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.08.027>.

Kumar, A.; Katuri, K.; Lens, P.; Leech, D. Does Bioelectrochemical Cell Configuration and Anode Potential Affect Biofilm Response? *Biochemical Society Transactions* **2012**, 40 (6), 1308–1314. <https://doi.org/10.1042/BST20120130>.

Kumar, R.; Singh, L.; Zularisam, A. W. Exoelectrogens: Recent Advances in Molecular Drivers Involved in Extracellular Electron Transfer and Strategies Used to Improve It for Microbial Fuel Cell Applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2016**, 56, 1322–1336. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.029>.

Lazar, T. Industrial Dyes Chemistry, Properties, Applications. *Color Research & Application*. **2005**, 30 (1), 74–75. <https://doi.org/10.1002/col.20081>.

Leal Filho, W.; Perry, P.; Heim, H.; Dinis, M. A. P.; Moda, H.; Ebhuoma, E.; Paço, A. An Overview of the Contribution of the Textiles Sector to Climate Change. *Frontiers in Environmental Science* **2022**, 10, 973102. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.973102>.

Lellis, B.; Fávoro Polonio, C. Z.; Pamphile, J. A.; Polonio, J. C. Effects of Textile Dyes on Health and the Environment and Bioremediation Potential of Living Organisms. *Biotechnology Research and Innovation* **2019**, 3 (2), 275–290. <https://doi.org/10.1016/j.biori.2019.09.001>.

Li, W.; Chen, X.; Xie, L.; Liu, Z.; Xiong, X. Bioelectrochemical Systems for Groundwater Remediation: The Development Trend and Research Front Revealed by Bibliometric Analysis. *Water* **2019**, 11 (8), 1532. <https://doi.org/10.3390/w11081532>.

Li, Q.; You, P.; Hu, Q.; Leng, B.; Wang, J.; Chen, J.; Wan, S.; Wang, B.; Yuan, C.; Zhou, R.; Ouyang, K. Effects of Co-Contamination of Heavy Metals and Total Petroleum Hydrocarbons on Soil Bacterial Community and Function Network Reconstitution. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2020**, 204, 111083. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111083>.

Li, Z.; Zhang, X.; Lin, J.; Han, S.; Lei, L. Azo Dye Treatment with Simultaneous Electricity Production in an Anaerobic–Aerobic Sequential Reactor and Microbial Fuel Cell Coupled System. *Bioresource Technology* **2010**, 101 (12), 4440–4445. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.114>.

Li, X.; Dai, H.; Han, T.; Guo, Z.; Li, H.; Wang, X.; Abbasi, H. N. Construction of Double Tube Granular Sludge Microbial Fuel Cell and Its Characteristics and Mechanism of Azo Dye Degradation. *Environmental Science and Pollution Research* **2022**, 29 (36), 54606–54618. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19814-7>.

Liu, G.; Zhou, J.; Meng, X.; Fu, S. Q.; Wang, J.; Jin, R.; Lv, H. Decolorization of Azo Dyes by Marine *Shewanella* Strains under Saline Conditions. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2013**, 97 (9), 4187–4197. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4216-8>.

Liu, H.; Cheng, S.; Huang, L.; Logan, B. E. Scale-up of Membrane-Free Single-Chamber Microbial Fuel Cells. *Journal of Power Sources* **2008**, 179 (1), 274–279. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2007.12.120>.

- Liu, H.; Grot, S.; Logan, B. E. Electrochemically Assisted Microbial Production of Hydrogen from Acetate. *Environmental Science & Technology*. **2005**, *39* (11), 4317–4320. <https://doi.org/10.1021/es050244p>.
- Liu, S.; Song, H.; Wei, S.; Liu, Q.; Li, X.; Qian, X. Effect of Direct Electrical Stimulation on Decolorization and Degradation of Azo Dye Reactive Brilliant Red X-3B in Biofilm-Electrode Reactors. *Biochemical Engineering Journal* **2015**, *93*, 294–302. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2014.11.002>.
- Liu, S. H.; Tsai, S. L.; Guo, P.Y.; Lin, C. W. Inducing Laccase Activity in White Rot Fungi Using Copper Ions and Improving the Efficiency of Azo Dye Treatment with Electricity Generation Using Microbial Fuel Cells. *Chemosphere* **2020**, *243*, 125304. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125304>.
- Liu, X.; Yao, H.; Zhao, X.; Ge, C. Biofilm Formation and Control of Foodborne Pathogenic Bacteria. *Molecules* **2023**, *28* (6), 2432. <https://doi.org/10.3390/molecules28062432>.
- Liu, Y. N.; Zhang, F.; Li, J.; Li, D.B.; Liu, D. F.; Li, W. W.; Yu, H. Q. Exclusive Extracellular Bioreduction of Methyl Orange by Azo Reductase-Free *Geobacter Sulfurreducens*. *Environmental Science & Technology*. **2017**, *51* (15), 8616–8623. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b02122>.
- Logan, B. E.; Hamelers, B.; Rozendal, R.; Schröder, U.; Keller, J.; Freguia, S.; Aelterman, P.; Verstraete, W.; Rabaey, K. Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology. *Environmental Science & Technology*. **2006**, *40* (17), 5181–5192. <https://doi.org/10.1021/es0605016>.
- Logan, B. E.; Rossi, R.; Ragab, A.; Saikaly, P. E. Electroactive Microorganisms in Bioelectrochemical Systems. *Nature Reviews Microbiology* **2019**, *17* (5), 307–319. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0173-x>.
- Logrono, W.; Pérez, M.; Urquizo, G.; Kadier, A.; Echeverria, M.; Recalde, C.; Rakhely, G. Single Chamber Microbial Fuel Cell (SCMFC) with a Cathodic Microalgal Biofilm: A Preliminary Assessment of the Generation of Bioelectricity and Biodegradation of Real Dye Textile Wastewater. *Chemosphere* **2017**, *176*, 378–388. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.099>.
- Lovley, D. R. Bug Juice: Harvesting Electricity with Microorganisms. *Nature Reviews Microbiology*, *4* (7), 497–508. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1442>.
- Lusk, B. G.; Colin, A.; Parameswaran, P.; Rittmann, B. E.; Torres, C. I. Simultaneous Fermentation of Cellulose and Current Production with an Enriched Mixed Culture of Thermophilic Bacteria in a Microbial Electrolysis Cell. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. **2018**, *11* (1), 63–73. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12733>.
- Lusk, B. G.; Khan, Q. F.; Parameswaran, P.; Hameed, A.; Ali, N.; Rittmann, B. E.; Torres, C. I. Characterization of Electrical Current-Generation Capabilities from Thermophilic Bacterium *Thermoanaerobacter Pseudethanolicus* Using Xylose, Glucose, Cellobiose, or Acetate with Fixed Anode Potentials. *Environmental Science & Technology*. **2015**, *49* (24), 14725–14731. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b04036>.
- Lynch, J. M.; Moffat, A. J. Bioremediation - Prospects for the Future Application of Innovative Applied Biological Research. *Annals of Applied Biology* **2005**, *146* (2), 217–221. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2005.040115.x>.

- Mahjoubi, M.; Jaouani, A.; Guesmi, A.; Ben Amor, S.; Jouini, A.; Cherif, H.; Najjari, A.; Boudabous, A.; Koubaa, N.; Cherif, A. Hydrocarbonoclastic Bacteria Isolated from Petroleum Contaminated Sites in Tunisia: Isolation, Identification and Characterization of the Biotechnological Potential. *New Biotechnology* **2013**, *30* (6), 723–733. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2013.03.004>.
- Malvankar, N. S.; Vargas, M.; Nevin, K. P.; Franks, A. E.; Leang, C.; Kim, B.C.; Inoue, K.; Mester, T.; Covalla, S. F.; Johnson, J. P.; Rotello, V. M.; Tuominen, M. T.; Lovley, D. R. Tunable Metallic-like Conductivity in Microbial Nanowire Networks. *Nature Nanotechnology* **2011**, *6* (9), 573–579. <https://doi.org/10.1038/nnano.2011.119>.
- Mansour, H. B.; Boughzala, O.; Dridi, D.; Barillier, D.; Chekir Ghedira, L.; Mosrati, R. Les colorants textiles sources de contamination de l'eau : CRIBLAGE de la toxicité et des méthodes de traitement. *Journal of water science* **2011**, *24* (3), 209–238. <https://doi.org/10.7202/1006453ar>.
- Martinez Ostormujof, L.; Teychené, S.; Achouak, W.; Fochesato, S.; Bakarar, M.; Rodriguez-Ruiz, I.; Bergel, A.; Erable, B. Systemic Analysis of the Spatiotemporal Changes in Multi-Species Electroactive Biofilms to Clarify the Gradual Decline of Current Generation in Microbial Anodes. *ChemElectroChem* **2023**, *10* (9), e202201135. <https://doi.org/10.1002/celec.202201135>.
- Martorell, M. M.; Pajot, H. F.; Figueroa, L. I. C. D. Biological Degradation of Reactive Black 5 Dye by Yeast *Trichosporon Akiyoshidainum*. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **2017**, *5* (6), 5987–5993. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.11.012>.
- Mathis, B. J.; Marshall, C. W.; Milliken, C. E.; Makkar, R. S.; Creager, S. E.; May, H. D. Electricity Generation by Thermophilic Microorganisms from Marine Sediment. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2008**, *78* (1), 147–155. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1266-4>.
- McBride, M. J. Bacterial Gliding Motility: Multiple Mechanisms for Cell Movement over Surfaces. *Annual Review of Microbiology*. **2001**, *55* (1), 49–75. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.55.1.49>.
- Miran, W.; Jang, J.; Nawaz, M.; Shahzad, A.; Lee, D. S. Sulfate-Reducing Mixed Communities with the Ability to Generate Bioelectricity and Degrade Textile Diazo Dye in Microbial Fuel Cells. *Journal of Hazardous Materials* **2018**, *352*, 70–79. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.03.027>.
- Miran, W.; Nawaz, M.; Kadam, A.; Shin, S.; Heo, J.; Jang, J.; Lee, D. S. Microbial Community Structure in a Dual Chamber Microbial Fuel Cell Fed with Brewery Waste for Azo Dye Degradation and Electricity Generation. *Environmental Science and Pollution Research* **2015**, *22* (17), 13477–13485. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4582-8>.
- Mohd Radzuan, N. A.; Sulong, A. B.; Sahari, J. A Review of Electrical Conductivity Models for Conductive Polymer Composite. *International Journal of Hydrogen Energy* **2017**, *42* (14), 9262–9273. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.03.045>.
- Montiague, E. Biodecolourization of Textile Dye and Wastewaters by Crude Laccase from *Pleurotus Florida ITDI 6003* Cultivated in Wheat Grains. *Current Research in Environmental & Applied Mycology* **2020**, *10* (1), 167–175. <https://doi.org/10.5943/cream/10/1/17>.
- Morozkina, E. V.; Slutskaia, E. S.; Fedorova, T. V.; Tugay, T. I.; Golubeva, L. I.; Koroleva, O. V. Extremophilic Microorganisms: Biochemical Adaptation and Biotechnological

Application (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology* **2010**, *46* (1), 1–14. <https://doi.org/10.1134/S0003683810010011>.

Mouna, S.; Caumette, P.; Matheron, R.; Willison, J. C. Molecular Sequence Analysis of Prokaryotic Diversity in the Anoxic Sediments Underlying Cyanobacterial Mats of Two Hypersaline Ponds in Mediterranean Salterns. *FEMS Microbiology Ecology* **2003**, *44* (1), 117–130. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(03\)00017-5](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(03)00017-5).

Mounier, J.; Camus, A.; Mitteau, I.; Vaysse, P. J.; Goulas, P.; Grimaud, R.; Sivadon, P. The Marine Bacterium *Marinobacter Hydrocarbonoclasticus* SP17 Degrades a Wide Range of Lipids and Hydrocarbons through the Formation of Oleolytic Biofilms with Distinct Gene Expression Profiles. *FEMS Microbiol Ecol* **2014**, *90* (3), 816–831. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12439>.

Mu, Y.; Rabaey, K.; Rozendal, R. A.; Yuan, Z.; Keller, J. Decolorization of Azo Dyes in Bioelectrochemical Systems. *Environmental Science & Technology* **2009**, *43* (13), 5137–5143. <https://doi.org/10.1021/es900057f>.

Nam, S.; Renganathan, V. Non-Enzymatic Reduction of Azo Dyes by NADH. *Chemosphere* **2000**, *40* (4), 351–357. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00226-X](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00226-X).

Neifar, M.; Chouchane, H.; Mahjoubi, M.; Jaouani, A.; Cherif, A. *Pseudomonas Extremorientalis* BU118: A New Salt-Tolerant Laccase-Secreting Bacterium with Biotechnological Potential in Textile Azo Dye Decolourization. *3 Biotech* **2016**, *6* (1), 107. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0425-7>.

Neifar, M.; Chouchane, H.; Najjari, A.; El Hidri, D.; Mahjoubi, M.; Ghedira, K.; Naili, F.; Soufi, L.; Raddadi, N.; Sghaier, H.; Ouzari, H. I.; Masmoudi, A. S.; Cherif, A. Genome Analysis Provides Insights into Crude Oil Degradation and Biosurfactant Production by Extremely Halotolerant Halomonas Desertis G11 Isolated from Chott El-Djerid Salt-Lake in Tunisian Desert. *Genomics* **2019**, *111* (6), 1802–1814. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2018.12.003>.

Ngo, A. C. R.; Tischler, D. Microbial Degradation of Azo Dyes: Approaches and Prospects for a Hazard-Free Conversion by Microorganisms. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **2022**, *19* (8), 4740. <https://doi.org/10.3390/ijerph19084740>.

Nigam, P.; Banat, I. M.; Singh, D.; Marchant, R. Microbial Process for the Decolorization of Textile Effluent Containing Azo, Diazo and Reactive Dyes. *Process Biochemistry* **1996**, *31* (5), 435–442. [https://doi.org/10.1016/0032-9592\(95\)00085-2](https://doi.org/10.1016/0032-9592(95)00085-2).

Niinimäki, K.; Peters, G.; Dahlbo, H.; Perry, P.; Rissanen, T.; Gwilt, A. The Environmental Price of Fast Fashion. *Nature Reviews Earth & Environment* **2020**, *1* (4), 189–200. <https://doi.org/10.1038/s43017-020-0039-9>.

O'Toole, G.; Kaplan, H. B.; Kolter, R. Biofilm Formation as Microbial Development. *Annual Review of Microbiology*. **2000**, *54* (1), 49–79. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.49>.

Oon, Y. L.; Ong, S. A.; Ho, L. N.; Wong, Y. S.; Dahalan, F. A.; Oon, Y. S.; Lehl, H. K.; Thung, W. E.; Nordin, N. Up-Flow Constructed Wetland-Microbial Fuel Cell for Azo Dye, Saline, Nitrate Remediation and Bioelectricity Generation: From Waste to Energy Approach. *Bioresource Technology* **2018**, *266*, 97–108. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.035>.

Oon, Y. S.; Ong, S. A.; Ho, L. N.; Wong, Y. S.; Oon, Y. L.; Lehl, H. K.; Thung, W. E.; Nordin, N. Microbial Fuel Cell Operation Using Monoazo and Diazo Dyes as Terminal Electron

- Acceptor for Simultaneous Decolourisation and Bioelectricity Generation. *Journal of Hazardous Materials* **2017**, 325, 170–177. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.11.074>.
- Oren, A. Microbial Life at High Salt Concentrations: Phylogenetic and Metabolic Diversity. *Saline Systems* **2008**, 4 (1), 2. <https://doi.org/10.1186/1746-1448-4-2>.
- Oshima, T.; Moriya, T. A Preliminary Analysis of Microbial and Biochemical Properties of High-Temperature Compost. *Annals of the New York Academy of Sciences* **2008**, 1125 (1), 338–344. <https://doi.org/10.1196/annals.1419.012>.
- Özdemir, S.; Kiling, E.; Poli, A.; Nicolaus, B. Biosorption of Heavy Metals (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} and Mn^{2+}) by Thermophilic Bacteria, *Geobacillus Thermantarcticus* and *Anoxybacillus Amylolyticus*: Equilibrium and Kinetic Studies. *Bioremediation Journal* **2013**, 17 (2), 86–96. <https://doi.org/10.1080/10889868.2012.751961>.
- Padhiyar, H.; Thanki, A.; Kumar Singh, N.; Pandey, S.; Yadav, M.; Chand Yadav, T. Parametric and Kinetic Investigations on Segregated and Mixed Textile Effluent Streams Using Moringa Oleifera Seed Powders of Different Sizes. *Journal of Water Process Engineering* **2020**, 34, 101159. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101159>.
- Pannell, T. C.; Goud, R. K.; Schell, D. J.; Borole, A. P. Effect of Fed-Batch vs. Continuous Mode of Operation on Microbial Fuel Cell Performance Treating Biorefinery Wastewater. *Biochemical Engineering Journal* **2016**, 116, 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.04.029>.
- Paquete, C. M.; Rosenbaum, M. A.; Bañeras, L.; Rotaru, A.E.; Puig, S. Let's Chat: Communication between Electroactive Microorganisms. *Bioresource Technology* **2022**, 347, 126705. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126705>.
- Parameswaran, P.; Bry, T.; Popat, S. C.; Lusk, B. G.; Rittmann, B. E.; Torres, C. I. Kinetic, Electrochemical, and Microscopic Characterization of the Thermophilic, Anode-Respiring Bacterium *Thermincola Ferriacetica*. *Environmental Science & Technology* **2013**, 47 (9), 4934–4940. <https://doi.org/10.1021/es400321c>.
- Park, D. H.; Zeikus, J. G. Utilization of Electrically Reduced Neutral Red by *Actinobacillus Succinogenes*: Physiological Function of Neutral Red in Membrane-Driven Fumarate Reduction and Energy Conservation. *Journal of Bacteriology* **1999**, 181 (8), 2403–2410. <https://doi.org/10.1128/JB.181.8.2403-2410.1999>.
- Paul Antony, C.; Kumaresan, D.; Hunger, S.; Drake, H. L.; Murrell, J. C.; Shouche, Y. S. Microbiology of Lonar Lake and Other Soda Lakes. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology* **2013**, 7 (3), 468–476. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.137>.
- Perazzoli, S.; De Santana Neto, J. P.; Soares, H. M. Prospects in Bioelectrochemical Technologies for Wastewater Treatment. *Water Science and Technology* **2018**, 78 (6), 1237–1248. <https://doi.org/10.2166/wst.2018.410>.
- Phoon, B. L.; Lai, C. W.; Juan, J. C.; Show, P.; Chen, W. A Review of Synthesis and Morphology of SrTiO_3 for Energy and Other Applications. *International Journal of Energy Research* **2019**, 43 (10), 5151–5174. <https://doi.org/10.1002/er.4505>.
- Pikuta, E. V.; Hoover, R. B.; Tang, J. Microbial Extremophiles at the Limits of Life. *Critical Reviews in Microbiology* **2007**, 33 (3), 183–209. <https://doi.org/10.1080/10408410701451948>.
- Pocaznoi, D.; Calmet, A.; Etcheverry, L.; Erable, B.; Bergel, A. Stainless Steel Is a Promising Electrode Material for Anodes of Microbial Fuel Cells. *Energy & Environmental Science*. **2012**, 5 (11), 9645. <https://doi.org/10.1039/c2ee22429a>.

- Pushkar, P.; Mungray, A. K. Real Textile and Domestic Wastewater Treatment by Novel Cross-Linked Microbial Fuel Cell (CMFC) Reactor. *Desalination and Water Treatment* **2016**, *57* (15), 6747–6760. <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1013994>.
- Qiu, H.; Shen, F.; Yin, A.; Liu, J.; Wu, B.; Li, Y.; Xiao, Y.; Hai, J.; Xu, B. Biodegradation and Detoxification of Azo Dyes by Halophilic/Halotolerant Microflora Isolated From the Salt Fields of Tibet Autonomous Region China. *Frontiers in Microbiology* **2022**, *13*, 877151. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.877151>.
- Rajeshwari, K. V.; Balakrishnan, M.; Kansal, A.; Lata, K.; Kishore, V. V. N. State-of-the-Art of Anaerobic Digestion Technology for Industrial Wastewater Treatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2000**, *4* (2), 135–156. [https://doi.org/10.1016/S1364-0321\(99\)00014-3](https://doi.org/10.1016/S1364-0321(99)00014-3).
- Ranawat, P.; Rawat, S. Stress Response Physiology of Thermophiles. *Archives of Microbiology* **2017**, *199* (3), 391–414. <https://doi.org/10.1007/s00203-016-1331-4>.
- Rather, M. A.; Gupta, K.; Mandal, M. Microbial Biofilm: Formation, Architecture, Antibiotic Resistance, and Control Strategies. *Brazilian Journal of Microbiology* **2021**, *52* (4), 1701–1718. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00624-x>.
- Reguera, G.; McCarthy, K. D.; Mehta, T.; Nicoll, J. S.; Tuominen, M. T.; Lovley, D. R. Extracellular Electron Transfer via Microbial Nanowires. *Nature* **2005**, *435* (7045), 1098–1101. <https://doi.org/10.1038/nature03661>.
- Rehman, K.; Shahzad, T.; Sahar, A.; Hussain, S.; Mahmood, F.; Siddique, M. H.; Siddique, M. A.; Rashid, M. I. Effect of Reactive Black 5 Azo Dye on Soil Processes Related to C and N Cycling. *PeerJ* **2018**, *6*, e4802. <https://doi.org/10.7717/peerj.4802>.
- Richards, J. J.; Melander, C. Controlling Bacterial Biofilms. *ChemBioChem* **2009**, *10* (14), 2287–2294. <https://doi.org/10.1002/cbic.200900317>.
- Rimboud, M.; Pocaznoi, D.; Erable, B.; Bergel, A. Electroanalysis of Microbial Anodes for Bioelectrochemical Systems: Basics, Progress and Perspectives. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2014**, *16* (31), 16349–16366. <https://doi.org/10.1039/C4CP01698J>.
- Rivkina, E. M.; Friedmann, E. I.; McKay, C. P.; Gilichinsky, D. A. Metabolic Activity of Permafrost Bacteria below the Freezing Point. *Applied and Environmental Microbiology* **2000**, *66* (8), 3230–3233. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.8.3230-3233.2000>.
- Rotaru, A. E.; Yee, M. O.; Musat, F. Microbes Trading Electricity in Consortia of Environmental and Biotechnological Significance. *Current Opinion in Biotechnology* **2021**, *67*, 119–129. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.01.014>.
- Rousseau, R.; Dominguez. Benetton, X.; Délia, M. L.; Bergel, A. Microbial Bioanodes with High Salinity Tolerance for Microbial Fuel Cells and Microbial Electrolysis Cells. *Electrochemistry Communications* **2013**, *33*, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2013.04.002>.
- Rousseau, R.; Santaella, C.; Bonnafous, A.; Achouak, W.; Godon, J. J.; Delia, M. L.; Bergel, A. Halotolerant Bioanodes: The Applied Potential Modulates the Electrochemical Characteristics, the Biofilm Structure and the Ratio of the Two Dominant Genera. *Bioelectrochemistry* **2016**, *112*, 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2016.06.006>.
- Rovira Alsina, L.; Dolores Balaguer, M.; Puig, S. Transition Roadmap for Thermophilic Carbon Dioxide Microbial Electrosynthesis: Testing with Real Exhaust Gases and Operational Control

- for a Scalable Design. *Bioresource Technology* **2022**, *365*, 128161. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128161>.
- Ruhal, R.; Kataria, R. Biofilm Patterns in Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *Microbiological Research* **2021**, *251*, 126829. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126829>.
- Saha, A. K.; Sultana, N.; Mohanta, M. K.; Haque, F. Identification and Characterization of Azo Dye Decolourizing Bacterial Strains, *Alcaligenes Faecalis E5.Cd* and *A. Faecalis Fal.3* Isolated from Textile Effluents. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences* **2017**, *31*, 163-175. <https://core.ac.uk/download/pdf/235050254.pdf>
- Saidi, N.; Erable, B.; Saadaoui, S.; Driouech, R.; Zaouak, A.; Jelassi, H.; Neifar, M.; Masmoudi, A. S.; Cherif, A.; Chouchane, H. Tunisian Hypersaline Sediments to Set up Suitable Halotolerant Microbial Bioanodes for Electrostimulated Biodegradation of Thiabendazole. *Frontiers in Energy Research* **2022**, *10*, 981802. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2022.981802>.
- Sandhya, S. Biodegradation of Azo Dyes Under Anaerobic Condition: Role of Azoreductase. *The Handbook of Environmental Chemistry* **2010**, (9), 39–57. https://doi.org/10.1007/978-90-481-4343-4_43.
- Santoro, C.; Arbizzani, C.; Erable, B.; Ieropoulos, I. Microbial Fuel Cells: From Fundamentals to Applications. A Review. *Journal of Power Sources* **2017**, *356*, 225–244. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2017.03.109>.
- Saratale, R. G.; Saratale, G. D.; Kalyani, D. C.; Chang, J. S.; Govindwar, S. P. Enhanced Decolorization and Biodegradation of Textile Azo Dye Scarlet R by Using Developed Microbial Consortium-GR. *Bioresource Technology* **2009**, *100* (9), 2493–2500. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.013>.
- Schröder, U. Anodic Electron Transfer Mechanisms in Microbial Fuel Cells and Their Energy Efficiency. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2007**, *9* (21), 2619–2629. <https://doi.org/10.1039/B703627M>.
- Selim, N.; Maghrawy, H. H.; Fathy, R.; Gamal, M.; Abd El Kareem, H.; Bowman, K.; Brehney, M.; Kyazze, G.; Keshavarz, T.; Gomaa, O. Modification of Bacterial Cell Membrane to Accelerate Decolorization of Textile Wastewater Effluent Using Microbial Fuel Cells: Role of Gamma Radiation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* **2020**, *13* (1), 373–382. <https://doi.org/10.1080/16878507.2020.1743480>.
- Selvaraj, V.; Swarna Karthika, T.; Mansiya, C.; Alagar, M. An over Review on Recently Developed Techniques, Mechanisms and Intermediate Involved in the Advanced Azo Dye Degradation for Industrial Applications. *Journal of Molecular Structure* **2021**, *1224*, 129195. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129195>.
- Seyedi, Z. S.; Jookar Kashi, F.; Zahraei, Z. Isolation, Characterization, and Decolorization of Disperse Blue 60 by Newly Isolated Bacterial Strains from Kashan Textile Wastewater. *Water Environment Research* **2020**, *92* (6), 873–879. <https://doi.org/10.1002/wer.1282>.
- Sgountzos, I. N.; Pavlou, S.; Paraskeva, C. A.; Payatakes, A. C. Growth Kinetics of *Pseudomonas Fluorescens* in Sand Beds during Biodegradation of Phenol. *Biochemical Engineering Journal* **2006**, *30* (2), 164–173. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2006.03.005>.
- Shahadat, M.; Bushra, R.; Khan, Md. R.; Rafatullah, Mohd.; Teng, T. T. A Comparative Study for the Characterization of Polyaniline Based Nanocomposites and Membrane Properties. *RSC advances* **2014**, *4* (40), 20686–20692. <https://doi.org/10.1039/C4RA01040J>.

- Shahi, A.; Rai, B. N.; Singh, R. S. Biodegradation of Reactive Orange 16 Dye in Microbial Fuel Cell: An Innovative Way to Minimize Waste Along with Electricity Production. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **2020**, *192* (1), 196–210. <https://doi.org/10.1007/s12010-020-03306-w>.
- Sharma, S. K.; Goloubinoff, P.; Christen, P. Heavy Metal Ions Are Potent Inhibitors of Protein Folding. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2008**, *372* (2), 341–345. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.05.052>.
- Shi, Y.; Ma, C.; Peng, L.; Yu, G. Conductive “Smart” Hybrid Hydrogels with PNIPAM and Nanostructured Conductive Polymers. *Advanced Functional Materials* **2015**, *25* (8), 1219–1225. <https://doi.org/10.1002/adfm.201404247>.
- Singh, G.; Dwivedi, S. K. Decolorization and Degradation of Direct Blue-1 (Azo Dye) by Newly Isolated Fungus *Aspergillus Terreus* GS28, from Sludge of Carpet Industry. *Environmental Technology & Innovation* **2020**, *18*, 100751. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100751>.
- Slonczewski, J. L.; Fujisawa, M.; Dopson, M.; Krulwich, T. A. Cytoplasmic pH Measurement and Homeostasis in Bacteria and Archaea. *Advances in Microbial Physiology* **2009**; Vol. 55, pp 1–317. [https://doi.org/10.1016/S0065-2911\(09\)05501-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2911(09)05501-5).
- Solanki, K.; Subramanian, S.; Basu, S. Microbial Fuel Cells for Azo Dye Treatment with Electricity Generation: A Review. *Bioresource Technology* **2013**, *131*, 564–571. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.063>.
- Sousa, J. A. B.; Sorokin, D. Y.; Bijmans, M. F. M.; Plugge, C. M.; Stams, A. J. M. Ecology and Application of Haloalkaliphilic Anaerobic Microbial Communities. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2015**, *99* (22), 9331–9336. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6937-y>.
- Srivastava, P.; Yadav, A. K.; Mishra, B. K. The Effects of Microbial Fuel Cell Integration into Constructed Wetland on the Performance of Constructed Wetland. *Bioresource Technology* **2015**, *195*, 223–230. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.05.072>.
- Stivaletta, N.; Barbieri, R. Endolithic Microorganisms from Spring Mound Evaporite Deposits (Southern Tunisia). *Journal of Arid Environments* **2009**, *73* (1), 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2008.09.024>.
- Sun, J.; Cai, B.; Zhang, Y.; Peng, Y.; Chang, K.; Ning, X.; Liu, G.; Yao, K.; Wang, Y.; Yang, Z.; Liu, J. Regulation of Biocathode Microbial Fuel Cell Performance with Respect to Azo Dye Degradation and Electricity Generation via the Selection of Anodic Inoculum. *International Journal of Hydrogen Energy* **2016**, *41* (9), 5141–5150. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.01.114>.
- Sun, F.; Sun, B.; Hu, J.; He, Y.; Wu, W. Organics and Nitrogen Removal from Textile Auxiliaries Wastewater with A2O-MBR in a Pilot-Scale. *Journal of Hazardous Materials* **2015**, *286*, 416–424. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.01.031>.
- Sun, J.; Hu, Y.; Bi, Z.; Cao, Y. Simultaneous Decolorization of Azo Dye and Bioelectricity Generation Using a Microfiltration Membrane Air-Cathode Single-Chamber Microbial Fuel Cell. *Bioresource Technology* **2009**, *100* (13), 3185–3192. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.002>.
- Sun, J.; Li, Y.; Hu, Y.; Hou, B.; Zhang, Y.; Li, S. Understanding the Degradation of Congo Red and Bacterial Diversity in an Air-Cathode Microbial Fuel Cell Being Evaluated for

- Simultaneous Azo Dye Removal from Wastewater and Bioelectricity Generation. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2013**, 97 (8), 3711–3719. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4180-3>.
- Sun, L.; Mo, Y.; Zhang, L. A Mini Review on Bio-Electrochemical Systems for the Treatment of Azo Dye Wastewater: State-of-the-Art and Future Prospects. *Chemosphere* **2022**, 294, 133801. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133801>.
- Sun, Y.; Ning, Z.; Yang, F.; Li, X. Characteristics of Newly Isolated *Geobacillus Sp. ZY-10* Degrading Hydrocarbons in Crude Oil. *Polish Journal of Microbiology* **2015**, 64 (3), 253–263. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0009.2120>.
- Sun, J.; Li, Y.; Hu, Y.; Hou, B.; Xu, Q.; Zhang, Y.; Li, S. Enlargement of Anode for Enhanced Simultaneous Azo Dye Decolorization and Power Output in Air-Cathode Microbial Fuel Cell. *Biotechnol Lett* **2012**, 34 (11), 2023–2029. <https://doi.org/10.1007/s10529-012-1002-8>.
- Suppiger, A.; Schmid, N.; Aguilar, C.; Pessi, G.; Eberl, L. Two Quorum Sensing Systems Control Biofilm Formation and Virulence in Members of the *Burkholderia Cepacia* Complex. *Virulence* **2013**, 4 (5), 400–409. <https://doi.org/10.4161/viru.25338>.
- Taha, M.; Adetutu, E. M.; Shahsavari, E.; Smith, A. T.; Ball, A. S. Azo and Anthraquinone Dye Mixture Decolourization at Elevated Temperature and Concentration by a Newly Isolated Thermophilic Fungus, *Thermomucor Indicae-Seudaticae*. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **2014**, 2 (1), 415–423. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.01.015>.
- Takai, K.; Nakamura, K.; Toki, T.; Tsunogai, U.; Miyazaki, M.; Miyazaki, J.; Hirayama, H.; Nakagawa, S.; Nunoura, T.; Horikoshi, K. Cell Proliferation at 122°C and Isotopically Heavy CH₄ Production by a Hyperthermophilic Methanogen under High-Pressure Cultivation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2008**, 105 (31), 10949–10954. <https://doi.org/10.1073/pnas.0712334105>.
- Tan, L.; He, M.; Song, L.; Fu, X.; Shi, S. Aerobic Decolorization, Degradation and Detoxification of Azo Dyes by a Newly Isolated Salt-Tolerant Yeast *Scheffersomyces Spartinae TLHS-SF1*. *Bioresource Technology* **2016**, 203, 287–294. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.12.058>.
- Telke, A.; Kalyani, D.; Jadhav, J.; Govindwar, S. Kinetics and Mechanism of Reactive Red 141 Degradation by a Bacterial Isolate *Rhizobium Radiobacter MTCC 816*. *Acta Chimica Slovenica* **2008**, 55, 320–329. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:54495620>
- Teoh, T. P.; Ong, S. A.; Ho, L. N.; Wong, Y. S.; Lutpi, N. A.; Oon, Y. L.; Tan, S.M.; Ong, Y. P.; Yap, K. L. Insights into the Decolorization of Mono and Diazo Dyes in Single and Binary Dyes Containing Wastewater and Electricity Generation in Up-Flow Constructed Wetland Coupled Microbial Fuel Cell. *Environmental Science and Pollution Research* **2023**, 30 (7), 17546–17563. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23101-w>.
- Thung, W. E.; Ong, S. A.; Ho, L. N.; Wong, Y. S.; Ridwan, F.; Oon, Y. L.; Oon, Y. S.; Lehl, H. K. A Highly Efficient Single Chambered Up-Flow Membrane-Less Microbial Fuel Cell for Treatment of Azo Dye Acid Orange 7 Containing Wastewater. *Bioresource Technology* **2015**, 197, 284–288. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.078>.
- Tian, Y.; Li, G.; Chen, L.; Bu, X.; Shen, J.; Tao, Z.; Zeng, T.; Du, X.; Lu, L. High-Temperature Exposure Alters the Community Structure and Functional Features of the Intestinal Microbiota in Shaoxing Ducks (*Anas Platyrhynchos*). *Poultry Science* **2020**, 99 (5), 2662–2674. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.046>.

- Torres, C. I.; Krajmalnik-Brown, R.; Parameswaran, P.; Marcus, A. K.; Wanger, G.; Gorby, Y. A.; Rittmann, B. E. Selecting Anode-Respiring Bacteria Based on Anode Potential: Phylogenetic, Electrochemical, and Microscopic Characterization. *Environmental Science & Technology* **2009**, *43* (24), 9519–9524. <https://doi.org/10.1021/es902165y>.
- Tremblay, Y. D. N.; Hathroubi, S.; Jacques, M. Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *The Canadian Journal of Veterinary Research* **2014**, *78* (2), 110–116. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3962273/pdf/cjvr_04_110.pdf
- Uddin, M. A.; Begum, M. S.; Ashraf, M.; Azad, A. K.; Adhikary, A. C.; Hossain, M. S. Water and Chemical Consumption in the Textile Processing Industry of Bangladesh. *PLOS Sustain Transform* **2023**, *2* (7), e0000072. <https://doi.org/10.1371/journal.pstr.0000072>.
- Ullery, M. L.; Logan, B. E. Anode Acclimation Methods and Their Impact on Microbial Electrolysis Cells Treating Fermentation Effluent. *International Journal of Hydrogen Energy* **2015**, *40* (21), 6782–6791. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.03.101>.
- V., B.; Krishnaswamy, V. G. Combined Treatment of Synthetic Textile Effluent Using Mixed Azo Dye by Phyto and Phycoremediation. *International Journal of Phytoremediation* **2021**, *23* (9), 924–936. <https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1868398>.
- Valenti, A.; Perugino, G.; Rossi, M.; Ciaramella, M. Positive Supercoiling in Thermophiles and Mesophiles: Of the Good and Evil. *Biochemical Society Transactions* **2011**, *39* (1), 58–63. <https://doi.org/10.1042/BST0390058>.
- Van Der Zee, F. P.; Villaverde, S. Combined Anaerobic–Aerobic Treatment of Azo Dyes—A Short Review of Bioreactor Studies. *Water Research* **2005**, *39* (8), 1425–1440. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.03.007>.
- Vandrich, J.; Pfeiffer, F.; Alfaro Espinoza, G.; Kunte, H. J. Contribution of Mechanosensitive Channels to Osmoadaptation and Ectoine Excretion in *Halomonas Elongata*. *Extremophiles* **2020**, *24* (3), 421–432. <https://doi.org/10.1007/s00792-020-01168-y>.
- Varjani, S. J.; Upasani, V. N. A New Look on Factors Affecting Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Pollutants. *International Biodeterioration & Biodegradation* **2017**, *120*, 71–83. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.02.006>.
- Varjani, S.; Rakholiya, P.; Ng, H. Y.; You, S.; Teixeira, J. A. Microbial Degradation of Dyes: An Overview. *Bioresource Technology* **2020**, *314*, 123728. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123728>.
- Varjani, S.; Upasani, V. N. Influence of Abiotic Factors, Natural Attenuation, Bioaugmentation and Nutrient Supplementation on Bioremediation of Petroleum Crude Contaminated Agricultural Soil. *Journal of Environmental Management* **2019**, *245*, 358–366. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.070>.
- Vasudevan, R. Biofilms: Microbial Cities of Scientific Significance. *Journal of Microbiology & Experimentation* **2014**, *1*(3), 84–98 <https://doi.org/10.15406/jmen.2014.01.00014>.
- Vemuri, B.; Xia, L.; Chilkoor, G.; Jawaharraj, K.; Sani, R. K.; Amarnath, A.; Kilduff, J.; Gadhamshetty, V. Anaerobic Wastewater Treatment and Reuse Enabled by Thermophilic Bioprocessing Integrated with a Bioelectrochemical/Ultrafiltration Module. *Bioresource Technology* **2021**, *321*, 124406. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124406>.

- Vinayak, A.; Singh, G. B. Synthetic Azo Dye Bio-Decolorization by *Priestia Sp. RAI*: Process Optimization and Phytotoxicity Assessment. *Archives of Microbiology* **2022**, *204* (6), 318. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02931-9>.
- Wei, J.; Liang, P.; Cao, X.; Huang, X. A New Insight into Potential Regulation on Growth and Power Generation of *Geobacter Sulfurreducens* in Microbial Fuel Cells Based on Energy Viewpoint. *Environmental Science & Technology* **2010**, *44* (8), 3187–3191. <https://doi.org/10.1021/es903758m>.
- Wu, L. C.; Chen, C. Y.; Lin, T. K.; Su, Y. Y.; Chung, Y. C. Highly Efficient Removal of Victoria Blue R and Bioelectricity Generation from Textile Wastewater Using a Novel Combined Dual Microbial Fuel Cell System. *Chemosphere* **2020**, *258*, 127326. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127326>.
- Xu, H.; Wang, L.; Lin, C.; Zheng, J.; Wen, Q.; Chen, Y.; Wang, Y.; Qi, L. Improved Simultaneous Decolorization and Power Generation in a Microbial Fuel Cell with the Sponge Anode Modified by Polyaniline and Chitosan. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **2020**, *192* (2), 698–718. <https://doi.org/10.1007/s12010-020-03346-2>.
- Xu, H.; Yang, B.; Liu, Y.; Li, F.; Shen, C.; Ma, C.; Tian, Q.; Song, X.; Sand, W. Recent Advances in Anaerobic Biological Processes for Textile Printing and Dyeing Wastewater Treatment: A Mini-Review. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **2018**, *34* (11), 165. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2548-y>.
- Yang, Y.; Luo, O.; Kong, G.; Wang, B.; Li, X.; Li, E.; Li, J.; Liu, F.; Xu, M. Deciphering the Anode-Enhanced Azo Dye Degradation in Anaerobic Baffled Reactors Integrating With Microbial Fuel Cells. *Frontiers in Microbiology* **2018**, *9*, 2117. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02117>.
- Yaqoob, A. A.; Mohamad Ibrahim, M. N.; Rafatullah, M.; Chua, Y. S.; Ahmad, A.; Umar, K. Recent Advances in Anodes for Microbial Fuel Cells: An Overview. *Materials* **2020**, *13* (9), 2078. <https://doi.org/10.3390/ma13092078>.
- Yilmazel, Y. D.; Zhu, X.; Kim, K.Y.; Holmes, D. E.; Logan, B. E. Electrical Current Generation in Microbial Electrolysis Cells by Hyperthermophilic Archaea *Ferroglobus Placidus* and *Geoglobus Ahangari*. *Bioelectrochemistry* **2018**, *119*, 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2017.09.012>.
- Yin, W.; Wang, Y.; Liu, L.; He, J. Biofilms: The Microbial “Protective Clothing” in Extreme Environments. *International Journal of Molecular Sciences* **2019**, *20* (14), 3423. <https://doi.org/10.3390/ijms20143423>.
- Yoo, E. S.; Libra, J.; Adrian, L. Mechanism of Decolorization of Azo Dyes in Anaerobic Mixed Culture. *Journal of Environmental Engineering* **2001**, *127* (9), 844–849. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(2001\)127:9\(844\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(2001)127:9(844)).
- Yusuff, R. O.; Sonibare, J. A. Characterization of textile industries’ effluents in Kaduna, Nigeria and pollution implications. *Global Nest Journal* **2004**, *6*, 12–221. https://journal.gnest.org/sites/default/files/Journal%20Papers/Yusuff_212-221.pdf
- Yuzer, B.; Selcuk, H. Recovery of Biologically Treated Textile Wastewater by Ozonation and Subsequent Bipolar Membrane Electrodialysis Process. *Membranes* **2021**, *11* (11), 900. <https://doi.org/10.3390/membranes11110900>.

Zaviska, F.; Drogui, P.; Mercier, G.; Blais, J.F. Procédés d'oxydation avancée dans le traitement des eaux et des effluents industriels: Application à la dégradation des polluants réfractaires. *Journal of water science* **2009**, 22 (4), 535–564. <https://doi.org/10.7202/038330ar>.

Zhang, X.; Shen, D.; Feng, H.; Wang, Y.; Li, N.; Han, J.; Long, Y. Cooperative Role of Electrical Stimulation on Microbial Metabolism and Selection of Thermophilic Communities for P-Fluoronitrobenzene Treatment. *Bioresource Technology* **2015**, 189, 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.147>.

Zhao, J.; Li, F.; Cao, Y.; Zhang, X.; Chen, T.; Song, H.; Wang, Z. Microbial extracellular electron transfer and strategies for engineering electroactive microorganisms. *Biotechnology Advances* **2021**, 53, 107682. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107682>.

Zou, H.; Chu, L.; Wang, Y. Azo Dye Wastewater Treatment in a Novel Process of Biofilm Coupled with Electrolysis. *Archives of Environmental Protection* **2023**, 45 (3), 38–48. <https://doi.org/10.24425/aep.2019.128639>.

Zou, H.; Wang, Y. Functional Collaboration of Biofilm-Cathode Electrode and Microbial Fuel Cell for Biodegradation of Methyl Orange and Simultaneous Bioelectricity Generation. *Environ Sci Pollut Res* **2019**, 26 (22), 23061–23069. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05617-w>.

Titre : Valorisation des extrémophiles dans le traitement des effluents salins et la production d'énergie par des systèmes bioélectrochimiques microbiens

Mots clés : Systèmes bioélectrochimiques, Bactéries halothermophiles, Colorants azoïques, Traitement des eaux usées textiles, Extrémophiles, Effluents salins

Résumé : L'industrie textile génère de grandes quantités d'eaux usées contenant jusqu'à 80 g/L de NaCl et de fortes concentrations de colorants synthétiques. Les colorants azoïques, qui sont des produits chimiques toxiques et persistants, sont les plus largement utilisés dans la fabrication des textiles. Lorsqu'ils sont déversés dans les plans d'eau, ces colorants peuvent poser une menace significative pour les écosystèmes aquatiques, pouvant également avoir des répercussions sur la santé humaine. Pour remédier à cette problématique, plusieurs méthodes physico-chimiques conventionnelles ont été mises en œuvre. Ces méthodes ne sont pas largement adoptées principalement en raison de leur coût élevé, de la pollution secondaire qu'ils génèrent et de leur forte consommation d'énergie. D'autres traitements biologiques anaérobies ont été également explorés. Ces méthodes prennent de longues périodes de décomposition avec une dégradation souvent incomplète. De plus, si les cellules des microorganismes sont exposées à une solution très concentrée en sel, le phénomène d'osmose peut entraîner une perte d'eau intracellulaire significative, conduisant à la déshydratation et éventuellement à la mort cellulaire. L'objectif principal de cette thèse est de coupler deux méthodes biologique et électrochimique au sein d'une seule unité appelée système bioélectrochimique (SBE) en vue de traiter des eaux usées textiles salines chargées en colorants azoïques récalcitrants, tout en générant de l'énergie sous forme d'électricité. Ce SBE se distingue par l'utilisation de bactéries électroactives halothermophiles provenant des environnements extrêmes tunisiens, lesquelles forment des bioanodes capables de tolérer le stress salin. Les paramètres impactant les performances du SBE ont été optimisés, notamment la source d'inoculum, la présence d'un co-substrat et sa concentration, le matériau de l'électrode ainsi que sa surface et le potentiel appliqué à l'électrode de travail. Ces optimisations ont été réalisées initialement à partir d'eaux usées synthétiques avant d'être validées avec des eaux usées industrielles réelles. Les bioanodes obtenues ont fait l'objet d'une analyse comparative à l'aide d'outils électrochimiques, microscopiques, analytiques et moléculaires. En complément, les milieux réactionnels ont également été examinés à l'aide d'outils analytiques et moléculaires. Avec des eaux usées synthétiques, une densité de courant maximale de 5,2 A/m², un taux de décoloration de 100 % et un taux d'élimination de la DCO de 96 % ont été obtenus. Par ailleurs, avec les eaux usées réelles, la même densité de courant maximal 5,2 A/m² a été observée simultanément avec un taux de décoloration de 93 % et un taux d'abatement de la DCO de 70 %. Ainsi, pour la première fois, l'espèce bactérienne *Orenia metallireducens* a été identifiée dans les différentes matrices du SBE alimenté avec des eaux usées synthétiques. Cette découverte suggère des perspectives prometteuses pour la dégradation des colorants azoïques.

Title: Valorisation of extremophiles in the treatment of salt effluents and energy production by microbial bioelectrochemical systems

Key words: Bioelectrochemical systems, Halothermophilic bacteria, Azo dyes, Textile wastewater treatment, Extremophiles, Saline effluents

Abstract: The textile industry generates large amounts of wastewater containing up to 80 g/L of NaCl and high concentrations of synthetic dyes. Azo dyes, which are toxic and persistent chemicals, are widely used in textile manufacturing. When discharged into water bodies, these dyes pose a significant threat to aquatic ecosystems and can also have implications for human health. To address this issue, several conventional physico-chemical methods have been implemented. However, these methods are not widely adopted primarily due to their high cost, the secondary pollution they generate, and their high energy consumption. Other anaerobic biological treatments have also been explored, but they often involve long decomposition periods with incomplete degradation. Additionally, exposure of microorganism cells to highly concentrated salt solutions can lead to significant water loss through osmosis, resulting in dehydration and potential cell death. The main objective of this thesis is to combine two methods, biological and electrochemical, within a single unit called a bioelectrochemical system (BES) to treat saline textile wastewater loaded with refractory azo dyes while generating energy in the form of electricity. This BES is distinguished by the use of halothermophilic electroactive bacteria from extreme Tunisian environments, which form bioanodes capable of tolerating saline stress. Parameters affecting the performance of the BES have been optimized, including the inoculum source, the presence of a co-substrate and its concentration, the electrode material and surface, and the applied potential to the working electrode. These optimizations were initially carried out using synthetic wastewater before being validated with real industrial wastewater. The obtained bioanodes were subject to comparative analysis using electrochemical, microscopic, analytical, and molecular tools. Additionally, reaction media were also examined using analytical and molecular tools. With synthetic wastewater, a maximum current density of 5.2 A/m², a decolorization rate of 100 %, and a COD removal rate of 96 % were achieved. Moreover, with real wastewater, a maximum current density of 5.2 A/m² was observed simultaneously with a decolorization rate of 93 % and a COD removal rate of 70 %. Thus, for the first time, the bacterial species *Orenia metallireducens* was identified in different matrices of the BES fueled with synthetic wastewater. This discovery suggests promising prospects for the degradation of azo dyes.