



HAL
open science

Mise au point de biopiles microbiennes

Sébastien Votat

► **To cite this version:**

Sébastien Votat. Mise au point de biopiles microbiennes. Biotechnologies. Normandie Université, 2023. Français. NNT : 2023NORMR064 . tel-04852599

HAL Id: tel-04852599

<https://theses.hal.science/tel-04852599v1>

Submitted on 21 Dec 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.

THÈSE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité CHIMIE

Préparée au sein de l'Université de Rouen Normandie

Mise au point de biopiles microbiennes

Présentée et soutenue par
SEBASTIEN VOTAT

Thèse soutenue le 20/12/2023
devant le jury composé de

M. CHRISTOPHE INNOCENT	Chargé de Recherche, UNIVERSITE DE MONTPELLIER	Rapporteur du jury
MME ISABELLE LIOSSIER	Professeur des Universités, ENSI BRETAGNE SUD VANNES UNIVERSITE BRETAGNE SUD	Rapporteur du jury
M. THIERRY JOUENNE	Directeur de Recherche, Université de Rouen Normandie	Membre du jury
MME STEPHANIE PELLERIN	,	Membre du jury
M. LAURENT LEBRUN	Professeur des Universités, Université de Rouen Normandie	Directeur de thèse
M. MAXIME PONTIE	Professeur des Universités, UNIVERSITE ANGERS	Co-directeur de thèse

Thèse dirigée par **LAURENT LEBRUN (Polymères, biopolymères, surfaces) et
MAXIME PONTIE (Université d'Angers)**

Remerciements

Un doctorat est une véritable expérience de vie qui s'acquiert avec de nombreuses personnes. Un doctorant n'apprend pas seulement à faire de la recherche et à être rigoureux, il apprend aussi à communiquer, à échanger et à élargir ses horizons. Pour tous ces enseignements, je me dois de remercier beaucoup de personnes.

Tout d'abord, je remercie mon directeur de thèse Pr. Laurent Lebrun, qui m'avait déjà encadré lors de mon stage de licence 3 et qui m'a proposé ce projet de thèse, que nous avons réalisé pendant ces trois dernières années. Son expérience, sa rigueur mais aussi sa patience m'ont permis d'apprendre ce qu'est être un chercheur.

Pendant cette thèse, j'ai eu l'occasion de découvrir la ville d'Angers, qui m'a paru charmante. J'y ai réalisé une partie de mes travaux, dirigés par le Pr. Maxime Pontié, qui m'a fait découvrir son domaine d'expertise, à savoir l'électrochimie et les piles microbiennes.

Je n'oublie pas le rôle déterminant qu'ont joué les Pr. Daniel Mellier et Pierrick Gandolfo, ainsi que le président de l'association Handisup M. Jean-Jacques Malandain, qui ont joué un rôle déterminant afin d'obtenir mon contrat doctoral auprès de l'Université de Rouen-Normandie, que je remercie en conséquence.

Je tiens à remercier la Pr. Isabelle Linossier et le Dr. Christophe Innocent pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ma thèse et de faire partie de mon jury de soutenance. Je tiens tout autant à remercier Mme. Stéphanie Pellerin, qui nous a fourni les tissus de carbone pour réaliser mes expériences, mais aussi le Dr. Thierry Jouenne qui avait accepté que je réalise ma thèse au laboratoire PBS. Je les remercie également de faire partie de mon jury de soutenance.

Plusieurs chercheurs et chercheuses m'ont apporté une aide notable pour mes expériences et la rédaction d'articles scientifiques et c'est autant de personnes que je dois honorer. Il y a le Pr. Pascal Thébault avec qui j'ai longuement discuté sur les stratégies antifouling de membranes, le Dr. Stéphane Alexandre qui a réalisé les images AFM et avec qui j'ai tout autant échangé sur l'interprétation de ces images, la Dr. Julie Gonand avec qui j'ai fait des observations MEB, ainsi que la Dr. Julie Hardouin, qui a aussi apporté une contribution importante. Je n'oublie pas Romain Mallet, qui a également fait des observations MEB et EDX.

En ce qui concerne les articles scientifiques, la Dr. Mehri Shabani, le Dr. Emmanuel Jaspard et Mélody Gorin sont des personnes qui ont apporté une contribution importante à leur rédaction. Je pense aussi à Djulia Bensaada, qui m'a énormément aidé avec ses travaux, qu'elle a réussi avec sérieux et persévérance.

Je n'oublie pas le Pr. Pascal Cosette pour avoir accepté que je réalise ma thèse au laboratoire PBS, la Dr. Kateryna Fatyeyeva pour m'avoir accepté dans l'équipe MPBM dont elle est la responsable, le Pr. Didier Le Cerf pour avoir été mon enseignant-référent et m'avoir conseillé pour mes expériences.

Par ailleurs, mes remerciements pour les Etincelles du Palais de la Découverte chez qui j'ai fait deux exposés sur mes travaux et pour le Groupe Français des Polymères, le Groupe Français de Bioélectrochimie et la Société Chimique de France qui m'ont permis de faire trois communications orales et d'échanger avec beaucoup d'autres chercheurs.

Je souhaite remercier mes collègues Corinne, Nadège, Louise, Stéphane pour leurs conseils, ainsi que Morgane, Koceila et Guillaume, qui furent mes camarades de thèse.

Mes amis ont joué un grand rôle pendant mon doctorat et avant. Je cite surtout Arnaud et Nicolas et les nombreux restaurants et délires, mais aussi Alexandre, Maxime, Jordan, Olivier, Jérémy et Lucie, pour les bons moments passés en master.

Le passé peut être sombre, mais les étoiles brillent mieux dans la nuit. Théophile, tu fus mon mentor pendant des années. Tu m'as tant encouragé pendant ma terminale, et j'y ai puisé ma force pour me battre et remporter la victoire finale au BAC. Plus encore, tu m'as aidé à exploiter au mieux cette réussite, et c'est ainsi que je suis à présent doctorant.

Enfin, je remercie ma famille qui m'a soutenu et aidé pendant encore plus de temps, malgré les vents contraires. À mon père, à ma mère, à Max, à Lauriane, à Hélène, à Jérémie, à Guillaume, à Jonathan, à Julie et depuis peu à Nathan. Ainsi que Iris, Mya et Capucine.

« Ne te laisse pas vaincre par le mal, mais surmonte le mal par le bien. ».

Production scientifique

Communications orales :

Votat S, Lebrun L, Pontié M. Bioremoval of dyes in a microbial fuel cell by the fungi *Trichoderma harzianum*. 42^{èmes} journées du GFP grand-ouest. 5-6 Juillet, 2022. Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes. Rennes.

Votat S, Lebrun L, Pontié M. Biodegradation of methylene blue and violet crystal in a microbial fuel cell by the fungi *Trichoderma harzianum*. 17^{ème} conférence du Groupe Français de Bioélectrochimie. 26-29 Septembre 2022. La Bolle. Saint-Dié-des-Vosges.

Votat S, Lebrun L, Pontié M. Bioremoval of dyes in a microbial fuel cell by the fungus *Trichoderma harzianum*. Congrès SCF 2023. 26-28 Juin 2023. Cité des Congrès de Nantes. Nantes.

Vulgarisation scientifique :

Votat S, Shabani M, Lavaux T, Pontié M. Présentation du procédé de bioremédiation de colorant dans une biopile fongique : démonstration avec un exemple de biopile fongique à bleu de méthylène. 19 Juin 2021. Les Etincelles du Palais de la découverte. Paris XV.

Votat S, Shabani M, Lavaux T, Pontié M. Présentation du procédé de bioremédiation de colorant dans une biopile fongique : Présentation d'un procédé de protection d'une membrane contre le biofouling. 27 Janvier 2023. Les Etincelles du Palais de la découverte. Paris XV.

Publications, auteur :

Votat S, Pontié M, Shabani M, Lebrun L. Methylene blue removal by a dual-chamber fungal-based microbial fuel cell with *Trichoderma harzianum*, soumise à Journal of Applied Electrochemistry.

Votat S, Pontié M, Jaspard E, Lebrun L. Crystal Violet biodegradation study in a dual-chamber fungal microbial fuel cell with *Trichoderma harzianum*, soumise à *Energy*.

Publication, co-auteur :

Gorin M, Shabani M, **Votat S**, Lebrun L, Mbokou SF, Pontié M. Application of fungal-based microbial fuel cells for biodegradation of pharmaceuticals: comparative study of individual vs. mixed Contaminant Solutions, soumise à Chemosphere.

TABLE DES MATIERES

Remerciements.....	3
Production scientifique.....	3
TABLE DES MATIERES	7
Liste des figures	11
Liste des tableaux.....	14
Nomenclature.....	15
INTRODUCTION GENERALE.....	17
PARTIE I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	21
CHAPITRE 1. LES COLORANTS ET LEUR IMPACT ENVIRONNEMENTAL	22
I. Histoire, définition, classification, et problématiques actuelles.....	22
I.1. Histoire	22
I.2. Définition.....	23
I.3. Classification	24
I.3.1. Nécessité de classer les colorants.....	24
I.3.2. Les critères de classification des colorants.....	24
I.3.3. Classification selon l'origine.....	25
I.3.4. Classification selon la structure chimique.....	25
I.3.5. Classification selon leur utilisation	27
I.3.6. Classification selon leur toxicité	28
I.3.7. Classification selon la classe tinctoriale	29
I.4. Problématiques actuelles.....	31
II. Les effets des colorants sur l'environnement et la santé	31
II.1. Les enjeux de la pollution par les colorants	31
II.2. Les effets sur les organismes aquatiques	31
II.3. Les effets sur les organismes terrestres.....	32
II.4. Les effets sur la santé humaine	32
II.5. Le bleu de méthylène et le cristal violet : des colorants courants et dangereux.....	33
III. Les méthodes de traitements des effluents pollués par des colorants	33
III.1. La nécessité de traiter les eaux contenant des colorants	33
III.2. Procédés physiques.....	34
III.2.1. Adsorption.....	34
III.2.2. Coagulation-floculation.....	34
III.2.3. Echangeurs d'ions	35
III.2.4. Procédés membranaires.....	36
III.3. Procédés chimiques et physico-chimiques	37
III.3.1. Procédés d'oxydation avancée (POA).....	37
III.3.2. Ozonation de l'eau (H ₂ O/O ₃)	38
III.3.3. Peroxonation de l'eau (H ₂ O ₂ /O ₃)	39
III.3.4. Procédé Fenton électrochimique (Fe/H ₂ O ₂)	39
III.3.5. Ozonation photolytique (O ₃ /UV)	40
III.3.6. Photolyse du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂ /UV)	41
III.3.7. Photolyse de l'ozone couplée à la photolyse du peroxyde d'hydrogène (O ₃ /H ₂ O ₂ /UV)	41
III.3.8. Photocatalyse hétérogène	41
III.3.9. Procédé photo-Fenton	42
III.3.10. Procédé électro-Fenton.....	42
III.4. Procédés biologiques	43
III.4.1. Introduction.....	43
III.4.2. Traitement par des bactéries.....	43
III.4.3. Traitement par des champignon	44
III.4.4. Traitement par des levures	45
III.4.5. Traitement par des algues.....	46
III.4.6. Traitement par des plantes.....	47
III.4.7. Traitement par des enzymes.....	48
III.4.8. Traitements biologiques hybrides aérobie-anaérobie.....	50
III.4.9. Les procédés bioélectrochimiques.....	50
III.4.10. Les piles microbiennes.....	51
IV. Conclusion.....	51
Références	52

CHAPITRE 2. LES PILES MICROBIENNES	62
I. Les piles microbiennes	62
I.1. Définition des piles microbiennes (MFC).....	62
I.2. Historique	62
I.3. Principe de fonctionnement	63
I.3.1. Composants principaux	63
I.3.1.1. Substrat	63
I.3.1.2. Co-substrat.....	65
I.3.1.3. Médiateur de transfert électronique	65
I.3.1.4. Accepteur d'électrons	66
I.3.1.5. Mécanismes électrochimiques	66
I.4. Types de MFC	67
I.4.1. Classification selon la configuration	67
I.4.1.1. MFC seule.....	67
I.4.1.1.1. MFC à chambre unique.....	67
I.4.1.1.2. MFC à chambre double.....	68
I.4.1.1.3. MFC « cylindrique » ou « tubulaire »	68
I.4.1.1.4. MFC « rectangulaire »	68
I.4.1.1.5. MFC « plate »	68
I.4.1.1.6. MFC miniaturisée	68
I.4.1.2. MFC multiples	69
I.4.1.3. MFC intégrée dans un système de traitement	69
I.4.1.3.1. MFC associée à un bioréacteur à membrane (MBR)	69
I.4.1.3.2. MFC associée à un bioréacteur à membrane et à un lit fluidisé anaérobique.....	69
I.4.1.3.3. MFC associée à une cellule à électrolyse microbienne	70
I.4.1.3.4. MFC associé à un biocapteur (<i>biosenseur</i>)	70
I.4.1.3.5. MFC benthique	70
I.4.1.3.6. MFC montée en zone humide ou « <i>Constructed wetland MFC</i> »	71
I.4.2. Classification selon l'électrolyte	71
I.4.2.1. Eaux usées	71
I.4.2.1.1. Rejets municipaux.....	71
I.4.2.1.2. Rejets industriels	71
I.4.2.2. Lixiviats	72
I.4.2.3. Eaux synthétiques	72
I.4.3. Classification selon les électrodes.....	73
I.4.3.1. Les anodes et bioanodes	73
I.4.3.2. Les cathodes et biocathodes.....	74
I.4.4. Classification selon le micro-organisme	75
I.4.4.1. Rôle du micro-organisme.....	75
I.4.4.2. MFC à bactéries	75
I.4.4.3. MFC à champignons.....	76
I.4.4.4. MFC à levures.....	78
I.4.4.5. MFC à algues.....	80
II. Applications des MFC	81
II.1. Production de bioélectricité	81
II.2. Bioremédiation.....	81
II.3. Biocapteurs	82
II.4. Cellules à électrolyse microbienne	83
II.5. MFC à capture de carbone	83
II.6. MFC de dessalement.....	84
III. Défis et perspectives	84
III.1. Coûts matériels et opérationnels.....	84
III.2. Toxicité des produits	85
III.3. Performance des électrodes	85
III.4. Performance des PEM	85
IV. La membrane échangeuse de protons	86
IV.1. Rôle et importance des membranes échangeuses de protons.....	86
IV.1.1. Fonctions principales	86
IV.1.2. Critères de sélection et propriétés requises	86
IV.1.3. Conductivité protonique	87

IV.1.4.	Perméabilité aux gaz	87
IV.1.5.	Résistance mécanique	87
IV.1.6.	Résistance chimique.....	88
IV.1.7.	Coût et disponibilité	89
IV.2.	Types de membranes échangeuses de protons.....	89
IV.2.1.	Membranes organiques	89
IV.2.1.1.	Membranes à base de polymères sulfonés.....	89
IV.2.1.2.	Autres types de membranes organiques	91
IV.2.2.	Membranes inorganiques	91
IV.2.3.	Membranes hybrides et composites	91
IV.2.4.	Résistance biologique.....	92
IV.3.	Conclusion.....	93
	Références	94
CHAPITRE 3. LE <i>FOULING</i> DE MEMBRANES DANS LES PILES MICROBIENNES		109
I.	Généralités.....	109
I.1.	Définition.....	110
I.2.	Mécanismes	111
I.3.	Causes	112
I.4.	Conséquences.....	113
II.	Stratégies contre le <i>fouling</i> des membranes.....	113
II.1.	Méthodes physiques.....	113
II.1.1.	Utilisation d’ultrasons	113
II.1.2.	<i>Backwashing</i> ou rétro-lavage	114
II.1.3.	Optimisation des conditions hydrodynamiques.....	114
II.1.4.	Champ électrique	114
II.2.	Méthodes biologiques	114
II.2.1.	Inhibition du <i>quorum sensing</i>	114
II.2.2.	Utilisation de compétiteurs.....	114
II.3.	Méthodes Chimiques	115
II.3.1.	Prétraitement du milieu environnant	115
II.3.1.1.	Action du monoxyde d’azote (NO).....	115
II.3.1.2.	Action du chlore.....	115
II.3.1.3.	Action de l’ozone	115
II.3.1.4.	Autres produits oxydants.....	115
II.3.1.5.	Autres produits non-oxydants	115
II.3.2.	Traitement de la surface des membranes.....	116
II.3.2.1.	Revêtement à base de polyaniline	116
II.3.2.2.	Revêtement cuivre – carbone amorphe	116
II.3.2.3.	Revêtement par polymères hydrophiles	116
II.3.2.4.	Revêtement par des polymères amphiphiles	117
II.3.2.5.	Greffage	117
II.3.2.6.	Revêtement contenant des charges inorganiques	117
II.3.2.7.	Revêtement par agents antimicrobiens.....	117
II.3.3.	Revêtement en polydopamine	118
II.3.3.1.	Introduction.....	118
II.3.3.2.	Dopamine et polydopamine	119
II.3.3.3.	Nanoparticules et nanorevêtements de polydopamine	119
II.3.3.4.	Propriétés antimicrobiennes	120
III.	Conclusion.....	121
	Références	122
PARTIE II. RESULTATS ET DISCUSSIONS		132
Methylene blue removal by a dual-chamber fungal-based microbial fuel cell with <i>Trichoderma harzianum</i>		133
Abstract		133
I.	Introduction	133
II.	Experimental.....	135
II.1.	Micro-organism	135
II.2.	Chemical	136
II.3.	Culture media.....	136
II.4.	MFC construction	137

II.5. Carbon cloth characterization	139
III. Results and discussions	139
III.1. Stability of MB	139
III.2. The growth of <i>T. harzianum</i>	140
III.3. MB removal by MFC	140
III.4. Power production by MFC.	146
IV. Conclusion.....	153
References	154
Crystal Violet biodegradation study in a dual-chamber fungal microbial fuel cell with <i>Trichoderma harzianum</i> ..	156
Abstract	156
I. Introduction	156
II. Experimental.....	157
II.1. Micro-organism and culture media	157
II.2. Chemicals	157
II.3. Toxicity of VC	157
II.4. MFC.....	158
II.5. Carbon cloth characterization	159
III. Results and discussions	159
III.1. Stability of VC.....	159
III.2. VC removal by MFC	159
III.3. Power production by MFC.	165
III.1. Dyes biodegradation by <i>T. harzianum</i> : a short overview	172
IV. Conclusion.....	174
References	176
CONCLUSION CHAPITRE 1 ET 2 : BIOREMEDIATION DU MB ET DU VC	178
CHAPITRE 3. MODIFICATION D'UNE MEMBRANE ECHANGEUSE DE PROTON (PEM) POUR LIMITER LE PHÉNOMÈNE DE <i>BIOFOULING</i>	180
I. Introduction	180
II. Matériel et méthodes	180
II.1. Micro-organisme.....	180
II.2. Produits chimiques.....	180
II.3. Milieux de culture.....	181
II.4. Modification de la PEM.....	181
II.5. Mesures d'angles de contact	184
II.6. Observation par microscopie électronique à balayage	184
II.7. Observations par microscopie à force atomique	185
II.8. Analyses par spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie	186
II.9. Tests de conductivité protonique	186
II.10. Tests antimicrobiens sur les PEM.....	188
II.11. Configuration MFC	188
III. Résultats et discussions	190
III.1. Observations macroscopiques des revêtements	190
III.2. Observations des revêtements par MEB.....	191
III.3. Observations des revêtements par AFM.....	192
III.4. Angles de contact	198
III.5. Mesures de diffusion de protons.....	199
III.6. Tests antimicrobiens sur cultures de <i>T. harzianum</i>	202
III.7. Expériences en MFC	205
III.8. Observations MEB des PEM après utilisation en MFC.....	208
IV. Conclusion.....	209
Références	212
PARTIE III. CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	214
ANNEXES	217

Liste des figures

PARTIE I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1. LES COLORANTS ET LEUR IMPACT ENVIRONNEMENTAL

Fig. 1. Formules topologiques de : a) Bleu de méthylène (MB) ; b) Cristal violet (VC)

CHAPITRE 2. LES PILES MICROBIENNES

Fig. 1. Nombre de publications disponibles sur la plate-forme ScienceDirect avec les mots clés « microbial fuel cell ».

Fig. 2. Formule générale semi-développée du NafionTM : x est la proportion en monomère tétrafluoroéthylène (TFE) non substitué (non – polaire), y est la proportion en monomère TFE substitué par une chaîne latérale de type éther perfluoré (polaire), z est la longueur de la chaîne latérale (polaire) et n est le degré de polymérisation de la chaîne principale [306].

PARTIE II. RESULTATS ET DISCUSSIONS

CHAPITRE 1. ARTICLE 1.

Fig. 1. a) *T. harzianum* on PDA petri dish (strain n°1573, IRHS, Angers, France); b) *T. harzianum*, filaments and spores (x 1000); c) *T. harzianum*'s biofilm on carbon cloth (x 2500).

Fig. 2. Scheme of MFC with *T. harzianum* entrapped in carbon cloth anode for MB oxidation.

Fig. 3. Growth of *T. harzianum* on PDA plates with or without MB (room T°, $C_{MB} = 100 \text{ mg L}^{-1}$).

Fig. 4. MB removal by MFC: a) Absorbance spectra of anolyte samples vs time t (with KIP carbon cloth anode); b) Kinetics of consumption of MB: concentration C_t vs t ; c) Removal of MB : f vs t ; d) Pseudo-first order model plot of MB removal.

Fig. 5. MB removal by the MFC: influence of the MB saturation of carbon cloth. Kinetics of consumption of MB vs t : a) KIP anode; b) CSV anode.

Fig. 6. MB removal by the MFC (CSV carbon cloth as anode): a) Influence of *T. harzianum* biofilm on anode; b) Influence of potassium ferricyanide in the cathodic compartment.

Fig. 7. Performances of MFC with KIP or CSV anode: a) Potential E at optimum R vs t ; b) Power density φ_v vs t .

Fig. 8. Influence of the MB saturation of carbon cloth on the MFC performances: power density φ_v vs t : a) KIP anode; b) CSV anode.

Fig. 9. Performances of MFC with saturated KIP anode in OCV mode or CCV mode: a) Potential at optimum R vs t ; b) Power density φ_v vs t .

Fig. 10. Influence of potassium ferricyanide (PF) in the cathodic compartment on the MFC performances: polarization curves with and without PF after 48 h of installation.

CHAPITRE 2. ARTICLE 2.

Fig. 1. VC removal by MFC: a) Absorbance spectra of anolyte samples *vs.* time t (with KIP carbon cloth anode); b) Kinetics of consumption of VC: concentration C_t *vs.* t ; c) Removal of VC : f *vs.* t ; d) Pseudo-first order model plot of VC removal.

Fig. 2. VC removal by the MFC: influence of the VC saturation of carbon cloth. Kinetics of consumption of VC *vs.* t : a) KIP anode; b) CSV anode.

Fig. 3. Influence of *T. harzianum* on VC removal (KIP carbon cloth as anode): Pseudo-first order model plot of VC removal.

Fig. 4. Performances of MFC with KIP or CSV anode: a) Potential E at optimum resistance R *vs.* t ; b) Power density φ_v *vs.* t .

Fig. 5. Influence of the carbon cloth MB saturation on the MFC performances: power density φ_v *vs.* t : a) KIP anode; b) CSV anode.

Fig. 6. Performances of MFC with saturated KIP anode in open circuit potential (OCV) or closed-circuit mode (CCV): a) Potential E at optimum R *vs.* t ; b) Power density φ_v *vs.* t ; c) VC removal: f *vs.* t .

Fig. 7. *T. harzianum* growth curves in the presence of increasing C_{VC} (from top to bottom: 0 (*i.e.*, control) (\square), 0.25 (\blacksquare), 0.5 (\diamond), 1 (\blacklozenge), 1.25 (Δ), 1.5 (\blacktriangle), 1.75 (\circ), 2.25 (\bullet) and 2.5 mg L^{-1} (X), respectively).

Fig. 8. *T. harzianum* inhibition rate at different C_{VC} .

Fig. 9. Hypothesis on VC biodegradation: a) Possible degradation by-products of VC by laccase from *T. asperellum* [11]; b) Structure ofalachlor and guaiacol.

CHAPITRE 3.

Fig. 1. Hypothèse de mécanisme de transformation et de polymérisation de la dopamine sur une surface de Nafion™ 117.

Fig. 2. Interactions entre les ions métalliques (argent et cuivre) et la polydopamine lors de l'étape de fixation de ces ions.

Fig. 3. Réaction de réduction des ions métalliques en particules métalliques par action de l'acide ascorbique.

Fig. 4. Photographies des PEM Nafion™ 117 modifiées : a) PEM sans modification « Témoin » ; b) PEM « Ag 0.35 » ; c) PEM « Cu 0.35 » ; d) PEM « Polydopamine » ; e) PEM « Ag 0.035 » ; f) PEM « Cu 0.035 »

Fig. 5. Images MEB des PEM Nafion™ 117 modifiées : a) PEM sans modification « Témoin » ; b) PEM « Polydopamine » c) PEM « Ag 0.035 » ; d) PEM « Ag 0.35 » ; e) PEM « Cu 0.035 » ; f) PEM « Cu 0.35 » (grandissement x 1000)

Fig. 6. Spectres EDX des PEM Nafion™ 117 modifiées avec des particules métalliques : a) PEM « Ag 0.035 » ; b) PEM « Ag 0.35 » ; c) PEM « Cu 0.035 » ; d) PEM « Cu 0.35 ».

Fig. 7. Cartographie AFM de hauteur des PEM Nafion™ 117 modifiées, avec une échelle de 50µm x 50µm : a) PEM sans modification « Témoin » ; b) PEM « Polydopamine » c) PEM « Ag 0.035 » ; d) PEM « Ag 0.35 » ; e) PEM « Cu 0.0335 » ; f) PEM « Cu 0.35 ».

Fig. 8. Histogramme des Module DMT, d'adhésion et de dissipation déduites des observations AFM des PEM Nafion™ 117 modifiées.

Fig. 9. Effet des modifications appliquées sur les PEM sur les angles de contact eau déionisée – PEM et tampon citrate – PEM.

Fig. 10. Évolution de la concentration en protons dans le compartiment aval au cours du temps, en fonction de la modification appliquée à la PEM Nafion™ 117 dans le système pH 1 // pH 7.

Fig. 11. Evolution des diamètres d'inhibition au cours du temps selon les modifications appliquées aux PEM (incluant les échantillons témoins).

Fig. 12. Influence de la PEM sur un tapis de *T. harzianum* après un mois d'expérience. De gauche à droite : a) Sans PEM et sans tapis microbien ; b) Sans PEM ; c) Avec PEM témoin ; d) Avec PEM « Polydopamine » ; e) Avec PEM « Ag 0.035 » ; f) Avec PEM « Cu 0.035 » ; g) Avec PEM « Ag 0.35 » ; h) Avec PEM « Cu 0.35 ».

Fig. 13. Élimination de MB au cours du temps par MFC lors de 4 cycles successifs de fonctionnement : a) MFC A avec PEM en Nafion™ ; b) MFC B avec PEM « Cu 0.035 ».

Fig. 14. Evolution de la puissance produite par les MFC lors des 4 cycles de fonctionnement.

Fig. 15. Images MEB (grandissement x 1000) de PEM : a) PEM Nafion™ 117 neuve ; b) PEM provenant de la MFC A ; c) PEM « Cu 0.035 » de la MFC B.

Fig. 16. Images MEB (grandissement x2000) de la PEM « Ag 0.35 » après un mois de fonctionnement en MFC : a) Dépôt d'argent ; b) Reste de filament de *T. harzianum* (rare).

ANNEXES

Fig A1. Influence of operative parameters on the MFC potential and power density at start of operation: potential E vs current density J and power density φ_s vs current density J : a) Non saturated CSV anode in OCV mode; b) Saturated CSV anode in OCV mode; c) Non saturated KIP anode in OCV mode; d) Saturated KIP anode in OCV mode; e) Saturated KIP anode in CCV mode.

Fig A2. Influence of operative parameters on the MFC potential and power density at start of operation: potential E vs. current density J , and power density φ_s vs. current density J : a) Non saturated KIP anode in OCV mode, without biofilm ; b) Non saturated CSV anode in OCV mode; c) Saturated CSV anode in OCV mode; d) Non saturated KIP anode in OCV mode; e) Saturated KIP anode in OCV mode; f) Saturated KIP anode in CCV mode.

Liste des tableaux

PARTIE I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1. LES COLORANTS ET LEUR IMPACT ENVIRONNEMENTAL

Tab. 1. Principaux colorants synthétiques employés dans l'industrie agro-alimentaire.

Tab. 2. Classification des colorants selon leur utilisation

Tab. 3. Classification des colorants selon leur toxicité

Tab. 4. Exemples d'expériences de traitement de colorant par des levures.

Tab. 5. Exemples d'expériences de traitement de colorants par des plantes.

Tab. 6. Exemples d'expériences de traitement de colorant par des enzymes sous libre ou fixées sur un support.

PARTIE II. RESULTATS ET DISCUSSIONS

CHAPITRE 1. ARTICLE 1.

Tab. 1. *T. harzianum* growth characteristics on PDA and PDA + MB plates (room T°, C_{MB} = 100 mg L⁻¹).

Tab. 2. Performances of MFCs: carbon clothes, saturation level, OCV and CCV operating mode, maximum electromotive force (emf), maximum electrode surface power density φ_s , maximum electrode volume power density φ_v and solution volume power density φ_v .

Tab. 3. Performances of MFCs with saturated KIP electrode OCV mode with and without PF: maximum values of electromotive force, electrode surface power density φ_s , electrode volume power density φ_v and solution volume power density φ_v .

CHAPITRE 2. ARTICLE 2.

Tab. 1. Performances of MFCs: carbon cloth used, presence of *T. harzianum*, saturation level, OCV and CCV operating mode, maximum electromotive force (emf) at $t = 0$, maximum electrode surface power density φ_s , and maximum anolyte volume power density φ_v , maximum electrode volume power density φ_v .

Tab. 2. *T. harzianum* genes and depolluting enzymes [45].

CHAPITRE 3.

Tab. 1. Rugosités moyennes déduites des observations AFM des PEM Nafion™ 117 modifiées. Fenêtre d'observation de 50 μm x 50 μm .

Tab. 2. Module DMT, d'adhésion et de dissipation déduites des observations AFM des PEM Nafion™ 117 modifiées.

Tab. 3. Résultats des mesures de diffusion de protons à travers les PEM Nafion™ 117 non modifiées et modifiées. Les valeurs en italique ont été obtenues avec le tampon citrate.

Nomenclature

Abréviations

AEM : Anion exchange membrane

AFM : Atomic force microscopy.

Ag : Argent.

CCMFC : Carbon capture microbial fuel cell.

CCV : Closed-circuit voltage.

CEM : Cation exchange membrane

Cu : Cuivre.

emf : Electromotive force.

ETM : Electronic transfer mediator

HSAB : Hard and soft acid and bases.

MB : Methylene blue.

MBBR : Moving bed bioreactor.

MBR : Membrane bioreactor.

MDC : Microbial desalination cell.

MEB : Microscope électronique à balayage.

MEC : Microbial electrolysis cell.

MFC : Microbial fuel cell.

OCV : Open circuit voltage.

PDA : Potato dextrose agar.

PEM : Proton-exchange membrane.

POA : Procédé d'oxydation avancée

VC : Violet crystal.

Symboles

Z : Paramètre d'hétérogénéité introduit par Glueckauf.

A : Absorbance.

at% : Pourcentage atomique (at%).

C_0 : Concentration initiale de colorant dans l'anolyte (mg L^{-1}).

C_{eq} : Concentration à l'équilibre de colorant dans l'anolyte (mg L^{-1}).

C_t : Concentration du colorant dans l'anolyte au temps t (mg L^{-1}).

$D_{C(H^+)}$: Coefficient de diffusion du proton H^+ en solution ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$).

E : Différence de potentiel électrique (mV).

f : Pourcentage d'élimination (%).

I : Intensité du courant (A).

IC_{50} : Half maximal inhibitory concentration (mg L⁻¹).

I_{max} : Inhibition maximale.

I_{min} : Inhibition minimale.

J : Densité de courant (mA m⁻²).

$J_{C(H^+)}$: Flux molaire de proton (mol m⁻² s⁻¹ ou mmol m⁻² s⁻¹).

k : Constante de vitesse de réaction (h⁻¹).

m : Masse d'anode (g).

P : Pression (bar).

$P_{C(H^+)}$: Coefficient de perméabilité intégral de H⁺ (cm² s⁻¹).

$P_{C(H^+)}/D_{C(H^+)}$: Facteur d'exclusion de Donnan.

$P^*_{C(H^+)}$: Coefficient de perméabilité local de H⁺ (cm² s⁻¹).

pH : Potentiel hydrogène.

q_e : Quantité de colorant dans l'anolyte par unité de masse d'anode, à l'équilibre (mg g⁻¹).

q_t : Quantité de colorant dans l'anolyte par unité de masse d'anode, au temps t (mg g⁻¹).

R : Résistance électrique (Ohms).

t : Temps (h ou min).

$t_{1/2}$: Temps de demi-réaction (h).

T : Température (°C).

wt% : Pourcentage massique (wt%).

Symboles grecs

θ : Angle de contact (°).

λ : Longueur d'onde (nm).

φ_s : Densité surfacique de puissance (mW m⁻² d'anode).

φ_v : Densité volumique de puissance (W m⁻³ de d'anode).

φ_v' : Densité volumique de puissance (mW m⁻³ d'anolyte).

INTRODUCTION GENERALE

Cette étude s'inscrit dans le thème général de recherche de deux laboratoires qui m'ont accueilli pour préparer cette thèse :

- Le Laboratoire « Polymères, Biopolymères, Surfaces » (PBS) de la faculté des Sciences et Techniques de l'Université de Rouen – Normandie, UMR 6270 du CNRS, dont l'une des thématiques porte sur l'application des polymères, et notamment les membranes, à la préservation de l'environnement.
- Le Laboratoire « Groupe Analyses et Procédés » (GA&P) de la faculté des Sciences de l'Université d'Angers, dont l'une des thématiques porte sur la mise au point de procédés propres et durables pour l'élimination de micropolluants organiques nocifs dans les eaux. La première pile microbienne à champignon y a été mise au point en 2017.

Le développement durable est un concept d'actualité dans nos sociétés. Pour qu'il soit à la fois équitable, viable et vivable, il doit reposer sur trois piliers interdépendants : le développement social, économique et écologique. Ce dernier pilier est très large et regroupe plusieurs aspects complémentaires comme le maintien de la biodiversité, l'exploitation responsable des ressources naturelles, la transition d'une énergie fossile à une énergie renouvelable mais encore la préservation de la qualité de l'air et des eaux. Sur ce dernier point, il convient d'évoquer la problématique de la pollution des eaux, provenant de divers secteurs des activités humaines (domestiques, agricoles et industrielles).

L'eau est la base de la vie sur Terre. Elle est consommée par les micro-organismes, les végétaux, les champignons, mais aussi par les animaux dont l'Homme. Cette ressource indispensable au fonctionnement de tout écosystème est menacée et se raréfie à cause des rejets d'espèces chimiques nocives, qui ne sont pas toujours correctement éliminées. La pollution des eaux, qu'elle soit volontaire ou non, constitue une menace pour la qualité de nos vies et suscite une préoccupation justifiée de la communauté internationale.

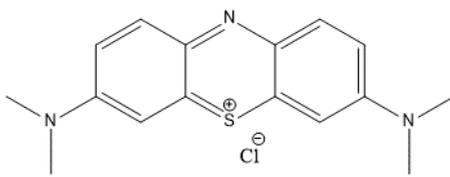
La préservation des eaux est un enjeu majeur pour les prochaines décennies et repose sur deux objectifs, qui sont de ne pas la gaspiller et limiter sa pollution. La protection des milieux naturels et de la nécessité d'avoir des eaux potables sont aujourd'hui considérés comme capital. Les instances internationales, comme l'Agence de Protection de l'Environnement aux Etats-Unis, l'Agence Européenne de l'Environnement ou certaines organisations non gouvernementales comme Greenpeace rappellent cet enjeu à la suite de chaque catastrophe et préconisent des réglementations de plus en plus exigeantes. L'organisation mondiale de la santé (OMS) et l'ONU donnent des recommandations pour orienter les politiques environnementales des pays, mais n'imposent rien.

La pollution chimique des eaux peut être le fait de différentes espèces chimiques, dont les colloïdes, les solvants, les tensioactifs, les métaux lourds, les ions (nitrates, phosphates, chlorure), mais encore les colorants.

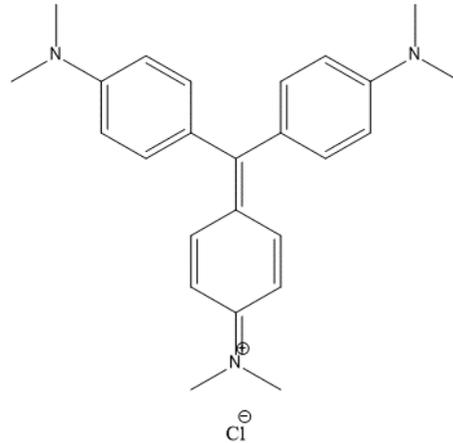
Les colorants provoquent une des pollutions les plus graves des eaux. S'ils sont utiles pour différentes applications notamment dans l'industrie textile, ils font partie des polluants les plus toxiques et persistants. Même en très petite quantité, ils sont susceptibles de provoquer des dégâts sur la qualité des eaux. C'est le cas par exemple, du cristal violet (VC) et du bleu de méthylène (MB) (Fig. 1). Ces derniers peuvent dégrader la limpidité des eaux et modifier la quantité d'oxygène disponible pour les végétaux. De plus, le VC est persistant et cancérigène.

Fig. 1. Formules topologiques de : a) Bleu de méthylène (MB) ; b) Cristal violet (VC)

a) Bleu de méthylène (MB).



b) Cristal violet (VC).



Les traitements de l'eau incluent des techniques physico-chimiques comme l'adsorption, la floculation, la photolyse, la précipitation chimique, l'oxydation ou la réduction chimique, les traitements électro-chimiques et l'extraction par paire d'ions. Ces méthodes sont couramment employées mais ne sont pas toujours suffisantes pour englober tous les colorants présents dans les eaux et peuvent générer une grande quantité de boues contenant des polluants secondaires.

La bioremédiation est un procédé de traitement biologique de dépollution de l'environnement qui utilise des organismes vivants, tels que les bactéries, les champignons et les plantes, pour dégrader et éliminer les contaminants présents dans les sols, les eaux souterraines et les eaux de surface. Les organismes utilisés dans la bioremédiation ont souvent la capacité de décomposer des composés chimiques toxiques en produits moins nocifs pour l'environnement. Cette voie de dépollution est souvent considérée comme une alternative plus durable et plus écologique que les méthodes de dépollution traditionnelles. La bioremédiation est utilisée dans de nombreuses applications, notamment pour traiter les sols contaminés par des hydrocarbures et les eaux usées industrielles contenant des produits chimiques toxiques. Cependant, la bioremédiation des polluants peut prendre beaucoup de temps pour être totale. De nombreuses recherches visent aujourd'hui à améliorer l'efficacité de ce procédé de dépollution.

Une pile microbienne (MFC) est un dispositif qui utilise des micro-organismes, le plus souvent des bactéries, pour convertir l'énergie chimique en énergie électrique. Une MFC est généralement constituée de deux compartiments séparés par une membrane échangeuse de protons (PEM). Le plus souvent, le compartiment anodique contient des boues, des lixiviats ou des eaux contenant des matières organiques (sucres, alcools, médicaments, colorants). Ces matières peuvent être dégradées par un micro-organisme qui est d'ordinaire présent sur l'anode et qui utilise ces matières comme substrat. Cette dégradation libère des électrons qui sont à l'origine du courant électrique produit par la MFC.

Les avantages des MFC sont, une production d'énergie renouvelable à partir de polluants, leur faible coût, leur capacité à fonctionner dans des environnements hostiles et difficiles d'accès. Ils peuvent également être associés à des *biosenseurs*, permettant le suivi en continu d'une ou plusieurs substances présentes dans un milieu. Des applications plus exotiques existent, comme le dessalement, la capture de dioxyde de carbone ou l'électrolyse.

Les inconvénients des MFC sont la faible production d'énergie comparé aux piles à combustibles chimiques, mais surtout subissent un encrassement de la PEM par *biofouling*. Au cours du fonctionnement de la pile, les micro-organismes présents sur les électrodes peuvent être relargués et se déposer sur la PEM. Cela provoque une baisse prématurée des performances de la MFC, ce qui constitue un verrou majeur pour la montée en échelle de ces systèmes.

Les MFC pourraient être utilisés pour éliminer les colorants présents dans les effluents des industries textiles. Cependant, ces colorants contiennent souvent des cycles aromatiques qui sont difficiles à dégrader par les bactéries. Au contraire, les champignons, qui possèdent des enzymes spécifiques comme la laccase et la peroxydase, ont la capacité à dégrader ces molécules. L'utilisation d'un champignon est donc intéressante à envisager pour la bioremédiation des colorants dans des MFC.

Trichoderma harzianum est un champignon filamentueux, saprophyte, aérobie-anaérobie facultatif qui appartient à la famille des *Hypocreaceae*. Il est largement répandu dans les forêts et est considéré comme un agent de lutte biologique (appelé bio-contrôle) vis-à-vis d'autres agents biologiques pathogènes des plantes. *T. harzianum* est connu pour son potentiel de bioremédiation, notamment pour la dégradation de molécules possédant des cycles aromatiques. Il est donc un candidat intéressant pour la dégradation des colorants MB et VC dans une MFC.

Le premier objectif de ce travail a donc été de mettre au point des MFC à double compartiment, en utilisant *T. harzianum* pour la bioremédiation de MB et de VC. Les expériences ont été menées avec des électrodes en tissu de carbone, de deux types différents afin de comparer leurs performances. L'objectif suivant a été de développer une méthode pour lutter contre le *biofouling* de la PEM, afin de prolonger la durée de vie des MFC. La PEM a été modifiée par un revêtement en polydopamine, associé à des particules d'argent ou de cuivre.

Ce manuscrit de thèse se divise en trois parties.

La première partie est une étude bibliographique. Elle contient trois chapitres qui sont consacrés aux colorants, aux piles microbiennes et au *biofouling*. Son objectif est de dresser un état de l'art sur ces sujets et de situer nos travaux par rapport à ceux déjà publiés.

La deuxième partie contient trois chapitres consacrés aux résultats et discussions. Les deux premiers sont rédigés en anglais et présentés sous la forme de publications en cours de rédaction ou soumises. Ils concernent la bioremédiation du MB, puis du VC par MFC. Le troisième chapitre est présenté suivant un format plus traditionnel et est rédigé en français. Il aborde les traitements *antifouling* de la membrane. Chaque chapitre contient sa propre section « Matériel et méthodes ».

Enfin, ce manuscrit se termine par une conclusion générale qui rappelle les principaux résultats obtenus et leurs interprétations, et propose des perspectives pour les travaux futurs.

PARTIE I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

L'objectif de cette partie est d'introduire la problématique de la pollution des eaux par les colorants, de montrer l'intérêt de l'utilisation des piles microbiennes pour traiter ces pollutions, et de présenter des voies d'amélioration pour limiter le *biofouling* de la membrane.

Le premier chapitre consistera en une étude bibliographique sur les colorants et les méthodes pour les éliminer des eaux.

Le deuxième chapitre fera l'état de l'art sur les piles microbiennes afin de montrer comment cette technologie peut répondre à la problématique de la pollution des eaux par les colorants.

Le troisième chapitre, développera la problématique du *biofouling* de la membrane des piles microbiennes et détaillera les différentes méthodes envisageables pour lever ce verrou.

Cette partie constituera une base bibliographique utile pour se familiariser avec les théories et les approches développées sur ces sujets, ce qui nous aidera à mieux aborder les expériences et interpréter les résultats.

I. Histoire, définition, classification, et problématiques actuelles

I.1. Histoire

Dès l'aube de l'humanité, des substances colorées ont été employées, à commencer par les pigments. Ceux-ci servaient à décorer des objets et même à créer des œuvres d'art. Les premiers pigments utilisés provenaient de la nature et incluaient le charbon de bois, des minéraux et des argiles. L'ocre rouge, l'ocre jaune, la terre verte étaient ainsi largement utilisés pour préparer des peintures, dessiner, tatouer ou orner (tentes, peaux animales). Les fibres ont pu être teintées après la découverte d'agents fixateurs comme l'urine ou le lait caillé. Mais les exemples les plus emblématiques sont les peintures rupestres de Lascaux ou d'Altamira, datés à 15000 ans avant notre époque qui montrent des formes géométriques et des animaux colorés.

Les civilisations de l'Antiquité, comme celle originaires de l'Indus, la Phénicie, l'Égypte, la Grèce ou l'Empire romain ont poursuivi et développé l'utilisation des pigments. En Inde, l'indigo colorait les textiles, les poteries et les sculptures en argile. En Phénicie, la laine et le lin étaient teints à l'aide de colorants naturels comme la garance, l'indigo ou le pourpre de Tyr. Les Égyptiens sont connus pour leurs hiéroglyphes peints à l'aide d'indigo, de garance, de cochenille. Les Grecs se sont inspirés des Phéniciens pour teindre les textiles, le pourpre étant d'ailleurs un marqueur de prestige et de richesse chez les élites en raison de son prix. Quant aux Romains, là encore les vêtements et tissus étaient teints, mais également les murs des maisons luxueuses et les mosaïques.

Dans l'Europe médiévale, les colorants servaient à teindre les vêtements, les tapisseries et les parchemins. A la garance, l'indigo et la cochenille se sont ajoutés, la gaude pour teindre en jaune, des colorants minéraux tels que le cinabre, le lapis-lazuli et le vermillon pour les enluminures des manuscrits et des bibles. Le bleu outremer, d'usage similaire, était par ailleurs recherché et coûteux. Le monde islamique avait recours au henné pour les tissus et à la malachite pour les faïences et les céramiques.

Au XVIII^{ème} siècle, la découverte accidentelle du bleu de Prusse, un aluminosulfate de cobalt par J. J. Diesbach profite aux peintres. J. Leithner synthétise pour la première fois le bleu de cobalt et le propose à la manufacture de porcelaine de Vienne. En 1777, J. G. Gahn et C. F. Wenzel préparent indépendamment un mélange de sels d'aluminium mêlés à une solution de cobalt, devenant bleu par calcination et le second propose ce produit à la fabrique de porcelaine de Saxe. C'est le début d'une véritable chimie des colorants.

Le siècle suivant a vu l'émergence d'une véritable chimie des colorants synthétiques, permettant une production de masse. J.-B. Guimet a réalisé pour la première fois la synthèse du bleu d'outremer, appelé le bleu Guimet, à partir de thiosulfate d'aluminosilicate de sodium en 1827. En 1856, W. Perkin découvre la mauvéine par erreur en tentant de synthétiser la quinine. Rapidement breveté, elle est fabriquée dans la première usine de colorant de synthèse. Mais c'est en Allemagne que la majorité des travaux sont réalisés, en chimie en général, et en particulier dans le domaine des colorants.

En travaillant sur le naphta et le gaz de ville, A. W. von Hofmann découvre la synthèse de la fuchsine et de la quinoléine. A. von Baeyer et V. Drewsen mettent au point une méthode de synthèse de l'indigotine (indigo synthétique) et en 1882 C. Graebe synthétise avec C. Liebermann l'alizarine. Cette liste, bien que longue, est très incomplète et témoigne de l'intérêt croissant des chimistes envers les colorants pour l'époque.

Cet intérêt fut encore motivé lors du XXème siècle et ses guerres. Pendant la Première Guerre Mondiale, l'Empire Allemand, alors leader mondial de la synthèse et l'industrie des colorants a vu son approvisionnement en matière premières amoindri, du fait du blocus naval imposé par l'Entente. Les chimistes allemands se sont adaptés par des méthodes alternatives de synthèse plus économiques. L'après-guerre a vu les usages des colorants étendus aux secteurs de l'automobile, de la photographie et de l'alimentation.

Au cours de la Seconde Guerre Mondiale, l'industrie des colorant a de nouveau été impliquée dans l'effort de guerre en particulier pour le camouflage (uniformes, véhicules...), le marquages (cartes, uniformes, véhicules, équipements médicaux, les munitions (fumée, tirs de reconnaissance, obus). L'après-guerre a vu des usages étendus pour les textiles, les plastiques et les emballages, notamment dans les années 50 et 60 et le développement de la société de consommation.

I.2. Définition

Un colorant est une espèce chimique soluble dans un solvant. Leur emploi consiste en la coloration ou la teinte de matériaux incluant par exemples les textiles, les papiers, les plastiques ou les aliments. Leur utilisation se fait souvent après solubilisation dans un solvant aqueux, bien que d'autres solvants polaires (alcools) ou même apolaire (huiles) puissent convenir. Ils ne doivent pas être confondus avec les pigments, lesquels sont insolubles dans l'eau en plus de nécessiter un liant pour être dispersés sur la surface à teindre [1].

Il existe plusieurs façons de déposer un colorant sur une surface, selon le matériau et le résultat final escompté. Les méthodes les plus courantes incluent le dépôt par pinceau, la pulvérisation, le trempage, l'impression ou le brossage. Dans le domaine de la chimie, les colorants peuvent servir pour colorer une solution ou des réactifs, pour marquer des composés spécifiques mais encore pour induire un changement de couleur comme les indicateurs de pH (bleu de bromothymol, phénolphtaléine, orange de méthyle, rouge de méthyle) [2]. En biologie, les colorants sont employés pour le marquage histologique (cellules, tissus) et pour la détection de biomolécules (protéines, ADN). La coloration de Gram, reposant sur le cristal violet et la safranine est un test célèbre permettant de classer les bactéries [3].

La couleur d'un colorant est dû à la présence d'un groupe chromophore dans sa structure moléculaire. Ce groupement fonctionnel possède des électrons pi conjugués délocalisables par photo-excitation (transition $n - \pi^*$ ou $\pi - \pi^*$), lui donnant la capacité de déplacer la longueur d'onde maximale d'absorption dans le domaine des rayonnements électromagnétiques ultraviolet, visible ou infrarouge proche. Le rayonnement résulte de la fréquence des rayons réémis [2]. Les chromophores les plus connus sont les groupes alcènes ($-C=C-$), azo ($-N=N-$), nitro ($-NO_2$), nitroso ($-NO$), carbonyle ($-C=O$) et les structures aromatiques carbonées.

Un auxochrome est un groupe fonctionnel qui possède une influence sur les propriétés d'absorption d'un chromophore présent à proximité [4]. Un auxochrome peut déplacer la longueur d'onde maximale d'absorption vers les grandes longueurs d'onde (effet bathochrome) ou bien vers les petites longueurs d'onde (effet hypsochrome). Il peut aussi augmenter l'intensité de l'absorption (effet hyperchromique) ou bien la diminuer (effet hypochromique). Les exemples les plus documentés incluent les groupes amines (-NH₂), hydroxyles (-OH), phénoliques (-Ar-OH), carboxyles (-COOH) et sulfoniques (-SO₃H) [4]. Si ces groupes ont tous des propriétés acido-basiques, leurs effets respectifs sur les matériaux diffèrent.

Les groupes amines forment des liaisons hydrogène avec les molécules à proximité. Ils améliorent ainsi la liaison colorant – matériau. Leur effet est bathochrome. Les groupes hydroxyles ont un mécanisme de liaison similaire, mais ils ont pour effet de donner clarté et brillance à la couleur. Les groupes phénoliques ont des effets très voisins. Quant aux groupes carboxyliques comme sulfoniques, leur forme déprotonée peut se chélater facilement avec des ions métalliques, avec un effet hypsochrome pour les premiers et un bathochrome pour les seconds.

La quantité de groupes chromophores et auxochromes est responsable de la vivacité et de l'intensité de la couleur d'un colorant, mais aussi de sa stabilité. Ainsi, une grande variété de colorants peut servir à une grande variété d'applications. Il convient donc de les classer.

I.3. Classification

I.3.1. Nécessité de classer les colorants

La classification des colorants est utile pour plusieurs raisons, notamment pour la sécurité alimentaire. Les colorants sont largement utilisés dans l'industrie pour améliorer l'apparence des produits alimentaires, mais certains ont été interdits car ils peuvent avoir des effets négatifs sur la santé, en provoquant des réactions immunitaires spécifiques ou non [5] et des cancers [6]. La classification des colorants permet de distinguer les colorants sûrs des colorants potentiellement dangereux. Elle permet aussi de définir des normes de qualité et de sécurité pour les colorants utilisés dans l'industrie alimentaire ([7] ; [8]), cosmétique [9], pharmaceutique [10] et textile. Les colorants alimentaires doivent être étiquetés conformément à la réglementation alimentaire en vigueur dans chaque pays [11]. La classification des colorants permet de faciliter l'étiquetage en identifiant les colorants autorisés et en limitant les risques de confusion avec d'autres substances. La recherche et le développement vise aujourd'hui à développer de nouveaux colorants plus sûrs et de meilleure qualité [12].

I.3.2. Les critères de classification des colorants

Il existe plusieurs façons de classer les colorants. Les colorants peuvent être naturels, artificiels et synthétique [13]. Ils peuvent être, entre autres, alimentaires, textiles ou cosmétiques. Ils peuvent être solubles ou insolubles dans l'eau. Ils peuvent aussi être classés selon leur méthode d'application sur une surface : on parle de classification tinctoriale. Les colorants peuvent être classés selon leur structure chimique (azoïques, anthraquinoniques, phénoliques, etc.). Enfin, ils peuvent être inoffensifs, dangereux et parfois interdits.

I.3.3. Classification selon l'origine

La classification des colorants selon l'origine se fait en fonction de la source des pigments colorés utilisés pour produire les colorants. Il existe deux types de colorants selon leur origine : les colorants naturels et les colorants synthétiques. La classification selon l'origine est importante car les colorants naturels et synthétiques présentent des avantages et des inconvénients différents en termes de coût, de stabilité, de toxicité, de disponibilité et de propriétés colorantes.

Les colorants naturels sont des colorants provenant de la nature et utilisés sans traitement chimique [12]. Ils peuvent provenir de végétaux, d'animaux (dont les insectes) ou de minéraux [14]. Ils peuvent être utilisés pour colorer des textiles, des aliments, des produits cosmétiques, du bois, du cuir, des plastiques ou des produits pharmaceutiques [15]. Les colorants naturels végétaux peuvent être classifiés selon leur structure : les chlorophylles, les caroténoïdes (alpha-carotène, bêta-carotène en particulier), les flavonoïdes (anthocyanes et anthocyanidines notamment), les bétalaïnes (bétacyanines et bétaxanthines surtout) ([16] ; [17]), les phycobiliprotéines et phycobilline.

Les colorants synthétiques sont fabriqués à partir de produits chimiques par des procédés de synthèse chimique. Ils ont été développés à partir de la seconde moitié du XIXe siècle pour remplacer les colorants naturels, plus coûteux et plus difficiles à produire en grande quantité [18]. Ils peuvent être produits à grande échelle à moindre coût, mais peuvent être plus toxiques et causer des problèmes de santé. Leur utilisation dans l'industrie agro-alimentaire est critiquée, en raison de leur effet néfaste potentiel pour les consommateurs. Le Tab. 1. liste les colorants synthétiques les plus couramment utilisés dans l'industrie agro-alimentaire, avec les références associées.

Tab. 1. Principaux colorants synthétiques employés dans l'industrie agro-alimentaire.

Colorant	Références
Bleu brillant FCF	([19] ; [20])
Indigotine	([21] ; [22])
Bleu patenté V	([23] ; [24])
Jaune de quinoléine	([25] ; [26])
Jaune orangé S FCF	([19] ; [20])
Tartrazine	([20] ; [27])

I.3.4. Classification selon la structure chimique

Les colorants peuvent être classés en différents groupes en fonction de leur structure chimique : les colorants azoïques, anthraquinoniques, indigoïdes, phénoliques, phtalocyanine, nitrés, nitrosés, polyméthiniques, contenant le diphenylméthane ou le triphenylméthane.

Les colorants azoïques contiennent un groupe azo (-N=N-) dans leur structure moléculaire. On distingue les types monoazoïque (dominant) et polyazoïques selon la présence d'un ou plusieurs groupe azo. Le type monoazoïque comprend deux sous-types, l'un nommé A possédant couramment des groupes accepteurs d'électrons (acides de Lewis : groupe nitro,

ester, carboxyle par exemples) tandis que le sous-type B contient des groupes donneurs d'électrons (bases de Lewis : groupe hydroxyle ou amine par exemple). Il existe deux types particuliers, les azoïques carbocycliques quand ils contiennent uniquement des groupes aromatiques (benzène, naphthalène) et les azoïques hétérocycliques s'ils contiennent au moins un groupe hétérocyclique. Ce sont les colorants synthétiques les plus couramment utilisés dans l'industrie textile et alimentaire en raison de leur large gamme de couleurs vives et de leur faible coût (60% des colorants). Les colorants azoïques sont également utilisés dans les encres d'impression et les peintures. Ils sont toujours synthétiques. Les plus connus sont le jaune solvant 4, le rouge allura et le jaune tartrazine.

Les colorants anthraquinoniques contiennent une structure anthraquinonique (dérivée de l'anthraquinone) dans leur composition moléculaire. Ils sont synthétisés à partir de la 9,10-anthraquinone. Ils sont le plus souvent obtenus par synthèse, mais peuvent toutefois être naturels (alizarine, acide carminique, acide kermésique, acide laccaïque A). C'est un sous-type répertorié des carbonyliques [1], les autres sous-types étant les indigoïdes, les benzodifuranoniques, les coumariniques, les naphthalimidiques et les quinacridoniques. Ce sont les colorants les plus utilisés après les azoïques, en particulier pour la coloration des tissus en coton et en laine, ainsi que pour les encres d'impression et des peintures. Ils sont très appréciés en raison de leur possibilité d'être naturels. On peut ainsi les retrouver dans des plantes, des lichens et des micro-organismes (bactéries, champignons) [28]. De plus, leur structure aromatique leur confère une bonne stabilité et une bonne résistance à la luminosité [28]. On peut citer par exemples, l'Alizarine rouge, la quinacridone, et l'acide carminique.

Les colorants indigoïdes contiennent dans leur composition moléculaire une structure dérivée de l'indigo, un pigment bleu-violet contenu dans certaines plantes (indigotier, pastel des teinturiers). Leurs homologues oxygénés, soufrés ou sélénisés peuvent leur donner une variété de coloris allant de l'orange au turquoise par l'action de groupes auxochromes à effet hypsochrome. Ils font partie des premiers utilisés dans l'histoire [29]. Ils sont principalement utilisés pour la coloration des textiles et des jeans. Leurs avantages sont nombreux : durabilité, résistance à la lumière et au lavage. De plus, leur origine parfois naturelle tend à rassurer. En revanche, leur production est coûteuse et a besoin de techniques de teintures spécifiques pour accéder à certaines teintes. Les plus utilisés sont l'indigo et le thioindigo.

Les colorants phénoliques contiennent un ou plusieurs groupes phénol (-OH) dans leur structure moléculaire. Les groupes phénols peuvent être modifiés avec plusieurs groupes chimiques pour obtenir une diversité de teinte. Ils sont utilisés en histologie, dans les encres ou comme teinture pour le textile et le cuir [30]. Ils peuvent donner des colorations brillantes et durables, mais peuvent s'avérer irritants pour la peau. Les plus connus sont la pyranine, la fluorescéine et l'hématoxyline.

Les colorants phtalocyanines contiennent une structure phtalocyanine dans leur composition moléculaire, qui est un macrocycle aromatique contenant des doublets d'électrons pi très conjugués, entraînant une absorption forte dans le rouge – infrarouge proche par effet bathochrome. De plus, leur possibilité de complexes de coordination avec plusieurs métaux (Fe, Cu, Si, Ge, As) multiplie leurs gammes de couleur, mais leur prix peut être élevé. Ils sont

principalement employés comme encre, peinture et en photoélectricité. Nous pouvons citer comme exemples, le bleu phtalocyanine, le vert phtalocyanine et les phtalocyanines de cuivre.

Les colorants nitrés contiennent un groupe nitro (-NO₂) dans leur composition moléculaire. Leur facilité d'obtention par la chimie de synthèse (groupe nitro en position ortho vis-à-vis d'un groupement donneur d'électrons de type hydroxyle ou amine) leur permet d'avoir des prix de revient et de vente très modérés, bien qu'ils soient d'un intérêt commercial moindre par rapport aux azoïques et aux anthraquinoniques. Ils sont souvent irritants, voire toxiques et de ce fait, nocifs pour l'homme et pour l'environnement. Ils permettent de colorer la laine ou la soie [28] et sont parfois utilisés comme désherbant, mais leur effet est dévastateur pour les sols. On peut citer par exemples, le dinitrophénol, l'acide jaune 24, l'acide picrique.

Les colorants nitrosés contiennent un groupe nitroso (-NO) dans leur composition moléculaire. Leur usage est relativement rare du fait de leur toxicité (vert naphthol B).

Les colorants contenant du diphenylméthane font partie des colorants les moins employés. Ils peuvent colorer des bacilles résistant à l'acide et à l'alcool en association avec la rhodamine B pour l'auramine O, ce dernier étant polluant, CMR, voire mortel.

Les colorants contenant du triphenylméthane sont souvent utilisés en chimie analytique. Ils peuvent acquérir des propriétés acides par sulfonation. Les plus connus sont le vert de malachite et cristal violet.

Les colorants polyméthiniques sont aussi appelés cyanine (liaisons -HC=CH-conjuguées). Ils peuvent être terminés par aucune extrémité cyanine (streptocyanine), une (hémicyanines) ou deux cyanines à chaîne fermée ou par un hétérocycle (pyrroles, imidazoles, pyridine). Ils sont principalement utilisés comme sensibilisateurs photographiques ou comme marqueurs fluorescents en biologie comme le jaune basique 28 et cyanine 3, 5 et 7.

I.3.5. Classification selon leur utilisation

La classification des colorants selon leur utilisation est importante car elle permet de mieux comprendre les propriétés et les caractéristiques de chaque colorant en fonction de l'application visée. Le Tab. 2. contient des exemples de colorants ayant différentes utilisations.

Les colorants alimentaires ont plusieurs fonctions. Ils peuvent améliorer l'apparence (en apportant de la couleur aux aliments, ce qui les rend plus attrayants pour les consommateurs), uniformiser la couleur et préserver l'apparence du produit (par une couleur uniforme et constante), compenser la perte de couleur due à la transformation, la cuisson ou le stockage, suggérer un goût ou une saveur spécifique (par exemple, le vert pour la menthe ou le rouge pour la fraise). Ils sont soumis à des réglementations strictes dans de nombreux pays pour garantir aux aliments leur sécurité et leur qualité. Les agences de régulation, telles que la FDA aux États-Unis ou l'EFSA en Europe, sont chargées de les évaluer et de déterminer les limites maximales d'utilisation. Certains colorants alimentaires ont parfois des effets indésirables sur la santé, avec des réactions allergiques, des troubles du comportement ou des problèmes de santé à long terme. Cela a conduit à l'interdiction ou à la restriction de certains colorants dans divers pays. Les consommateurs étant de plus en plus préoccupés par la sécurité alimentaire et exigent pour les colorants des alternatives plus naturelles et saines.

Les colorants pour cosmétiques sont utilisés pour la coloration des produits cosmétiques tels que les rouges à lèvres, les fards à paupières, les vernis à ongles, les shampooings, etc. Ils peuvent être d'origine naturelle ou synthétique et doivent respecter les réglementations en matière de sécurité sanitaire et les limites quant aux quantités autorisées.

Les colorants pour textiles sont utilisés pour la teinture des tissus. Ils peuvent être d'origine naturelle ou synthétique et doivent être résistants au lavage et à la lumière pour assurer la durabilité des couleurs.

Les colorants pour encres et peintures sont utilisés pour la coloration des encres, des peintures, des vernis, etc. Ils peuvent être d'origine naturelle ou synthétique, doivent être stables à la lumière et au vieillissement pour garantir une durée de vie optimale.

Les colorants pour plastiques sont utilisés pour la coloration des matières plastiques, d'origine naturelle ou synthétique, ils doivent être résistants à la chaleur, à la lumière et aux produits chimiques pour garantir la durabilité des couleurs.

Tab. 2. Classification des colorants selon leur utilisation.

Type de colorant	Exemples de colorants et leurs utilisations
Alimentaires	Jaune de tartrazine (E102) dans les boissons gazeuses, rouge allura (E129) dans les confiseries, bleu brillant FCF (E133) dans les gâteaux
Cosmétiques	Rouge de cochenille A (E124) dans les rouges à lèvres, jaune de quinoléine (E104) dans les shampooings, bleu patenté V (E131) dans les vernis à ongles
Textiles	Noir de carbone pour la teinture des fibres synthétiques, bleu outremer pour les tissus en coton, rouge de garance pour la teinture des tissus en laine
Encres et peintures	Jaune de cadmium pour la peinture artistique, noir de carbone pour l'encre d'impression, bleu phtalocyanine pour la peinture acrylique
Plastiques	Dioxyde de titane pour les peintures et plastiques blancs, pigments organiques pour les plastiques colorés, pigments à base d'oxyde fer pour les plastiques résistants aux UV

I.3.6. Classification selon leur toxicité

L'étude de l'éventuelle toxicité des colorants est importante pour garantir la sécurité des consommateurs et éviter les effets indésirables sur la santé. Les colorants peuvent être classés en fonction de leur toxicité en trois groupes principaux.

Les colorants dit inoffensifs sont des colorants qui sont considérés comme sans risque pour la santé, pour des utilisations dans les produits alimentaires, cosmétiques, pharmaceutiques et textiles. Leur innocuité est testée et évaluée et ils sont autorisés suivant les réglementations en vigueur dans chaque pays.

Les colorants potentiellement dangereux sont associés à des effets indésirables sur la santé, tels que des allergies, des troubles du comportement, des cancers, etc. Ils sont soumis à des réglementations plus strictes et sont souvent limités ou interdits dans certaines applications.

Les colorants dit interdits ne peuvent pas être utilisés dans les produits alimentaires, cosmétiques, pharmaceutiques et textiles en raison de leur toxicité élevée et leurs risques pour la santé. Ils peuvent être allergènes, cancérigènes, mutagènes, tératogènes, etc.

La classification selon la toxicité permet de mieux catégoriser les risques associés à l'utilisation de certains colorants et de choisir des alternatives plus sûres pour chaque application. Les réglementations en matière de sécurité des colorants permettent de garantir la sécurité des consommateurs en limitant l'utilisation de colorants potentiellement dangereux et en interdisant l'utilisation de colorants toxiques. Elles varient d'un pays à l'autre et sont souvent mises à jour en fonction des nouvelles données scientifiques et évaluations de risques.

Le Tab. 3 donne des exemples de colorants considérés comme inoffensifs, potentiellement dangereux et interdits.

Tab. 3. Classification des colorants selon leur toxicité.

Type de colorant	Exemples
Inoffensifs	Chlorophylles, caroténoïdes, anthocyanes
Potentiellement dangereux	Jaune de quinoléine (E104), rouge de cochenille A (E124), tartrazine (E102), dioxyde de titane, bleu de méthylène,
Interdits	Orange de méthyle, amarante (E123)

I.3.7. Classification selon la classe tinctoriale

Cette façon de classer les colorants est importante pour les artisans teinturiers ainsi que pour l'industrie qui les a partiellement remplacés. Elle renseigne sur le mode d'action d'un colorant sur une surface et sur la variété des matériaux colorisables. La fixation d'un colorant se fait par le biais de liaisons colorant-support de type physique (ionique, hydrogène, empilement pi) ou de type chimique (covalente). La structure moléculaire du colorant influence ces interactions et détermine sa classe tinctoriale.

Les colorants acides, également appelés colorants anioniques, sont des colorants qui se lient facilement aux fibres de coton, de soie et de laine, au polyamide ou aux fibres acryliques modifiées [12]. On distingue les colorants acides faibles, acides et acides forts. Ils peuvent être azoïques, anthraquinoniques ou triarylméthanés [31]. Les colorants acides possèdent des charges négatives portées par des groupements sulfonates ou carboxylates, ce qui leur donne une affinité pour les fibres animales (laine et soie) et quelques fibres acryliques modifiées (nylon, polyamide). Ils sont souvent commercialisés sous forme de sels de sodium. Ils peuvent être utilisés seuls ou en combinaison avec d'autres colorants pour créer des nuances de couleur différentes. Ces colorants permettent d'accéder à des gammes étendues de couleurs, avec un rendu vif et brillant mais aussi une résistance à la lumière et au lavage.

Les colorants basiques, également appelés colorants cationiques, sont composés de molécules organiques contenant des charges positives, le plus souvent portées par des groupes ammonium, ce qui leur permet d'être attirés par les charges négatives présentes sur les fibres de protéines. Ils sont généralement appliqués en solution aqueuse par trempage, pulvérisation ou application directe à la surface du matériau. Les colorants basiques peuvent être utilisés seuls

ou en combinaison avec d'autres colorants pour créer des nuances de couleur particulières. Ils ont des nuances brillantes, vives et résistantes, en particulier sur les fibres acryliques. Ils peuvent aussi teindre la laine ou la soie, ainsi que le coton après un pré-traitement avec des sels métalliques.

Les colorants métallifères sont des complexes qui contiennent des ions métalliques, tels que le fer, le cuivre, le nickel et le chrome. Ces complexes peuvent exister sous deux formes : un complexe 1 : 1 (un atome de métal par molécule de colorant) ou un complexe 1 : 2 (un atome de métal pour deux molécules de colorant). Les colorants métallifères sont généralement utilisés pour la teinture de tissus de fibres animales et polyamide, en particulier pour des teintes foncées. Ils ont une meilleure solidité que les colorants acides.

Les colorants directs sont des colorants solubles dans l'eau, et peuvent être appliqués directement sur les fibres sans nécessiter l'utilisation d'un mordant ou d'un fixateur. Ces colorants sont largement utilisés dans l'industrie pour la teinture des tissus en coton, en lin et en rayonne, ainsi que pour la teinture de certains types de papier. Ils possèdent généralement une structure chimique plane et longue contenant des groupes azo, comme les oxazines, les phtalocyanines ou les stilbènes [28]. Ils ont une très bonne affinité pour les fibres cellulosiques car ils peuvent créer des charges qui seront attirées par celles de ces fibres.

Les colorants réactifs se caractérisent par leur capacité à former des liaisons covalentes avec les groupes fonctionnels des fibres, ce qui leur permet de se fixer fortement. Les colorants réactifs sont des colorants solubles dans l'eau et sont utilisés pour la teinture des fibres cellulosiques, la laine et le polyamide. Ils sont également utilisés pour la teinture des papiers et des cuirs. Ils sont résistants à l'humidité et aux détergents, et sont donc préconisés pour les textiles qui nécessitent un nettoyage fréquent. Ils offrent de la brillance et une large gamme de coloris. Les colorants réactifs ont souvent des structures azoïque, anthraquinonique ou phtalocyaninique, avec des groupes réactifs, tels des groupes triazinique ou vinylsulfone, qui réagissent avec les groupes fonctionnels des fibres cellulosiques pour former des liaisons covalentes fortes. Ils sont appliqués sur les fibres par trempage, pulvérisation ou application directe.

Les colorants de cuve, également appelés colorants de l'indigo, sont des colorants organiques qui sont utilisés pour la teinture de fibres naturelles, telles que le coton, le lin et la laine. Ces colorants sont obtenus à partir l'indigotier, plante qui contient un pigment bleu foncé appelé indigotine. On les appelle souvent « grand teint » en raison de la qualité de leur coloration. Les colorants de cuve sont appelés ainsi car ils sont généralement produits en ajoutant dans une cuve de l'indigotine à une solution réductrice [12]. L'indigotine se solubilise alors sous forme de leucindigo. Lorsque les fibres sont plongées dans la solution, le leucindigo se fixe sur les fibres. Lorsqu'elles sont exposées à l'air, les fibres s'oxydent et l'indigotine est reformée, créant ainsi une teinte bleue durable. Les colorants de cuve ont une excellente résistance à la lumière et à l'eau, ce qui les rend particulièrement adaptés à la teinture de tissus destinés à être utilisés à l'extérieur ou dans des environnements humides. Ils ont également une excellente tenue sur les fibres, ce qui les rend idéaux pour la teinture de vêtements et d'autres articles textiles. L'indigo est connu pour la coloration des jeans.

Les colorants au soufre, également appelés colorants sulfurés, sont des polymères organiques qui contiennent des groupes fonctionnels soufrés comme des thiazines ou des thiazoles [28]. Ils sont insolubles dans l'eau et sont appliqués sur une surface après réduction par le sulfure de sodium qui les rend alors hydrosolubles. Ils sont couramment utilisés pour la coloration des fibres cellulosiques ou en mélange avec des fibres synthétiques, mais aussi pour la soie, le papier ou certains cuirs.

Les colorants dispersés, également connus sous le nom de colorants plastosolubles, sont des colorants organiques insolubles. Ils sont principalement utilisés pour la teinture des fibres synthétiques telles que le polyester, l'acrylique, l'acétate et le triacétate de cellulose. Les colorants dispersés sont produits sous forme de poudres très fines qui doivent être dispersés à haute température avec l'aide d'agents dispersants. La dispersion est ensuite appliquée sur les fibres synthétiques dans un bain de teinture.

I.4. Problématiques actuelles

Aujourd'hui, les colorants sont très utilisés dans les domaines de la mode, des cosmétiques et de l'impression, et dans les industries alimentaires et automobiles. Les cahiers des charges les plus courants sont la durabilité, la résistance à la décoloration, aux UV, à l'eau et aux produits chimiques, en plus d'une nécessité esthétique pour rendre les produits attrayants.

De nos jours, des préoccupations environnementales et sanitaires ont peu à peu émergé. Certains colorants s'avèrent nocifs pour les eaux (augmentation des demandes chimique et biologique en oxygène, opacification, perturbation du cycle de vie des espèces animales et végétales), pour les sols et pour l'être humain (allergies, cancers). C'est ainsi que le cahier des charges a finalement inclus l'élimination facile des eaux usées industrielles, l'absence d'effets sur la santé et une origine naturelle. Au-delà de pratiques accusées parfois comme étant du *greenwashing*, les industries ont peu à peu proposé des produits plus respectueux de l'environnement, souvent motivées par les nouvelles normes environnementales.

II. Les effets des colorants sur l'environnement et la santé

II.1. Les enjeux de la pollution par les colorants

Les colorants, au même titre que beaucoup d'autres polluants industriels, peuvent être très toxiques et parfois cancérogènes ([32] ; [33]). Leur accumulation dans l'environnement cause des dégâts considérables sur la flore et la faune, même à de très faibles concentrations ([34] ; [35]). Ils sont également responsables en partie de maladies chez les animaux et les humains ([36] ; [37]).

II.2. Les effets sur les organismes aquatiques

L'impact environnemental des colorants dépend de leur concentration, de leur durée de présence dans l'eau et de leur composition chimique. Les colorants peuvent altérer la qualité de l'eau en réduisant la quantité de lumière pénétrant dans l'eau, en modifiant le *pH* et en réduisant la quantité d'oxygène disponible.

La demande chimique en oxygène de l'eau (DCO) est une mesure de la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder les composés organiques présents dans l'eau, en utilisant un agent oxydant fort, le dichromate de potassium. La DCO est utilisée comme indicateur de la

pollution organique de l'eau, car elle mesure la quantité de matière organique qui peut être oxydée, mais ne fournit pas d'informations sur la nature des composés organiques présents.

La demande biologique en oxygène de l'eau (DBO) est une mesure de la quantité d'oxygène nécessaire à la dégradation biologique des matières organiques présentes dans l'eau, par des micro-organismes tels que les bactéries. La DBO est souvent utilisée pour évaluer la qualité de l'eau, en particulier sa capacité à soutenir la vie aquatique. La DBO est mesurée en incubant un échantillon d'eau avec des micro-organismes pendant une période spécifiée, puis en mesurant la quantité d'oxygène consommée pendant cette période.

Une partie des colorants sont persistants après les traitements conventionnels des eaux. Une fois les eaux rejetées, les colorants peuvent s'accumuler dans les sédiments et les sols, pour se retrouver dans les eaux de consommation humaine [38]. Leur biodégradation est souvent partielle et mène à des sous-produits parfois plus toxiques que les composés initiaux comme par exemples les amines aromatiques [39].

Les colorants métallifères peuvent libérer du nickel [40], du cuivre, du cobalt et du chrome [41], dont la durée de demi-vie se situe entre 2 et 13 ans [42]. Les poissons peuvent les accumuler dans certaines parties de leur corps [43] et leur consommation par les humains en devient nocive [42]. Le chrome, par exemple peut provoquer un stress oxydatif chez les plantes et perturber le processus de photosynthèse et d'assimilation du dioxyde de carbone [42].

II.3. Les effets sur les organismes terrestres

Les colorants azoïques, à titre d'exemple, ont un impact négatif sur les communautés microbiennes du sol ([44] ; [45]), perturbant potentiellement les phénomènes de dégradation des organismes morts. Ils peuvent aussi influencer la germination et la croissance des plantes, comme le noir réactif 5, par perturbation des cycles respectifs du carbone et de l'azote [46]. Les colorants peuvent aussi exister sous forme de sels, dont les contre-ions (chlorure, sodium, potassium) peuvent perturber l'équilibre ionique des eaux et des sols et par effet domino les organismes qui s'y trouvent, car un certain nombre de processus biologiques comme les pulsations cardiaques ou les échanges cellulaires – milieu extérieur reposent sur ces ions.

II.4. Les effets sur la santé humaine

Les effets des colorants sur les humains dépendent de plusieurs facteurs tels que la dose, la durée d'exposition, l'âge, l'état de santé et la sensibilité individuelle. Les colorants textiles peuvent provoquer un ensemble de maladies, de la dermatite jusqu'à un désordre du système nerveux central [36]. L'exposition à des poussières [47] peut provoquer des irritations des yeux et de la peau [48]. Les personnes produisant ou manipulant des colorants réactifs peuvent souffrir de dermatite, de conjonctivite, de rhinite, d'asthme et d'autres manifestations allergiques [28]. Certains colorants textiles sont potentiellement mutagènes [28], comme l'Azure-B, qui est un intercalant de l'ADN ([48] ; [49]) mais aussi un duplicateur d'ARN [50]. Le Rouge Basique 9 est potentiellement cancérigène [51] et ses produits de dégradation comme les amines aromatiques provoquent des cancers [52]. La tartrazine (E102) provoque des urticaires ou de l'asthme [53]. Le jaune orangé S (E110) peut provoquer des allergies pouvant aller des troubles digestifs à l'œdème de Quincke [54]. Le jaune de quinoléine (E104) possède des risques d'allergie [55]. Le colorant caramel ammoniacal (E150c) et le colorant caramel au

sulfite d'ammonium (E150d) peuvent contenir, à la suite de leur procédé de fabrication, du 4-méthylimidazole (4-MEI), soupçonné d'être cancérigène depuis les années 1970.

Les colorants cosmétiques sont quant à eux soumis à des évaluations rigoureuses pour déterminer leur sécurité et leur impact sur la santé. Bien que la plupart des colorants utilisés dans les produits cosmétiques soient considérés comme sûrs, certains auraient un potentiel cancérigène. Des études ont soulevé des préoccupations, mais les preuves sont souvent limitées ou contradictoires. Les organismes de réglementation, tels que la Food and Drug Administration (FDA) aux États-Unis et l'Union européenne, surveillent en permanence les colorants cosmétiques et ajustent les réglementations en fonction des données scientifiques disponibles pour protéger la santé des consommateurs.

II.5. Le bleu de méthylène et le cristal violet : des colorants courants et dangereux

Comme nous l'avons précédemment évoqué, de nombreux colorants sont utilisés dans les industries textiles, et en particulier ceux contenant du triphénylméthane [56].

Le bleu de méthylène (MB) est un des représentant les plus communs de ce groupe. C'est un hétérocycle aromatique utilisé dans de nombreuses applications comme la médecine [57], la biologie [58] et l'industrie textile [59]. Il est surtout utilisé pour teindre du bois, du coton ou de la soie [60]. Il est soupçonné d'interférer avec l'activité photosynthétique et la croissance des plantes en raison de sa nature aromatique qui peut gêner la pénétration de la lumière nécessaire pour les plantes aquatiques même à très faible concentration. Il est également susceptible de chélater les ions métalliques et peut ainsi induire une micro-toxicité chez les organismes aquatiques [61]. Il est aussi connu pour être irritant pour l'humain.

Au sein de ce même groupe, le cristal violet (VC) a une couleur très intense [62] et a été utilisé pendant longtemps comme colorant biologique et comme teinture textile [63]. Le VC a pour inconvénient d'être une molécule récalcitrante qui persiste dans l'environnement pendant une longue période. De plus, il est un puissant cancérigène ([64] ; [65]), perturbe la mitose ([66] ; [67]) et favorise la croissance des tumeurs sur certaines espèces de poissons [37]. Chez l'humain, il peut provoquer des cystites, des irritations de la peau et du système digestif, des insuffisances respiratoires et rénales, entre autres [66].

Les nombreux problèmes environnementaux provoqués par les colorants dans les milieux naturels – aquatiques et terrestres – suscitent un intérêt croissant pour la recherche afin de trouver des méthodes efficaces pour les éliminer des rejets industriels ou pour purifier les espaces déjà pollués.

III. Les méthodes de traitements des effluents pollués par des colorants

III.1. La nécessité de traiter les eaux contenant des colorants

À l'heure actuelle, en raison de l'impact significatif des polluants de type colorant sur l'environnement et la santé, il est primordial de traiter les eaux avant leur rejet dans les espaces aquatiques naturels. Les industries textiles, du papier, des plastiques et de l'agro-alimentaire génère des volumes importants d'eaux usées par les colorants. Les rejets non contrôlés et non réglementés de ces eaux dans les écosystèmes aquatiques entraînent une perturbation de l'équilibre écologique, avec une diminution de la pénétration de la lumière, un amoindrissement

de la photosynthèse et de la croissance des organismes aquatiques, et plus largement, une diminution de la qualité des eaux. Un caractère toxique, cancérigène ou mutagène a été attribué à certains colorants, développant la nécessité de les éliminer pour préserver l'environnement et la santé humaine. Il est alors impératif de mettre en œuvre des méthodes de traitement efficaces et durables pour leur élimination des eaux usées pour sauvegarder la biodiversité, garantir la sécurité sanitaire et la durabilité environnementale.

III.2. Procédés physiques

III.2.1. Adsorption

L'adsorption est un processus physique et chimique qui engage une substance, un adsorbant, à adsorber sélectivement certaines molécules présentes dans un liquide ou un gaz, l'adsorbat [68]. Ce processus, largement utilisé pour le traitement des eaux, est particulièrement efficace pour l'élimination des colorants industriels.

L'adsorption des colorants se produit lorsque les molécules de colorants se lient à la surface de l'adsorbant. Cette liaison peut se produire grâce à diverses interactions, y compris les forces de Van der Waals, les liaisons hydrogène, les forces électrostatiques, et les interactions π - π entre les cycles aromatiques du colorant et de l'adsorbant.

Les matériaux adsorbants utilisés pour éliminer les colorants des eaux usées sont généralement classés en trois catégories : les adsorbants minéraux, organiques et composites. Les adsorbants minéraux comprennent la bentonite, la zéolite et le charbon actif ; les adsorbants organiques incluent diverses biomasses, les résidus agricoles, la sciure de bois et les coquilles de noix de coco; enfin, les adsorbants composites peuvent être obtenus en modifiant chimiquement des adsorbants naturels ou en combinant différents types d'adsorbants [69], comme par exemple des écorces pour le bleu de méthylène et la safranine [70] ou les boues d'industries sucrières pour le rouge basique 22 [71].

Parmi ces adsorbants, le charbon actif est le plus largement utilisé en raison de sa grande surface spécifique, sa porosité élevée et sa capacité à adsorber une grande variété de substances. Cependant, son coût élevé limite son application à grande échelle. Les recherches se sont orientées vers l'exploitation de biomasses à faible coût et disponibles en abondance, comme les résidus agricoles ([72] ; [61]).

III.2.2. Coagulation-floculation

La coagulation-floculation est un processus couramment utilisé dans le traitement des eaux pour éliminer les polluants tels que les colorants, les matières organiques, les particules en suspension et les micro-organismes [73]. Cette technique est très efficace dans le cas de polluants sous forme colloïdale, c'est à dire de particules assez fines pour que l'effet de la gravité soit contrebalancé par les effets de répulsions électrostatiques, ce qui maintient les particules en suspension et empêche la floculation.

Ce processus implique deux étapes principales. La première, la coagulation, consiste à neutraliser les charges des particules en suspension dans l'eau par l'ajout de coagulants chimiques. Les coagulants les plus couramment utilisés sont les sels d'aluminium et de fer, tel que le sulfate d'aluminium hydraté, l'aluminate de sodium, le chlorure ferrique ou le sulfate de

fer [74] et parfois un polymère inorganique comme le poly-alumino-silico-sulfate (PASS). La neutralisation des charges permet aux particules colloïdales de s'approcher plus facilement les unes des autres sans être repoussées par des forces électrostatiques.

La deuxième étape, la floculation, est le processus de regroupement de ces particules neutres ou coagulées en floccs qui peuvent être facilement séparés de l'eau par décantation, filtration ou flottation. Cette étape nécessite l'utilisation d'un polymère, généralement un flocculant organique de type polyélectrolyte, pour faciliter la formation de floccs. On utilise également de la silice activée par de l'aluminate de sodium.

La coagulation-floculation est largement utilisée pour éliminer les colorants des eaux usées industrielles. Les colorants, en particulier ceux utilisés dans l'industrie textile comme les colorants anioniques, sont souvent des composés organiques aromatiques avec des charges négatives. Par conséquent, ils peuvent être coagulés efficacement par des coagulants à base de métaux trivalents, comme l'aluminium et le fer [75].

Cependant, la coagulation-floculation a ses propres défis. Le choix du coagulant, la dose, le pH, la température, et la vitesse de mélange peuvent affecter l'efficacité du processus. De plus, le traitement des boues produites par coagulation-floculation peut poser des problèmes environnementaux. Par conséquent, il est crucial de bien comprendre la chimie de la coagulation-floculation et d'optimiser les conditions du processus pour atteindre un traitement efficace des eaux avec une production minimale de boues [76].

III.2.3. Echangeurs d'ions

L'échange d'ions est un procédé de traitement des eaux largement utilisé pour la décontamination des eaux usées, dont l'élimination des colorants [77]. Il implique l'utilisation de résines échangeuses d'ions, qui sont des polymères insolubles capables d'échanger des ions spécifiques présents dans l'eau.

Le procédé d'échange d'ions est basé sur la sélectivité des résines échangeuses d'ions pour certains ions en solution. Il existe deux principaux types de résines échangeuses d'ions : les résines échangeuses de cations et les résines échangeuses d'anions. Les résines cationiques échangent des cations contre leurs propres cations (habituellement H^+ ou Na^+), tandis que les résines anioniques échangent des anions contre leurs anions (habituellement OH^- ou Cl^-).

L'échange d'ions a été largement utilisé pour l'élimination des colorants des eaux usées. La plupart des colorants utilisés dans les industries, comme l'industrie textile, sont soit des colorants anioniques (avec des groupes sulfonates ou carboxylates), soit des colorants cationiques (avec des groupes ammoniums quaternaires). Par conséquent, ils peuvent être éliminés de l'eau par échange d'ions en utilisant soit des résines échangeuses d'anions pour les colorants anioniques, soit des résines échangeuses de cations pour les colorants cationiques.

Cependant, l'efficacité de l'échange d'ions dans l'élimination des colorants dépend de plusieurs facteurs, y compris le type de résine, la concentration du colorant, le pH, la température, et la présence d'autres ions en solution. De plus, la régénération des résines après saturation est un aspect important du procédé, car elle affecte non seulement l'efficacité du traitement, mais aussi la durabilité et le coût du procédé [78].

III.2.4. Procédés membranaires

Une membrane est une barrière sélective qui permet le passage de certaines entités moléculaire tout en bloquant d'autres. Dans le domaine du traitement des eaux, les membranes sont des structures synthétiques conçues pour permettre le passage de l'eau tout en retenant les particules en suspension, les contaminants chimiques et les micro-organismes.

Il existe différents types de procédés de filtration :

La microfiltration (MF) permet la séparation de particules de taille relativement grande, généralement de l'ordre du micron ($10^4 - 10^2$ nm). Elle est couramment utilisée pour éliminer les particules en suspension, certaines bactéries et certains protozoaires.

L'ultrafiltration (UF) utilise des membranes de taille de pores comprise entre 10^2 et 1 nm. L'UF est donc capable de retenir des particules de taille nanométrique, comme les bactéries et les virus.

La nanofiltration (NF) est capable de retenir non seulement les particules en suspension et les micro-organismes, mais aussi certains solutés dissous, y compris des ions organiques et inorganiques (1 – 0,1 nm).

L'osmose inverse (OI) est capable de retenir presque tous les solutés dissous, y compris les ions monovalents. Cette technique est couramment utilisée pour la production d'eau déminéralisée ou pour dessaler l'eau de mer.

La pervaporation (PV) est principalement utilisée pour la séparation de mélanges liquides portés à l'état vapeur. Elle combine des éléments de distillation et de perméation. En pervaporation, le mélange est porté à une certaine température afin de séparer les constituants en phase liquide de ceux en phase vapeur. La sélectivité entre composants se fait en fonction de leur volatilité mais également suivant leur différence d'interactions avec la membrane. Cette technique est particulièrement efficace pour séparer des mélanges dont les composants ont des points d'ébullition similaires ou formant des azéotropes (eau/éthanol).

Dans le cas du traitement de l'eau, chaque procédé de filtration membranaire a ses propres avantages et inconvénients, et leur choix dépend du type de contaminant à éliminer et des objectifs de qualité de l'eau. Les procédés de filtration membranaire peuvent être très efficaces pour l'élimination des colorants des eaux usées. En particulier, l'osmose inverse (OI) et la nanofiltration (NF) sont souvent utilisées à cet effet en raison de leur capacité à retenir des molécules de très petite taille, y compris les colorants dissous.

La capacité des membranes à retenir des colorants dépend de plusieurs facteurs, dont la taille des pores de la membrane, la charge de surface de la membrane et du colorant, et les interactions chimiques entre la membrane et le colorant. Les membranes peuvent être modifiées pour améliorer leurs performances [79].

Cependant, les procédés de filtration membranaire pour l'élimination des colorants souffrent de problèmes de colmatage et de *fouling* de la membrane, qui peuvent réduire leur performance et augmenter leur coût d'utilisation. De plus, certains colorants peuvent être difficiles à éliminer complètement en raison de leur petite taille ou de leur faible interaction avec la membrane.

Il convient également de noter que ces procédés sont généralement plus coûteux que certaines méthodes de traitement des eaux usées, comme la coagulation-floculation ou l'adsorption, en raison du coût des membranes et de l'équipement nécessaire. Cependant, ils peuvent être préférés dans des situations où une élimination très efficace des colorants est nécessaire, ou en dernier ressort lorsque les autres méthodes de traitement sont inefficaces ou inappropriées.

III.3. Procédés chimiques et physico-chimiques

III.3.1. Procédés d'oxydation avancée (POA)

Cette catégorie de procédés repose sur la génération de radicaux hydroxyles (OH^\bullet). Ces agents oxydants très réactifs sont capables de rapidement décomposer des polluants organiques et certains polluants inorganiques en les transformant en produits de décomposition moins nocifs ou en les minéralisant. L'utilisation la plus courante concerne l'élimination de contaminants persistants et la désinfection des eaux. En pratique, les radicaux hydroxyles sont produits par action d'oxydants comme l'ozone, ou bien par combinaison avec des catalyseurs.

Dans les procédés purement chimiques, l'ozone réagit avec de l'eau ou du peroxyde d'hydrogène. Dans le cas du procédé Fenton chimique les ions ferreux Fe^{2+} servent à amorcer des réactions de décomposition du peroxyde d'hydrogène pour générer des radicaux hydroxyles.

Dans les techniques photochimiques, le dioxyde de titane, l'ozone et/ou le peroxyde d'hydrogène sont combinés avec des rayons UV. Le procédé Fenton peut également être associé à une étape d'exposition aux UV pour catalyser la réaction (photo-Fenton).

Le procédé électro-Fenton est une technique électro-chimique. Il implique la décomposition du peroxyde d'hydrogène par l'ion ferreux avec une réduction de dioxygène en et d'ions ferriques Fe^{3+} (par régénération des ions ferreux).

Les techniques physico-chimiques comprennent la sonochimie et la radiolyse. En sonochimie, des ultrasons sont utilisés en milieu aqueux. L'implosion de bulles de cavitation provoque des conditions de pression et de température extrêmes, conduisant à la formation de radicaux hydrogène (H^\bullet) et hydroxyles (OH^\bullet). Par radiolyse, des rayonnements ionisants permettent la décomposition de l'eau en radicaux hydrogène (H^\bullet) et hydroxyles (OH^\bullet).

Les POA les plus étudiés en recherche sont les procédés chimiques et photochimiques. De manière générale, les procédés chimiques sont efficaces pour désinfecter des milieux et éliminer des biofilms ou pour oxyder des polluants dissous. Ils peuvent favoriser leur biodégradabilité et passer le relais à des méthodes biologiques. En revanche, l'oxydation peut être partielle, avec des sous-produits toxiques (parfois plus que leurs composés parents) et l'emploi et la gestion des oxydants sont parfois contraignants et dangereux. Quant aux procédés physico-chimiques, ils peuvent être efficaces pour traiter des polluants en suspension ou colloïdaux, mais ici encore l'emploi de produits chimiques peut poser problème et des boues sont produites.

III.3.2. Ozonation de l'eau (H₂O/O₃)

L'ozone O₃ est une variété allotropique instable du dioxygène O₂ en lequel il se dégrade. Le potentiel standard (pH = 0 ; T° = 298 K) redox du couple (O₃/O₂) est de 2,07 V, tandis que ceux des couples (HClO/Cl₂) et (H₂O₂/H₂O) sont respectivement de 1,63 V et de 1,78 V. L'ozone est donc plus oxydant que l'acide hypochloreux et le peroxyde d'hydrogène. Il peut être utilisé pour ces raisons comme agent oxydant pour éliminer les contaminants organiques présents dans l'eau comme les colorants.

Le processus d'ozonation implique la formation du radical hydroxyle (OH[•]), lequel est l'espèce active dans le processus de dégradation des polluants.



Le radical hydroxyle attaque sa structure moléculaire en arrachant un radical hydrogène H[•], laissant un radical sur la chaîne. Ce radical est attaqué par une molécule de dioxygène qui va porter le radical, lequel capturera un radical hydrogène. Ensuite, le groupement hydroperoxyde formé va subir une rupture homolytique, qui donnera un radical OH[•] régénéré et un oxygène radicalaire. Ce dernier va former un époxyde avec un carbone voisin. La liaison C – C sous l'époxyde se rompt et l'oxygène se fixe une deuxième fois sur l'un des carbones. Il en résulte un résidu de chaîne portant un groupe aldéhyde, et un autre de type hydrocarbure (un des résidus porte un radical attaquable par le dioxygène).

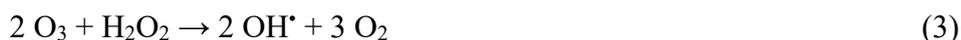
L'instabilité de l'ozone fait qu'il doit être produit et utilisé directement sur place (demi-vie de quelques minutes en industrie, raccourcie si des colorants sont présents et allongée sous l'effet du pH, de la température ou de sels). L'ozonation permet d'obtenir une eau sans couleur et avec une faible DCO, permettant sa libération dans les milieux environnementaux. En revanche, le coût élevé des équipements, l'impossibilité de stockage, la toxicité de l'ozone et le besoin en énergie pour sa production sont des facteurs qui tendent à encourager d'autres méthodes.

Des recherches ont été menées pour étudier l'efficacité et optimiser le traitement des colorants par ozonation. Wijannarong *et al.* ont éliminé 90 % de la quantité initiale d'un mélange de deux colorants réactifs nommés « Nova cron super black G » et « Terasil red ww 3BS », après 6 heures, à un pH de 9 et une température de 35° C [80]. Une autre étude menée par Kasiri *et al.* sur un mélange de trois colorants acides incluant le noir acide 1, le jaune acide 19 et l'orange acide 7 à 20 mg L⁻¹, a permis d'en éliminer respectivement 93,6%, 96,4 % et 92,9% avec un débit d'ozone fixé à 400 mg L⁻¹, à pH = 7 et T = 40° C [81]. Muniyasamy *et al.* ont étudié la dégradation de l'orange réactif 16, du rouge réactif 120 et du rouge direct 80 par ozonation à un pH de 11, une concentration initiale de 2000 mg L⁻¹ et un temps d'exposition de 10 min [82]. L'efficacité de la dégradation était respectivement de 1290 mg L⁻¹ pour l'orange réactif 16, de 1225 mg L⁻¹ pour le rouge réactif 120 et de 1040 mg L⁻¹ pour le rouge direct 80. L'ozonation du MB a été étudiée par Zhang *et al.* avec une élimination de 88,2 % d'une solution de 100 ml à 100 mg L⁻¹ [83]. Ce résultat a été amélioré en ajoutant du charbon activé comme catalyseur (95,4 % éliminé) et une décoloration totale a été obtenue en y ajoutant du dioxyde de titane. Jibouri *et al.* ont mis au point un système permettant une utilisation de l'ozone sur un

flux continu d'effluents aqueux contenant du MB [84]. Babar *et al.* ont éliminé 76 % d'une solution de MB par ozonation après 1 h et ont atteint 95 % en utilisant du fer fixé sur du charbon de bois. L'ajout d'un piège à radicaux hydroxyle a fait diminuer l'efficacité du catalyseur de 52 %, prouvant que les radicaux hydroxyles sont les principaux oxydants qui permettent l'élimination du MB lors du procédé d'ozonation [85].

III.3.3. Peroxonation de l'eau (H₂O₂/O₃)

La réaction de l'ozone avec le peroxyde d'hydrogène est une autre voie de production de radicaux hydroxyles [86]. Le mécanisme couramment admis de la peroxonation de l'eau est le suivant [87] :



Le peroxyde d'hydrogène est un acide faible dont le premier pKa se situe à pH 11,65. En solution basique, il peut donc exister significativement sous une forme anionique, laquelle réagit plus facilement avec l'ozone que la forme neutre ([33] ; [88]). La peroxonation peut être couplée à l'ozonation classique dont elle peut améliorer l'efficacité [89]. Des études ont été menées pour diversifier ses applications, ainsi la peroxonation a été employée pour la dégradation d'acide acétique [89], d'antibiotiques [90] et de polluants organiques persistants. Dans le cas des colorants, le MB a pu être éliminé par peroxonation [91] à hauteur de 82 % dans des conditions optimisées (10 ppm de peroxyde d'hydrogène), ce qui améliore le procédé d'ozonation classique (70 % dans des conditions optimisées : pH = 9 après 60 min d'opération). Les résultats ont encore été améliorés en y associant un rayonnement UV (98 % avec 10 ppm de peroxyde d'hydrogène).

III.3.4. Procédé Fenton électrochimique (Fe/H₂O₂)

Développé dans les années 1890 par Henry John Horstman Fenton ([92] ; [93]) dans un cadre analytique, cette technique repose sur le réactif de Fenton qui est une solution de peroxyde d'hydrogène contenant des ions ferreux Fe²⁺ pour induire la production de radicaux hydroxyles ou superoxydes O₂[•] [94]. Le radical hydroxyle peut alors réagir avec le peroxyde d'hydrogène dont il est issu afin d'entretenir une réaction en chaîne, produisant des radicaux superoxydes, lesquels réagissent avec le peroxyde d'hydrogène (réaction favorisée en milieu acide). La réaction s'achève quand le radical hydroxyle est piégé par un ion ferreux. Le procédé Fenton est donc efficace pour produire des radicaux hydroxyles, lesquels peuvent réagir avec les polluants. C'est un procédé homogène (pas d'ozone à barboter dans les eaux à traiter), simple car les produits sont facilement accessibles et de coût modéré car aucun équipement spécifique n'est requis [95]. En revanche, c'est un procédé sensible aux conditions du milieu, comme le pH, la température et la concentration des ions présents dans l'eau qui peuvent influencer sur son efficacité. Des boues sont produites puisque la réaction génère des sels de fer insolubles (hydroxyde de fer III), nécessitant un traitement physique ultérieur [96]. Cette technique a été utilisée pour le traitement des eaux contenant des colorants azoïques tel que le noir réactif 5 avec un rendement de 97.5 % en conditions optimisées [95]. Toutefois, des limites à ce procédé persistent car des polluants peuvent être partiellement dégradés par le procédé Fenton en

laissant des intermédiaires organiques plus difficilement dégradables [97]. Ainsi des études avec un procédé biologique suivant le procédé Fenton ont été menées, pour le traitement de colorants par des cultures mixtes [98].

Le procédé Fenton a été employé pour l'élimination du MB avec une efficacité de 98 % après 1 h d'opération [99]. Il a également été couplé à une catalyse hétérogène par ferrocène avec un taux de dégradation de 99.5 % du MB [100]. Des eaux contenant du picolinate de chrome, lequel est susceptible de se dégrader en oxyde de chrome hexavalent ont été traitées avec ce procédé, qui peut donc s'étendre indirectement aux polluants inorganiques [101]. Même si le procédé Fenton possède des atouts pour le traitement des boues et la dégradation de produits toxiques, il montre des limites qui nécessitent de l'associer à des techniques plus efficaces et plus respectueuses de l'environnement [102]. De plus, il a été rapporté que des traces résiduelles de sels de fer et de peroxyde d'hydrogène pouvaient être rejetées dans les eaux à la suite du traitement du MB par ce procédé, ce qui prouve que les quantités de produits réactifs doivent être rigoureusement ajustées et qu'un excès peut provoquer des effets qui contrebalancent l'effet bénéfique recherché [103].



III.3.5. Ozonation photolytique (O₃/UV)

Cette technique s'inspire d'un phénomène naturel d'irradiation du dioxygène ou de l'ozone présent dans l'atmosphère par les rayonnements solaires qui occasionne leur dégradation en espèces radicalaires. Plus globalement, le cycle de réactions dit de Chapman, fait se succéder continuellement des étapes de création de radicaux par photolyse et de recombinaison, occasionnant la présence naturelle d'ozone dans la stratosphère pour filtrer les rayons UV les plus énergétiques (UVB en partie et tous les UVC). La première étape consiste en la photolyse du dioxygène en deux atomes d'oxygène radicalaires isolés O[•], lesquels se combinent avec une molécule de dioxygène pour former de l'ozone. La deuxième étape se déroule quand l'ozone est à son tour irradié par un rayonnement UV dont la longueur d'onde se situe entre 240 et 310 nm, pour reformer une molécule de dioxygène et un radical O[•], lequel se recombine à nouveau avec une molécule de dioxygène, avec une émission de chaleur (processus exothermique). La troisième étape survient quand le radical O[•] se combine avec une molécule d'ozone, et forme deux molécules de dioxygène. Dans le cas du traitement des eaux, le radical O[•] est formé à partir d'ozone sous irradiation UV, le plus souvent en présence d'un catalyseur parfois greffé ou des nanoparticules [104].

Par exemple, Mahmoodi *et al.* [105] ont réussi à dégrader le rouge réactif 198 et le vert direct 6 sous forme d'anions organiques (ions formate, acétate et oxalate), ou inorganiques (nitrate, sulfate et chlorure). Les performances de l'ozonation classique ont été comparées à l'ozonation photolytique pour la dégradation du bleu direct 86 [106] à pH = 11, sous un débit d'ozone de 500 mg h⁻¹, sous une irradiation de 254 nm et à une concentration comprise entre 100 et 500 mg L⁻¹. La vitesse de dégradation est apparue proportionnelle à la concentration en MB, avec une cinétique de premier ordre et une nette diminution du temps de demi-réaction en présence d'UV. Des effets similaires ont été observés avec le jaune direct 12 [107]. Une autre

étude a été menée sur le violet mordant 40 [109] avec les mêmes paramètres (sauf à $pH = 9$) avec moins d'effet sur la vitesse de réaction. Une troisième étude sur le jaune direct 50 a montré une efficacité moindre en présence d'UV qu'avec l'ozone seul [109]. Les conditions du milieu peuvent donc fortement influencer l'avantage apporté par les UV.

III.3.6. Photolyse du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2/UV)

La photolyse de H_2O_2 a commencé à être étudiée dans les années 30 [110]. Cette technique repose sur l'utilisation de rayons UV, de longueurs d'onde inférieures à 380 nm [111] afin de provoquer une rupture homolytique de la liaison O-O (parfois H-O), pour obtenir les radicaux OH^\bullet ou H^\bullet et HO_2^\bullet .



Les radicaux obtenus peuvent ensuite dégrader des composés organiques dont des colorants par les mécanismes détaillés précédemment. Cette technique a pu être utilisée en milieu homogène en mode « batch » (fermé) [112] et en mode à flux continu [113].

III.3.7. Photolyse de l'ozone couplée à la photolyse du peroxyde d'hydrogène ($O_3/H_2O_2/UV$)

Cette technique associe les deux précédemment citées (O_3/UV et H_2O_2/UV) [114]. Elle apparaît comme l'une des plus efficace puisque le peroxyde d'hydrogène augmente la vitesse de réaction [115]. Néanmoins, son efficacité peut être diminuée par la présence d'ions Cl^- , NO_3^- , HCO_3^- ou CO_3^{2-} . Le mécanisme peut être détaillé comme suit ([115] ; [116]).



Cette technique a été appliquée au traitement de molécules organiques comme le cyclocitrate et le N-nitrosodiméthylamine et aux usées d'usines de frites et de vignobles, mais pas aux colorants.

III.3.8. Photocatalyse hétérogène

Le procédé photocatalyse hétérogène repose sur l'irradiation naturelle ou artificielle d'un matériau semi-conducteur. Un semi-conducteur est un matériau qui possède des propriétés électriques intermédiaires entre un conducteur et un isolant. Ils peuvent produire de l'électricité sous certaines conditions. Ils sont souvent constitués d'éléments comme le silicium et le germanium qui ont 4 électrons dans leur couche de valence. Ainsi, ils peuvent être dopés avec d'autres éléments pour changer leur comportement de conduction des électrons, comme le phosphore (5 électrons de valence) qui possède un excédent d'électrons (charge négative) ou bien le bore (3 électrons de valence), qui possède un déficit d'électron, aussi nommé « trou » (noté h^+), qui correspond à une charge positive. On obtient ainsi des semi-conducteurs de types

respectifs N et P, dans lesquels existent des différences de densité électronique, engendrant une circulation libre des électrons quand une différence de potentiel est appliquée.

Sous l'effet d'un rayonnement, les électrons peuvent subir une excitation, c'est à dire passer à un niveau d'énergie supérieur, lequel passe de la bande de valence d'énergie la plus élevée (contenant des électrons) à la bande de valence d'énergie la plus faible (vide d'électrons). Quand le matériau est modifié par des groupements hydroxyles (excédentaires en électrons), il peut y avoir une réaction de transfert des électrons vers les trous h^+ et ils peuvent acquérir un électron quand la liaison entre ce groupe et le matériau subit une rupture homolytique.

Par exemple, le dioxyde de titane est un des semi-conducteurs le plus courant [117]. Il est peu coûteux, très oxydant, peu toxique et disponible facilement [118]. En revanche, l'écart entre sa bande de valence et sa bande de conduction fait qu'il y a rapidement une recombinaison entre les trous h^+ et des électrons, avant qu'un radical hydroxyle se soit formé, ce qui peut limiter son efficacité photocatalytique [118]. Ainsi, il est courant d'ajouter d'autres composants comme le CuS [119], des complexes métalliques [119], de l'argent [120], du platine [121] ou du cuivre [122]. Du MB présent dans des eaux usées a ainsi pu être éliminé à 99% après 20 h de traitement par du TiO_2 fixé sur de l'alcool polyvinylique (PVA) [123]. Des nanoparticules de TiO_2 modifiées par greffage de aminopropyltriéthoxysilane (APTES) ont aussi permis d'éliminer du MB [124]. Par ce procédé du VC a été éliminé par un biocomposite constitué de TiO_2 , de carboxyméthyle cellulose et de nanochitosane avec une efficacité de 95% [125].

L'oxyde de zinc (ZnO) a également de bonnes propriétés optoélectronique, piézoélectrique et photochimique ([126] ; [127] ; [128]). Il a été utilisé pour une élimination totale du rouge acide 4092 à $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ (ZnO de $0,2 \text{ g L}^{-1}$, $pH= 5$ et temps d'irradiation de 12 min) [129].

Ce procédé revient relativement cher, notamment pour le coût de l'énergie nécessaire pour produire les UV et le remplacement des électrodes qui ont une durée de vie limitée. De plus il apparait souvent de la mousse et des produits intermédiaires indésirables suite aux réactions radicalaires qui ont lieu pendant le procédé.

III.3.9. Procédé photo-Fenton

Il s'agit d'une variante photolytique au procédé Fenton ainsi qu'un croisement avec la photocatalyse hétérogène. Le procédé photo-Fenton consiste à réduire rapidement avec un rayonnement UV les ions Fe^{3+} en ions Fe^{2+} , qui vont réagir avec H_2O_2 pour produire les radicaux OH^{\bullet} . Cette méthode repose sur l'utilisation de catalyseurs, par exemple des argiles, des silices, des composés carbonés ou des oxydes métalliques ([130] ; [131] ; [132]). Des colorants comme le Rouge Congo [133], le noir réactif 5 [134], l'orange G [135], le cristal violet ([136] ; [137]), mais encore le MB ([138] ; [139] ; [140]), ont été éliminés par ce procédé.

III.3.10. Procédé électro-Fenton

La méthode électro-Fenton fournit une approche remarquable pour effectuer la réaction de Fenton de manière efficace, économique et respectueuse de l'environnement. Elle combine la réaction de Fenton et l'électrochimie, où les deux réactifs de la réaction de Fenton (H_2O_2 et Fe^{3+}) sont générés sur place par électrochimie [141]. Cela est réalisé en appliquant un potentiel de $- 0,25 \text{ V/ENH}$ à la cathode d'un réacteur électrochimique après saturation de la solution à

traiter avec l'oxygène de l'air, et en introduisant une quantité catalytique (≤ 1 mM) d'un sel de Fer (II) ou Fer (III). Cette méthode peut être utilisée pour la dégradation de colorants azoïques comme l'azobenzène, le rouge para-méthyle et l'orange de méthyle [142].

III.4. Procédés biologiques

III.4.1. Introduction

Ces traitements, issus de la biotechnologie, visent à faire participer des organismes vivants à la dégradation de polluants en utilisant leurs enzymes et leurs propriétés réactives uniques (catalyse parfois spécifique pour substrat, régénération continue). Les procédés biologiques peuvent être divisés en deux groupes, les traitements aérobies en présence d'oxygène, et anaérobies sans oxygène. Ils sont peu onéreux, peuvent éliminer les molécules organiques biodégradables, NH_3 , les ions NH_4^+ ou le fer. Ils ne nécessitent pas de produits chimiques toxiques ou polluants, et entrent donc dans le cadre de la chimie verte. En revanche, ils ne sont pas efficaces contre des substances trop toxiques, les composés non biodégradables et peuvent produire des boues.

Pour les micro-organismes, comme les bactéries, les champignons ou les levures, il est nécessaire au préalable de les isoler, puis de les cultiver. Les micro-organismes possèdent tous des conditions de culture optimale (température, pH, sources de carbone et d'azote, ions), où leurs enzymes montrent un optimum de fonctionnement. Pour une même espèce, certaines de ces conditions peuvent varier d'une souche à l'autre. Une fois ces contraintes prises en compte, les micro-organismes sélectionnés peuvent être utilisés pour différents traitements (piles microbiennes, électrolyseurs microbiens, bioréacteurs à membrane) afin d'éliminer des polluants organiques biodégradables, dont des colorants, par oxydation partielle ou totale (minéralisation). Cette technique peut être nommée « bio-sorption », étant donné qu'elle consiste à mélanger des organismes vivants avec les polluants, en vue d'une adsorption et une accumulation ([143] ; [144]). Elle est également appelée « bioremédiation », puisqu'elle vise à remédier à la pollution par l'emploi d'agents biologiques [145].

III.4.2. Traitement par des bactéries

Les bactéries sont des organismes unicellulaires microscopiques procaryotes se caractérisant par une absence de noyau à l'intérieur de la cellule. Il y existe différents types morphologiques les cocci (forme ronde comme les *Staphylococcus* et *Streptococcus*), les bacilles (forme de bâtonnets comme les *Escherichia coli*, *Bacillus anthracis*), les spirochètes (forme de spirale avec *Treponema pallidum*), les actinobactéries (*Streptomyces*) et les cyanobactéries (capable de photosynthèse). D'autres classifications existent, comme celle de Gram.

L'utilisation de bactéries pour le traitement de colorants remonte aux années 70 [146], où *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Aeromonas hydrophilia* ont été remarqués comme potentiels agents de bioremédiation dans plusieurs études [147]. D'autres études ont mis en évidence cette capacité chez *Proteus mirabilis* pour le rouge RBN [148], *Pseudomonas luteola* pour la dégradation du Rouge réactif 22 [149] ou *Pseudomonas sp.* pour le rouge réactif 2 [150], *Marinobacter sp.* pour le bleu direct 1 [151], *Hortaea sp.* pour le vert 3 [152]. Des co-cultures de bactéries doivent être parfois être utilisées pour dégrader totalement des colorants [153]. La

biodégradation par certaines bactéries aboutit parfois à la formation d'amines aromatiques, lesquelles peuvent être dégradées par d'autres bactéries [154]. Des cultures multibactériennes ont par exemples été utilisées pour dégrader un mélange de 6 colorants réactifs avec *Proteus vulgaris* NCIM-2027 et *Micrococcus glutamicus* NCIM-2168 [155], le rouge Congo, le Bordeaux, le bleu rapide ranocide et le bleu BCC avec *Bacillus vallismortis* et *B. megaterium* ([157] ; [158]), et un mélange d'orange acide 7 et d'autres azoïques avec *Aeromonas caviae*, *Protues mirabilis* et *Rhodococcus globerulus* [154].

Des expériences ont même été réalisées en associant bactéries et champignons. La diversité génétique en est plus importante, de même que les capacités complémentaires de ces deux micro-organismes pourtant très différents [155]. Le rouge brillant réactif et le rouge acide B ont été traités avec *Penicillium sp.* QQ (champignon) et *Sphingomonas xenophaga* QYY (bactérie) [158]. Les limites de capacités de dégradation des bactéries, notamment vis-à-vis des composés polyphénoliques et aromatiques, ont encouragé l'utilisation des champignons [145].

III.4.3. Traitement par des champignon

Un champignon est un organisme eucaryote, ce qui signifie que ses cellules contiennent un noyau délimité, contrairement aux procaryotes. Les champignons forment un groupe distinct des plantes et des animaux et comprennent des organismes variés tels que les levures, les moisissures et les champignons multicellulaires comme les champignons que l'on trouve dans les forêts. Ils se nourrissent généralement par décomposition et absorption de matière organique, un processus appelé saprophytisme. Certains champignons peuvent également vivre en symbiose avec d'autres organismes, comme dans le cas des mycorhizes (symbiose entre un champignon et les racines d'une plante). Il existe 5 grandes classes de champignons, comme les basidiomycètes (produisent des spores et des structures nommées basides, par exemple les champignons de Paris, les bolets et les champignons à lamelle), les ascomycètes (possèdent des ascus contenant leurs spore, par exemple les levures de boulangerie, les morilles, les truffes et les moisissures à l'origine de la pénicilline), les zygomycètes (champignons du sol et Rhizopus, ou champignon noir du pain), les chytridiomycètes (aquatiques et terrestres) et les gloméromycètes (forment des symbioses avec les racines des plantes, ou mycorhizes).

Le traitement avec les champignons est spécialement nommé « mycoremédiation ». Les champignons peuvent servir pour la décomposition ou la minéralisation de colorants, mais aussi de produits organiques phénoliques, en particulier grâce à leur gamme d'enzymes, comme par exemples la laccase et la peroxydase [159]. Ils sont de plus en plus étudiés pour la dégradation de colorants, notamment les azoïques. Il existe des différences notables dans le mode de dégradation entre les bactéries et les champignons car ces derniers dégradent les composés organiques au moyen d'enzymes produites puis excrétées en dehors de leur structure cellulaire ([160] ; [161]). Ils peuvent dégrader plusieurs familles de produits organiques dont des produits que les bactéries ne peuvent pas dégrader ou ne peuvent dégrader que partiellement [145], ce qui éveille un intérêt croissant pour la mycoremédiation ([162] ; [163] ; [144]). Les champignons peuvent évidemment dégrader des colorants [164] et de nombreuses études en témoignent [144].

Corioloopsis sp., une espèce de champignons filamenteux, a été utilisée sous forme mycéliale libre ou bien sous forme fixée sur un tissu de mousseline pour éliminer du bleu coton et du cristal violet (VC). Pendant l'expérience, la forme libre a permis d'éliminer 79,6% du bleu coton et 85,1% du VC [165]. Un champignon à la pourriture blanche, *Phanerochaete chrysosporium* a permis l'élimination de 98% du violet du méthyle et de l'orange de méthyle et entre 88 et 92% du magenta vat, du MB, du rouge Congo et du rouge acide, mais aussi de 75% du vert acide présents dans des solutions. Les formes fixées donnent des rendements plus faibles car les enzymes sont moins disponibles [166]. Une étude utilisant *Trametes versicolor* a montré la dégradation de la fuchsine acide, du vert brillant 1, de la fuchsine basique, du vert de méthyle et du vert acide 16, avec des rendements compris entre 77% et 97%. Aucun sous-produit aromatique n'a été détecté à la fin de l'expérience, montrant la capacité du champignon à cliver les cycles aromatiques [167]. Le bleu réactif levafix EU-RA avec *Irpex lacteus* [168], le violet acide 49 avec *Aspergillus fumigatus* [169], le cristal violet ($C = 100 \text{ mg L}^{-1}$), le violet de méthyle ($C = 100 \text{ mg L}^{-1}$), le bleu coton ($C = 50 \text{ mg L}^{-1}$), le vert malachite ($C = 100 \text{ mg L}^{-1}$) avec *Corioloopsis sp.* ont pu être éliminés à des taux respectifs de 94%, 97%, 91% et 52% au bout de respectivement 7, 7, 1 et 9 jours [170]. *Penicillium simplicissimum* a permis l'élimination du violet de méthyle ($C = 100 \text{ mg L}^{-1}$), du cristal violet ($C = 100 \text{ mg L}^{-1}$), du bleu coton ($C = 50 \text{ mg L}^{-1}$), du vert malachite ($C = 100 \text{ mg L}^{-1}$) avec des taux respectifs de 98%, 95%, 82% et 54% au bout de 13, 14, 1 et 14 jours [170].

Le genre *Trichoderma* présente des avantages par rapport aux autres genres de champignon. *Trichoderma spp.* est un symbiote opportuniste envers les plantes et peut donc agir comme agent de biocontrôle afin d'éliminer des plantes ou d'autres champignons parasites présents sur les cultures [171]. Il constitue 90% des agents de biocontrôle fongique contre des micro-organismes [172] mais aussi 60% des bio-fongicides [173]. *Trichoderma spp.* a été isolé pour la première fois en 1794 à partir de matières organiques en décomposition [174]. *Trichoderma asperellum* a été testé pour dégrader le VC, le violet de méthyle, vert malachite et le bleu coton, avec des rendements compris entre 10 et 20% pour le VC et entre 50 et 90% pour les autres colorants [171]. *Trichoderma spp.* peut également être utilisé pour la dégradation de polluants organiques et inorganiques, comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) [171], le pentachlorophénol, l'endosulfane et le dichlorodiphényldichloroéthane [175], le chrome (VI) par *Trichoderma inhamatum* [176] et *Trichoderma viride* [177] mais aussi les phénols, les cyanures, les nitrates et le cadmium avec *Trichoderma harzianum* ([178] ; [179]). Ce genre peut aussi servir dans l'assouplissement des textiles [180] et l'élimination de la plaque dentaire [181]. Les métabolites produits peuvent servir à la synthèse d'antibiotiques [182] et de biocarburants [183], ainsi qu'à la production de bières [171].

III.4.4. Traitement par des levures

Une levure est un champignon unicellulaire. Il en existe de nombreuses espèces, mais la plus connue est probablement *Saccharomyces cerevisiae*, couramment utilisée dans la fabrication du pain, de la bière et du vin. Les levures se reproduisent principalement par bourgeonnement, où une nouvelle cellule se forme et se sépare de la cellule parentale. Leur catabolisme permet la fermentation alcoolique, un processus qui transforme les sucres en acide pyruvique (glycolyse) puis en alcool et en dioxyde de carbone, ce qui fait lever le pain et produit l'alcool dans la bière et le vin. Les levures combinent la croissance rapide des bactéries avec la

résistance en milieux hostiles des champignons filamenteux [184]. Ils ont aussi une bonne capacité de bio-sorption des ions métalliques comme Pb^{2+} et Cd^{2+} [185].

De nombreux travaux sur la bioremédiation de colorants utilisent *S. cerevisiae* en raison de son accessibilité commerciale. L'orange de méthyle présent dans solution à 50 mg L^{-1} a pu être éliminé avec un rendement de plus de 96 % en moins de 150 min à $35 \text{ }^\circ\text{C}$ avec *S. cerevisiae* fixé sur des particules de magnétite [186]. Le bleu remazol a été presque totalement éliminé d'une solution aqueuse dont le pH a été fixé à 2, avec une diminution progressive de l'efficacité avec l'augmentation du pH, montrant le nécessité de fixer finement ce paramètre [187]. Le rouge de méthyle d'une solution à 100 mg L^{-1} a pu être éliminé en 16 min par *S. cerevisiae* à pH 6.5 [188]. Le Tab. 4. montre d'autres travaux effectués avec des levures.

Tab. 4. Exemples d'expériences de traitement de colorant par des levures.

Espèce de levure	Colorant	C_0 (mg L^{-1})	pH	Durée (h)	Pourcentage d'élimination (%)	Référence
<i>Scheffersomyces spartinae</i>	Scarlet acid 3R	80	5 - 6	16	90	[189]
<i>Trichosporon alkiyoshidainum</i>	Noir réactif 5	200	7	24	100	[190]
<i>Candida tropicalis</i>	Rouge acide B	70	7	12	97.5	[191]
<i>Meyerozyma caribbica</i>	Orange acide 7	50	4.5 - 7	6	98.8	[192]
<i>Pichia pastoris</i>	Rouge réactif 11	20	2	120	41.66	[193]
<i>Pichia pastoris</i>	Vert acide 1	20	2	120	55.35	[193]
<i>Pichia occidentalis</i>	Rouge acide B	50	5	16	98	[194]
<i>Sterigmatomyces halophilus</i>	Noir réactif 5	1500	5	18	100	[195]
<i>Galactomyces geotrichum</i>	Acide écarlate GR	100	7 - 8	10	92	[163]

III.4.5. Traitement par des algues

Les algues sont un groupe diversifié d'organismes aquatiques qui ont la capacité de réaliser la photosynthèse, tout comme les plantes. Elles sont généralement eucaryotes [196], bien que certaines algues bleu-vert, ou cyanobactéries, soient en réalité des bactéries. Les algues peuvent vivre dans des environnements marins, d'eau douce, ou même terrestres humides. Elles varient considérablement en taille, allant des microscopiques algues unicellulaires, comme les diatomées, jusqu'aux grandes algues multicellulaires, comme les algues brunes (*Ascophyllum nodosum* ou varech) qui peuvent atteindre plusieurs mètres de long. Les algues jouent un rôle crucial dans les écosystèmes, produisant de l'oxygène par la photosynthèse et servant de base de la chaîne alimentaire aquatique.

Les parois des cellules algaires possèdent des groupes phosphate, hydroxyle, carbonyles ou amines, lesquels peuvent créer de fortes interactions avec des polluants [197], créant un potentiel pour la bio-sorption [198]. De nombreuses recherches ont exploité leur capacité à éliminer des colorants [197]. Des algues filamenteuses ont été utilisées pour traiter le bleu acide 41 [199], *Phithophora sp.*, *Ulva lactuca* et *Systoceira stricta* contre le vert malachite ([200] ; [201]), *Bifurcaria bifureata* contre l'orange acide 7 et le rouge basique 5 [202], *Oscillatoria princeps* contre le rouge réactif 120 [203], *Stoechospermum marginatum* contre l'orange acide II [204]. Des micro-algues ont également été testé avec succès contre vis-à-vis du VC [205] ou *Spirulina maxima*, *Ulothrix sp.*, *Fucus vesiculosus* contre le MB [206].

III.4.6. Traitement par des plantes

Une plante est un organisme vivant multicellulaire du règne des *Plantae*. Les plantes sont des êtres eucaryotes qui pratiquent la photosynthèse, un processus qui utilise la lumière solaire pour convertir le dioxyde de carbone et l'eau en glucides pour l'énergie et la croissance. Les plantes jouent un rôle crucial dans l'écosystème terrestre, notamment en fournissant de l'oxygène, de la nourriture, des abris et de nombreuses autres ressources pour les autres formes de vie. Elles comprennent des formes diverses allant des herbes, des arbres, des buissons, aux mousses, fougères et algues.

L'élimination des colorants par des plantes ou phytoremédiation repose sur la culture de végétaux, dont des plantes ornementales, et l'emploi de leurs racines, de cellules végétales en suspension ou de macrophytes. De nombreux exemples sont cités dans la littérature (Tab. 5).

Tab. 5. Exemples d'expériences de traitement de colorants par des plantes.

Espèce	Colorant	C ₀ (mg L ⁻¹)	pH	Durée (h)	Pourcentage d'élimination (%)	Référence
<i>Alternanthera philoxeroides</i>	Rouge remazol	70	NS*	72	100	[207]
<i>Ipomoea aquatica</i>	Brun 5R	200	NS*	72	94	[208]
<i>Typha angustifolia</i>	Bleu réactif 19	1000	8	120	75	[209]
<i>Bouteloua dactyloides</i>	Rouge remazol	NS*	10.4	72	74	[210]
<i>Petunia grandiflora</i>	Bleu brillant G	50	NS*	36	86	[211]
<i>Petunia grandiflora</i>	Bleu marine RX	50	NS*	36	80	[212]
<i>Lemna minor</i>	MB	10	7	144	> 90	[213]
<i>Spirodela polyrrhiza</i>	MB	500	3 - 11	120	90 - 100	[214]
<i>Parthenium hysterophorus</i>	MB	100	3 - 11	2	90 - 100	[215]
<i>Salsola vermiculata</i>	MB	150	6.94	1.5	40 - 50	[216]

* : Non spécifié.

III.4.7. Traitement par des enzymes

Une enzyme est une protéine qui agit comme un catalyseur dans les réactions biochimiques, c'est-à-dire qu'elle accélère la vitesse de ces réactions (par stabilisation de l'état de transition, par chemin réactionnel alternatif ou en déstabilisant l'état fondamental du substrat). Chaque enzyme est spécifique à une certaine réaction ou à un certain groupe de réactions, et elle fonctionne en se liant à une molécule cible, appelée substrat, pour faciliter sa transformation. Elles servent entre autres dans l'industrie des biocarburants (cellulase, ligninase), comme lessive biologique (peptidase, amylase, lipase, bêta-mannosidase), et pour le brassage ou la cuisson des aliments.

Il existe sept classes principales d'enzymes, basées sur le type de réaction qu'elles catalysent : les oxydoréductases (catalysent les réactions d'oxydation-réduction, où il y a un transfert d'électrons), les transférases (catalysent le transfert d'un groupe fonctionnel d'une molécule à une autre), les hydrolases (catalysent la rupture d'une liaison chimique par addition d'eau (hydrolyse)), les lyases (catalysent la rupture de diverses liaisons chimiques par d'autres moyens que l'hydrolyse et l'oxydation), les isomérases (catalysent le réarrangement interne des molécules), les ligases ou synthétases (catalysent l'assemblage de deux molécules avec un apport d'énergie, généralement sous forme d'ATP) et les polymérases (catalyse l'assemblage ou le désassemblage de macromolécules, comme l'ADN ou l'ARN).

Le traitement des eaux par enzymes est une pratique utilisée dans les centrales d'épuration [217]. Des recherches ont accompagné le développement de leur usage, afin de comprendre leurs mécanismes de réaction et d'inhibition, l'action des additifs, des cofacteurs, des co-substrats et les configurations des réacteurs [218]. Dans le cas de la dégradation des colorants, les enzymes ont pour avantage de permettre des réactions relativement rapides, sans besoin de mise en culture. La lignine peroxydase, la manganèse peroxydase et la laccase ont particulièrement été étudiées [219].

La laccase est une oxydase contenant du cuivre, qui est principalement produite par des basidiomycètes à pourriture blanche [220]. Elle est utilisée dans divers processus biotechnologiques. La laccase est capable d'oxyder un large éventail de composés chimiques tels que les diphénols, les polyphénols, les diamines, les amines aromatiques, les benzénethiols et les phénols substitués [164], ainsi que différents groupes de polluants colorés [221]. Contrairement à d'autres oxydases telles que les peroxydases, la laccase ne nécessite pas de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) pour la réaction d'oxydation [220]. Ces propriétés font de la laccase une enzyme importante dans la biodégradation des composés phénoliques (Tab. 6) [222]. La laccase a montré des capacités de dégradation envers le noir réactif 5, le bleu réactif 19 et le carmin indigo sous forme sporulée avec plus de 80% d'efficacité [223], envers le vert malachite avec une capacité maximale de 87% [224], envers le vert malachite, le vert brillant et le bleu aniline avec des efficacités respectives de 77%, 97% et 81% [83], envers le bleu de bromophénol, le bleu brillant de Coomassie, le panseu-S, le bleu brillant remazol R, le rouge Congo et le MB avec des efficacités respectives de 100%, 91%, 56%, 47%, 18% et 21% [164], le rouge acide, le noir amido 10B, l'orange G, le vert malachite, le cristal violet, le rouge de crésol, le bleu de bromophénol, le sel de bleu rapide R R et le bleu brillant remazol R [225].

Des études portent également sur l'utilisation d'enzymes immobilisées sur un support, avec par exemple la peroxydase fixée par une méthode layer-by-layer pour la dégradation du jaune orangé, de l'amarante, de l'érythrosine, du rouge cochenille A, du jaune de quinoléine, de la tartrazine et de la carmoisine mais avec plus d'efficacité pour la forme libre [226]. La laccase a été fixée sur des nanoparticules pour éliminer du rouge Congo avec 75% d'efficacité [227] et sur du poly(alcool vinylique) pour dégrader du rouge acide 27 avec 90% d'efficacité [228]. La fixation de la laccase sur un support apporte une meilleure stabilité à l'enzyme et permet d'avoir moins de perte. En revanche, l'efficacité peut être diminuée en raison de la diminution des sites catalytiques disponibles. Le Tab. 6 contient des exemples de travaux d'élimination de colorants avec la laccase sous forme libre ou immobilisée ainsi qu'avec la peroxydase immobilisée.

Tab. 6. Exemples d'expériences de traitement de colorant par des enzymes sous libre ou fixées sur un support.

Colorant	C_0 (mg L ⁻¹)	pH	Durée (h)	Pourcentage d'élimination (%)	Référence
Laccase libre					
Noir réactif 5	NS*	9	6	93	[223]
Bleu réactif 19	NS*	9	6	86	[223]
Carmin d'indigo	NS*	9	6	92	[223]
Vert malachite	NS*	4,5	18	87	[224]
Vert brillant	NS*	4	24	97	[83]
Bleu aniline	NS*	4	24	81	[83]
Bleu de bromophénol	120	4,5	3	100	[164]
Orange G	NS*	4,5	24	> 90	[225]
Noir Amido 10B	NS*	4,5	24	> 90	[225]
Sel de bleu rapide R R	NS*	4,5	24	> 90	[225]
Cristal violet	NS*	4,5	24	55 - 65	[225]
Laccase immobilisée					
Violet acide 17	NS*	NS*	"10 cycles"	90	[228]
Vert basique 4	NS*	NS*	"20 cycles"	95	[228]
Peroxydase immobilisée					
Amarante	20	8	1	85	[226]
Tartrazine	20	8	1	17	[226]
Rouge cochenille A	20	8	1	24	[226]
Carmoisine	20	8	1	85	[226]
Jaune orangé	20	8	1	62	[226]
Jaune de quinoléine	20	8	1	20	[226]
Erythrosine	20	8	1	24	[226]

* : Non spécifié.

III.4.8. Traitements biologiques hybrides aérobie-anaérobie

Ce terme désigne les procédés où les phases de réactions biologiques ainsi que celles de décantation, flottation, filtration ou adsorption sont faites dans un même bassin alors nommé « réacteur ». Le développement de méthodes de programmation et d'automatisation font que cette technique est de plus en plus employée, combinant des phases aérobiques, anaérobiques et anoxiques, par fonctionnement discontinu du réacteur en culture mixte à biomasse en suspension.

Cette technique permet de dégrader les colorants azoïques en amines aromatiques dans des conditions anaérobiques, puis ces amines aromatiques peuvent être oxydées jusqu'à la minéralisation lors du passage en conditions aérobiques [229]. Cette technique a déjà été employée pour le rouge de méthyle avec une efficacité de 53% après la phase anaérobie, montant à 92% après la phase aérobie [230]. Elle a également été utilisée pour dégrader l'orange acide et l'orange de méthyle, avec une décoloration dans le compartiment anaérobie (clivage de la fonction diazo) et une minéralisation dans le compartiment aérobie [231] et le noir direct 22 [232].

III.4.9. Les procédés bioélectrochimiques

Les piles microbiennes, ou *Microbial Fuel Cells* (MFC), sont une technologie de bioénergie émergente qui convertit l'énergie chimique, habituellement contenue dans des substrats organiques, en énergie électrique par l'intermédiaire de réactions catalysées par des micro-organismes. En d'autres termes, elles utilisent des micro-organismes pour dégrader des matières organiques et produire de l'électricité. Les MFC présentent un grand potentiel pour la production d'énergie durable, le traitement des eaux usées et d'autres applications environnementales.

Les cellules d'électrolyse microbiennes ou *Microbial Electrolysis Cells* (MEC), sont des technologies connexes qui fonctionnent d'une manière légèrement différente. Plutôt que de produire de l'électricité à partir de matières organiques, les MEC utilisent un courant électrique pour stimuler les micro-organismes à produire des produits chimiques d'intérêt, comme le dihydrogène. Cela offre une possibilité de couplage avec les MFC pour une production d'énergie plus efficace et pour la valorisation des déchets organiques.

Un bioréacteur à membrane, ou *Membrane Bioreactor* (MBR), est un système de traitement des eaux usées qui intègre une technologie de membrane, comme la microfiltration ou l'ultrafiltration, avec un processus biologique traditionnel. En utilisant une membrane, les MBR peuvent atteindre des qualités élevées de traitement des eaux usées, en éliminant efficacement les solides, les bactéries et les virus. Les MBR sont largement utilisés pour le traitement des eaux usées municipales et industrielles, et sont de plus en plus reconnus pour leur potentiel dans la production d'eau potable à partir de sources d'eau polluée.

III.4.10. Les piles microbiennes

Les MFC représentent un domaine d'étude très prometteur et pertinent pour cette thèse pour plusieurs raisons. Premièrement, elles offrent une approche innovante et durable pour la production d'énergie et le traitement des déchets. En utilisant des micro-organismes pour convertir les déchets organiques en électricité, les MFC contribuent à la transition vers des sources d'énergie renouvelables et à la réduction de l'empreinte écologique de nos activités humaines.

Deuxièmement, l'étude des MFC permet de mieux comprendre les interactions complexes qui existent entre les micro-organismes et leur environnement, enrichissant ainsi nos connaissances en microbiologie, en bioélectrochimie et en biotechnologie. Cette compréhension peut mener à l'amélioration des performances des MFC et à l'exploration de nouvelles applications.

Troisièmement, la mise au point d'une MFC permet de combiner des approches multidisciplinaires, en utilisant des connaissances en biologie, en chimie, en ingénierie environnementale et dans le domaine des matériaux. Ce type d'approche intégrée est de plus en plus nécessaire pour répondre aux défis environnementaux et énergétiques auxquels notre société est confrontée.

Enfin, le potentiel des piles microbiennes pour traiter divers types de déchets, y compris les eaux usées industrielles, les déchets agricoles et les déchets municipaux, fait de ce sujet un domaine d'étude d'une grande importance sociale et environnementale.

IV. Conclusion

Après avoir exploré en profondeur le monde des colorants, leur classification, leur impact sur l'environnement et la santé, ainsi que les diverses méthodes pour traiter les effluents pollués, il est évident que le défi environnemental posé par leur présence dans les eaux est complexe et multiforme. Cependant, cette complexité offre une occasion d'innovation. C'est dans cette optique que nous envisageons l'utilisation d'une technologie prometteuse : les piles microbiennes.

Ces dispositifs, qui utilisent la faculté de certains micro-organismes pour générer de l'électricité à partir de déchets organiques, ont le potentiel non seulement de fournir une source d'énergie renouvelable, mais aussi de contribuer à la lutte contre la pollution des eaux. En particulier, les piles à champignons pourraient offrir une méthode efficace et durable pour dégrader les colorants dans les effluents, tout en récupérant une partie de l'énergie contenue dans ces molécules.

Les conclusions que nous avons tirées de l'étude bibliographique sur les colorants et de leur impact environnemental nous ont guidées dans notre travail expérimental décrit par la suite sur les MFC.

Références

1. Booth G, Zollinger H, McLaren K, et al (2000) Dyes, General Survey. In: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA
2. Hidayah FF, Imaduddin M, Yuliyanto E, et al (2022) "COUNTING DROPS AND OBSERVING COLOR": TEACHERS' AND STUDENTS' FIRST EXPERIENCES IN SMALL-SCALE CHEMISTRY PRACTICUM OF ACID-BASE SOLUTIONS. *J Technol Sci Educ* 12:244–258. <https://doi.org/10.3926/JOTSE.1388>
3. Beveridge T, Davies J (1983) Cellular Responses of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* to the Gram Stain. *J Bacteriol* 156:846–858
4. Mahmood Aljamali N (2018) Review: General Principles in Chemistry
5. Chung K, Baker Jr J, Baldwin J, Chou A (2001) Identification of carmine allergens among three carmine allergy patients. *Allergy* 56:73–77
6. Kobylewski S, Jacobson MF (2012) Toxicology of food dyes. *Int J Occup Environ Health* 18:220–246
7. Amchova P, Kotolova H, Ruda-Kucerova J (2015) Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 73:914–922. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.09.026>
8. Carocho M, Barreiro MF, Morales P, Ferreira ICFR (2014) Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 13:377–399
9. Vigan M, Castelain F (2014) Cosmetovigilance: definition, regulation and use "in practice." *European Journal of Dermatology* 24:643–649
10. Kapadia J, Balasubramanian V, Akia Iwashimab HT, Nishinob H (1997) Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate induced Epstein-Barr virus early antigen activation by natural colorants **CANCER LETTERS**
11. Gallen C, Pla J (2013) Allergie et intolérance aux additifs alimentaires. *Rev Fr Allergol* 53:9–18
12. Nambela L, Haule LV, Mgani Q (2020) A review on source, chemistry, green synthesis and application of textiles colorants. *J Clean Prod* 246
13. Martins N, Roriz CL, Morales P, et al (2016) Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends Food Sci Technol* 52:1–15
14. Srivastava J, Vankar PS (2010) *Canna indica* flower: New source of anthocyanins. *Plant Physiology and Biochemistry* 48:1015–1019. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.011>
15. Shahid M, Shahid-Ul-Islam, Mohammad F (2013) Recent advancements in natural dye applications: A review. *J Clean Prod* 53:310–331
16. Yusuf M, Shabbir M, Mohammad F (2017) Natural Colorants: Historical, Processing and Sustainable Prospects. *Nat Prod Bioprospect* 7:123–145
17. Albuquerque BR, Oliveira MBPP, Barros L, Ferreira ICFR (2021) Could fruits be a reliable source of food colorants? Pros and cons of these natural additives. *Crit Rev Food Sci Nutr* 61:805–835
18. Murmann JP, Homburg E, Murmann JP, Homburg E (2001) Comparing evolutionary dynamics across different national settings: the case of the synthetic dye industry, 1857-1914. Springer-Verlag
19. Kong C, Fodjo EK, Li D, et al (2015) Chitosan-based adsorption and freeze deproteinization: Improved extraction and purification of synthetic colorants from protein-rich food samples. *Food Chem* 188:240–247. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.115>
20. Liu FJ, Liu CT, Li W, Tang AN (2015) Dispersive solid-phase microextraction and capillary electrophoresis separation of food colorants in beverages using diamino moiety functionalized silica nanoparticles as both extractant and pseudostationary phase. *Talanta* 132:366–372. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.09.014>
21. Qi H, Takano H, Kato Y, et al (2011) Hydrogen peroxide-dependent photocytotoxicity by phloxine B, a xanthene-type food colorant. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1810:704–712. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.04.010>
22. Zhang S, Tan Z, Liu J, et al (2020) Determination of the food dye indigotine in cream by near-infrared spectroscopy technology combined with random forest model. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 227. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.117551>
23. Bonan S, Fedrizzi G, Menotta S, Elisabetta C (2013) Simultaneous determination of synthetic dyes in foodstuffs and beverages by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Dyes and Pigments* 99:36–40. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2013.03.029>
24. Minioti KS, Sakellariou CF, Thomaidis NS (2007) Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Anal Chim Acta* 583:103–110. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.10.002>
25. Masone D, Chanforan C (2015) Study on the interaction of artificial and natural food colorants with human serum albumin: A computational point of view. *Comput Biol Chem* 56:152–158. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2015.04.006>
26. Shahabadi N, Maghsudi M (2013) Gel electrophoresis and DNA interaction studies of the food colorant quinoline yellow. *Dyes and Pigments* 96:377–382. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2012.09.004>

27. Oancea P, Meltzer V (2013) Photo-Fenton process for the degradation of Tartrazine (E102) in aqueous medium. *J Taiwan Inst Chem Eng* 44:990–994. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2013.03.014>
28. Hunger Klaus (2003) *Industrial dyes: chemistry, properties, applications*. Wiley-VCH
29. Splitstoser JC, Dillehay TD, Wouters J, Claro A (2016) Early pre-Hispanic use of indigo blue in Peru. *Sci Adv* 2. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1501623>
30. Titford M (2005) The long history of hematoxylin. *Biotechnic and Histochemistry* 80:73–78. <https://doi.org/10.1080/10520290500138372>
31. Broadbent AD, Society of Dyers and Colourists. (2001) *Basic principles of textile coloration*. Society of Dyers and Colorists
32. Carneiro PA, Umbuzeiro GA, Oliveira DP, Zanoni MVB (2010) Assessment of water contamination caused by a mutagenic textile effluent/dyehouse effluent bearing disperse dyes. *J Hazard Mater* 174:694–699. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.09.106>
33. Sharma A, Ahmad J, Flora SJS (2018) Application of advanced oxidation processes and toxicity assessment of transformation products. *Environ Res* 167:223–233
34. Wasilkowski D, Swędzioł Ż, Mroziak A (2018) The applicability of genetically modified microorganisms in bioremediation of contaminated environments. *Science* (1979) 66:817–826
35. Sharma J, Sharma S, Soni V (2021) Classification and impact of synthetic textile dyes on Aquatic Flora: A review. *Reg Stud Mar Sci* 45
36. Khan S, Malik A (2018) Toxicity evaluation of textile effluents and role of native soil bacterium in biodegradation of a textile dye. *Environmental Science and Pollution Research* 25:4446–4458. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0783-7>
37. Lellis B, Fávoro-Polonio CZ, Pamphile JA, Polonio JC (2019) Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms. *Biotechnology Research and Innovation* 3:275–290. <https://doi.org/10.1016/j.biori.2019.09.001>
38. Vikrant K, Giri BS, Raza N, et al (2018) Recent advancements in bioremediation of dye: Current status and challenges. *Bioresour Technol* 253:355–367
39. Ito T, Adachi Y, Yamanashi Y, Shimada Y (2016) Long-term natural remediation process in textile dye-polluted river sediment driven by bacterial community changes. *Water Res* 100:458–465. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.05.050>
40. Brock Thomas, Groteklaes Michael, Mischke Peter (2012) *European Coatings Handbook: 2nd revised edition*. Vincentz Network
41. Christie R (2001) *Colour Chemistry*, R S Chemistry. Royal Society of Chemistry paperbacks
42. Copaciu F, Opreș O, Coman V, et al (2013) Diffuse water pollution by anthraquinone and azo dyes in environment importantly alters foliage volatiles, carotenoids and physiology in wheat (*Triticum aestivum*). *Water Air Soil Pollut* 224. <https://doi.org/10.1007/s11270-013-1478-4>
43. Vargas AMM, Paulino AT, Nozaki J (2009) Effects of daily nickel intake on the bio-accumulation, body weight and length in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Toxicol Environ Chem* 91:751–759. <https://doi.org/10.1080/02772240802541353>
44. Ayed L, Mahdhi A, Cheref A, Bakhruf A (2011) Decolorization and degradation of azo dye Methyl Red by an isolated *Sphingomonas paucimobilis*: Biototoxicity and metabolites characterization. *Desalination* 274:272–277. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.02.024>
45. Imran M, Crowley DE, Khalid A, et al (2015) Microbial biotechnology for decolorization of textile wastewaters. *Rev Environ Sci Biotechnol* 14:73–92
46. Rehman K, Shahzad T, Sahar A, et al (2018) Effect of Reactive Black 5 azo dye on soil processes related to C and N cycling. *PeerJ* 2018. <https://doi.org/10.7717/peerj.4802>
47. Clark M (2011) *Handbook of textile and industrial dyeing. Volume 2, Applications of dyes*. Woodhead Pub
48. Christie R (2007) *Environmental Aspects of Textile Dyeing*. Woodhead Publishing Series in Textiles
49. Haq I, Raj A, Markandeya (2018) Biodegradation of Azure-B dye by *Serratia liquefaciens* and its validation by phytotoxicity, genotoxicity and cytotoxicity studies. *Chemosphere* 196:58–68. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.153>
50. Khan AY, Suresh Kumar G (2016) Spectroscopic studies on the binding interaction of phenothiazinium dyes, azure A and azure B to double stranded RNA polynucleotides. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 152:417–425. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.07.091>
51. Lacasse K, Baumann W (2004) *Textile Chemicals*. Springer Berlin Heidelberg
52. Sivarajasekar N, Baskar R (2014) Adsorption of basic red 9 on activated waste *Gossypium hirsutum* seeds: Process modeling, analysis and optimization using statistical design. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 20:2699–2709. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.10.058>
53. Collins-Williams C (1985) Clinical Spectrum of Adverse Reactions to Tartrazine. *Journal of Asthma* 22:139–143. <https://doi.org/10.3109/02770908509073132>

54. Çolakoğlu F, Selçuk ML (2020) Effects of Sunset Yellow FCF on immune system organs during different chicken embryonic periods. *J Vet Res* 64:597–607. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2020-0064>
55. Björkner B, Niklasson B (1983) Contact allergic reaction to D & C Yellow No. 11 and Quinoline Yellow. *Contact Dermatitis* 9:263–268. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1983.tb04387.x>
56. Bumpus JA, Brock BJ (1988) Biodegradation of crystal violet by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl Environ Microbiol* 54:1143–1150
57. Ginimuge P, Jyothi S (2010) Methylene blue: Revisited. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 26:517. <https://doi.org/10.4103/0970-9185.74599>
58. Oz M, Lorke DE, Hasan M, Petroianu GA (2011) Cellular and molecular actions of Methylene Blue in the nervous system. *Med Res Rev* 31:93–117. <https://doi.org/10.1002/med.20177>
59. Xu C, Rangaiah GP, Zhao XS (2014) Photocatalytic Degradation of Methylene Blue by Titanium Dioxide: Experimental and Modeling Study. *Ind Eng Chem Res* 53:14641–14649. <https://doi.org/10.1021/ie502367x>
60. El-Ashtoukhy E-SZ, Fouad YO (2015) Liquid–liquid extraction of methylene blue dye from aqueous solutions using sodium dodecylbenzenesulfonate as an extractant. *Alexandria Engineering Journal* 54:77–81. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2014.11.007>
61. Garg VK, Amita M, Kumar R, Gupta R (2004) Basic dye (methylene blue) removal from simulated wastewater by adsorption using Indian Rosewood sawdust: A timber industry waste. *Dyes and Pigments* 63:243–250. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2004.03.005>
62. Ali HM, Shehata SF, Ramadan KMA (2016) Microbial decolorization and degradation of crystal violet dye by *Aspergillus niger*. *International Journal of Environmental Science and Technology* 13:2917–2926. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1117-x>
63. Idaka E, Ogawa T, Yatome C, Horitsu H (1985) Behavior of activated sludge with dyes
64. Newman MC (2014) *Fundamentals of Ecotoxicology*. CRC Press
65. Bharagava RN, Mani S, Mulla SI, Saratale GD (2018) Degradation and decolourization potential of a ligninolytic enzyme producing *Aeromonas hydrophila* for crystal violet dye and its phytotoxicity evaluation. *Ecotoxicol Environ Saf* 156:166–175. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.012>
66. Mani S, Bharagava RN (2016) Exposure to crystal violet, its toxic, genotoxic and carcinogenic effects on environment and its degradation and detoxification for environmental safety. In: *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Springer New York LLC, pp 71–104
67. Azmi W, Sani RK, Banerjee UC (1998) Biodegradation of triphenylmethane dyes. *Enzyme Microb Technol* 22:185–191. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(97\)00159-2](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(97)00159-2)
68. Helfferich FG (1985) *Principles of adsorption & adsorption processes*, by D. M. Ruthven, John Wiley & Sons, 1984, xxiv + 433 pp. *Aiche Journal* 31:523–524
69. Shukla A, Zhang Y-H, Dubey P, et al (2002) The role of sawdust in the removal of unwanted materials from water
70. McKay G, Porter JF, Prasad GR (1999) THE REMOVAL OF DYE COLOURS FROM AQUEOUS SOLUTIONS BY ADSORPTION ON LOW-COST MATERIALS
71. Magdy YH, Daifullah AAM (1998) Adsorption of a basic dye from aqueous solutions onto sugar-industry-mud in two modes of operations. *Waste Management* 18:219–226. [https://doi.org/10.1016/S0956-053X\(98\)00022-1](https://doi.org/10.1016/S0956-053X(98)00022-1)
72. Vadivelan V, Vasanth Kumar K (2005) Equilibrium, kinetics, mechanism, and process design for the sorption of methylene blue onto rice husk. *J Colloid Interface Sci* 286:90–100. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2005.01.007>
73. Duan J, Gregory J (2003) Coagulation by hydrolysing metal salts
74. Matilainen A, Vepsäläinen M, Sillanpää M (2010) Natural organic matter removal by coagulation during drinking water treatment: A review. *Adv Colloid Interface Sci* 159:189–197
75. Verma AK, Dash RR, Bhunia P (2012) A review on chemical coagulation/flocculation technologies for removal of colour from textile wastewaters. *J Environ Manage* 93:154–168
76. Amuda OS, Amoo IA (2007) Coagulation/flocculation process and sludge conditioning in beverage industrial wastewater treatment. *J Hazard Mater* 141:778–783. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.07.044>
77. Kunin R (1972) *Ion Exchange Resins*. Krieger Publishing Company
78. de Abreu Domingos R, da Fonseca FV (2018) Evaluation of adsorbent and ion exchange resins for removal of organic matter from petroleum refinery wastewaters aiming to increase water reuse. *J Environ Manage* 214:362–369. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.022>
79. Ulbricht M (2006) Advanced functional polymer membranes. *Polymer (Guildf)* 47:2217–2262
80. Wijannarong S, Aroonsrimorakot S, Thavipoke P, et al (2013) Removal of Reactive Dyes from Textile Dyeing Industrial Effluent by Ozonation Process. *APCBEE Procedia* 5:279–282. <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2013.05.048>
81. Kasiri MB, Modirshahla N, Mansouri H (2013) Decolorization of organic dye solution by ozonation; Optimization with response surface methodology. *International Journal of Industrial Chemistry* 4:3. <https://doi.org/10.1186/2228-5547-4-3>

82. Muniyasamy A, Sivaporul G, Gopinath A, et al (2020) Process development for the degradation of textile azo dyes (mono-, di-, poly-) by advanced oxidation process - Ozonation: Experimental & partial derivative modelling approach. *J Environ Manage* 265. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110397>
83. Zhang C, Diao H, Lu F, et al (2012) Degradation of triphenylmethane dyes using a temperature and pH stable spore laccase from a novel strain of *Bacillus vallismortis*. *Bioresour Technol* 126:80–86. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.09.055>
84. Al jibouri AKH, Wu J, Upreti SR (2015) Continuous ozonation of methylene blue in water. *Journal of Water Process Engineering* 8:142–150. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2015.10.002>
85. Babar M, Munir HMS, Nawaz A, et al (2022) Comparative study of ozonation and ozonation catalyzed by Fe-loaded biochar as catalyst to remove methylene blue from aqueous solution. *Chemosphere* 307. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135738>
86. Staehelin Johannes, Hoigne Juerg (1982) Decomposition of ozone in water: rate of initiation by hydroxide ions and hydrogen peroxide. *Environ Sci Technol* 16:676–681. <https://doi.org/10.1021/es00104a009>
87. Guo Z, Xie Y, Xiao J, et al (2019) Single-Atom Mn-N4 Site-Catalyzed Peroxone Reaction for the Efficient Production of Hydroxyl Radicals in an Acidic Solution. *J Am Chem Soc* 141:12005–12010. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b04569>
88. Chiron S, Fernandez-Alba A, Rodriguez A, Garcia-Calvo E PESTICIDE CHEMICAL OXIDATION: STATE-OF-THE-ART
89. Takeuchi N, Mizoguchi H (2017) Study of optimal parameters of the H₂O₂/O₃ method for the decomposition of acetic acid. *Chemical Engineering Journal* 313:309–316. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.12.040>
90. Chen H, Wang J (2021) Degradation and mineralization of ofloxacin by ozonation and peroxone (O₃/H₂O₂) process. *Chemosphere* 269. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128775>
91. Jaramillo-Sierra B, Mercado-Cabrera A, Hernández-Arias A, et al (2019) Methylene blue degradation assessment by advanced oxidation methods. *Journal of Applied Research and Technology* 17:172–179
92. Fenton HJH (1894) LXXIII. - Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *Journal of the Chemical Society, Transactions* 65:899–910
93. Koppenol WH (1993) THE CENTENNIAL OF THE FENTON REACTION
94. Hayyan M, Hashim MA, Alnashef IM (2016) Superoxide Ion: Generation and Chemical Implications. *Chem Rev* 116:3029–3085
95. Lucas MS, Peres JA (2006) Decolorization of the azo dye Reactive Black 5 by Fenton and photo-Fenton oxidation. *Dyes and Pigments* 71:236–244. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2005.07.007>
96. De Laat J, Gallard H (1999) Catalytic decomposition of hydrogen peroxide by Fe (III) in homogeneous aqueous solution: Mechanism and kinetic modeling. *Environ Sci Technol* 33:2726–2732. <https://doi.org/10.1021/es981171v>
97. Pignatello JJ, Oliveros E, MacKay A (2006) Advanced oxidation processes for organic contaminant destruction based on the fenton reaction and related chemistry. *Crit Rev Environ Sci Technol* 36:1–84
98. Zhu W, Yang Z, Wang LI (2001) APPLICATION OF FERROUS HYDROGEN PEROXIDE FOR TREATMENT OF DSD-ACID MANUFACTURING PROCESS WASTEWATER
99. Dutta K, Mukhopadhyay S, Bhattacharjee S, Chaudhuri B (2001) Chemical oxidation of methylene blue using a Fenton-like reaction
100. Wang Q, Tian S, Ning P (2014) Degradation mechanism of methylene blue in a heterogeneous fenton-like reaction catalyzed by ferrocene. *Ind Eng Chem Res* 53:643–649. <https://doi.org/10.1021/ie403402q>
101. Xie X, Li J, Liu J, et al (2023) Efficient degradation of chromium picolinate with simultaneous chromium removal from aqueous solutions using the Fenton process. *Sep Purif Technol* 317. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2023.123864>
102. Zhang R, Liu X, Chen R, et al (2022) Environmental and economic performances of incorporating Fenton-based processes into traditional sludge management systems. *J Clean Prod* 364. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.132613>
103. Vieira MM, Pereira Dornelas AS, Carlos TD, et al (2021) When treatment increases the contaminant's ecotoxicity: A study of the Fenton process in the degradation of methylene blue. *Chemosphere* 283. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131117>
104. Chang B, Cao T, Shen Z, et al (2023) Optimization of Co₃O₄ surface sites for photo-ozone catalytic mineralization of dichloromethane. *J Hazard Mater* 452. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131275>
105. Mahmoodi NM (2013) Photocatalytic ozonation of dyes using multiwalled carbon nanotube. *J Mol Catal A Chem* 366:254–260. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2012.10.002>
106. Hassaan MA, El Nemr A, Madkour FF (2017) Testing the advanced oxidation processes on the degradation of Direct Blue 86 dye in wastewater. *Egypt J Aquat Res* 43:11–19. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2016.09.006>
107. El Nemr A, Hassaan MA, Madkour FF (2018) HPLC-MS/MS Mechanistic Study of Direct Yellow 12 dye Degradation Using Ultraviolet Assisted Ozone Process. *J Water Environ Nanotechnol* 3:1–11. <https://doi.org/10.22090/jwent.2018.01.001>

108. Hassaan MA, El Nemr A, Madkour FF (2017) Advanced oxidation processes of Mordant Violet 40 dye in freshwater and seawater. *Egypt J Aquat Res* 43:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2016.09.004>
109. Hassaan M, Nemr A El, Madkour FF, et al (2016) Application of Ozonation and UV assisted Ozonation for Decolorization of Direct Yellow 50 in Sea water *Advanced Oxidation Processes (AOPs) of Organic Pollutants View Project Phytoplankton and macroalgae of the Mediterranean and Red Seas View project (2):131-1387092 CODEN(USA): PCJHBA* Application of Ozonation and UV assisted Ozonation for Decolorization of Direct Yellow 50 in Sea water
110. Heidt LJ (1932) THE PHOTOLYSIS OF HYDROGEN PEROXIDE IN AQUEOUS SOLUTION. 54:2840–2843
111. Lunak S, Sedlak P (1992) Photoinitiated reactions of hydrogen peroxide in the liquid phase. *Photochem Photobiol A: Chem* 68:33
112. Guittoneau S, De Laat J, Duguet JP, et al (1990) Oxidation of Parachloronitrobenzene in Dilute Aqueous Solution by O₃ + UV and H₂O₂ + UV: A Comparative Study. *Ozone Sci Eng* 12:73–94. <https://doi.org/10.1080/01919519008552456>
113. Mahbub P, Smallridge A, Irtassam A, Yeager T (2022) Scalable production of hydroxyl radicals (.OH) via homogeneous photolysis of hydrogen peroxide using a continuous-flow photoreactor. *Chemical Engineering Journal* 427. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.131762>
114. Hassanshahi N, Karimi-Jashni A (2018) Comparison of photo-Fenton, O₃/H₂O₂/UV and photocatalytic processes for the treatment of grey water. *Ecotoxicol Environ Saf* 161:683–690. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.039>
115. Al-Kdasi A, Idris A, Saed K, Teong Guan C (2004) TREATMENT OF TEXTILE WASTEWATER BY ADVANCED OXIDATION PROCESSES-A REVIEW
116. Arslan A, Topkaya E, Özbay B, et al (2017) Application of O₃/UV/H₂O₂ oxidation and process optimization for treatment of potato chips manufacturing wastewater. *Water and Environment Journal* 31:64–71. <https://doi.org/10.1111/wej.12227>
117. Fang Y, Huang W, Yang S, et al (2020) Facile synthesis of anatase/rutile TiO₂/g-C₃N₄ multi-heterostructure for efficient photocatalytic overall water splitting. *Int J Hydrogen Energy* 45:17378–17387. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.04.214>
118. Nguyen TL, Pham TH, Viet NM, et al (2022) Improved photodegradation of antibiotics pollutants in wastewaters by advanced oxidation process based on Ni-doped TiO₂. *Chemosphere* 302:134837. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.134837>
119. Pandi K, Preeyanghaa M, Vinesh V, et al (2022) Complete photocatalytic degradation of tetracycline by carbon doped TiO₂ supported with stable metal nitrate hydroxide. *Environ Res* 207. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112188>
120. Rather RA, Singh S, Pal B (2017) Visible and direct sunlight induced H₂ production from water by plasmonic Ag-TiO₂ nanorods hybrid interface. *Solar Energy Materials and Solar Cells* 160:463–469. <https://doi.org/10.1016/j.solmat.2016.11.017>
121. Larimi A, Rahimi MR, Khorasheh F (2020) Carbonaceous supports decorated with Pt-TiO₂ nanoparticles using electrostatic self-assembly method as a highly visible-light active photocatalyst for CO₂ photoreduction. *Renew Energy* 145:1862–1869. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.07.105>
122. Thi Quyen V, Jitae K, Thi Huong P, et al (2021) Copper doped titanium dioxide as a low-cost visible light photocatalyst for water splitting. *Solar Energy* 218:150–156. <https://doi.org/10.1016/j.solener.2021.02.036>
123. Sima J, Hasal P (2013) Photocatalytic Degradation of Textile Dyes in aTiO₂/UV System. In: Piericci S, Klemes J (eds). Prague, pp 79–84
124. Ataabadi MR, Jamshidi M (2023) Improved photocatalytic degradation of methylene blue under visible light using acrylic nanocomposite contained silane grafted nano TiO₂. *J Photochem Photobiol A Chem* 443. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2023.114832>
125. Sugashini S, Gomathi T, Devi RA, et al (2022) Nanochitosan/carboxymethyl cellulose/TiO₂ biocomposite for visible-light-induced photocatalytic degradation of crystal violet dye. *Environ Res* 204. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112047>
126. Koe WS, Lee JW, Chong WC, et al (2020) An overview of photocatalytic degradation: photocatalysts, mechanisms, and development of photocatalytic membrane. *Environmental Science and Pollution Research* 27:2522–2565
127. Zhang F, Wang X, Liu H, et al (2019) Recent advances and applications of semiconductor photocatalytic technology. *Applied Sciences (Switzerland)* 9
128. Abdullah FH, Bakar NHHA, Bakar MA (2022) Current advancements on the fabrication, modification, and industrial application of zinc oxide as photocatalyst in the removal of organic and inorganic contaminants in aquatic systems. *J Hazard Mater* 424
129. Dehghani MH, Mahdavi P (2015) Removal of acid 4092 dye from aqueous solution by zinc oxide nanoparticles and ultraviolet irradiation. *Desalination Water Treat* 54:3464–3469. <https://doi.org/10.1080/19443994.2014.913267>

130. De León MA, Castiglioni J, Bussi J, Sergio M (2008) Catalytic activity of an iron-pillared montmorillonitic clay mineral in heterogeneous photo-Fenton process. *Catal Today* 133–135:600–605. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2007.12.130>
131. Mahamallik P, Pal A (2017) Degradation of textile wastewater by modified photo-Fenton process: Application of Co(II) adsorbed surfactant-modified alumina as heterogeneous catalyst. *J Environ Chem Eng* 5:2886–2893. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.05.044>
132. Gogoi A, Navgire M, Sarma KC, Gogoi P (2017) Fe₃O₄-CeO₂ metal oxide nanocomposite as a Fenton-like heterogeneous catalyst for degradation of catechol. *Chemical Engineering Journal* 311:153–162. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.11.086>
133. Shaban M, Abukhadra MR, Ibrahim SS, Shahien MG (2017) Photocatalytic degradation and photo-Fenton oxidation of Congo red dye pollutants in water using natural chromite—response surface optimization. *Appl Water Sci* 7:4743–4756. <https://doi.org/10.1007/s13201-017-0637-y>
134. Domenzain-Gonzalez J, Castro-Arellano JJ, Galicia-Luna LA, Lartundo-Rojas L (2019) Photo-Fenton Degradation of RB5 Dye in Aqueous Solution Using Fe Supported on Mexican Natural Zeolite. *International Journal of Photoenergy* 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4981631>
135. Tarkwa JB, Oturan N, Acayanka E, et al (2019) Photo-Fenton oxidation of Orange G azo dye: process optimization and mineralization mechanism. *Environ Chem Lett* 17:473–479. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0773-0>
136. Guz L, Curutchet G, Torres Sánchez RM, Candal R (2014) Adsorption of crystal violet on montmorillonite (or iron modified montmorillonite) followed by degradation through Fenton or photo-Fenton type reactions. *J Environ Chem Eng* 2:2344–2351. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.02.007>
137. Rehman F, Sayed M, Khan JA, et al (2018) Degradation of crystal violet dye by fenton and photo-fenton oxidation processes. *Zeitschrift für Physikalische Chemie* 232:1771–1786. <https://doi.org/10.1515/zpch-2017-1099>
138. Melgoza D, Hernández-Ramírez A, Peralta-Hernández JM (2009) Comparative efficiencies of the decolourisation of Methylene Blue using Fenton's and photo-Fenton's reactions. *Photochemical and Photobiological Sciences* 8:596–599. <https://doi.org/10.1039/b817287k>
139. Ahmed Y, Yaakob Z, Akhtar P (2015) Degradation and mineralization of methylene blue using a heterogeneous photo-Fenton catalyst under visible and solar light irradiation. *Catal Sci Technol* 1–32
140. Saleh R, Taufik A (2019) Photo-Fenton degradation of methylene blue in the presence of Au-Fe₃O₄/graphene composites under UV and visible light at near neutral pH: Effect of coexisting inorganic anion. *Environ Nanotechnol Monit Manag* 11. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2019.100221>
141. Oturan MA, Oturan N, Aaron J-J (2004) Traitement des micropolluants organiques dans l'eau par des procédés d'oxydation avancée. *L'actualité chimique* 57–64
142. Guivarch E, Trevin S, Lahitte C, Oturan MA (2003) Degradation of azo dyes in water by Electro-Fenton process. *Environ Chem Lett* 1:38–44. <https://doi.org/10.1007/s10311-002-0017-0>
143. Afrin S, Shuvo HR, Sultana B, et al (2021) The degradation of textile industry dyes using the effective bacterial consortium. *Heliyon* 7. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08102>
144. Rajhans G, Barik A, Sen SK, Raut S (2021) Degradation of dyes by fungi: an insight into mycoremediation. *Biotechnologia* 102:445–455
145. Pontié M, Jaspard E, Friant C, et al (2019) A sustainable fungal microbial fuel cell (FMFC) for the bioremediation of acetaminophen (APAP) and its main by-product (PAP) and energy production from biomass. *Biocatal Agric Biotechnol* 22. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101376>
146. Jamee R, Siddique R (2019) Biodegradation of synthetic dyes of textile effluent by microorganisms: an environmentally and economically sustainable approach. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)* 9:114–118. <https://doi.org/10.1556/1886.2019.00018>
147. Wuhrmann K, Mechsner K, Kappeler T (1980) Investigation on rate — Determining factors in the microbial reduction of azo dyes. *European journal of applied microbiology and biotechnology* 9:325–338
148. Chen K-C, Huang W-T, Wu J-Y, Houg J-Y (1999) Microbial decolorization of azo dyes by *Proteus mirabilis*
149. Chang J-S, Chou C, Lin Y-C, et al (2001) KINETIC CHARACTERISTICS OF BACTERIAL AZO-DYE DECOLORIZATION BY *PSEUDOMONAS LUTEOLA*
150. Kalyani DC, Telke AA, Dhanve RS, Jadhav JP (2009) Ecofriendly biodegradation and detoxification of Reactive Red 2 textile dye by newly isolated *Pseudomonas* sp. SUK1. *J Hazard Mater* 163:735–742. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.07.020>
151. Arun Prasad AS, Satyanarayana VSV, Bhaskara Rao K V. (2013) Biotransformation of Direct Blue 1 by a moderately halophilic bacterium *Marinobacter* sp. strain HBRA and toxicity assessment of degraded metabolites. *J Hazard Mater* 262:674–684. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.09.011>
152. Al Farraj DA, Elshikh MS, Al Khulaifi MM, et al (2019) Biotransformation and Detoxification of Antraquinone Dye Green 3 using halophilic *Hortaea* sp. *Int Biodeterior Biodegradation* 140:72–77. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.03.011>
153. Nigam P, Banat IM, Singh D, Marchanv R (1996) Microbial Process for the Decolorization of Textile Effluent Containing Azo, Diazo and Reactive Dyes. *Process Biochemistry* 31:435–442

154. Joshi T, Iyengar L, Singh K, Garg S (2008) Isolation, identification and application of novel bacterial consortium TJ-1 for the decolourization of structurally different azo dyes. *Bioresour Technol* 99:7115–7121. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.074>
155. Saratale RG, Saratale GD, Chang JS, Govindwar SP (2010) Decolorization and biodegradation of reactive dyes and dye wastewater by a developed bacterial consortium. *Biodegradation* 21:999–1015. <https://doi.org/10.1007/s10532-010-9360-1>
156. Tony BD, Goyal D, Khanna S (2009) Decolorization of Direct Red 28 by mixed bacterial culture in an up-flow immobilized bioreactor. *J Ind Microbiol Biotechnol* 36:955–960. <https://doi.org/10.1007/s10295-009-0574-3>
157. Tony BD, Goyal D, Khanna S (2009) Decolorization of textile azo dyes by aerobic bacterial consortium. *Int Biodeterior Biodegradation* 63:462–469. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.01.003>
158. Gou M, Qu Y, Zhou J, et al (2009) Azo dye decolorization by a new fungal isolate, *Penicillium* sp. QQ and fungal-bacterial cocultures. *J Hazard Mater* 170:314–319. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.04.094>
159. Heinzkill M, Bech L, Halkier T, et al (1998) Characterization of Laccases and Peroxidases from Wood-Rotting Fungi (Family Coprinaceae)
160. Ben Mansour H, Houas I, Montassar F, et al (2012) Alteration of in vitro and acute in vivo toxicity of textile dyeing wastewater after chemical and biological remediation. *Environmental Science and Pollution Research* 19:2634–2643. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-0802-7>
161. Merlini C, Barra GMO, Medeiros Araujo T, Pegoretti A (2014) Electrically pressure sensitive poly(vinylidene fluoride)/polypyrrole electrospun mats. *RSC Adv* 4:15749–15758. <https://doi.org/10.1039/c4ra01058b>
162. Deska M, Kończak B (2019) Immobilized fungal laccase as “green catalyst” for the decolourization process – State of the art. *Process Biochemistry* 84:112–123
163. Guo G, Tian F, Zhao Y, et al (2019) Aerobic decolorization and detoxification of Acid Scarlet GR by a newly isolated salt-tolerant yeast strain *Galactomyces geotrichum* GG. *Int Biodeterior Biodegradation* 145. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104818>
164. Forootanfâr H, Moezzi A, Aghaie-Khozani M, et al (2012) Synthetic dye decolorization by three sources of fungal laccase. *Iranian J Environ Health Sci Eng* 9. <https://doi.org/10.1186/1735-2746-9-27>
165. Munck C, Thierry E, Gräßle S, et al (2018) Biofilm formation of filamentous fungi *Corioloropsis* sp. on simple muslin cloth to enhance removal of triphenylmethane dyes. *J Environ Manage* 214:261–266. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.025>
166. Radha K V., Regupathi I, Arunagiri A, Murugesan T (2005) Decolorization studies of synthetic dyes using *Phanerochaete chrysosporium* and their kinetics. *Process Biochemistry* 40:3337–3345. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.03.033>
167. Casas N, Parella T, Vicent T, et al (2009) Metabolites from the biodegradation of triphenylmethane dyes by *Trametes versicolor* or laccase. *Chemosphere* 75:1344–1349. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.02.029>
168. Kalpana D, Velmurugan N, Shim JH, et al (2012) Biodecolorization and biodegradation of reactive Levafix Blue E-RA granulate dye by the white rot fungus *Irpex lacteus*. *J Environ Manage* 111:142–149. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.06.041>
169. Chaudhry MT, Zohaib M, Rauf N, et al (2014) Biosorption characteristics of *Aspergillus fumigatus* for the decolorization of triphenylmethane dye acid violet 49. *Appl Microbiol Biotechnol* 98:3133–3141. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5306-y>
170. Chen SH, Yien Ting AS (2015) Biosorption and biodegradation potential of triphenylmethane dyes by newly discovered *Penicillium simplicissimum* isolated from indoor wastewater sample. *Int Biodeterior Biodegradation* 103:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.04.004>
171. Sood M, Kapoor D, Kumar V, et al (2020) *Trichoderma*: The “Secrets” of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants* 9:762. <https://doi.org/10.3390/plants9060762>
172. Hermosa R, Viterbo A, Chet I, Monte E (2012) Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology (N Y)* 158:17–25
173. Abbey JA, Percival D, Abbey, Lord, et al (2019) Biofungicides as alternative to synthetic fungicide control of grey mould (*Botrytis cinerea*)—prospects and challenges. *Biocontrol Sci Technol* 29:241–262
174. Persoon C (1794) *Disposita methodical fungorum*. *Römers Neues Mag Bot* 1:81–128
175. Katayama A, Matsumura F (1991) Photochemically Enhanced Microbial Degradation of Environmental Pollutants. *Environ Sci Technol* 25:1329–1333
176. Morales-Barrera L, Cristiani-Urbina E (2008) Hexavalent chromium removal by a *Trichoderma inhamatum* fungal strain isolated from tannery effluent. *Water Air Soil Pollut* 187:327–336. <https://doi.org/10.1007/s11270-007-9520-z>
177. Bishnoi NR, Kumar R, Bishnoi K (2007) Biosorption of Cr (VI) with *Trichoderma viride* immobilized fungal biomass and cell free Ca-alginate beads
178. Huang Y, Xiao L, Li F, et al (2018) Microbial degradation of pesticide residues and an emphasis on the degradation of cypermethrin and 3-phenoxy benzoic acid: A review. *Molecules* 23

179. Faedda R, Puglisi I, Sanzaro V, et al (2012) Expression of genes of *Trichoderma harzianum* in response to the presence of cadmium in the substrate. *Nat Prod Res* 26:2301–2308. <https://doi.org/10.1080/14786419.2012.666752>
180. Shafique S, Bajwa R, Shafique S (2010) Molecular characterisation of UV and chemically induced mutants of *Trichoderma reesei* FCBP-364. *Nat Prod Res* 24:1438–1448. <https://doi.org/10.1080/14786410903132399>
181. Wiater A, Szczodrak J, Pleszczynska M (2005) OPTIMIZATION OF CONDITIONS FOR THE EFFICIENT PRODUCTION OF MUTAN IN STREPTOCOCCAL CULTURES AND POST-CULTURE LIQUIDS. *Acta Biol Hung* 56:137–150
182. Sharma A, Sharma P, Singh J, et al (2020) Prospecting the Potential of Agroresidues as Substrate for Microbial Flavor Production. *Front Sustain Food Syst* 4
183. Iqtedar M, Nadeem M, Naeem H, et al (2015) Bioconversion potential of *Trichoderma viride* HN1 cellulase for a lignocellulosic biomass *Saccharum spontaneum*. *Nat Prod Res* 29:1012–1019. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.971320>
184. Yu Z, Wen X (2005) Screening and identification of yeasts for decolorizing synthetic dyes in industrial wastewater. *Int Biodeterior Biodegradation* 56:109–114. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2005.05.006>
185. Ertuğrul S, Bakir M, Dönmez G (2008) Treatment of dye-rich wastewater by an immobilized thermophilic cyanobacterial strain: *Phormidium* sp. *Ecol Eng* 32:244–248. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2007.11.011>
186. Azeez RA, Al-Zuhairi FKI (2022) Biosorption of dye by immobilized yeast cells on the surface of magnetic nanoparticles. *Alexandria Engineering Journal* 61:5213–5222. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2021.10.044>
187. Mahmoud MS (2016) Decolorization of certain reactive dye from aqueous solution using Baker's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) strain. *HBRC Journal* 12:88–98. <https://doi.org/10.1016/j.hbrcej.2014.07.005>
188. Jadhav JP, Parshetti GK, Kalme SD, Govindwar SP (2007) Decolourization of azo dye methyl red by *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 463. *Chemosphere* 68:394–400. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.12.087>
189. Tan L, He M, Song L, et al (2016) Aerobic decolorization, degradation and detoxification of azo dyes by a newly isolated salt-tolerant yeast *Scheffersomyces spartinae* TLHS-SF1. *Bioresour Technol* 203:287–294. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.12.058>
190. Martorell MM, Pajot HF, Figueroa LIC de (2017) Biological degradation of Reactive Black 5 dye by yeast *Trichosporon akiyoshidainum*. *J Environ Chem Eng* 5:5987–5993. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.11.012>
191. Wang Y, Xu B, Ning S, et al (2021) Magnetically stimulated azo dye biodegradation by a newly isolated osmo-tolerant *Candida tropicalis* A1 and transcriptomic responses. *Ecotoxicol Environ Saf* 209. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111791>
192. Ali SS, Al-Tohamy R, Sun J (2022) Performance of *Meyerozyma caribbica* as a novel manganese peroxidase-producing yeast inhabiting wood-feeding termite gut symbionts for azo dye decolorization and detoxification. *Science of the Total Environment* 806. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150665>
193. Saravanan P, Kumaran S, Bharathi S, et al (2021) Bioremediation of synthetic textile dyes using live yeast *Pichia pastoris*. *Environ Technol Innov* 22. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101442>
194. Song L, Shao Y, Ning S, Tan L (2017) Performance of a newly isolated salt-tolerant yeast strain *Pichia occidentalis* G1 for degrading and detoxifying azo dyes. *Bioresour Technol* 233:21–29. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.065>
195. Al-Tohamy R, Sun J, Fareed MF, et al (2020) Ecofriendly biodegradation of Reactive Black 5 by newly isolated *Sterigmatomyces halophilus* SSA1575, valued for textile azo dye wastewater processing and detoxification. *Sci Rep* 10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69304-4>
196. Sathya AB, Sivashankar R, Kanimozhi J, et al (2022) Biosorption and Different Native Sources for Preparation of Biosorbents. In: *Biosorption for Wastewater Contaminants*. Wiley, pp 23–41
197. Ramesh B, Saravanan A, Senthil Kumar P, et al (2023) A review on algae biosorption for the removal of hazardous pollutants from wastewater: Limiting factors, prospects and recommendations. *Environmental Pollution* 327
198. Khan MD, Singh A, Khan MZ, et al (2023) Current perspectives, recent advancements, and efficiencies of various dye-containing wastewater treatment technologies. *Journal of Water Process Engineering* 53
199. Afshin S, Mokhtari SA, Vosoughi M, et al (2018) Data of adsorption of Basic Blue 41 dye from aqueous solutions by activated carbon prepared from filamentous algae. *Data Brief* 21:1008–1013. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.10.023>
200. Vasanth Kumar K, Sivanesan S, Ramamurthi V (2005) Adsorption of malachite green onto *Pithophora* sp., a fresh water alga: Equilibrium and kinetic modelling. *Process Biochemistry* 40:2865–2872. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.01.007>
201. Salima A, Benaouda B, Noureddine B, Duclaux L (2013) Application of *Ulva lactuca* and *Systoceira stricta* algae-based activated carbons to hazardous cationic dyes removal from industrial effluents. *Water Res* 47:3375–3388. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.03.038>

202. Bouzikri S, Ouasfi N, Khamliche L (2022) Bifurcaria bifurcata activated carbon for the adsorption enhancement of Acid Orange 7 and Basic Red 5 dyes: Kinetics, equilibrium and thermodynamics investigations. *Energy Nexus* 7. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100138>
203. Bayramoglu G, Burcu Angi S, Acikgoz-Erkaya I, Yakup Arica M (2022) Preparation of effective green sorbents using *O. Princeps* alga biomass with different composition of amine groups: Comparison to adsorption performances for removal of a model acid dye. *J Mol Liq* 347. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.118375>
204. Kousha M, Daneshvar E, Sohrabi MS, et al (2012) Adsorption of acid orange II dye by raw and chemically modified brown macroalga *Stoechospermum marginatum*. *Chemical Engineering Journal* 192:67–76. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.03.057>
205. Abdulhameed AS, Jawad AH, Kashi E, et al (2022) Insight into adsorption mechanism, modeling, and desirability function of crystal violet and methylene blue dyes by microalgae: Box-Behnken design application. *Algal Res* 67. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102864>
206. Yadav M, Thakore S, Jadeja R (2022) Removal of organic dyes using *Fucus vesiculosus* seaweed bioadsorbent an ecofriendly approach: Equilibrium, kinetics and thermodynamic studies. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology* 4:67–77. <https://doi.org/10.1016/j.eneco.2021.12.003>
207. Rane NR, Chandanshive V V., Watharkar AD, et al (2015) Phytoremediation of sulfonated Remazol Red dye and textile effluents by *Alternanthera philoxeroides*: An anatomical, enzymatic and pilot scale study. *Water Res* 83:271–281. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.06.046>
208. Rane NR, Chandanshive V V., Khandare R V., et al (2014) Green remediation of textile dyes containing wastewater by *Ipomoea hederifolia* L. *RSC Adv* 4:36623–36632. <https://doi.org/10.1039/c4ra06840h>
209. Mahmood Q, Masood F, Bhatti ZA, et al (2014) Biological treatment of the dye Reactive Blue 19 by cattails and anaerobic bacterial consortia. *Toxicol Environ Chem* 96:530–541. <https://doi.org/10.1080/02772248.2014.970556>
210. Vijayalakshmi SR, Muthukumar K (2014) Phytoremediation of textile effluent pretreated with ultrasound and bacteria. *J Environ Chem Eng* 2:1813–1820. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.07.017>
211. Watharkar AD, Khandare R V., Kamble AA, et al (2013) Phytoremediation potential of *Petunia grandiflora* Juss., an ornamental plant to degrade a disperse, disulfonated triphenylmethane textile dye Brilliant Blue G. *Environmental Science and Pollution Research* 20:939–949. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-0904-2>
212. Watharkar AD, Rane NR, Patil SM, et al (2013) Enhanced phytotransformation of Navy-Blue RX dye by *Petunia grandiflora* Juss. with augmentation of rhizospheric *Bacillus pumilus* strain PgJ and subsequent toxicity analysis. *Bioresour Technol* 142:246–254. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.05.044>
213. Reema RM, Saravanan P, Kumar MD, Renganathan S (2011) Accumulation of methylene blue dye by growing *Lemna minor*. *Sep Sci Technol* 46:1052–1058. <https://doi.org/10.1080/01496395.2010.528503>
214. Waranusantigul P, Pokethitiyook P, Kruatrachue M, Upatham ES (2003) Kinetics of basic dye (methylene blue) biosorption by giant duckweed (*Spirodela polyrrhiza*). *Environmental Pollution* 125:385–392. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00107-6](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00107-6)
215. Lata H, Garg VK, Gupta RK (2007) Removal of a basic dye from aqueous solution by adsorption using *Parthenium hysterophorus*: An agricultural waste. *Dyes and Pigments* 74:653–658. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2006.04.007>
216. Bestani B, Benderdouche N, Benstaali B, et al (2008) Methylene blue and iodine adsorption onto an activated desert plant. *Bioresour Technol* 99:8441–8444. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.02.053>
217. Feng S, Hao Ngo H, Guo W, et al (2021) Roles and applications of enzymes for resistant pollutants removal in wastewater treatment. *Bioresour Technol* 335:125278. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2021.125278>
218. Feng W, Taylor KE, Biswas N, Bewtra JK (2013) Soybean peroxidase trapped in product precipitate during phenol polymerization retains activity and may be recycled. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 88:1429–1435. <https://doi.org/10.1002/jctb.4075>
219. Kalsoom U, Ashraf SS, Meentani MA, et al (2013) Mechanistic study of a diazo dye degradation by Soybean Peroxidase. *Chem Cent J* 7:93. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-93>
220. Baldrian P (2006) Fungal laccases-occurrence and properties. *FEMS Microbiol Rev* 30:215–242
221. Maalej-Kammoun M, Zouari-Mechichi H, Belbahri L, et al (2009) Malachite green decolourization and detoxification by the laccase from a newly isolated strain of *Trametes* sp. *Int Biodeterior Biodegradation* 63:600–606. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.04.003>
222. Halaburgi VM, Sharma S, Sinha M, et al (2011) Purification and characterization of a thermostable laccase from the ascomycetes *Cladosporium cladosporioides* and its applications. *Process Biochemistry* 46:1146–1152. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.02.002>
223. Lu L, Zhao M, Wang TN, et al (2012) Characterization and dye decolorization ability of an alkaline resistant and organic solvents tolerant laccase from *Bacillus licheniformis* LS04. *Bioresour Technol* 115:35–40. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.111>
224. Bibi I, Bhatti HN, Asgher M (2011) Comparative study of natural and synthetic phenolic compounds as efficient laccase mediators for the transformation of cationic dye. *Biochem Eng J* 56:225–231. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2011.07.002>

225. Yang XQ, Zhao XX, Liu CY, et al (2009) Decolorization of azo, triphenylmethane and anthraquinone dyes by a newly isolated *Trametes* sp. SQ01 and its laccase. *Process Biochemistry* 44:1185–1189. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.06.015>
226. Saladino R, Guazzaroni M, Crestini C, Crucianelli M (2013) Dye Degradation by Layer-by-Layer Immobilised Peroxidase/Redox Mediator Systems. *ChemCatChem* 5:1407–1415. <https://doi.org/10.1002/cctc.201200660>
227. Sadighi A, Faramarzi MA (2013) Congo red decolorization by immobilized laccase through chitosan nanoparticles on the glass beads. *J Taiwan Inst Chem Eng* 44:156–162. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2012.09.012>
228. Chhabra M, Mishra S, Sreekrishnan TR (2015) Immobilized laccase mediated dye decolorization and transformation pathway of azo dye acid red 27. *J Environ Health Sci Eng* 13. <https://doi.org/10.1186/s40201-015-0192-0>
229. van der Zee FP, Villaverde S (2005) Combined anaerobic–aerobic treatment of azo dyes—A short review of bioreactor studies. *Water Res* 39:1425–1440. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.03.007>
230. Jayapal M, Jagadeesan H, Shanmugam M, et al (2018) Sequential anaerobic-aerobic treatment using plant microbe integrated system for degradation of azo dyes and their aromatic amines by-products. *J Hazard Mater* 354:231–243. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.04.050>
231. Zhu Y, Cao X, Cheng Y, Zhu T (2018) Performances and structures of functional microbial communities in the mono azo dye decolorization and mineralization stages. *Chemosphere* 210:1051–1060. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.083>
232. Köchling T, Ferraz ADN, Florencio L, et al (2017) 454-Pyrosequencing analysis of highly adapted azo dye-degrading microbial communities in a two-stage anaerobic–aerobic bioreactor treating textile effluent. *Environmental Technology (United Kingdom)* 38:687–693. <https://doi.org/10.1080/09593330.2016.1208681>

I. Les piles microbiennes

I.1. Définition des piles microbiennes (MFC)

La recherche de sources d'énergie innovantes et en accord avec un développement durable, est une des préoccupations majeures de notre époque. Les alternatives de production d'énergie renouvelables, telles que le solaire, l'éolien, l'hydroélectrique, la biomasse ou la géothermie donnent lieu à de nombreux défis et opportunités. Toutefois, au cœur même de cette variété de solutions repose une technologie qui se distingue par son potentiel prometteur : la pile microbienne (ou MFC pour « *Microbial Fuel Cell* »).

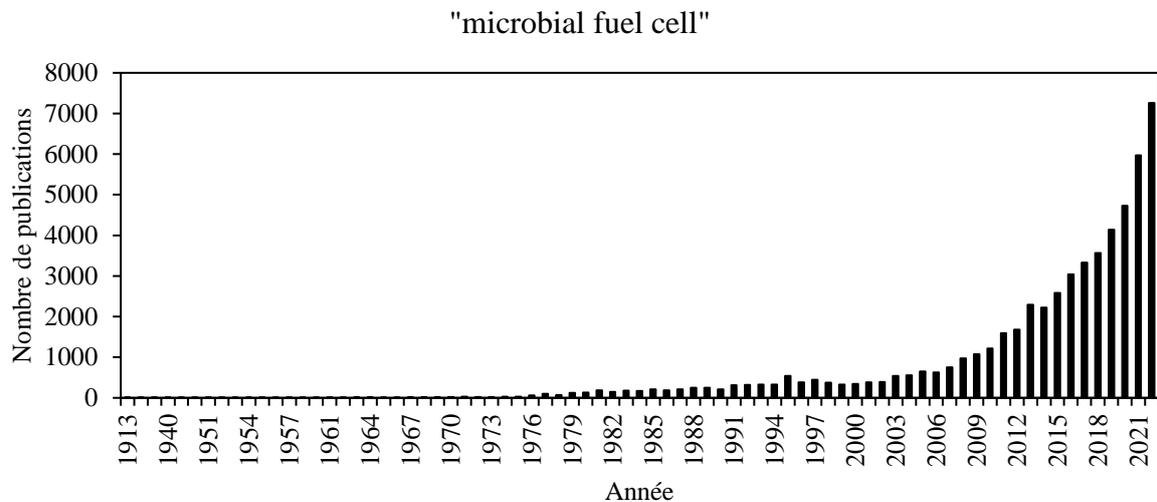
La MFC représente une convergence fascinante de la biotechnologie et de l'énergie verte, exploitant des processus bioélectrochimiques naturels pour la production d'électricité à partir de la dégradation de substrats organiques renouvelables [1]. Les MFC usent du potentiel des micro-organismes dans le rôle de biocatalyseur pour convertir l'énergie chimique stockée dans les matières organiques en une énergie électrique propre et renouvelable.

Plus encore, les MFC possèdent de multiples atouts car elles sont écologiquement responsables et productrices d'énergie par dégradation de déchets organiques. Elles permettent une émission limitée de gaz à effets de serre, une utilisation possible dans des environnements difficiles d'accès pour le traitement des eaux usées, une détection de composés (biocapteur), le suivi de concentration (*biomonitoring*) mais encore le dessalement des eaux ou la production de dihydrogène [2].

I.2. Historique

La première observation de l'activité électrique produite par des micro-organismes a été faite en 1911, avec *Saccharomyces cerevisiae*, sans toutefois en déduire la possibilité de l'exploiter [3]. En 1931, un ensemble de « demie-piles microbiennes ont permis de produire une différence de potentiel de 35 volts avec seulement un courant de 2 milliampères [4]. En 1963, la NASA a évoqué la possibilité de recycler et de convertir des déchets humains en électricité [5]. Lors de cette même année, il a été publié une expérience de production de dihydrogène par fermentation de glucose via *Clostridium butyricum*, mais l'instabilité du gaz produit a suscité de la méfiance [6]. En 1976, cette expérience a été répétée avec une production plus stable de dihydrogène hors MFC, puis dans une MFC en 1977 ([7] ; [8]). En 1983 ont été fait les premiers travaux sur les médiateurs chimiques permettant de faciliter les transferts d'électrons entre le substrat et l'anode ou la cathode et l'accepteur d'électrons, notamment avec la thionine associée aux chélates ferriques dans une MFC à *Escherichia coli* [9]. Des travaux sur les biocapteurs ont réalisés l'année suivante [10]. Des MFC sans médiateur ont été étudiées avec une espèce bactérienne apparentée à *Clostridium butyricum* électroactive et réductrice d'ions Fe^{3+} isolée à partir des espèces présentes dans les eaux usées traitées [11]. Une expérience similaire a été menée l'année suivante avec *Shewanella putrefaciens* [12]. Les facultés de bio-captation de *Gluconobacter oxydans* dans une MFC ont été démontrées la même année [13]. Ces travaux montrent une progression graduelle des micro-organismes utilisés et des applications trouvées. La Fig. 1 illustre l'intérêt croissant de la recherche pour les MFC.

Fig. 1. Nombre de publications disponibles sur la plate-forme ScienceDirect avec les mots clés « microbial fuel cell ».



I.3. Principe de fonctionnement

I.3.1. Composants principaux

I.3.1.1. Substrat

Le substrat, généralement de la matière organique, constitue la matière première utilisée par les micro-organismes pour la production d'électricité. Quand il est consommé, des électrons et des protons en sont extraits et s'acheminent vers la cathode afin de réagir avec l'accepteur d'électrons, en général du dioxygène, lequel sera réduit en eau. Le type de substrat influe sur la quantité d'électricité produite. Ainsi, le choix du substrat selon le micro-organisme employé est un aspect important de la conception d'une MFC efficace.

Beaucoup de composés organiques peuvent être dégradés dans les MFC, parmi lesquels figurent des carbohydrates, des acides gras ou des acides aminés, mais encore des macromolécules qui en sont issues [14]. La biomasse lignocellulosique, en raison de son abondance, suscite un intérêt croissant [15]. Une étude a montré la production d'électricité à partir de 12 monosaccharides dans une MFC, avec des hexoses (D-glucose, D-galactose, D-fructose, L-fucose, L-rhamnose, D-mannose) et des pentoses (D-xylose, D-(-) arabinose ou le D-(-) ribose), avec entre 84% et 95% de substrat consommé pour une densité de puissance surfacique comprise entre 1240 à 2330 mW m⁻² [16]. La même étude a examiné 3 autres substrats, parmi des acides uroniques tel que l'acide D-galacturonique, l'acide D-glucuronique et l'acide D-gluconique, avec respectivement 80%, 89%, 93% de substrat dégradé pour une densité de puissance surfacique de 1480, 2770 et 2050 mW m⁻² [16]. Les polyalcools, tels que les hexitols (galactitol, mannitol, sorbitol) ou les pentitols (arabitol, ribitol, xylitol), ont montré des taux de dégradation situés entre 90% et 92% (71% pour le sorbitol) pour des puissances produites se situant entre 1490 et 2650 mW m⁻² [17]. Du côté des acides aminés, la L-sérine, la L-asparagine, l'acide L-asparatique, l'acide L-glutamique, la DL-alanine, la L-lysine, la L-histidine, ont montré des taux d'élimination entre 91% et 96% pour des puissances échelonnées

entre 556 et 768 mW m⁻² [18]. Le groupe R latéral des acides aminés influence beaucoup les résultats [14]. Des acides organiques (acétique, formique, lactique, succinique) [19] et des bases conjuguées (acétate, butyrate, formate, propionate, lactate) ([20] ; [21] ; [22] ; [23]) ont donné des résultats moins reproductibles, ce qui montre l'influence du substrat [14]. Les alcools comme l'éthanol, le glycérol ou le phénol, mais aussi des composés azotés hétérocycliques comme la pyridine, la quinoléine ou l'indole peuvent aussi être utilisés comme substrats ([24] ; [25] ; [26] ; [27]).

Des molécules plus complexes peuvent servir de substrat. Les antibiotiques sont souvent étudiés dans le cadre des MFC [28]. L'élimination du sulfaméthoxazole ([29] ; [30] ; [31]), de l'oxytétracycline ([32] ; [33]) de la tobramycine [34], de la norfloxacine [35], de la sulfadiazine [36], du sulfate de néomycine [37], de l'ampicilline [38], de la tétracycline ([39]) ou du chloramphénicol ([40] ; [41]) ont fait l'objet de recherche, parfois en mélange ([42] ; [43] ; [44] ; [45] ; [46] ; [47]). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens tels que le diclofénac ([48] ; [49] ; [50]), l'ibuprofène ([51] ; [52]) et les analgésiques tels que l'acétaminophène ([53] ; [54] ; [55]) ont également été testés comme substrats dans des MFC.

Les MFC intégrées dans un système global de traitement peuvent également servir à traiter des eaux contenant des colorants ([55] ; [56]). Le bleu marine remazol a été complètement dégradé en intermédiaires moins toxiques dans une MFC à traitement anaérobie reliée à une chambre de post-traitement aérobie permettant une oxydation totale [57]. Le rouge direct 80 a été dégradé principalement en 4-aminoazobenzène-4'-sulfonate de sodium [56]. L'orange de méthyle a été dégradé dans une MFC à traitement anaérobie reliée à une chambre de post-traitement de type photo-Fenton, permettant une minéralisation totale des intermédiaires de réaction [58]. Le bleu acide 29 a été éliminé à plus de 90% dans une MFC, par un traitement anaérobie donnant des amines aromatiques, suivi par un traitement aérobie pour une minéralisation totale [59]. L'orange acide 7 a fait l'objet de deux études avec une MFC à traitement anaérobie dans une chambre unique [60] ou dans des chambres uniques superposées [61], avec un pourcentage de dégradation final de plus de 80%.

La dégradation de colorants dans des systèmes ne contenant que la MFC est possible [62]. Le bleu marine acide R et l'orange réactif 16 ont été partiellement minéralisés dans une MFC à chambre unique [63]. Le rouge brillant réactif X-3B et l'orange de méthyle ont été partiellement minéralisés dans une MFC de type « *wetland* » (électrodes enterrées, avec des végétaux sur la cathode) ([64] ; [65] ; [66]). Le rouge acide 18 a aussi été complètement minéralisé en MFC ([67] ; [68]). Le rouge Congo et la nouvelle coccine ont été partiellement minéralisés avec une MFC à double-chambre [67]. L'orange II, l'orange de méthyle, l'orange acide 7 et le rouge brillant réactif X-3B ont été entièrement minéralisés dans le même système ([69] ; [70]). Parmi ces colorants, le bleu de méthylène (ou MB pour « Methylene Blue ») a été totalement minéralisé dans une MFC à double-chambre ([62] ; [71]), mais son usage est peu courant en tant que substrat. Le cristal violet (ou VC pour « Violet Crystal »), un colorant de type triphénylméthane, a été peu utilisé dans une MFC [72]. Ces deux colorants nocifs pour la santé et l'environnement sont donc intéressants à étudier comme substrat pour des MFC car leur élimination d'effluents aqueux pourrait être associée à la production d'électricité, exploitable pour d'autres systèmes bioélectrochimiques.

I.3.1.2. Co-substrat

Un co-substrat est une substance complémentaire introduite conjointement avec le substrat principal pour nourrir les micro-organismes qui catalysent la production d'énergie. Ils peuvent être des composés organiques, comme des glucides, des acides aminés ou des acides gras. Ils fournissent des nutriments supplémentaires qui peuvent soutenir leur croissance et leur activité, peuvent augmenter la stabilité du système, aider à équilibrer le rapport carbone/azote, un facteur clé du métabolisme d'un certain nombre de micro-organisme, mais encore permettre d'éliminer un autre produit que le substrat principal. Enfin, l'utilisation d'un co-substrat (par exemple le glucose) permet d'augmenter la puissance produite et sa stabilité.

En effet, le glucose a été utilisé comme co-substrat pour la dégradation du rouge direct 80 et a permis une amélioration de la puissance produite et de la vitesse de dégradation [56]. Les acides acétique, propionique et lactique ont tour à tour été utilisés à titre de comparaison, mais ont permis une performance moindre à concentration égale. Le rouge Congo a servi de substrat, seul ou accompagné de glucose comme source de carbone seul ou avec du nitrate ou de phosphate d'ammonium comme source d'azote [73]. La tension électrique diminue avec la concentration quand le rouge Congo est seul, tandis qu'elle augmente avec le glucose seul. Quand une source d'azote est ajoutée en plus du glucose, la tension électrique diminue. L'acétate de sodium a, quant à lui, été employé comme co-substrat pour l'élimination du 4-chlorophénol. L'activité enzymatique de la succinate déshydrogénase pour le transfert d'électrons extracellulaires a ainsi été ainsi améliorée, avec une puissance produite multipliée par 4,3 et une augmentation du taux d'élimination de 42% à 53% [74].

I.3.1.3. Médiateur de transfert électronique

Le transfert électronique dans une MFC peut se dérouler de façon directe ou indirecte. Le processus direct se fait par une circulation électronique au travers de flagelles, de pili ou d'un biofilm en contact avec l'anode [75] ou des protéines membranaires (cytochromes) ([76] ; [77]). Le transfert indirect se réfère à l'emploi de médiateurs.

Certains micro-organismes sont capables de transférer directement des électrons à l'anode sans l'aide d'un médiateur externe, phénomène qui est connu sous le nom de "transfert direct d'électrons". Cette capacité varie entre les différentes espèces microbiennes et peut être influencée par divers facteurs, tels que le type de substrat et les conditions environnementales. Cependant, dans de nombreux cas, l'utilisation de médiateurs de transfert électronique peut améliorer le rendement énergétique et la stabilité des MFC.

Les médiateurs de transfert électronique, ou redox, jouent un rôle important, bien que pas toujours présents, dans le compartiment anodique des MFC. Leur rôle est de favoriser le transfert d'électrons des micro-organismes vers l'anode. En termes simples, ils agissent comme des "navettes" pour aider à déplacer les électrons, un processus qui est essentiel pour générer de l'électricité dans une MFC, mais aussi accélérer la dégradation du substrat [78]. Ils sont régénérés après chaque transfert électronique.

Il existe une grande variété de médiateurs de transfert électronique, allant des petites molécules organiques, comme les anthraquinones ([79] ; [80]) et les phénazines comme la riboflavine [81], mais aussi la safranine O ou le MB [82], aux grandes molécules complexes

comme les cytochromes [83]. Certains médiateurs sont synthétisés par les micro-organismes eux-mêmes [84], tandis que d'autres peuvent être ajoutés de l'extérieur.

Les médiateurs efficaces permettent un transfert d'électrons rapide et fiable, augmentant ainsi la production d'électricité [85]. Cependant, tous les médiateurs ne se valent pas : certains peuvent être toxiques pour les micro-organismes, ou se dégrader rapidement, ce qui peut affecter la durabilité du système.

Les recherches futures sur les médiateurs de transfert électronique pourraient ouvrir de nouvelles voies pour optimiser les performances des MFC, en explorant de nouveaux médiateurs, en améliorant la compréhension des mécanismes de transfert d'électrons, et en développant des stratégies pour contrôler et manipuler ces processus. Dans un contexte de respect de l'environnement, les recherches s'articulent autour de médiateurs plus « verts ».

I.3.1.4. Accepteur d'électrons

L'accepteur d'électrons est un composant essentiel du compartiment cathodique dans une MFC. Son rôle est de recevoir les électrons qui ont traversé le circuit externe depuis le compartiment anodique, afin que la réaction d'oxydation – réduction soit complète. Ce transfert d'électrons est donc accompagné d'une réaction chimique qui permet de générer une différence de potentiel électrique, et donc de produire de l'électricité.

Dans la plupart des MFC, l'oxygène est le principal accepteur d'électrons utilisé dans le compartiment cathodique, où il réagit avec les protons et les électrons pour former de l'eau, selon la réaction : $O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$. Cette réaction est souvent facilitée par l'utilisation d'un catalyseur, tel que le platine, bien que des recherches soient menées pour trouver des alternatives moins coûteuses et plus durables.

Il convient de noter que l'utilisation de l'oxygène comme accepteur d'électrons présente à la fois des avantages et des défis. D'une part, l'oxygène est abondant dans l'air et permet une réaction d'oxydo-réduction à potentiel élevé, ce qui est bénéfique pour la production d'électricité. D'autre part, l'introduction d'oxygène dans le compartiment cathodique peut causer des problèmes d'oxydation et de corrosion, et peut également inhiber les communautés microbiennes anaérobies dans le compartiment anodique s'il y a des fuites.

Des alternatives à l'oxygène ont été explorées, notamment les nitrates ou les sulfates [86]. L'utilisation de ces accepteurs d'électrons alternatifs peut présenter des avantages pour des applications spécifiques, mais elle nécessite également une compréhension approfondie des processus biochimiques et microbiens impliqués.

En somme, l'accepteur d'électrons joue un rôle central dans le fonctionnement des MFC et représente un domaine de recherche important pour l'optimisation de cette technologie.

I.3.1.5. Mécanismes électrochimiques

Le fonctionnement d'une MFC peut être décomposé en plusieurs étapes :

Étape 1 : Introduction de la matière organique. La matière organique, qui peut provenir de diverses sources (déchets, eaux usées ou polluées...), est introduite dans le compartiment anodique de la MFC. C'est ici que résident les micro-organismes exoélectrogènes, qui sont capables de transférer les électrons hors de leurs cellules.

Étape 2 : Dégradation de la matière organique. Les bactéries ou les champignons exoélectrogènes dégradent la matière organique. Cette dégradation se produit en absence d'oxygène (anaérobie) et entraîne la production de CO₂ et de protons (H⁺) mais surtout d'électrons (e⁻).

Étape 3 : Transfert d'électrons. Les électrons libérés sont transférés à l'anode de la MFC. Le transfert peut être direct, par contact entre les bactéries et l'anode, ou indirect, par l'intermédiaire de composés chimiques appelés "médiateurs redox". Ces électrons créent un flux électrique vers la cathode à travers un circuit externe.

Étape 4 : Migration des protons. Les protons produits pendant la dégradation de la matière organique traversent une membrane échangeuse de protons (ou PEM pour « proton-exchange membrane ») pour atteindre la cathode. Cette migration génère un gradient de concentration qui contribue au potentiel électrochimique de la MFC.

Étape 5 : Réduction à la cathode. À la cathode, les électrons provenant du circuit externe, les protons H⁺ ayant traversé la PEM, et l'oxygène de l'air se combinent pour produire de l'eau ($2\text{H}^+ + \frac{1}{2} \text{O}_2 + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$).

Étape 6 : Génération de courant : Le mouvement des électrons de l'anode à la cathode crée un flux de courant électrique qui peut être utilisé pour alimenter des appareils ou être stocké.

En résumé, les MFC exploitent le métabolisme des bactéries pour convertir la matière organique en électricité. C'est un processus complexe qui combine des réactions chimiques, biochimiques et électrochimiques. Ces systèmes présentent un grand potentiel pour le traitement des eaux usées, la production d'énergie renouvelable et même pour des applications spatiales.

I.4. Types de MFC

I.4.1. Classification selon la configuration

I.4.1.1. MFC seule

I.4.1.1.1. MFC à chambre unique

La configuration à chambre unique est la plus simple [87]. L'anode et la cathode se trouvent dans la même chambre et peuvent être séparées par une PEM. La cathode est directement exposée à l'air, donc l'oxygène sert d'accepteur d'électrons. Sa performance est améliorée en augmentant sa porosité, et donc sa surface d'échange. L'absence de catholyte et de système de bullage permet alors de réduire de coût de la MFC ([88] ; [89]). Ce système a déjà été utilisé avec du glucose [90], différentes compositions d'eaux usées [91] ou des colorants, comme substrats [92]. Toutefois, il rencontre des limitations quant à des applications à haute production de courant, dans la mesure où il faut une séparation entre les électrodes [93]. Il est possible de limiter le volume de travail pour pallier à ce problème, mais cela rend plus compliquée la montée en échelle. Des travaux d'amélioration ont porté sur le design de l'anode [94], le design de la MFC [95], le remplacement de la PEM par une membrane de microfiltration [96], ou par des séparateurs non-tissés ([97] ; [98]).

I.4.1.1.2. MFC à chambre double

Cette configuration est la plus décrite dans la littérature [99], en raison de son applicabilité pour le traitement des eaux et la production d'énergie. Elle se caractérise par la présence d'une PEM, le plus souvent de type Nafion™ ou Ultrex, qui la sépare en deux parties distinctes ([100] ; [101]). Elle se compose d'un compartiment anodique avec l'anode contenant le micro-organisme seul ou en consortium, d'un compartiment cathodique avec la cathode ainsi qu'un circuit électrique extérieur. L'avantage principal de cette configuration est le maintien de la séparation entre l'anolyte et la catholyte, empêchant les produits de réaction d'une électrode de s'acheminer vers l'autre électrode. Toutefois, l'usage de la MFC à chambre double est limité à l'échelle du laboratoire [102], en raison des coûts liés à la PEM, au matériel d'aération de la cathode et de la catholyte. Des parades ont été trouvées, notamment au niveau du design de la MFC ([89] ; [103] ; [101]).

I.4.1.1.3. MFC « cylindrique » ou « tubulaire »

Ce système est utilisé en particulier si l'objectif du traitement des eaux est prioritaire par rapport à celui de la production d'électricité. Il facilite le travail en flux continu, mais aussi la montée en échelle car il permet de monter les MFC en série, améliorant l'efficacité ([103] ; [104]). L'effluent aqueux ainsi traité peut repasser plusieurs fois dans la MFC. Cette configuration a montré ses atouts au travers de diverses expériences, par exemple en diminuant la DCO d'un effluent aqueux de 35% à 58% [104], voire jusqu'à 75% avec une puissance produite de 44,1 mW m⁻² [105]. Le parcours ascendant de l'effluent dans le système, de son introduction jusqu'à son évacuation, fait que l'on appelle parfois ces MFC « upflow MFC », pour « MFC à flux ascendant ».

I.4.1.1.4. MFC « rectangulaire »

Il s'agit de la configuration la plus courante à deux compartiments ([106] ; [107]). Les électrodes sont plates et rectangulaires et séparées par une PEM. Un système d'arrivée et de sortie de liquide permet un fonctionnement à flux continu [103]. Cette configuration a pour avantage d'être facile à monter, car on utilise le poly(méthacrylate de méthyle) qui est facilement usinable pour réaliser la cellule de la MFC ([108] ; [109]). En revanche, la difficulté pour agiter et la grande résistance interne de la PEM peuvent poser soucis ([110] ; [111]).

I.4.1.1.5. MFC « plate »

Dans une MFC « plate », la PEM est directement intercalée entre les deux électrodes, formant ainsi un ensemble compact ([103] ; [112]). La conductivité est améliorée par la proximité entre les électrodes, favorisant le transfert des électrons et diminuant la résistance interne [103]. Cela permet une miniaturisation du système [113]. Un système d'arrivée et de sortie de liquide permet un fonctionnement à flux continu [103]. Cependant, la déformation de la PEM lors de l'usage peut provoquer une usure prématurée, ce qui peut limiter son utilisation.

I.4.1.1.6. MFC miniaturisée

La miniaturisation est un objectif dans beaucoup de technologie, permettant un transport et une incorporation plus facile dans des systèmes plus globaux. Ces MFC concernent des exemplaires de volume de l'ordre du mL voire du μ L [101]. Elles ont ainsi besoin de moins de

volume d'anolyte, et donc de substrat afin de produire le courant électrique. Les électrodes nécessaires sont aussi plus petites, permettant une économie de coût, et un rapport bénéfices sur investissements plus favorable [114]. Ici, le paramètre clé est le ratio entre la surface d'électrode et le volume du compartiment anodique, car il rend compte du rendement électrique pour une quantité donnée de substrat dégradé. À titre d'exemple, la surface des électrodes peut aller de 36 à 610 cm² pour un volume de compartiment anodique de 1,2 cm³ ([114] ; [115]). Les MFC miniaturisées peuvent servir dans le milieu médical et fournir un courant à partir de substrats présents dans la salive humaine, ouvrant la voie vers une application de type biocapteur [114]. Un système d'arrivée et de sortie de liquide permet un fonctionnement à flux continu [103].

I.4.1.2. MFC multiples

Il s'agit d'un système où les MFC sont connectées en série ou bien en parallèle [89]. Comme avec les piles classiques, cela permet d'augmenter la puissance produite. Les résultats sont assez prometteurs avec par exemple une réduction de la DCO de 97% pour une puissance produite de 50.9 W m⁻³ [116]. Cependant, il nécessite davantage de matériel, augmentant ainsi le coût du montage et du fonctionnement [117]. De plus, les résistances individuelles des éléments de connexion s'additionnent et peuvent occasionner une résistance du système importante. Enfin, il y a un risque d'inversion de polarité, ce qui peut encore faire augmenter la résistance [118]. Néanmoins, des études récentes ont cherché à optimiser la façon dont les MFC sont assemblées pour limiter le coût et la résistance globale, encourageant leur utilisation pour une montée en échelle ([119] ; [120]). Des configurations plus particulières peuvent être montées, comme des MFC en forme de boîte plate, avec des électrodes arrangées de manière à ce que l'effluent adopte un parcours en slalom, prolongeant ainsi son contact avec le biofilm des électrodes [121]. Des configurations bipolaires existent également, avec deux MFC à double compartiment côte à côte, anode contre cathode [122], mais aussi des MFC à triple compartiment, avec une cathode dans un compartiment central, entre deux PEM, la séparant de deux anodes disposées dans deux compartiments [110].

I.4.1.3. MFC intégrée dans un système de traitement

I.4.1.3.1. MFC associée à un bioréacteur à membrane (MBR)

Cette configuration associe l'usage d'une MFC à un MBR. Le MBR permet une filtration en amont de la MFC et une diminution de la turbidité de l'eau, facilitant son traitement. Un traitement par MBR + MFC diminue la production de boue post-traitement ([123] ; [124]). Cependant, l'emploi d'une membrane implique la formation indésirable de biofilm à sa surface (*biofouling*). Quelques travaux ont porté sur cette configuration, par exemple pour l'élimination d'azote organique [125] ou simplement sur la diminution de la DCO d'eaux traitées ([126] ; [127]).

I.4.1.3.2. MFC associée à un bioréacteur à membrane et à un lit fluidisé anaérobie

Un réacteur à lit fluidisé (ou MBBR pour « *Moving Bed BioReactor* ») anaérobie est un système de traitement des eaux usées où des micro-organismes anaérobies décomposent les matières organiques en l'absence d'oxygène, tout en étant contenus dans un lit de particules en

suspension grâce au flux montant des eaux usées. Dans ce système, l'effluent est d'abord traité dans une ou plusieurs MFC [128], puis parcourt un tube contenant un ou plusieurs MBR [129]. L'effluent peut parcourir le tube à plusieurs reprises avant de traverser les membranes. Il parcourt enfin le MBBR qui contient parfois des particules de charbon activées, afin de limiter le *biofouling* des membranes par abrasion [130].

I.4.1.3.3. MFC associée à une cellule à électrolyse microbienne

Il s'agit de l'assemblage d'une MFC avec une cellule à électrolyse microbienne (ou MEC pour « Microbial Electrolysis Cell »). La puissance électrique produite dans la MFC est transférée à la MEC, permettant la dégradation d'un autre substrat auprès de l'anode et la réduction des protons auprès de la cathode, ce qui produit du dihydrogène alors utilisable dans des piles à combustibles classiques [131] ou bien combinable avec le diazote de l'air pour produire de l'ammoniac. Une variante proche, la cellule à électrolyse à ammoniac, est utilisable en tandem avec une MFC, produisant de l'énergie électrique par dégradation du glucose et d'ammonium, pour produire à son tour du dihydrogène [132].

I.4.1.3.4. MFC associé à un biocapteur (*biosenseur*)

Des assemblages combinant les technologies de MFC et de *biosenseur* ont été mis au point pour pouvoir surveiller la quantité d'une ou plusieurs substances dans un effluent. Dans ce type d'assemblage, le *biosenseur* recueille la tension de sortie provenant de la MFC, et en déduit la concentration d'une substance spécifique. Le signal de sortie des MFC est directement lié au transfert d'électrons. Le transfert d'électrons dépend du comportement du biofilm sur l'anode, qui est susceptible de varier en fonction des concentrations des espèces présentes dans le milieu. Les substances qui ont été détectées par une MFC reliée à un *biosenseur* sont par exemples le para-nitrophénol [133], le cadmium [134], le chrome, la benzoylecgonine (un métabolite de la cocaïne) [135], et des acides gras volatils. La demande biochimique en oxygène (DBO) peut être surveillée [136]. La combinaison d'un *biosenseur* avec une MFC peut être adaptée à chaque composé recherché. Les MFC ont souvent une petite capacité (en dessous de 25 mL), permettant une miniaturisation. On estime qu'il reste encore un vaste champ pour le développement de ce couplage, en particulier avec le développement de prototypes à plus grande échelle.

I.4.1.3.5. MFC benthique

La MFC benthique [137] est une configuration principalement rencontrée dans les applications marines (biotechnologies bleue). Les MFC benthiques fonctionnent dans le fond d'une étendue d'eau, en dessous des sédiments d'un lit de rivière, par exemple. La cathode est immergée dans l'eau de mer et l'anode est introduite dans le lit de surface des sédiments dans des conditions anaérobies. Les milieux benthiques peuvent être reproduits en laboratoire, hors milieu naturel [138]. Cette technologie peut être utilisée pour fournir de l'énergie à des petits appareils comme des biocapteurs dans des milieux isolés ou dangereux [139]. Néanmoins, leur coût important et le faible rendement des électrodes limitent leur utilisation [99].

I.4.1.3.6. MFC montée en zone humide ou « *Constructed wetland MFC* »

Ces MFC ont une configuration proche des MFC benthiques. L'anode est enfouie dans un sol composé de terre et de granules (caillou ou charbon) en présence de racines exsudant des composés organiques et des micro-organismes qui les dégradent, tandis que la cathode affleure au sol, en contact avec le dioxygène de l'air. Des plantes aquatiques ou terrestres comme *Phragmites australis* ont des racines qui peuvent se développer à proximité de la cathode lorsqu'il y a une production d'eau [140]. Ce système, pouvant être reproduit en laboratoire, combine des processus physiques, chimiques et biologiques pour traiter des eaux usées. Il assure la fonction d'une MFC classique, mais en plus, augmente la surface accessible aux micro-organismes, et offre un support pour la filtration physique ([141] ; [142] ; [143]). Cependant, la transformation du paysage, les contraintes géographiques et la grande séparation entre les électrodes imposent des recherches supplémentaires [144]. On peut les nommer aussi « MFC à plante », puisqu'elle fonctionne avec des plantes (terrestres) à la cathode.

I.4.2. Classification selon l'électrolyte

I.4.2.1. Eaux usées

I.4.2.1.1. Rejets municipaux

Ces eaux usées proviennent de rejets domestiques, collectées par les systèmes d'égouts des villes puis traitées par des stations d'épuration. Ces eaux contiennent des composés organiques et inorganiques dissous et en suspension. Les substances organiques incluent des carbohydrates, des lignines, des lipides, des savons, des tensioactifs, des protéines, des médicaments ou des produits de dégradation. Les substances inorganiques incluent des métaux lourds. Elles peuvent être utilisées pour les expériences de MFC, mais la puissance produite est sujette à des variations, surtout en cas de hausse de DCO [145]. Deux MFC montées en série ont permis de réduire de 33 à 69% la DCO selon la configuration choisie [145]. D'autres recherches ont montré des résultats encourageants [146], avec des performances améliorées lors de la montée en échelle. Une MFC d'un volume de 200 L a été montée pour traiter pendant 300 jours des eaux municipales et a éliminé 75% de la DCO, 90% des solides en suspension et 68% de l'azote ammoniacal avec une puissance générée de 200 mW, mais une accumulation de phosphore et de nitrate a montré la nécessité de recherches supplémentaires [147]. Une MFC de 1000 L a éliminé entre 70 et 90% de la DCO pendant une durée comprise entre 200 jours et un an, permettant d'avoir des eaux répondant aux réglementations locales, avec une production de courant accompagnée d'une puissance de 125 W m⁻³ [148].

I.4.2.1.2. Rejets industriels

Ces rejets contiennent une grande variété de nutriments possibles pour les micro-organismes selon l'industrie d'où ils proviennent [87]. Les eaux usées des industries agro-alimentaires ont une DBO importante et n'ont pas de composés toxiques. Elles sont donc de bonnes candidates pour un traitement par MFC comme les eaux de brasseries qui contiennent beaucoup de sucres et de protéines [149]. Les eaux de distilleries peuvent contenir des sels et sont donc plus à risque de porter atteinte aux micro-organismes [150]. Une MFC à chambre unique a été utilisée pour traiter des eaux de tannerie sous des conditions anaérobies et à 37 °C. La DCO a été diminuée de 88%, tandis que la quantité d'azote total et la quantité d'ammonium

ont été réduits de 50% et de 35% respectivement [151]. Une MFC a permis de traiter des eaux caustiques venant d'usines pétrochimiques, avec une étude axée sur le temps de rétention hydraulique (ou HRT pour hydraulic retention time). Le meilleur HRT était de 9 jours et permettait une élimination de 98% de la DCO et de 99% des sulfures, avec une différence de potentiel de 82,1 mV [152]. Des eaux usées provenant d'industries du bois et de rejets domestiques ont été mélangées pour faire fonctionner une MFC à chambre unique pendant un mois avec différentes valeurs de résistance externe imposée. L'élimination de la DCO était la plus rapide à 1000 ohm et a atteint une valeur de plus de 90% au bout de 22 jours [153]. L'utilisation d'eaux de différentes origines permet d'obtenir une plus grande variété de nutriments [154]. Des eaux d'irrigation d'industries fruitières ont pu également être traitées, permettant leur réutilisation [97]. Des antibiotiques provenant d'industries porcines, présents dans les eaux, tel que la norfloxacine [35], la sulfonamide [42] ou des mélanges [46] ont été dégradés dans une MFC. Ces eaux font souvent l'objet de recherche pour diminuer leur DCO et permettre une agriculture plus respectueuse de l'environnement [155]. Des eaux de raffineries [156], de vignobles [157], de broyage d'aliments [158], d'industries de fruits de mer ([159] ; [160]) et laitières [161], de coton [162] ou de rouissage [163], ont ainsi été traitées montrant la multiplicité des applications possibles pour le traitement des eaux.

I.4.2.2. Lixiviats

Une MFC à double compartiment a été employée pour traiter des lixiviats d'industries fruitières fixés sur l'anode. Les bactéries contenues dans le lixiviat préalablement fermenté, ont permis sa dégradation, produisant une puissance électrique culminant à 20 mW m⁻² [164]. Des eaux industrielles issues de laitiers ont été traitées dans des MFC, avec une puissance produite de 27 W m⁻³ [165]. Un système de type MBBR a été associé à une MFC pour le traitement de pulpes et d'eaux provenant d'industries papetières. Après 72 h d'opération, une puissance de 56 mW m⁻² a été atteinte et l'ajout de céramsite a permis de l'augmenter jusqu'à 94 mW m⁻² [128]. Une MFC à double compartiment à biocathode à algues a permis la réduction de 97% de la DCO côté anode et de 52% côté cathode, à partir d'un effluent contenant un lixiviat issu de déchets verts [166]. D'autres exemples ont été publiés, montrant la multiplicité des applications des MFC avec des résidus de biomasse ([167] ; [168]). Les déchets verts peuvent également être hydrolysés, puis servir dans une MEC pour de la biosynthèse de molécules ou de biogaz [169].

I.4.2.3. Eaux synthétiques

Ce sont des milieux aqueux formulés en laboratoire, avec une quantité choisie de nutriments. Elles permettent de fixer les conditions (nature des produits présents, salinité, pH, teneur en azote et en phosphore) afin d'examiner plus en détail l'activité d'un ou plusieurs micro-organismes dans des conditions fixées. Cela peut être également une eau usée artificielle [104]. Ce type de milieu a été utilisé pour des expériences utilisant des MFC couplées à des MBR, afin de diminuer la DCO et les quantités totales d'azote et de phosphore ([170] ; [171] ; [127]) ou bien dans des MFC seules ([172] ; [173] ; [174]). Ce type de milieu peut être intéressant à utiliser pour évaluer les performances dans une MFC, d'un micro-organisme envers un ou plusieurs substrats donnés.

I.4.3. Classification selon les électrodes

Les électrodes sont des composants indispensables au fonctionnement d'une MFC sans lesquelles aucune réaction n'aurait lieu. Elles peuvent être de différentes formes selon l'application que l'on veut mettre en œuvre, les propriétés que l'on recherche ou les résultats que l'on veut obtenir. L'anode et la cathode ne sont pas toujours de la même forme.

Les électrodes en tige d'acier inoxydable sont les plus simples à obtenir et à utiliser. Elles ont un coût limité et une conductivité satisfaisante. Leurs défauts résident dans leur faible surface, limitant physiquement la quantité de biofilm qu'elles peuvent accueillir, mais aussi une biocompatibilité limitée et des problèmes de corrosion [175].

L'emploi d'une électrode en tige de graphite permet d'éviter ces problèmes, sauf la surface qui reste limitée [176]. Elles peuvent également exister sous forme de fibres de graphite (brosses) [177], offrant ainsi une surface satisfaisante, une fabrication facile, mais parfois sujettes au colmatage [178]. Les tissus de carbone sont moins concernés par ce phénomène. Ils possèdent une grande surface spécifique du fait d'une plus forte porosité facilitant le développement d'un biofilm, ce qui encourage leur utilisation hormis un coût parfois plus important [179]. Les feutres de carbone possèdent une surface plus importante bien qu'elles possèdent une résistance interne qui peut limiter leur usage de même que des difficultés de façonnage et de connexion au système [12]. Le papier de carbone est une option facile à employer, mais sa fragilité peut poser des soucis [24]. Des électrodes plus élaborées, telles que le carbone vitreux réticulé, sont le meilleur choix pour obtenir une forte conductivité, malgré leur fragilité [104]. Les nanotubes de carbone représentent la technologie la plus évoluée, en offrant une activité électrochimique excellente, mais à un prix élevé [101].

I.4.3.1. Les anodes et bioanodes

L'anode est une composante essentielle, car elle supporte le biofilm formé par les micro-organismes, et c'est auprès d'elle que se déroule l'oxydation [103]. Son efficacité en tant que telle est un facteur crucial pour la performance de la MFC, en permettant la conversion de l'énergie chimique en énergie électrique.

Son efficacité est intimement liée à ses propriétés. Sa conductivité et sa faible résistance doivent favoriser au mieux le transport des électrons libérés par l'oxydation microbienne [180]. De plus, l'anode doit fournir une surface propice à la croissance microbienne, car la capacité des micro-organismes à former des biofilms sur la surface de l'anode peut influencer considérablement la production d'électricité, notamment au niveau de la connexion biofilm – anode [180].

Ces deux propriétés sont généralement satisfaites par l'utilisation de matériaux comme le carbone, qui est un bon conducteur avec une surface propice à la formation de biofilms. Cependant, les recherches visent à améliorer la conception de l'anode par le biais de modifications de surface, de matériaux composites et de nanomatériaux (nanotubes).

Le troisième paramètre influencé par la nature de l'anode est la diversité des communautés microbiennes exoelectrogènes utilisables ainsi que leur rendement de conversion énergétique. Certaines espèces sont plus aptes à se développer sur certaines surfaces d'anode, ce qui peut entraîner une sélection naturelle de bactéries particulièrement performantes [181].

De nombreuses expériences utilisent d'abord un consortium d'espèces, ou biofilm mixte, dans des eaux usées ou des boues, puis les espèces qui se sont le mieux adaptées au milieu et qui sont donc devenues dominantes [182]. De plus, l'utilisation d'un consortium d'espèces peut favoriser l'établissement de synergies entre espèces, pour la dégradation de composés organiques complexes ou l'échange de métabolites [54]. Il est donc crucial de comprendre les interactions entre les micro-organismes et les surfaces des anodes pour améliorer la conception des MFC.

Enfin, l'anode joue un rôle fondamental dans la durabilité de la MFC. Une anode résistante à la corrosion et à différents agents chimiques prolonge la durée de vie de la MFC, réduisant ainsi le coût du système [183]. Ainsi, l'étude des anodes de MFC est un domaine de recherche à multiples facettes, alliant microbiologie, électrochimie, science des matériaux et ingénierie environnementale [182].

I.4.3.2. Les cathodes et biocathodes

Tout comme l'anode, la cathode est un élément indispensable des MFC. Elle est le site de la réduction terminale d'un accepteur d'électrons, généralement l'oxygène, qui permet la production d'électricité dans la MFC, complétant ainsi la réaction d'oxydo-réduction.

La réduction de l'oxygène est une réaction complexe qui nécessite une catalyse pour se produire à un taux efficace. Contrairement à l'anode où la catalyse est fournie par les bactéries, la cathode nécessite souvent l'utilisation de catalyseurs inorganiques, comme le platine ([155] ; [184]) ou l'or [185], pour faciliter la réaction de réduction [186]. Cependant, l'utilisation de tels matériaux peut être coûteuse et non durable, ce qui a motivé la recherche de catalyseurs alternatifs comme un alliage cuivre – zinc [187], des particules de magnétite recouvertes d'une double couche d'hydroxyde associée à du nickel et du fer [188], de l'oxyde de graphène associé à des nanoparticules d'oxyde de cuivre [189], des matériaux carbonés dopés aux hétéroatomes, de carbures, des oxydes et des nitrures de métaux non nobles, des composites organiques dopés aux métaux comme le cobalt, le manganèse ou le cuivre [190] ou de nanocomposites ([191] ; [192]).

Une approche prometteuse pour améliorer l'efficacité de la cathode est l'utilisation de cathodes biocatalytiques ou "biocathodes", où des micro-organismes sont utilisés comme catalyseurs pour la réduction de l'oxygène [193]. Cette stratégie présente l'avantage d'être plus durable et potentiellement moins coûteuse que l'utilisation de métaux précieux. Elle peut être adaptée pour des applications en milieu hypersalin [194]. Xu *et al* ont quant à eux modifié une cathode de façon à apporter des propriétés photocatalytiques pour la dégradation de l'ibuprofène dans une MFC [51]. Un autre exemple est une cathode de type feutre de carbone électrochimiquement modifiée par électrodéposition de poly-Ni(II) phtalocyanine tétrasulfoné, dans une MFC à champignon [5] utilisant des substrats à base de matériaux lignocellulosiques.

Les cathodes sont aussi utiles pour la réduction d'ions métalliques présents dans les eaux, comme le chrome ([195] ; [196] ; [197]), le vanadium ([198] ; [199]), le cuivre [200], l'argent [201], l'or [202] mais encore le plomb, le cadmium ou le zinc [203].

En outre, la conception de la cathode doit également tenir compte de facteurs tels que la conductivité, la surface disponible pour la réaction de réduction, et la résistance à la corrosion. La morphologie et la microstructure de la cathode peuvent avoir un impact significatif sur la performance de la MFC, en influençant la disponibilité des sites de réaction et la diffusion des réactifs et des produits.

Comme pour l'anode, la composition de la cathode peut influencer le développement des communautés microbiennes, surtout dans le cas des biocathodes. Les études sur l'influence de la cathode sur les interactions microbiennes permettent d'améliorer les performances des MFC.

I.4.4. Classification selon le micro-organisme

I.4.4.1. Rôle du micro-organisme

Au cœur de la MFC se trouvent les micro-organismes, sous forme de biofilm, qui rendent possible ou catalysent les réactions d'oxydo-réduction, convertissant ainsi l'énergie chimique en énergie électrique. Les micro-organismes tiennent plusieurs rôles dans la MFC : ils agissent en tant que biocatalyseurs à l'anode, où ils oxydent la matière organique, et potentiellement à la cathode, où ils peuvent faciliter la réduction du dioxygène ou d'ions métalliques.

Les micro-organismes doivent être exoelectrogènes, c'est-à-dire être capables de transférer les électrons qu'ils produisent à l'anode de la MFC, condition essentielle pour le fonctionnement de la MFC. Un exemple bien connu est le genre *Geobacter*, qui a démontré une capacité notable à former des biofilms conducteurs sur l'anode, facilitant ainsi le transfert d'électrons.

La diversité microbienne au sein de la MFC peut avoir un impact significatif sur la performance de la MFC. Les différentes espèces peuvent coopérer pour dégrader une gamme plus large de substrats, augmenter la stabilité de la communauté face aux perturbations, et améliorer le transfert d'électrons à travers des interactions entre espèces.

Par ailleurs, les conditions environnementales dans la MFC, telles que le *pH*, la température et la composition du substrat, peuvent influencer la diversité et le rendement des micro-organismes exoelectrogènes. L'optimisation de ces conditions est donc un aspect clé pour maximiser la production d'électricité.

En résumé, les micro-organismes sont les véritables "moteurs" des MFC, rendant possible la conversion de l'énergie chimique en électricité. Il s'agit de l'élément distinctif entre la MFC et une pile à combustible classique. L'étude de ces micro-organismes, de leur diversité, de leur physiologie et de leur écologie, ainsi que l'optimisation de leurs conditions de croissance et de performance sont des sujets de recherche couramment explorés pour améliorer les MFC et les rendre plus efficaces et durables.

I.4.4.2. MFC à bactéries

Les bactéries sont les micro-organismes les plus utilisées dans les MFC. *Pseudomonas aeruginosa* présente un intérêt notable en raison de ses facultés à supporter des conditions aérobies, anaérobies et pauvres en nutriment. Son activité exoelectrogène provient de la synthèse

de phénazines qui sont des médiateurs électroniques [204]. Par exemple, *P. aeruginosa* a servi à la récupération d'argent dans une MFC [201] ou à la dégradation d'un colorant azoïque, l'orange de méthyle [205]. L'association de *Pseudomonas stutzeri* avec des bactéries du genre *Micrococcus*, a également fait l'objet de recherche dans une MFC [173]. Le genre *Geobacter spp.* Peut aussi oxyder des composés organiques et des métaux [206], ce qui motive l'utilisation de *Geobacter metallireducens* ou de *Geobacter sulfurreducens* dans les MFC avec le fer comme accepteur d'électrons ([207] ; [179]). *Shewanella spp.* qui est une famille de bacilles à gram négatif possédant une oxydase et d'une thiosulfate réductase [208], a été utilisée dans une MFC couplée à un bioréacteur à membrane (ou MBR pour « Membrane BioReactor ») pour éliminer la DCO, l'azote et le phosphore [170]. *Clostridium* est un genre de bacille à gram positif anaérobie, incluant *Clostridium tetani* et *Clostridium botulinum*, responsables respectivement du tétanos et du botulisme. Un représentant moins connu mais ubiquitaire, *Clostridium butyricum*, a été associé à *Shewanella oneidensis* pour traiter des eaux domestiques dans une MFC [172]. Les genres *Clostridium*, *Shewanella* et *Geobacter* ont déjà été associés dans une MFC pour traiter des eaux issues de brasserie [209]. *S. oneidensis*, *S. putrefaciens*, *G. sulfurreducens*, *G. metallireducens*, et *Rhodospirillum rubrum* ont quant à elles été associées sous forme de consortium bactérien pour le traitement de lixiviats de déchets verts [210]. Des représentants des groupes *Pseudomonadota* et *Bacteroidota* ont été associés au genre *Geobacter* pour traiter des eaux de bioraffineries [211]. Le genre *Thiobacillus* correspond à des petits bacilles de gram négatif sulfo-oxydants, pouvant transformer le sulfure d'hydrogène et le soufre élémentaire en ions sulfates. La famille *Desulfobacteraceae* correspond à des bactéries qui peuvent réduire des sulfates en sulfures. Des représentants de ces deux groupes de bactéries ont permis le traitement d'eaux riches en sulfates dans des MFC à flux continu [174]. Des cultures mixtes présentes dans des boues anaérobies ont permis d'éliminer une variété étendue de composés, dont des colorants azoïques comme le rouge brillant réactif X-3B [65].

Les bactéries exoélectrogènes sont souvent utilisées dans les MFC. Cependant, elles peuvent être sensibles à certains milieux défavorables et elles possèdent rarement les enzymes permettant de dégrader les composés aromatiques, ce qui limite leur efficacité ([5] ; [54]). Il est donc nécessaire d'envisager d'autres types de micro-organismes pour la biodégradation. Les champignons et les levures offrent une alternative intéressante. En tant que micro-organismes eucaryotes, ils utilisent des voies métaboliques plus variées, permettant de dégrader des substances que les bactéries ne peuvent pas traiter. Ainsi, ils pourraient être utiles dans les MFC.

I.4.4.3. MFC à champignons

Le traitement des effluents par les MFC à bactéries a montré des limites [212], en particulier en présence d'ibuprofène, de diclofénac, de paracétamol ou de carbamazépine [213] du fait des sous-produits de dégradation, souvent CMR. L'utilisation de champignons peut constituer une alternative intéressante. Les champignons, notamment les champignons filamenteux, ont démontré une capacité à dégrader une gamme plus large de substrats que de nombreux types de bactéries, y compris des polluants complexes et persistants.

Les champignons possèdent des enzymes redox comme la laccase dont ils sont les principaux producteurs [214], la lignine peroxydase et la manganèse peroxydase. Cela leur confère la capacité à s'attaquer aux composés polyphénoliques, comme la lignine des arbres,

ou aux colorants aromatiques mais encore aux amines aromatiques qui sont souvent les derniers métabolites issus des autres micro-organismes [215]. La laccase permet aux champignons de dégrader certains colorants [216]. La laccase peut aussi être fixée sur la cathode et ainsi remplacer les métaux nobles comme catalyseur de la réduction du dioxygène ([217] ; [218]), en raison de ses fortes propriétés redox [219]. Certains travaux ont porté sur l'amélioration de l'activité de la laccase par ajout d'ions cuivre à des fins d'élimination de composés, dont des colorants azoïques dans des MFC [220].

Des MFC avec de la laccase extraite de champignons ont été mises au point, soit avec une anode faite de laccase mélangée à des nanotubes de carbone en multi-feuillet (SWCNT) [221], soit avec une cathode composée de laccase et de SWCNT [222]. L'utilisation d'une enzyme dans une MFC est relativement simple à mettre en œuvre, à la fois pour la dégradation du substrat à l'anode et la réduction du dioxygène à la cathode. L'utilisation d'un champignon isolé en laboratoire et placé sur une électrode dans une MFC est un procédé qui permet d'utiliser plusieurs enzymes simultanément. Cela permet par exemple la dégradation de l'orange azoïque 7, mais le mycélium peut gêner si on veut s'en servir pour la réduction du dioxygène sur la cathode [223].

Dans une MFC, les champignons présentent donc des avantages devant les bactéries et ils peuvent jouer un double rôle. En effet, ils peuvent faciliter le transfert électronique au travers de leurs protéines respiratoires ou de médiateurs électroniques à l'anode, leur permettant d'oxyder des composés. Ils peuvent aussi faciliter la réduction de l'accepteur d'électrons à la cathode, souvent l'oxygène. Leur mécanisme de fonctionnement n'est pas encore entièrement élucidé, bien qu'il ait été découvert que du transfert direct d'électrons peut se faire avec l'action de leur cytochrome C, une coenzyme intermédiaire de leur chaîne respiratoire fonctionnant notamment avec le fer et le cuivre ([224] ; [225]). D'autres enzymes comme la ferricyanure réductase ou la lactate déshydrogénase semblent confirmer cette capacité pour les champignons filamenteux [226], et les non filamenteux ([227] ; [180]). Parmi eux, les champignons à pourriture blanche « *white-rot fungi* » sont bien connus pour leur capacité à dégrader des produits pharmaceutiques [228] ou la lignine [229], mais aussi des colorants [230].

L'utilisation de champignons éveille un intérêt croissant dans les recherches concernant les MFC [231]. Les champignons filamenteux présentent également l'avantage d'une résistance accrue aux environnements hostiles par rapport aux bactéries, ce qui pourrait étendre la gamme d'applications des MFC. Cependant, le développement de MFC à champignons pose également des défis, tels que l'optimisation du transfert d'électrons et la gestion de la croissance du mycélium.

Différentes espèces de champignons ont été employées dans les MFC. *Scedosporium deoogii* a été utilisé comme bioanode après un dépôt à potentiel constant d'une suspension sur l'anode, pour la dégradation de l'acétaminophène. La puissance produite était stable avec 50 mW m⁻² et une différence de potentiel de 550 mV. De plus, *S. dehogii* a montré la capacité de dégrader le para-aminophénol ou l'hydroquinone, des produits de dégradation CMR obtenus avec des bactéries, évoquant la possibilité d'une minéralisation totale finale. La lignine a aussi été testée comme substrat permettant une puissance de 16 mW m⁻² [5].

Des colorants ont pu être éliminés en utilisant des MFC à champignons. Le bleu brillant remazol R a été éliminé à environ 90% d'un effluent aqueux par *Pleurotus ostreatus* au bout de 4 jours, avec une réintroduction de colorant le 5^{ème}, le 9^{ème}, le 13^{ème} et le 17^{ème} jour, avec une décoloration atteignant entre 80% et 90% à la fin de chaque cycle et 60% à la fin du dernier. L'activité de la laccase a culminé au 10^{ème} jour, avant de diminuer, expliquant la vitesse de décoloration plus faible à la fin du dernier cycle [232].

Aspergillus sp., *Penicillium sp.*, *Rhizopus sp.*, trois champignons filamenteux, ont servi séparément pour l'élaboration d'une biocathode pour la réduction du dioxygène dans une MFC. Les densités de puissances maximales obtenues, respectivement de 328, 289, 198 mW m⁻³ [233] se sont avérées supérieures à celle observée en présence de laccase pure extraite de *Trametes versicolor*, ce qui montre la nécessité d'avoir toutes les enzymes présentes dans les champignons. *T. versicolor* a lui-même été employé comme biocathode dans une MFC [234]. *Aspergillus niger* et *Trichoderma harzianum* ont fait l'objet d'une expérience en tant que bioanode dans une MFC pour évaluer leur capacité à dégrader le rouge acide 399, le jaune acide 235, le jaune acide 218, le bleu acide 296 et le noir acide 172 [235]. *A. niger* a permis d'éliminer entre 70 et 90% de chaque colorant tandis que *T. harzianum* a éliminé 90% du noir acide 172 et entre 30 et 40% des autres colorants. Deux co-substrats ont permis d'augmenter l'élimination du noir acide 172, jusqu'à plus de 90% avec un meilleur effet pour le glucose que pour le sucrose [235]. *T. harzianum* montre donc une bonne capacité d'élimination de certains colorants dans une MFC, en particulier avec l'emploi de glucose comme co-substrat.

La capacité de *T. harzianum* pour dégrader l'acétaminophène et le 4-aminophénol, sous-produit de dégradation du précédent, a été étudiée, seul et en association avec *Pseudomonas fluorescens*. La culture mixte élimine complètement ces composés après 7 heures environ, soit cinq fois plus rapidement que la culture pure de champignons. La culture mixte montre une plus grande efficacité d'élimination et une cinétique de biodégradation plus rapide. La MFC utilisant la culture mixte génère une densité de puissance dix fois supérieures à celle obtenue avec la culture pure de champignons [54].

Pour conclure, les champignons offrent une nouvelle perspective pour les MFC, avec des capacités prometteuses pour la dégradation de polluants et la production d'électricité. La recherche se poursuit sur l'optimisation de ces systèmes, et la compréhension des mécanismes de transfert d'électrons et de dégradation des polluants.

L'utilisation de *T. harzianum* comme bioanode dans une MFC s'avère être un choix intéressant pour la dégradation de colorants nocifs tel que le MB et le VC, tout en produisant du courant électrique. Des travaux ultérieurs pourraient étendre son usage pour l'élimination d'autres colorants ou d'autres produits organiques nocifs (antibiotiques, anti-inflammatoires).

I.4.4.4. MFC à levures

L'emploi de levures, des champignons unicellulaires, a précédé celui de leurs homologues multicellulaires dans les MFC. Leur obtention est plus simple, quoiqu'ils soient plus vulnérables aux conditions environnementales. La plupart des souches ne sont pas pathogènes et peuvent dégrader une grande variété de substrats [230]. Les levures employées dans des MFC comme bioanode comprennent *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida melibiosica*,

Arxula adenivorans, *Hansenula anomala* ainsi que d'autres plus rares. L'utilisation d'un médiateur électronique tel que le MB est courant, mais pas exclusif. Les substrats employés sont assez simples et comptent des glucides et des acides aminés.

S. cerevisiae est la levure la plus utilisée dans les études de bioremédiation en culture libre et en MFC. Deux études de MFC ont porté sur l'utilisation d'une anode en papier de carbone, l'une sans médiateur électronique [236] et l'autre avec le MB [237]. Dans les deux cas, les anodes ont été testées sans modifications, avec ajout de cobalt ou avec ajout d'or. Sans MB, l'ajout de cobalt augmente la densité d'adhésion de *S. cerevisiae* ainsi que la performance de la MFC, tandis que l'ajout d'or donne des effets inverses, avec des densités de puissance de 12,9 ; 20,2 et 2 mW m⁻², respectivement. Avec MB, l'effet du cobalt est similaire, mais l'effet de l'or est inversé par rapport à l'expérience sans MB, avec des densités de puissance de 80, 148 et 120 mW m⁻². Le MB augmente significativement la densité de puissance obtenue ainsi que la densité de *S. cerevisiae* adhérent à l'électrode en présence d'or, montrant l'influence importante d'un médiateur de transfert électronique.

Une expérience avec une anode à base de *S. cerevisiae* fixé sur des nanotubes de carbone, a également été menée avec une MFC sans PEM. Sans levure fixée, la puissance atteinte était de 138 mW m⁻² et atteignait 344 mW m⁻² avec levure [238].

Des expériences ont porté sur la fixation d'enzymes sur la surface *S. cerevisiae* afin d'augmenter la puissance électrique produite. La pyranose déshydrogénase extraite de *Agaricus meleagris* a été fixée sur la surface de *S. cerevisiae* pour une utilisation dans une MFC à chambre unique. L'expérience témoin sans enzyme fixée a permis de produire une puissance de 8 mW m⁻² avec le D-xylose comme substrat. Les expériences menées avec les enzymes fixées sur *S. cerevisiae* avec le D-glucose, le D-xylose, le L-arabinose, le D-cellobiose, le D-galactose comme substrat ont permis d'avoir de plus fortes puissances produites de 31, 39, 32, 22 et 14 mW m⁻², respectivement [239]. La cellobiose déshydrogénase, extraite de *Corynascus thermophilus* a été fixée sur *S. cerevisiae* pour une utilisation dans une MFC à double chambre avec une puissance avec le lactose comme substrat et une puissance produite de 33 mW m⁻² et de 2,7 mW m⁻² pour l'expérience témoin. Une expérience similaire avec de l'oxyde de graphène fixé sur *S. cerevisiae* et le D-glucose comme substrat a donné une puissance de 2,8 mW m⁻² [239].

Des études ont également été réalisées avec le ferricyanure de potassium comme accepteur d'électrons et le glucose comme substrat. Avec des électrodes en pelote de platine et du MB comme médiateur de transfert électronique (ou ETM pour « *Electron Transfer Mediator* »), la puissance obtenue était de 65 mW m⁻² [240]. Avec des électrodes en cuivre, la puissance était de 2,1 mW m⁻² et de 4,5 mW m⁻² sans MB et avec MB comme ETM [241]. Avec des électrodes en carbone vitreux réticulé, la puissance était de 40 mW m⁻³ et de 146 mW m⁻³ sans MB et avec MB [242]. Avec les mêmes d'électrodes, d'autres ETM comme le rouge neutre (NR) ont été utilisés [224]. Avec MB et NR seuls, la puissance était respectivement de 400 et de 80 mW m⁻², tandis qu'elle atteignait 500 mW m⁻² en présence des deux médiateurs.

C. melibiosica a été employé comme bioanode dans une MFC avec du fructose et un mélange d'extraits de levure, de la peptone et du fructose comme substrat [243]. La puissance obtenue était de 60 mW m^{-2} avec le fructose seul, et de 180 mW m^{-2} avec le mélange. L'ajout de MB comme ETM a légèrement augmenté la puissance produite, jusqu'à 185 mW m^{-2} . Différents ETM ont été testés. L'emploi de vert de bromocrésol, de rouge neutre, de rouge de méthyle, d'orange de méthyle et de MB a permis d'obtenir des puissances de respectivement 46, 89, 113, 137 et 640 mW m^{-2} , et 20 mW m^{-2} pour l'expérience sans ETM [244]. La présence d'ETM influence donc les performances des MFC, et plus particulièrement le MB. La modification des électrodes de carbone permet également d'améliorer la puissance de la MFC sans avoir recours à un ETM. Les auteurs obtiennent 720 mW m^{-2} avec des anodes modifiées par du nickel déposé en conditions galvanostatiques, 360 mW m^{-2} avec du nickel déposé sous conditions potentiostatiques et 36 mW m^{-2} sans modification [245].

I.4.4.5. MFC à algues

Les MFC peuvent également fonctionner avec des algues ou des microalgues. On les appelle donc « MFC algaires » ou AFC pour « *algae fuel cells* » [246]. Les algues peuvent être placées dans le compartiment anodique pour la dégradation de substrats organiques, ou dans le compartiment cathodique afin de produire de l'oxygène par activité photosynthétique, lequel sera réduit en eau. Il s'agit d'une possibilité commune aux AFC et aux systèmes « wetland constructed MFC ». Parmi les espèces les plus utilisées figurent *Chlorella vulgaris* et *Scenedesmus obliquus*.

C. vulgaris a fait l'objet de recherches pour le traitement d'eaux usées issues de lixiviats dans une MFC avec une production de puissance de 1109 mW m^{-3} [247], pour le traitement d'eaux issues d'élevages porcins avec une production très importante de 3720 mW m^{-3} [248], pour des eaux municipales avec une puissance de 126 mW m^{-3} [249], pour des eaux usées issues d'industries du textile avec une algue directement sur la cathode avec une puissance de 123 mW m^{-3} [92].

S. obliquus a également permis l'obtention de puissances encourageantes pour le traitement d'eaux usées municipales dans des MFC à double compartiments avec 153 mW m^{-3} [250], et 951 mW m^{-3} [251]. *Oscillatoria sp.* et *Scenedesmus sp.* ont permis d'obtenir des puissances respectives de 32,5 et $28,5 \text{ mW m}^{-2}$ [252] avec des effluents issus de l'industrie alimentaire. Une étude a utilisé une MFC à chambre unique alimentée par un inoculum préalablement traité par un digesteur anaérobie [253]. Cette étude a comparé les performances de *Golenkinia sp.* SDEC-16, *C. vulgaris*, *S. capricornutum*, *Scenedesmus* SDEC-8 et *Scenedesmus* SDEC-13, avec des puissances respectives de 6150, 3200, 700, 3400, 2000 mW m^{-3} [253]. Les puissances obtenues sont très élevées, surtout pour *Golenkinia sp.* SDEC-16, ouvrant la voie à des perspectives intéressantes pour les MFC à algues.

II. Applications des MFC

II.1. Production de bioélectricité

Dans la dynamique actuelle d'une recherche durable et autonome en énergie, la production d'électricité par les MFC semble constituer une solution prometteuse.

Le potentiel de ces MFC réside dans la variété des composés dégradables et des micro-organismes utilisables pour convertir l'énergie chimique en énergie électrique. Les substrats peuvent varier des déchets organiques comme des antibiotiques ou des colorants, aux métaux lourds, tandis que les micro-organismes peuvent inclure des bactéries, des algues et même des champignons uni- et multicellulaires.

Néanmoins, malgré leur potentiel, les MFC sont toujours une technologie émergente parmi d'autres. Leur production électrique devrait être optimisée et fiabilisée afin d'obtenir une MFC commerciale utilisable par tous. Deux axes principaux de recherche se dégagent pour atteindre cet objectif.

Le premier concerne l'amélioration des matériaux utilisés. L'anode et la cathode, par exemple, peuvent être optimisées pour améliorer leur conductivité, leur résistance à la corrosion, et leur biocompatibilité. En ce qui concerne la PEM, sa résistance à l'encrassement est un enjeu crucial et un verrou persistant à lever. L'utilisation de nanomatériaux, comme les nanoparticules métalliques, les nanotubes de carbone ou le graphène, pourrait potentiellement améliorer les performances des MFC.

Le second axe de recherche est l'optimisation de la croissance et de l'activité des micro-organismes exoélectrogènes. Les chercheurs cherchent à comprendre et à optimiser les mécanismes d'échange d'électrons entre les micro-organismes et les électrodes, un processus qui détermine l'efficacité des MFC. Des recherches poussées en bio-ingénierie pourraient aider à sélectionner ou à concevoir des souches microbiennes avec une capacité accrue d'oxydation du substrat et de transfert d'électrons. Cela passe par des souches possédant des enzymes redox efficaces, comme la laccase ou la peroxydase.

Ces axes de recherche ne seront pas tous développés par la suite. Une approche interdisciplinaire est nécessaire pour optimiser les matériaux et les micro-organismes et pourrait se révéler encourageante pour améliorer les performances des MFC.

II.2. Bioremédiation

La bioremédiation est le principe sur lequel repose les MFC. Ce terme désigne l'emploi de micro-organismes pour dégrader ou transformer des polluants en produits moins nocifs, voire inoffensifs, le mieux étant la minéralisation totale. C'est un champ de recherche particulièrement exploré et prometteur pour la dépollution de l'environnement, notamment pour le traitement des eaux usées et des sols contaminés par des substances organiques et des colorants industriels. Elle semble être une voie toute tracée pour préserver les espaces naturels.

Dans la bioremédiation, les micro-organismes agissent comme des catalyseurs biologiques, grâce à leurs enzymes qui leur servent d'outils, utilisant les polluants comme substrat pour leur croissance et leur maintien. Par exemple, certaines bactéries peuvent dégrader les hydrocarbures présents dans les eaux usées industrielles en dioxyde de carbone et en eau,

rendant ainsi ces eaux moins toxiques voire aptes à la consommation. De même, certains champignons sont capables de dégrader les colorants azoïques ou anthraquinoniques, souvent utilisés dans l'industrie textile et connus pour leur toxicité et leur persistance dans l'environnement, en particulier le MB et le VC.

Toutefois, malgré ces premiers succès, la bioremédiation a encore un long chemin à parcourir pour répondre aux objectifs fixés. Un des axes de recherche qui consiste à améliorer l'efficacité des micro-organismes a préalablement été détaillé.

Un autre axe de recherche important pour améliorer la bioremédiation concerne l'optimisation des conditions environnementales afin d'améliorer la croissance et l'activité des micro-organismes. Cela inclut l'ajustement des paramètres physico-chimiques comme la température, le pH , ou la concentration en oxygène, ainsi que l'apport en nutriments nécessaires pour la croissance et l'activité des micro-organismes, chacun ayant ses propres paramètres d'optimisation. Par exemple, l'emploi de tampon dans les MFC, permet de standardiser le pH et la force ionique.

En outre, l'étude des mécanismes de dégradation des polluants pourrait aider à identifier de nouvelles cibles pour les micro-organismes parmi des polluants de la même famille. Par exemple, un champignon tel que *T. harzianum* a été identifié comme pouvant dégrader les cycles aromatiques de molécules.

De même, la compréhension du mécanisme enzymatique responsable de la dégradation des colorants pourrait aider à synthétiser ou à extraire des enzymes plus performantes. En somme, la bioremédiation est un vaste champ de possibilités pour le traitement de l'environnement pollué. Des efforts de recherche pluridisciplinaires sont nécessaires pour optimiser son efficacité, notamment en améliorant les souches microbiennes utilisées et en adaptant les conditions environnementales et matérielles. Ces avancées pourraient rendre la bioremédiation encore plus efficace et applicable à une plus grande variété de polluants.

II.3. Biocapteurs

Les biocapteurs sont des dispositifs analytiques qui utilisent un élément biologique, tel qu'une enzyme, un anticorps, ou un micro-organisme, pour détecter la présence d'une substance spécifique. Ils contiennent deux éléments complémentaires : un élément de reconnaissance biologique et un transducteur qui convertit l'interaction biologique en un signal mesurable.

Dans le contexte des MFC, des biocapteurs peuvent être mis au point pour détecter, voire quantifier certaines substances présentes dans l'environnement dont on veut se débarrasser. Cela se fait en utilisant un ou plusieurs micro-organismes exoélectrogènes, capables de produire un courant électrique consécutif à la dégradation d'un ou plusieurs substrats. Pour améliorer cette technologie, il faudrait notamment travailler sur la sélectivité et la sensibilité du biocapteur, et s'assurer d'avoir un signal électrique assez stable et reproductible pour être interprétable. Des recherches sont également en cours pour développer des biocapteurs multi-polluants.

En somme, les biocapteurs basés sur le principe des MFC ont un avenir pour la détection de polluants en temps réel dans des espaces naturels, comme les cours d'eaux. Leur développement nécessite des efforts de recherche pour améliorer leur performance et leur fiabilité, mais ils ont un potentiel d'application dans le domaine de la surveillance biologique (*biomonitoring*).

II.4. Cellules à électrolyse microbienne

Les cellules à électrolyse microbiennes (ou MEC pour « *Microbial Electrolysis Cell* ») sont une technologie complémentaire aux MFC, et représente également une innovation en développement pour le traitement des eaux usées et la production de biohydrogène. Elles utilisent aussi des micro-organismes exoélectrogènes travaillant à l'anode, les électrons et les protons transférés vers la cathode permettant de générer du dihydrogène par réduction de l'eau. Le processus de réduction nécessite une petite quantité d'énergie externe pour surmonter la barrière thermodynamique de la production d'hydrogène, cette énergie pouvant être fournie par une MFC fonctionnant en tandem avec la MEC. Elles offrent une alternative écologique et durable pour le traitement de divers types de déchets organiques, tout en générant de l'énergie sous forme d'hydrogène, lequel peut être employé dans des piles à combustible.

Les axes d'amélioration des MEC sont les mêmes que ceux des MFC, c'est-à-dire l'amélioration de la conductivité, de la résistance à la corrosion et la biocompatibilité des électrodes, de l'activité des micro-organismes et la résistance à l'encrassement des PEM. Les nanomatériaux sont là encore un domaine à explorer.

II.5. MFC à capture de carbone

Les MFC à capture de carbone (ou CCMFC pour « *Carbon Capture Microbial Fuel Cell* ») sont une technologie annexe à celle des MFC. Elles tirent parti de l'activité métabolique de micro-organismes capables de convertir le CO₂ en composés plus réduits, tout en générant un courant électrique. À l'anode, un micro-organisme dégrade un composé organique en générant du CO₂, qui est acheminé vers le compartiment cathodique. Dans ce compartiment se trouve des végétaux, éclairés par une source de lumière, qui vont consommer le CO₂ par photosynthèse.

Les axes d'amélioration pour ces dispositifs sont multiples. Les électrodes peuvent être améliorées pour favoriser leur conductivité, ainsi que les PEM pour améliorer leur résistance chimique et à l'encrassement. Le choix des micro-organismes et des végétaux peut être optimisé pour améliorer les processus de dégradation et de photosynthèse. Les conditions expérimentales comme la présence de nutriments, le pH et la température peuvent jouer sur les activités enzymatiques, de même que l'éclairage pour les végétaux. Les CCMFC pourraient ainsi devenir un outil précieux dans la lutte contre le changement climatique, tout en offrant une source d'énergie durable.

II.6. MFC de dessalement

Les MFC de dessalement (ou MDC pour « *Microbial Desalination Cell* ») sont une autre technologie connexe aux MFC qui combine la production d'énergie et le dessalement de l'eau. Elles utilisent la capacité de certains micro-organismes à générer un courant électrique à partir de la dégradation de matière organique, pour alimenter un processus de dessalement électrochimique.

Une MDC est agencée de manière analogue à une MFC à double compartiment. Elle est composée de trois compartiments, anodique, cathodique et un troisième contenant la solution à dessaliniser, séparé des deux précédents par une membrane d'échange d'anions (AEM) et une membrane d'échange de cations (CEM). Le fonctionnement repose sur le même principe qu'une MFC : un micro-organisme dégrade des substances organiques provenant d'eaux usées ou de boues dans le compartiment anodique, ce qui génère des électrons et donc un courant électrique dans un circuit externe. Cependant, les protons générés peuvent entraîner une baisse du *pH* dans le compartiment anodique ce qui nécessite un milieu tamponné ou de travailler en flux continu. Les processus bioélectrochimiques vont modifier la composition ionique des compartiments anodique et cathodique, en provoquant des excès ou des déficits d'ions, par exemple Na^+ ou Cl^- . Ces déséquilibres ioniques sont compensés par des échanges d'ions avec le compartiment central.

Les axes d'amélioration de cette technologie sont similaires à ceux des MFC. Cependant, il est également nécessaire d'améliorer les membranes échangeuses d'ions afin d'optimiser les processus d'échanges ioniques. Les MDC optimisées permettent aujourd'hui le dessalement de l'eau de mer, et d'envisager le dessalement de l'eau saumâtre ou la dénitrification des eaux souterraines.

III. Défis et perspectives

III.1. Coûts matériels et opérationnels

Les coûts matériels et opérationnels des MFC est un facteur clé qui conditionne leur adoption à large échelle. La construction d'une MFC implique des coûts initiaux liés aux matériaux utilisés pour les électrodes, la PEM et le réacteur. De plus, il y a des coûts opérationnels liés à l'entretien du système, à la régulation des conditions de fonctionnement et à l'apport du substrat.

Pour optimiser ces coûts, plusieurs stratégies peuvent être envisagées. L'une d'elles est le développement de matériaux moins onéreux et plus durables pour les électrodes et la PEM. Une autre stratégie est l'amélioration de l'efficacité de la MFC, par exemple en optimisant le consortium microbien pour utiliser le moins de substrat possible pour produire une quantité donnée d'électricité.

Enfin, la recherche de sources de substrats peu onéreux voire gratuits comme les déchets organiques, pourrait également contribuer à réduire les coûts opérationnels. En somme, l'optimisation des coûts et des performances est essentielle pour rendre les MFC économiquement viables.

III.2. Toxicité des produits

Certains substrats utilisés dans les MFC peuvent donner lieu à la formation de sous-produits toxiques. La minéralisation complète du substrat par le micro-organisme est donc essentielle pour éviter l'accumulation de ces composés.

Si la minéralisation complète n'est pas possible, des stratégies d'élimination des sous-produits toxiques doivent être envisagées. Celles-ci doivent être respectueuses de l'environnement, évitant par exemple l'utilisation de produits chimiques agressifs ou la production de déchets supplémentaires. Les options pourraient inclure des traitements biologiques complémentaires comme l'emploi d'un consortium microbien, dont les différentes espèces pourraient se relayer jusqu'à la dégradation complète du substrat. D'autres options, pourraient inclure l'adsorption sur des matériaux (respectueux de l'environnement), ou la dégradation photochimique.

La gestion des sous-produits toxiques est un aspect essentiel de l'optimisation des MFC, non seulement pour garantir la sécurité environnementale, mais aussi pour respecter les réglementations en vigueur sur la gestion des déchets.

III.3. Performance des électrodes

La performance des électrodes est un facteur crucial dans le fonctionnement des MFC. L'électrode agit en effet comme un lieu d'échange d'électrons entre les micro-organismes et le circuit externe. Par conséquent, sa conductivité, sa surface de contact et sa biocompatibilité sont autant de facteurs qui peuvent influencer l'efficacité du processus.

Pour améliorer les performances des électrodes, plusieurs pistes peuvent être explorées. Tout d'abord, l'utilisation de matériaux plus conducteurs et résistants à la corrosion pourrait permettre d'augmenter la durée de vie des électrodes et leur rendement énergétique. Des matériaux comme le graphène ou les nanotubes de carbone ont montré un potentiel intéressant dans ce domaine.

Par ailleurs, l'optimisation de la surface de contact entre l'électrode et les micro-organismes peut également être envisagée, par exemple en augmentant la porosité de l'électrode ou en utilisant des structures en trois dimensions.

Enfin, l'amélioration de la biocompatibilité de l'électrode peut permettre d'augmenter l'adhésion des micro-organismes et d'optimiser le transfert des électrons. Cela peut être réalisé, par exemple, en utilisant des revêtements biocompatibles ou en modifiant chimiquement la surface de l'électrode. En somme, l'optimisation des électrodes est un enjeu majeur pour augmenter les performances des MFC.

III.4. Performance des PEM

La PEM est un composant essentiel des MFC, permettant le passage des protons de l'anode vers la cathode tout en empêchant le mélange des électrons et des substrats. Ses performances peuvent avoir un impact significatif sur l'efficacité globale de la MFC.

Pour les améliorer, plusieurs approches peuvent être envisagées. D'abord, la recherche de matériaux de plus forte conductivité protonique pourrait améliorer l'efficacité de la PEM.

Par ailleurs, l'optimisation de son épaisseur et de sa porosité pourrait également être optimisée pour favoriser le passage des protons tout en évitant le mélange des substrats.

Enfin, l'amélioration de la stabilité chimique et thermique de la PEM peut permettre de prévenir sa dégradation et de maintenir ses performances dans le temps. Il est également important de considérer ses coûts de fabrication et de remplacement pour assurer la viabilité économique des MFC.

En résumé, l'optimisation des performances de la PEM est un enjeu clé pour l'amélioration de l'efficacité et de la durabilité des MFC. Ainsi, bien que les divers aspects abordés jusqu'ici jouent un rôle indéniable dans le rendement des MFC, la PEM se distingue par son importance cruciale dans ces systèmes. Passons maintenant à un examen détaillé de cette composante essentielle, en explorant ses caractéristiques, les défis à relever et les axes d'optimisation qu'elle présente.

IV. La membrane échangeuse de protons

IV.1. Rôle et importance des membranes échangeuses de protons

IV.1.1. Fonctions principales

Les membranes échangeuses de protons (ou PEM pour « proton-exchange membrane ») sont un des constituants importants des MFC. Dans les MFC à deux compartiments, elles séparent les compartiments anodique et cathodique, empêchent le mélange des espèces chimiques et donc la formation de produits indésirables, assurent le transfert des protons issus de l'oxydation du substrat par le micro-organisme, et permettent le maintien de la neutralité électrique et la continuité du circuit électrique [254].

Plus précisément, la capacité d'une PEM à faciliter le transfert des protons (perméabilité) tout en les privilégiant par rapport à d'autres ions (sélectivité), conditionne les performances de la PEM, ce qui influence la tension électrique produite par la MFC et par conséquent, la puissance générée [164]. Autrement dit, les PEM influencent la résistance interne de la MFC, ce qui peut affecter la densité de courant maximale qui peut être générée ([209] ; [255]). Elle est donc cruciale pour le bilan énergétique global du système.

Les PEM ont une vulnérabilité au développement bactérien ou fongique sur leur surface. Ce phénomène est nommé *biofouling*. Le *biofouling* est susceptible d'augmenter la résistance interne de la MFC de façon significative et d'affecter ainsi la puissance générée ([209] ; [256]). Il constitue un des verrous les plus importants à relever lors de la montée en échelle de tous les systèmes à PEM, dont les MFC [257].

IV.1.2. Critères de sélection et propriétés requises

Les propriétés que doivent avoir les PEM pour être utilisées en MFC incluent une conductivité protonique élevée, une faible perméabilité aux gaz, une certaine résistance mécanique, chimique et thermique, et une faible résistance électrique [258]. Les coûts et la disponibilité des matériaux sont également des facteurs importants à considérer lors de la sélection des PEM [259].

IV.1.3. Conductivité protonique

La conductivité protonique est la capacité d'une PEM à transporter les protons H^+ . Une conductivité protonique élevée est essentielle pour assurer un transfert efficace des protons entre les compartiments anodique et cathodique, ce qui est crucial pour maintenir une efficacité énergétique élevée et la continuité du circuit électrique [259].

IV.1.4. Perméabilité aux gaz

La perméabilité aux gaz est un autre facteur clé pour les PEM. Elle peut influencer les performances des piles à combustible, des électrolyseurs ou des MFC pour plusieurs raisons. Une faible perméabilité aux gaz est nécessaire pour minimiser le passage des gaz produits ou réactifs, d'un compartiment à l'autre, car elle peut entraîner une réduction de la tension électrique et affecter négativement les performances de la MFC [260]. Dans des piles à combustibles ou les électrolyseurs, le passage du dihydrogène et du dioxygène peut entraîner leur rencontre avec une réaction explosive. Dans les MFC, le dioxygène étant parfois utilisé comme oxydant dans le compartiment cathodique, son passage par la PEM peut entraîner une réaction avec le substrat [261]. De plus, on peut observer la détérioration prématurée des électrodes par réaction avec un perméat indésirable ([262] ; [263]) ou bien la détérioration de la PEM par action de radicaux issus de gaz ([262] ; [264] ; [265] ; [266]). La dégradation des électrodes, nécessite leur remplacement plus fréquent et donc une augmentation de cout de la MFC [267].

IV.1.5. Résistance mécanique

La résistance mécanique d'une PEM est un paramètre essentiel qui peut influencer les propriétés de conduction et de perméation gazeuse. L'usage d'une PEM en milieu aqueux entraîne une absorption d'eau, et donc une plastification du matériau ainsi qu'un gonflement qu'il convient de surveiller et de contrôler [265]. Le gonflement peut être lié aux groupes sulfonates, lesquels sont hydrophiles. Ces phénomènes peuvent entraîner une perte des propriétés mécaniques [268]. Une PEM doit être assez robuste et résistante aux contraintes mécaniques (déformation, contraintes, fissures) occasionnées par des changements de température, de l'humidité ou des charges électrochimiques lorsqu'elle est sollicitée [265].

L'utilisation de polymères à groupes réticulables a été envisagée pour améliorer les propriétés mécaniques des PEM (obtenus par polymérisation ou greffage). Des polymères perfluorés réticulables ont été ainsi synthétisés, avec des groupes sulfonimide ([269] ; [270]) ou bien des groupes sulfonamides avec des esters de fluorure de sulfuryle [271]. Un terpolymère avec des groupes sulfonate et des groupes bromés réticulables a été synthétisé par procédé radicalaire puis réticulé par procédés thermique et chimique avec un peroxyde et l'isocyanurate de triallyle [272]. D'autres groupes réticulables présents sur des polymères ont été étudiés comme les sulfonimides [273], sulfone ou nitrile [274]. Différentes méthodes de réticulation chimique ont fait l'objet de brevets [275]. Le 3-aminopropyltriéthoxysilane peut être utilisé comme agent réticulant dans le cas du NafionTM sous forme d'ester de fluorure de sulfuryle [276]. Des réactions de greffage de styrène et de divinylbenzène par plasma ont été appliqués sur le NafionTM 117 [277]. La réticulation ou le greffage pour améliorer les propriétés

mécaniques sont des méthodes assez simples mais les produits employés comme agent réticulant peuvent être nocifs voire toxiques.

Des méthodes thermiques ont été appliquées pour améliorer les propriétés mécaniques de PEM. Elles permettent une augmentation du degré de cristallinité et une réduction du volume libre [274]. La préparation de membranes par casting à haute température en utilisant des solvants à haut point d'ébullition [278] ou par recuit [279] a également été envisagé.

Les PEM peuvent être renforcées mécaniquement par incorporation de polymère dans leur structure. Le poly(tetrafluoroéthylène) (PTFE) est le plus utilisé pour des raisons de stabilité, de tenue mécanique et d'affinité dans le cas de PEM perfluorosulfonées ([280] ; [281]), par exemple sous forme de feuillets de PTFE expansé ([282] ; [283]). Le renforcement par le PTFE a également été envisagé sur d'autres polymères, comme le polystyrène sulfoné [284] ou le poly(éther éther cétone) sulfoné (SPEEK) [285]. D'autres polymères peuvent être employés pour le renforcement, comme le polysulfone associé à des microfibrilles de verre [286].

IV.1.6. Résistance chimique

La résistance chimique d'une PEM est un autre point important. Dans une pile à combustible ou une MFC, ses capacités conductrices, ses propriétés mécaniques et de barrière au gaz ne doivent pas être affectées par une espèce chimique présente dans le milieu. Une PEM utilisée dans une pile doit résister à l'oxydation et aux réactions chimiques indésirables venant des réactifs, hydrogène et oxygène (dans le cas d'une pile à combustible), substrats, médiateurs de transfert électronique et ions (dans le cas d'une MFC).

Une résistance chimique insuffisante peut mener à une usure prématurée de la PEM dans ses conditions normales d'utilisation et des coûts supplémentaires d'entretien ou de remplacement, mais aussi une perte de performance du système électrochimique dans lequel elle opère. L'amélioration de la résistance chimique des PEM est donc un point pour l'optimisation des performances et de la durabilité des piles à combustible et des MFC.

Une PEM peut être particulièrement sensible aux radicaux hydrogène H^{\bullet} , hydroxyle OH^{\bullet} , hydroperoxyde OOH^{\bullet} qui peuvent être issus du dioxygène ou du peroxyde d'hydrogène ([287] ; [288]). Les mécanismes de dégradation chimique des PEM perfluorosulfonées ont été décrits [289]. Ils impliquent la transformation du dioxygène en peroxyde d'hydrogène [287], lequel peut se décomposer en radicaux OH^{\bullet} ou en OOH^{\bullet} , en particulier en présence de métaux de transition [290]. Ces radicaux très réactifs attaquent les extrémités de chaînes contenant des liaisons carbone – hydrogène. Les conséquences sont un amincissement de la PEM et la libération de composés fluorés ([291] ; [292]). Des méthodes de protection des PEM contre l'action de radicaux ont été mises au point et décrites dans la littérature [293]. Par exemples, des ions cérium et manganèse [294], le système redox ferrocyanure – ferricyanure [295], des oxydes de cérium [296], d'étain [297], de zirconium [298], des composés de type éther couronne [299], de l'yttrium stabilisé au zirconium [300], de l'alizarine associé au cérium [293], du cérium et du chrome fixés sur de la silice [301] ont fait l'objet de recherches, montrant la diversité des méthodes utilisables.

IV.1.7. Coût et disponibilité

Enfin, les coûts et la disponibilité des matériaux sont des facteurs critiques pour la mise en œuvre à grande échelle des MFC et peuvent limiter leur développement [302]. Par exemples, les PEM Nafion™ qui sont usuellement utilisées dans les MFC sont commercialisées par peu de fournisseurs et leur prix est donc élevé, par exemple la Nafion™ 117 a un prix estimé entre 1400 \$ et 2200 \$ par mètre carré [303]. La mise au point de PEM abordables et facilement accessibles peut contribuer à rendre la technologie des MFC plus compétitive sur le marché de l'énergie renouvelable.

IV.2. Types de membranes échangeuses de protons

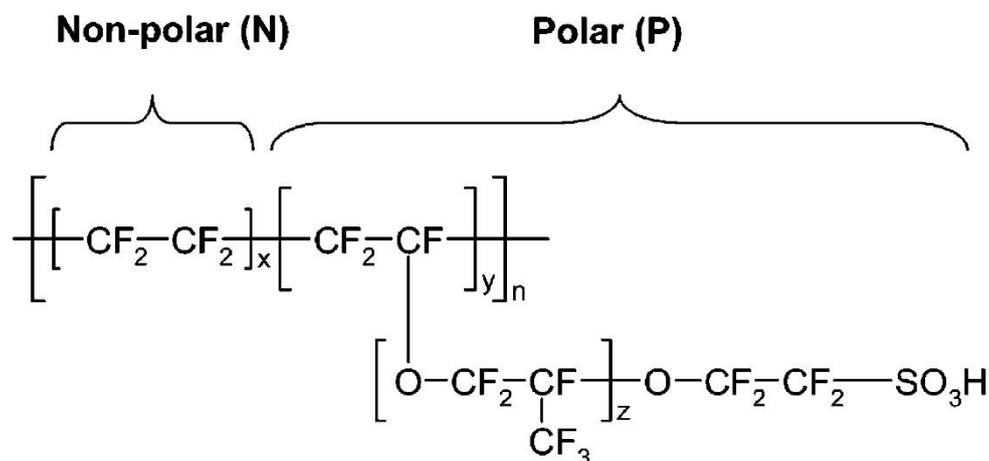
IV.2.1. Membranes organiques

IV.2.1.1. Membranes à base de polymères sulfonés

Le Nafion™ est un polymère perfluorosulfonique développé par la société DuPont dans les années 1960 [264]. La membrane Nafion™ constitue une figure de proue parmi les PEM en raison de ses propriétés d'échange ionique performantes [264], en plus de sa bonne stabilité thermique et électrique. Il est actuellement un des matériaux les plus utilisés dans les piles à combustible et les MFC [254].

La structure chimique du Nafion™ se compose d'une chaîne principale de tétrafluoroéthylène (TFE) avec des groupes sulfoniques reliés à des groupes éthers perfluorés [304]. Cette structure unique confère au Nafion™ une excellente conductivité protonique, une résistance chimique et thermique élevée, ainsi qu'une bonne stabilité mécanique ([264] ; [303]). La Fig. 2 illustre la formule semi-développée générale du Nafion™ [305]. Cependant il existe différents types de Nafion™.

Fig. 2. Formule générale semi-développée du Nafion™ : x est la proportion en monomère tétrafluoroéthylène (TFE) non substitué (non – polaire), y est la proportion en monomère TFE substitué par une chaîne latérale de type éther perfluoré (polaire), z est la longueur de la chaîne latérale (polaire) et n est le degré de polymérisation de la chaîne principale [306].



Les groupes sulfonates interagissent avec les molécules d'eau du milieu environnant (solvant aqueux ou atmosphère humidifiée) et en arrachent des protons, lesquels circulent d'un site acide à un autre, par un mécanisme facilité par les molécules d'eau et les liaisons hydrogène [264]. Les groupes sulfonates sont hydrophiles alors que le squelette et les ramifications sont hydrophobes.

La structure générale du NafionTM est couramment assimilée à un modèle de réseaux de clusters ou de canaux ([307] ; [308]). Ces clusters sont constitués par les groupes sulfonates, et sont souvent comparés à des micelles inversées [264], dont le diamètre d'environ 4 nm est fixé et maintenu par le squelette et les ramifications de la structure du NafionTM ([307] ; [308]). Des interconnexions de 1 nm de diamètre relient ces clusters, favorisant les propriétés de transport protonique ([303] ; [264]).

La fabrication du NafionTM implique généralement un procédé de copolymérisation radicalaire du TFE avec un monomère perfluoré contenant un groupe sulfonyl ([264]). Le polymère résultant est ensuite converti en une forme acide sulfonique, qui confère la capacité d'échange de protons [309]. Les PEM NafionTM peuvent être produites en différentes épaisseurs et degrés de sulfonation, ce qui permet de moduler leur conductivité protonique et certaines propriétés [310]. Par exemple le NafionTM 117 correspond à un polymère de masse équivalente de 1100 g (nombre de grammes de NafionTM sec par mole de groupes d'acide sulfonique lorsque le matériau est sous forme acide) et d'épaisseur 0,007 pouces.

Malgré ses très bonnes performances, le NafionTM présente certains inconvénients, notamment son coût élevé et sa sensibilité au *biofouling* ([303] ; [256]). De plus, sa perméabilité aux gaz et son gonflement en présence d'eau peuvent entraîner une diminution des performances des MFC [311].

Des recherches ont été menées pour développer des PEM alternatives qui pourraient surmonter ces limitations tout en conservant les avantages du NafionTM. En général, les PEM sulfonées sont préparées par sulfonation d'un polymère aromatique préexistant [313]. La sulfonation introduit des groupes sulfoniques dans la structure du polymère, ce qui confère une conductivité protonique élevée et une bonne stabilité thermique et mécanique [314].

Parmi ces recherches, on trouve des travaux sur les poly(éthers éther cétones) sulfonées ([314] ; [315]), les polysulfones [316], les poly(éthersulfones) ([317] ; [318]), les polyimides sulfonés ([319] ; [320]), le poly (aryl éther sulfone) sulfoné (SPAES) [321], le poly (phénylène sulfone) sulfoné (SPPSU) [322] et le poly (phénylène) sulfoné (SPP) [323], ainsi que sur des PEM composites NafionTM – poly(fluorure de vinylidène) [324].

Des polymères aliphatiques peuvent également être sulfonés comme poly(vinyl alcool), rendus ainsi aptes à la conduction de protons et additionnés de mordenite pour améliorer cette capacité [325]. Tous ces polymères ont subi une sulfonation dont le pourcentage influence fortement leur conductivité protonique [325].

Ces PEM utilisées dans les MFC ont montré des performances élevées, bien qu'elles restent généralement inférieures à celles des NafionTM en termes de production d'énergie et de durée de vie. Ceci explique la préférence marquée des concepteurs de MFC pour la PEM NafionTM, malgré sa susceptibilité au *biofouling* [326]. Les recherches futures pourraient se

concentrer sur l'amélioration des propriétés de ces PEM, notamment en améliorant leur résistance chimique et leur stabilité à long terme, par exemple en incorporant des éléments inorganiques [327].

IV.2.1.2. Autres types de membranes organiques

Outre les PEM à base de polymères sulfonés, d'autres types de PEM organiques ont été envisagées pour leur utilisation dans les MFC. Les PEM à base de polymères cationiques, comme ceux porteurs de groupements ammonium quaternaire (QAPS), sont une alternative prometteuse en raison de leur faible coût et de leur bonne conductivité ionique [328].

Des PEM à base de polymères conducteurs, tels que la polyaniline en association avec le NafionTM [329] ont également été étudiées pour leur capacité à transporter les ions tout en étant électroconductrices. Cependant, leur conductivité ionique reste généralement inférieure à celle des PEM sulfonées, et des recherches supplémentaires sont nécessaires pour améliorer leurs performances.

IV.2.2. Membranes inorganiques

Les PEM inorganiques ont suscité un intérêt croissant pour les applications MFC en raison de leur excellente stabilité thermique et chimique et de leur résistance au *biofouling* [330]. Des PEM inorganiques à base d'oxydes métalliques peuvent fournir de hauts niveaux de conductivité protonique [331]. Elles peuvent servir dans des MFC quand elles sont en argile naturelles additionnées de goethite [332].

Toutefois, les PEM inorganiques présentent des défis en termes de fragilité, de difficulté de fabrication et de coût qui en résulte [333]. De plus, des transitions de phase peuvent compromettre leur stabilité mécanique et leur conductivité [331].

IV.2.3. Membranes hybrides et composites

Les PEM hybrides et composites combinent les propriétés des matériaux organiques et inorganiques pour améliorer la conductivité protonique, la perméabilité au gaz, la résistance au *biofouling* et les résistances mécanique et chimique ([281] ; [334]). Ces PEM sont généralement composées d'une matrice polymère organique renforcée ou modifiée par des charges, qui peuvent être des particules inorganiques [334], des réseaux organométalliques [335] ou des fibres [336].

Les charges inorganiques peuvent inclure du dioxyde de zirconium [337], du dioxyde de titane [338], de la silice [339], de l'oxyde de graphène [321], de l'imogolite [322]. Le polymère NafionTM a déjà été modifié avec l'ajout de sépiolites sulfo-fluorées [340], de montmorillonite [341], d'oxyde de tungstène [342] ou encore de dioxyde de cérium [343].

Les charges ajoutées peuvent parfois écranter ou diluer les groupes sulfonates disponibles du NafionTM, ce qui limitent les bénéfices de leur utilisation [344]. Ces PEM ont été testées dans des MFC [345]. Les charges, ajoutées pour diminuer la perméabilité aux gaz, peuvent avoir un effet négatif sur la conductivité protonique, d'où la nécessité d'utiliser le meilleur compromis entre la quantité ajoutée et une bonne dispersion [346], surtout si les charges ne sont pas sulfonées. D'autres processus physiques peuvent diminuer ce phénomène, comme le recuit thermique [347] et le vieillissement.

Les réseaux organométalliques ou MOF (Metal-Organic Frameworks), sont une variété de matériaux cristallins hybrides formés par l'assemblage coordonné de ligands organiques multidentés comme connecteurs autour de centres métalliques ou d'agrégats de métaux comme nœuds. Les MOF ont une structure tridimensionnelle très ordonnée, une porosité intrinsèque et une surface spécifique élevée. La diversité des centres métalliques et des ligands organiques disponibles permet d'accéder à un large panel de MOF, avec différentes architectures, propriétés chimiques, fonctions et applications. Par exemple, le ZIF-8 a servi à améliorer la conductivité protonique de PEM à base de poly (4-styrènesulfonate) [348]. Des travaux ont permis de diminuer la perméabilité au gaz de PEM NafionTM en plus d'augmenter leur conductivité protonique par ajout de charges sulfonées (MIL-101-SO₃H) [349].

Des PEM à base de poly(vinyl alcool) [350] ou en NafionTM [351] ont été renforcées par des polymères d'origine naturelle telle que le chitosane phosphorylé. Les propriétés mécaniques, conductrices et de biodégradation du NafionTM ont été améliorées par l'ajout de nanocristaux de cellulose pour des applications en pile à combustible ou en électrolyseur ([352] ; [353]).

Les PEM composites présentent un potentiel prometteur pour surmonter les limitations des PEM organiques et inorganiques traditionnelles, bien que des défis subsistent en termes de coût et de fabrication [354]. L'utilisation de PEM hybrides et composites dans les MFC est encore en cours de développement, et des recherches supplémentaires sont nécessaires pour optimiser leur performance et leur compatibilité avec les micro-organismes et les électrodes.

IV.2.4. Résistance biologique

La résistance biologique d'une PEM est une considération moins courante dans le contexte des piles à combustible, puisque ces systèmes fonctionnent typiquement dans des environnements où la présence de micro-organismes est limitée. Cependant, dans certaines applications spécifiques, comme les MFC, la résistance biologique devient un facteur important. La PEM doit ainsi être capable de résister au *biofouling* et aux biodégradations, car ces derniers pourraient compromettre son intégrité structurelle et ses performances. De plus, la résistance biologique est particulièrement pertinente dans les cas d'utilisation des PEM en extérieur, à température élevée (inférieure à 40 °C) et en milieu humide et riche en substrats.

Ainsi, le développement de PEM avec une résistance biologique accrue pourrait s'avérer bénéfique pour les MFC.

IV.3. Conclusion

En conclusion, les PEM jouent un rôle essentiel dans diverses applications, notamment dans les piles à combustible, les électrolyseurs, et les MFC. Leur principale fonction est d'assurer le passage des protons tout en empêchant le mélange des réactifs. Le choix de la PEM dépend des applications recherchées. Dans le cas des MFC, elles doivent avoir une bonne conductivité protonique, une faible perméabilité aux gaz, une résistance mécanique, chimique et thermique adéquate, ainsi qu'une résistance aux milieux biologiques. Il existe différents types de PEM mais les PEM organiques à base de polymères sulfonés, sont les plus utilisées en raison de leur forte conductivité protonique.

Des améliorations sont toutefois nécessaires pour augmenter les performances des systèmes où les PEM sont utilisées. Dans le cas des MFC, ces améliorations pourraient avoir des impacts significatifs sur leur efficacité et leur durabilité, soulignant ainsi l'importance de la recherche dans ce domaine.

Un de ces défis majeurs est de répondre aux phénomènes de "*fouling*" ou d'encrassement de la PEM, qui peut affecter significativement son efficacité et sa durée de vie. Ce problème est particulièrement pertinent dans le contexte des MFC où la membrane a un rôle important. Dans le chapitre suivant, nous allons approfondir cette problématique, explorer ses causes, ses effets sur les performances des MFC et les stratégies potentielles pour le minimiser ou le prévenir.

Références

1. Boas JV, Oliveira VB, Simões M, Pinto AMFR (2022) Review on microbial fuel cells applications, developments and costs. *J Environ Manage* 307
2. Shah S, Venkatramanan V, Prasad R (2019) Microbial fuel cell: Sustainable green technology for bioelectricity generation and wastewater treatment. In: *Sustainable Green Technologies for Environmental Management*. Springer Singapore, pp 199–218
3. Potter M (1911) Electrical Effects accompanying the Decomposition of Organic Compounds
4. Cohen B (1931) The Bacterial Culture as an Electrical Half-Cell. *J Bacteriol* 18–19
5. Pontié M, Jaspard E, Friant C, et al (2019) A sustainable fungal microbial fuel cell (FMFC) for the bioremediation of acetaminophen (APAP) and its main by-product (PAP) and energy production from biomass. *Biocatal Agric Biotechnol* 22. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101376>
6. DelDuca M, Friscoe J, Zurilla R (1963) *Developments in Industrial Microbiology*. Washington D.C
7. Karube I, Matsunaga T, Tsuru S, Suzuki S (1976) CONTINUOUS HYDROGEN PRODUCTION BY IMMOBILIZED WHOLE CELLS OF CLOSTRIDIUM BUTYRICUM
8. Karube I, Matsunaga T, Tsuru S, Suzuki S (1977) Biochemical fuel cell utilizing immobilized cells of clostridium butyricum. *Biotechnol Bioeng* 19:1727–1733
9. Tanaka K, Vega CA, Tamamushi R (1983) Mediating effects of ferric chelate compounds in microbial fuel cells. *J Electroanal Chem Interfacial Electrochem* 156:135–143. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(83\)80663-9](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(83)80663-9)
10. Karube I, Suzuki S (1984) AMPEROMETRIC AND POTENTIOMETRIC DETERMINATIONS WITH IMMOBILIZED ENZYMES AND MICROORGANISMS. *Ion-Selective Electrode Rev* 6:15–58
11. Park HS, Kim BH, Kim HS, et al (2001) A novel electrochemically active and Fe(III)-reducing bacterium phylogenetically related to *Clostridium butyricum* isolated from a microbial fuel cell. *Anaerobe* 7:297–306. <https://doi.org/10.1006/anae.2001.0399>
12. Joo Kim H, Soo Park H, Sik Hyun M, et al (2002) A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *Enzyme Microb Technol* 30:145–152
13. Lee SA, Choi Y, Jung S, Kim S (2002) Effect of initial carbon sources on the electrochemical detection of glucose by *Gluconobacter oxydans*. *Bioelectrochemistry* 57:173–178
14. Pandey P, Shinde VN, Deopurkar RL, et al (2016) Recent advances in the use of different substrates in microbial fuel cells toward wastewater treatment and simultaneous energy recovery. *Appl Energy* 168:706–723
15. Petrus L, Noordermeer MA (2006) Biomass to biofuels, a chemical perspective. *Green Chemistry* 8:861–867. <https://doi.org/10.1039/b605036k>
16. Catal T, Li K, Bermek H, Liu H (2008) Electricity production from twelve monosaccharides using microbial fuel cells. *J Power Sources* 175:196–200. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2007.09.083>
17. Catal T, Xu S, Li K, et al (2008) Electricity generation from polyalcohols in single-chamber microbial fuel cells. *Biosens Bioelectron* 24:849–854. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2008.07.015>
18. Yang Q, Wang X, Feng Y, et al (2012) Electricity generation using eight amino acids by air-cathode microbial fuel cells. *Fuel* 102:478–482. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.04.020>
19. Kiely PD, Rader G, Regan JM, Logan BE (2011) Long-term cathode performance and the microbial communities that develop in microbial fuel cells fed different fermentation endproducts. *Bioresour Technol* 102:361–366. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.05.017>
20. Liu H, Cheng S, Logan BE (2005) Production of electricity from acetate or butyrate using a single-chamber microbial fuel cell. *Environ Sci Technol* 39:658–662. <https://doi.org/10.1021/es048927c>
21. Ha PT, Tae B, Chang IS (2008) Performance and bacterial consortium of microbial fuel cell fed with formate. In: *Energy and Fuels*. pp 164–168
22. De Cárcer DA, Ha PT, Jang JK, Chang IS (2011) Microbial community differences between propionate-fed microbial fuel cell systems under open and closed-circuit conditions. *Appl Microbiol Biotechnol* 89:605–612. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2903-x>
23. Futamata H, Bretschger O, Cheung A, et al (2013) Adaptation of soil microbes during establishment of microbial fuel cell consortium fed with lactate. *J Biosci Bioeng* 115:58–63. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2012.07.016>
24. Kim JR, Jung SH, Regan JM, Logan BE (2007) Electricity generation and microbial community analysis of alcohol powered microbial fuel cells. *Bioresour Technol* 98:2568–2577. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.09.036>
25. Hu WJ, Niu CG, Wang Y, et al (2011) Nitrogenous heterocyclic compounds degradation in the microbial fuel cells. *Process Safety and Environmental Protection* 89:133–140. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2010.10.006>
26. Nimje VR, Chen CY, Chen CC, et al (2011) Glycerol degradation in single-chamber microbial fuel cells. *Bioresour Technol* 102:2629–2634. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.062>
27. Song TS, Wu XY, Zhou CC (2014) Effect of different acclimation methods on the performance of microbial fuel cells using phenol as substrate. *Bioprocess Biosyst Eng* 37:133–138. <https://doi.org/10.1007/s00449-013-0975-6>
28. Zakaria BS, Dhar BR (2022) A Review of Stand-Alone and Hybrid Microbial Electrochemical Systems for Antibiotics Removal from Wastewater. *Processes* 10

29. Miran W, Jang J, Nawaz M, et al (2018) Biodegradation of the sulfonamide antibiotic sulfamethoxazole by sulfamethoxazole acclimatized cultures in microbial fuel cells. *Science of the Total Environment* 627:1058–1065. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.326>
30. Xue W, Li F, Zhou Q (2019) Degradation mechanisms of sulfamethoxazole and its induction of bacterial community changes and antibiotic resistance genes in a microbial fuel cell. *Bioresour Technol* 289. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121632>
31. Wu D, Sun F, Chua FJD, Zhou Y (2020) Enhanced power generation in microbial fuel cell by an agonist of electroactive biofilm – Sulfamethoxazole. *Chemical Engineering Journal* 384. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123238>
32. Chen J, Hu Y, Huang W, et al (2018) Biodegradation of oxytetracycline and electricity generation in microbial fuel cell with in situ dual graphene modified bioelectrode. *Bioresour Technol* 270:482–488. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.060>
33. Yan W, Guo Y, Xiao Y, et al (2018) The changes of bacterial communities and antibiotic resistance genes in microbial fuel cells during long-term oxytetracycline processing. *Water Res* 142:105–114. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.047>
34. Wu W, Lesnik KL, Xu S, et al (2014) Impact of tobramycin on the performance of microbial fuel cell. *Microb Cell Fact* 13. <https://doi.org/10.1186/s12934-014-0091-6>
35. Ondon BS, Li S, Zhou Q, Li F (2020) Simultaneous removal and high tolerance of norfloxacin with electricity generation in microbial fuel cell and its antibiotic resistance genes quantification. *Bioresour Technol* 304. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122984>
36. Wang L, You L, Zhang J, et al (2018) Biodegradation of sulfadiazine in microbial fuel cells: Reaction mechanism, biotoxicity removal and the correlation with reactor microbes. *J Hazard Mater* 360:402–411. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.08.021>
37. Catal T, Yavaser S, Enisoglu-Atalay V, et al (2018) Monitoring of neomycin sulfate antibiotic in microbial fuel cells. *Bioresour Technol* 268:116–120. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.122>
38. Bagchi S, Behera M (2020) Evaluating the Effect of the Antibiotic Ampicillin on Performance of a Low-Cost Microbial Fuel Cell. *J Hazard Toxic Radioact Waste* 24:1–6. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE))
39. Wang J, He MF, Zhang D, et al (2017) Simultaneous degradation of tetracycline by a microbial fuel cell and its toxicity evaluation by zebrafish. *RSC Adv* 7:44226–44233. <https://doi.org/10.1039/c7ra07799h>
40. Zhang Q, Zhang Y, Li D (2017) Cometabolic degradation of chloramphenicol via a meta-cleavage pathway in a microbial fuel cell and its microbial community. *Bioresour Technol* 229:104–110. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.026>
41. Sun F, Liu H, Liang B, et al (2013) Reductive degradation of chloramphenicol using bioelectrochemical system (BES): A comparative study of abiotic cathode and biocathode. *Bioresour Technol* 143:699–702. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.084>
42. Cheng D, Ngo HH, Guo W, et al (2020) Performance of microbial fuel cell for treating swine wastewater containing sulfonamide antibiotics. *Bioresour Technol* 311. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123588>
43. Cheng D, Ngo HH, Guo W, et al (2021) Evaluation of a continuous flow microbial fuel cell for treating synthetic swine wastewater containing antibiotics. *Science of the Total Environment* 756. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144133>
44. Topcu Ş, Taşkan E (2021) Effect of the tetracycline antibiotics on performance and microbial community of microbial fuel cell. *Bioprocess Biosyst Eng* 44:595–605. <https://doi.org/10.1007/s00449-020-02473-8>
45. Wang J, Zhou B, Ge R, et al (2018) Degradation characterization and pathway analysis of chlortetracycline and oxytetracycline in a microbial fuel cell. *RSC Adv* 8:28613–28624. <https://doi.org/10.1039/c8ra04904a>
46. Zhou Y, Zhu N, Guo W, et al (2018) Simultaneous electricity production and antibiotics removal by microbial fuel cells. *J Environ Manage* 217:565–572. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.04.013>
47. Xu H, Song HL, Singh RP, et al (2021) Simultaneous reduction of antibiotics leakage and methane emission from constructed wetland by integrating microbial fuel cell. *Bioresour Technol* 320. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124285>
48. Qiu B, Hu Y, Liang C, et al (2020) Enhanced degradation of diclofenac with Ru/Fe modified anode microbial fuel cell: Kinetics, pathways and mechanisms. *Bioresour Technol* 300. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122703>
49. Wu YC, Fu HY, Wen H, et al (2019) Degradation of Diclofenac Sodium in Microbial fuel cells. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Institute of Physics Publishing
50. Morovati R, Hoseini M, Azhdarpoor A, et al (2022) Removal of Diclofenac Sodium from Wastewater in Microbial Fuel Cell by Anode Modified with MnCo₂O₄. *Sustainability (Switzerland)* 14. <https://doi.org/10.3390/su142113907>
51. Xu P, Zheng D, Xie Z, et al (2020) The degradation of ibuprofen in a novel microbial fuel cell with PANi@CNTs/SS bio-anode and CuInS₂ photocatalytic cathode: Property, efficiency and mechanism. *J Clean Prod* 265. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121872>

52. Aguilera Flores MM, Ávila Vázquez V, Medellín Castillo NA, et al (2021) Ibuprofen degradation and energy generation in a microbial fuel cell using a bioanode fabricated from devil fish bone char. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng* 56:874–885. <https://doi.org/10.1080/10934529.2021.1934357>
53. Mbokou SF, Tonle IK, Pontié M (2017) Development of a novel hybrid biofuel cell type APAP/O₂ based on a fungal bioanode with a *Scedosporium dehoogii* biofilm. *J Appl Electrochem* 47:273–280. <https://doi.org/10.1007/s10800-016-1030-5>
54. Shabani M, Pontié M, Younesi H, et al (2021) Biodegradation of acetaminophen and its main by-product 4-aminophenol by *Trichoderma harzianum* versus mixed biofilm of *Trichoderma harzianum*/*Pseudomonas fluorescens* in a fungal microbial fuel cell. *J Appl Electrochem* 51:581–596. <https://doi.org/10.1007/s10800-020-01518-w>
55. Fernando E, Keshavarz T, Kyazze G (2014) External resistance as a potential tool for influencing azo dye reductive decolorisation kinetics in microbial fuel cells. *Int Biodeterior Biodegradation* 89:7–14. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.12.011>
56. Miran W, Rasool K, Nawaz M, et al (2016) Simultaneous electricity production and Direct Red 80 degradation using a dual chamber microbial fuel cell. *Desalination Water Treat* 57:9051–9059. <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1049410>
57. Das A, Mishra S (2019) Complete biodegradation of azo dye in an integrated microbial fuel cell-aerobic system using novel bacterial consortium. *International Journal of Environmental Science and Technology* 16:1069–1078. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-1703-1>
58. Wang Q, Huang L, Quan X, Li Puma G (2019) Sequential anaerobic and electro-Fenton processes mediated by W and Mo oxides for degradation/mineralization of azo dye methyl orange in photo assisted microbial fuel cells. *Appl Catal B* 245:672–680. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2019.01.026>
59. Khan MD, Li D, Tabraiz S, et al (2021) Integrated air cathode microbial fuel cell-aerobic bioreactor set-up for enhanced bioelectrodegradation of azo dye Acid Blue 29. *Science of the Total Environment* 756. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143752>
60. Fernando E, Keshavarz T, Kyazze G (2014) Complete degradation of the azo dye Acid Orange-7 and bioelectricity generation in an integrated microbial fuel cell, aerobic two-stage bioreactor system in continuous flow mode at ambient temperature. *Bioresour Technol* 156:155–162. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.036>
61. Fernando E, Keshavarz T, Kyazze G, Fonseka K (2016) Treatment of colour industry wastewaters with concomitant bioelectricity production in a sequential stacked mono-chamber microbial fuel cells-aerobic system. *Environmental Technology (United Kingdom)* 37:255–264. <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1068378>
62. Han TH, Khan MM, Kalathil S, et al (2013) Simultaneous enhancement of methylene blue degradation and power generation in a microbial fuel cell by gold nanoparticles. *Ind Eng Chem Res* 52:8174–8181. <https://doi.org/10.1021/ie4006244>
63. Khan MZ, Singh S, Sultana S, et al (2015) Studies on the biodegradation of two different azo dyes in bioelectrochemical systems. *New Journal of Chemistry* 39:5597–5604. <https://doi.org/10.1039/c5nj00541h>
64. Fang Z, Song HL, Cang N, Li XN (2013) Performance of microbial fuel cell coupled constructed wetland system for decolorization of azo dye and bioelectricity generation. *Bioresour Technol* 144:165–171. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.073>
65. Fang Z, Song HL, Cang N, Li XN (2015) Electricity production from Azo dye wastewater using a microbial fuel cell coupled constructed wetland operating under different operating conditions. *Biosens Bioelectron* 68:135–141. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.12.047>
66. Fang Z, Song H, Yu R, Li X (2016) A microbial fuel cell-coupled constructed wetland promotes degradation of azo dye decolorization products. *Ecol Eng* 94:455–463. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.06.020>
67. Oon YS, Ong SA, Ho LN, et al (2018) Disclosing the synergistic mechanisms of azo dye degradation and bioelectricity generation in a microbial fuel cell. *Chemical Engineering Journal* 344:236–245. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.03.060>
68. Oon YL, Ong SA, Ho LN, et al (2020) Constructed wetland–microbial fuel cell for azo dyes degradation and energy recovery: Influence of molecular structure, kinetics, mechanisms and degradation pathways. *Science of the Total Environment* 720. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137370>
69. Riccobono G, Pastorella G, Vicari F, et al (2017) Abatement of AO7 in a divided microbial fuel cells by sequential cathodic and anodic treatment powered by different microorganisms. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 799:293–298. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2017.06.003>
70. Long X, Cao X, Liu S, et al (2019) The Azo Dye Degradation and Differences Between the Two Anodes on the Microbial Community in a Double-Anode Microbial Fuel Cell. *Water Air Soil Pollut* 230. <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4325-4>
71. Sun Y, Cheng S, Lin Z, et al (2020) Combination of plasma oxidation process with microbial fuel cell for mineralizing methylene blue with high energy efficiency. *J Hazard Mater* 384. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121307>

72. Cheng CY, Liang FY, Chung YC (2013) Electricity Generation from Crystal Violet Using a Single-Chambered Microbial Fuel Cell Inoculated <i>Aeromonas hydrophila </i>. *Adv Mat Res* 860–863:466–471. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.860-863.466>
73. Ravinuthala S, Nair A V., Sharma N, et al (2022) Co-substrates' influence on bioelectricity production in an azo dye-based microbial fuel cell. *Bioresour Technol Rep* 18. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101012>
74. Yu Y, Ndayisenga F, Yu Z, et al (2019) Co-substrate strategy for improved power production and chlorophenol degradation in a microbial fuel cell. *Int J Hydrogen Energy* 44:20312–20322. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.05.221>
75. Umar MF, Abbas SZ, Mohamad Ibrahim MN, et al (2020) Insights into advancements and electrons transfer mechanisms of electrogens in benthic microbial fuel cells. *Membranes (Basel)* 10:1–18
76. Chaudhuri SK, Lovley DR (2003) Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells. *Nat Biotechnol* 21:1229–1232. <https://doi.org/10.1038/nbt867>
77. Palanisamy G, Jung HY, Sadhasivam T, et al (2019) A comprehensive review on microbial fuel cell technologies: Processes, utilization, and advanced developments in electrodes and membranes. *J Clean Prod* 221:598–621
78. Dos Santos AB, Traverse J, Cervantes FJ, Van Lier JB (2005) Enhancing the electron transfer capacity and subsequent color removal in bioreactors by applying thermophilic anaerobic treatment and redox mediators. *Biotechnol Bioeng* 89:42–52. <https://doi.org/10.1002/bit.20308>
79. Martinez CM, Zhu X, Logan BE (2017) AQDS immobilized solid-phase redox mediators and their role during bioelectricity generation and RR2 decolorization in air-cathode single-chamber microbial fuel cells. *Bioelectrochemistry* 118:123–130. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2017.07.007>
80. Li Y, Liu L, Liu J, et al (2014) PPy/AQS (9, 10-anthraquinone-2-sulfonic acid) and PPy/ARS (Alizarin Red's) modified stainless steel mesh as cathode membrane in an integrated MBR/MFC system. *Desalination* 349:94–101. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2014.06.027>
81. Field JA, Brady J (2003) Riboflavin as a redox mediator accelerating the reduction of the azo dye Mordant Yellow 10 by anaerobic granular sludge. *Water Science and Technology* 48:187–193
82. Sund CJ, McMasters S, Crittenden SR, et al (2007) Effect of electron mediators on current generation and fermentation in a microbial fuel cell. *Appl Microbiol Biotechnol* 76:561–568. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1038-1>
83. Samukaite Bubniene U, Zukauskas S, Ratautaite V, et al (2022) Assessment of Cytochrome c and Chlorophyll a as Natural Redox Mediators for Enzymatic Biofuel Cells Powered by Glucose. *Energies (Basel)* 15. <https://doi.org/10.3390/en15186838>
84. Rabaey K, Verhaege M, Höfte M (2004) Bacteria produce and use redox mediators for electron transfer in microbial fuel cells Sugarcane improvement View project Steering medium chain fatty acids production from organic wastewater with electricity (Horizon 2020 Super-W Network) View project
85. Lin J, Hou Y, Zheng Y, Wang X (2014) Integration of [(Co(bpy) 3] 2+ Electron Mediator with Heterogeneous Photocatalysts for CO 2 Conversion. *Chem Asian J* 9:2468–2474. <https://doi.org/10.1002/asia.201402303>
86. Florio C, Nastro RA, Flagiello F, et al (2019) Biohydrogen production from solid phase-microbial fuel cell spent substrate: A preliminary study. *J Clean Prod* 227:506–511. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.316>
87. Munoz-Cupa C, Hu Y, Xu C, Bassi A (2021) An overview of microbial fuel cell usage in wastewater treatment, resource recovery and energy production. *Science of The Total Environment* 754:142429. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142429>
88. Logan BE (2005) Simultaneous wastewater treatment and biological electricity generation. *Water Science & Technology* 52:31–37
89. Du Z, Li H, Gu T (2007) A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnol Adv* 25:464–482
90. Liu H, Logan BE (2004) Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environ Sci Technol* 38:4040–4046. <https://doi.org/10.1021/es0499344>
91. Sevda S, Dominguez-Benetton X, Vanbroekhoven K, et al (2013) High strength wastewater treatment accompanied by power generation using air cathode microbial fuel cell. *Appl Energy* 105:194–206. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.12.037>
92. Logroño W, Pérez M, Urquizo G, et al (2017) 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* 176:378–388. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.099>
93. Fornero JJ, Rosenbaum M, Angenent LT (2010) Electric power generation from municipal, food, and animal wastewaters using microbial fuel cells. *Electroanalysis* 22:832–843
94. Nosek D, Jachimowicz P, Cydzik-Kwiatkowska A (2020) Anode Modification as an Alternative Approach to Improve Electricity Generation in Microbial Fuel Cells. *Energies (Basel)* 13:6596. <https://doi.org/10.3390/en13246596>

95. Liu H, Ramnarayanan R, Logan BE (2004) Production of Electricity during Wastewater Treatment Using a Single Chamber Microbial Fuel Cell. *Environ Sci Technol* 38:2281–2285. <https://doi.org/10.1021/es034923g>
96. Sun J, Hu Y, Bi Z, Cao Y (2009) Improved performance of air-cathode single-chamber microbial fuel cell for wastewater treatment using microfiltration membranes and multiple sludge inoculation. *J Power Sources* 187:471–479. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2008.11.022>
97. Abourached C, English MJ, Liu H (2016) Wastewater treatment by Microbial Fuel Cell (MFC) prior irrigation water reuse. *J Clean Prod* 137:144–149. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.07.048>
98. Park Y, Nguyen VK, Park S, et al (2018) Effects of anode spacing and flow rate on energy recovery of flat-panel air-cathode microbial fuel cells using domestic wastewater. *Bioresour Technol* 258:57–63. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.097>
99. Borja-Maldonado F, López Zavala MÁ (2022) Contribution of configurations, electrode and membrane materials, electron transfer mechanisms, and cost of components on the current and future development of microbial fuel cells. *Heliyon* 8:e09849. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09849>
100. Moharir PV, Tembhurkar AR (2018) Comparative performance evaluation of novel polystyrene membrane with ultrex as Proton Exchange Membranes in Microbial Fuel Cell for bioelectricity production from food waste. *Bioresour Technol* 266:291–296. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.085>
101. Slate AJ, Whitehead KA, Brownson DAC, Banks CE (2019) Microbial fuel cells: An overview of current technology. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 101:60–81
102. Oh ST, Kim JR, Premier GC, et al (2010) Sustainable wastewater treatment: How might microbial fuel cells contribute. *Biotechnol Adv* 28:871–881
103. Janicek A, Fan Y, Liu H (2014) Design of microbial fuel cells for practical application: A review and analysis of scale-up studies. *Biofuels* 5:79–92
104. He Z, Minteer SD, Angenent LT (2005) Electricity generation from artificial wastewater using an upflow microbial fuel cell. *Environ Sci Technol* 39:5262–5267. <https://doi.org/10.1021/es0502876>
105. Thung WE, Ong SA, Ho LN, et al (2015) Simultaneous wastewater treatment and power generation with innovative design of an upflow membrane-less microbial fuel cell. *Water Air Soil Pollut* 226. <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2410-x>
106. Huang L, Regan JM, Quan X (2011) Electron transfer mechanisms, new applications, and performance of biocathode microbial fuel cells. *Bioresour Technol* 102:316–323. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.096>
107. Huang J, Yang P, Guo Y, Zhang K (2011) Electricity generation during wastewater treatment: An approach using an AFB-MFC for alcohol distillery wastewater. *Desalination* 276:373–378. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.03.077>
108. Naina Mohamed S, Ajit Hiranman P, Muthukumar K, Jayabalan T (2020) Bioelectricity production from kitchen wastewater using microbial fuel cell with photosynthetic algal cathode. *Bioresour Technol* 295. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122226>
109. Ye Y, Ngo HH, Guo W, et al (2019) Feasibility study on a double chamber microbial fuel cell for nutrient recovery from municipal wastewater. *Chemical Engineering Journal* 358:236–242. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.09.215>
110. Choudhury P, Uday USP, Mahata N, et al (2017) Performance improvement of microbial fuel cells for waste water treatment along with value addition: A review on past achievements and recent perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 79:372–389
111. Saba B, Christy AD, Yu Z, Co AC (2017) Sustainable power generation from bacterio-algal microbial fuel cells (MFCs): An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 73:75–84
112. Min B, Logan BE (2004) Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrates in a flat plate microbial fuel cell. *Environ Sci Technol* 38:5809–5814. <https://doi.org/10.1021/es0491026>
113. Cristiani P, Gajda I, Greenman J, et al (2019) Long Term Feasibility Study of In-field Floating Microbial Fuel Cells for Monitoring Anoxic Wastewater and Energy Harvesting. *Front Energy Res* 7. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2019.00119>
114. Mink JE, Qaisi RM, Logan BE, Hussain MM (2014) Energy harvesting from organic liquids in micro-sized microbial fuel cells. *NPG Asia Mater* 6. <https://doi.org/10.1038/am.2014.1>
115. Ringeisen BR, Henderson E, Wu PK, et al (2006) High Power Density from a Miniature Microbial Fuel Cell Using *Shewanella oneidensis* DSP10. *Environ Sci Technol* 40:2629–2634. <https://doi.org/10.1021/es052254w>
116. Wu S, Li H, Zhou X, et al (2016) A novel pilot-scale stacked microbial fuel cell for efficient electricity generation and wastewater treatment. *Water Res* 98:396–403. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.04.043>
117. Oliveira VB, Simões M, Melo LF, Pinto AMFR (2013) Overview on the developments of microbial fuel cells. *Biochem Eng J* 73:53–64
118. Oh SE, Logan BE (2007) Voltage reversal during microbial fuel cell stack operation. *J Power Sources* 167:11–17. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2007.02.016>

119. Mehravanfar H, Mahdavi MA, Gheshlaghi R (2019) Economic optimization of stacked microbial fuel cells to maximize power generation and treatment of wastewater with minimal operating costs. *Int J Hydrogen Energy* 44:20355–20367. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.06.010>
120. Zhang Y, Liu M, Zhou M, et al (2019) Microbial fuel cell hybrid systems for wastewater treatment and bioenergy production: Synergistic effects, mechanisms and challenges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 103:13–29
121. Miyahara M, Hashimoto K, Watanabe K (2013) Use of cassette-electrode microbial fuel cell for wastewater treatment. *J Biosci Bioeng* 115:176–181. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2012.09.003>
122. Flimban SGA, Ismail IMI, Kim T, Oh SE (2019) Overview of recent advancements in the microbial fuel cell from fundamentals to applications: Design, major elements, and scalability. *Energies (Basel)* 12
123. Singh HM, Pathak AK, Chopra K, et al (2019) Microbial fuel cells: a sustainable solution for bioelectricity generation and wastewater treatment. *Biofuels* 10:11–31. <https://doi.org/10.1080/17597269.2017.1413860>
124. Zhang Y, Liu M, Zhou M, et al (2019) Microbial fuel cell hybrid systems for wastewater treatment and bioenergy production: Synergistic effects, mechanisms and challenges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 103:13–29. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.12.027>
125. Zhao S, Yun H, Khan A, et al (2022) Two-stage microbial fuel cell (MFC) and membrane bioreactor (MBR) system for enhancing wastewater treatment and resource recovery based on MFC as a biosensor. *Environ Res* 204. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112089>
126. Wang YP, Liu XW, Li WW, et al (2012) A microbial fuel cell-membrane bioreactor integrated system for cost-effective wastewater treatment. *Appl Energy* 98:230–235. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.03.029>
127. Wang J, Bi F, Ngo HH, et al (2016) Evaluation of energy-distribution of a hybrid microbial fuel cell-membrane bioreactor (MFC-MBR) for cost-effective wastewater treatment. *Bioresour Technol* 200:420–425. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.042>
128. Chen F, Zeng S, Luo Z, et al (2020) A novel MBBR–MFC integrated system for high-strength pulp/paper wastewater treatment and bioelectricity generation. *Separation Science and Technology (Philadelphia)* 55:2490–2499. <https://doi.org/10.1080/01496395.2019.1641519>
129. Ren L, Ahn Y, Logan BE (2014) A two-stage microbial fuel cell and anaerobic fluidized bed membrane bioreactor (MFC-AFMBR) system for effective domestic wastewater treatment. *Environ Sci Technol* 48:4199–4206. <https://doi.org/10.1021/es500737m>
130. Yoo R, Kim J, McCarty PL, Bae J (2012) Anaerobic treatment of municipal wastewater with a staged anaerobic fluidized membrane bioreactor (SAF-MBR) system. *Bioresour Technol* 120:133–139. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.028>
131. Sun M, Mu ZX, Sheng GP, et al (2010) Hydrogen production from propionate in a biocatalyzed system with in-situ utilization of the electricity generated from a microbial fuel cell. *Int Biodeterior Biodegradation* 64:378–382. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.04.004>
132. Zhang G, Zhou Y, Yang F (2019) Hydrogen production from microbial fuel cells-ammonia electrolysis cell coupled system fed with landfill leachate using Mo₂C/N-doped graphene nanocomposite as HER catalyst. *Electrochim Acta* 299:672–681. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.01.055>
133. Chen Z, Niu Y, Zhao S, et al (2016) A novel biosensor for p-nitrophenol based on an aerobic anode microbial fuel cell. *Biosens Bioelectron* 85:860–868. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.06.007>
134. Di Lorenzo M, Thomson AR, Schneider K, et al (2014) A small-scale air-cathode microbial fuel cell for on-line monitoring of water quality. *Biosens Bioelectron* 62:182–188. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.06.050>
135. Catal T, Kul A, Atalay VE, et al (2019) Efficacy of microbial fuel cells for sensing of cocaine metabolites in urine-based wastewater. *J Power Sources* 414:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2018.12.078>
136. Ayyaru S, Dharmalingam S (2014) Enhanced response of microbial fuel cell using sulfonated poly ether ether ketone membrane as a biochemical oxygen demand sensor. *Anal Chim Acta* 818:15–22. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.01.059>
137. Pushkar P, Mungray AK (2020) Exploring the use of 3-dimensional low-cost sugar-urea carbon foam electrode in the benthic microbial fuel cell. *Renew Energy* 147:2032–2042. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.09.142>
138. Peixoto L, Parpot P, Martins G (2019) Assessment of electron transfer mechanisms during a long-term sediment microbial fuel cell operation. *Energies (Basel)* 12. <https://doi.org/10.3390/en12030481>
139. Ren H, Pyo S, Lee JI, et al (2015) A high power density miniaturized microbial fuel cell having carbon nanotube anodes. *J Power Sources* 273:823–830. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2014.09.165>
140. Araneda I, Tapia NF, Allende KL, Vargas IT (2018) Constructed wetland-microbial fuel cells for sustainable greywater treatment. *Water (Switzerland)* 10. <https://doi.org/10.3390/w10070940>
141. Oon YL, Ong SA, Ho LN, et al (2016) Synergistic effect of up-flow constructed wetland and microbial fuel cell for simultaneous wastewater treatment and energy recovery. *Bioresour Technol* 203:190–197. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.12.011>

142. Oon YL, Ong SA, Ho LN, et al (2015) Hybrid system up-flow constructed wetland integrated with microbial fuel cell for simultaneous wastewater treatment and electricity generation. *Bioresour Technol* 186:270–275. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.014>
143. Teoh TP, Ong SA, Ho LN, et al (2020) Up-flow constructed wetland-microbial fuel cell: Influence of floating plant, aeration and circuit connection on wastewater treatment performance and bioelectricity generation. *Journal of Water Process Engineering* 36. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101371>
144. Guadarrama-Pérez O, Gutiérrez-Macías T, García-Sánchez L, et al (2019) Recent advances in constructed wetland-microbial fuel cells for simultaneous bioelectricity production and wastewater treatment: A review. *Int J Energy Res* 43:5106–5127
145. Kim KY, Yang W, Logan BE (2015) Impact of electrode configurations on retention time and domestic wastewater treatment efficiency using microbial fuel cells. *Water Res* 80:41–46. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.05.021>
146. Koók L, Rózsenszki T, Nemestóthy N, et al (2016) Bioelectrochemical treatment of municipal waste liquor in microbial fuel cells for energy valorization. *J Clean Prod* 112:4406–4412. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.06.116>
147. Ge Z, He Z (2016) Long-term performance of a 200-liter modularized microbial fuel cell system treating municipal wastewater: Treatment, energy, and cost. *Environ Sci (Camb)* 2:274–281. <https://doi.org/10.1039/c6ew00020g>
148. Liang P, Duan R, Jiang Y, et al (2018) One-year operation of 1000-L modularized microbial fuel cell for municipal wastewater treatment. *Water Res* 141:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.04.066>
149. Wen Q, Wu Y, Zhao L, Sun Q (2010) Production of electricity from the treatment of continuous brewery wastewater using a microbial fuel cell. *Fuel* 89:1381–1385. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2009.11.004>
150. Mohanakrishna G, Venkata Mohan S, Sarma PN (2010) Bio-electrochemical treatment of distillery wastewater in microbial fuel cell facilitating decolorization and desalination along with power generation. *J Hazard Mater* 177:487–494. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.12.059>
151. Sawasdee V, Pisutpaisal N (2016) Simultaneous pollution treatment and electricity generation of tannery wastewater in air-cathode single chamber MFC. *Int J Hydrogen Energy* 41:15632–15637. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.04.179>
152. Fazli N, Mutamim NSA, Jafri NMA, Ramli NAM (2018) Microbial Fuel Cell (MFC) in treating spent caustic wastewater: Varies in Hydraulic Retention Time (HRT) and Mixed Liquor Suspended Solid (MLSS). *J Environ Chem Eng* 6:4339–4346. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.05.059>
153. Kloch M, Toczyłowska-Maminska R (2020) Toward optimization of wood industry wastewater treatment in microbial fuel cells-mixed wastewaters approach. *Energies (Basel)* 13. <https://doi.org/10.3390/en13010263>
154. Abbasi U, Jin W, Pervez A, et al (2016) Anaerobic microbial fuel cell treating combined industrial wastewater: Correlation of electricity generation with pollutants. *Bioresour Technol* 200:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.088>
155. Ma D, Jiang ZH, Lay CH, Zhou D (2016) Electricity generation from swine wastewater in microbial fuel cell: Hydraulic reaction time effect. *Int J Hydrogen Energy* 41:21820–21826. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.08.019>
156. Srikanth S, Kumar M, Singh D, et al (2016) Electro-biocatalytic treatment of petroleum refinery wastewater using microbial fuel cell (MFC) in continuous mode operation. *Bioresour Technol* 221:70–77. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.034>
157. Penteado ED, Fernandez-Marchante CM, Zaiat M, et al (2016) Influence of sludge age on the performance of MFC treating winery wastewater. *Chemosphere* 151:163–170. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.01.030>
158. Raychaudhuri A, Behera M (2020) Comparative evaluation of methanogenesis suppression methods in microbial fuel cell during rice mill wastewater treatment. *Environ Technol Innov* 17. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100509>
159. Jayashree C, Tamilarasan K, Rajkumar M, et al (2016) Treatment of seafood processing wastewater using upflow microbial fuel cell for power generation and identification of bacterial community in anodic biofilm. *J Environ Manage* 180:351–358. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.05.050>
160. Jamal MT, Pugazhendhi A, Jeyakumar RB (2020) Application of halophiles in air cathode MFC for seafood industrial wastewater treatment and energy production under high saline condition. *Environ Technol Innov* 20. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101119>
161. Luo H, Xu G, Lu Y, et al (2017) Electricity generation in a microbial fuel cell using yogurt wastewater under alkaline conditions. *RSC Adv* 7:32826–32832. <https://doi.org/10.1039/c7ra06131e>
162. Tamilarasan K, Banu JR, Jayashree C, et al (2017) Effect of organic loading rate on electricity generating potential of upflow anaerobic microbial fuel cell treating surgical cotton industry wastewater. *J Environ Chem Eng* 5:1021–1026. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.01.025>
163. Jayashree C, Sweta S, Arulazhagan P, et al (2015) Electricity generation from retting wastewater consisting of recalcitrant compounds using continuous upflow microbial fuel cell. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 20:753–759. <https://doi.org/10.1007/s12257-015-0017-0>

164. Kebaili H, Kameche M, Innocent C, et al (2021) Treatment of fruit waste leachate using microbial fuel cell: Preservation of agricultural environment. *Acta Ecologica Sinica* 41:97–105. <https://doi.org/10.1016/J.CHNAES.2020.09.004>
165. Ceconet D, Molognoni D, Callegari A, Capodaglio AG (2018) Agro-food industry wastewater treatment with microbial fuel cells: Energetic recovery issues. *Int J Hydrogen Energy* 43:500–511. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.07.231>
166. Nguyen HTH, Kakarla R, Min B (2017) Algae cathode microbial fuel cells for electricity generation and nutrient removal from landfill leachate wastewater. *Int J Hydrogen Energy* 42:29433–29442. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.10.011>
167. Sonawane JM, Adeloju SB, Ghosh PC (2017) Landfill leachate: A promising substrate for microbial fuel cells. *Int J Hydrogen Energy* 42:23794–23798. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.03.137>
168. Rani G, Nabi Z, Rajesh Banu J, Yogalakshmi KN (2020) Batch fed single chambered microbial electrolysis cell for the treatment of landfill leachate. *Renew Energy* 153:168–174. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.01.118>
169. Desmond-Le Quémener E, Bridier A, Tian JH, et al (2019) Biorefinery for heterogeneous organic waste using microbial electrochemical technology. *Bioresour Technol* 292. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.12.1943>
170. Li Y, Liu L, Yang F, Ren N (2015) Performance of carbon fiber cathode membrane with C-Mn-Fe-O catalyst in MBR-MFC for wastewater treatment. *J Memb Sci* 484:27–34. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.03.006>
171. Gao C, Liu L, Yang F (2017) Development of a novel proton exchange membrane-free integrated MFC system with electric membrane bioreactor and air contact oxidation bed for efficient and energy-saving wastewater treatment. *Bioresour Technol* 238:472–483. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.086>
172. Marassi RJ, Queiroz LG, Silva DCVR, et al (2020) Performance and toxicity assessment of an up-flow tubular microbial fuel cell during long-term operation with high-strength dairy wastewater. *J Clean Prod* 259. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120882>
173. Shankar R, Mondal P, Singh R, Chand S (2015) Simultaneous electricity production and removal of organics from synthetic wastewater in a continuous membrane less MFC: Effects of process parameters. *Environ Prog Sustain Energy* 34:1404–1413. <https://doi.org/10.1002/ep.12136>
174. Sangcharoen A, Niyom W, Suwannasilp BB (2015) A microbial fuel cell treating organic wastewater containing high sulfate under continuous operation: Performance and microbial community. *Process Biochemistry* 50:1648–1655. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.06.013>
175. Dumas C, Mollica A, Féron D, et al (2007) Marine microbial fuel cell: Use of stainless-steel electrodes as anode and cathode materials. *Electrochim Acta* 53:468–473. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2007.06.069>
176. Liu H, Cheng S, Logan BE (2005) Power generation in fed-batch microbial fuel cells as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration. *Environ Sci Technol* 39:5488–5493. <https://doi.org/10.1021/es050316c>
177. Mustakeem (2015) Electrode materials for microbial fuel cells: Nanomaterial approach. *Mater Renew Sustain Energy* 4
178. Ahn Y, Logan BE (2010) Effectiveness of domestic wastewater treatment using microbial fuel cells at ambient and mesophilic temperatures. *Bioresour Technol* 101:469–475. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.039>
179. Ishii S, Watanabe K, Yabuki S, et al (2008) Comparison of electrode reduction activities of *Geobacter sulfurreducens* and an enriched consortium in an air-cathode microbial fuel cell. *Appl Environ Microbiol* 74:7348–7355. <https://doi.org/10.1128/AEM.01639-08>
180. Rahimnejad M, Adhami A, Darvari S, et al (2015) Microbial fuel cell as new technology for bioelectricity generation: A review. *Alexandria Engineering Journal* 54:745–756
181. Gao C, Wang A, Wu WM, et al (2014) Enrichment of anodic biofilm inoculated with anaerobic or aerobic sludge in single chambered air-cathode microbial fuel cells. *Bioresour Technol* 167:124–132. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.120>
182. Lv Y, Wang Y, Ren Y, et al (2020) Effect of anaerobic sludge on the bioelectricity generation enhancement of bufferless single-chamber microbial fuel cells. *Bioelectrochemistry* 131. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2019.107387>
183. Logan BE, Hamelers B, Rozendal R, et al (2006) Microbial fuel cells: Methodology and technology. *Environ Sci Technol* 40:5181–5192
184. Park Y, Cho H, Yu J, et al (2017) Response of microbial community structure to pre-acclimation strategies in microbial fuel cells for domestic wastewater treatment. *Bioresour Technol* 233:176–183. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.101>
185. Vereá L, Jaramillo-Torres M, Mejía-López M, et al (2016) Development of Gold Electrodes for Microbial Fuel Cells. *Journal of New Materials for Electrochemical Systems* 19:37–42
186. Santoro C, Arbizzani C, Erable B, Ieropoulos I (2017) Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review. *J Power Sources* 356:225–244. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2017.03.109>
187. Das I, Das S, Ghangrekar MM (2020) Application of bimetallic low-cost CuZn as oxygen reduction cathode catalyst in lab-scale and field-scale microbial fuel cell. *Chem Phys Lett* 751. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2020.137536>

188. Jiang L, Chen J, An Y, et al (2020) Enhanced electrochemical performance by nickel-iron layered double hydroxides (LDH) coated on Fe₃O₄ as a cathode catalyst for single-chamber microbial fuel cells. *Science of the Total Environment* 745. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141163>
189. Xin S, Shen J, Liu G, et al (2020) Electricity generation and microbial community of single-chamber microbial fuel cells in response to Cu₂O nanoparticles/reduced graphene oxide as cathode catalyst. *Chemical Engineering Journal* 380. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122446>
190. Li M, Zhou J, Bi YG, et al (2020) Transition metals (Co, Mn, Cu) based composites as catalyst in microbial fuel cells application: The effect of catalyst composition. *Chemical Engineering Journal* 383. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123152>
191. Lu L, Hou D, Fang Y, et al (2016) Nickel based catalysts for highly efficient H₂ evolution from wastewater in microbial electrolysis cells. *Electrochim Acta* 206:381–387. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2016.04.167>
192. Zhao Y, Liu X, Wang X, et al (2017) Peony petal-like 3D graphene-nickel oxide nanocomposite decorated nickel foam as high-performance electrocatalyst for direct glucose alkaline fuel cell. *Int J Hydrogen Energy* 42:29863–29873. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.10.120>
193. Desmond-Le Quéméner E, Rimboud M, Bridier A, et al (2016) Biocathodes reducing oxygen at high potential select biofilms dominated by Ectothiorhodospiraceae populations harboring a specific association of genes. *Bioresour Technol* 214:55–62. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.087>
194. Rimboud M, Barakat M, Achouak W, et al (2021) Oxygen-reducing microbial cathodes in hypersaline electrolyte. *Bioresour Technol* 319. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124165>
195. Wu X, Zhu X, Song T, et al (2015) Effect of acclimatization on hexavalent chromium reduction in a biocathode microbial fuel cell. *Bioresour Technol* 180:185–191. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.105>
196. Kim C, Lee CR, Song YE, et al (2017) Hexavalent chromium as a cathodic electron acceptor in a bipolar membrane microbial fuel cell with the simultaneous treatment of electroplating wastewater. *Chemical Engineering Journal* 328:703–707. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.07.077>
197. Lin CW, Jhan YC, Zhu TJ, Liu SH (2023) Enhancement of chromium (VI) removal and power generation by adding biochar to a single-medium sediment-based microbial fuel cell. *Journal of Water Process Engineering* 53. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2023.103612>
198. Qiu R, Zhang B, Li J, et al (2017) Enhanced vanadium (V) reduction and bioelectricity generation in microbial fuel cells with biocathode. *J Power Sources* 359:379–383. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2017.05.099>
199. Liu H, Zhang B, Yuan H, et al (2017) Microbial reduction of vanadium (V) in groundwater: Interactions with coexisting common electron acceptors and analysis of microbial community. *Environmental Pollution* 231:1362–1369. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.111>
200. Wu Y, Wang L, Jin M, Zhang K (2020) Simultaneous copper removal and electricity production and microbial community in microbial fuel cells with different cathode catalysts. *Bioresour Technol* 305. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123166>
201. Ali J, Wang L, Waseem H, et al (2019) Bioelectrochemical recovery of silver from wastewater with sustainable power generation and its reuse for biofouling mitigation. *J Clean Prod* 235:1425–1437. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.07.065>
202. Choi C, Hu N (2013) The modeling of gold recovery from tetrachloroaurate wastewater using a microbial fuel cell. *Bioresour Technol* 133:589–598. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.143>
203. Modin O, Wang X, Wu X, et al (2012) Bioelectrochemical recovery of Cu, Pb, Cd, and Zn from dilute solutions. *J Hazard Mater* 235–236:291–297. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.07.058>
204. Bagchi S, Behera M (2021) Bioaugmentation using *Pseudomonas aeruginosa* with an approach of intermittent aeration for enhanced power generation in ceramic MFC. *Sustainable Energy Technologies and Assessments* 45. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2021.101138>
205. Narayanasamy S, Jayaprakash J (2018) Improved performance of *Pseudomonas aeruginosa* catalyzed MFCs with graphite/polyester composite electrodes doped with metal ions for azo dye degradation. *Chemical Engineering Journal* 343:258–269. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.02.123>
206. Childers S, Ciufo S, Lovley D (2002) *Geobacter metallireducens* accesses insoluble Fe(III) oxide by chemotaxis. *Nature* 416:767–769
207. Liu S, Feng Y, Li H (2021) Effect of *Geobacter metallireducens* nanowire on electron transfer efficiency in microbial fuel cell. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 98:1333–1355. <https://doi.org/10.1101/2021.07.14.452433>
208. Pagniez H, Berche P (2005) Opportunistic infections caused by *Shewanella*, new emergent bacteria. *Med Mal Infect* 35:186–191
209. Çetinkaya AY, Koroğlu EO, Demir NM, et al (2015) Electricity production by a microbial fuel cell fueled by brewery wastewater and the factors in its membrane deterioration. *Cuihua Xuebao/Chinese Journal of Catalysis* 36:1068–1076. [https://doi.org/10.1016/S1872-2067\(15\)60833-6](https://doi.org/10.1016/S1872-2067(15)60833-6)
210. Wu D, Wang T, Huang X, et al (2015) Perspective of harnessing energy from landfill leachate via microbial fuel cells: novel biofuels and electrogenic physiologies. *Appl Microbiol Biotechnol* 99:7827–7836

211. Pannell TC, Goud RK, Schell DJ, Borole AP (2016) Effect of fed-batch vs. continuous mode of operation on microbial fuel cell performance treating biorefinery wastewater. *Biochem Eng J* 116:85–94. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.04.029>
212. Mashkour M, Rahimnejad M, Mashkour M (2016) Bacterial cellulose-polyaniline nano-biocomposite: A porous media hydrogel bioanode enhancing the performance of microbial fuel cell. *J Power Sources* 325:322–328. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2016.06.063>
213. Langenhoff A, Inderfurth N, Veuskens T, et al (2013) Microbial removal of the pharmaceutical compounds ibuprofen and diclofenac from wastewater. *Biomed Res Int* 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/325806>
214. Siroosi M, Amoozegar MA, Khajeh K (2016) Purification and characterization of an alkaline chloride-tolerant laccase from a halotolerant bacterium, *Bacillus* sp. strain WT. *J Mol Catal B Enzym* 134:89–97. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2016.10.001>
215. Leonowicz A, Cho N, Luterek J, et al (2001) Fungal laccase: properties and activity on lignin. *J Basic Microbiol* 41:185–227. [https://doi.org/10.1002/1521-4028\(200107\)41:3/4<185::AID-JOBM185>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/1521-4028(200107)41:3/4<185::AID-JOBM185>3.0.CO;2-T)
216. Rani M, Shanker U, Chaurasia AK (2017) Catalytic potential of laccase immobilized on transition metal oxides nanomaterials: Degradation of alizarin red S dye. *J Environ Chem Eng* 5:2730–2739. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.05.026>
217. Arrocha AA, Cano-Castillo U, Aguila SA, Vazquez-Duhalt R (2014) Enzyme orientation for direct electron transfer in an enzymatic fuel cell with alcohol oxidase and laccase electrodes. *Biosens Bioelectron* 61:569–574. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2014.06.009>
218. Karaskiewicz M, Majdecka D, Wieckowska A, et al (2014) Induced-fit binding of laccase to gold and carbon electrodes for the biological fuel cell applications. *Electrochim Acta* 126:132–138. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.08.024>
219. Luo H, Jin S, Fallgren PH, et al (2010) A novel laccase-catalyzed cathode for microbial fuel cells. *Chemical Engineering Journal* 165:524–528. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.09.061>
220. Liu SH, Tsai SL, Guo PY, Lin CW (2020) 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* 243:125304. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2019.125304>
221. Zebda A, Gondran C, Le Goff A, et al (2011) Mediatorless high-power glucose biofuel cells based on compressed carbon nanotube-enzyme electrodes. *Nat Commun* 2. <https://doi.org/10.1038/ncomms1365>
222. Bojórquez-Vázquez LA, Cano-Castillo U, Vazquez-Duhalt R (2018) Membrane-less enzymatic fuel cell operated under acidic conditions. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 830–831:56–62. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.10.027>
223. Lai CY, Wu CH, Meng CT, Lin CW (2017) Decolorization of azo dye and generation of electricity by microbial fuel cell with laccase-producing white-rot fungus on cathode. *Appl Energy* 188:392–398. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.12.044>
224. Wilkinson S, Klar J, Applegarth S (2006) Optimizing biofuel cell performance using a targeted mixed mediator combination. *Electroanalysis* 18:2001–2007. <https://doi.org/10.1002/elan.200603621>
225. Hubenova Y, Mitov M (2015) Extracellular electron transfer in yeast-based biofuel cells: A review. *Bioelectrochemistry* 106:177–185. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2015.04.001>
226. Prasad D, Arun S, Murugesan M, et al (2007) Direct electron transfer with yeast cells and construction of a mediatorless microbial fuel cell. *Biosens Bioelectron* 22:2604–2610. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2006.10.028>
227. Morath SU, Hung R, Bennett JW (2012) Fungal volatile organic compounds: A review with emphasis on their biotechnological potential. *Fungal Biol Rev* 26:73–83
228. Marco-Urrea E, Pérez-Trujillo M, Vicent T, Caminal G (2009) Ability of white-rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by *Trametes versicolor*. *Chemosphere* 74:765–772. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.10.040>
229. Pollegioni L, Tonin F, Rosini E (2015) Lignin-degrading enzymes. *FEBS Journal* 282:1190–1213
230. Sekrecka-Belniak A, Toczyłowska-Maminska R (2018) Fungi-based microbial fuel cells. *Energies (Basel)* 11
231. Sayed ET, Abdelkareem MA (2017) Yeast as a Biocatalyst in Microbial Fuel Cell. In: *Old Yeasts - New Questions*. InTech
232. Simões MF, Maiorano AE, dos Santos JG, et al (2019) Microbial fuel cell-induced production of fungal laccase to degrade the anthraquinone dye Remazol Brilliant Blue R. *Environ Chem Lett* 17:1413–1420. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00876-y>
233. Morant KV, da Silva PH, de Campos-Takaki GM, La Rotta Hernández CE (2014) Isolation and bioelectrochemical characterization of novel fungal sources with oxidasic activity applied in situ for the cathodic oxygen reduction in microbial fuel cells. *Enzyme Microb Technol* 66:20–27. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2014.07.007>
234. Sané S, Jolival C, Mittler G, et al (2013) Overcoming bottlenecks of enzymatic biofuel cell cathodes: Crude fungal culture supernatant can help to extend lifetime and reduce cost. *ChemSusChem* 6:1209–1215. <https://doi.org/10.1002/cssc.201300205>

235. Osman ME, Khattab O-KH, A.A. AE, S. AB (2018) Acid Black 172 Dye Decolorization and Bioelectricity Generation by Microbial Fuel Cell with Filamentous Fungi on Anode. *Biosci Biotechnol Res Asia* 15:981–986. <https://doi.org/10.13005/bbra/2710>
236. Kasem ET, Tsujiguchi T, Nakagawa N (2013) Effect of Metal Modification to Carbon Paper Anodes on the Performance of Yeast-Based Microbial Fuel Cells Part I: In the Case without Exogenous Mediator. *Key Eng Mater* 534:76–81. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.534.76>
237. Kasem ET, Tsujiguchi T, Nakagawa N (2013) Effect of metal modification to carbon paper anodes on the performance of yeast-based microbial fuel cells part II: In the case with exogenous mediator, methylene blue. In: *Key Engineering Materials*. Trans Tech Publications Ltd, pp 82–87
238. Christwardana M, Kwon Y (2017) Yeast and carbon nanotube-based biocatalyst developed by synergetic effects of covalent bonding and hydrophobic interaction for performance enhancement of membraneless microbial fuel cell. *Bioresour Technol* 225:175–182. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.051>
239. Gal I, Schlesinger O, Amir L, Alfonta L (2016) Yeast surface display of dehydrogenases in microbial fuel-cells. *Bioelectrochemistry* 112:53–60. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2016.07.006>
240. Walker CW, Walker AL (2006) Biological Fuel Cell Functional as an Active or Reserve Power Source
241. Permana D, Rosdianti D, Ishmayana S, et al (2015) Preliminary Investigation of Electricity Production Using Dual Chamber Microbial Fuel Cell (DCMFC) with *Saccharomyces Cerevisiae* as Biocatalyst and Methylene Blue as an Electron Mediator. *Procedia Chem* 17:36–43. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.12.123>
242. Gunawardena A, Fernando S, To F (2008) Performance of a yeast-mediated biological fuel cell. *Int J Mol Sci* 9:1893–1907. <https://doi.org/10.3390/ijms9101893>
243. Hubenova Y, Mitov M (2010) Potential application of *Candida melibiosica* in biofuel cells. *Bioelectrochemistry* 78:57–61. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2009.07.005>
244. Babanova S, Hubenova Y, Mitov M (2011) Influence of artificial mediators on yeast-based fuel cell performance. *J Biosci Bioeng* 112:379–387. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.06.008>
245. Hubenova Y V., Rashkov RS, Buchvarov VD, et al (2011) Improvement of Yeast–Biofuel Cell Output by Electrode Modifications. *Ind Eng Chem Res* 50:557–564. <https://doi.org/10.1021/ie1000949>
246. Kannan N, Donnellan P (2021) Algae-assisted microbial fuel cells: A practical overview. *Bioresour Technol Rep* 15:100747. <https://doi.org/10.1016/J.BITEB.2021.100747>
247. Li M, Zhou M, Luo J, et al (2019) Carbon dioxide sequestration accompanied by bioenergy generation using a bubbling-type photosynthetic algae microbial fuel cell. *Bioresour Technol* 280:95–103. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2019.02.038>
248. Zhang Y, Zhao Y, Zhou M (2019) A photosynthetic algal microbial fuel cell for treating swine wastewater. *Environmental Science and Pollution Research* 26:6182–6190. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3960-4>
249. Bazdar E, Roshandel R, Yaghmaei S, Mardanpour MM (2018) The effect of different light intensities and light/dark regimes on the performance of photosynthetic microalgae microbial fuel cell. *Bioresour Technol* 261:350–360. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2018.04.026>
250. Kakarla R, Min B (2014) Photoautotrophic microalgae *Scenedesmus obliquus* attached on a cathode as oxygen producers for microbial fuel cell (MFC) operation. *Int J Hydrogen Energy* 39:10275–10283. <https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2014.04.158>
251. Kondaveeti S, Choi KS, Kakarla R, Min B (2014) Microalgae *Scenedesmus obliquus* as renewable biomass feedstock for electricity generation in microbial fuel cells (MFCs). *Front Environ Sci Eng* 8:784–791. <https://doi.org/10.1007/s11783-013-0590-4>
252. Naina Mohamed S, Jayabalan T, Muthukumar K (2023) Simultaneous bioenergy generation and carbon dioxide sequestration from food wastewater using algae microbial fuel cell. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects* 45:2913–2921. <https://doi.org/10.1080/15567036.2019.1666932>
253. Hou Q, Nie C, Pei H, et al (2016) The effect of algae species on the bioelectricity and biodiesel generation through open-air cathode microbial fuel cell with kitchen waste anaerobically digested effluent as substrate. *Bioresour Technol* 218:902–908. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.035>
254. Banerjee A, Calay RK, Eregno FE (2022) Role and Important Properties of a Membrane with Its Recent Advancement in a Microbial Fuel Cell. *Energies (Basel)* 15
255. Zhang F, Pant D, Logan BE (2011) Long-term performance of activated carbon air cathodes with different diffusion layer porosities in microbial fuel cells. *Biosens Bioelectron* 30:49–55. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.08.025>
256. Flimban SGA, Hassan SHA, Rahman MM, Oh SE (2020) The effect of Nafion membrane fouling on the power generation of a microbial fuel cell. *Int J Hydrogen Energy* 45:13643–13651. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.02.097>
257. Venkatramanan V, Shah S, Prasad R (2021) A Critical Review on Microbial Fuel Cells Technology: Perspectives on Wastewater Treatment. *Open Biotechnol J* 15:131–141. <https://doi.org/10.2174/1874070702115010131>
258. Kim YS, Lee KS (2015) Fuel cell membrane characterizations. *Polymer Reviews* 55:330–370

259. Shabani M, Younesi H, Pontié M, et al (2020) A critical review on recent proton exchange membranes applied in microbial fuel cells for renewable energy recovery. *J Clean Prod* 264:121446. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121446>
260. Ramirez-Nava J, Martínez-Castrejón M, García-Mesino RL, et al (2021) The implications of membranes used as separators in microbial fuel cells. *Membranes (Basel)* 11
261. Saravanan N, Karthikeyan M (2017) STUDY OF SINGLE CHAMBER AND DOUBLE CHAMBER EFFICIENCY AND LOSSES OF WASTEWATER TREATMENT. *International Research Journal of Engineering and Technology*
262. Sethuraman VA, Khan S, Jur JS, et al (2009) Measuring Oxygen, Carbon Monoxide and Hydrogen Sulfide Diffusion Coefficient and Solubility in Nafion Membranes
263. Shao Y, Yin G, Gao Y (2007) Understanding and approaches for the durability issues of Pt-based catalysts for PEM fuel cell. *J Power Sources* 171:558–566
264. Mauritz KA, Moore RB (2004) State of understanding of Nafion. *Chem Rev* 104:4535–4585. <https://doi.org/10.1021/cr0207123>
265. Hickner MA, Ghassemi H, Kim YS, et al (2004) Alternative polymer systems for proton exchange membranes (PEMs). *Chem Rev* 104:4587–4611. <https://doi.org/10.1021/cr020711a>
266. Majsztik P, Bocarsly A, Benziger J (2008) Water permeation through nafion membranes: the role of water activity. *Journal of Physical Chemistry B* 112:16280–16289. <https://doi.org/10.1021/jp804197x>
267. Bessarabov D, Kozak P (2007) Measurement of gas permeability in SPE membranes for use in fuel cells. *Membrane Technology* 6–9
268. Vandiver MA, Caire BR, Pandey TP, et al (2016) Effect of hydration on the mechanical properties and ion conduction in a polyethylene-b-poly(vinylbenzyl trimethylammonium) anion exchange membrane. *J Memb Sci* 497:67–76. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.09.034>
269. Desmarteau DD (1995) Novel perfluorinated ionomers and ionenes
270. Savett SC, Atkins JR, Sides CR, et al (2002) A Comparison of Bis[(perfluoroalkyl)sulfonyl]imide Ionomers and Perfluorosulfonic Acid Ionomers for Applications in PEM Fuel-Cell Technology. *J Electrochem Soc* 149:A1527. <https://doi.org/10.1149/1.1516218>
271. Uematsu N, Hoshi N, Koga T, Ikeda M (2006) Synthesis of novel perfluorosulfonamide monomers and their application. *J Fluor Chem* 127:1087–1095. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2006.05.015>
272. Sauguet L, Ameduri B, Boutevin B (2006) Fluorinated, crosslinkable terpolymers based on vinylidene fluoride and bearing sulfonic acid side groups for fuel-cell membranes. *J Polym Sci A Polym Chem* 44:4566–4578. <https://doi.org/10.1002/pola.21551>
273. Yandrasits M, Lindell M, Peppin D, et al (2018) Chemical Stability of Perfluorobis(sulfonyl)imide-Acid (PFIA) Ionomers in Open Circuit Voltage (OCV) Accelerated Test Conditions. *J Electrochem Soc* 165:F3261–F3270. <https://doi.org/10.1149/2.0301806jes>
274. Subianto S, Pica M, Casciola M, et al (2013) Physical and chemical modification routes leading to improved mechanical properties of perfluorosulfonic acid membranes for PEM fuel cells. *J Power Sources* 233:216–230. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2012.12.121>
275. Hamrock S (2010) Membranes and MEA's for Dry, Hot Operating Conditions
276. Greso AJ, Moore RB, Cable KM, et al (1997) Chemical modification of a Nafion® sulfonyl fluoride precursor via in situ sol-gel reactions. *Polymer (Guildf)* 38:1345–1356
277. Bae B, Ha HY, Kim D (2006) Nafion®-graft-polystyrene sulfonic acid membranes for direct methanol fuel cells. *J Memb Sci* 276:51–58. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2005.09.030>
278. Moore R, Martin C (1986) Procedure for Preparing Solution-Cast Perfluorosulfonate Ionomer Films and Membranes
279. Gebel G, Pineri M (1987) Table I Swelling Rates (%) of As-Received and Reconstructed PFSI Membranes in Several Polar Solvents with 2EE (Sample 1) and NMF (Sample 2) as Additional Solvents. *Macromolecules* 20:1425–1428
280. Nouel KM, Fedkiw PS (1998) Nafion®-based composite polymer electrolyte membranes. *Electrochim Acta* 43:2381–2387
281. Zhang X, Trieu D, Zheng D, et al (2021) Nafion/PTFE Composite Membranes for a High Temperature PEM Fuel Cell Application. *Ind Eng Chem Res* 60:11086–11094. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.1c01447>
282. Shim J, Ha Y, Hong S-A, Oh I-H (2002) Characteristics of the Nafion ionomer-impregnated composite membrane for polymer electrolyte fuel cells. *J Power Sources* 109:412–417
283. Tang H, Wang X, Pan M, Wang F (2007) Fabrication and characterization of improved PFSA/ePTFE composite polymer electrolyte membranes. *J Memb Sci* 306:298–306. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2007.09.008>
284. Shin JP, Chang BJ, Kim JH, et al (2005) Sulfonated polystyrene/PTFE composite membranes. *J Memb Sci* 251:247–254. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2004.09.050>

285. Xing DM, Yi BL, Liu FQ, et al (2005) Characterization of sulfonated poly(ether ether ketone)/polytetrafluoroethylene composite membranes for fuel cell applications. *Fuel Cells* 5:406–411. <https://doi.org/10.1002/fuce.200500089>
286. Haufe S, Stimming U (2001) Proton conducting membranes based on electrolyte filled microporous matrices
287. Curtin DE, Lousenberg RD, Henry TJ, et al (2004) Advanced materials for improved PEMFC performance and life. *J Power Sources* 131:41–48. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2004.01.023>
288. Ren P, Pei P, Li Y, et al (2020) Degradation mechanisms of proton exchange membrane fuel cell under typical automotive operating conditions. *Prog Energy Combust Sci* 80:100859. <https://doi.org/10.1016/j.peccs.2020.100859>
289. Yu TH, Sha Y, Liu W-G, et al (2011) Mechanism for Degradation of Nafion in PEM Fuel Cells from Quantum Mechanics Calculations. *J Am Chem Soc* 133:19857–19863. <https://doi.org/10.1021/ja2074642>
290. Xiao S, Zhang H, Bi C, et al (2010) Degradation location study of proton exchange membrane at open circuit operation. *J Power Sources* 195:5305–5311. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2010.03.010>
291. Wang F, Tang H, Pan M, Li D (2008) Ex situ investigation of the proton exchange membrane chemical decomposition. *Int J Hydrogen Energy* 33:2283–2288. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.01.052>
292. Kundu S, Fowler MW, Simon LC, et al (2008) Degradation analysis and modeling of reinforced catalyst coated membranes operated under OCV conditions. *J Power Sources* 183:619–628. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2008.05.074>
293. Xu K, Pei S, Zhang W, et al (2022) Chemical stability of proton exchange membranes synergistically promoted by organic antioxidant and inorganic radical scavengers. *J Memb Sci* 655:120594. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2022.120594>
294. Lee H, Han M, Choi YW, Bae B (2015) Hydrocarbon-based polymer electrolyte cerium composite membranes for improved proton exchange membrane fuel cell durability. *J Power Sources* 295:221–227. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2015.07.001>
295. Liu X, Li Y, Li M, et al (2021) Durability enhancement of proton exchange membrane fuel cells by ferrocyanide or ferricyanide additives. *J Memb Sci* 629. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2021.119282>
296. Parnian MJ, Rowshanzamir S, Prasad AK, Advani SG (2018) Effect of ceria loading on performance and durability of sulfonated poly (ether ether ketone) nanocomposite membranes for proton exchange membrane fuel cell applications. *J Memb Sci* 565:342–357. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2018.08.029>
297. Taghizadeh MT, Vatanparast M (2016) Preparation and evaluation of Nafion/SnO₂ nanocomposite for improving the chemical durability of proton exchange membranes in fuel cells. *RSC Adv* 6:56819–56826. <https://doi.org/10.1039/c6ra07849d>
298. Taghizadeh MT, Vatanparast M (2016) Ultrasonic-assisted synthesis of ZrO₂ nanoparticles and their application to improve the chemical stability of Nafion membrane in proton exchange membrane (PEM) fuel cells. *J Colloid Interface Sci* 483:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.08.014>
299. Park J, Park Y, Kim D (2019) Chemical stability enhancement of crown ether grafted sulfonated poly(arylene ether ketone) fuel cell membrane by cerium ion fixation. *J Polym Sci A Polym Chem* 57:101–109. <https://doi.org/10.1002/pola.29271>
300. Weissbach T, Peckham TJ, Holdcroft S (2016) CeO₂, ZrO₂ and YSZ as mitigating additives against degradation of proton exchange membranes by free radicals. *J Memb Sci* 498:94–104. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.10.004>
301. D'Urso C, Oldani C, Baglio V, et al (2017) Fuel cell performance and durability investigation of bimetallic radical scavengers in Aquivion® perfluorosulfonic acid membranes. *Int J Hydrogen Energy* 42:27987–27994. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.07.111>
302. Zhang H, Sun C (2021) Cost-effective iron-based aqueous redox flow batteries for large-scale energy storage application: A review. *J Power Sources* 493
303. Hernández-Flores G, Poggi-Varaldo HM, Solorza-Feria O (2016) Comparison of alternative membranes to replace high cost Nafion ones in microbial fuel cells. *Int J Hydrogen Energy* 41:23354–23362. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.08.206>
304. Gebel G (2000) Structural evolution of water swollen perfluorosulfonated ionomers from dry membrane to solution. *Polymer (Guildf)* 41:5829–5838. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(99\)00770-3](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(99)00770-3)
305. Maiyalagan T, Pasupathi S (2010) Components for PEM Fuel Cells: An Overview. *Materials Science Forum* 657:143–189. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.657.143>
306. Yu TH, Sha Y, Liu W-G, et al (2011) Mechanism for Degradation of Nafion in PEM Fuel Cells from Quantum Mechanics Calculations. *J Am Chem Soc* 133:19857–19863. <https://doi.org/10.1021/ja2074642>
307. Gierke TD, Munn GE, Wilson FC, Du Pont EI (1981) The Morphology in Nafion® Perfluorinated Membrane Products, as Determined by Wide- and Small-Angle X-Ray Studies. *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition* 19:1687–1704
308. Gierke TD, HSU WY (1982) The Cluster—Network Model of Ion Clustering in Perfluorosulfonated Membranes. In: *In Perfluorinated Ionomer Membranes*. pp 283–307

309. Ishimoto T, Koyama M (2012) A review of molecular-level mechanism of membrane degradation in the polymer electrolyte fuel cell. *Membranes (Basel)* 2:395–414
310. Thomas A, Zawodzinski J, Neeman M, et al (1991) Perfluorosulfonate Ionomeric Membranes. *J Phys Chem* 95:6040–6044
311. Wang L, Kang J, Nam J-D, et al (2014) Composite Membrane Based on Graphene Oxide Sheets and Nafion for Polymer Electrolyte Membrane Fuel Cells. *ECS Electrochemistry Letters* 4:F1–F4. <https://doi.org/10.1149/2.0021501eel>
312. Khomein P, Ketelaars W, Lap T, Liu G (2021) Sulfonated aromatic polymer as a future proton exchange membrane: A review of sulfonation and crosslinking methods. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 137
313. Zhang H, Shen PK (2012) Advances in the high-performance polymer electrolyte membranes for fuel cells. *Chem Soc Rev* 41:2382–2394. <https://doi.org/10.1039/c2cs15269j>
314. Ayyaru S, Dharmalingam S (2011) Development of MFC using sulphonated polyether ether ketone (SPEEK) membrane for electricity generation from waste water. *Bioresour Technol* 102:11167–11171. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.09.021>
315. Narducci R, Di Vona ML, Knauth P (2014) Cation-conducting ionomers made by ion exchange of sulfonated poly-ether-ether-ketone: Hydration, mechanical and thermal properties and ionic conductivity. *J Memb Sci* 465:185–192. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2014.03.073>
316. von Kraemer S, Lindbergh G, Lafitte B, et al (2008) Substitution of Nafion with Sulfonated Polysulfone in Membrane–Electrode Assembly Components for 60–120°C PEMFC Operation. *J Electrochem Soc* 155:B1001. <https://doi.org/10.1149/1.2959113>
317. Chen XY, Vinh-Thang H, Ramirez AA, et al (2015) Membrane gas separation technologies for biogas upgrading. *RSC Adv* 5:24399–24448
318. Sun F, Yang J, Shen Q, et al (2021) Conductive polyethersulfone membrane facilely prepared by simultaneous phase inversion method for enhanced anti-fouling and separation under low driven-pressure. *J Environ Manage* 297. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113363>
319. Woo Y, Oh SY, Kang YS, Jung B (2003) Synthesis and characterization of sulfonated polyimide membranes for direct methanol fuel cell. *J Memb Sci* 220:31–45. [https://doi.org/10.1016/S0376-7388\(03\)00185-6](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(03)00185-6)
320. Xia Z, Xu H, Guo X, Fang J (2011) Synthesis and properties of sulfonated polyimide/polybenzimidazole cross-linked membranes for fuel cell applications. In: *Advanced Materials Research*. pp 2516–2521
321. Chen RM, Xu FZ, Fu K, et al (2018) Enhanced proton conductivity and dimensional stability of proton exchange membrane based on sulfonated poly(arylene ether sulfone) and graphene oxide. *Mater Res Bull* 103:142–149. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2018.02.036>
322. Nor NAM, Tamura K, Jaafar J, et al (2021) A novel imogolite-reinforced sulfonated polyphenylsulfone as proton exchange membrane in fuel cell applications. *J Environ Chem Eng* 9. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105641>
323. Shiino K, Otomo T, Yamada T, et al (2020) Structural Investigation of Sulfonated Polyphenylene Ionomers for the Design of Better Performing Proton-Conductive Membranes. *ACS Appl Polym Mater* 2:5558–5565. <https://doi.org/10.1021/acsapm.0c00895>
324. Kim Y, Shin SH, Chang IS, Moon SH (2014) Characterization of uncharged and sulfonated porous poly(vinylidene fluoride) membranes and their performance in microbial fuel cells. *J Memb Sci* 463:205–214. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2014.03.061>
325. Üçtuğ FG, Nijem J (2017) Effect of polymer sulfonation on the proton conductivity and fuel cell performance of polyvinylalcohol-mordenite direct methanol fuel cell membranes. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering* 12:682–693. <https://doi.org/10.1002/apj.2105>
326. Chae KJ, Choi M, Ajayi FF, et al (2008) Mass transport through a proton exchange membrane (Nafion) in microbial fuel cells. In: *Energy and Fuels*. pp 169–176
327. Rybak A, Rybak A, Boncel S, et al (2022) Hybrid organic-inorganic membranes based on sulfonated poly(ether ether ketone) matrix and iron-encapsulated carbon nanotubes and their application in CO₂ separation. *RSC Adv* 12:13367–13380. <https://doi.org/10.1039/d2ra01585d>
328. Lin CX, Huang XL, Guo D, et al (2016) Side-chain-type anion exchange membranes bearing pendant quaternary ammonium groups: Via flexible spacers for fuel cells. *J Mater Chem A Mater* 4:13938–13948. <https://doi.org/10.1039/c6ta05090e>
329. Mokhtarian N, Ghasemi M, Wan Daud WR, et al (2013) Improvement of microbial fuel cell performance by using nafion polyaniline composite membranes as a separator. *J Fuel Cell Sci Technol* 10. <https://doi.org/10.1115/1.4024866>
330. Merino-Jimenez I, Gonzalez-Juarez F, Greenman J, Ieropoulos I (2019) Effect of the ceramic membrane properties on the microbial fuel cell power output and catholyte generation. *J Power Sources* 429:30–37. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2019.04.043>
331. Kochetova N, Animitsa I, Medvedev D, et al (2016) Recent activity in the development of proton-conducting oxides for high-temperature applications. *RSC Adv* 6:73222–73268

332. Das I, Das S, Dixit R, Ghangrekar MM (2020) Goethite supplemented natural clay ceramic as an alternative proton exchange membrane and its application in microbial fuel cell. *Ionics (Kiel)* 26:3061–3072. <https://doi.org/10.1007/s11581-020-03472-1>
333. Chen SL, Bocarsly AB, Benziger J (2005) Nafion-layered sulfonated polysulfone fuel cell membranes. *J Power Sources* 152:27–33. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2005.03.214>
334. Wang H, Zhao Y, Shao Z, et al (2021) Proton Conduction of Nafion Hybrid Membranes Promoted by NH₃-Modified Zn-MOF with Host-Guest Collaborative Hydrogen Bonds for H₂/O₂Fuel Cell Applications. *ACS Appl Mater Interfaces* 13:7485–7497. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c21840>
335. Choi HJ, Youn C, Kim SC, et al (2022) Nafion/functionalized metal–organic framework composite membrane for vanadium redox flow battery. *Microporous and Mesoporous Materials* 341. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2022.112054>
336. Lee HU, Park C, Park JY (2016) Highly conductive and flexible chitosan based multi-wall carbon nanotube/polyurethane composite fibers. *RSC Adv* 6:2149–2154. <https://doi.org/10.1039/c5ra23791b>
337. Aziz MA, Shanmugam S (2017) Zirconium oxide nanotube–Nafion composite as high-performance membrane for all vanadium redox flow battery. *J Power Sources* 337:36–44. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2016.10.113>
338. Teng X, Zhao Y, Xi J, et al (2009) Nafion/organic silica modified TiO₂ composite membrane for vanadium redox flow battery via in situ sol-gel reactions. *J Memb Sci* 341:149–154. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2009.05.051>
339. Simonov AS, Kondratenko MS, Elmanovich I V., et al (2018) Modification of Nafion with silica nanoparticles in supercritical carbon dioxide for electrochemical applications. *J Memb Sci* 564:106–114. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2018.06.042>
340. Beauger C, Lainé G, Burr A, et al (2015) Improvement of Nafion®-sepiolite composite membranes for PEMFC with sulfo-fluorinated sepiolite. *J Memb Sci* 495:392–403. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.08.014>
341. Wu XW, Wu N, Shi CQ, et al (2016) Proton conductive montmorillonite-Nafion composite membranes for direct ethanol fuel cells. *Appl Surf Sci* 388:239–244. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.01.171>
342. Sizov VE, Zefirov V V., Abramchuk SS, et al (2020) Composite Nafion-based membranes with nanosized tungsten oxides prepared in supercritical carbon dioxide. *J Memb Sci* 609. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2020.118244>
343. Yurova PA, Malakhova VR, Gerasimova E V., et al (2021) Nafion/surface modified ceria hybrid membranes for proton exchange fuel cell application. *Polymers (Basel)* 13. <https://doi.org/10.3390/polym13152513>
344. Zhang Y, Wang H, Qian P, et al (2021) Hybrid proton exchange membrane of sulfonated poly(ether ether ketone) containing polydopamine-coated carbon nanotubes loaded phosphotungstic acid for vanadium redox flow battery. *J Memb Sci* 625. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2021.119159>
345. Angioni S, Millia L, Bruni G, et al (2016) Improving the performances of Nafion™-based membranes for microbial fuel cells with silica-based, organically-functionalized mesostructured fillers. *J Power Sources* 334:120–127. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2016.10.014>
346. Sun X, Simonsen SC, Norby T, Chatzidakis A (2019) Composite membranes for high temperature PEM fuel cells and electrolyzers: A critical review. *Membranes (Basel)* 9. <https://doi.org/10.3390/membranes9070083>
347. Evans CM, Singh MR, Lynd NA, Segalman RA (2015) Improving the gas barrier properties of nafion via thermal annealing: Evidence for diffusion through hydrophilic channels and matrix. *Macromolecules* 48:3303–3309. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.5b00579>
348. Cai YY, Yang Q, Zhu ZY, et al (2019) Achieving efficient proton conduction in a MOF-based proton exchange membrane through an encapsulation strategy. *J Memb Sci* 590. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2019.117277>
349. Yin C, He C, Liu Q, et al (2019) Free volume, gas permeation, and proton conductivity in MIL-101-SO₃H/Nafion composite membranes. *Physical Chemistry Chemical Physics* 21:25982–25992. <https://doi.org/10.1039/c9cp04832d>
350. Rosli NAH, Loh KS, Wong WY, et al (2021) Hybrid composite membrane of phosphorylated chitosan/ poly (Vinyl alcohol)/silica as a proton exchange membrane. *Membranes (Basel)* 11. <https://doi.org/10.3390/membranes11090675>
351. Kim H, Kabir MDL, Choi S-J (2019) Imparting High Proton Conductivity to Nafion® Tuned by Acidic Chitosan for Low-Temperature Proton Exchange Membrane Fuel Cell Applications. *J Nanosci Nanotechnol* 19:6625–6629. <https://doi.org/10.1166/jnn.2019.17081>
352. Hambardzumyan A, Vayer M, Foulon L, et al (2022) Nafion membranes reinforced by cellulose nanocrystals for fuel cell applications: aspect ratio and heat treatment effects on physical properties. *J Mater Sci* 57:4684–4703. <https://doi.org/10.1007/s10853-022-06921-6i>
353. Yang XB, Zhao L, Goh K, et al (2019) Ultra-High Ion Selectivity of a Modified Nafion Composite Membrane for Vanadium Redox Flow Battery by Incorporation of Phosphotungstic Acid Coupled UiO-66-NH₂. *ChemistrySelect* 4:4633–4641. <https://doi.org/10.1002/slct.201900888>

I. Généralités

Le *fouling*, traduisible par « encrassement », est un phénomène complexe et nuisible relié au dépôt et à l'accumulation de matières indésirables sur les surfaces d'équipements industriels, comme les échangeurs thermiques ([1] ; [2]), les membranes de filtration et les membranes échangeuses d'ions [3].

Le *fouling* de membrane est un phénomène courant et un problème majeur dans les applications industrielles (production d'énergie, industries alimentaire, pétrolière et gazière) et environnementales impliquant des systèmes de filtration ou de séparation membranaire, comme l'ultrafiltration ([4] ; [5]), la microfiltration ([6] ; [7]), la nanofiltration ([8] ; [9]), l'osmose inverse ([10] ; [11]) et la pervaporation ([12] ; [13]).

Les membranes échangeuses d'ions sont également touchées, impactant certaines applications électrochimiques ([14] ; [15]). Le *fouling* est un phénomène délétère pour les performances et la durabilité des piles microbiennes (MFC) ([16] ; [17] ; [3]), des cellules d'électrolyse classiques ([18] ; [19]) ou microbiennes ([20] ; [21]), des cellules de dessalement microbiennes ([22] ; [23]), et des bioréacteurs à membranes (MBR) utilisés seuls ([24] ; [25]), couplés à une MFC ([26] ; [27]) ou à une cellule d'électrolyse microbienne ([28] ; [29]).

Les membranes échangeuses de cations ([30] ; [22] ; [31]), de protons [32], d'anions ([33] ; [23] ; [18]) ainsi que les cathodes pour les piles microbiennes ([34] ; [35]) sont des éléments particulièrement vulnérables.

Le *fouling* existe sous trois grandes formes : le *fouling* physique, le *fouling* chimique ou le *fouling* biologique, aussi nommé « *biofouling* ».

Le *fouling* physique correspond à un dépôt de particules solides sur une surface. Il est favorisé par des forces physiques comme la gravité, la convection, l'hétérogénéité des flux, les forces de Van der Waals ou les liaisons hydrogène ou ioniques. Les particules peuvent être entraînées par un flux de fluide les apportant et les déposant par floculation ou coagulation. Ce type de *fouling* peut être évité avec des techniques d'ingénierie appropriées, par exemple en optimisant les débits ou en utilisant des surfaces antiadhésives.

Le *fouling* chimique désigne un dépôt dû à des réactions chimiques ou à des changements d'état. Le *fouling* de précipitation correspond à la cristallisation de sels [36], d'oxydes [37] ou d'hydroxydes de solutions aqueuses [38] qui ont atteint leur concentration de saturation. Le *fouling* de corrosion concerne la formation d'une couche d'oxyde ou d'oxyhydroxyde à la suite d'une attaque de la surface par un composé (dioxygène) plus oxydant que le substrat constituant cette surface. Le *fouling* de réaction chimique survient à la suite d'une auto-oxydation, une polymérisation ou une décomposition thermique qui donne un ou plusieurs produits insolubles [39]. Enfin, le *fouling* de solidification correspond à la solidification d'un composant d'un fluide, comme une cire d'un mélange d'hydrocarbures [40].

Le *fouling* biologique, aussi nommé *biofouling*, correspond au dépôt sur une surface, d'organismes vivants ou morts et de toutes molécules produites par eux, comme des exopolysaccharides [41]. Ces organismes peuvent être des animaux [42], des plantes, des

micro-organismes comme des microalgues [43], des bactéries [44] ou des champignons [45]. Certains micro-organismes étant électroactifs, leur dépôt peut favoriser la corrosion des surfaces, créant un croisement entre *fouling* chimique et biologique [46]. Le *biofouling* peut survenir partout où l'eau est présente, en particulier sur des surfaces immergées, par exemple les coques des bateaux. Un deuxième lieu propice est le milieu hospitalier, où le *biofouling* par des souches pathogènes bactériennes et/ou fongiques occasionne la survenue de maladies nosocomiales [47] souvent fatale sur des sujets affaiblis. Cela constitue un véritable problème de santé publique entraînant de nombreuses mesures dont la mise au point de surfaces inhibant le *biofouling* [48]. Enfin, la présence de *biofouling* dans l'industrie agro-alimentaire ou en cuisine est à éviter pour prévenir la survenue d'intoxication alimentaire [49].

Les piles microbiennes sont particulièrement vulnérables car leur production électrique repose sur la présence d'un biofilm (positif) sur l'anode et/ou la cathode [50]. Les MFC à double compartiments possèdent une membrane échangeuse de protons (PEM) qui sépare le compartiment anodique et le compartiment cathodique afin d'assurer le transfert des protons, en particulier [51]. Cette membrane présente une susceptibilité au *biofouling*, lequel est souvent dû à la migration des micro-organismes présents sur le biofilm des électrodes [26].

Le *biofouling* dans les MFC est dû à des micro-organismes se développant à des endroits inappropriés, sous forme de biofilms (négatifs) qui répondent à leurs propres définitions, mécanismes, causes, conséquences et recherches de résolutions. Ayant rencontré ce problème lors de nos expériences, nous avons fait un état de l'art des techniques mises en œuvre pour le limiter.

I.1. Définition

Le *biofouling* est caractérisé par une croissance indésirable et généralement nuisible de bactéries ou de champignons, en particulier sur des surfaces immergées ou humides. En se développant, les micro-organismes forment une couche biologique nommée « biofilm », qui peut conduire à l'altération de la fonctionnalité et de l'efficacité de systèmes, comme les dispositifs médicaux et les piles microbiennes.

Un biofilm est constitué d'une communauté de micro-organismes homogènes [52] ou non ([53] ; [54]), intégrés dans une matrice de polysaccharides extracellulaires qu'ils produisent [55]. Cette matrice fournit une protection aux micro-organismes contre les environnements hostiles tout en facilitant leur communication et leur coopération [56]. Un biofilm peut être particulièrement résistant aux défenses immunitaires de l'hôte [57] et aux traitements antibiotiques [58] ou antifongiques [59].

Les bactéries sont des organismes unicellulaires et procaryotes se trouvant partout sur Terre y compris dans des conditions extrêmes comme la chaleur, le froid ou la forte salinité [60]. Les bactéries peuvent créer des biofilms en raison de leur capacité à adhérer aux surfaces [61] et à excréter des substances assurant cohésion et structure au biofilm.

Les champignons sont des organismes eucaryotes, unicellulaires pour les levures, et multicellulaire pour les moisissures, les ascomycètes et les basidiomycètes [62]. Les champignons peuvent aussi former des biofilms, bien que leur mode d'action diffère de celui des bactéries, par leur capacité d'adhésion aux surfaces et celle de créer un biofilm stable [63].

La connaissance du mécanisme de formation du biofilm permet de connaître ses causes et de proposer des stratégies de lutte pour prévenir et limiter ses conséquences, en particulier dans le cas des MFC.

I.2. Mécanismes

La formation d'un biofilm bactérien ou fongique est un processus complexe qui se déroule généralement en cinq étapes principales :

La première étape se nomme « attachement initial » et se fait par adsorption sur un support. Elle se produit lorsque des bactéries [64] ou des champignons sous forme planctonique [63], commencent à adhérer sur une surface propice à leur développement. Cette adhésion peut être influencée par des facteurs physiques, chimiques ou environnementaux, ainsi que par les caractéristiques intrinsèques des micro-organismes et de la surface. Ainsi, les interactions hydrophobes, de Van der Waals et électrostatiques jouent un rôle prépondérant ([65] ; [66]).

Après l'attachement initial, les bactéries commencent à produire des substances extracellulaires adhésives, telles que des polysaccharides, des protéines et de l'ADN, qui les aident à se fixer de manière irréversible à la surface. Ce stade est parfois dicté par des protéines chaperonnes, comme par exemple chez *P. aeruginosa* [67]. À ce moment, les bactéries peuvent également commencer à communiquer entre elles par un processus appelé "quorum sensing", qui leur permet de coordonner leur comportement et de signaler une agression extérieure ([68] ; [69] ; [70]).

Une fois fermement attachées, les bactéries ou les champignons commencent à se diviser et à se multiplier, formant une micro-colonie. La matrice extracellulaire continue de se développer, encapsulant les bactéries ou les champignons ce qui permet de structurer et de stabiliser le biofilm.

À mesure que la micro-colonie grandit, le biofilm se développe en une structure tridimensionnelle complexe, avec des canaux d'eau qui permettent la circulation des nutriments et l'élimination des déchets. À ce stade, le biofilm peut abriter divers types de bactéries ou de champignons, pouvant également présenter une diversité génétique [71]. Les biofilms présentent souvent en leur sein des gradients d'oxygène, de nutriments ou de rejets. Les micro-organismes peuvent privilégier certains endroits au sein de ces gradients suivant leurs besoins [71]. Pour les champignons, certains auteurs distinguent une étape de prématurité où des filaments commencent à être créés [63].

La dernière étape est une étape de dispersion des micro-organismes. Ils peuvent alors se détacher du biofilm et retourner à l'état planctonique, ce qui leur permet de se déplacer vers de nouvelles surfaces et former de nouveaux biofilms ([72] ; [65]). Ce processus peut être déclenché par divers facteurs, tels que des changements environnementaux, l'épuisement des nutriments, la dégradation de la matrice, la production de tensioactifs et la lyse cellulaire [73].

Les biofilms de champignons filamenteux, tel que les ascomycètes dont fait partie *T. harzianum*, ont été étudiés en détail uniquement pour *Aspergillus fumigatus* ([74] ; [75]). Ils présentent néanmoins certaines spécificités ([76] ; [77]), comme une croissance apicale (comme les branches d'un arbre) ou une sécrétion d'enzymes extracellulaires ([78] ; [77]).

Les champignons ont plusieurs moyens pour coloniser les surfaces, avec leurs spores, leurs sporanges ou leurs hyphes [79]. Ils peuvent produire des mycotoxines [80], certaines étant cancérigènes pour l'humain [81]. Aujourd'hui, il n'y a pas de méthode fiable pour quantifier les biofilms des champignons filamenteux [82].

I.3. Causes

La formation d'un biofilm est attribuable à de nombreux facteurs pouvant être physico-chimiques, environnementales et génétiques.

Parmi les facteurs physico-chimiques, la rugosité des surfaces favorise la présence microbienne en raison de la diminution des forces de cisaillement et de l'augmentation de la surface disponible à l'adhésion [83]. L'hydrophobicité ou l'apolarité des surfaces, comme le Téflon, joue un rôle favorisant contrairement aux surfaces hydrophiles ([84] ; [85] ; [86]). Des modifications de la surface peuvent également apparaître avant la formation du biofilm, avec l'apparition d'un film d'éléments nutritifs, contenant de l'albumine, des lysozymes, des glycoprotéines, des phosphoprotéines ou des lipides. Pour les biomatériaux, il peut s'agir de sang, de larmes, d'urine, de salive, de fluides interstitiels ou de sécrétions respiratoires [84]. [87].

Quand le milieu de suspension est soumis à un régime d'écoulement, il existe une couche limite hydrodynamique entre le centre du flux et les bords en contact avec le matériau ([88] ; [89]). Quand la vitesse augmente, cette couche s'affine et les micro-organismes ont plus de facilité à transiter au travers pour se déposer sur le matériau. Quand la vitesse impose des forces de cisaillements trop importantes, les micro-organismes sont détachés de la surface avant qu'ils n'aient pu former un biofilm [90]. C'est d'ailleurs une des stratégies antibiofilms possibles, en jouant sur les forces de cisaillement aux parois.

Les caractéristiques du milieu environnant jouent également un rôle. Le pH, la quantité de nutriment [91], sa tension de surface, la force ionique et la température influent sur l'attachement du substrat ([88] ; [89]). La formation de biofilms en milieu naturel varie selon les saisons ([92] ; [83]). L'écrantage de charges négatives d'une surface par des cations peut favoriser l'attachement de *Pseudomonas fluorescens* [93]. La rareté en dioxygène peut pousser certaines bactéries ou champignons à former des biofilms pour survivre [71].

Les gènes des micro-organismes jouent aussi un rôle. Ils permettent aux micro-organismes de produire les protéines nécessaires à l'adhésion et les exopolysaccharides, et gouvernent les besoins nutritifs et le *quorum sensing* [94]. Ces facteurs génétiques expliquent la diversité des biofilms et de leur mode de formation, et leurs différentes capacités de résistance face à l'environnement.

Ces facteurs concernent également les biofilms fongiques. Les champignons peuvent former facilement des biofilms en réponse à un stress, comme après une exposition à des antifongiques ou après un choc osmotique [95]. Leurs biofilms peuvent être plus résistants que leurs homologues bactériens, d'où une éradication particulièrement difficile ([96] ; [97]).

I.4. Conséquences

Une fois présent, un biofilm bactérien ou fongique peut avoir de multiples conséquences nuisibles en santé humaine, pour l'environnement, l'industrie, et pour les MFC.

Dans le domaine la santé, les biofilms provoquent souvent des infections persistantes, en raison de leur résistance accrue aux antibiotiques et antifongiques, rendant l'élimination des bactéries et des champignons compliquées [98]. De nombreux biomatériaux peuvent accueillir un biofilm, comme les cathéters, les prothèses ou les implants, avec pour conséquences des infections nosocomiales graves ([88] ; [89]). La bronchopneumopathie obstructive chronique, la fibrose kystique ou la mucoviscidose sont souvent liés à la survenue de biofilms dans les voies respiratoires, par exemple avec *P. aeruginosa* ([99] ; [100] ; [101]).

Les biofilms contribuent à la dégradation de l'environnement. Ils sont, entre autres, responsables de la biodétérioration des monuments et des œuvres d'arts en pierre [102], des peintures rupestres sous le nom de « maladie verte » [103], de la dégradation des boiseries et des charpentes des maisons (mérule).

Dans l'industrie, les biofilms peuvent causer ou accélérer la corrosion de tuyaux, de pipelines et de réservoirs [104], la contamination de produits alimentaires [105] et réduire l'efficacité des système employés pour traiter les eaux.

Dans le cas des MFC, bien qu'ils soient utiles sur l'anode et/ou sur la cathode pour produire un courant, les biofilms peuvent nuire aux performances en s'installant sur la PEM ou sur la cathode [106]. Sur la cathode, le biofilm peut provoquer un vieillissement prématuré et perturber l'accès du dioxygène aux électrons [35]. Sur la membrane, un biofilm peut colmater les points de passage des protons en formant un « gâteau » [107] et ralentir leur transfert [108]. Ce phénomène entraîne une augmentation de la résistance de la membrane [16], menant à la détérioration prématurée de ses performances [109] et la nécessité de son remplacement, augmentant ainsi le coût d'entretien de la MFC [32]. Le *biofouling* est pour ces raisons une des plus grandes problématiques empêchant la montée en échelle aujourd'hui des MFC ([106] ; [107]).

II. Stratégies contre le *fouling* des membranes

II.1. Méthodes physiques

II.1.1. Utilisation d'ultrasons

Le recours aux ultrasons peut permettre de perturber la formation d'un biofilm, notamment par l'intermédiaire de phénomènes de cavitation (formation et effondrement de bulles dans un liquide) et de microcourants [110]. Les ultrasons ont été utilisés pour éliminer des biofilms marins ou alimentaires ([111] ; [112]), mais aussi sur des membranes polymères ([113] ; [114]). Néanmoins, les paramètres doivent être soigneusement contrôlés pour éviter leur endommagement.

II.1.2. *Backwashing* ou rétro-lavage

Cette méthode consiste à inverser le flux de liquide à travers la membrane par rapport à son sens habituel [115], le biofilm accumulé peut alors se détacher. Toutefois cette technique est consommatrice d'énergie [116], ne peut pas être utilisée pendant le processus de filtration et est impossible à appliquer sur les membranes PEM qui sont denses.

II.1.3. Optimisation des conditions hydrodynamiques

Le contrôle des paramètres d'écoulement peut influencer la formation de biofilms [117]. Un flux rapide tend à inhiber leur formation [118], tandis qu'une forte turbulence les favorise [119]. Un changement d'un de ces paramètres peut rapidement avoir un effet sur la formation ou l'inhibition des biofilms [119].

II.1.4. Champ électrique

L'utilisation de membranes conductrices a été étudiée [120], pour apporter un effet antibiofilm [121]. Le courant électrique peut induire des changements locaux de *pH* et une production de peroxyde d'hydrogène [120]. Il peut toutefois endommager les biofilms positifs des MFC.

II.2. Méthodes biologiques

II.2.1. Inhibition du *quorum sensing*

Les micro-organismes utilisent le *quorum sensing* pour communiquer avec leur communauté, et coordonner leurs actions et leur défense contre des agressions extérieures [123]. Ce phénomène est rendu possible par la production et la détection de petites molécules nommées « auto-inducteurs » [123]. Ces molécules jouent un rôle important dans la formation et le maintien du biofilm. L'étude d'un biofilm présent sur les membranes d'osmose inverse, a montré que 60 % des bactéries produisaient ce type de molécules [124], comme le N-acylhomosérine lactone (AHL) [125] ou l'auto-inducteur 2 (AI-2) [126]. L'inhibition de ces auto-inducteurs peut être une piste d'approche biochimique intéressante pour lutter contre la formation de biofilms [127]. Cette méthode a été appliquée en utilisant de 2(5-H) furanone [128] ou du 4-hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde sur *Aeromonas hydrophilia* [129] ou l'Acylase I [130] sur *Agrobacterium tumefaciens*.

II.2.2. Utilisation de compétiteurs

L'usage de bactériophages (virus) peut inhiber la formation de biofilm en infectant les bactéries susceptibles d'en produire ([131]; [132]). Ce sujet fait l'objet de nombreuses recherches [133]. Si plusieurs espèces de bactéries sont présentes, plusieurs espèces de bactériophages peuvent être nécessaires [134]. Cela peut constituer un obstacle à leur utilisation à une large échelle. Dans le cas des MFC, les bactériophages pourraient s'attaquer au biofilm positif présent sur l'anode.

II.3. Méthodes Chimiques

II.3.1. Prétraitement du milieu environnant

II.3.1.1. Action du monoxyde d'azote (NO)

Le monoxyde d'azote (NO) a un effet sur la phase d'adhésion du biofilm sur la surface et peut réguler sa dispersion [123]. Il peut être efficace contre les biofilms de nombreuses bactéries [135], dont celui de *P. aeruginosa* [136]. Toutefois, il est peu soluble dans l'eau et est facilement oxydé ce qui limite son efficacité [137]. NO peut être apporté par des molécules précurseurs comme le nitroprussiate de sodium [138]. Des travaux plus récents ont été effectués en revêtant une surface par un polymère hydrophobe libérant NO, recouvert d'un polymère hydrophile inhibant l'adhésion microbienne [139] ou bien en recouvrant du silicone par un liquide ionique à base d'ammonium quaternaire [140], permettant dans les deux cas une libération de NO.

II.3.1.2. Action du chlore

Le chlore est employé comme désinfectant et comme traitement de l'eau sous sa forme dichlore ou hypochlorite ([141] ; [123]). Il peut être utilisé sur les membranes mais elles y sont souvent vulnérables [142]. Le dioxyde de chlore est une forme intéressante à utiliser pour son efficacité et sa tolérance envers les membranes [123]. Les chloramines, plus stables que le chlore libre, peuvent engendrer la formation de résidus post-désinfection cancérigènes probables [123].

II.3.1.3. Action de l'ozone

L'ozone est un autre oxydant connu, pouvant aussi servir pour la désinfection et le traitement de l'eau car il peut agir contre les bactéries et les virus [123]. Il peut être efficace contre des biofilms de *Staphylococcus aureus* et *P. aeruginosa* [143]. Il doit être produit *in-situ* puisqu'il est instable. De plus, il peut engendrer la formation d'ions bromates dans les eaux traitées, qui sont probablement cancérigènes [144].

II.3.1.4. Autres produits oxydants

Le ferrate de potassium est un oxydant très fort, utilisé comme alternative au chlore [145] et ne produit pas de résidus de post-désinfection cancérigènes [146]. L'iode sous forme de povidone iodée [147], le peroxyde d'hydrogène [148] ou l'acide peracétique [149] sont des alternatives possibles. Cependant, ces molécules sont susceptibles d'oxyder les membranes avec pour conséquence un vieillissement prématuré [123]. Le bisulfite de sodium est parfois utilisé [150].

II.3.1.5. Autres produits non-oxydants

Le formaldéhyde [151], le glutaraldéhyde [152] ou des ammoniums quaternaires [153] peuvent être utilisés pour le traitement des eaux, mais peuvent provoquer des phénomènes de résistance [152], en plus d'être toxique pour la santé et l'environnement.

II.3.2. Traitement de la surface des membranes

II.3.2.1. Revêtement à base de polyaniline

La polyaniline (PANI) est un polymère conducteur comportant dans sa structure des unités réduites et oxydées permettant des transferts de charges. Elle possède des propriétés anticorrosion exploitées dans des applications marines [154]. Elle possède également des propriétés *antifouling* en raison de son activité redox et de ses groupes ammonium, qui provoquent un stress oxydatif chez les bactéries conduisant à leur lyse [155]. Cependant, son efficacité est limitée quand le *pH* du milieu est supérieur à 3 [156].

Le revêtement par des dérivés de PANI permet de dépasser cette limitation. Les dérivés organiques bromés se révèlent efficaces [156]. Les composites PANI/graphène ont de meilleures propriétés mécaniques, anticorrosion [157], *antifouling* [158]. Les composites PANI/oxyde de graphène et PANI/époxy ont aussi de bonnes propriétés *antifouling* ([159] ; [160]). Le poly(m-aminophénol) synthétisé et incorporé dans un époxy [161] a montré un effet *antifouling* prometteur.

II.3.2.2. Revêtement cuivre – carbone amorphe

Le carbone amorphe est un allotrope du carbone possédant un long ordre cristallin et des propriétés anticorrosion [162]. Le cuivre ayant des propriétés antimicrobiennes connues ([163] ; [164]), son utilisation peut apporter à un revêtement des propriétés *antifouling*. Ainsi, l'association des deux a montré des performances prometteuses contre la corrosion et le *fouling* ([165] ; [166] ; [167]). Cependant, des recherches sont encore nécessaires pour déterminer le risque environnemental de ce type revêtement [155] du fait de la toxicité connue du cuivre ([168] ; [169]).

II.3.2.3. Revêtement par polymères hydrophiles

Ces revêtements, constitués par exemple de poly(éthylène glycol) (PEG) ou d'hydrogels, forment une pellicule hydratée entre la surface et le milieu environnant, empêchant ainsi les micro-organismes de s'accrocher [168]. En revanche, le *fouling* progressif par des dépôts inorganiques amenuise leur efficacité dans le temps [170].

Les hydrogels sont des réseaux de polymères hydrophiles riches en eau [168]. Ils sont non-toxiques, élastiques et empêchent la phase d'adhésion irréversible ([171] ; [172]). Les performances mécaniques et rhéologiques des hydrogels ont été améliorées avec des nano-argiles [173], et leur propriétés *antifouling* en associant les nano-argiles à du carboxybétaine méthacrylamide et du 2-hydroxyéthylméthacrylate [173].

Les polymères zwitterioniques, comprenant des charges positives et négatives produisent des liaisons plus fortes avec l'eau que les matériaux hydrophiles sans charge [174]. Le poly(4-(2-sulfoethyl)-1-(4-vinylbenzyl) pyridinium betaine) a ainsi été greffé sur une surface de polyamide pour lui apporter des propriétés *antifouling* ([175] ; [176]).

Les nanocomposites hyperbranchés avec des extrémités hydrophiles ont beaucoup été étudiés [168]. La diversité des groupements terminaux permet d'accéder à des propriétés ajustables (solubilité, viscosité, densité du greffage) [177]. Pour apporter des propriétés

antifouling, il est possible d'y intégrer des nanoparticules d'argent ([177] ; [178]) ou de dioxyde de titane [179].

II.3.2.4. Revêtement par des polymères amphiphiles

L'objectif de ces revêtements est de combiner les avantages respectifs des revêtements hydrophiles et hydrophobe [180]. Un polyacrylate amphiphile a été synthétisé avec des groupements fluorés et silanisés, avec une quantité de groupements fluorés ajustée pour améliorer les propriétés *antifouling* et anticorrosives [181]. Une laque naturelle a été modifiée avec des polysiloxanes hyperbranchés à extrémités amines et avec des télomères amphiphiles à extrémités silanes, pour lui donner des propriétés *antifouling* et anticorrosive [182]. Les poly(3-hydroxyalkanoate) (PHA) qui sont des polymères amphiphiles, ont également montré des propriétés *antifouling* [183]. Des membranes amphiphiles ont été préparées par un revêtement de polydopamine sur un support en polysulfone microporeux, suivi par un greffage de N, N – diméthyle éthylènediamine avec des propriétés *antifouling* [184].

II.3.2.5. Greffage

Il est possible de former des « polymères brosses » en greffant un polymère sur un substrat, ce qui peut donner à ce dernier des propriétés *antifouling* [185]. Il existe la technique « grafting to » (greffage de chaînes déjà polymérisées) et « grafting from » (greffage de monomère ou de prépolymère suivi de la polymérisation). Une surface en poly [N-(2-hydroxypropyle) méthacrylamide] a été greffé [186] par ces deux techniques, lui permettant d'améliorer ses propriétés *antifouling*. Le greffage d'un polymère, non spécifié par les auteurs mais de type sulfoxyde hautement hydrophile, sur du verre a permis d'inhiber l'adhésion de protéines et de micro-organismes [187]. Un copolymère contenant des unités [2-(méthacryloyloxy)éthyle] triméthylammonium et méthacrylate de sulfopropyle a été greffé par plasma sur une surface de PVDF pour lui donner des propriétés *antifouling* [188]. Il est également possible de greffer du PEG sur une surface en poly (éther éther cétone) par irradiation UV [182].

II.3.2.6. Revêtement contenant des charges inorganiques

L'ajout de charges inorganiques, ou en complément d'une autre technique citée précédemment, peut améliorer les propriétés *antifouling* des membranes et l'efficacité des autres techniques prises indépendamment [123]. Le dioxyde de titane [189], l'alumine [190], le dioxyde de zirconium [191], la silice [192] sont des exemples de charges inorganiques qui ont été utilisées. Un rayonnement UV peut améliorer l'effet du dioxyde de titane [193]. Il faut toutefois surveiller l'éventuelle libération des charges au cours du temps, qui peut provoquer une pollution du milieu environnant.

II.3.2.7. Revêtement par agents antimicrobiens

L'ajout de polymères antimicrobiens [194], de poly(oxyde d'éthylène) [195], de chitosane [196], de cuivre [197], d'argent [198] ou de nanoparticules d'argent [199] sont des pistes explorées pour conférer des propriétés antimicrobiennes aux matériaux.

Les nanoparticules d'argent sont efficaces pour inhiber la croissance et l'activité de nombreux micro-organismes [200] y compris les champignons ([201] ; [202]). Les nanoparticules de cuivre ont également montré une efficacité contre des champignons ([203] ; [204]).

Plusieurs travaux concernant *T. harzianum* ont montré une certaine résistance de sa part vis-à-vis des ions argent et cuivre ([205] ; [206]). De plus, il peut être utilisé pour synthétiser des nanoparticules d'argent ([207] ; [208]) ou de cuivre ([209] ; [210]). Cependant, sa résistance montre des limites, avec une inhibition de croissance apparaissant progressivement à mesure que la concentration en argent [211] ou en cuivre ([212] ; [213]) augmente.

Mahdizadeh *et al.* ont montré que la croissance de *T. harzianum* était inhibée de 80%, 84%, 90% au bout de 5 jours, par des nanoparticules d'argent en concentrations respectives de 6, 8 et 10 ppm. L'inhibition était totale au-delà de 12 ppm [211]. Une autre expérience avec des nanoparticules d'argent a montré que la croissance de *T. harzianum* était inhibée au bout de 6 jours de 29%, 67% et de 73% en présence de nanoparticules d'argent aux concentrations respectives de 50, 100 et 200 ppm. [214]. Ces résultats ont été confirmés par Gavanji *et al.* [215]. Un revêtement contenant des nanoparticules d'argent dans des MOF s'est révélé également efficace contre *T. harzianum* [216].

L'effet du cuivre à différentes concentrations a été évalué sur la croissance de *T. harzianum* en suspension. Une concentration de 240 mg L⁻¹ a inhibé respectivement de 79% et de 100% la croissance des souches « SZMC 20660 » et « SZMC 20969 » au bout de 96 heures [213], montrant ainsi la vulnérabilité de *T. harzianum* au cuivre. Plus généralement, la tolérance de *Trichoderma spp.* est variable selon la souche [206].

Les nanoparticules suscitent un intérêt croissant [217]. Des voies de synthèse « vertes » existent pour les nanoparticules d'argent [218] et de cuivre [219] impliquant des bactéries, des champignons, des algues et des plantes. Ces voies de synthèse ont pour avantages l'usage de produits non toxique, un coût financier et énergétique relativement faible [220]. La réduction des ions cuivre et argent en particules par l'acide ascorbique constitue également une alternative verte, relativement simple à mettre en œuvre et peu toxique ([221] ; [21]).

II.3.3. Revêtement en polydopamine

II.3.3.1. Introduction

Comme nous venons de le voir les revêtements utilisant les nanoparticules d'argent ou de cuivre sont intéressants à utiliser pour leur actions biocides contre les bactéries et les champignons filamenteux. Ces revêtements peuvent être associé à la polydopamine car elle est connue pour adhérer facilement sur les surfaces tout en inhibant l'adhésion des micro-organismes. De plus, la polydopamine, par ses groupes catéchols, peut facilement immobiliser des biomolécules contenant des amines primaires ou des thiols.

Le processus par lequel la polydopamine adhère sur une surface en milieu aqueux se fait en milieu alcalin, par auto-polymérisation de la dopamine. Cependant, le mécanisme exact reste inconnu. Comprendre ce phénomène pourrait permettre de mieux maîtriser l'application de ces revêtements sur différents matériaux comme les polymères, les métaux ou les céramiques.

II.3.3.2. Dopamine et polydopamine

Une première méthode de polymérisation de la dopamine a été proposée, permettant de former des revêtements minces, adhérents et potentiellement multifonctionnels à la surface de matériaux organiques ou inorganiques, par simple trempage [222]. Depuis, cette méthode a permis développement de nombreux nanomatériaux.

Plus récemment, des nanoparticules de polydopamine ont été synthétisées en utilisant la laccase, une enzyme redox présente dans certains champignons dont *T. harzianum*, comme catalyseur [223]. L'ajout d'additifs permet de leur apporter de nouvelles propriétés comme la fluorescence [224], la photothermie [225], la faculté à piéger les ions métalliques [226] et d'influer sur les liaisons cations – cycles aromatiques [227].

La structure de la polydopamine fait toujours l'objet de débats. On pense qu'elle est composée d'unités dihydroxyindole, d'indolédione et de dopamine non cyclisée, toutes reliées de manière covalente ([228] ; [229]). Des travaux confirment la présence de ces unités et suggèrent qu'elles peuvent également être liées par leurs cycles aromatiques, ce qui laisse supposer une coexistence de différents degrés d'insaturation [230]. Les voies de polymérisation et les structures de la polydopamine sont très diverses (linéaires, ramifiées, enchaînements de monomères, réticulation) [231]. Il a été aussi révélé que ce sont les fonctions amines qui apportent les propriétés adhésives et filmogènes à la polydopamine [232]. La formation d'un film de polydopamine implique une simultanéité entre le processus de condensation intermoléculaire amine-quinone et le dépôt du film. Ce dépôt s'accélère avec l'augmentation de la concentration en oxydant formant les quinones et la concentration en dopamine. Le dépôt est impossible avec des concentrations en dessous de 1mM [233].

D'autres études ont analysé les mécanismes d'adhésion les plus probables et les propriétés physico-chimiques des films, et ont reporté les applications possibles de la polydopamine ([234] ; [235]). Par exemple, les groupes catéchols de la polydopamine sous forme de film peuvent réduire les ions de métaux précieux (Ag^+ , Au^{3+}) en nanoparticules métalliques et les immobiliser, empêchant leur libération [236].

II.3.3.3. Nanoparticules et nanorevêtements de polydopamine

Les nanoparticules polydopamine sont utilisées dans divers domaines, notamment en chimiothérapie, pour convertir la lumière en chaleur [237] et en théranostique (détection et traitement simultané de cancer) [238]. Elles sont également utilisées en ingénierie tissulaire notamment pour la reconstruction osseuse [239], et dans des *biosenseurs* pour la détection de molécules comme le glutathion [240], les microARN [241] et l'acide ascorbique [242].

Initialement, les nanorevêtements de polydopamine ont été conçus pour accroître la mucopénétration (pénétration dans le mucus, utile pour les traitements contre des maladies comme la mucoviscidose) et l'absorption cellulaire de nanoparticules vectorisant des médicaments [243]. Il a également été découvert, par imagerie AFM, que la polydopamine pouvait diminuer les interactions entre les surfaces et les protéines, réduisant ainsi le risque de *biofouling* [244].

Les revêtements en polydopamine se caractérisent par une grande hydrophilie, une excellente durabilité dans des conditions physiologiques, une forte biocompatibilité et une facilité à être fonctionnalisés. Par conséquent, ils sont de bons candidats pour l'ingénierie tissulaire [245], pour faciliter l'ostéogénèse [246] et la régénération tissulaire.

II.3.3.4. Propriétés antimicrobiennes

La polydopamine est connue pour ses effets antibactériens et antifongiques. Elle présente des propriétés redox car elle peut agir comme agent oxydant ou antioxydant, selon les conditions. Elle peut absorber ou donner des électrons et peut capturer des radicaux ou libérer des espèces réactives de l'oxygène (radicaux libres, ions oxygénés, peroxydes). Ceci pourrait expliquer ses propriétés antimicrobiennes ([247] ; [248]). La chimie de la polydopamine implique deux transferts d'électrons entre des structures quinone (état oxydé) et hydroquinone (état réduit). Les groupes catéchols (hydroxyle) de la polydopamine peuvent donner des électrons aux molécules de dioxygène, produisant ainsi du peroxyde d'hydrogène. Ce dernier peut ensuite donner un radical hydroxyle, qui est un inhibiteur de la chaîne respiratoire des micro-organismes. Il apporte ainsi une activité antibactérienne localisée et instantanée. Ces propriétés peuvent être influencées par les ions métalliques et une irradiation dans le domaine infrarouge proche.

Une partie oxydée de la polydopamine induit la libération de fragments de quinone, augmentant la possibilité de liaison avec d'autres biomolécules pour accroître l'activité antimicrobienne. De plus, la formation de dérivés réactifs de l'oxygène, augmente l'activité de la superoxyde dismutase (SOD, une métalloenzyme) présente dans les bactéries [231]. Cela entraîne la formation de peroxyde d'hydrogène, puis d'ions hydroxyde, qui réagissent normalement avec le nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH), enrichissant la membrane bactérienne en quinone. L'irradiation et les liaisons métalliques intensifient ce phénomène [249].

La morphologie et les propriétés physico-chimiques des revêtements polydopamine influencent ses propriétés antibactériennes et *antifouling*. En développant une série de revêtements rugueux en polydopamine sur divers substrats, Su *et al* ont constaté que la rugosité limitait les propriétés *antifouling* [250].

Patel *et al.* ont montré que le tampon utilisé, donc le pH, lors de la polymérisation de la dopamine influençait la quantité de groupements hydroxyles sur un revêtement de polydopamine, et donc ses propriétés antibactériennes [251]. Ainsi, un tampon Tris apporte une activité antibactérienne plus importante qu'un tampon phosphate salin (PBS).

Les revêtements nano-polydopamine ont un large spectre d'absorption lumineuse, allant du visible au proche infrarouge, ce qui leur permet d'avoir divers comportements photothermiques [252]. En outre, ils peuvent être fonctionnalisés et leur topographie peut être modifiée [231]. Ces revêtements sont applicables sur divers substrats comme le verre, le polycarbonate, ou les implants, pour inhiber la formation de biofilms et empêcher les infections microbiennes [231].

Des membranes d'osmose inverse ont été modifiées par un revêtement de polydopamine réticulé avec de l'oxyde de graphène [253]. Cette modification a rendu les membranes plus hydrophiles et moins rugueuses. De plus, l'oxyde de graphène leur a apporté des groupements carboxylates en surface. Ces groupements ont un effet de répulsion électrostatique envers les bactéries gram négatif. Les modifications ont donc apporté aux membranes des propriétés antibactériennes et *antifouling*. La polydopamine et l'oxyde de graphène ont montré des effets synergiques.

Des membranes en polyuréthane revêtues de polydopamine ont été modifiées par ajout d'un chitooligosaccharide, qui contient des groupements ammoniums. Ces derniers, qui sont connus pour leur propriétés biocides, ont amélioré les propriétés antibactériennes des membranes [254].

Des surfaces en polysulfone revêtues de polydopamine ont été modifiées par ajout de matières organiques naturelles hydrophiles pour inhiber l'adhésion bactérienne. Cette adhésion a été empêchée par inhibition de l'interaction entre les pilis et les flagelles des bactéries, et la polydopamine, par les matières organiques [255].

III. Conclusion

Le *biofouling* est un phénomène qui touche les membranes échangeuses de protons (PEM) des piles microbiennes (MFC). Il entraîne une baisse prématurée des performances des piles et est un des principaux verrous à leur montée en échelle. Il est donc nécessaire de développer des techniques pour lutter contre ce *biofouling*.

Dans le cadre de la thèse, nous prévoyons de mettre au point une MFC à deux compartiments, où nous risquons de rencontrer ce phénomène de *biofouling*, en particulier par notre biocatalyseur *T. harzianum*. Le traitement de la membrane avec un revêtement en polydopamine, suivi de l'incorporation de particules d'argent, est une technique qui a déjà prouvé son efficacité contre les bactéries [21]. Nous envisageons d'appliquer cette technique sur les membranes de nos MFC. Des particules de cuivre et d'argent qui sont connues pour leur effet biocide seront également testées. Différentes expériences seront nécessaires pour vérifier l'efficacité à long terme de ces traitements et leur impact sur les performances des MFC.

Références

1. Yan Z, Zhou D, Zhang Q, et al (2023) A critical review on fouling influence factors and antifouling coatings for heat exchangers of high-salt industrial wastewater. *Desalination* 553
2. Inamdar H V., Groll EA, Weibel JA, Garimella S V. (2023) Air-side Fouling of Finned Heat Exchangers: Part 1, Review and Proposed Test Protocol. *International Journal of Refrigeration*. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2023.02.017>
3. Flimban SGA, Hassan SHA, Rahman MM, Oh SE (2020) The effect of Nafion membrane fouling on the power generation of a microbial fuel cell. *Int J Hydrogen Energy* 45:13643–13651. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.02.097>
4. Shi X, Tal G, Hankins NP, Gitis V (2014) Fouling and cleaning of ultrafiltration membranes: A review. *Journal of Water Process Engineering* 1:121–138
5. Howe KJ, Clark MM (2002) Fouling of microfiltration and ultrafiltration membranes by natural waters. *Environ Sci Technol* 36:3571–3576. <https://doi.org/10.1021/es025587r>
6. Wu H, Kanora A, Schwartz DK (2022) Fouling of microfiltration membranes by bidisperse particle solutions. *J Memb Sci* 641. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2021.119878>
7. Virga E, Field RW, Biesheuvel PM, de Vos WM (2022) Theory of oil fouling for microfiltration and ultrafiltration membranes in produced water treatment. *J Colloid Interface Sci* 621:431–439. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2022.04.039>
8. Park J, Lee S, You J, et al (2018) Evaluation of fouling in nanofiltration for desalination using a resistance-in-series model and optical coherence tomography. *Science of the Total Environment* 642:349–355. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.041>
9. Virga E, Žvab K, de Vos WM (2021) Fouling of nanofiltration membranes based on polyelectrolyte multilayers: The effect of a zwitterionic final layer. *J Memb Sci* 620. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2020.118793>
10. Jiang S, Li Y, Ladewig BP (2017) A review of reverse osmosis membrane fouling and control strategies. *Science of the Total Environment* 595:567–583
11. Matin A, Laoui T, Falath W, Farooque M (2021) Fouling control in reverse osmosis for water desalination & reuse: Current practices & emerging environment-friendly technologies. *Science of the Total Environment* 765
12. Zhao P, Yao B, Meng J, et al (2021) Studies on the fouling behavior and cleaning method of pervaporation desalination membranes for reclamation of reverse osmosis concentrated water. *Sep Purif Technol* 274. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.119034>
13. Rokhmanka TN, Grushevenko EA, Arapova O V., et al (2023) Fouling of Polyalkylmethylsiloxane Composite Membranes during Pervaporation Separation of ABE-Fermentation Mixtures. *Applied Sciences (Switzerland)* 13. <https://doi.org/10.3390/app13063827>
14. Mikhaylin S, Bazinet L (2016) Fouling on ion-exchange membranes: Classification, characterization and strategies of prevention and control. *Adv Colloid Interface Sci* 229:34–56
15. Jiang S, Sun H, Wang H, et al (2021) A comprehensive review on the synthesis and applications of ion exchange membranes. *Chemosphere* 282:130817. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130817>
16. Xu J, Sheng GP, Luo HW, et al (2012) Fouling of proton exchange membrane (PEM) deteriorates the performance of microbial fuel cell. *Water Res* 46:1817–1824. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.12.060>
17. Hiegemann H, Littfinski T, Krimmler S, et al (2019) Performance and inorganic fouling of a submersible 255 L prototype microbial fuel cell module during continuous long-term operation with real municipal wastewater under practical conditions. *Bioresour Technol* 294. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122227>
18. Berkessa YW, Lang Q, Yan B, et al (2019) Anion exchange membrane organic fouling and mitigation in salt valorization process from high salinity textile wastewater by bipolar membrane electrodialysis. *Desalination* 465:94–103. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2019.04.027>
19. Hansima MACK, Makehelwala M, Jinadasa KBSN, et al (2021) Fouling of ion exchange membranes used in the electrodialysis reversal advanced water treatment: A review. *Chemosphere* 263
20. Zhao N, Liang D, Meng S, Li X (2020) Bibliometric and content analysis on emerging technologies of hydrogen production using microbial electrolysis cells. *Int J Hydrogen Energy* 45:33310–33324
21. Park SG, Rajesh PP, Hwang MH, et al (2021) Long-term effects of anti-biofouling proton exchange membrane using silver nanoparticles and polydopamine on the performance of microbial electrolysis cells. *Int J Hydrogen Energy* 46:11345–11356. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.04.059>
22. Ping Q, Cohen B, Dosoretz C, He Z (2013) Long-term investigation of fouling of cation and anion exchange membranes in microbial desalination cells. *Desalination* 325:48–55. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2013.06.025>
23. Sosa-Fernandez PA, Miedema SJ, Bruning H, et al (2019) Influence of solution composition on fouling of anion exchange membranes desalinating polymer-flooding produced water. *J Colloid Interface Sci* 557:381–394. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.09.029>
24. Liang S, Xiao K, Mo Y, Huang X (2012) A novel ZnO nanoparticle blended polyvinylidene fluoride membrane for anti-irreversible fouling. *J Memb Sci* 394–395:184–192. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2011.12.040>

25. Zhang J, Satti A, Chen X, et al (2015) Low-voltage electric field applied into MBR for fouling suppression: Performance and mechanisms. *Chemical Engineering Journal* 273:223–230. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.03.044>
26. Hou B, Zhang R, Liu X, et al (2021) Study of membrane fouling mechanism during the phenol degradation in microbial fuel cell and membrane bioreactor coupling system. *Bioresour Technol* 338. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125504>
27. Hou B, Liu X, Zhang R, et al (2022) Investigation and evaluation of membrane fouling in a microbial fuel cell-membrane bioreactor system (MFC-MBR). *Science of the Total Environment* 814. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152569>
28. Zhang H, Jiang W, Cui H (2017) Performance of anaerobic forward osmosis membrane bioreactor coupled with microbial electrolysis cell (AnOMEBR) for energy recovery and membrane fouling alleviation. *Chemical Engineering Journal* 321:375–383. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.03.134>
29. Ding A, Fan Q, Cheng R, et al (2018) Impacts of applied voltage on microbial electrolysis cell-anaerobic membrane bioreactor (MEC-AnMBR) and its membrane fouling mitigation mechanism. *Chemical Engineering Journal* 333:630–635. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.09.190>
30. Ma G, Xu X, Tesfai M, et al (2021) Nanocomposite cation-exchange membranes for wastewater electrodialysis: organic fouling, desalination performance, and toxicity testing. *Sep Purif Technol* 275. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.119217>
31. Li C, Song K, Hao C, et al (2023) Fabrication of S-PBI cation exchange membrane with excellent anti-fouling property for enhanced performance in electrodialysis. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* 661. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.130910>
32. Xu Q, Wang L, Li C, et al (2019) Study on improvement of the proton conductivity and anti-fouling of proton exchange membrane by doping SGO@SiO₂ in microbial fuel cell applications. *Int J Hydrogen Energy* 44:15322–15332. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.03.238>
33. Guo H, Xiao L, Yu S, et al (2014) Analysis of anion exchange membrane fouling mechanism caused by anion polyacrylamide in electrodialysis. *Desalination* 346:46–53. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2014.05.010>
34. Kolajo OO, Pandit C, Thapa B Sen, et al (2022) Impact of cathode biofouling in microbial fuel cells and mitigation techniques. *Biocatal Agric Biotechnol* 43. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102408>
35. Yang W, Rossi R, Tian Y, et al (2018) Mitigating external and internal cathode fouling using a polymer bonded separator in microbial fuel cells. *Bioresour Technol* 249:1080–1084. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.10.109>
36. Rahimi S, Peyghambarzadeh SM, Kazemi Esfeh H, et al (2023) Air rumbling for online fouling mitigation of calcium carbonate aqueous solution under subcooled flow boiling heat transfer. *Appl Therm Eng* 225. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2023.120159>
37. Melliti E, Van der Bruggen B, Elfil H (2022) Combined iron oxides and gypsum fouling of reverse osmosis membranes during desalination process. *J Memb Sci* 653. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2022.120472>
38. Cifuentes-Araya N, Astudillo-Castro C, Bazinet L (2014) Mechanisms of mineral membrane fouling growth modulated by pulsed modes of current during electrodialysis: Evidences of water splitting implications in the appearance of the amorphous phases of magnesium hydroxide and calcium carbonate. *J Colloid Interface Sci* 426:221–234. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.03.054>
39. Watkinson AP, Wilson DI (1997) Chemical Reaction Fouling: A Review. *Exp Therm Fluid Sci* 14:361–374
40. Sharma A, Garg D, Gupta JP (1982) SOLIDIFICATION FOULING OF PARAFFIN WAX FROM HYDROCARBONS. In: *LETTERS IN HEAT AND MASS TRANSFER*. pp 209–219
41. Zhuang Z, Yang G, Zhuang L (2022) Exopolysaccharides matrix affects the process of extracellular electron transfer in electroactive biofilm. *Science of the Total Environment* 806. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150713>
42. Qiu H, Feng K, Gapeeva A, et al (2022) Functional polymer materials for modern marine biofouling control. *Prog Polym Sci* 127:101516. <https://doi.org/10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2022.101516>
43. Malaguti M, Novoa AF, Ricceri F, et al (2022) Control strategies against algal fouling in membrane processes applied for microalgae biomass harvesting. *Journal of Water Process Engineering* 47. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2022.102787>
44. Flint S, Bremer P, Brooks J, et al (2020) Bacterial fouling in dairy processing. *Int Dairy J* 101
45. Giannantonio DJ, Kurth JC, Kurtis KE, Sobecky PA (2009) Effects of concrete properties and nutrients on fungal colonization and fouling. *Int Biodeterior Biodegradation* 63:252–259. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.10.002>
46. Ma L, Li S, Yan M, et al (2023) Self-assembled hollow bowl-shaped metal-organic framework-derived electromagnetic wave absorbers with strong anti-microbiologically influenced corrosion performance. *J Alloys Compd* 949:169847. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2023.169847>
47. Jenkins DR (2020) Nosocomial infections and infection control. *Prevention and control of infection* 49:638–642
48. Dey N, Vickram S, Thanigaivel S, et al (2022) Graphene materials: Armor against nosocomial infections and biofilm formation – A review. *Environ Res* 214. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113867>

49. Verran J (2002) Biofouling in food processing: Biofilm or biotransfer potential? *Food and Bioproducts Processing: Transactions of the Institution of Chemical Engineers, Part C* 80:292–298. <https://doi.org/10.1205/096030802321154808>
50. Degrenne N, Allard B, Buret F, Monier J-M (2010) Power management of Microbial Fuel Cells View project Wave Supply View project Récupération de l'énergie électrique produite par les piles à combustibles microbiennes
51. Eslami S, Bahrami M, Zandi M, et al (2023) Performance investigation and comparison of polypropylene to Nafion117 as the membrane of a dual-chamber microbial fuel cell. *Cleaner Materials* 8. <https://doi.org/10.1016/j.clema.2023.100184>
52. Pal M, Shrivastava A, Sharma RK (2023) Electroactive biofilm development on carbon fiber anode by *Pichia fermentans* in a wheat straw hydrolysate based microbial fuel cell. *Biomass Bioenergy* 168. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2022.106682>
53. Zhang L, Hu Q, Zhang Y, et al (2023) Rapid inactivation of mixed biofilms of *Candida albicans* and *Candida tropicalis* using antibacterial photodynamic therapy: Based on PADTM Plus. *Heliyon* 9. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15396>
54. Fortes BN, Scheunemann G, de Azevedo Melo AS, Ishida K (2023) Caspofungin alone or combined with polymyxin B are effective against mixed biofilm of *Aspergillus fumigatus* and carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Res Microbiol* 174. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2022.103993>
55. Flemming H-C, Wingender J (2010) The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol* 8 :623–633. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>
56. Cabo ML, Rodríguez A, Herrera JR (2022) Exploring communication signals inside the microbial community of a *Listeria monocytogenes*-carrying biofilm contamination site. *Int J Food Microbiol* 376. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109773>
57. Rahmani Fard S, Zeighami H (2017) باکتریایی های بیوفیلم چکیده فرد رحمانی الدین شهاب گ-روه، پزشکی کی شناس می میکروب ارش د کارشناس می پزشکی کی علوم دانش گاه، شناس می ویروس و شناس می میکروب ایران، زنجان، زنجان ضیفمی حبیب دکتر شناسی میکروب گروه مدیر، پزشکی شناسی میکروب دانشیار ایران، زنجان. زنجان پزشکی علوم دانشگاه، شناسی ویروس و هاگشیا مزا صیخشت .zeighami@zums.ac.ir و همانصاف
58. Fernández-Billón M, Llambías-Cabot AE, Jordana-Lluch E, et al (2023) Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Biofilm* 5. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2023.100129>
59. Kaur J, Nobile CJ (2023) Antifungal drug-resistance mechanisms in *Candida* biofilms. *Curr Opin Microbiol* 71
60. Ye JW, Lin YN, Yi XQ, et al (2023) Synthetic biology of extremophiles: a new wave of biomanufacturing. *Trends Biotechnol* 41:342–357
61. Laskowski D, Strzelecki J, Pawlak K, et al (2018) Effect of ampicillin on adhesive properties of bacteria examined by atomic force microscopy. *Micron* 112:84–90. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2018.05.005>
62. Naranjo-Ortiz MA, Gabaldón T (2019) Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. *Biological Reviews* 94:2101–2137. <https://doi.org/10.1111/brv.12550>
63. Miranda AC, Leães GF, Copetti M V. (2022) Fungal biofilms: insights for the food industry. *Curr Opin Food Sci* 46
64. Otto M (2004) Quorum-sensing control in *Staphylococci* - A target for antimicrobial drug therapy? *FEMS Microbiol Lett* 241:135–141
65. Karygianni L, Ren Z, Koo H, Thurnheer T (2020) Biofilm Matrixome: Extracellular Components in Structured Microbial Communities. *Trends Microbiol* 28:668–681
66. Schilcher K, Horswill AR (2020) Staphylococcal Biofilm Development: Structure, Regulation, and Treatment Strategies. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 84:1–36
67. Meissner A, Wild V, Simm R, et al (2007) *Pseudomonas aeruginosa* cupA-encoded fimbriae expression is regulated by a GGDEF and EAL domain-dependent modulation of the intracellular level of cyclic diguanylate. *Environ Microbiol* 9:2475–2485. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01366.x>
68. Miller MB, Bassler BL (2001) QUORUM SENSING IN BACTERIA. *Annu Rev Microbiol* 55:165–199
69. López D, Vlamakis H, Kolter R (2010) Biofilms. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2
70. Fazeli-Nasab B, Sayyed RZ, Mojahed LS, et al (2022) Biofilm production: A strategic mechanism for survival of microbes under stress conditions. *Biocatal Agric Biotechnol* 42. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102337>
71. Stewart PS, Franklin MJ (2008) Physiological heterogeneity in biofilms. *Nat Rev Microbiol* 6:199–210
72. Rumbaugh KP, Sauer K (2020) Biofilm dispersion. *Nat Rev Microbiol* 18:571–586
73. Boles BR, Thoendel M, Singh PK (2005) Rhamnolipids mediate detachment of *Pseudomonas aeruginosa* from biofilms. *Mol Microbiol* 57:1210–1223. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04743.x>
74. Morelli KA, Kerkaert JD, Cramer RA (2021) *Aspergillus fumigatus* biofilms: Toward understanding how growth as a multicellular network increases antifungal resistance and disease progression. *PLoS Pathog* 17
75. Roudbary M, Vahedi-Shahandashti R, Santos ALS dos, et al (2022) Biofilm formation in clinically relevant filamentous fungi: a therapeutic challenge. *Crit Rev Microbiol* 48:197–221. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2021.1950121>

76. Harding MW, Marques LLR, Howard RJ, Olson ME (2009) Can filamentous fungi form biofilms? *Trends Microbiol* 17:475–480. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.08.007>
77. Simões LC, Simões M, Lima N (2015) Kinetics of biofilm formation by drinking water isolated *Penicillium expansum*. *Biofouling* 31:349–362. <https://doi.org/10.1080/08927014.2015.1042873>
78. Gupta V, Mach R, Sreenivasaprasad P (2015) *Fungal Biomolecules: Sources, Applications and Recent Developments*. Wiley
79. Hawker L (2016) *The Physiology of Reproduction in Fungi*. Cambridge University Press
80. Perrone G, Gallo A (2017) *Aspergillus* species and their associated mycotoxins. In: *Methods in Molecular Biology*. Humana Press Inc., pp 33–49
81. Ostry V, Malir F, Toman J, Grosse Y (2017) Mycotoxins as human carcinogens—the IARC Monographs classification. *Mycotoxin Res* 33:65–73. <https://doi.org/10.1007/s12550-016-0265-7>
82. Kulišová M, Mařátková O, Brányik T, et al (2023) Detection of microscopic filamentous fungal biofilms – Choosing the suitable methodology. *J Microbiol Methods* 205. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2023.106676>
83. Fera P, Siebel MA, Characklis WG, Prieur D (1989) Seasonal variations in bacterial colonisation of stainless-steel aluminium and polycarbonate surfaces in a seawater flow system. *Biofouling* 1:251–261. <https://doi.org/10.1080/08927018909378112>
84. Fletchert M, Loeb' GI (1979) Influence of Substratum Characteristics on the Attachment of a Marine *Pseudomonad* to Solid Surfaces
85. Pringle JH, Fletcher M (1983) Influence of Substratum Wettability on Attachment of Freshwater Bacteria to Solid Surfaces
86. Bendinger B, Rijnaarts HHM, Altendorf,' And K, Zehnder2t AJB (1993) Physicochemical Cell Surface and Adhesive Properties of Coryneform Bacteria Related to the Presence and Chain Length of Mycolic Acids
87. Marsh PD, Bradshaw DJ (1995) Dental plaque as a biofilm. *J Ind Microbiol* 15:169–175. <https://doi.org/10.1007/BF01569822>
88. Donlan RM, Costerton JW (2002) Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 15:167–193
89. Donlan RM (2002) *Biofilms: Microbial Life on Surfaces*
90. Rijnaarts HHM, Norde W, Bouwer EJ, et al (1993) Bacterial Adhesion under Static and Dynamic Conditions
91. Cowan MM, Warren TM, Fletcher M (1991) Mixed-species colonization of solid surfaces in laboratory biofilms. *Biofouling* 3:23–34. <https://doi.org/10.1080/08927019109378159>
92. Donlan RM, Pipes WO, Yohe TL (1994) BIOFILM FORMATION ON CAST IRON SUBSTRATA IN WATER DISTRIBUTION SYSTEMS
93. Fletcher M (1988) Attachment of *Pseudomonas fluorescens* to Glass and Influence of Electrolytes on Bacterium-Substratum Separation Distancet
94. Karatan E, Watnick P (2009) Signals, Regulatory Networks, and Materials That Build and Break Bacterial Biofilms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 73:310–347. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00041-08>
95. Hawser SP, Douglas LJ (1995) Resistance of *Candida albicans* Biofilms to Antifungal Agents In Vitro
96. Pierce CG, Uppuluri P, Tristan AR, et al (2008) A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. *Nat Protoc* 3:1494–1500. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.141>
97. Ramage G, Mowat E, Jones B, et al (2009) Our Current Understanding of Fungal Biofilms *Fungal biofilms* Gordon Ramage et al. *Crit Rev Microbiol* 35:340–355
98. Stewart PS, William Costerton J (2001) Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *The Lancet* 358:135–138. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)05321-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)05321-1)
99. Høiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, et al (2010) Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *Int J Antimicrob Agents* 35:322–332
100. Lenoir G, Vrielynck S, Clairicia M, et al (2007) Infection bacterienne et mucoviscidose. *Revue Francophone des Laboratoires* 397 :49–57
101. Mayaud C (2007) *Pseudomonas* et bronches. *Med Mal Infect* 37 :300–304
102. Ciferri O (1999) Microbial Degradation of Paintings
103. Lefevre M (1974) LA “MALADIE VERTE” DE LASCAUX
104. Little BJ, Lee JS (2009) Microbiologically Influenced Corrosion. In: *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. Wiley, pp 1–42
105. Simões M, Simões LC, Vieira MJ (2010) A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT* 43:573–583
106. Noori MT, Ghangrekar MM, Mukherjee CK, Min B (2019) Biofouling effects on the performance of microbial fuel cells and recent advances in biotechnological and chemical strategies for mitigation. *Biotechnol Adv* 37
107. Jadhav DA, Pandit S, Sonawane JM, et al (2021) Effect of membrane biofouling on the performance of microbial electrochemical cells and mitigation strategies. *Bioresour Technol Rep* 15

108. Zhang M, Cheng C, Xie R (2019) Control and cleaning of membrane biofouling by biogenic silver nanoparticles. In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Institute of Physics Publishing
109. Oliot M, Etcheverry L, Mosdale A, et al (2017) Separator electrode assembly (SEA) with 3-dimensional bioanode and removable air-cathode boosts microbial fuel cell performance. *J Power Sources* 356:389–399. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2017.03.016>
110. Vyas N, Manmi K, Wang Q, et al (2019) Which Parameters Affect Biofilm Removal with Acoustic Cavitation? A Review. *Ultrasound Med Biol* 45:1044–1055. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2019.01.002>
111. Chahine GL, Kapahi A, Choi JK, Hsiao CT (2016) Modeling of surface cleaning by cavitation bubble dynamics and collapse. *Ultrason Sonochem* 29:528–549. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.04.026>
112. Oulahal N, Martial-Gros A, Bonneau M, Blum LJ (2007) Removal of meat biofilms from surfaces by ultrasounds combined with enzymes and/or a chelating agent. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 8:192–196. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2006.10.001>
113. Whittaker C, Ridgway H, Olson BH (1984) Evaluation of Cleaning Strategies for Removal of Biofilms from Reverse-Osmosis Membranes
114. Reuter F, Lauterborn S, Mettin R, Lauterborn W (2017) Membrane cleaning with ultrasonically driven bubbles. *Ultrason Sonochem* 37:542–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.12.012>
115. Jepsen KL, Bram M V., Hansen L, et al (2019) Online Backwash Optimization of Membrane Filtration for Produced Water Treatment. *Membranes (Basel)* 9:68. <https://doi.org/10.3390/membranes9060068>
116. Busch J, Marquardt W (2006) RUN-TO-RUN CONTROL OF MEMBRANE FILTRATION PROCESSES 1. In: *ADCHEM*. pp 1003–1008
117. Soares A, Gomes LC, Monteiro GA, Mergulhão FJ (2022) Hydrodynamic Effects on Biofilm Development and Recombinant Protein Expression. *Microorganisms* 10:931. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050931>
118. Kastl A, Bogler A, Spinnler M, et al (2020) Impact of Hydrodynamics on the First Stages of Biofilm Formation in Forward Osmosis with Spacers. *Environ Sci Technol* 54:5279–5287. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c00380>
119. Tsagkari E, Sloan WT (2018) Turbulence accelerates the growth of drinking water biofilms. *Bioprocess Biosyst Eng* 41:757–770. <https://doi.org/10.1007/s00449-018-1909-0>
120. Halali MA, de Lannoy C-F (2022) Quantifying the Impact of Electrically Conductive Membrane-Generated Hydrogen Peroxide and Extreme pH on the Viability of *Escherichia coli* Biofilms. *Ind Eng Chem Res* 61:660–671. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.1c02914>
121. Brors A (1992) Untersuchungen zum Einfluß von elektrischen Feldern bei der Querstromfiltration von biologischen Suspensionen. Düsseldorf
122. González JE, Keshavan ND (2006) Messing with Bacterial Quorum Sensing. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 70:859–875. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00002-06>
123. Nguyen T, Roddick FA, Fan L (2012) Biofouling of water treatment membranes: A review of the underlying causes, monitoring techniques and control measures. *Membranes (Basel)* 2:804–840
124. Kim S, Lee S, Hong S, et al (2009) Biofouling of reverse osmosis membranes: Microbial quorum sensing and fouling propensity. *Desalination* 247:303–315. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2008.12.033>
125. Shakibaie MR, Taghadosi R, Masoumi S (2015) Biochemical detection of N-Acyl homoserine lactone from biofilm-forming uropathogenic *Escherichia coli* isolated from urinary tract infection samples. *Rep Biochem Mol Biol* 3:
126. Xiong Y, Liu Y (2010) Involvement of ATP and autoinducer-2 in aerobic granulation. *Biotechnol Bioeng* 105:51–58. <https://doi.org/10.1002/bit.22526>
127. Richards JJ, Melander C (2009) Controlling Bacterial Biofilms. *ChemBioChem* 10:2287–2294. <https://doi.org/10.1002/cbic.200900317>
128. Ponnusamy K, Paul D, Kim Y, Kweon J (2010) 2(5H)-Furanone: A Prospective strategy for biofouling-control in membrane biofilm bacteria by quorum sensing inhibition. *Braz J Microbiol* 41:227–234
129. Kappachery S, Paul D, Yoon J, Kweon JH (2010) Vanillin, a potential agent to prevent biofouling of reverse osmosis membrane. *Biofouling* 26:667–672. <https://doi.org/10.1080/08927014.2010.506573>
130. Yeon K-M, Cheong W-S, Oh H-S, et al (2009) Quorum Sensing: A New Biofouling Control Paradigm in a Membrane Bioreactor for Advanced Wastewater Treatment. *Environ Sci Technol* 43:380–385. <https://doi.org/10.1021/es8019275>
131. McGrath S (2007) *Bacteriophage: Genetics and Molecular Biology*. Caister Academic Press Limited
132. Goldman G, Starosvetsky J, Armon R (2009) Inhibition of biofilm formation on UF membrane by use of specific bacteriophages. *J Memb Sci* 342:145–152. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2009.06.036>
133. Liu S, Lu H, Zhang S, et al (2022) Phages against Pathogenic Bacterial Biofilms and Biofilm-Based Infections: A Review. *Pharmaceutics* 14
134. Withey S, Cartmell E, Avery LM, Stephenson T (2005) Bacteriophages—potential for application in wastewater treatment processes. *Science of The Total Environment* 339:1–18. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.09.021>
135. Charville GW, Hetrick EM, Geer CB, Schoenfisch MH (2008) Reduced bacterial adhesion to fibrinogen-coated substrates via nitric oxide release. *Biomaterials* 29:4039–4044. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.07.005>

136. Hetrick EM, Shin JH, Paul HS, Schoenfish MH (2009) Anti-biofilm efficacy of nitric oxide-releasing silica nanoparticles. *Biomaterials* 30:2782–2789. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.01.052>
137. Poh WH, Rice SA (2022) Recent Developments in Nitric Oxide Donors and Delivery for Antimicrobial and Anti-Biofilm Applications. *Molecules* 27:674. <https://doi.org/10.3390/molecules27030674>
138. Barraud N, Hassett DJ, Hwang S-H, et al (2006) Involvement of Nitric Oxide in Biofilm Dispersal of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 188:7344–7353. <https://doi.org/10.1128/JB.00779-06>
139. Singha P, Locklin J, Handa H (2017) A review of the recent advances in antimicrobial coatings for urinary catheters. *Acta Biomater* 50:20–40. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.11.070>
140. Yuan Y, Shang Y, Zhou Y, et al (2022) Enabling Antibacterial and Antifouling Coating via Grafting of a Nitric Oxide-Releasing Ionic Liquid on Silicone Rubber. *Biomacromolecules* 23:2329–2341. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.2c00077>
141. Stempel N, Nusser M, Neidig A, et al (2017) The oxidative stress agent hypochlorite stimulates c-di-GMP synthesis and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol* 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02311>
142. Gohil JM, Suresh AK (2017) Chlorine attack on reverse osmosis membranes: Mechanisms and mitigation strategies. *J Memb Sci* 541:108–126. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2017.06.092>
143. Bialoszewski D, Pietruczuk-Padzik A, Kalicinska A, et al (2011) Activity of ozonated water and ozone against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Med Sci Monit* 17:339–344
144. Richardson S (2003) Disinfection by-products and other emerging contaminants in drinking water. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 22:666–684. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(03\)01003-3](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(03)01003-3)
145. Fagan Joanne, Waite TD (1983) Notes. Biofouling control with ferrate(VI). *Environ Sci Technol* 17:123–125. <https://doi.org/10.1021/es00108a012>
146. DeLuca SJ, Chao AC, Smallwood C (1983) Removal of Organic Priority Pollutants by Oxidation-Coagulation. *Journal of Environmental Engineering* 109:36–46. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(1983\)109:1\(36\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(1983)109:1(36))
147. Jeronimo LP, Choi MR, Yeon SH, et al (2020) Effects of povidone-iodine composite on the elimination of bacterial biofilm. *Int Forum Allergy Rhinol* 10:884–892. <https://doi.org/10.1002/alr.22568>
148. Presterl E, Suchomel M, Eder M, et al (2007) Effects of alcohols, povidone-iodine and hydrogen peroxide on biofilms of *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 60:417–420. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm221>
149. Lee SHI, Cappato LP, Corassin CH, et al (2016) Effect of peracetic acid on biofilms formed by *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* isolated from dairy plants. *J Dairy Sci* 99:2384–2390. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10007>
150. Pineda MR, Byrd JA, Genovese KJ, et al (2021) Evaluation of sodium bisulfate on reducing salmonella heidelberg biofilm and colonization in broiler crops and ceca. *Microorganisms* 9. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102047>
151. Ong SL, Sarkar SK, Lee LY, et al (2006) Effect of Formaldehyde on Biofilm Activity and Morphology in an Ultracompact Biofilm Reactor for Carbonaceous Wastewater Treatment. *Water Environment Research* 78:372–380. <https://doi.org/10.2175/106143006x98787>
152. Simões LC, Lemos M, Araújo P, et al (2011) The effects of glutaraldehyde on the control of single and dual biofilms of *Bacillus cereus* and *Pseudomonas fluorescens*. *Biofouling* 27:337–346. <https://doi.org/10.1080/08927014.2011.575935>
153. Jennings MC, Ator LE, Paniak TJ, et al (2014) Biofilm-eradicating properties of quaternary ammonium amphiphiles: simple mimics of antimicrobial peptides. *ChemBiochem* 15:2211–2215. <https://doi.org/10.1002/cbic.201402254>
154. Gao F, Mu J, Bi Z, et al (2021) Recent advances of polyaniline composites in anticorrosive coatings: A review. *Prog Org Coat* 151
155. Jin H, Wang J, Tian L, et al (2022) Recent advances in emerging integrated antifouling and anticorrosion coatings. *Mater Des* 213
156. Cai W, Wang J, Quan X, et al (2018) Antifouling and anticorrosion properties of one-pot synthesized dedoped bromo-substituted polyaniline and its composite coatings. *Surf Coat Technol* 334:7–18. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2017.10.076>
157. Cui G, Bi Z, Zhang R, et al (2019) A comprehensive review on graphene-based anti-corrosive coatings. *Chemical Engineering Journal* 373:104–121
158. Anand A, Unnikrishnan B, Mao J-Y, et al (2018) Graphene-based nanofiltration membranes for improving salt rejection, water flux and antifouling—A review. *Desalination* 429:119–133. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2017.12.012>
159. Fazli-Shokouhi S, Nasirpouri F, Khatamian M (2019) Polyaniline-modified graphene oxide nanocomposites in epoxy coatings for enhancing the anticorrosion and antifouling properties. *J Coat Technol Res* 16:983–997. <https://doi.org/10.1007/s11998-018-00173-3>

160. Wu C, Wang J, Song S, et al (2020) Antifouling and anticorrosion performance of the composite coating made of tetrabromobisphenol-A epoxy and polyaniline nanowires. *Prog Org Coat* 148. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2020.105888>
161. Quan X, Wang J, Zhao S, et al (2018) Improved antibacterial, antifouling and corrosion protective performance of epoxy coatings with poly(m-aminophenol). *Prog Org Coat* 115:9–17. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2017.11.005>
162. Toh CT, Zhang H, Lin J, et al (2020) Synthesis and properties of free-standing monolayer amorphous carbon. *Nature* 577:199–203. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1871-2>
163. Liu Y, Suo X, Wang Z, et al (2017) Developing polyimide-copper antifouling coatings with capsule structures for sustainable release of copper. *Mater Des* 130:285–293. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2017.05.075>
164. Cerchier P, Pezzato L, Gennari C, et al (2020) PEO coating containing copper: A promising anticorrosive and antifouling coating for seawater application of AA 7075. *Surf Coat Technol* 393. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2020.125774>
165. Sui X, Xu R, Liu J, et al (2018) Tailoring the Tribocorrosion and Antifouling Performance of (Cr, Cu)-GLC Coatings for Marine Application. *ACS Appl Mater Interfaces* 10:36531–36539. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b12359>
166. Zhang J, Zhou S, Wang Y, et al (2019) Enhancing anti-corrosion and antifouling properties of Cu/GLC composite film for marine application. *Surf Coat Technol* 375:414–426. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2019.07.054>
167. Zhang J, Wang Y, Zhou S, et al (2020) Tailoring self-lubricating, wear-resistance, anticorrosion and antifouling properties of Ti/(Cu, MoS₂)-DLC coating in marine environment by controlling the content of Cu dopant. *Tribol Int* 143. <https://doi.org/10.1016/j.triboint.2019.106029>
168. Selim MS, Shenashen MA, El-Safty SA, et al (2017) Recent progress in marine foul-release polymeric nanocomposite coatings. *Prog Mater Sci* 87:1–32
169. Yang K, Chen J, Zheng L, et al (2021) Urushiol titanium polymer-based composites coatings for anti-corrosion and antifouling in marine spray splash zones. *J Appl Polym Sci* 138. <https://doi.org/10.1002/app.50861>
170. Xie Q, Pan J, Ma C, Zhang G (2019) Dynamic surface antifouling: Mechanism and systems. *Soft Matter* 15:1087–1107
171. Misdan N, Ismail AF, Hilal N (2016) Recent advances in the development of (bio)fouling resistant thin film composite membranes for desalination. *Desalination* 380:105–111
172. Higuchi A, Sugiyama K, Yoon BO, et al (2003) Serum protein adsorption and platelet adhesion on pluronicTM-adsorbed polysulfone membranes. *Biomaterials* 24:3235–3245. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00186-8](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00186-8)
173. Chang CW, Van Spreeuwel A, Zhang C, Varghese S (2010) PEG/clay nanocomposite hydrogel: A mechanically robust tissue engineering scaffold. *Soft Matter* 6:5157–5164. <https://doi.org/10.1039/c0sm00067a>
174. Acevedo MS, Puentes C, Carreño K, et al (2013) Antifouling paints based on marine natural products from Colombian Caribbean. *Int Biodeterior Biodegradation* 83:97–104. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.05.002>
175. Meng J, Cao Z, Ni L, et al (2014) A novel salt-responsive TFC RO membrane having superior antifouling and easy-cleaning properties. *J Memb Sci* 461:123–129. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2014.03.017>
176. Jiang S, Cao Z (2010) Ultralow-fouling, functionalizable, and hydrolyzable zwitterionic materials and their derivatives for biological applications. *Advanced Materials* 22:920–932. <https://doi.org/10.1002/adma.200901407>
177. Barua S, Chattopadhyay P, Phukan MM, et al (2014) Biocompatible hyperbranched epoxy/silver-reduced graphene oxide-curcumin nanocomposite as an advanced antimicrobial material. *RSC Adv* 4:47797–47805. <https://doi.org/10.1039/c4ra07802k>
178. Deka H, Karak N, Kalita RD, Buragohain AK (2010) Bio-based thermostable, biodegradable and biocompatible hyperbranched polyurethane/Ag nanocomposites with antimicrobial activity. *Polym Degrad Stab* 95:1509–1517. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.06.017>
179. Wei Q, Krysiak S, Achazi K, et al (2014) Multivalent anchored and crosslinked hyperbranched polyglycerol monolayers as antifouling coating for titanium oxide surfaces. *Colloids Surf B Biointerfaces* 122:684–692. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.08.001>
180. Zhang R, Li Y, Su Y, et al (2016) Engineering amphiphilic nanofiltration membrane surfaces with a multi-defense mechanism for improved antifouling performances. *J Mater Chem A Mater* 4:7892–7902. <https://doi.org/10.1039/c6ta02885c>
181. Zhu B, Liu Z, Liu J, et al (2020) Preparation of fluorinated/silanized polyacrylates amphiphilic polymers and their anticorrosion and antifouling performance. *Prog Org Coat* 140. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2019.105510>
182. Chen Y, Huang T, Jiang C, et al (2021) Preparation of antifouling poly (ether ether ketone) hollow fiber membrane by ultraviolet grafting of polyethylene glycol. *Mater Today Commun* 27. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102326>
183. Guennec A, Brelle L, Balnois E, et al (2021) Antifouling properties of amphiphilic poly(3-hydroxyalkanoate): an environmentally-friendly coating. *Biofouling* 37:894–910. <https://doi.org/10.1080/08927014.2021.1981298>

184. Nayak K, Kumar A, Das P, Tripathi BP (2021) Amphiphilic antifouling membranes by polydopamine mediated molecular grafting for water purification and oil/water separation. *J Memb Sci* 630. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2021.119306>
185. Feng C, Huang X (2018) Polymer Brushes: Efficient Synthesis and Applications. *Acc Chem Res* 51:2314–2323. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.8b00307>
186. Wang Y-M, Kálosi A, Halahovets Y, et al (2022) Grafting density and antifouling properties of poly[N -(2-hydroxypropyl) methacrylamide] brushes prepared by “grafting to” and “grafting from.” *Polym Chem* 13:3815–3826. <https://doi.org/10.1039/D2PY00478J>
187. Xu X, Huang X, Chang Y, et al (2021) Antifouling Surfaces Enabled by Surface Grafting of Highly Hydrophilic Sulfoxide Polymer Brushes. *Biomacromolecules* 22:330–339. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.0c01193>
188. Venault A, Wei TC, Shih HL, et al (2016) Antifouling pseudo-zwitterionic poly(vinylidene fluoride) membranes with efficient mixed-charge surface grafting via glow dielectric barrier discharge plasma-induced copolymerization. *J Memb Sci* 516:13–25. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2016.05.044>
189. Bae TH, Tak TM (2005) Effect of TiO₂ nanoparticles on fouling mitigation of ultrafiltration membranes for activated sludge filtration. *J Memb Sci* 249:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2004.09.008>
190. Yan L, Li YS, Xiang CB (2005) Preparation of poly(vinylidene fluoride)(pvdf) ultrafiltration membrane modified by nano-sized alumina (Al₂O₃) and its antifouling research. *Polymer (Guildf)* 46:7701–7706. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2005.05.155>
191. Monsef K, Homayoonfal M, Davar F (2018) Coating carboxylic and sulfate functional groups on ZrO₂ nanoparticles: Antifouling enhancement of nanocomposite membranes during water treatment. *React Funct Polym* 131:299–314. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2018.08.003>
192. Li X, Janke A, Formanek P, et al (2020) High permeation and antifouling polysulfone ultrafiltration membranes with in situ synthesized silica nanoparticles. *Mater Today Commun* 22:100784. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2019.100784>
193. Rahimpour A, Madaeni SS, Taheri AH, Mansourpanah Y (2008) Coupling TiO₂ nanoparticles with UV irradiation for modification of polyethersulfone ultrafiltration membranes. *J Memb Sci* 313:158–169. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2007.12.075>
194. Tashiro T (2001) Antibacterial and Bacterium Adsorbing Macromolecules
195. Desai NP, Hubbell JA (1992) Surface-immobilized polyethylene oxide for bacterial repellence. *Biomaterials* 13:417–420
196. Liu CX, Zhang DR, He Y, et al (2010) Modification of membrane surface for anti-biofouling performance: Effect of anti-adhesion and anti-bacteria approaches. *J Memb Sci* 346:121–130. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2009.09.028>
197. Borkow G, Gabbay J (2005) Copper as a Biocidal Tool
198. Feng QL, Wu J, Chen GQ, et al (2000) A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*
199. Dror-Ehre A, Mamane H, Belenkova T, et al (2009) Silver nanoparticle-E. coli colloidal interaction in water and effect on E. coli survival. *J Colloid Interface Sci* 339:521–526. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2009.07.052>
200. Lok CN, Ho CM, Chen R, et al (2006) Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. *J Proteome Res* 5:916–924. <https://doi.org/10.1021/pr0504079>
201. Gibała A, Żeliszewska P, Gosiewski T, et al (2021) Antibacterial and antifungal properties of silver nanoparticles—effect of a surface-stabilizing agent. *Biomolecules* 11. <https://doi.org/10.3390/biom11101481>
202. Panáček A, Kolář M, Večeřová R, et al (2009) Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp. *Biomaterials* 30:6333–6340. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.07.065>
203. Kanhed P, Birla S, Gaikwad S, et al (2014) In vitro antifungal efficacy of copper nanoparticles against selected crop pathogenic fungi. *Mater Lett* 115:13–17. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2013.10.011>
204. Ibarra-Laclette E, Blaz J, Pérez-Torres CA, et al (2022) Antifungal Effect of Copper Nanoparticles against *Fusarium kuroshium*, an Obligate Symbiont of *Euwallacea kuroshio* Ambrosia Beetle. *Journal of Fungi* 8. <https://doi.org/10.3390/jof8040347>
205. Küpper V, Steiner U, Kortekamp A (2022) *Trichoderma* species isolated from grapevine with tolerance towards common copper fungicides used in viticulture for plant protection. *Pest Manag Sci* 78:3266–3276. <https://doi.org/10.1002/ps.6951>
206. Petrović JJ, Danilović G, Čurčić N, et al (2014) Copper tolerance of *trichoderma* species. *Arch Biol Sci* 66:137–142. <https://doi.org/10.2298/ABS1401137J>
207. Guilger M, Pasquoto-Stigliani T, Bilesky-Jose N, et al (2017) Biogenic silver nanoparticles based on *trichoderma harzianum*: Synthesis, characterization, toxicity evaluation and biological activity. *Sci Rep* 7. <https://doi.org/10.1038/srep44421>
208. Guilger-Casagrande M, Germano-Costa T, Pasquoto-Stigliani T, et al (2019) Biosynthesis of silver nanoparticles employing *Trichoderma harzianum* with enzymatic stimulation for the control of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Sci Rep* 9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50871-0>

209. Ahmadi-Nouraldin F, Afrouz M, Elias SG, Eslamian S (2021) Green Synthesis of Copper Nanoparticles Extracted From Guar Seedling Under Cu Heavy-Metal Stress By *Trichoderma Harzianum* And Their Bio-Ecacy Evaluation Against *Staphylococcus Aureus* And *Escherichia Coli*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-639339/v1>
210. Alghuthaymi MA, Abd-Elsalam KA, AboDAlam HM, et al (2022) *Trichoderma*: An Eco-Friendly Source of Nanomaterials for Sustainable Agroecosystems. *Journal of Fungi* 8:367. <https://doi.org/10.3390/jof8040367>
211. Mahdizadeh V, Safaie N, Khelghatibana F (2015) Evaluation of antifungal activity of silver nanoparticles against some phytopathogenic fungi and *Trichoderma harzianum*. *J Crop Prot* 4:291–300
212. Siddiquee S, Aishah SN, Azad SA, et al (2013) Tolerance and biosorption capacity of Zn²⁺, Pb²⁺, Ni³⁺ and Cu²⁺; by filamentous fungi (*Trichoderma harzianum*, *T. aureoviride* and *T. virens*). *Advances in Bioscience and Biotechnology* 04:570–583. <https://doi.org/10.4236/abb.2013.44075>
213. Racić G, Vukelić I, Kordić B, et al (2023) Screening of Native *Trichoderma* Species for Nickel and Copper Bioremediation Potential Determined by FTIR and XRF. *Microorganisms* 11. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030815>
214. Ganash M (2017) Genotoxicity and Molecular Response of Biotechnological Agent *Trichoderma harzianum* as a Result of Silver Nanoparticles Application. *J Pure Appl Microbiol* 11:821–827. <https://doi.org/10.22207/JPAM.11.2.21>
215. Gavanji S, Shams M, Shafagh N, et al (2012) Destructive Effect of Silver Nanoparticles on Biocontrol Agent Fungi *Trichoderma Viride* and *T. Harzianum*. *Caspian Journal of Applied Sciences Research* 1:83–90
216. Machado GE, Pereyra AM, Rosato VG, et al (2019) Improving the biocidal activity of outdoor coating formulations by using zeolite-supported silver nanoparticles. *Materials Science and Engineering C* 98:789–799. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.040>
217. Gudkov S V., Burmistrov DE, Serov DA, et al (2021) A Mini Review of Antibacterial Properties of ZnO Nanoparticles. *Front Phys* 9
218. Hemlata, Meena PR, Singh AP, Tejavath KK (2020) Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Cucumis prophetarum* Aqueous Leaf Extract and Their Antibacterial and Antiproliferative Activity against Cancer Cell Lines. *ACS Omega* 5:5520–5528. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00155>
219. Ghosh MK, Sahu S, Gupta I, Ghorai TK (2020) Green synthesis of copper nanoparticles from an extract of *Jatropha curcas* leaves: characterization, optical properties, CT-DNA binding and photocatalytic activity. *RSC Adv* 10:22027–22035. <https://doi.org/10.1039/d0ra03186k>
220. Khan Y, Qasim Nasar M, Numan M (2018) Biomimetic Synthesis of Silver Nanoparticles for Breast Cancer Therapeutics and Its Mechanism Plant extract mediated synthesis of nanoparticles and their pharmacological potential. View project Exploring Plant Growth Promoting Potential of Halotolerant Bacteria View project
221. Xiong J, Wang Y, Xue Q, Wu X (2011) Synthesis of highly stable dispersions of nanosized copper particles using L-ascorbic acid. *Green Chemistry* 13:900–904. <https://doi.org/10.1039/c0gc00772b>
222. Lee H, Dellatore SM, Miller WM, Messersmith PB (2007) Mussel-inspired surface chemistry for multifunctional coatings. *Science* (1979) 318:426–430. <https://doi.org/10.1126/science.1147241>
223. Li F, Yu Y, Wang Q, et al (2018) Polymerization of dopamine catalyzed by laccase: Comparison of enzymatic and conventional methods. *Enzyme Microb Technol* 119:58–64. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2018.09.003>
224. Chen M, Wen Q, Gu F, et al (2018) Mussel chemistry assembly of a novel biosensing nanoplatfrom based on polydopamine fluorescent dot and its photophysical features. *Chemical Engineering Journal* 342:331–338. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.02.099>
225. Wang D, Wu H, Zhou J, et al (2018) In Situ One-Pot Synthesis of MOF–Polydopamine Hybrid Nanogels with Enhanced Photothermal Effect for Targeted Cancer Therapy. *Advanced Science* 5. <https://doi.org/10.1002/advs.201800287>
226. Ang JM, Du Y, Tay BY, et al (2016) One-Pot Synthesis of Fe(III)–Polydopamine Complex Nanospheres: Morphological Evolution, Mechanism, and Application of the Carbonized Hybrid Nanospheres in Catalysis and Zn–Air Battery. *Langmuir* 32:9265–9275. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b02331>
227. Hong S, Wang Y, Young Park S, Lee H (2018) Progressive fuzzy cation-□ assembly of biological catecholamines
228. Hong S, Na YS, Choi S, et al (2012) Non-covalent self-assembly and covalent polymerization co-contribute to polydopamine formation. *Adv Funct Mater* 22:4711–4717. <https://doi.org/10.1002/adfm.201201156>
229. Barclay TG, Hegab HM, Clarke SR, Ginic-Markovic M (2017) Versatile Surface Modification Using Polydopamine and Related Polycatecholamines: Chemistry, Structure, and Applications. *Adv Mater Interfaces* 4
230. Liebscher J, Mrówczyński R, Scheidt HA, et al (2013) Structure of polydopamine: A never-ending story? *Langmuir* 29:10539–10548. <https://doi.org/10.1021/la4020288>
231. Singh I, Dhawan G, Gupta S, Kumar P (2021) Recent Advances in a Polydopamine-Mediated Antimicrobial Adhesion System. *Front Microbiol* 11
232. Alfieri ML, Panzella L, Oscurato SL, et al (2018) The chemistry of polydopamine film formation: The amine-quinone interplay. *Biomimetics* 3. <https://doi.org/10.3390/biomimetics3030026>

233. Alfieri ML, Micillo R, Panzella L, et al (2018) Structural Basis of Polydopamine Film Formation: Probing 5,6-Dihydroxyindole-Based Eumelanin Type Units and the Porphyrin Issue. *ACS Appl Mater Interfaces* 10:7670–7680. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b09662>
234. Ho CC, Ding SJ (2014) Structure, properties and applications of mussel-inspired polydopamine. *J Biomed Nanotechnol* 10:3063–3084
235. Liebscher J (2019) Chemistry of Polydopamine – Scope, Variation, and Limitation. *European J Org Chem* 2019:4976–4994
236. Holten-Andersen N, Mates TE, Toprak MS, et al (2009) Metals and the integrity of a biological coating: The cuticle of mussel byssus. *Langmuir* 25:3323–3326. <https://doi.org/10.1021/la8027012>
237. Wang X, Zhang J, Wang Y, et al (2016) Multi-responsive photothermal-chemotherapy with drug-loaded melanin-like nanoparticles for synergetic tumor ablation. *Biomaterials* 81:114–124. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.11.037>
238. Liu D, Huang H, Zhao B, Guo W (2021) Natural Melanin-Based Nanoparticles With Combined Chemo/Photothermal/Photodynamic Effect Induce Immunogenic Cell Death (ICD) on Tumor. *Front Bioeng Biotechnol* 9. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.635858>
239. Deng Y, Yang WZ, Shi D, et al (2019) Bioinspired and osteopromotive polydopamine nanoparticle-incorporated fibrous membranes for robust bone regeneration. *NPG Asia Mater* 11. <https://doi.org/10.1038/s41427-019-0139-5>
240. Kong XJ, Wu S, Chen TT, et al (2016) MnO₂-induced synthesis of fluorescent polydopamine nanoparticles for reduced glutathione sensing in human whole blood. *Nanoscale* 8:15604–15610. <https://doi.org/10.1039/c6nr04777g>
241. Wang Z, Zhang J, Chen F, Cai K (2017) Fluorescent miRNA analysis enhanced by mesopore effects of polydopamine nanoquenchers. *Analyst* 142:2796–2804. <https://doi.org/10.1039/c7an00528h>
242. Zhao YY, Li L, Yu RQ, et al (2017) CoOOH-induced synthesis of fluorescent polydopamine nanoparticles for the detection of ascorbic acid. *Analytical Methods* 9:5518–5524. <https://doi.org/10.1039/c7ay01566f>
243. Poinard B, Kamaluddin S, Tan AQQ, et al (2019) Polydopamine Coating Enhances Mucopenetration and Cell Uptake of Nanoparticles. *ACS Appl Mater Interfaces* 11:4777–4789. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b18107>
244. Mallinson D, Mullen AB, Lamprou DA (2018) Probing polydopamine adhesion to protein and polymer films: microscopic and spectroscopic evaluation. *J Mater Sci* 53:3198–3209. <https://doi.org/10.1007/s10853-017-1806-y>
245. Ku SH, Park CB (2010) Human endothelial cell growth on mussel-inspired nanofiber scaffold for vascular tissue engineering. *Biomaterials* 31:9431–9437. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.08.071>
246. Li Y, Yang W, Li X, et al (2015) Improving Osteointegration and Osteogenesis of Three-Dimensional Porous Ti6Al4V Scaffolds by Polydopamine-Assisted Biomimetic Hydroxyapatite Coating. *ACS Appl Mater Interfaces* 7:5715–5724. <https://doi.org/10.1021/acsami.5b00331>
247. Lakshminarayanan R, Madhavi S, Sim CPC (2018) Oxidative Polymerization of Dopamine: A High-Definition Multifunctional Coatings for Electrospun Nanofibers - An Overview. In: *Dopamine - Health and Disease*. InTech
248. Liu H, Qu X, Tan H, et al (2019) Role of polydopamine's redox-activity on its pro-oxidant, radical-scavenging, and antimicrobial activities. *Acta Biomater* 88:181–196. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.02.032>
249. Larosa V, Remacle C (2018) Insights into the respiratory chain and oxidative stress. *Biosci Rep* 38
250. Su L, Yu Y, Zhao Y, et al (2016) Strong Antibacterial Polydopamine Coatings Prepared by a Shaking-assisted Method. *Sci Rep* 6. <https://doi.org/10.1038/srep24420>
251. Patel K, Singh N, Yadav J, et al (2018) Polydopamine films change their physicochemical and antimicrobial properties with a change in reaction conditions. *Physical Chemistry Chemical Physics* 20:5744–5755. <https://doi.org/10.1039/c7cp08406d>
252. Zou Y, Chen X, Yang P, et al (2020) Regulating the absorption spectrum of polydopamine
253. Khanzada NK, Rehman S, Leu S-Y, An AK (2020) Evaluation of anti-bacterial adhesion performance of polydopamine cross-linked graphene oxide RO membrane via in situ optical coherence tomography. *Desalination* 479:114339. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2020.114339>
254. Luo H, Xu G, Lu Y, et al (2017) Electricity generation in a microbial fuel cell using yogurt wastewater under alkaline conditions. *RSC Adv* 7:32826–32832. <https://doi.org/10.1039/c7ra06131e>
255. Binahmed S, Hasane A, Wang Z, et al (2018) Bacterial Adhesion to Ultrafiltration Membranes: Role of Hydrophilicity, Natural Organic Matter, and Cell-Surface Macromolecules. *Environ Sci Technol* 52:162–172. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03682>

PARTIE II. RESULTATS ET DISCUSSIONS

Cette partie, consacrée aux résultats obtenus et aux interprétations, contient trois chapitres. Les deux premiers sont présentés en anglais sous forme de publications. Ils concernent les expériences de piles microbiennes avec le bleu de méthylène, puis avec le cristal violet. Le troisième chapitre est rédigé en français, sous un format plus traditionnel. Il est consacré aux traitements *antifouling* de la membrane des piles. Chaque chapitre contient sa propre section « Matériels et méthodes ».

Methylene blue removal by a dual-chamber fungal-based microbial fuel cell with *Trichoderma harzianum*

Abstract

This study examines the removal of methylene blue (MB) from an aqueous solution by the application of a dual cell fungal-based microbial fuel cell (MFC). The choice of fungus (*Trichoderma harzianum*) was because of its metabolic ability to degrade organic chemical compounds, especially those containing aromatic rings. To do so, two types of carbon clothes were tested as electrodes and supports for fungi growth, KIP and CSV from Decarb company (France). These two electrodes, with various characteristics, have shown different performances in the removal and MFC efficiency. Kinetics of MB removal followed a pseudo-first-order model with a half-time of 4 h for CSV and 4.7 h for KIP with MB initial concentration of 100 mg L⁻¹. Considering the sorption experiments, it could be observed that the MB has been absorbed faster by the CSV electrode (a sorption half-time of 4.5 h) compared to the KIP (with a half-time of 29.6 h). Whereas the quantity of absorbed MB was higher in KIP due to its larger thickness (530 μm for KIP and 235 μm for CSV), and higher hydrophobicity. Moreover, KIP, being more hydrophobic than CSV, entrapped a larger quantity of fungal mass. Therefore, the MFC working with KIP electrodes was more efficient with higher maximum power density ϕ . The MFC was optimized by a previous step of MB saturation of the carbon clothes anode before use in MFC to eliminate MB sorption by carbon clothes. The obtained ϕ values for KIP were largely increased and were higher to those usually encountered in the bibliography: $\phi_s = 101$ mW m⁻² of the electrode and $\phi_v = 1386$ mW m⁻³ of treated volume in open circuit and $\phi_s = 68$ mW m⁻² and $\phi_v = 1267$ W m⁻³ in debiting mode (conditions R = 200 Ohm). These results provide new insight into the development of an effective MFC system, capable of extracting energy and promoting the bioremediation of dyes.

I. Introduction

Large volumes of polluted wastewater are released in the processing operations of the textile industries [1]. Dyes are the most pollutant molecules, and even in very small amounts, they degrade the drinkability of the water, its aesthetic, and the oxygen solubility necessary for plants.

Many classes of dyes are used in textile industries, among them phenyl methane group is predominant in most dyeing applications [2] where methylene blue (MB) is one of the most common ones. MB is an aromatic heterocyclic that is being used in several applications such as medicine [3], biology [4], and textile industries [5]. MB is especially applied in dyeing wood, cotton, and silk [6]. It impedes light penetration in water necessary for aquatic plants, even at small concentrations and it is also suspected to interfere with photosynthetic activity and the growth of biota. MB produce also micro-toxicity to marine organisms by chelating metal ions [7].

There are different methods of dye removal from wastewater including physical-chemical techniques such as adsorption, flocculation, photolysis, chemical precipitation, chemical oxidation and reduction, electro-chemical treatments, and ion-pair extraction [8]. These methods were subsequently carried out but are not sufficient for the complete removal of dyes from wastewater as well as generating a large amount of sludge as secondary pollutants. Biological methods of water treatment associated with physical or chemical methods for dye removal are very useful and often low-cost. Bacterial and fungal strains [9] are able to absorb or degrade a wide range of organic compounds among them dyes. However, the comprehension of the metabolism and the enzymatic functioning of the microorganisms is crucial to improve the degradation processes. Thus, there is a real need to develop eco-friendly and cost-effective methods to remove pollutant dyes from wastewater for the safety of the environment and human and animal health.

Research in the field of microbial fuel cells (MFC) is therefore very important and falls within the framework of green chemistry [10]. The current context of the fight against climate change also explains this enthusiasm. MFCs can produce electricity by degrading organic substrates coming from human activity, especially dyes [11, 12]. In 2009, Liu *et al.* prepared an MFC using the bacterium *Klebsiella pneumoniae* for methyl orange, orange I, and orange II degradation with a maximal surface power density of 34.8 mW m^{-2} [13]. Later, Cao *et al.* explored different co-substrate for Congo Red degradation [14]. The results showed that more than 98 % of Congo red was eliminated from wastewater and 103 mW m^{-2} were produced with glucose as a co-substrate.

Bacteria served first as a biocatalyst, and now it is still the most used. Bacteria demonstrated their ability to degrade different pollutants, but they have some limits, especially for aromatic molecules. The use of fungi is innovative and slightly encountered in the literature [15]. Among microorganisms, filamentous fungi have a significant role in bioremediation because of their metabolic ability to degrade various recalcitrant toxic compounds, such as organics chemicals, textiles dyes and effluents, petroleum, polyaromatic hydrocarbons plastics, and pesticides [16, 17]. Few recent works reported MFCs using fungi as biocatalysts. In 2008, Gunawardena *et al.* worked out a yeast-based MFC containing *Saccharomyces cerevisiae* as a biocatalyst, MB as an electronic mediator in the anodic compartment, glucose as substrate, and potassium ferricyanide as an electron acceptor in the cathodic compartment [18]. Some works concerned *Candida melibiosica* 2491 yeast strain as a biocatalyst. Hubenova *et al.* demonstrated the electrogenic properties of this strain and reported two works on the phytate degradation [19, 20] and Babanova *et al.* studied the influence of various electronic mediators on MFC efficiency [21]. Mbokou *et al.* developed a bioremediation technique of acetaminophen using *Scedosporium dehoogii* up to complete mineralization [22] and Pontié *et al.* highlighted the ability of fungi to degrade aromatic compounds like paracetamol, particularly by improving the MFC's cathode [23]. In 2018, a combined system of phytoremediation with microbial fuel cell has been applied to enhance the treatment of textile effluent [11].

T. harzianum is a saprophyte, aerobic and facultative anaerobic fungus. As an *Ascomycota* strain, it shows advantages over other fungi due to its fungicidal action, its absence of toxicity to humans, and its ability to degrade pollutants without harmful by-products [24]. Some previous studies have studied the use of *T. harzianum* in MFC. Shabani *et al.* 2020

investigated the bioremediation of acetaminophen (APAP) and 4-aminophenol (PAP) associated with energy production in a dual-chamber fungal MFC with *T. harzianum* and *T. harzianum* associated in mixed biofilm with *Pseudomonas fluorescens* bacteria as bioanode [15]. APAP and PAP were removed in 7 h and the biodegradation rate with the bacterial-fungal biofilm was 5-fold higher than the one containing only *T. harzianum*.

Most of the research using MB in MFC concerns their application as an electron mediator. Walker *et al.* studied a yeast-based MFC containing *S. cerevisiae* and MB as an electron mediator and glucose as a substrate in the anodic compartment [25]. In the same year, Wilkinson *et al.* used an MB and neutral red mixture to significantly improve the power density of a yeast-based MFC [26]. Gunawardena *et al.* used *S. cerevisiae* with MB as an electron mediator in the anodic compartment and potassium ferricyanide as an electron mediator in the cathodic compartment [18] and reach 28 % of MB removal and with a maximum solution volume power density of 146.7 mW m⁻³.

In the current study, the removal of MB has been investigated using two different types of electrodes in a fungal-based microbial fuel cell. Various topics have been covered including the kinetics of MB sorption, MFC efficiency in MB removal, and finally the produced power density. The microbial fuel cell has been tested in two modes of OCV (open circuit voltage) and CCV (closed circuit voltage) and the results have been compared. Finally, the influences of two types of carbon clothes, the additional step of carbon cloth saturation by MB, and the circuit mode have been investigated on the MB removal for optimization purposes.

II. Experimental

II.1. Micro-organism

Trichoderma harzianum strain n° 1573 was isolated from wood samples in the vicinity of Angers (France) and was provided by IRHS-INRAE, Angers, France (Fig. 1).

Fig. 1a

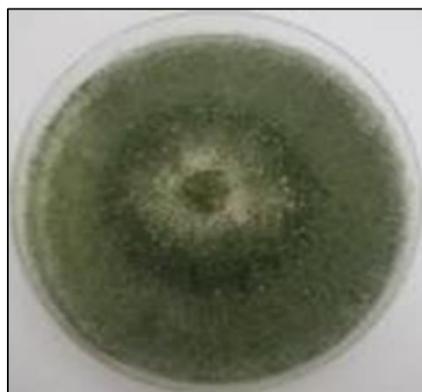


Fig. 1b

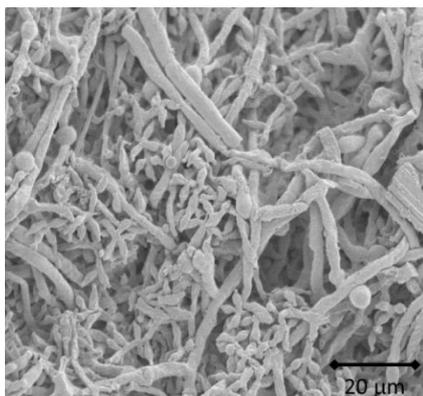


Fig. 1c

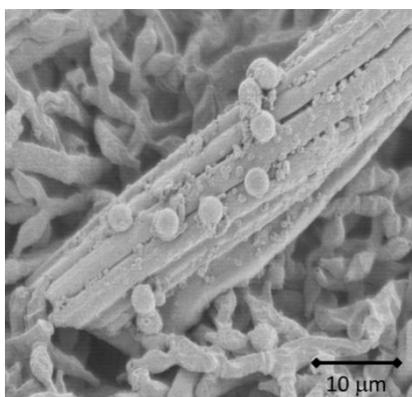


Fig. 1. a) *T. harzianum* on PDA petri dish (strain n°1573, IRHS, Angers, France); b) *T. harzianum*, filaments and spores (x 1000); c) *T. harzianum*'s biofilm on carbon cloth (x 2500).

II.2. Chemical

Methylene blue (C.I. 52015) of European pharmacopoeia grade was provided by Merck (Darmstadt, BW, Germany). Anhydrous citric acid was furnished by Fisher bioreagents (Fair Lawn, NJ, USA). Dihydrated trisodium citrate and hydrochloric acid were dispensed by Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). Potassium ferricyanide was ACS reagent grade and granted by MP Biomedicals (Solon, OH, USA). Anhydrous D (+)-glucose (dextrose) was ACS reagent grade and provided by Fisher Chemical (Loughborough, UK)

II.3. Culture media

Media for stock culture were prepared by dissolving 7.8 g of potato-dextrose agar (PDA) (Sigma-Aldrich, USA) in 200 mL of distilled water, sterilized by autoclaving, and poured into Petri dishes. *T. harzianum* was inoculated on 5 spots on the agar plates for stock and 1 spot for growth experiments with and without MB.

The toxicity of MB towards *T. harzianum* was studied on agar plates containing 3.4 wt.% potato dextrose agar (PDA) (St Louis, MO, USA) with or without 100 mg L⁻¹ of dye. *T. harzianum* was inoculated by one spot in the center of the plate using a platinum inoculation loop. *T. Harzianum* growth was monitored at room temperature by measuring the growth

diameter on 2 orthogonal axes. Each experiment was quadruplicated and the average of obtained results was reported. The pH of the media was 5 considering that is the optimum pH for *T. harzianum* [27]. A suspension containing approximately 10^6 spores per milliliter was used to form a biofilm. After three days, the resulting mature biofilm was utilized as a bioanode in an MFC.

II.4. MFC construction

In the current study, a glassy dual-chamber MFC ($V = 100$ mL) has been sealed by two Teflon gaskets and separated by a 3×3 cm (9 cm²) Nafion 117 cation exchange membrane (provided by Ion Power GmbH, Munich, Germany) (Fig. 2). Each element of the MFC was previously sterilized by autoclaving and assembled under a microbiological safety cabinet. Carbon clothes used as electrodes were gracefully purchased by Dacarb Company (France) (KIP and CSV reference). Electrodes were connected to an electrical circuit by platinum rods (1,5 mm diameter, 99.95% purity, purchased by ThermoFisher, Kandel, Germany) as electron collectors, and alligator clips. The electrical circuit consisted in a multimeter and a resistance decade box (Elc, DR06, France) connected in parallel. The electron collectors of the respective compartments of the MFC passed through collars, closed with carded cotton and parafilm (PM-999, Bemis, Neenah, WI, USA). The anodic compartment had an additional neck to collect samples. The carbon cloth anode (3×3 cm²) was previously inoculated on Petri dish containing *T. harzianum* mat for 3 days at room temperature ($1 \cdot 10^6$ spores mL⁻¹). 20 mL of citrate buffer were added to submerge the anode and to create a suspension with a plastic cell spreader. The MFC was filled with 90 mL of sterilized electrolytes in each compartment. MB solution ($C_0 = 100$ mg L⁻¹) and dextrose (10 mg L⁻¹ in 0.1M ionic strength citrate buffer at $pH = 5.0$) were used as anolyte solution in the upstream compartment. In the downstream compartment potassium ferricyanide (PF) was used as catholyte solution (31.9 g L⁻¹) in 0.1 M citrate buffer for dioxygen reduction (filtrated air bulling) and to improve the electrical performance of the MFC. The experiments were carried out at room temperature (22 ± 2 ° C), under magnetic stirring (130 rpm) for 7 days.

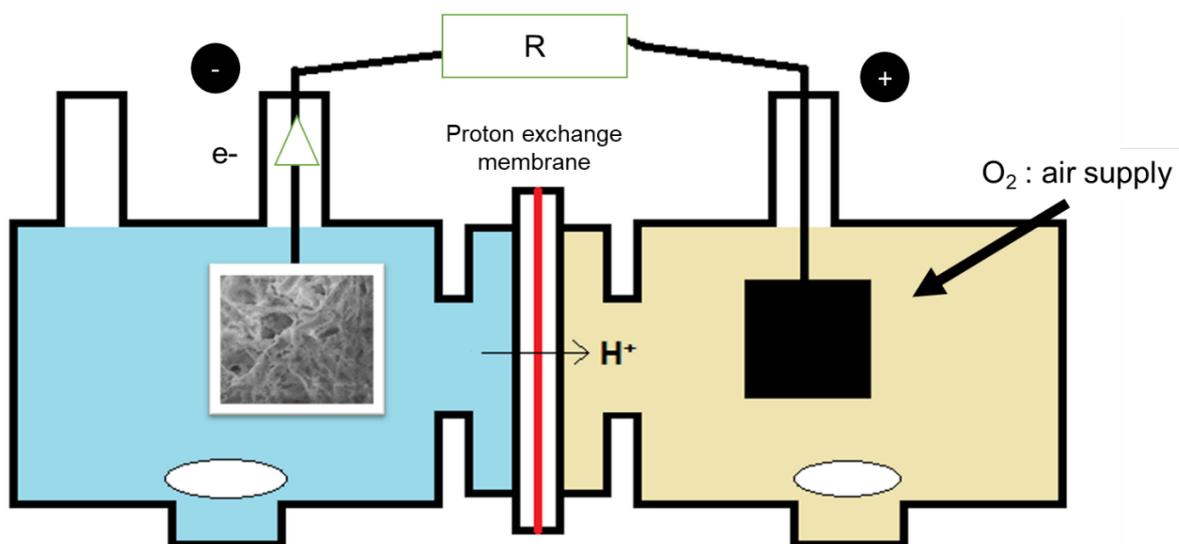
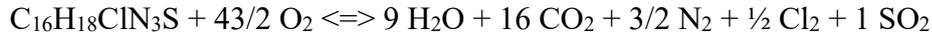


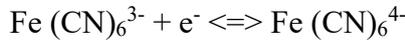
Fig. 2. Scheme of MFC with *T. harzianum* entrapped in carbon cloth anode for MB oxidation.

The reactions at electrodes were:

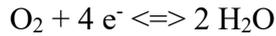
oxide reduction of the MB in the MFC (with the hypothesis of total mineralization):



Half-reaction of the PF reduction at the cathode:



Half-reaction of the reduction of oxygen at the cathode (with the hypothesis that dioxygen plays also a role in the regeneration of the ferrocyanide into PF):



To complete the results, one experiment was performed without *T. harzianum* as the control experiment (MB - CSV) and one experiment was also carried out with MB as substrate without potassium ferricyanide. In order to eliminate the sorption phenomenon of dyes by the anode during the experiment, MFC was as well tested with carbon clothes previously saturated with MB (500 mg L⁻¹).

Samples of 0.25 ml of anolyte were regularly collected and diluted with 3.75 mL of deionized water and then stored in a freezer (at a temperature of -5 C) to prevent further *T. harzianum* growth and MB biodegradation. At the end of each experiment, the samples were unfrozen, homogenized, and the change of absorbance at 664 nm (maximum absorption wavelength of MB) was measured with a UV-Visible spectrophotometer (Agilent Technologies, Cary 100). The MB concentration C_t (mg L⁻¹) was obtained using a calibration range vs MB concentration previously performed. MB removal ratio f (%) vs time was determined:

$$f = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100 \quad (1)$$

The mass q_e (or q_t) of MB removed at equilibrium (or t time) per g of carbon cloth (mg g⁻¹) was calculated as follows:

$$q_e = \frac{(C_0 - C_{eq})V}{m} \quad (2)$$

where C_0 and C_{eq} are respectively the initial and equilibrium concentrations of MB in the solution (g L⁻¹), V is the volume of solution (L), and m is the mass of carbon cloth (g).

When the pseudo-first-order was applied to estimate the MB biodegradation, $\ln(q_e - q_t) = f(t)$ curves were plotted. k rate constants (h⁻¹) were determined with the negative values of the slopes and half-times of removal ($t_{1/2}$ in h) were determined as follows:

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k} \quad (3)$$

The external resistance was fixed at 1 MOhm value (in OCV mode) during the experiment. Twice a day during MFC running, the potential values between electrodes E (V) were collected for different external R (Ω) fixed with a decade box. Then, the current intensity I (A) values were deduced from the Ohms law and power values (W) was calculated at the optimum

resistance. The performances of the MFC, namely optimal resistance, maximum current density, and maximum power density were deduced from the measurements. The performances of the MFC were also tested in a CCV mode at the measured optimal external R of 200 ohms.

II.5. Carbon cloth characterization

Averaged thicknesses and volumes of the KIP and CSV carbon clothes used as anode were measured using a caliper before each MFC experiment. They were also weighted, and their density was determined.

T. harzianum and carbon cloth electrodes with biofilm were observed by scanning electron microscopy (SEM) (SEM EVO40EP from Zeiss). The sample was prepared in three steps. First, all enzymatic activities were stopped with a sodium cacodylate buffer (0.1 M, $pH = 7.4$) solution containing 2.5 wt. % of glutaraldehyde and 4 wt. % of paraformaldehydes. Then, the fixation of the lipidic compounds was performed into sodium cacodylate buffer (0.1 M, $pH = 7.0$) with 1 wt.% of osmium tetroxide for 2 h. Finally, the progressive dehydration of the samples was performed by water-ethanol mixtures with an increasing volume percentage of ethanol and a last treatment with hexamethyldisiloxane. The samples were covered with a 12 nm platinum layer to ensure electronic conductivity of the surface before observation.

Contact angle θ between the surface of the carbon cloth and the anolyte solution (MB 100 mg L⁻¹ and dextrose 10 mg L⁻¹ in 0.1 M ionic strength citrate buffer at $pH = 5.0$) were determined at room temperature (23 °C) using the drop shape analyzer DSA 25 from Krüss (Hamburg - Germany) with sessile drop technic. The size of the droplet was controlled to 3 μ L and the photo time was 500 ms. Each result was averaged from at least five measurements.

Sorption experiments on carbon clothes were carried out to determine the sorption phenomenon's role in MB removal and its kinetics. They were performed on CSV and KIP carbon cloth (3 x 3 cm²) in MB solution (500 mg L⁻¹) in citrate buffer, at $pH=5$, at room $T=23\pm 1^\circ\text{C}$ (volume 150 mL). Samples were collected over time and the concentration was determined with a UV-Visible spectrophotometer.

III. Results and discussions

III.1. Stability of MB

The light stability of MB over time is an important factor to be considered because if MB was light sensitive, it would not be possible to distinguish the light-induced degradation from the fungi-induced degradation. UV-Visible spectroscopy provides a solution to clear this point. The spectra (wavelength from 500 to 750 nm) of 100 mg L⁻¹ MB solution in citrate buffer ($pH = 5.0$) after 24 days of daylight exposure were like the spectrum before exposure. The absorbance at the maximum absorption wavelength (664 nm for MB) did not show a significant decrease. Thus, light exposure will not influence the dye concentration in the anodic compartment during the MFC experiments.

In the same way, the stability of MB after autoclaving treatment for sterilization (20 min, 120 °C, $P = 1.4$ bar) was also checked by UV-Vis measurements. No influence of the treatment was observed (results not shown).

III.2. The growth of *T. harzianum*

First, the influence of MB on *T. harzianum* growth was checked on the PDA plate. MB did not inhibit the fungus growth (Fig. 3). An increase in growth was even observed in the presence of MB, which could be explained by its use as a substrate. The growth characteristics with MB (growth diameters and rate values) were higher with than without MB (Table 1). This lack of toxicity of MB against *T. harzianum* makes it possible to use it as a substrate in MFC.

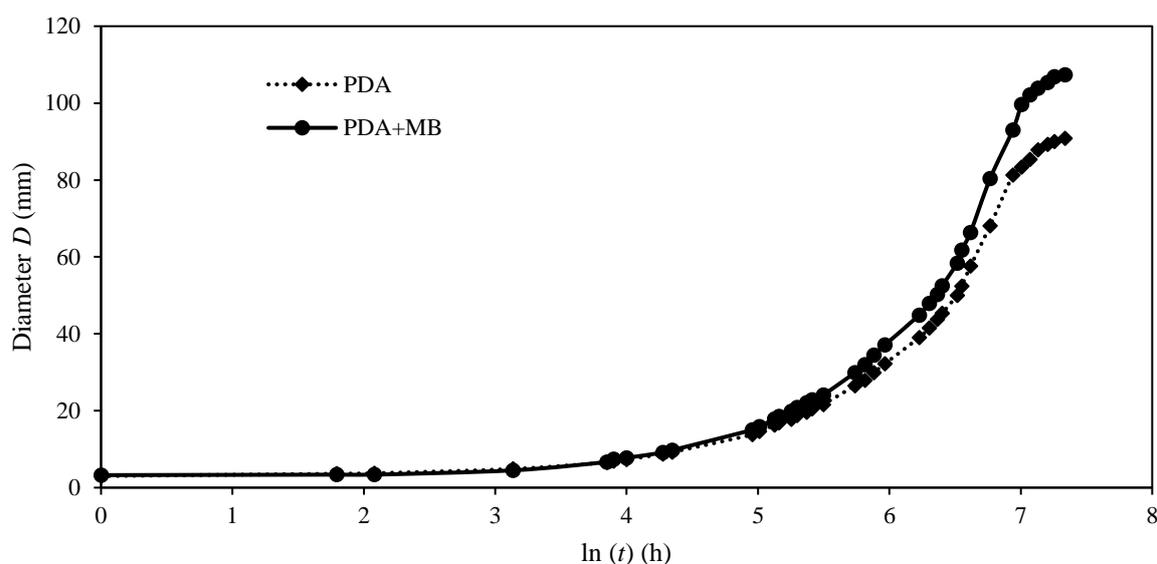


Fig. 3. Growth of *T. harzianum* on PDA plates with or without MB (room T°, $C_{MB} = 100 \text{ mg L}^{-1}$).

Tab. 1. *T. harzianum* growth characteristics on PDA and PDA + MB plates (room T°, $C_{MB} = 100 \text{ mg L}^{-1}$).

Culture media	Initial diameter (mm)	Diameter at 1536 h (mm)	Growth rate (mm h^{-1})	Doubling time (h)
PDA	3.0	91	0.06	312
PDA + MB	3.2	107	0.07	304

III.3. MB removal by MFC

The MB removal rate by the MFC was studied using two types of carbon cloth anode, KIP and CSV. The changes in MB concentrations over time in the anolyte compartment were quantified by UV-Vis spectrometry (Fig 4a). The spectrum of MB showed one principal absorption band with a maximum at $\lambda = 664 \text{ nm}$ (where MB concentration was determined), with a shoulder at $\lambda = 610 \text{ nm}$ while four other bands with a maximum at $\lambda = 215, 250, 300,$ and 420 nm were in the UV domain. The conjugation system between the dimethylamines through nitrogen and sulfur atoms in substituted aromatic rings was accountable for

chromophores and auxochromes existing in MB structure. The shoulder at $\lambda = 610$ nm is the notorious effect of MB dimer (Rauf *et al.* 2010). The peaks observed at $\lambda = 250$ nm and $\lambda = 300$ nm were associated with conjugated system of benzene ring structures and phenothiazine species [28].

The MFC working with CSV carbon cloth showed a slightly faster MB consumption rate than with KIP (Fig. 4b). For both, the disappearance of 100 mg L^{-1} MB was quick, reaching a plateau in 25 h, and was total with CSV anode but not complete with KIP anode. For a better assessment of results, Fig. 4c depicted the MB removal ratio f vs time. It highlighted 9 % residual MB in MFC using the KIP anode. The higher MB removal with CSV is probably due to its more hydrophilic properties that improve the contact and facilitated the transfer with the anolyte solution. Measured contact angles with the anolyte showed the instantaneous penetration of the drop for CSV carbon cloth, and so a total moistening. The contact angle was 102° for KIP in the same conditions.

The kinetics of removal seems to follow a pseudo-first order with respect to MB, as demonstrated by a linear plot of $\ln(q_e - q_t) = f(t)$ (Fig. 4d). For CSV, the rate constant $k = 0.18 \text{ h}^{-1}$ and the half-reaction time $t_{1/2} = 4 \text{ h}$ were consistent with a complete removal in 25 h ($k = 0.15 \text{ h}^{-1}$ and $t_{1/2} = 4.7 \text{ h}$ for KIP). A pseudo-first order is usually observed for metal ion sorption by complex membranes [29]. It means that the proportion of occupied sites by MB on carbon cloth or on fungi was small and then almost unchanged in concentration during the removal.

As highlighted in Fig 4b, the starting concentration of MB is different from the expected concentration of 100 mg L^{-1} (85 mg L^{-1} for KIP, 80 mg L^{-1} for CSV). This is probably due to the fast sorption of MB by the carbon cloth because carbon black and carbon fibers are known to allow the sorption of organic molecules such as dyes.

Fig. 4a

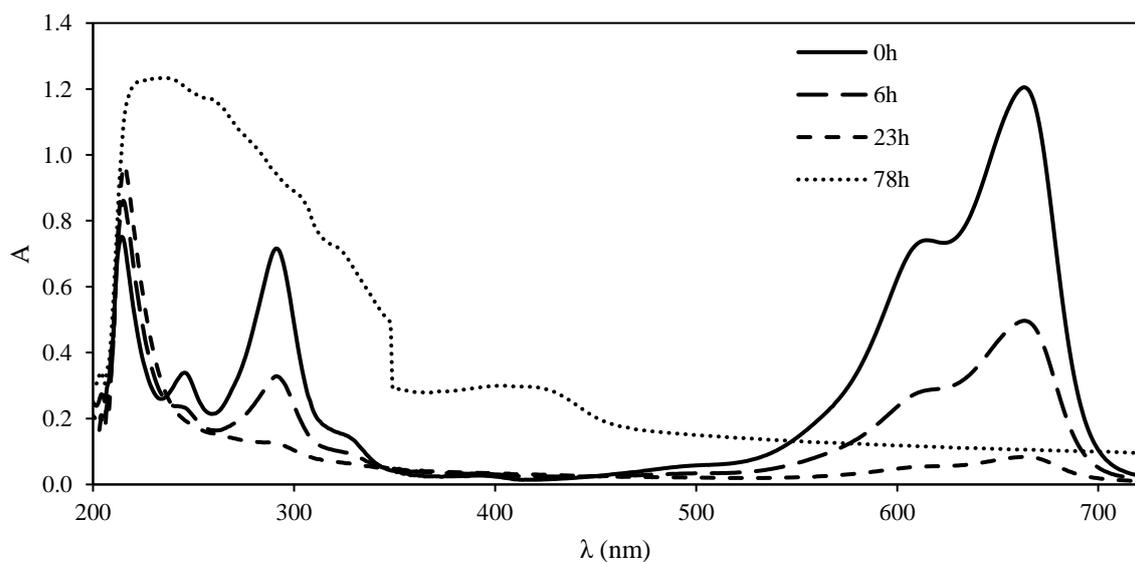


Fig. 4b

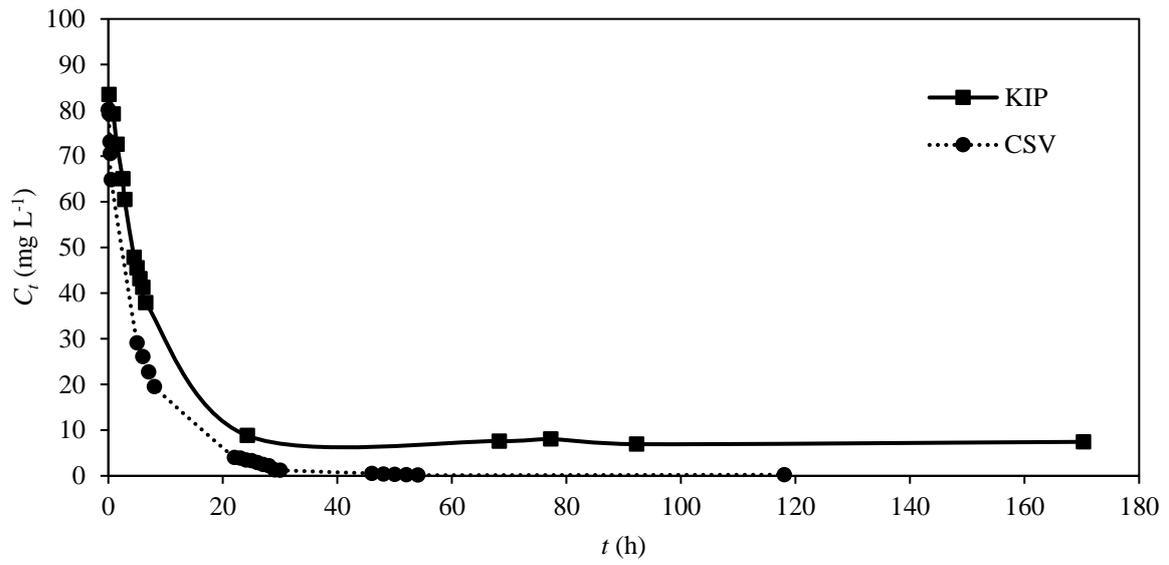


Fig. 4c

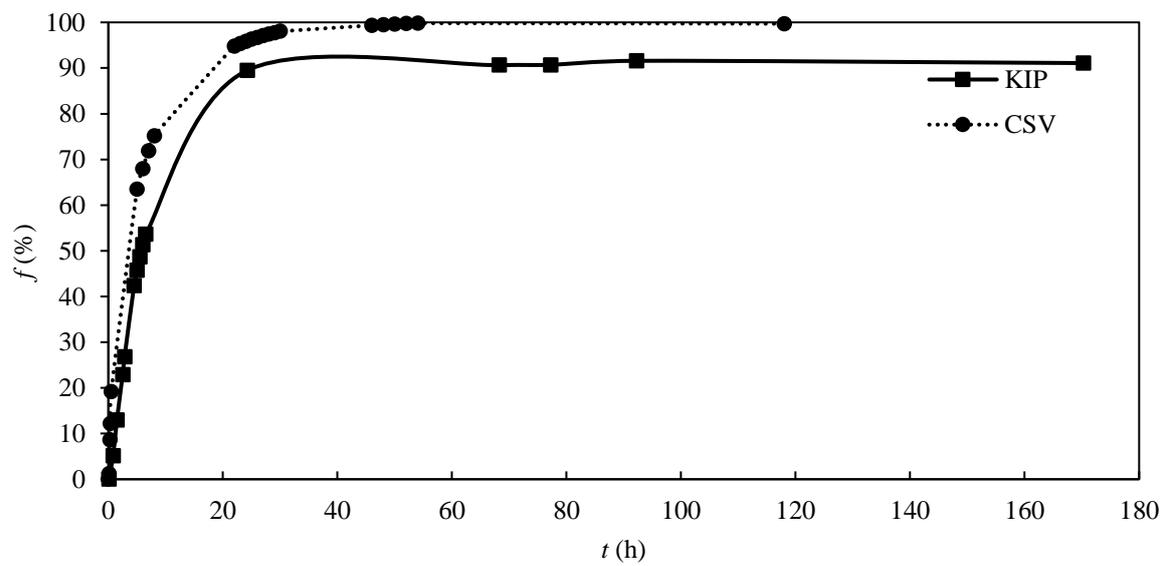


Fig. 4d

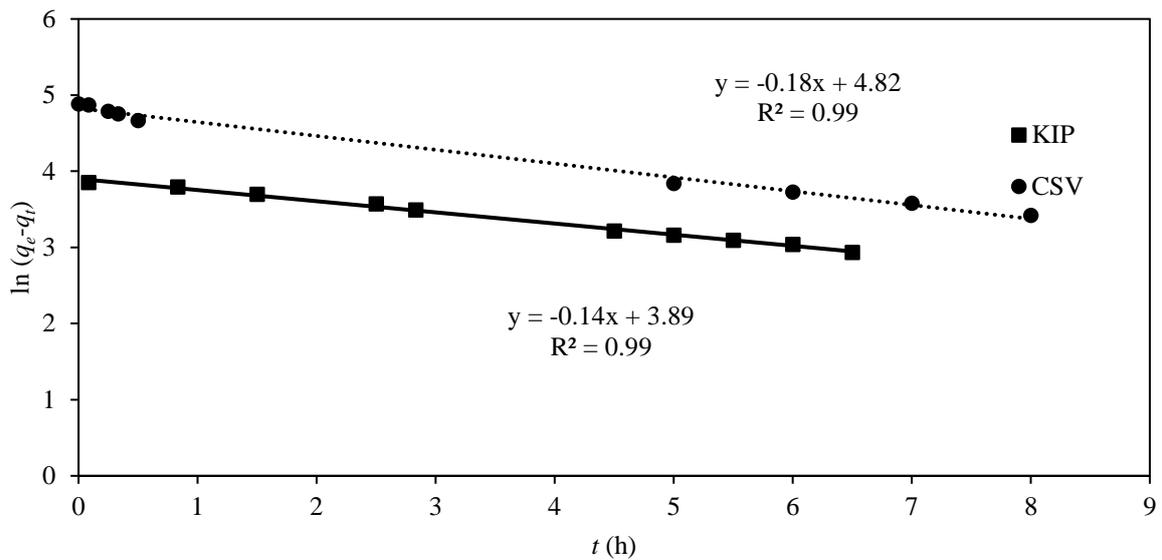


Fig. 4. MB removal by MFC: a) Absorbance spectra of anolyte samples vs time t (with KIP carbon cloth anode); b) Kinetics of consumption of MB: concentration C_t vs t ; c) Removal of MB : f vs t ; d) Pseudo-first order model plot of MB removal.

In order to quantify the sorbed part, sorption experiments were performed on CSV and KIP carbon cloth ($3 \times 3 \text{ cm}^2$) in MB solution (650 mg L^{-1}) in citrate buffer, at $\text{pH} = 5$, at room $T = 23 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. The results showed that carbon clothes really sorbed MB, 380 mg g^{-1} for CSV, and 470 mg g^{-1} for KIP at saturation. CSV and KIP were saturated in 3 days and 10 days, respectively. The MB quantity was larger in KIP and was slower saturated due to its larger thickness ($950 \text{ }\mu\text{m}$ for KIP and $450 \text{ }\mu\text{m}$ for CSV). KIP showed a larger affinity with MB than CSV after long sorption. It was not observed during MFC working because the MB concentration was not enough to reach the saturation of the carbon cloth and *T. harzianum* included in the carbon cloth anode probably obstructs the MB sorption. Moreover, KIP being more hydrophobic than CSV, it probably entrapped a larger quantity of hydrophobic *T. harzianum* biomass. These results prove that one significant part of the MB is sorbed by the carbon cloth during MFC working (7 days). The MB sorption was quicker by CSV, as previously observed on MFC. The obstruction of the sorption sites of the carbon cloth by the fungi is not measurable and that makes it difficult to estimate the part of MB indeed available during MFC working.

In order to reduce this sorption phenomenon by the anode during the experiment, carbon clothes were previously saturated with MB (500 mg L^{-1}) before their use in MFC. Fig. 5 compares the evolution of the MB concentration in MFC with and without the MB saturation step.

Fig. 5a

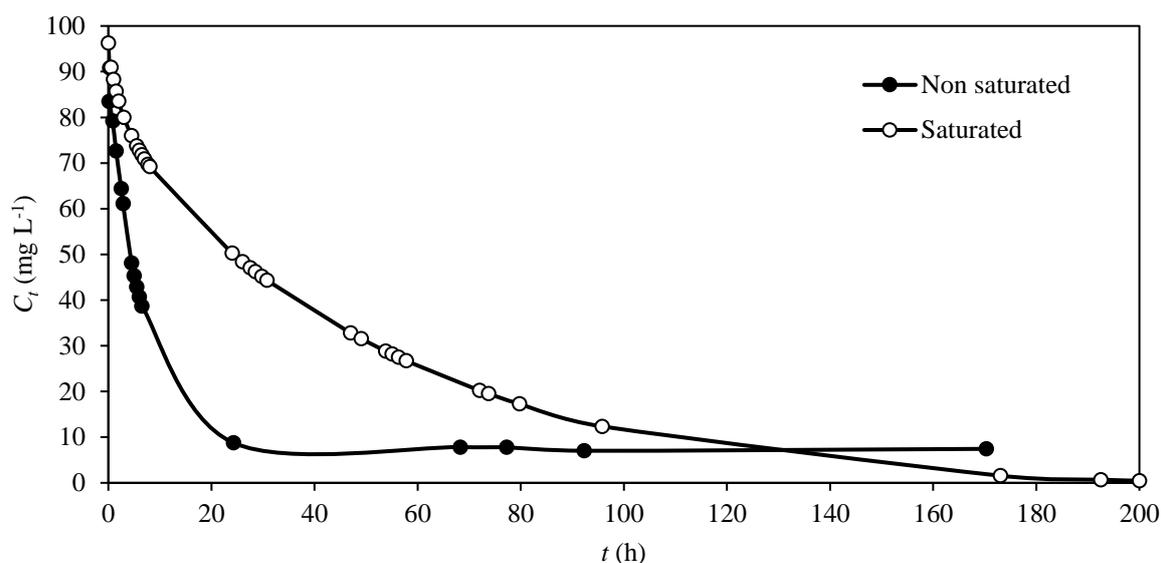


Fig. 5b

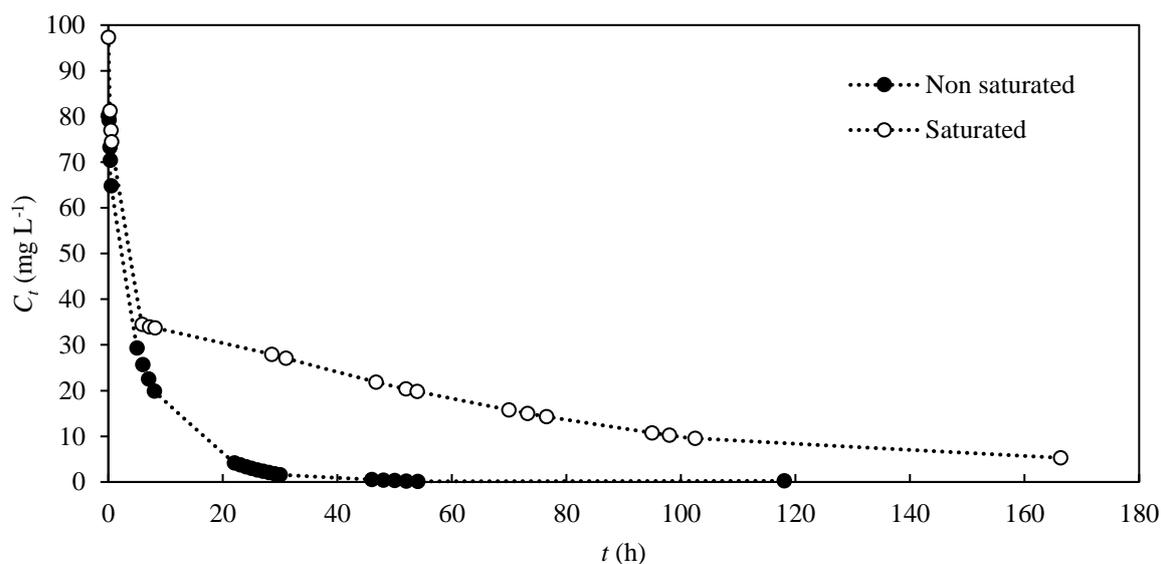


Fig. 5. MB removal by the MFC: influence of the MB saturation of carbon cloth. Kinetics of consumption of MB vs t : a) KIP anode; b) CSV anode.

The previous saturation of the anode showed a lower decrease of MB concentration in solution over time due to the higher MB concentration available for *T. harzianum* and possible desorption of MB from the carbon cloth. After curves modeling, the calculated rate constants were $k = 0.14 \text{ h}^{-1}$ and $k = 0.04 \text{ h}^{-1}$, and the half-reaction times $t_{1/2} = 4.9 \text{ h}$ and 18.1 h for CSV and KIP, respectively. These results proved the influence of the carbon cloth during the removal of MB by the MFC, by sorption - desorption phenomenon. *T. harzianum* used also MB for its

growth and maintenance during MFC working, which agrees with the increase of the growth rate in presence of MB (Fig. 3). In absence of fungi biofilm in the carbon cloth anode, the loss rate of MB is much lower (Fig. 6a), and a zero-value potential was measured. This result proves that the presence of *T. harzianum* is essential for a better performance of the MFC.

Fig. 6a

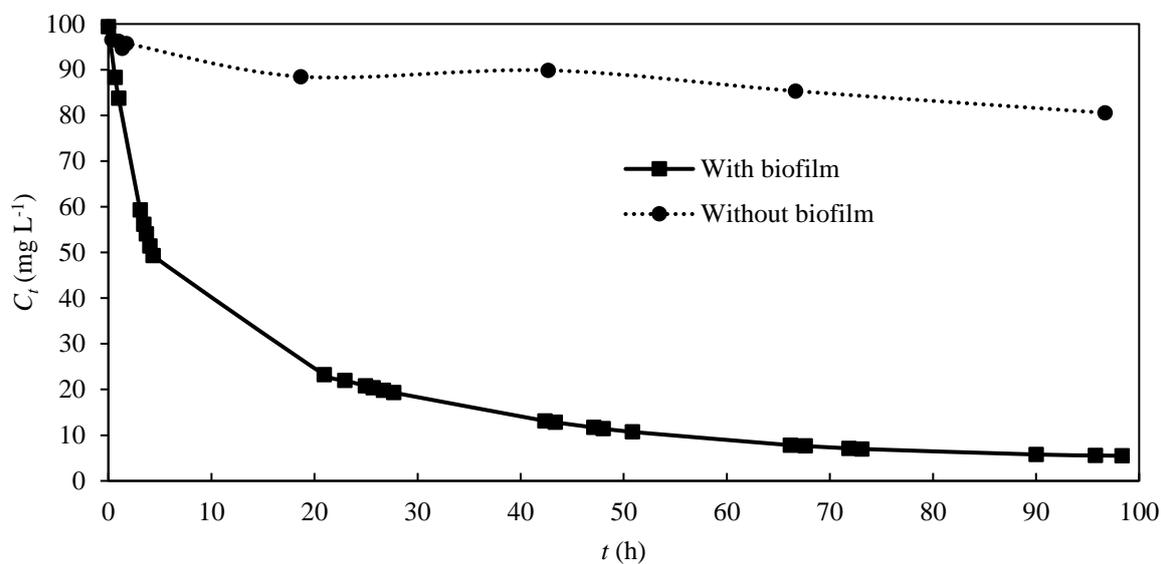


Fig. 6b

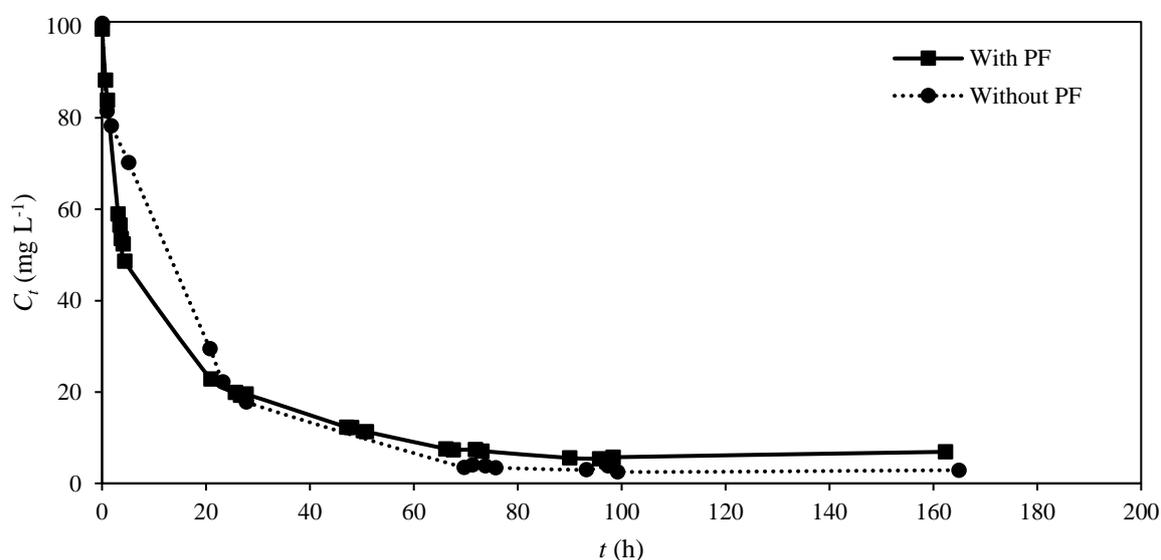


Fig. 6. MB removal by the MFC (CSV carbon cloth as anode): a) Influence of *T. harzianum* biofilm on anode; b) Influence of potassium ferricyanide in the cathodic compartment.

Cathode is also a key component of MFC as it has an important effect on electricity generation performance. Research is mainly focused on studies of the nature and type of the cathode, the catalyst on the cathode, and the effect of different cathodic electron acceptors. Ferricyanide, permanganate, manganese dioxide, and dissolved oxygen have been used as cathodic electron acceptors in MFCs [30, 31]. Potassium ferricyanide (PF) is commonly used as a cathodic electron acceptor two-chambered MFC because it eliminates the need for continuous sparging with air, improves the cathodic performance, and then increases the energy efficiency, for a low cost. Finally, potassium ferricyanide is non-effective in continuous cathode reactions. Thus, PF is promising to improve wastewater treatment with MFC. The influence of PF was studied by performing experiments with or without PF in the cathodic compartments of the MFC.

The evolutions of concentration of MB vs time were illustrated in Fig 6b only for KIP carbon cloth because the results were similar for CSV. The removal of MB appeared quicker in the presence of PF, MB concentration reached 50 mg L^{-1} in less than 3h with PF and in around 10 h without PF. The kinetics of the MB removal was modeled using the first-order hypothesis. The k value was 2 times higher with PF ($k = 0.17 \text{ h}^{-1}$ instead of 0.07 h^{-1}) and $t_{1/2}$ was nearly divided by two (4.1 h instead 9.7 h without PF). As previously seen in Fig 4b, it remains MB at the end of the experiment with PF in the cathodic compartment (6.5 mg L^{-1} after 160 h) but was less than 1 mg L^{-1} without PF. In a conclusion, PF did not show a real influence on the MB removal by the MFC but significantly improved the kinetic parameters of the process and the obtained power density.

III.4. Power production by MFC.

All the performance results are shown in Tab. 2. and Tab. 3. The performance of the MFCs was first tested in an OCV mode. The evolution of potentials as a function of time during the operation of the MFCs is illustrated for the KIP and CSV bioanodes in Fig. 7a. The potential values were higher with KIP during the first hours of the experiment, then were higher with CSV. This result was explained by the different characteristics of the carbon cloth. The average characteristics of KIP and CSV were, respectively, thicknesses of $530 \mu\text{m}$ and $235 \mu\text{m}$, volumes of $4.77 \times 10^{-7} \text{ m}^3$ and $2.12 \times 10^{-7} \text{ m}^3$, weights of 162 mg and 62 mg and mass densities of 0.34 g.cm^{-3} and 0.29 g.cm^{-3} . Thus, the larger volume and density of KIP improved its ability to collect and concentrate charges from substrate oxidation and to polarize more than CSV. After 5 h of operation, when the amount of substrate decreased, charge collection slowed and its concentration decreased in the anode, causing a decrease in potential.

Fig. 7a

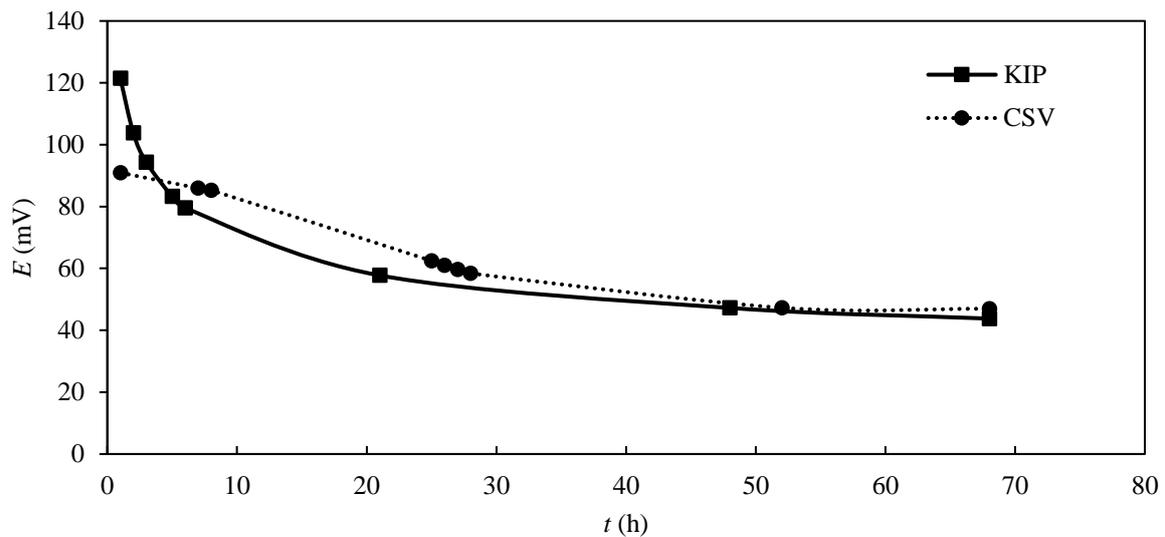


Fig. 7b

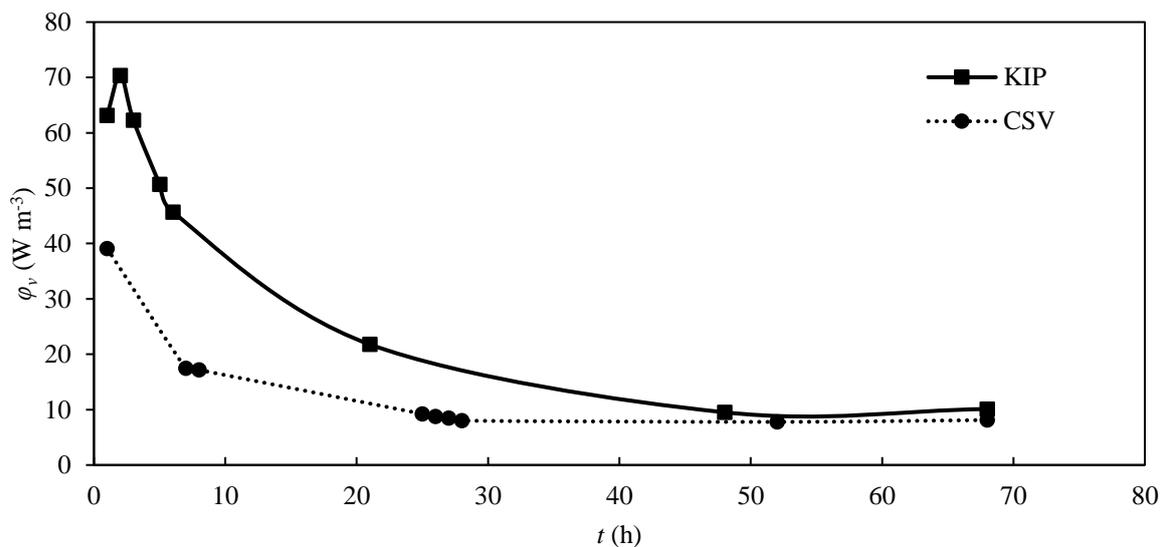


Fig. 7. Performances of MFC with KIP or CSV anode: a) Potential E at optimum R vs t ; b) Power density ϕ_v vs t .

Tab. 2. Performances of MFCs: carbon clothes, saturation level, OCV and CCV operating mode, maximum electromotive force (emf), maximum electrode surface power density ϕ_s , maximum electrode volume power density ϕ_v and solution volume power density ϕ_v' .

Carbon cloth	Saturation	Operating mode	emf (mV)	Maximum ϕ_s (mW m ⁻²)	Maximum ϕ_v (W m ⁻³)	Maximum ϕ_v' (mW m ⁻³)
CSV	Non-saturated.	OCV	211.2	4.53	39.1	82.8
CSV	Saturated.	OCV	166.7	3.6	30.7	65.8
KIP	Non-saturated.	OCV	203.0	16.8	70.3	313.1
KIP	Saturated.	OCV	224.6	45.6	178.3	849.8
KIP	Saturated.	CCV	278.0	68.0	265.7	1267.2

The power densities expressed in W m^{-2} (ϕ_s), in W m^{-3} (ϕ_v) of carbon cloth and in W m^{-3} of anolyte solution (ϕ_v') were measured at the optimal resistance for various time periods during the experiment. Fig. 7b shows the evolution of ϕ_v over time for the KIP and CSV anode. The maximum ϕ_v values were 70.3 W m^{-3} for KIP and 39.1 W m^{-3} for CSV as illustrated in Tab. 2. During the experiments, different patterns of power evolution were observed. For the KIP anode, a significant increase at the beginning of the experiment was observed, which was not observed for the CSV anode. When the MFC was assembled and started, it typically went through a transient phase before reaching a steady state. The degradation process caused the power density to increase until it reached its maximum level before decreasing due to substrate depletion. This phase was much quicker and less measurable for the CSV anode, which may have been due to lower stirring efficiency at the start of the process. Both MFCs experienced a decrease in power density of about 80% after 25 h of operation, due to the consumption of MB substrate by *T. harzianum* (Fig. 4b). The MFC with KIP anode had higher ϕ_v values than the CSV anode, which can be attributed to the difference in density between the KIP and CSV carbon cloth (0.34 g cm^{-3} and 0.29 g cm^{-3} , respectively). The KIP optimal resistance was consistently lower than the CSV due to its higher density and more closely packed fibers, allowing for more efficient electron flow and lower optimal resistance. As a result, for a given potential value, the power and power density values increased for the KIP anode.

Saturating the KIP and CSV carbon cloth before using it in the MFC is critical for eliminating MB sorption and isolating MB degradation as the sole factor in MB disappearance. Fig. 8a and 8b show the evolution of power density in MFCs containing KIP or CSV with and without prior saturation with MB, respectively. The maximum power densities ϕ_v were 30.7 W m^{-3} for CSV and 178.3 W m^{-3} for KIP as illustrated in Tab. 2. The value for the saturated KIP anode was three times higher than the non-saturated value. As previously mentioned, the KIP anode performed better due to the higher amount of entrapped and available MB (due to its larger thickness) and its more hydrophobic properties, which are compatible with *T. harzianum* biomass. The initial saturation step greatly reduced the adsorption of MB by the carbon cloth. As a result, the MB previously adsorbed by the anode was then available for biodegradation by *T. harzianum*. This means that a larger amount of MB could be used to generate power when the saturation step was applied, significantly increasing the overall yield of the MFC regardless of the type of bioanode used.

Fig. 8a

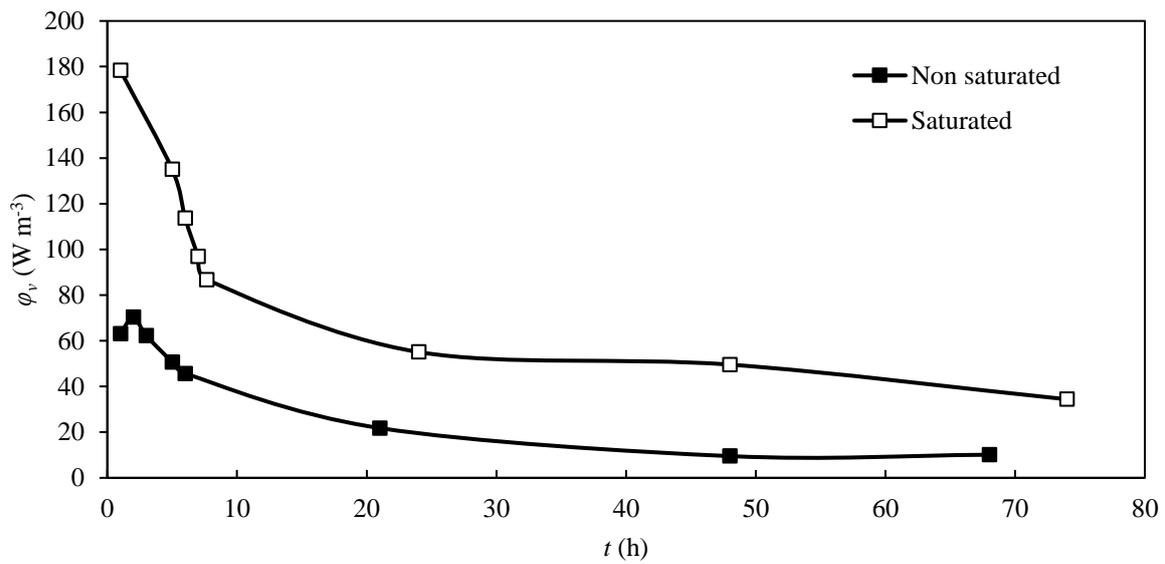


Fig. 8b

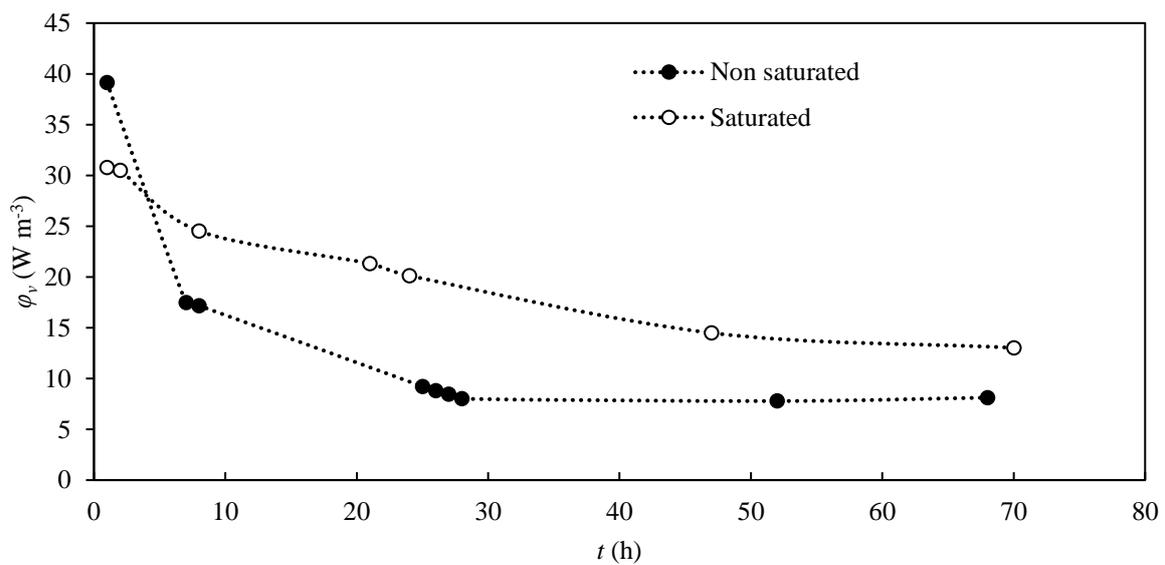


Fig. 8. Influence of the MB saturation of carbon cloth on the MFC performances: power density ϕ_v vs t : a) KIP anode; b) CSV anode.

As previously noted, the non-saturated KIP anode experienced an increase in power during the first few hours of operation. Similarly, the saturated KIP anode also showed an increase in power during this time period. This transient phase was likely due to stirring and low substrate availability.

Finally, the most effective MFC, equipped with a saturated KIP anode, was tested in CCV mode. Fig. 9a and 9b show the evolution of potential E and power density φ_v over time in CCV mode compared to OCV mode. The applied resistance was $1\text{ M}\Omega$ in OCV mode and fixed at $200\ \Omega$ (optimal resistance) in CCV mode. During the first few hours of the experiment, the potential was higher in CCV mode than in OCV mode (159 mV and 123 mV, respectively) as illustrated in Tab. 2. Similarly, φ_v was higher in CCV mode than in OCV mode (178.3 W m^{-3} and 265.7 W m^{-3} , respectively) as illustrated in Tab. 2. The half-life of degradation was shorter in CCV mode than in OCV mode (10.5 h and 18 h, respectively), indicating that the degradation rate was increased in CCV mode.

In the CCV mode, the MFC stopped producing power after about 40 h due to the complete depletion of MB. With OCV mode, there was always some residual current present at the end of the experiment, even when there is no more MB (Fig. 9a and 9b). In an OCV mode, the high external resistance applied ($1\text{ M}\Omega$) prevented some of the electrons generated by oxidation from being transferred to the cathode through the electrical wire, causing a build-up of electrons at the anode and resulting in polarization between the anode and cathode. This led to a potential difference and a small power density. In contrast, in CCV mode, all the electrons generated by the oxidation reaction were transferred to the cathode.

Fig. 9a

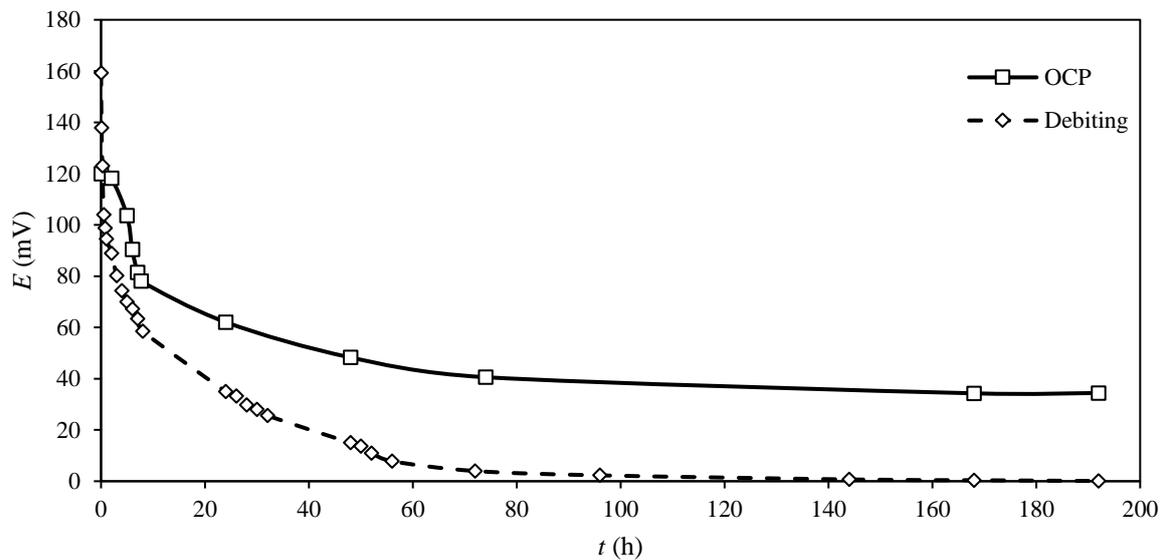


Fig. 9b

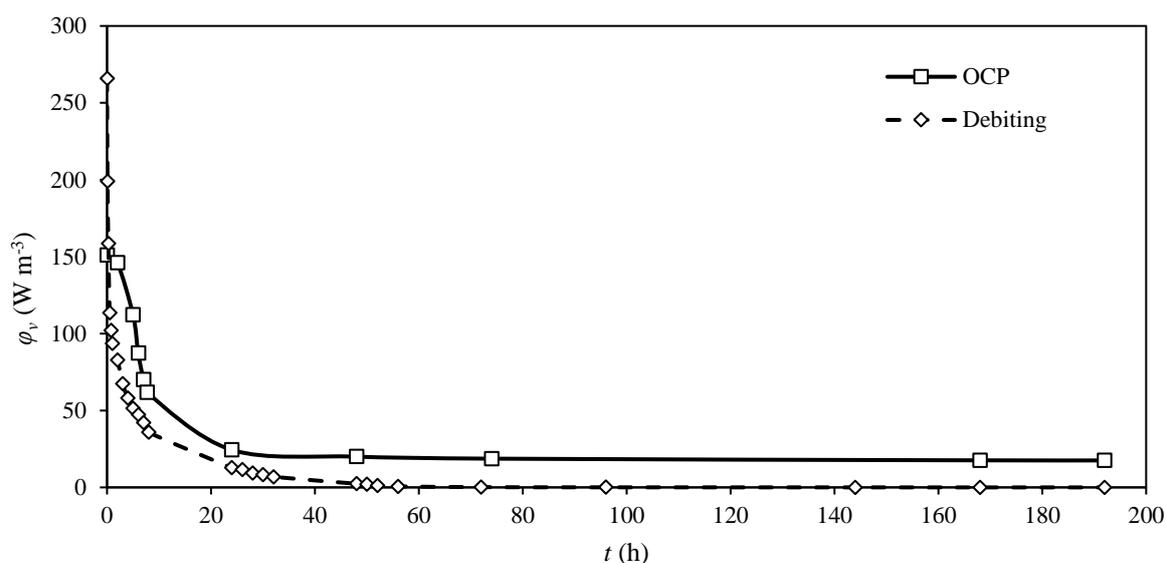


Fig. 9. Performances of MFC with saturated KIP anode in OCV mode or CCV mode: a) Potential at optimum R vs t ; b) Power density ϕ_v vs t .

The influence of PF in the cathodic compartment as an electron acceptor on MFC performance was also studied (Fig. 10 and Fig. A1 given in Annexe). After 48 h of operation, the voltage values of the MFC with PF were 11 times higher, reaching a maximum of 258 mV and output power density of of 101 mW m⁻² (compared to a maximum voltage output of 92 mV and output power density of of 8.9 mW m⁻² without PF) as illustrated in Tab. 3. Wei *et al.* observed similar results when adding 0.1M PF to an MFC containing *Clostridium pasteurianum* in a carbon paper bioanode [32]. The potential output increased from 150 mV to 383 mV and the power output from 22.5 mW m⁻² to 146.7 mW m⁻².

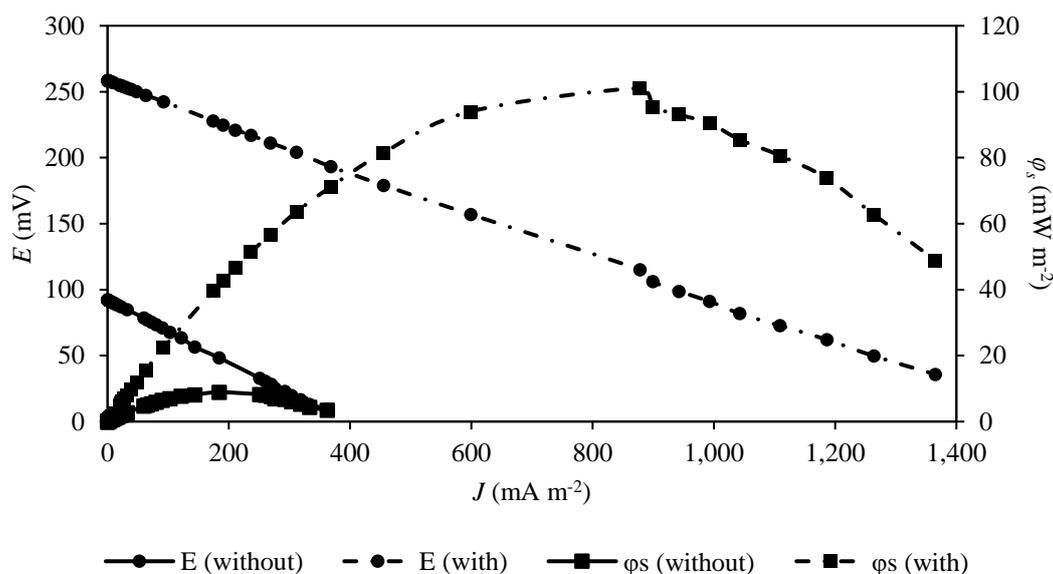


Fig. 10. Influence of potassium ferricyanide (PF) in the cathodic compartment on the MFC performances: polarization curves with and without PF after 48 h of installation.

Tab. 3. Performances of MFCs with saturated KIP electrode OCV mode with and without PF: maximum values of electromotive force, electrode surface power density φ_s , electrode volume power density φ_v and solution volume power density $\varphi_{v'}$.

Presence of PF	emf (mV)	Maximum φ_s (mW m ⁻²)	Maximum φ_v (W m ⁻³)	Maximum $\varphi_{v'}$ (mW m ⁻³)
No.	48.3	8.9	23.4	122.1
Yes.	258.0	101.0	265.7	1385.7

Maximum E , φ_s and $\varphi_{v'}$ values were compared to those already obtained with cloth design MFC (batch) and published in the bibliography. Babanova *et al.* observed similar performance than with non-saturated KIP carbon cloth ($\varphi_s = 17 \text{ mW m}^{-2}$) using *Candida melibiosica* yeast on a carbon felt ($\varphi_s = 20 \text{ mW m}^{-2}$) [21]. With breweries waters as substrate, Çetinkaya *et al.* obtained $\varphi_s = 18 \text{ mW m}^{-2}$ in a continuous flow MFC with a tin-coated copper mesh as the anode [33]. Some authors obtained higher performances. Cao *et al.* worked on Congo red bioremediation with glucose, sodium acetate, and ethanol as co-substrate and obtained respectively a potential of 420 mV, 500 mV, and 500 mV for respective φ_s values 103, 85.9, and 63.2 mW m⁻² with 98% bioremediation yield in 36 h [14]. Gunawardena *et al.* performed an MFC with *S. cerevisiae* yeast with glucose and MB as a carbon source and PF as a mediator. They obtained an electromotive force of 383.6 mV for a maximum $\varphi_{v'} = 147 \text{ mW m}^{-3}$ [18]. The very good performances obtained by this MFC were probably due to the reticulated vitreous carbon electrodes used. In some cases, the obtained performances were less than the results obtained in the current work. Kebaili *et al.* developed MFC for fruit waste leachate wastewater treatment with a graphite rod inoculated with fruit leachate as a bioanode

[34]. Graphite carbon felt was tested as biofilm support with $V=140$ mV and 260 mV and $\varphi_s=24.2$ mW m⁻² and 19.1 mW m⁻², respectively after 21 days of the experiment. Mbokou *et al.* developed an MFC *Scedosporium dehoogii* filamentous fungi as bioanode on carbon felt modified with poly-Ni(II)-tetra sulfonated phthalocyanine for the replacement of the platinum used as dioxygen reduction catalyst [22]. The performances were promising with a highly stable power density at 6.5 mW m⁻² associated with a potential of 450 mV. Pontié *et al.* studied the bioremediation of acetaminophen by the same strain of *T. harzianum* MFC and obtained $V=550$ mV and $\varphi_s=50$ mW m⁻² [23]. The use of the same MFC with *Scedosporium dehoogii* with lignin as a degradation substrate gave $\varphi_s=16$ mW m⁻².

IV. Conclusion

MFC are simple, accessible, renewable, inexpensive, and promising methods for treating wastewater. In this work, an MFC has been applied to investigate the feasibility of MB removal by the fungal metabolic activity of *T. harzianum*. The results confirmed the absence of inhibition of *T. harzianum* in presence of MB (concentration of 100 mg L⁻¹).

Two types of carbon clothes were tested as electrodes and revealed that the kinetics of MB removal followed a pseudo-first-order model with a half-time of 4 h for CSV and 4.7 h for KIP. Considering the sorption experiments, it could be observed that the MB has been absorbed faster by the CSV electrode (a sorption half-time of 4.5 h) compared to the KIP (with a half-time of 29.6 h). In terms of MFC efficiency for power density, the results released the final higher power density produced by KIP as anode compared to CSV due its thicker and denser structure (70.3 W m⁻³ for KIP and 39.1 W m⁻³ for CSV).

Therefore, this study brought up interesting opportunities for the use of the fungal-based MFC for various phenolic compounds as the carbon source use as substrate. Further studies will be performed to improve the electrode, *e.g.*, cathode treatment in order to improve the reduction reaction or the substitution of carbon clothes by carbon felts.

References

1. Hutton DG (1972) Improved biological wastewater treatment. *Dupoint Innovation* 2:6–26
2. Bumpus JA, Brock BJ (1988) Biodegradation of crystal violet by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl Environ Microbiol* 54:1143–1150
3. Ginimuge PR, Jyothi S (2010) Methylene blue: revisited. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 26:517–520
4. Oz M, Lorke DE, Hasan M, Petroianu GA (2011) Cellular and molecular actions of Methylene Blue in the nervous system. *Med Res Rev* 31:93–117. <https://doi.org/10.1002/MED.20177>
5. Xu C, Rangaiah GP, Zhao XS (2014) Photocatalytic degradation of methylene blue by titanium dioxide: Experimental and modeling study. *Ind Eng Chem Res* 53:14641–14649. <https://doi.org/10.1021/ie502367x>
6. El-Ashtoukhy ESZ, Fouad YO (2015) Liquid–liquid extraction of methylene blue dye from aqueous solutions using sodium dodecylbenzenesulfonate as an extractant. *Alexandria Engineering Journal* 54:77–81. <https://doi.org/10.1016/J.AEJ.2014.11.007>
7. Garg VK, Amita M, Kumar R, Gupta R (2004) Basic dye (methylene blue) removal from simulated wastewater by adsorption using Indian Rosewood sawdust: a timber industry waste. *Dyes and Pigments* 63:243–250. <https://doi.org/10.1016/J.DYEPIG.2004.03.005>
8. Ansari AA, Thakur BD (2002) Bio-chemical reactor for treatment of concentrated textile effluent. *Colourage* 49:27–30
9. Dawkar V V., Jadhav UU, Jadhav SU, Govindwar SP (2008) Biodegradation of disperse textile dye Brown 3REL by newly isolated *Bacillus* sp. VUS. *J Appl Microbiol* 105:14–24. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03738.x>
10. Shabani M, Younesi H, Pontié M, et al (2020) A critical review on recent proton exchange membranes applied in microbial fuel cells for renewable energy recovery. *J Clean Prod* 264:121446. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121446>
11. Kadam SK, Watharkar AD, Chandanshive V V., et al (2018) Co-planted floating phyto-bed along with microbial fuel cell for enhanced textile effluent treatment. *J Clean Prod* 203:788–798. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2018.08.336>
12. Palanisamy G, Jung HY, Sadhasivam T, et al (2019) A comprehensive review on microbial fuel cell technologies: Processes, utilization, and advanced developments in electrodes and membranes. *J Clean Prod* 221:598–621
13. Liu L, Li FB, Feng CH, Li XZ (2009) Microbial fuel cell with an azo-dye-feeding cathode. *Appl Microbiol Biotechnol* 85:175–183. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2147-9>
14. Cao Y, Hu Y, Sun J, Hou B (2010) Explore various co-substrates for simultaneous electricity generation and Congo red degradation in air-cathode single-chamber microbial fuel cell. *Bioelectrochemistry* 79:71–76. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2009.12.001>
15. Shabani M, Pontié M, Younesi H, et al (2021) Biodegradation of acetaminophen and its main by-product 4-aminophenol by *Trichoderma harzianum* versus mixed biofilm of *Trichoderma harzianum*/*Pseudomonas fluorescens* in a fungal microbial fuel cell. *J Appl Electrochem* 1:3. <https://doi.org/10.1007/s10800-020-01518-w>
16. Nitschke M, Ferraz C, Pastore GM (2004) Selection of microorganisms for biosurfactant production using agroindustrial wastes. *Brazilian Journal of Microbiology* 35:81–85. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822004000100013>
17. Deshmukh R, Khardenavis AA, Purohit HJ (2016) Diverse Metabolic Capacities of Fungi for Bioremediation. *Indian Journal of Microbiology* 2016 56:3 56:247–264. <https://doi.org/10.1007/S12088-016-0584-6>
18. Gunawardena A, Fernando S, To F (2008) Performance of a yeast-mediated biological fuel cell. *Int J Mol Sci* 9:1893–1907. <https://doi.org/10.3390/ijms9101893>
19. Hubenova Y, Mitov M (2010) Potential application of *Candida melibiosica* in biofuel cells. *Bioelectrochemistry* 78:57–61. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2009.07.005>
20. Hubenova Y, Georgiev D, Mitov M (2014) Enhanced phytate dephosphorylation by using *Candida melibiosica* yeast-based biofuel cell. *Biotechnol Lett* 36:1993–1997. <https://doi.org/10.1007/s10529-014-1571-9>
21. Babanova S, Hubenova Y, Mitov M (2011) Influence of artificial mediators on yeast-based fuel cell performance. *J Biosci Bioeng* 112:379–387
22. Mbokou SF, Tonle IK, Pontié M (2017) Development of a novel hybrid biofuel cell type APAP/O₂ based on a fungal bioanode with a *Scedosporium dehoogii* biofilm. *J Appl Electrochem* 47:273–280. <https://doi.org/10.1007/s10800-016-1030-5>
23. Pontié M, Jaspard E, Friant C, et al (2019) A sustainable fungal microbial fuel cell (FMFC) for the bioremediation of acetaminophen (APAP) and its main by-product (PAP) and energy production from biomass. *Biocatal Agric Biotechnol* 22:101376. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101376>
24. Aranda E, Godoy P, Reina R, et al (2017) Isolation of Ascomycota fungi with capability to transform PAHs: Insights into the biodegradation mechanisms of *Penicillium oxalicum*. *Int Biodeterior Biodegradation* 122:141–150. <https://doi.org/10.1016/J.IBIOD.2017.05.015>

25. Walker AL, Walker CW (2006) Biological fuel cell and an application as a reserve power source. *J Power Sources* 160:123–129. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2006.01.077>
26. Wilkinson S, Klar J, Applegarth S (2006) Optimizing biofuel cell performance using a targeted mixed mediator combination. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis* 18:2001–2007
27. Ranimol G, Venugopal T, Gopalakrishnan S, Sunkar S (2018) Production of laccase from *Trichoderma harzianum* and its application in dye decolourisation. *Biocatal Agric Biotechnol* 16:400–404. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.09.003>
28. Turkten N, Karatas Y, Bekbolet M (2021) Preparation of pani modified zno composites via different methods: Structural, morphological and photocatalytic properties. *Water (Switzerland)* 13:1025. <https://doi.org/10.3390/w13081025>
29. Bessbousse H, Rhlalou T, Verchère JF, Lebrun L (2010) Mercury removal from wastewater using a poly(vinylalcohol)/poly(vinylimidazole) complexing membrane. *Chemical Engineering Journal* 164:37–48. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.08.004>
30. Sharma T, Mohana Reddy AL, Chandra TS, Ramaprabhu S (2008) Development of carbon nanotubes and nanofluids based microbial fuel cell. *Int J Hydrogen Energy* 33:6749–6754. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.05.112>
31. Zou Y, Xiang C, Yang L, et al (2008) A mediatorless microbial fuel cell using polypyrrole coated carbon nanotubes composite as anode material. *Int J Hydrogen Energy* 33:4856–4862. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.06.061>
32. Wei L, Han H, Shen J (2012) Effects of cathodic electron acceptors and potassium ferricyanide concentrations on the performance of microbial fuel cell. *Int J Hydrogen Energy* 37:12980–12986. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.05.068>
33. Çetinkaya AY, Koroğlu EO, Demir NM, et al (2015) Electricity production by a microbial fuel cell fueled by brewery wastewater and the factors in its membrane deterioration. *Cuihua Xuebao/Chinese Journal of Catalysis* 36:1068–1076. [https://doi.org/10.1016/S1872-2067\(15\)60833-6](https://doi.org/10.1016/S1872-2067(15)60833-6)
34. Kebaili H, Kameche M, Innocent C, et al (2021) Treatment of fruit waste leachate using microbial fuel cell: Preservation of agricultural environment. *Acta Ecologica Sinica* 41:97–105. <https://doi.org/10.1016/J.CHNAES.2020.09.004>

Crystal Violet biodegradation study in a dual-chamber fungal microbial fuel cell with *Trichoderma harzianum*

Abstract

In the present study and for the first time VC dye known as a recalcitrant dye was tested for its bioremediation by *Trichoderma harzianum* in a dual-chamber MFC. To do so, two types of carbon clothes KIP and CSV from Decarb company (France) were tested as electrodes and supports for fungi growth. We observed first that 52 % and 55 % of the VC was removed by the MFC using KIP and CSV anodes, respectively. The incomplete removal of VC was explained by the relative toxicity of VC for *T. harzianum*, and correlated with the IC₅₀ determined at $0.97 \pm 0.28 \text{ mg L}^{-1}$ at 25°C. Furthermore, the MFC working with KIP electrodes was more efficient with higher maximum power density of 1096 mW m^{-3} and only 14.1 mW m^{-3} for CSV. The MFC experiments conducted with KIP without *T. harzianum* biofilm exhibited significantly lower potential and lower power density values, which proves the electrocatalytic effect of this fungus. These results provide new insight into the development of an effective MFC system, capable of energy generation and promoting the bioremediation of the persistent pollutant VC.

I. Introduction

Many classes of dyes are used in textile industries, and triphenyl methane group is the predominant in most dyeing applications [1]. Among this group, violet crystal (VC) has been used for a long time as biological stain and as textile dye [2] but it is now classified as potent carcinogen [3]. VC is also reported as a recalcitrant dye molecule because it persists in environment for a long period. It is a mitotic poison, with potent clastogen effects and promotes tumor growth on some fish species.

In the literature, the use of fungi and their enzymes for dye degradation has been well appreciated, especially for detoxification of wastewaters [4]. Studies have proved the ability of fungal biomass or their purified enzymes to degrade different types of organic pollutants [5]. Among the enzymes, laccase, a copper containing oxidase, showed an ability to oxidize a large range of chemicals compounds among them polyphenols, diphenols, diamines, aromatic amines, benzenethiol, substituted phenols [6], [7], [8] as well as colored pollutants [9]. The removal of VC from polluted soils by fungi has been tested by Moturi *et al.* by white rot fungi *Polyporus elegans*, *Trametes versicolor*, *Lenzites betulina* and soil fungus *Mucor mucedo* [10]. The soils were sampled from textile dye industries wastes and used as substrate. After 15 days of incubation, between 63 and 78 % of VC was decolorized without toxic effect on the fungi. The degradation of dyes was explained by the production of a significant quantity of lignin peroxidase, manganese peroxidase and laccase enzymes. The degradation of VC by *Trichoderma asperellum* laccase has been also reported [11].

MFC came straight from the discovery of electricity production by *Escherichia coli* and *Saccharomyces spp* in the early 20th century [12]. Microbial half fuel cells were first connected in series and were able to produce over 35 volts and 2 milliamperes [13]. MFC can produce electricity by degrading organic substrates coming from human activity like phenol from coconuts husk retting effluents [14], leachates substrates like fruits waste and landfill leachates

[15], [16]. MFC allow also the decrease of nitrogen or phosphorus compounds and therefore the chemical oxygen demand of wastewaters from agro-food industry [17] like brewery [18], from paper industries [19], kitchens [20], swine breedings [21], and organic acid fermentations [22].

The employment of fungi, specifically filamentous species, as electrode in MFC is gaining an increasing interest due to their ability to degrade an array of substrates including persistent and complex pollutants [23] [24]. *Scedosporium dehoogii* was used as bioanode for the acetaminophen degradation with a power produced of 50 mW m^{-2} [25]. Fungi can be used for dyes degradation in MFC. In particular, *Pleurotus ostreatus* was able to degrade brilliant blue remazol R during multiple functioning cycles with a removal between 80 % and 90 % in the three first cycles and at 60 % for the last, due to the declining laccase activity [26]. *Aspergillus niger* and *T. harzianum* have been experimented as bioanodes within MFC to evaluate their ability to degrade Acid Red 399, Acid Yellow 235, Acid Yellow 218, Acid Blue 296, and Acid Black 172 [27]. *A. niger* demonstrated the ability to remove between 70 and 90 % of each dye, whereas *T. harzianum* eradicated 90 % of Acid Black 172 and between 30 and 40 % of the remaining dyes.

In this work, MFC were tuned up using *T. harzianum* cultivated biofilm in two types of carbon cloth material as electrode for VC removal. The experiments were conducted in open circuit voltage mode (OCV) and then in closed circuit voltage (CCV). The obtained results were analyzed in order to optimize the VC removal and the power production in MFC, considering the influence of the carbon cloth electrode, the saturation step, and the circuit mode.

II. Experimental

II.1. Micro-organism and culture media

T. harzianum strain 1573 used in this study was collected from tree barks near Angers, France and was gracefully provided by the IRHS-INRAE (Angers, France). *T. harzianum* stock cultures were prepared on potato dextrose agar plates (PDA) (3.9 wt.%) (Sigma-Aldrich, USA).

II.2. Chemicals

The following chemicals were used in this study: crystal violet (Aldrich Chemical Compagny, Milwaukee, WI, USA), anhydrous citric acid (Fisher bioreagents, Fair Lawn, NJ, USA), dihydrated trisodium citrate (Sigma-Aldrich Produktions GmbH, Steinheim, Germany), potassium ferricyanide (ACS reagent grade, MP Biomedicals, Solon, OH, USA), anhydrous D (+)-glucose (ACS reagent grade, Acros Organics, NJ, USA), and hydrochloric acid (Analytical reagent grade, Acros Organics, Geel, Belgium).

II.3. Toxicity of VC

The toxicity of VC towards *T. harzianum* was investigated on plates containing 3.4 wt.% PDA and between 0 to 2.5 mg L^{-1} of VC, for 140 h. *T. harzianum* was inoculated onto the plates using a platinum inoculation loop, with a single spot placed in the center of each plate. The growth of *T. harzianum* was monitored by measuring the diameter of the growth on two orthogonal axes and maintaining a temperature constant at 25°C in an oven. Each experiment was conducted in triplicate and the results were averaged.

II.4. MFC

The MFC was composed of two glass compartments (100 mL volume) separated by a 3 x 3 cm Nafion 117 cation exchange membrane (provided by Ion Power GmbH, Munich, Germany). Both compartments were sealed with Teflon gaskets and sterilized via autoclaving. The setup was assembled in a microbiological safety cabinet. Carbon cloth used as electrodes were supplied by Darcarb (France) and connected to the electrical circuit via platinum rods (1.5 mm diameter, 99.95 % purity, ThermoFisher, Kandel, Germany) and alligator clips. The circuit consisted in a multimeter and a resistance decade box (Elc, DR06, France) arranged in parallel. The carbon cloth anode (3 x 3 cm) was inoculated with *T. harzianum* spores (1.10^6 spores mL⁻¹) for 3 days at room temperature before being placed in the MFC. The anodic compartment was filled with a solution of VC (100 mg L⁻¹) and D (+) glucose (10 mg L⁻¹) as co-substrate, in citrate buffer (pH 5.0, 0.1 M ionic strength). The cathodic compartment contained potassium ferricyanide (PF, 31.9 g/L) in citrate buffer (0.1 M ionic strength) for dioxygen reduction and to improve the electrical performance of the MFC. The MFC was operated at room temperature (22 +/- 2 °C) with magnetic stirring (130 rpm) for 7 days. As a control experiment, a MFC was run without *T. harzianum*. To eliminate the effect of dye sorption on the anode, a MFC was also tested with carbon cloth previously saturated with VC (300 mg L⁻¹). For all experiments, samples of the anolyte (0.25 mL) were collected at regular intervals, diluted with 3.75 mL of deionized water, and stored in a freezer to prevent further *T. harzianum* growth. At the end of the experiment, the samples were thawed, homogenized, and analyzed with a UV-Visible spectrophotometer (Agilent Technologies, Cary 100) to measure the change in absorbance at 590 nm (the maximum absorption wavelength of VC). The VC concentrations (initial C_0 , and at t time C_t expressed in mg L⁻¹) were determined using a previously established calibration curve. The VC removal ratio ($f\%$) was calculated from the changes in VC concentrations over time as followed:

$$f = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100 \quad (1)$$

The mass of VC removed per gram of carbon cloth at equilibrium (q_e) and at a given time (q_t), expressed in mg g⁻¹, were calculated using the following equations:

$$q_e = \frac{(C_0 - C_{eq})V}{m} \quad q_t = \frac{(C_0 - C_t)V}{m} \quad (2)$$

with C_{eq} the VC concentrations in solution at equilibrium (mg L⁻¹), V the volume of solution (L) and m the mass of carbon cloth (g).

During the experiment, the external resistance of the MFC was fixed at 1 MOhm in open circuit conditions (OCV). The potential between the electrodes (E , in V) was measured twice daily at different values of external resistance (R , in Ω) set with a decade box. The current intensity (I , in A) was then calculated using Ohm's law, and the power output (P , in W) was determined at the optimal resistance. The optimal resistance, maximum current density (J , in mA m⁻²), maximum power density (ϕ_s , in mW m⁻² of electrode) and maximum volume power density (ϕ_v , in W m⁻³ of electrode volume and ϕ_v' in mW m⁻³ of anolyte volume) of the MFC were deduced from these measurements (see Fig. A2 in the supplementary material). In

addition, the performance of the MFC was tested in the closed-circuit voltage mode (CCV) at the measured optimal external resistance R [28].

II.5. Carbon cloth characterization

Prior to initiating each microbial fuel cell (MFC) trial, a series of dimensional and physical property measurements were conducted on the utilized KIP and CSV carbon cloth anodes. These metrics included an evaluation of the cloth's average thickness and volume, obtained through the use of precision calipers, as well as determinations of the cloth's weight and density.

The contact angle (θ) between the carbon cloth surface and the anolyte solution—comprising VC (100 mg L^{-1}) and D (+) glucose (10 mg L^{-1}) within a citrate buffer of pH 5.0 and 0.1 M ionic strength—was measured at a standard room temperature of $23 \text{ }^\circ\text{C}$. This was accomplished utilizing the sessile drop technique contact angle determination mode of the DSA 25 drop shape analyzer from Krüss (Hamburg, Germany). The droplet's size was regulated to $3 \text{ }\mu\text{L}$ and the exposure duration was kept at 500 ms. A minimum of five measurements were taken and averaged to attain each result.

III. Results and discussions

III.1. Stability of VC

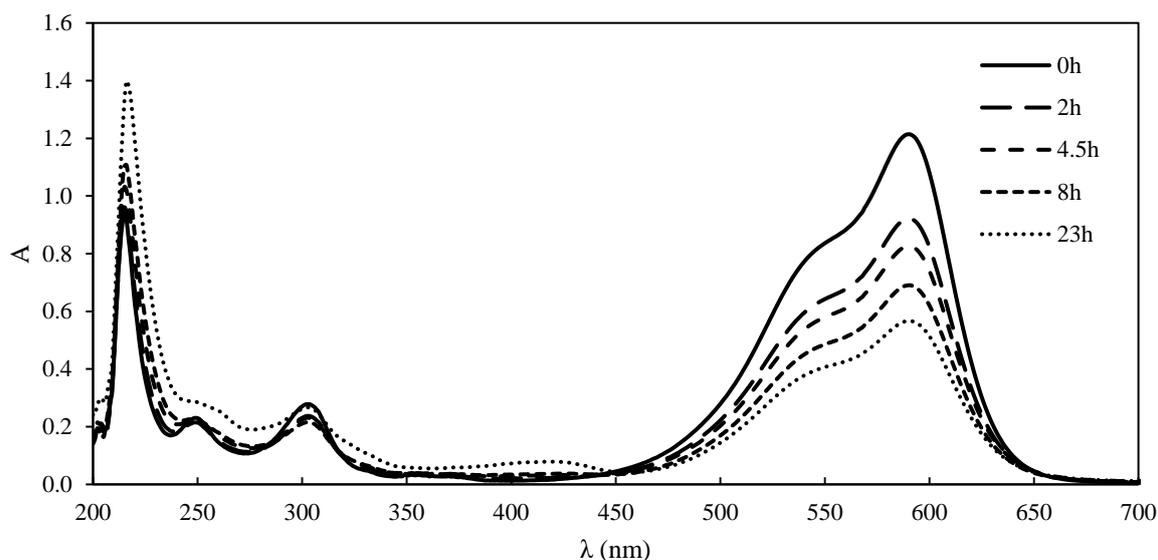
The stability of VC in light over time is a crucial consideration, as light sensitivity could make it difficult to differentiate degradation caused by fungi and degradation caused by light. To address this issue, UV-Visible spectroscopy was used. The spectra of a VC solution (100 mg L^{-1}) in citrate buffer ($\text{pH} = 5.0$) after 24 days of exposure to daylight were found to be similar to the spectra before exposure, with no significant decrease in absorbance at the maximum absorption wavelength (590 nm for VC). This suggests that light exposure will not significantly affect VC concentration in the upstream compartment during MFC experiments.

The stability of VC after autoclaving for sterilization (20 min, $120 \text{ }^\circ\text{C}$, $P = 1.4 \text{ bar}$) was also assessed using UV-Visible spectroscopy. No effect of the treatment on VC concentration was observed (results not shown).

III.2. VC removal by MFC

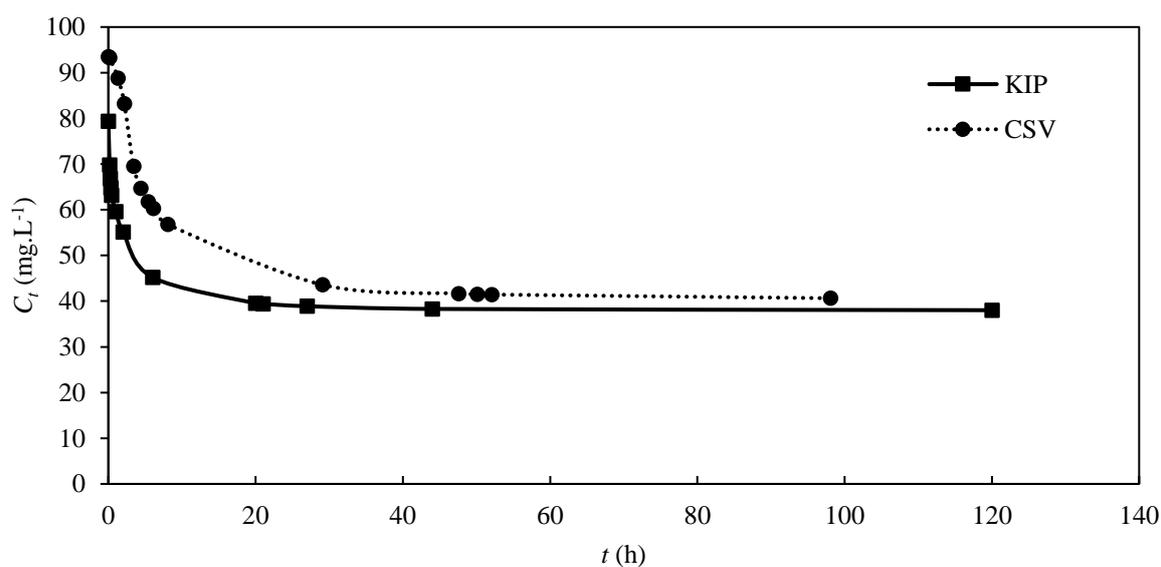
The performance of the MFC in terms of VC removal was evaluated using KIP and CSV carbon cloth anodes. The evolution of the UV-visible spectra of the VC anolyte solution over time is shown in Fig. 1a. Initially, prior to the oxidation reaction, the absorption spectrum of VC in water exhibited a main peak at 584 nm in the visible region, and two peaks at 250 and 300 nm in the UV region. These peaks were attributed to aromatic structures in the molecule, with the peak at 590 nm arising from the chromophore [29]. The gradual decrease of the visible peaks with time was due to the cleavage of aromatic rings through oxidation. In addition to the rapid decolorization of the solution, the decrease in absorbance at 250 or 300 nm was taken as an indication of aromatic fragment degradation of the dye molecules and its by-products [30] [31].

Fig. 1a



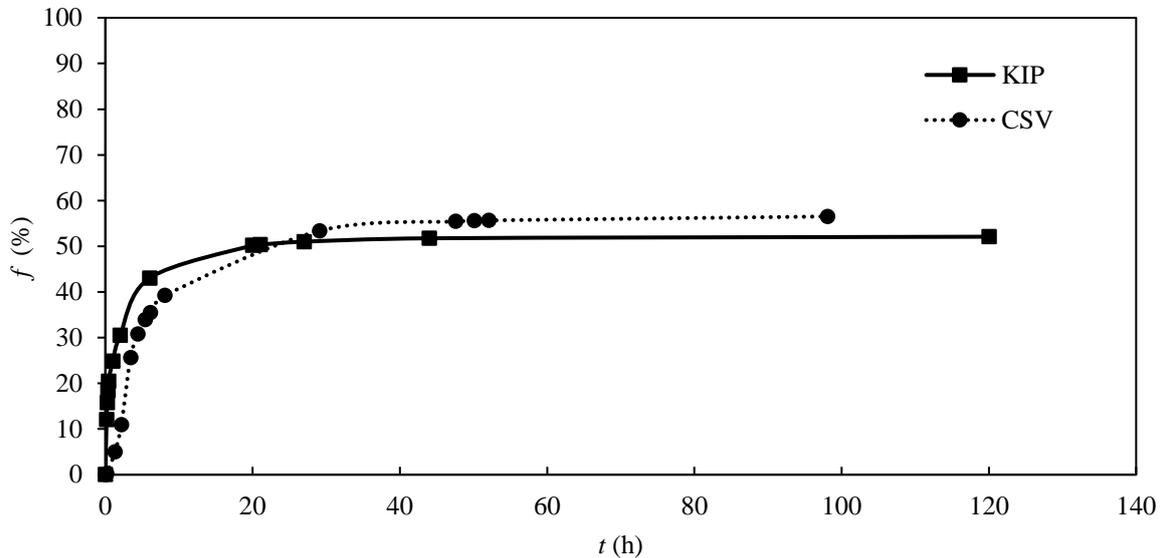
The MFC equipped with a KIP carbon cloth anode exhibited a faster rate of VC consumption compared to the MFC with a CSV anode (Fig. 1b). For both systems, the disappearance of 100 mg L^{-1} VC was rapid, reaching a plateau within 25 h, but complete removal was not achieved whatever the anode. Additionally, Fig. 1b shows that a slightly larger amount of VC was removed using the KIP anode. This higher VC removal with KIP may be due to its more hydrophobic properties, which enhance contact with *T. harzianum*, which is also hydrophobic [32]. Measured contact angles with the anolyte indicated that the drop instantly penetrated the CSV carbon cloth, resulting in complete wetting. In contrast, the contact angle for the KIP anode was $102^\circ \pm 2^\circ$ under the same conditions.

Fig. 1b



For a more comprehensive evaluation of the results, Fig. 1c shows the VC removal ratio f vs. time. It indicates that 52 % and 55 % of the VC was removed at 40 h in the MFC using KIP and CSV anodes, respectively. This was attributed to the production of VC degradation by-products and the VC toxicity that could inhibit VC removal.

Fig. 1c



The degradation kinetics of VC in MFC was modeled. The first, second and pseudo-first order were evaluated and the pseudo-first order was found to best fit with respective R^2 of 0.93 and 0.98 for KIP and CSV carbon clothes as demonstrated by a linear plot of $\ln(q_e - q_t) = f(t)$ (Fig. 1d). The pseudo-first order is plotted with concentration of VC evolution through time, each concentration values being divided by the mass of carbon cloth, taking account of both sorption and degradation phenomenon occurring in VC removal.

A pseudo-first order kinetic is commonly observed for metal ion sorption, *e.g.* by complexing membranes [33]. It has also been reported in biorefractory organics molecules or azo-dye removal in MFC [34] [35]. The corresponding k and $t_{1/2}$ values indicated faster removal with KIP ($k = 0.25 \text{ h}^{-1}$ and $t_{1/2} = 2.7 \text{ h}$) compared to CSV ($k = 0.17 \text{ h}^{-1}$ and $t_{1/2} = 4 \text{ h}$). This is consistent with the idea that KIP has better compatibility with *T. harzianum*, allowing a higher amount of biomass compared to CSV and a faster rate of VC consumption.

Fig. 1d

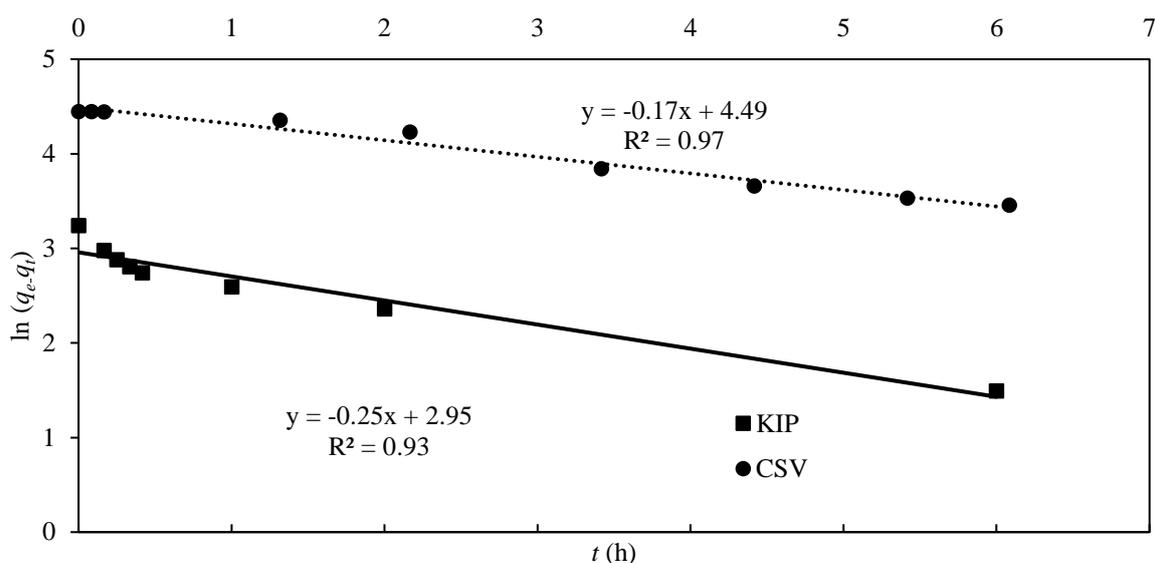


Fig. 1. VC removal by MFC: a) Absorbance spectra of analyte samples vs. time t (with KIP carbon cloth anode); b) Kinetics of consumption of VC: concentration C_t vs. t ; c) Removal of VC : f vs t ; d) Pseudo-first order model plot of VC removal.

As shown in Fig. 1b, the initial concentration of VC differs from the expected concentration of 100 mg L^{-1} (80 mg L^{-1} for KIP and 93 mg L^{-1} for CSV). This is likely due to the fast sorption of VC by the carbon cloth, as carbon black and carbon fibers are known to facilitate the sorption of organic molecule. This raises the question of what proportion of VC is actually consumed by the fungus to produce current and what is absorbed by the carbon fiber. To quantify the sorbed fraction, sorption experiments were conducted on CSV and KIP carbon clothes in a VC solution (650 mg L^{-1}). The results showed that the carbon clothes indeed sorbed VC, with 70 mg g^{-1} for CSV and 170 mg g^{-1} for KIP at saturation. CSV and KIP were saturated after 3 days and 10 days, respectively. The amount of sorbed VC was higher for KIP and the saturation took longer due to its larger thickness ($950 \text{ }\mu\text{m}$ for KIP and $450 \text{ }\mu\text{m}$ for CSV). Moreover, KIP displayed a higher affinity for VC than CSV in time due to more favorable chemical interactions with VC. VC contains three aromatic cycles that create π -stacking bonds with the carbon fibers, which are thicker and denser in KIP. The saturation of the carbon cloth was not observed during MFC operation, as the VC concentration was not high enough to reach it, and the presence of *T. harzianum* within the carbon cloth anode likely prevent the VC sorption. However, these results demonstrated that a significant portion of VC was sorbed by the carbon cloth during MFC operation (7 days), and particularly for KIP.

It is difficult to quantify the extent to which the fungi obstruct the sorption sites of the carbon cloth, making it challenging to estimate the proportion of VC that is actually available during MFC operation. To mitigate this sorption phenomenon by the anode during the experiment, the carbon cloths were pre-saturated with VC (500 mg L^{-1}) prior their use in the

MFC. Fig. 2a and Fig. 2b compare the evolution of VC concentration in the MFC with KIP and CSV, with and without the VC saturation step.

Fig. 2a

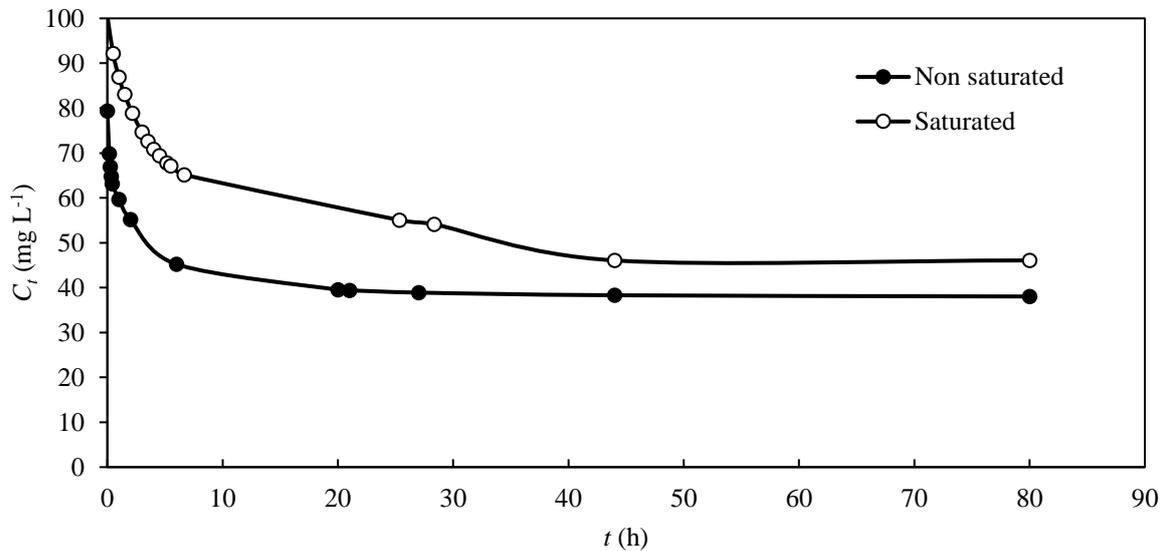


Fig. 2b

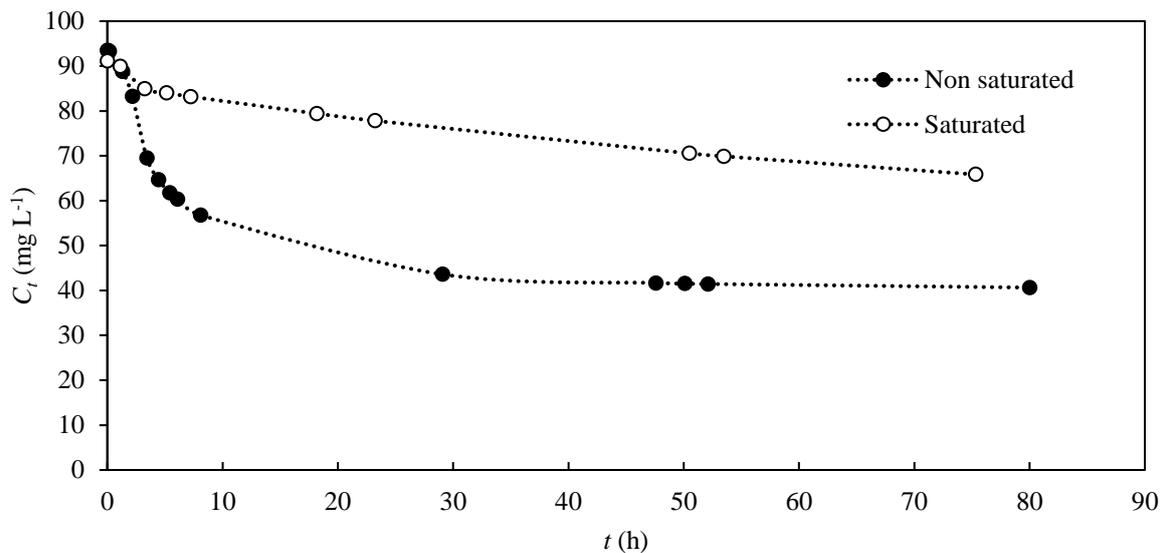


Fig. 2. VC removal by the MFC: influence of the VC saturation of carbon cloth. Kinetics of consumption of VC vs. t : a) KIP anode; b) CSV anode.

Pre-saturation of the anode resulted in a slower decrease of VC concentration in solution over time due to the higher VC concentration available for *T. harzianum* and a possible desorption of VC from the carbon cloth. After curve modeling (curves not shown), the calculated rate constants were $k = 0.13 \text{ h}^{-1}$ and $k = 0.04 \text{ h}^{-1}$, and the half-reaction times $t_{1/2} = 5.2 \text{ h}$ and $t_{1/2} = 16.7 \text{ h}$ for KIP and CSV respectively (instead of $k = 0.25 \text{ h}^{-1}$ and $t_{1/2} = 2.7 \text{ h}$ for KIP, and $k = 0.17 \text{ h}^{-1}$ and $t_{1/2} = 4 \text{ h}$ for CSV, without saturation step). These results highlight

the influence of the carbon cloth during VC removal by the MFC through a sorption-desorption phenomenon. *T. harzianum* also uses VC for its growth and maintenance during MFC operation. In the absence of a fungi biofilm on the carbon cloth anode, the removal rate of VC was much lower ($k = 0.16 \text{ h}^{-1}$ and $t_{1/2} = 4.4 \text{ h}$ instead of $k = 0.25 \text{ h}^{-1}$ and $t_{1/2} = 2.7 \text{ h}$) for KIP (Fig. 3). This result demonstrates that *T. harzianum* plays a significant biocatalytic role in the MFC.

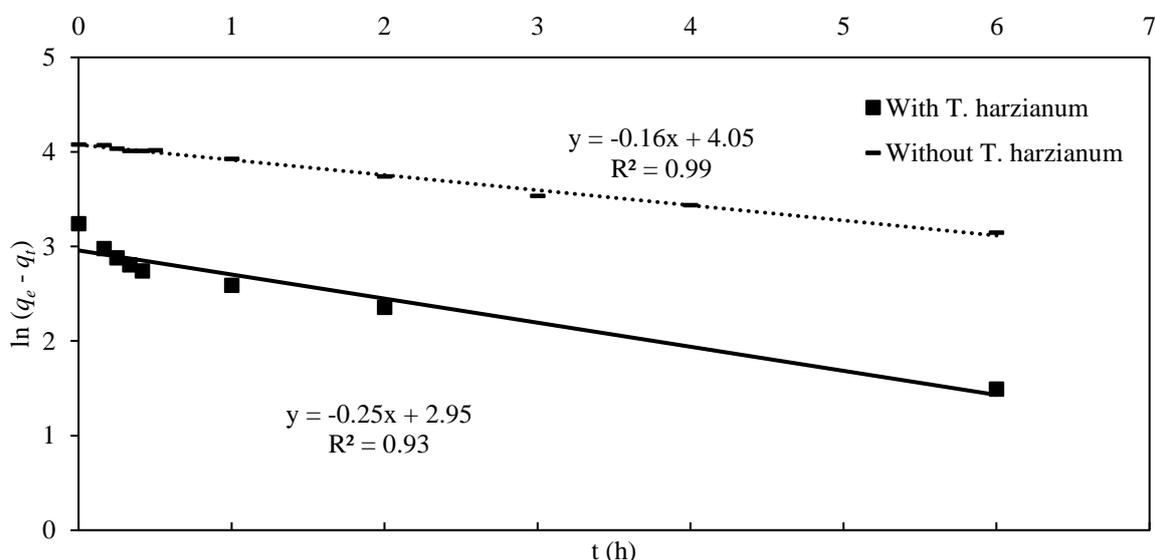


Fig. 3. Influence of *T. harzianum* on VC removal (KIP carbon cloth as anode): Pseudo-first order model plot of VC removal.

Indeed, literature displays a few reports on VC bioremoval from aqueous solutions by MFC using fungi to allow comparisons with our results. Bumpus *et al.* studied the biodegradation of VC in ligninolytic cultures of the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* [1]. The disappearance of VC was demonstrated and three metabolites (N,N,N',N',N''-pentamethylpararosaniline, N,N,N',N''-tetramethylpararosaniline, and N,N',N''-trimethylpararosaniline) formed by sequential N-demethylation were identified as by-product of degradation of the original compound. Another work reports a maximum of 66.6 % decolorization rate of VC at the concentration of 100-280 mg L⁻¹ with *Phanerochaete chrysosporium* [36].

Some works report also the use of bacteria to degrade VC in MFC. Yatome *et al.* reported the degradation of VC at a low concentration (about 2 mg L⁻¹) with bacterial cells of *Nocardia coralline* IAM 12121 [37]. Roy *et al.* used bacteria from *Enterobacter* family to perform VC degradation and complete removal was obtained in a mineral salt medium containing up to 150 mg L⁻¹ of VC dye [38]. Cheng *et al.* 2014 investigated the feasibility of VC bioremoval from wastewater in a single-chamber MFC with *Aeromonas hydrophila* YC 57 [39]. This work resulted in removal rates of 82.5 % at initial VC concentration of 100 mg L⁻¹.

III.3. Power production by MFC.

The power production results in MFC are summarized in Tab. 1. The performance of the MFC was initially evaluated under open circuit voltage mode (OCV). The evolution of potential over time during MFC operation is shown for KIP and CSV bioanodes in Fig. 4a.

Tab. 1. Performances of MFCs: carbon cloth used, presence of *T. harzianum*, saturation level, OCV and CCV operating mode, maximum electromotive force (emf) at $t = 0$, maximum electrode surface power density ϕ_s , and maximum anolyte volume power density ϕ_v , maximum electrode volume power density ϕ_v .

Carbon cloth	<i>T. harzianum</i>	Saturation	Operating mode	emf (mV)	Maximum ϕ_s (mW m ⁻²)	Maximum ϕ_v (mW m ⁻³)	Maximum ϕ_v (W m ⁻³)
CSV	Yes	Non-saturated	OCV*	111.6	0.8	14.1	0.6
CSV	Yes	Saturated	OCV*	178.5	2.7	49.9	23.6
KIP	Yes	Non-saturated	OCV*	270.1	58.8	1095.8	229.6
KIP	No	Non-saturated	OCV*	153.0	1.4	162.7	5.5
KIP	Yes	Saturated	OCV*	300.1	62.8	1170.3	245.4
KIP	Yes	Saturated	CCV**	143.7	15.5	288.8	60.7

* Entrance impedance = 10 MOhms; ** Optimum resistance: $R = 200$ Ohms (KIP); 2000 Ohms (CSV).

Fig. 4a

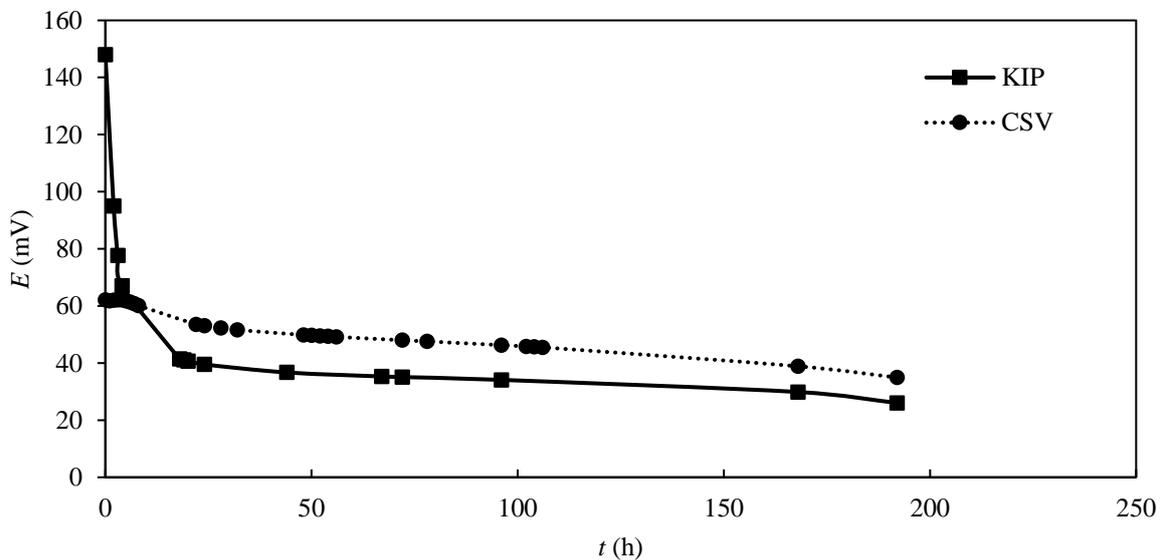


Fig. 4b

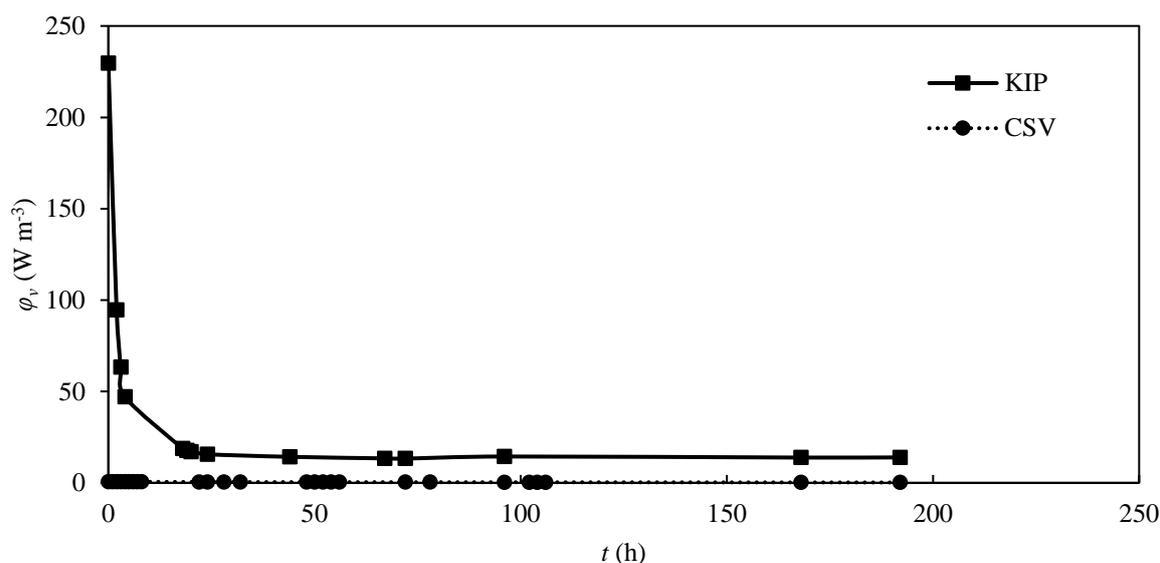


Fig. 4. Performances of MFC with KIP or CSV anode: a) Potential E at optimum resistance R vs. t ; b) Power density ϕ_v vs. t .

The potential values were higher with KIP during the first hours of the experiment, but then were higher with CSV (Fig. 4a). This result can be explained by the intrinsic properties of each carbon clothes, *i.e.* thickness 530 μm and 235 μm , volume $4.77 \times 10^{-7} \text{ m}^3$ and $2.12 \times 10^{-7} \text{ m}^3$, weight 162 mg and 62 mg, and volumetric mass density 0.34 g cm^{-3} and 0.29 g cm^{-3} for KIP and CSV, respectively. Therefore, the larger volume and density of KIP enhanced its ability to collect and concentrate VC improving its oxidation with a higher concentration polarization effect than CSV. After 20 h of operation, potential decreased, due to the depletion of available substrate.

The power densities, presently expressed in W m^{-3} of carbon clothes volumes (ϕ_v) were measured at the optimal resistances (200 and 2000 ohms for KIP and CSV, respectively) vs. time. These resistance values highlight the different conductivity between KIP and CSV materials that will have consequences on the power production in the MFC (Tab. 1). Fig. 4b shows the evolution of ϕ_v over time for the KIP and CSV anodes. The maximum ϕ_v values were 229.6 W m^{-3} for KIP and 0.6 W m^{-3} for CSV, as reported in Tab. 1. Both MFC experienced a significant decrease in power density after 20 h of operation due to the consumption of VC by *T. harzianum* as illustrated in Fig. 1a and 1b. The MFC with the KIP anode showed higher ϕ_v values than the CSV anode, which can be attributed to the difference in volumetric mass density between the KIP and CSV carbon cloths (0.34 g cm^{-3} and 0.29 g cm^{-3} , respectively). The KIP optimal resistance was consistently lower than the CSV due to its higher density and more closely packed fibers, enabling more efficient electron flow and lower optimal resistance. As a result, for a given potential value, the power and power density values increased for the KIP anode. Another explanation comes from the hydrophobicity of KIP. As previously seen, *T. harzianum* is also hydrophobic [32], which enhanced interactions with KIP and the fungi

biomass. Ultimately, VC is more quickly degraded and more power density is produced. Moreover, usual power densities parameters (φ_v and φ_s) highlight the electrical performances differences between KIP and CSV ($\varphi_v = 1095.8$ and 14.1 mW m^{-3} ; $\varphi_s = 58.8$ and 0.8 mW m^{-2} for KIP and CSV respectively) (Tab. 1).

As previously explained, it is essential to saturate KIP and CSV carbon clothes before using it in the MFC in order to separate VC sorption and bioremoval phenomenon. As shown in Fig. 5a, Fig. 5b and Tab. 1, the power density in MFC containing KIP or CSV with prior saturation with VC was 23.6 W m^{-3} (0.6 W m^{-3} without saturation) for CSV and 245.3 W m^{-3} (229.6 W m^{-3} without saturation) for KIP. The power density for the saturated KIP and CSV anode were higher than the value obtained without saturation. The initial saturation step significantly reduced VC sorption by the carbon cloth, making more available VC for the biodegradation by *T. harzianum*. This resulted in an increased overall yield of the MFC, regardless of the type of bioanode used.

Fig. 5a

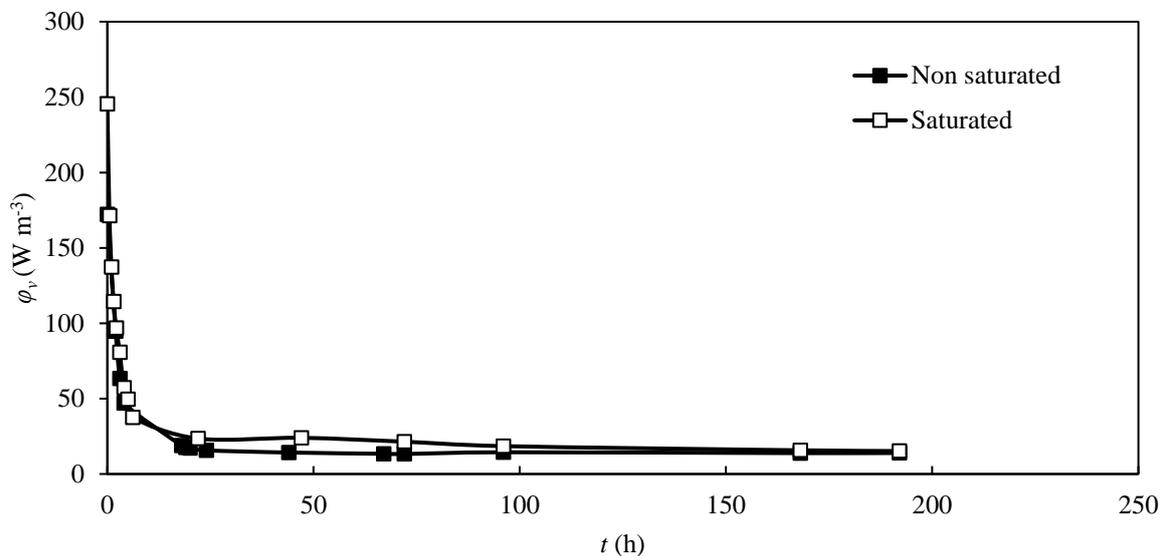


Fig. 5b

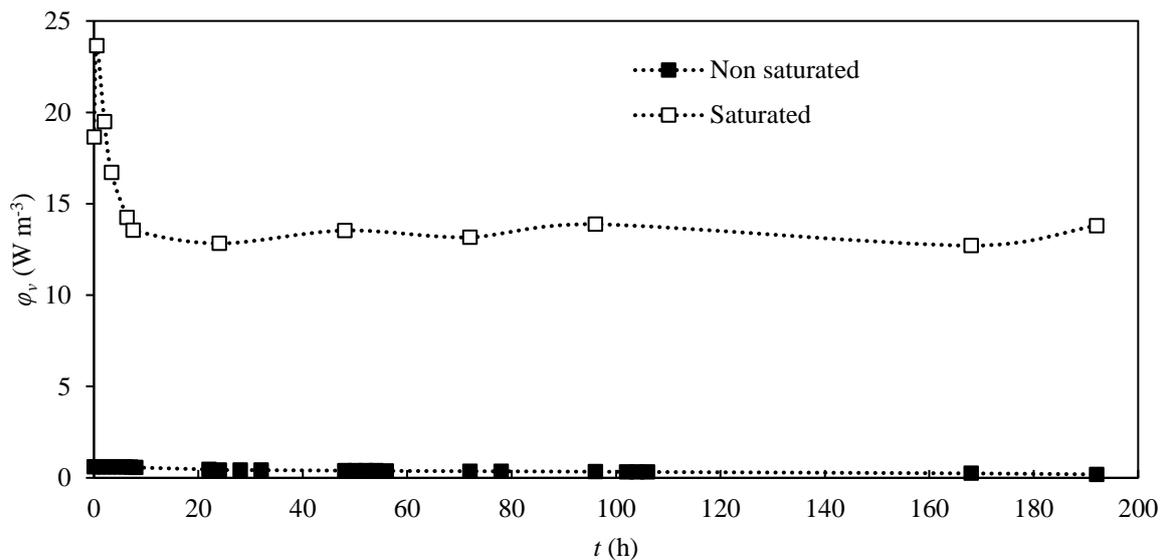


Fig. 5. Influence of the carbon cloth MB saturation on the MFC performances: power density ϕ_v vs. t : a) KIP anode; b) CSV anode.

Additionally, for saturated carbon clothes, the potential values and the power densities vs. time show the same behavior with significantly higher values for KIP (Tab. 1). As previously mentioned, this was attributed to the properties of KIP compared to CSV for power production.

The effect of *T. harzianum* on the anode as a biocatalyst on MFC performances was also investigated. The MFC with *T. harzianum* exhibited significantly higher potential values, reaching a maximum of 270.1 mV and an output power of 229.6 $W m^{-3}$ (compared to a maximum potential output of 153 mV and an output power of 5.5 $W m^{-3}$ without *T. harzianum*), as shown in Tab. 1.

Finally, the most effective MFC, equipped with a saturated KIP anode, was tested in CCV vs. OCV modes. Fig. 6a and Fig. 6b show the evolution of the potential E at optimum resistance and the power density ϕ_v , vs. t , respectively. The power density and emf values in OCV mode at $t = 0$ are also reported in Tab. 1. The potential was higher in OCV than in CCV mode. Similarly, ϕ_v was higher in OCV than in CCV mode (245.5 $W m^{-3}$ and 60.7 $W m^{-3}$, respectively). Furthermore, the half-life time of degradation was longer in CCV mode than in OCV mode (14.7 h and 5 h, respectively, curves not shown), indicating that the degradation rate was lower in CCV mode. In OCV, the removal rate reached 54 % with a plateau in 80 h and 46 % in CCV mode for the same time (Fig. 6c). However, after 260 h the removal of CCV mode did not reach a plateau as observed for OCV mode. This could be attributed to a stationary mass transfer regime in CCV mode (electron production and protons migration through PEM), which could better manage the inhibition effect of VC by-products on *T. harzianum* than the transitory OCV mode. Moreover, in CCV mode, the MFC stopped the power production after about 25 h due to the end of VC removal. In contrast, in OCV mode, there was always some residual potential at the end of the experiment, even when the removal stopped (Fig. 6a and Fig.

6b). In OCV, the high external resistance applied ($1\text{ M}\Omega$) prevents the transfer of the electrons, causing a build-up of electrons at the anode and then in a larger potential difference and a small power density. In CCV mode, a large part of the electrons generated by the oxidation reaction was transferred to the cathode and consumed with H^+ for O_2 reduction in water form.

Fig. 6a

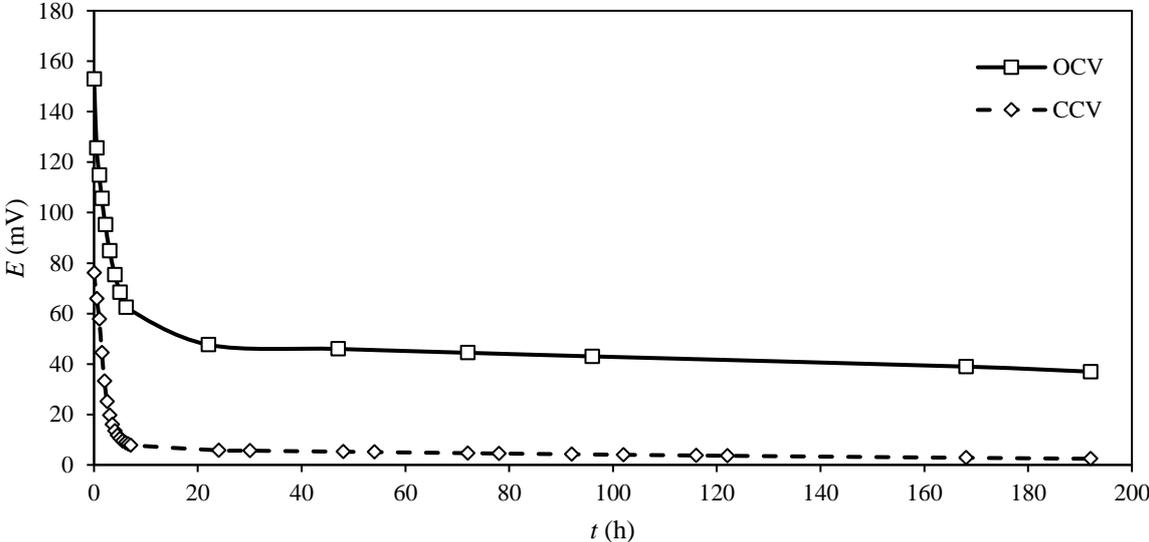


Fig. 6b

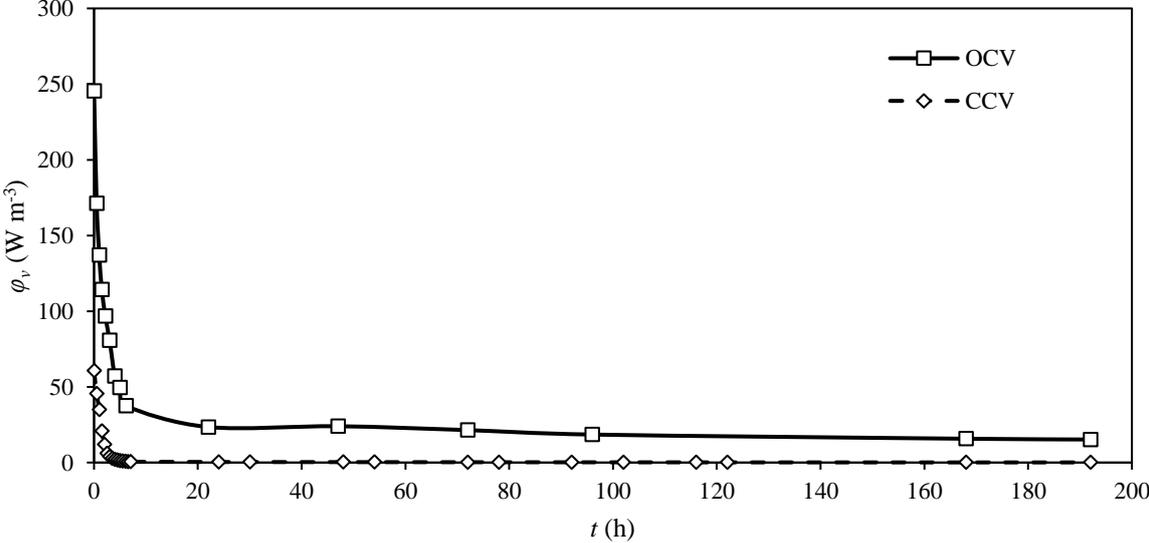


Fig. 6c

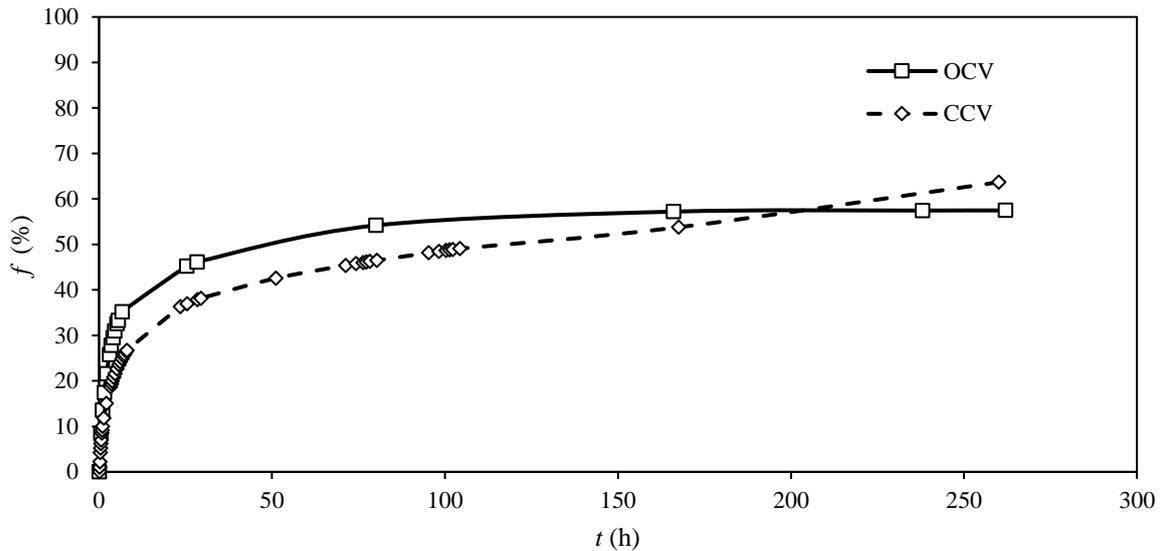


Fig. 6. Performances of MFC with saturated KIP anode in open circuit potential (OCV) or closed-circuit mode (CCV): a) Potential E at optimum R vs. t ; b) Power density φ_v vs. t ; c) VC removal: f vs t .

Maximum E , φ_s and φ_v values were compared to those already obtained with cloth design MFC (batch) and published in the bibliography. Babanova *et al.* observed similar performance than with saturated KIP carbon cloth in debiting mode ($\varphi_s = 15.5 \text{ mW m}^{-2}$) using *Candida melibiosica* yeast on a carbon felt ($\varphi_s = 20 \text{ mW m}^{-2}$) [40]. Some authors reported higher performances. Gunawardena *et al.* performed an MFC with *S. cerevisiae* yeast with glucose as carbon source and MB, and obtained $E = 383.6 \text{ mV}$ for a maximum $\varphi_v = 147 \text{ mW m}^{-3}$ [41]. The very good performances obtained by this MFC were probably linked to a microporous vitreous carbon electrode employed. Using breweries waters as substrate, Çetinkaya *et al.* obtained $\varphi_s = 80 \text{ mW m}^{-2}$ in a continuous flow MFC with a tin coated copper mesh as anode [18].

Other results have been published, but it is not easy to compare the performances, because the functioning mode is not always reported. Kebaili *et al.* developed MFC for fruit waste leachate wastewater treatment consisting in graphite and felt carbon rods as leachate biofilm support. They obtained potentials of 140 mV and 260 mV and power densities of 24.2 mW m^{-2} and 19.1 mW m^{-2} , respectively [15]. Mbokou *et al.* developed a MFC *Scedosporium dehoogii* filamentous ascomycota fungus as bioanode [42]. The performances were promising with a highly stable power density at 6.5 mW m^{-2} associated with a potential of 450 mV. Pontié *et al.* studied the bioremediation of acetaminophen by the same strain of *T. harzianum* as us in a similar dual chamber MFC as us and obtained $V = 550 \text{ mV}$ and $\varphi_s = 50 \text{ mW m}^{-2}$ [25]. The use of the same MFC with *S. dehoogii* with lignin as substrate gave $\varphi_s = 16 \text{ mW m}^{-2}$.

III.4. IC₅₀ of VC for *T. harzianum*

In order to better understand the VC inhibition effect on *T. harzianum*, the inhibition on its growth was studied in PDA plates with VC concentrations (C_{VC}) between 0 to 2.5 mg L⁻¹ (Fig. 7).

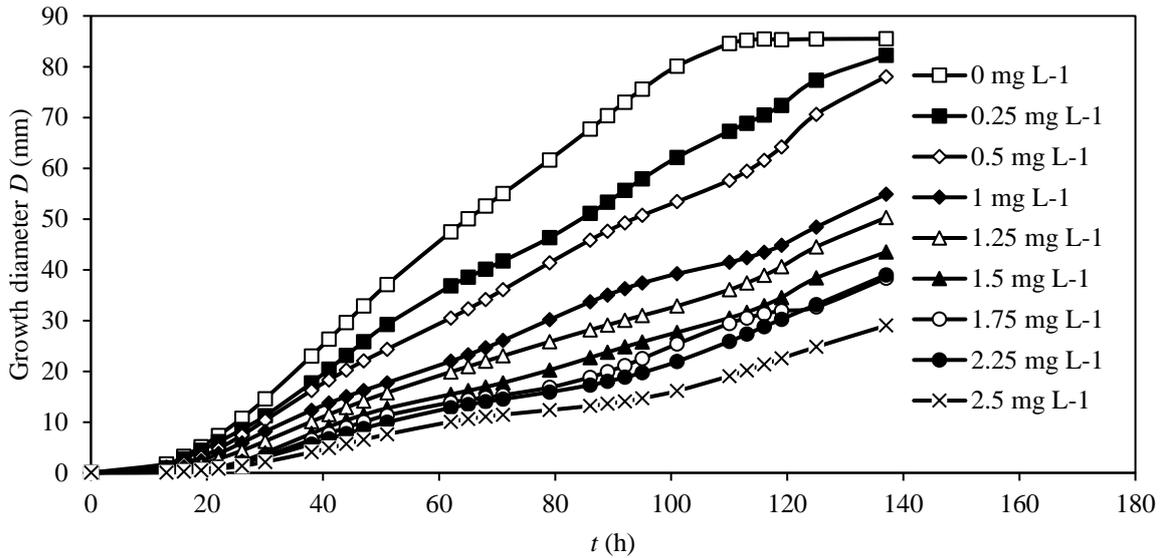


Fig. 7. *T. harzianum* growth curves in the presence of increasing C_{VC} (from top to bottom: 0 (i.e., control) (□), 0.25 (■), 0.5 (◇), 1 (◆), 1.25 (Δ), 1.5 (▲), 1.75 (○), 2.25 (●) and 2.5 mg L⁻¹ (X), respectively).

Slopes values were obtained from each growth curves determined during the exponential growth phase at different C_{VC} , $slope_{control}$ being the one measured in the absence of VC. The percentage of inhibition was then calculated as follows:

$$\text{Inhibition (\%)} = \left(\frac{\text{slope}_{control} - \text{slope}_{C_{VC}}}{\text{slope}_{control}} \right) \times 100 \quad (3)$$

The percentage of inhibition was plotted as a function of VC concentration (Fig. 8).

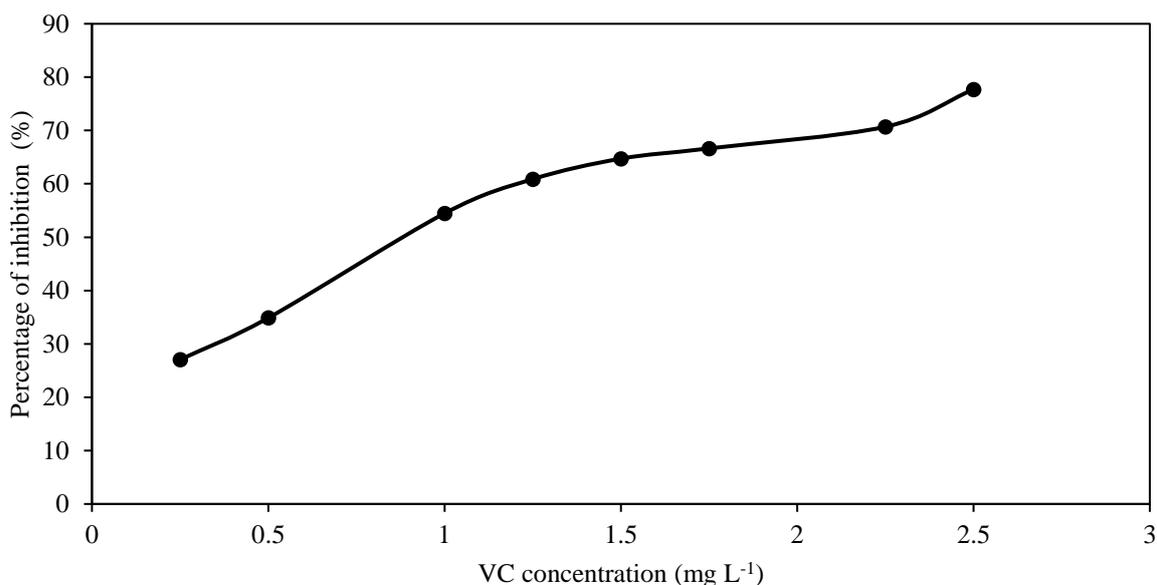


Fig. 8. *T. harzianum* inhibition rate at different C_{VC} .

From the curve percentage inhibition vs. C_{VC} (Fig. 8), IC_{50} for VC towards *T. harzianum* was determined using the following equation [43]:

$$\text{Inhibition (\%)} = I_{\max} \times \left[1 - \left(\frac{I_{\min} \times C_{VC}^{\text{Hill}}}{IC_{50} + C_{VC}^{\text{Hill}}} \right) \right] \quad (4)$$

I_{\min} and I_{\max} are the extrema of the curve; C_{VC} are the VC concentrations; IC_{50} is the inhibitor concentration corresponding to the I mean value between I_{\min} and I_{\max} ; Hill is a constant reflecting the sigmoidicity of the curve (Hill constant = 1.8 ± 0.7). From Eq. 4, $IC_{50} = 0.97 \pm 0.28 \text{ mg L}^{-1}$ or $2.34 \pm 0.66 \text{ mmol L}^{-1}$. There is few information about IC_{50} values for *T. harzianum* to make comparisons with other molecules, but it seems very resistant toward aromatic molecules like coumarin as shown by Deng *et al.* (Deng *et al.* 2004). Furthermore, in our MFC experiments, *T. harzianum* was still able to degrade VC even at large concentration (100 mg L^{-1}), because it is in a biofilm form.

III.1. Dyes biodegradation by *T. harzianum*: a short overview

As few ascomycota fungi species, *T. harzianum* contain numerous genes encoding for various classes of enzymes from diverse families (Tab. 2). This panoply of specific catalytic activities allows fungi to survive in an environment where they are confronted to biotic stresses and abiotic agents.

Tab. 2. *T. harzianum* genes and depolluting enzymes [45].

<i>T. harzianum</i> 's strains	Number of genes
<i>T. harzianum</i> T22 v1.0	12 762
<i>T. harzianum</i> M10 v1.0	12 842
<i>T. harzianum</i> TR274 v1.0	13 932
<i>T. harzianum</i> CBS 226.95 v1.0	14 095
Enzyme families	Enzymes
Multicopper oxidases	6 laccases, 2 tyrosinases
Monoxygenases	From 41 to 71 P450 mono-oxygenases, 1 benzoate-specific mono-oxygenase, 2 phenol 2-mono-oxygenases
Flavin-dependent monooxygenases	From 9 to 10 flavoprotein monooxygenases, from 0 to 2 meta-dichlorophenol 6-mono-oxygenases, from 17 to 26 flavin-binding monooxygenases-like, 2 nitroreductases

Laccase from *Trichoderma asperellum* is known to catalyse oxidative degradation of VC [11]. Moreover, synthesis of laccase in *Trichoderma* is stimulated byalachlor (an aromatic compound from the chloroacetanilide family, a pesticide) or by guaiacol (a phenolic compound with a methoxy group) [46]. The structures of these two compounds exhibit some similarities with those of the degradation by-products of VC by *T. asperellum* (Fig. 9).

One can make the following hypothesis. The inhibition of the growth of *T. harzianum* could be due to VC itself. In parallel, the transcription of the gene encoding laccase could be increased by VC degradation by-products. Therefore, the more by-products of VC degradation formed by laccase there would be, the more this enzyme would be synthesized, the more the VC would be degraded in the long term, since, at the same time, the concentration of the VC decreasing, the inhibition would decrease also. However, this was not observed in our MFC experiments.

Indeed, few is known about the actual mechanisms of dyes biodegradation (in particular VC) by *Trichoderma* (in particular *T. harzianum*) and there are probably several. For example, *Trichoderma tomentosum* degrades azo-dye Acid Red 3R mainly with manganese peroxidase and lignin peroxidase enzymes working: no aromatic amine products, neither laccase activity are detected suggesting a possible oxidative degradation pathway [47].

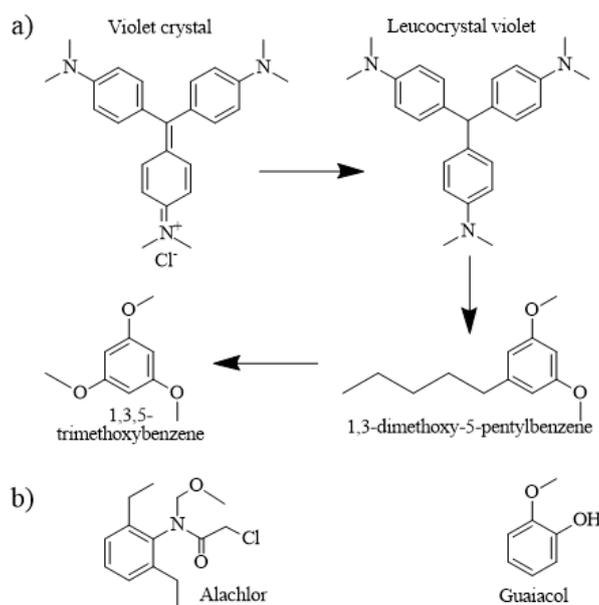


Fig. 9. Hypothesis on VC biodegradation: a) Possible degradation by-products of VC by laccase from *T. asperellum* [11]; b) Structure of alachlor and guaiacol.

IV. Conclusion

Microbial fuel cells (MFC) are a cost-effective and sustainable option for treating wastewaters. In addition, fungal MFC utilize biological techniques to effectively remove recalcitrant compounds that remain after traditional physical-chemical treatments. Dyes, particularly polyaromatic compounds, are commonly found in wastewater and can be challenging to remove using conventional methods. In this study, we used the dye model VC, which contains three aromatic rings and dimethylamine/dimethylammonium groups.

Fungi possess a diverse range of enzymes giving them an ability to degrade aromatic compounds. Specifically, laccase has been shown to be able of oxidizing a wide range of chemical compounds, including aromatic compounds. In this work, the fungus *T. harzianum*, which produces laccase, was used.

In this study, two different carbon cloths were used as electrodes in the MFC (KIP and CSV) with *T. harzianum* as biocatalyst on the anode. As results, the removal of VC ceased at 55 % with CSV, and at 52 % with KIP after 40 h run with respective power densities of 0.6 W m^{-3} and 229.6 W m^{-3} . The KIP anode showed more effective power production compared to the CSV anode due its thicker, denser structure and hydrophobicity. This structure allowed a higher concentration of charges leading to higher potential, lower resistance and ultimately higher power density.

An experiment without *T. harzianum* highlighted a sorption phenomenon of VC occurred by the carbon cloth. As a consequence, the anode was saturated with VC prior to MFC experiments to make degradation by *T. harzianum* the only factor of VC removal. An increase in power density production was observed (23.6 W m^{-3} with CSV and for 245.4 W m^{-3} with KIP) explained by the larger quantity of VC was disposable for degradation by *T. harzianum*.

In OCV experiments, VC removal was faster and higher than in CCV. In CCV mode, the degradation should be accelerated due to the lower resistance applied which stimulate the degradation process. The contrary was observed attributed to the challenging nature of VC for biodegradation by *T. harzianum*. Power densities were also lower, with 60.7 W m^{-3} in CCV mode and 245.4 W m^{-3} in OCV mode.

VC inhibition effect on *T. harzianum* was quantified by IC_{50} measurement. The value of $0.97 \pm 0.28 \text{ mg}$, highlighted the strong inhibition effect of VC on *T. harzianum* growth even at low concentration. Furthermore, in the biofilm environment of the anode in the MFC, we noticed that *T. harzianum* remained able to produce a current under 100 mg L^{-1} of VC.

This study presents promising opportunities for the use of this MFC to treat various phenolic compounds as carbon source substrates. Further researches will be conducted to optimize the electrodes, such as treating the cathode surface to improve the reduction reaction efficiency and attain higher power densities of our MFC.

References

1. Bumpus JA, Brock BJ (1988) Biodegradation of crystal violet by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl Environ Microbiol* 54:1143–1150
2. Idaka E, Ogawa T, Yatome C, Horitsu H (1985) Behavior of activated sludge with dyes
3. Au W, Pathak S, Collie CJ, Hsu TC (1978) Cytogenetic toxicity of gentian violet and crystal violet on mammalian cells in vitro
4. Claus H, Faber G, König H (2002) Redox-mediated decolorization of synthetic dyes by fungal laccases. *Appl Microbiol Biotechnol* 59:672–678. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1047-z>
5. Wesenberg D, Kyriakides I, Agathos SN (2003) White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. In: *Biotechnology Advances*. Elsevier Inc., pp 161–187
6. Forootanfar H, Moezzi A, Aghaie-Khozani M, et al (2012) Synthetic dye decolorization by three sources of fungal laccase. *Iranian J Environ Health Sci Eng* 9. <https://doi.org/10.1186/1735-2746-9-27>
7. Ostadhadi-Dehkordi S, Tabatabaei-Sameni M, Forootanfar H, et al (2012) Degradation of some benzodiazepines by a laccase-mediated system in aqueous solution. *Bioresour Technol* 125:344–347. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.09.039>
8. Sadighi A, Faramarzi MA (2013) Congo red decolorization by immobilized laccase through chitosan nanoparticles on the glass beads. *J Taiwan Inst Chem Eng* 44:156–162. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2012.09.012>
9. D'Souza DT, Tiwari R, Sah AK, Raghukumar C (2006) Enhanced production of laccase by a marine fungus during treatment of colored effluents and synthetic dyes. *Enzyme Microb Technol* 38:504–511. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.07.005>
10. Moturi B, Charya Singara M (2009) Decolourisation of crystal violet and malachite green by fungi. *Science World Journal* 4:
11. Shanmugam S, Ulaganathan P, Sivasubramanian S, et al (2017) *Trichoderma asperellum* laccase mediated crystal violet degradation-Optimization of experimental conditions and characterization. *J Environ Chem Eng* 5:222–231. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.11.044>
12. Potter MC (1911) *Electrical Effects accompanying the Decomposition of Organic Compounds*. Royal Society Publishing 260–276
13. Cohen B (1931) The Bacterial Culture as an Electrical Half-Cell. *J Bacteriol* 18–19
14. Jayashree C, Sweta S, Arulazhagan P, et al (2015) Electricity generation from retting wastewater consisting of recalcitrant compounds using continuous upflow microbial fuel cell. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 20:753–759. <https://doi.org/10.1007/s12257-015-0017-0>
15. Kebaili H, Kameche M, Innocent C, et al (2021) Treatment of fruit waste leachate using microbial fuel cell: Preservation of agricultural environment. *Acta Ecologica Sinica* 41:97–105. <https://doi.org/10.1016/J.CHNAES.2020.09.004>
16. Nguyen HTH, Kakarla R, Min B (2017) Algae cathode microbial fuel cells for electricity generation and nutrient removal from landfill leachate wastewater. *Int J Hydrogen Energy* 42:29433–29442. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.10.011>
17. Ceconet D, Molognoni D, Callegari A, Capodaglio AG (2018) Agro-food industry wastewater treatment with microbial fuel cells: Energetic recovery issues. *Int J Hydrogen Energy* 43:500–511. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.07.231>
18. Çetinkaya AY, Köroğlu EO, Demir NM, et al (2015) Electricity production by a microbial fuel cell fueled by brewery wastewater and the factors in its membrane deterioration. *Cuihua Xuebao/Chinese Journal of Catalysis* 36:1068–1076. [https://doi.org/10.1016/S1872-2067\(15\)60833-6](https://doi.org/10.1016/S1872-2067(15)60833-6)
19. Chen F, Zeng S, Luo Z, et al (2020) A novel MBBR–MFC integrated system for high-strength pulp/paper wastewater treatment and bioelectricity generation. *Separation Science and Technology (Philadelphia)* 55:2490–2499. <https://doi.org/10.1080/01496395.2019.1641519>
20. Naina Mohamed S, Ajit Hiraman P, Muthukumar K, Jayabalan T (2020) Bioelectricity production from kitchen wastewater using microbial fuel cell with photosynthetic algal cathode. *Bioresour Technol* 295. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122226>
21. Ma D, Jiang ZH, Lay CH, Zhou D (2016) Electricity generation from swine wastewater in microbial fuel cell: Hydraulic reaction time effect. *Int J Hydrogen Energy* 41:21820–21826. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.08.019>
22. Xia T, Zhang X, Wang H, et al (2019) Power generation and microbial community analysis in microbial fuel cells: A promising system to treat organic acid fermentation wastewater. *Bioresour Technol* 284:72–79. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.119>
23. Deshmukh R, Khardenavis AA, Purohit HJ (2016) Diverse metabolic capacities of fungi for bioremediation. *Indian J Microbiol* 56:247–264
24. Sayed ET, Abdelkareem MA (2017) Yeast as a biocatalyst in microbial fuel cell. In: *Old Yeasts - New Questions*. InTech

25. Pontié M, Jaspard E, Friant C, et al (2019) A sustainable fungal microbial fuel cell (FMFC) for the bioremediation of acetaminophen (APAP) and its main by-product (PAP) and energy production from biomass. *Biocatal Agric Biotechnol* 22. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101376>
26. Simões MF, Maiorano AE, dos Santos JG, et al (2019) Microbial fuel cell-induced production of fungal laccase to degrade the anthraquinone dye Remazol Brilliant Blue R. *Environ Chem Lett* 17:1413–1420. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00876-y>
27. Osman ME, Khattab O-KH, A.A. AE, S. AB (2018) Acid black 172 dye decolorization and bioelectricity generation by microbial fuel cell with filamentous fungi on anode. *Biosci Biotechnol Res Asia* 15:981–986. <https://doi.org/10.13005/bbra/2710>
28. Kosimaningrum W (2018) Modification of carbon felt for construction of air-breathing cathode and its application in microbial fuel cell, PhD thesis, Université de Montpellier, 2018.
29. Palma-Goyes RE, Guzmán-Duque FL, Peñuela G, et al (2010) Electrochemical degradation of crystal violet with BDD electrodes: Effect of electrochemical parameters and identification of organic by-products. *Chemosphere* 81:26–32. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.07.020>
30. Zhang H, Wu J, Wang Z, Zhang D (2010) Electrochemical oxidation of crystal violet in the presence of hydrogen peroxide. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 85:1436–1444. <https://doi.org/10.1002/jctb.2447>
31. He H, Yang S, Yu K, et al (2010) Microwave induced catalytic degradation of crystal violet in nano-nickel dioxide suspensions. *J Hazard Mater* 173:393–400. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.08.084>
32. Ding J, Mei J, Huang P, et al (2020) Gα3 subunit Thga3 positively regulates conidiation, mycoparasitism, chitinase activity, and hydrophobicity of *Trichoderma harzianum*. *AMB Express* 10. <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01162-9>
33. Bessbousse H, Rhlalou T, Verchère JF, Lebrun L (2010) Mercury removal from wastewater using a poly(vinylalcohol)/poly(vinylimidazole) complexing membrane. *Chemical Engineering Journal* 164:37–48. <https://doi.org/10.1016/j.ccej.2010.08.004>
34. Fu BR, Shen C, Ren J, et al (2018) Advanced oxidation of biorefractory organics in aqueous solution together with bioelectricity generation by microbial fuel cells with composite FO/GPEs. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Institute of Physics Publishing
35. Danish Khan M, Abdulateif H, Ismail IM, et al (2015) Bioelectricity generation and bioremediation of an azo-dye in a microbial fuel cell coupled activated sludge process. *PLoS ONE* 10:1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138448>
36. Annadurai G, Rajesh Babu S, Nagarajan G, Ragu K (2000) Use of Box Behnken design of experiments in the production of manganese peroxidase by *Phanerochaete chrysosporium* (MTCC 767) and decolorization of crystal violet. *Bioprocess Engineering* 23:715–719
37. Yatome C, Yamada S, Ogawa T, Matsui M (1993) Degradation of crystal violet by *Nocardia corallina*
38. Roy DC, Biswas SK, Saha AK, et al (2018) Biodegradation of crystal violet dye by bacteria isolated from textile industry effluents. *PeerJ* 2018. <https://doi.org/10.7717/peerj.5015>
39. Cheng CY, Liang FY, Chung YC (2014) Electricity generation from crystal violet using a single-chambered microbial fuel cell inoculated *aeromonas hydrophila* YC 57. In: *Advanced Materials Research*. pp 466–471
40. Babanova S, Hubenova Y, Mitov M (2011) Influence of artificial mediators on yeast-based fuel cell performance. *J Biosci Bioeng* 112:379–387. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.06.008>
41. Gunawardena A, Fernando S, To F (2008) Performance of a yeast-mediated biological fuel cell. *Int J Mol Sci* 9:1893–1907. <https://doi.org/10.3390/ijms9101893>
42. Mbokou SF, Tonle IK, Pontié M (2017) Development of a novel hybrid biofuel cell type APAP/O₂ based on a fungal bioanode with a *Scedosporium dehoogii* biofilm. *J Appl Electrochem* 47:273–280. <https://doi.org/10.1007/s10800-016-1030-5>
43. Volpe DA, Hamed SS, Zhang LK (2014) Use of different parameters and equations for calculation of IC 50 values in efflux assays: Potential sources of variability in IC50 determination. *AAPS Journal* 16:172–180. <https://doi.org/10.1208/s12248-013-9554-7>
44. Deng Y (2004) Investigations into the mechanism of action and antifungal activity of the botanical coumarin surangin b
45. JGI (2023) Database MycoCosm. In: <https://mycocosm.jgi.doe.gov/mycocosm/home/releases?flt=trichoderma+harzianum>
46. Venice F, Davolos D, Spina F, et al (2020) Genome sequence of *trichoderma lixii* mut3171, a promising strain for mycoremediation of pah-contaminated sites. *Microorganisms* 8:1–15. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091258>
47. He X-L, Song C, Li Y yuan, et al (2018) Efficient degradation of azo dyes by a newly isolated fungus *Trichoderma tomentosum* under non-sterile conditions. *Ecotoxicol Environ Saf* 150:232–239. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.043>

Les deux chapitres précédents ont présenté les résultats de nos travaux sur la bioremédiation de MB et de VC par *T. harzianum* en MFC. Afin de pleinement conclure cette étude, il est nécessaire de comparer les résultats obtenus avec les deux colorants.

En MFC, l'élimination du MB a atteint plus de 90 %, tandis que celle de VC n'a pas dépassé 60 %. Cette différence a été attribuée à la difficulté rencontrée par *T. harzianum* pour dégrader VC, du fait de sa structure plus complexe et de l'inhibition qu'il apporte ($IC_{50} = 0,97 \pm 0,28 \text{ mg L}^{-1}$). La Fig. 1 illustre cette différence, avec l'électrode KIP sans saturation et en circuit ouvert.

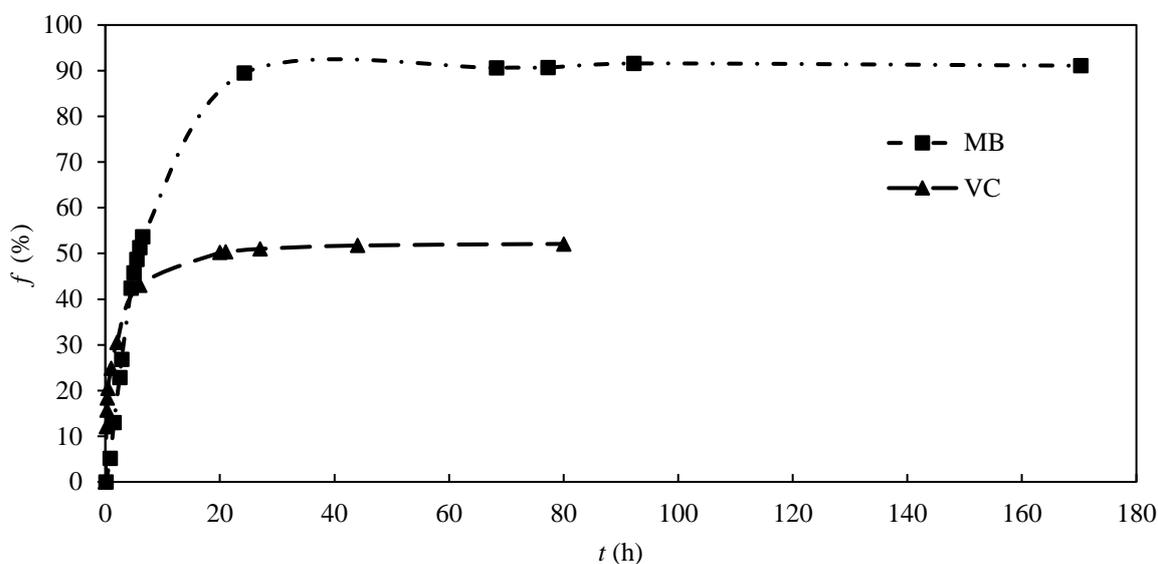


Fig. 1. Elimination de MB et de VC f vs t pour les expériences de MFC avec KIP sans saturation.

La puissance initiale produite par la MFC est apparue supérieure avec VC. La Fig. 2 illustre cette différence, avec l'électrode KIP sans saturation et en circuit ouvert.

Dans l'hypothèse d'une minéralisation totale des deux molécules, cette différence aurait pu être expliquée par le plus grand nombre d'électrons libérés par mole de VC ($65 e^-$) par rapport à une mole de MB ($43 e^-$).

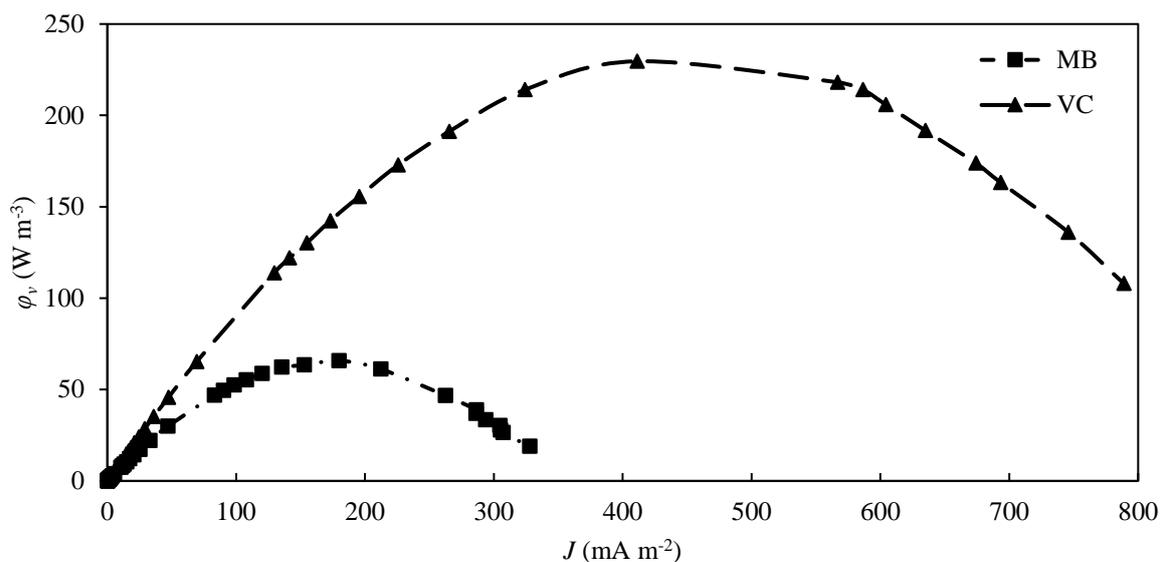


Fig. 2. Courbe de polarisation pour les expériences de MFC en circuit ouvert, avec KIP sans saturation

Les plus faibles résultats concernant la bioremédiation du VC par *T. harzianum* ont été expliqués par la forte inhibition du champignon. Cependant sa dégradation a été effective, puisqu'elle a permis d'obtenir des puissances supérieures à MB, ce qui prouve la capacité de *T. harzianum* à s'adapter à la nocivité du colorant.

En conclusion, les expériences de bioremédiation en MFC ont montré de meilleurs résultats pour MB. Ce substrat sera donc intéressant à utiliser pour envisager des améliorations de la MFC, en particulier par un traitement *antifouling* de la PEM.

I. Introduction

Ce chapitre a pour but d'optimiser l'efficacité des biopiles vis-à-vis du bleu de méthylène (MB) en modifiant la PEM Nafion™ 117 pour lui apporter des propriétés « antibiofilms ». Deux stratégies sont envisagées, le dépôt chimique de particules de cuivre et le dépôt chimique de particules d'argent. Les PEM seront d'abord traitées en polymérisant de la dopamine sur leur surface. Ensuite, des ions argent (Ag^+) ou des ions cuivre (Cu^{2+}) seront déposés sur cette couche, à deux concentrations différentes ($0,35 \text{ g L}^{-1}$ et $0,035 \text{ g L}^{-1}$) et seront réduits en particules métalliques par action de l'acide ascorbique. Comme nous l'avons montré précédemment dans l'étude bibliographique du chapitre III, la polydopamine, les particules de cuivre et d'argent ont une action antimicrobienne.

Au cours de nos travaux, les PEM modifiées seront observées par MEB et par AFM afin d'étudier leurs variations de morphologie et de topographie. Puis, des mesures d'angles de contact seront réalisées pour savoir comment les modifications changent leurs propriétés hydrophile/hydrophobe. Des mesures de diffusion de protons sur les PEM seront également faites pour savoir comment les modifications influencent leur conductivité protonique. D'autre part des mesures de diamètre d'inhibition sur tapis microbiens nous permettront de déterminer quelle modification apporte les meilleures propriétés antimicrobiennes. Enfin, la PEM modifiée la plus prometteuse sera utilisée en MFC et la présence de biofilm sera vérifiée par MEB après un mois d'utilisation.

II. Matériel et méthodes

II.1. Micro-organisme

La souche de *Trichoderma harzianum*, désignée sous le numéro 1573, a été fournie gracieusement de la banque de souches de l'Institut de recherche horticole et semencière à l'Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement (IRHS-INRAE), d'Angers, en France.

II.2. Produits chimiques

Le bleu de méthylène (MB) (C.I. 52015) est de qualité pharmacopée européenne, il a été fourni par la société Merck (Darmstadt, BW, Allemagne). L'acide citrique anhydre a été fourni par Fisher (Fair Lawn, NJ, USA). Le citrate trisodique dihydraté, l'acide chlorhydrique, l'hexaméthylsilazane, l'acide L-ascorbique pur à 99%, le tampon Tris-HCl de qualité réactive ont été achetés chez Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). Le ferricyanure de potassium était de qualité réactif ACS et a été fourni par MP Biomedicals (Solon, OH, États-Unis). Le D (+) – glucose anhydre (dextrose) était de qualité réactif ACS et fourni par Acros Organics (NJ, USA). Le chlorhydrate de dopamine a été acheté auprès de Sigma-Aldrich (Steinheim, NW, Allemagne). Le nitrate d'argent était de qualité réactif ACS a été acquis auprès de Riedel-de Haën (Seelze, NI, Allemagne). Le sulfate de cuivre pentahydraté a été acheté chez Acros organics (NJ, USA). Le glutaraldéhyde (2%), le paraformaldéhyde (2%), le tampon cacodylate (0.1M), le tétraoxyde d'osmium (2%), l'éthanol ont été fournis par Electron Microscopy

Science (Hatfield, PA, USA). La membrane échangeuse de protons (PEM) est une Nafion™ 117 et a été fourni par Sigma-Aldrich (actuellement Merck) (St Louis, MO, USA).

II.3. Milieux de culture

Les milieux de culture mères ont été préparés en solubilisant 7,8 grammes de gélose « potato dextrose agar » (PDA) (obtenue de Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) dans 200 mL d'eau distillée. La stérilisation a été réalisée par autoclavage, après quoi la solution a été distribuée dans des boîtes de Pétri. Cinq points d'inoculation *T. harzianum* sont réalisés sur chaque plaque de gélose à l'aide d'une boucle d'inoculation de platine. Ces boîtes servent de culture mère pour inoculer les boîtes servant aux expériences de croissance (avec et sans MB) et à la préparation des anodes. Les boîtes mères sont renouvelées toutes les semaines.

Le biofilm utilisé comme bioanode dans une pile microbienne (MFC) a été préparé à partir d'une boîte mère âgée d'une semaine. 20 ml de tampon citrate stérile à 0,1 M et à pH = 5 (pH optimal de croissance de *T. harzianum* [1]), sont ajoutés sur le tapis microbien et étalés à l'aide d'un râteau. Une suspension fongique d'environ 10⁶ spores par millilitre est ainsi obtenue [2]. Le tissu de carbone (KIP) préalablement stérilisé en autoclave est placé au centre de la suspension. La boîte est agitée à l'aide d'une table d'agitation (50 tours par minute) pendant quatre jours. Le tissu est retourné après deux jours pour permettre une colonisation homogène des deux faces du tissu de carbone.

II.4. Modification de la PEM

Dans cette étude, les modifications apportées à la PEM Nafion™ 117 sont conçues pour modifier ses propriétés de surface, et donc les interactions avec les éventuels micro-organismes présents dans les compartiments de la MFC.

Des travaux menés sur les protéines adhésives utilisées par les moules pour se fixer solidement sur un support, ont conduit à découvrir en 2007 que la dopamine à pH légèrement basique pouvait se polymériser facilement à la surface de nombreux matériaux [3].

La Fig. 1 illustre une des hypothèses de réarrangement et de polymérisation de la dopamine en polydopamine. Des objets, allant des échelles macroscopiques à nanométrique, peuvent ainsi être recouverts de polydopamine. Comme nous l'avons vu précédemment dans la partie bibliographique, les propriétés qu'elle apporte aux surfaces ont ouvert la voie à de nombreux travaux de recherche, notamment dans le domaine des revêtements anti-microbiens.

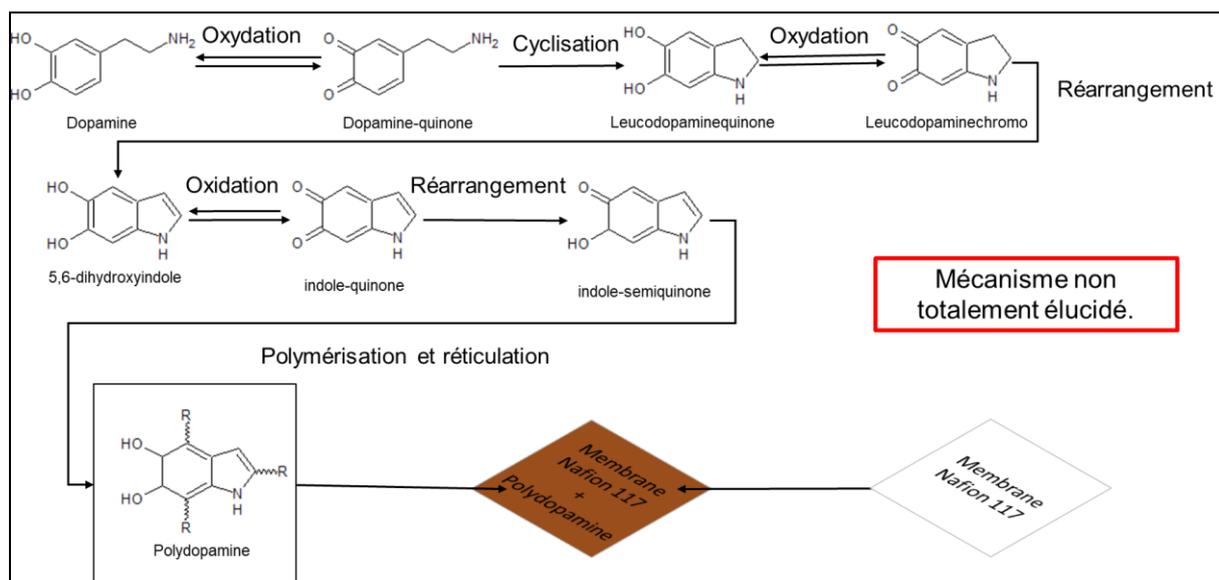


Fig. 1. Hypothèse de mécanisme de transformation et de polymérisation de la dopamine sur une surface de NafionTM 117.

La polydopamine a ainsi été utilisée pour apporter des propriétés antibactériennes et antifongiques vis-à-vis de nombreux micro-organismes [4]. Ses propriétés redox la rendent à la fois antioxydante et pro-oxydante car elle peut échanger des électrons. Cela lui permet par exemple de contribuer à la génération d'espèces oxygénées réactives [5], qui peuvent avoir un effet antimicrobien.

De plus, la polydopamine, contient des groupes catéchols qui peuvent former des liaisons de coordination avec des ions métalliques (Fig. 2). Ces ions peuvent être réduits en particules métalliques par réaction de réduction.

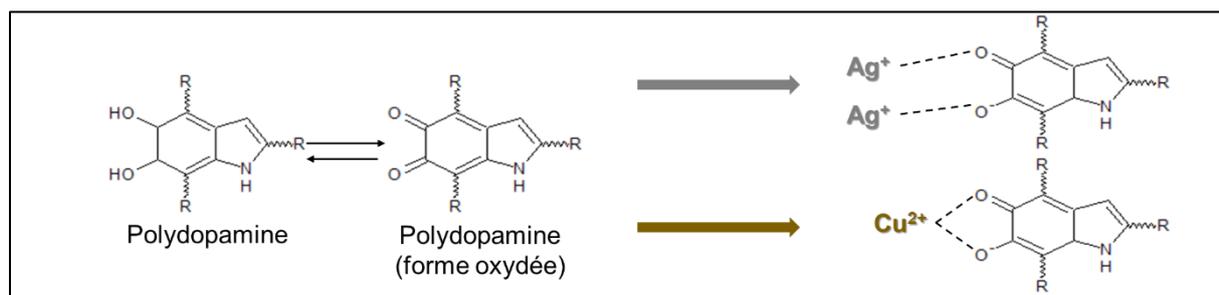


Fig. 2. Interactions entre les ions métalliques (argent et cuivre) et la polydopamine lors de l'étape de fixation de ces ions.

Certains métaux (sous forme ionique et métallique) comme le cuivre et l'argent étant connus pour avoir des propriétés antimicrobiennes, leur présence à la surface des PEM doit permettre de leur apporter des propriétés *antifouling* (cf. partie bibliographique).

Les échantillons de PEM ont été découpés en morceaux à l'aide d'une lame de scalpel, avec des formes et des tailles variant en fonction de l'expérience réalisée. Les PEM ont d'abord été immergées dans une solution de HCl 0,1 M (100 ml) et agitées pendant 4 h sous agitation magnétique à 200 tr/min pour garantir leur forme acide. Puis, les PEM ont été rincées dans de l'eau désionisée pendant 24 h sous agitation avec un remplacement de l'eau toutes les 4 h jusqu'à neutralisation du pH.

Le tampon Tris-HCl (15 mM) a été préparé en dissolvant 1,182 g dans 400 mL d'eau désionisée et en ajustant le pH à 8,5 avec des granules de NaOH, puis en complétant à 500 mL. Ensuite, 1 g de dopamine a été versé dans la solution et rapidement, les échantillons membranaires ont été immergés. La solution prend une couleur saumon, virant au brun et au noir lorsque la polymérisation de la dopamine s'effectue. L'expérience dure 24 heures sous agitation magnétique à 400 tr/min, ces conditions d'agitation permettant d'empêcher que la PEM se dépose sur le fond du récipient.

Une solution de nitrate d'argent à 1 g L⁻¹ dans 100 ml d'eau désionisée a d'abord été préparée, puis diluée à 0,35 g L⁻¹ et à 0,035 g L⁻¹ dans 200 mL d'eau désionisée. Les solutions de sulfate de cuivre à 0,35 g L⁻¹ et 0,035 g L⁻¹ ont été préparées de la même manière en considérant sa nature pentahydratée.

Les PEM modifiées par la polydopamine ont été ensuite placées dans des solutions de 0,35 ou 0,035 g L⁻¹ AgNO₃ ou CuSO₄ afin de déposer des ions métalliques sur leur surface. Cette étape dure 4 h sous agitation magnétique de 400 tr/min.

Les PEM sont ensuite placées individuellement dans une solution d'acide ascorbique à 2 g L⁻¹ afin de réduire les ions en particules métalliques. Cette étape dure 2 heures sous agitation magnétique (200 tr min⁻¹) à température ambiante et 2 heures à 70 °C dans un étuve. La Fig. 3 illustre le phénomène de réduction, aboutissant à l'obtention de particules métalliques fixées sur la polydopamine recouvrant la surface des PEM.

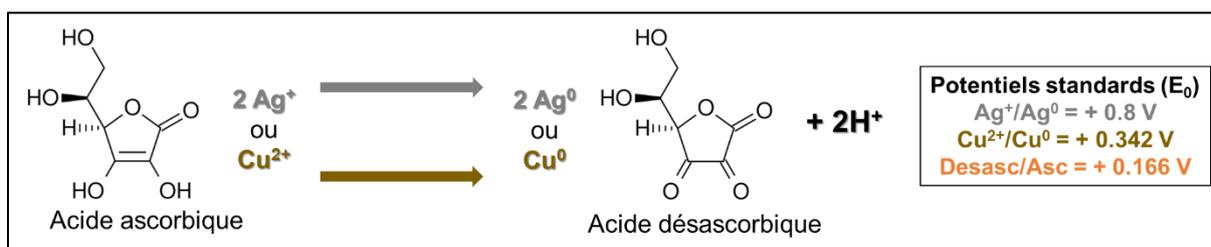


Fig. 3. Réaction de réduction des ions métalliques en particules métalliques par action de l'acide ascorbique.

Les PEM modifiées sont ensuite soigneusement déposées et séchées sur du papier absorbant doux et recouvertes d'une boîte en verre pour les protéger. Les volumes des solutions préparées ou les dimensions des récipients ont été adaptés en fonction de la forme, de la taille ou du nombre d'échantillons membranaires nécessaires aux différentes expériences, mais les concentrations sont restées strictement les mêmes.

II.5. Mesures d'angles de contact

La mesure des angles de contact est une méthode largement utilisée pour évaluer la nature hydrophile ou hydrophobe d'une surface. L'angle de contact est défini comme l'angle auquel une interface liquide/vapeur rencontre une surface solide. Si le liquide est de l'eau, un petit angle de contact indique une forte interaction entre l'eau et le solide, c'est-à-dire que la surface est hydrophile, tandis qu'un angle de contact plus grand suggère une interaction faible, ce qui dénote une surface hydrophobe. Dans le contexte des PEM, la modification de leurs propriétés de surface peut avoir des implications significatives pour leurs performances dans diverses applications telles que les piles à combustible et les systèmes d'électrolyse de l'eau.

En comparant les angles de contact en milieu aqueux des PEM non modifiées et modifiées par la polydopamine et les particules métalliques, nous pourrions corrélérer changements d'hydrophilie ou d'hydrophobicité aux modifications. Cela nous aidera à comprendre l'effet des modifications sur les performances des PEM, ouvrant la voie à leur utilisation optimisée en MFC.

Au total, vingt-sept carrés de 1 cm x 1 cm de PEM ont été coupés et testés, divisés en neuf groupes distincts. Quatre de ces groupes de PEM ont été modifiés de la manière suivante, d'abord en déposant de la polydopamine, puis en déposant de l'argent ou du cuivre à deux concentrations différentes ($0,35 \text{ g L}^{-1}$ et $0,035 \text{ g L}^{-1}$). Un cinquième groupe comprend des PEM modifiées uniquement par dépôt de polydopamine. Enfin, le sixième groupe est constitué de PEM non modifiées, servant de témoins. Pour chaque groupe, trois échantillons ont été analysés pour assurer la fiabilité et la reproductibilité des résultats.

Les mesures d'angles de contact noté θ entre la surface des PEM et l'eau ou un tampon citrate ($C = 0,1 \text{ M}$; $\text{pH} = 5,0$) ont été réalisées à température ambiante ($23 \text{ }^\circ\text{C}$) à l'aide d'un appareil DSA 25 commercialisé par Krüss (Hambourg - Allemagne), en utilisant la technique de la goutte posée. La taille de la gouttelette a été contrôlée à 3 mL et le temps de photographie de la goutte était de 500 ms. La moyenne de chaque résultat a été calculée à partir d'au moins cinq mesures. Les incertitudes de mesure ont donné une valeur de 2° .

II.6. Observation par microscopie électronique à balayage

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une technique non destructive puissante largement utilisée pour obtenir des informations, morphologiques, compositionnelles et cristallines d'échantillons à l'échelle micro et nanométrique. Dans cette étude, le MEB nous a servi à visualiser les morphologies de surface et à déterminer la distribution des dépôts de polydopamine et des particules métalliques formées sur la PEM.

Le principe de fonctionnement du MEB consiste à scanner l'échantillon avec un faisceau focalisé d'électrons de haute énergie. Ces électrons interagissent avec les atomes de l'échantillon et produisent divers signaux qui fournissent des informations sur la topographie de surface et la composition de l'échantillon. Notamment, les électrons secondaires générés jouent un rôle déterminant dans la création d'images à haute résolution, offrant des détails précis sur la texture et la forme de la surface de la PEM.

Pour notre étude, les images MEB pourront apporter des informations sur la façon dont la couche de polydopamine adhère à la PEM, et comment les dépôts métalliques ultérieurs se distribuent sur cette couche. Ces observations sont essentielles pour corroborer l'efficacité des modifications et relier ces changements physiques aux variations observées des propriétés fonctionnelles des PEM. Les observations MEB ont été réalisées sur des échantillons de dimension 1 cm x 1 cm et modifiées de quatre manières différentes : deux avec des dépôts d'argent à des concentrations de 0,35 g L⁻¹ et 0,035 g L⁻¹, et deux avec des dépôts de cuivre aux mêmes concentrations. Avant les dépôts métalliques, toutes les PEM ont été modifiées par la polydopamine. Ces dernières ont également été étudiées par MEB ainsi que la PEM non modifiée, pour servir d'échantillons témoins.

À la fin des expériences réalisées en MFC, les PEM ont été récupérées et observées au MEB pour observer l'éventuelle présence de biofilm. Ces observations nous permettront de vérifier l'efficacité des traitements envisagés contre l'encrassement biologique, une considération essentielle pour maintenir l'efficacité des MFC dans les applications pratiques. Ces observations ont nécessité une préparation particulière réalisée en trois étapes. Tout d'abord, toutes les activités enzymatiques de *T. harzianum* ont été arrêtées avec une solution de tampon de cacodylate de sodium (0,1 M, pH = 7,4) contenant 2% en poids de glutaraldéhyde et 2% en poids de paraformaldéhyde. Ensuite, la fixation des composés lipidiques présents dans *T. harzianum* a été effectuée dans un tampon de cacodylate de sodium (0,1 M, pH = 7,0) contenant 1% en poids de tétraoxyde d'osmium pendant 2 heures. Enfin, la déshydratation progressive des échantillons a été réalisée par des mélanges eau-éthanol avec un pourcentage en volume croissant d'éthanol. Un dernier traitement à l'hexaméthylsilazane a permis une déshydratation ménagée finale.

Les observations des PEM modifiées et non modifiées ont été réalisées avec un MEB environnemental SEM EVO40EP commercialisé par Zeiss. Les échantillons ont été préalablement recouverts d'une couche de carbone de 5 nm pour assurer la conductivité de la surface. Les observations des PEM après leur utilisation en biopile ont été faites avec un MEB SEM EV0LS10 de Zeiss après un recouvrement d'une couche de platine de 12 nm.

II.7. Observations par microscopie à force atomique

La microscopie à force atomique (AFM) est un outil essentiel dans le domaine de la science et de la technologie à l'échelle nanométrique, et est largement utilisée pour l'imagerie et l'étude des surfaces. Le principe de fonctionnement de l'AFM est basé sur l'interaction entre une sonde pointue (généralement un levier microfabriqué avec une pointe à son extrémité) et la surface de l'échantillon. Cette interaction, qu'elle soit de forces attractives ou répulsives, provoque la déviation du levier lorsqu'il est balayé à travers la surface. Un faisceau laser, réfléchi par l'arrière du levier et dans une photodiode, enregistre ces déviations. Le signal collecté est ensuite converti en une image à l'aide de mécanismes de rétroaction.

Dans cette étude, l'utilisation de l'AFM en complément du MEB est indispensable pour caractériser les PEM. Bien que le MEB excelle dans la réalisation d'images à haute résolution de la morphologie et de la structure des surfaces, il n'a pas la capacité d'analyser efficacement les propriétés physiques de la surface à l'échelle nanométrique, ce qui est indispensable pour comprendre l'influence du dépôt de polydopamine et de métal sur les PEM.

La microscopie AFM quant à elle, permet la caractérisation approfondie des changements topographiques à l'échelle nanométrique et apporte des informations détaillées sur les propriétés physiques telles que la rugosité de surface, les propriétés mécaniques et les forces d'adhésion, qui ne sont pas accessibles par MEB. De plus, l'AFM fonctionne dans des conditions ambiantes ou liquides, ce qui permet d'étudier les PEM dans des environnements plus proches de leurs conditions d'application, et d'avoir des informations plus réalistes sur les changements de surface.

Par conséquent, l'association MEB / AFM permet une interprétation holistique des relations structure-propriété de surface, essentielles pour optimiser les performances de la PEM.

II.8. Analyses par spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie

La spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDX) est une méthode analytique utile pour identifier et quantifier des éléments chimiques sur un échantillon. Elle repose sur l'excitation des atomes par un faisceau d'électrons et l'émission de rayons X.

Cette technique a été utilisée sur les PEM modifiées par un dépôt de particules de cuivre ou d'argent. Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un canon d'EDX (Oxford Instrument X-Max).

II.9. Tests de conductivité protonique

Le dépôt de polydopamine, de cuivre ou d'argent sont susceptibles d'altérer la conductivité protonique de la PEM. C'est pourquoi, des tests de conductivité protoniques ont été effectués sur chaque PEM modifiée et sur une membrane témoin.

Les tests de conductivité protonique ont été réalisés en utilisant une cellule à double compartiment (appelée cellule de Ilkovič) similaire à celle utilisée pour les expériences de MFC, afin de conserver des paramètres importants tels que le flux hydrodynamique et la couche de diffusion. La PEM testée a été placée entre les deux compartiments. Dans le compartiment amont, nous avons introduit de l'acide chlorhydrique à différentes concentrations (pH 1, pH 2, pH 5), et de l'eau ajustée à pH 7 par de l'hydroxyde sodium 0,1M, dans le compartiment aval. Nous avons également effectué une expérience supplémentaire en présence de tampon citrate, à pH 5 dans le compartiment amont et à pH 7 dans compartiment aval. La cellule a été placée dans un bain thermostaté à une température de $25\text{ °C} \pm 1$ et agitée à l'aide d'un agitateur magnétique multi-stations à 300 tr/min, vitesse suffisante pour limiter les couches limites de diffusion. L'évolution du pH dans le compartiment aval a été mesurée à l'aide d'une électrode de calomel saturée, connectée à un pH -mètre (Metrohm 632) préalablement calibré, et les mesures effectuées toutes les minutes pendant deux heures. Les valeurs de pH ont été enregistrées et converties en concentration d'ions H^+ (C_{H^+}). Ainsi, pour chaque type de modification et chaque pH , nous avons tracé une courbe $C_{H^+} = f(t)$ Les expériences ont été répétées deux fois et les résultats ont été moyennés.

Les courbes $C_{H^+} = f(t)$ obtenues sont divisibles en deux domaines. Le premier correspond à l'état transitoire, où des protons commencent à traverser la PEM et au cours duquel des chemins préférentiels de diffusion sont établis. Le second correspond à l'établissement d'un régime quasi-stationnaire, où le flux molaire des protons $J_{C(H^+)}$ atteint une valeur stable au cours du temps. Ce régime se maintient jusqu'à ce que le pH s'équilibre de part de d'autre de la PEM

et que le flux molaire diminue. On observe parfois une rupture de pente. Si la pente augmente, cela signifie que le revêtement appliqué a subi une altération et si la pente diminue, cela signifie un colmatage de la PEM.

La pente en $\text{mmol cm}^{-3} \text{ s}^{-1}$ correspond à la variation de la concentration en protons en fonction du temps :

$$Pente = \frac{\Delta C_{H^+}}{\Delta t} \quad (1)$$

où ΔC_{H^+} est la variation infinitésimale de concentration en mmol.cm^{-3} et Δt est la variation infinitésimale du temps en s.

La pente permet de calculer le flux molaire des protons à une concentration donnée $J_{C(H^+)}$ en $\text{mmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$:

$$J_{C(H^+)} = Pente \times \frac{V}{A} = \frac{\Delta C_{H^+}}{\Delta t} \times \frac{V}{A} \quad (2)$$

où V est le volume de la cellule en cm^3 et A l'aire de la PEM en cm^2 .

À partir du flux molaire $J_{C(H^+)}$, nous pouvons calculer le coefficient de perméabilité intégral (ou usuel) de la PEM aux protons à une concentration donnée $P_{C(H^+)}$ en $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$:

$$P_{C(H^+)} = \frac{J_{C(H^+)} \times e}{C_{H^+}} \quad (3)$$

où e est l'épaisseur de la PEM en cm.

Le graphe $\log(J_{C(H^+)}) = f(\log(C_{H^+}))$ est tracé et sa pente P' permet d'accéder au facteur d'hétérogénéité z , grandeur sans unité :

$$z = 2 - P' \quad (4)$$

Le facteur d'hétérogénéité z permet d'accéder à la perméabilité locale de la PEM aux protons $P_{C(H^+)}^*$ à une concentration donnée :

$$P_{C(H^+)}^* = P_{C(H^+)} \times (2 - z) \quad (5)$$

Enfin, le coefficient de diffusion $D_{C(H^+)}$, respectivement de $3,05 \times 10^{-5}$ et de $3,44 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ pour des concentrations en protons respectives de 1M et de 0.1M [6], permet d'accéder au paramètre d'exclusion de Donnan :

$$Exclusion\ de\ Donnan = \frac{P_{C(H^+)}^*}{D_{C(H^+)}} \quad (6)$$

Ce rapport prend en compte deux phénomènes, à savoir le facteur de tortuosité et d'obstruction, lié à la structure de la PEM, aux modifications appliquées et à la taille des ions, mais aussi du coefficient de diffusion des protons $D_{C(H^+)}$, qui diminue avec la concentration en protons.

II.10. Tests antimicrobiens sur les PEM

Les expériences réalisées dans ce chapitre ont pour but d'optimiser les performances de la MFC. Les PEM, utilisées, servent de milieux d'échange de protons et également de barrière pour empêcher le shunt d'électrons. Cependant, elles peuvent être sensibles à l'encrassement biologique, ce qui réduit leur efficacité et leur longévité. En modifiant leur surface par la polydopamine et des particules métalliques (argent ou cuivre), nous visons à améliorer leurs propriétés antimicrobiennes, et ainsi atténuer le problème d'encrassement biologique. En cas de succès, cela pourrait améliorer les performances de MFC, avec une puissance de sortie plus élevée et une durée de vie opérationnelle plus longue. En outre, cette approche pourrait également offrir des informations sur la modification d'autres types de PEM utilisées dans les systèmes bioélectrochimiques, ouvrant la voie à des applications plus larges dans le secteur des énergies renouvelables.

Dans cette étude, nous avons testé les propriétés antimicrobiennes des PEM modifiées par la polydopamine et par la polydopamine associée à de l'argent ou du cuivre à deux concentrations différentes ($0,35 \text{ g L}^{-1}$ et $0,035 \text{ g L}^{-1}$). La PEM non modifiée, a également été testée comme témoin. Les expériences ont été réalisées en triplicata. Les PEM ont préalablement été stérilisées de chaque côté, sous rayonnement UV dans un poste de sécurité microbiologique (PSM) pendant 15 minutes.

Nous avons réalisé les expériences de la manière suivante. Trois plaques de gélose PDA ont été inoculées en cinq points avec *T. harzianum* et laisser pousser à température ambiante. Après 7 jours, 10 ml de tampon de citrate ($C = 0,1 \text{ M}$, $\text{pH} = 5$) stérile sont ajoutés dans chacune des boîtes. Les champignons ont ensuite été détachés et mis en suspension à l'aide d'un râteau. Les trois suspensions ont été récupérées dans un flacon Falcon de 50 ml puis vigoureusement agitées sous vortex. 0,5 ml de suspension ont ensuite été déposés et étalés sur des boîtes de géloses PDA (10^6 cellules par mL), en conditions stériles (flamme). Les échantillons de PEM ont été déposés au centre des axes préalablement dessinés sur les boîtes. Ces PEM ont également été humidifiées avec du tampon citrate stérile avant de les déposer, pour éviter tout effet de capillarité qui affecterait la physionomie microbienne du tapis et pour empêcher le repliement de la PEM quand elle est humidifiée que d'un seul côté. Les plaques ont été mises dans un incubateur à 25°C et les diamètres d'inhibition ont été régulièrement mesurés. Des photographies ont été prises pour avoir une appréciation visuelle de l'évolution. Cela nous a permis d'avoir un aperçu des effets antimicrobiens des modifications de la PEM et de l'effet potentiel sur notre MFC

II.11. Configuration MFC

Les expériences en configuration biopile ont été réalisées dans les mêmes conditions que celles décrites pour la bioremédiation du bleu de méthylène (Chapitre 1). Seule la PEM NafionTM 117 qui sépare les deux compartiments diffère car elle a été préalablement modifiée par la polydopamine associé au cuivre ou à l'argent. Une expérience avec la PEM non modifiée a également été réalisée pour comparaison.

Pour rappel, nous avons utilisé une cellule à double compartiment de volume de 100 mL dont les deux compartiments ont été séparés par une PEM Nafion™ 117 modifiée ou vierge. Chaque composant de la MFC a été stérilisé par autoclavage avant d'être assemblé sous PSM. Des électrodes, composées de tissu de carbone (Dacarb Company – France - de noms commerciaux KIP et CSV), ont été intégrées dans la MFC. Des collecteurs d'électrons, constitués de tiges de platine ont servi à relier les électrodes à un circuit électrique *via* des pinces crocodiles. Le circuit électrique était composé d'un multimètre et d'un boîtier décade de résistance connectés en parallèle. L'anode en tissu de carbone (3 x 3 cm), a été préalablement incubée dans 20 mL d'une suspension de *T. harzianum*. Pour éviter le phénomène de sorption de colorant par l'anode au cours de l'expérience, l'anode en tissu de carbone a été préalablement saturée de MB (500 mg L⁻¹).

Pour permettre le fonctionnement de la MFC, 90 mL d'électrolytes stérilisés ont été ajoutés dans chaque compartiment. Une solution de MB ($C_0 = 100 \text{ mg L}^{-1}$) et de dextrose (10 mg L⁻¹ dans un tampon de citrate 0,1M à pH = 5,0) a constitué la solution de l'anolyte dans le compartiment amont. Le compartiment cathodique a été rempli par une solution de ferricyanure de potassium (PF) à 31,9 g L⁻¹ dans un tampon citrate 0,1 M, l'ensemble étant sous barbotage d'air filtré (filtre 0,2 µm). Les expériences ont été menées à température ambiante (22 ± 2 °C) sous agitation magnétique à 130 tr/min pendant une durée de trente jours. Tous les sept jours, les compartiments ont été vidés et remplis à nouveau d'anolyte et de catholyte stérilisés pour effectuer des cycles successifs.

Les échantillons d'anolyte prélevés, de volume de 0,25 ml, ont été dilués dans l'eau et conservés au congélateur à -5 °C pour inhiber la croissance de *T. harzianum* et la biodégradation subséquente du MB. À la fin de chaque expérience, les échantillons décongelés, ont été analysés par spectrophotométrie UV-Visible. La mesure à la longueur d'onde de 664 nm, qui est la longueur d'onde d'absorption maximale du MB, a permis la détermination des concentrations de MB (C_0 et C_t exprimée en mg L⁻¹). Le taux d'élimination du MB f (%) en fonction du temps a ensuite été calculé :

$$f = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100 \quad (7)$$

La masse q_e (ou q_t) de MB éliminée à l'équilibre (ou temps t) par g de tissu de carbone (mg g⁻¹) a été calculée comme suit :

$$q_e = \frac{(C_0 - C_{eq}) \times V}{m} \quad (8)$$

où V est le volume de solution (L) et m est la masse de tissu de carbone (g).

Dans cette étude, la résistance externe a été constamment maintenue en circuit fermé avec une résistance externe optimale déterminée d'environ 200 ohms. Les mesures de potentiel entre les électrodes E (V) ont été mesurées deux fois par jour en circuit ouvert en diminuant peu à peu la résistance à l'aide d'une boîte de décade.

Les valeurs d'intensité de courant correspondantes I (A) ont été calculées en utilisant la loi d'Ohm, ce qui a permis de déterminer les valeurs de puissance P (W) et la résistance optimale R . Ces valeurs, ainsi que la densité de puissance maximale sont caractéristiques des performances de la MFC.

III. Résultats et discussions

III.1. Observations macroscopiques des revêtements

Pour chaque expérience, 6 PEM Nafion 117 ont été étudiées :

- Une PEM non modifiée, appelée « Témoin » ;
- Une PEM avec revêtement en polydopamine, nommée « Polydopamine » ;
- Une PEM avec revêtement en polydopamine suivi d'un dépôt d'ions argent par une solution d'AgNO₃ à 0,35 g L⁻¹ puis réduction, nommée « Ag 0.35 » ;
- Une PEM avec revêtement en polydopamine suivi d'un dépôt d'ions argent par une solution d'AgNO₃ à 0,035 g L⁻¹ puis réduction, nommée « Ag 0.035 » ;
- Une PEM avec revêtement en polydopamine suivi d'un dépôt d'ions cuivre par une solution CuSO₄ à 0,35 g L⁻¹ puis réduction, nommée « Cu 0.35 » ;
- Une PEM avec revêtement en polydopamine suivi d'un dépôt d'ions cuivre par une solution CuSO₄ à 0,035 g L⁻¹ puis réduction, nommée « Cu 0.035 ».

La Fig. 4 donne un aperçu des PEM modifiées ce qui permet d'apprécier la qualité des revêtements. Une coloration brune apparaît sur certaines PEM et plus particulièrement en présence uniquement de polydopamine. Les membranes modifiées par des particules d'argent apparaissent logiquement argentées.

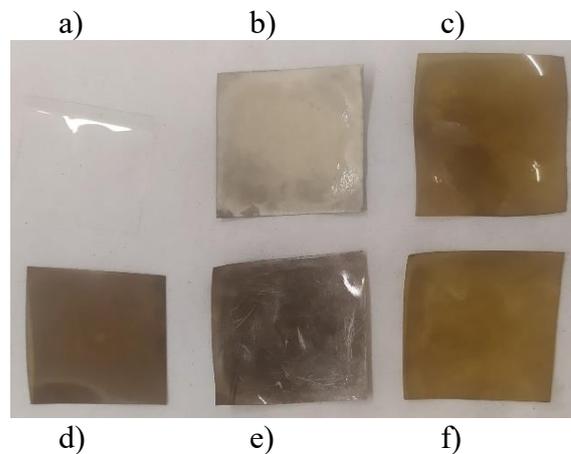


Fig. 4. Photographies des PEM NafionTM 117 modifiées : a) PEM sans modification « Témoin » ; b) PEM « Ag 0.35 » ; c) PEM « Cu 0.35 » ; d) PEM « Polydopamine » ; e) PEM « Ag 0.035 » ; f) PEM « Cu 0.035 »

III.2. Observations des revêtements par MEB

Des images MEB des échantillons, obtenues avec un grandissement de 1000 sont présentées Fig. 5.

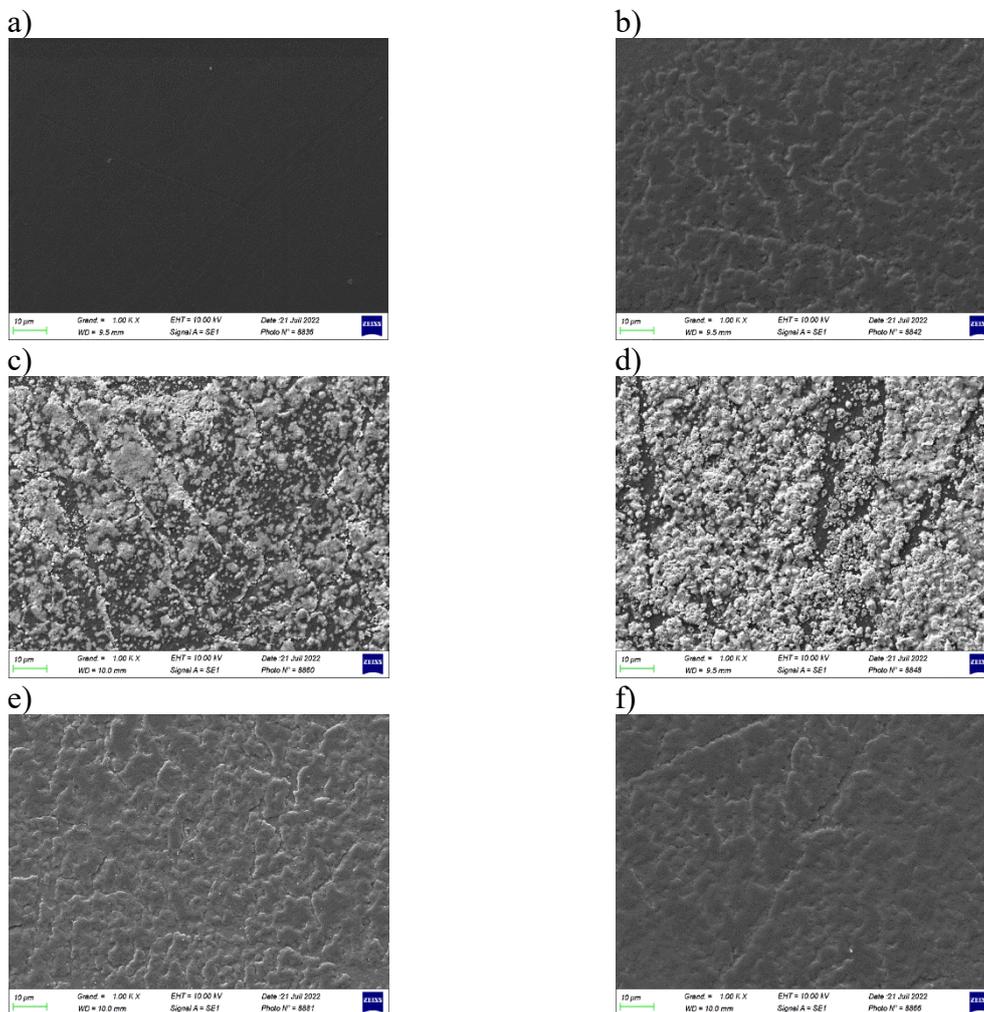


Fig. 5. Images MEB des PEM Nafion™ 117 modifiées : a) PEM sans modification « Témoin » ; b) PEM « Polydopamine » c) PEM « Ag 0.035 » ; d) PEM « Ag 0.35 » ; e) PEM « Cu 0.035 » ; f) PEM « Cu 0.35 » (grandissement x 1000)

La PEM Nafion™ « Témoin » (Fig. 5a) montre une surface uniforme, avec quelques imperfections dues à son usinage et au traitement avant l'observation.

La PEM « Polydopamine » présente une surface écailleuse, due à un excès de polydopamine déposée. Une cartographie AFM sera réalisée pour vérifier si la surface est entièrement recouverte [7].

La PEM « Ag 0.035 » montre une surface recouverte partiellement de grains clairs de taille comprise en 1,2 et 1,3 µm. Leur répartition à la surface n'est pas très homogène. La couverture est plus complète sur la PEM « Ag 0.35 », du fait de la quantité plus importante d'argent déposée. Quelques rayures sont visibles certainement dues à la manipulation des

échantillons. Les analyses EDX ont confirmé la présence d'argent sur les surfaces de ces PEM (Fig 6a et 6b).

Les PEM « Cu 0.035 » et « Cu 0.35 » ne montrent pas la présence de particules de cuivre et ont une morphologie proche des PEM revêtues uniquement de polydopamine (Fig. 5e et 5f). Les analyses EDX ont cependant confirmé la présence de cuivre sur les surfaces de ces PEM (Fig 6c et 6d).

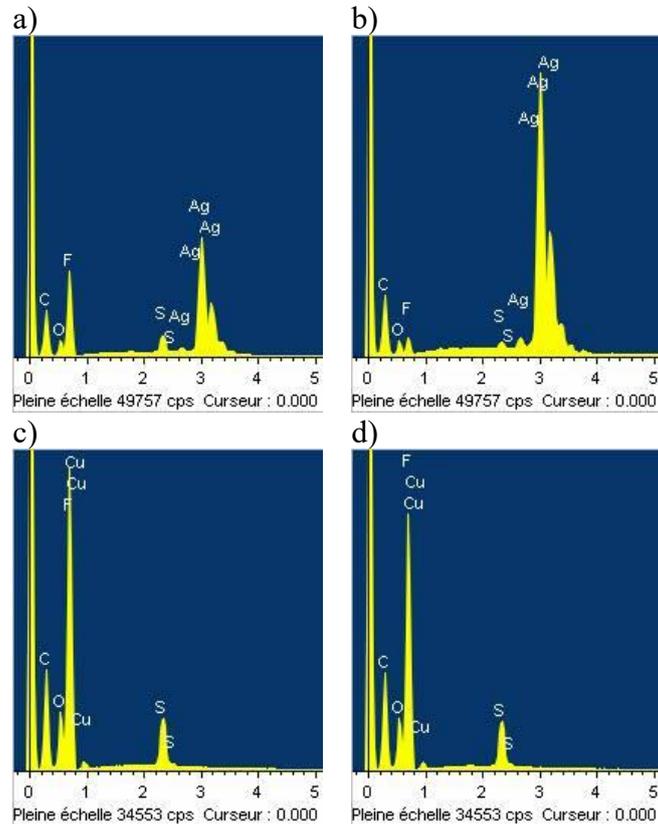


Fig. 6. Spectres EDX des PEM NafionTM 117 modifiées avec des particules métalliques : a) PEM « Ag 0.035 » ; b) PEM « Ag 0.35 » ; c) PEM « Cu 0.035 » ; d) PEM « Cu 0.35 ».

III.3. Observations des revêtements par AFM

L'AFM qui permet de faire des cartographies de hauteur et des mesures de module d'adhésion a été utilisée ici pour améliorer les observations des dépôts et en particulier vérifier la présence de particules de cuivre. Des cartographies AFM des différentes membranes sur une échelle d'observation de 50 μm x 50 μm sont visibles Fig. 7.

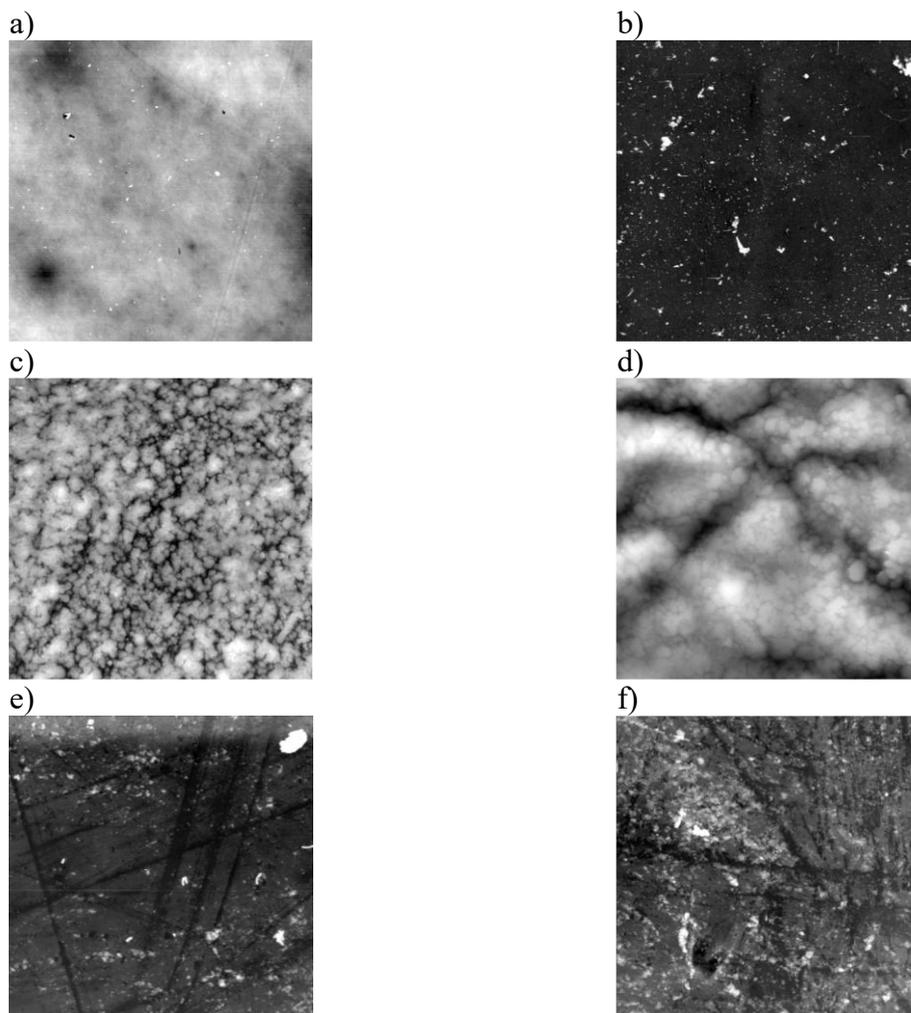


Fig. 7. Cartographie AFM de hauteur des PEM NafionTM 117 modifiées, avec une échelle de 50 μ m x 50 μ m : a) PEM sans modification « Témoin » ; b) PEM « Polydopamine » c) PEM « Ag 0.035 » ; d) PEM « Ag 0.35 » ; e) PEM « Cu 0.0335 » ; f) PEM « Cu 0.35 ».

Les hauteurs observées sur la PEM non modifiée sont assez uniformes et ponctuées par des irrégularités dues à l'usinage et au conditionnement. La PEM « Polydopamine » présente également une surface dont les hauteurs sont homogènes. Les écailles observées en MEB ne sont pas présentes. La surface est relativement lisse, en dépit des poussières fines représentées par les points blancs.

La PEM « Ag 0.035 » montre une surface en grande partie recouverte par les particules d'argent, avec une répartition homogène sur la polydopamine qui les supporte, et un aspect pommelé. La PEM « Ag 0.35 » montre une couverture complète et dense des particules d'argent avec du relief au sein même de la couche qu'ils constituent. Comme les images MEB, les cartographies AFM prouvent le dépôt effectif des particules d'argent sur les PEM.

La PEM « Cu 0.035 » montre une couverture fine sur la surface de polydopamine, avec la présence de rayures certainement apportées lors de la manipulation. La PEM « Cu 0.35 » présente une couverture plus dense et complète, avec des particules de cuivre visibles. Cette observation prouve la présence des particules de cuivre contrairement aux images MEB.

La rugosité d'un échantillon se réfère au supplément de surface apportée par le relief de l'échantillon par rapport à une surface parfaitement plane. En AFM, elle dépend beaucoup de la fenêtre d'observation utilisée pour la déterminer, car la resserrer ou l'étendre peut respectivement exclure ou inclure des éléments qui la feraient augmenter ou diminuer. Ici, la fenêtre de 50 μm x 50 μm permet d'apprécier les rugosités sur les images AFM présentées Fig. 7. Les valeurs de rugosités mesurées sur les différentes PEM sont rassemblées dans le Tab. 1.

Tab. 1. Rugosités moyennes déduites des observations AFM des PEM Nafion™ 117 modifiées. Fenêtre d'observation de 50 μm x 50 μm .

PEM	Rugosité moyenne (nm)
Témoin	5 +/- 1
Dopamine	46 +/- 3
Argent 0.035	90 +/- 2
Argent 0.35	438 +/-21
Cuivre 0.035	26 +/- 0
Cuivre 0.35	21 +/- 1

Les membranes non modifiées ont la rugosité la plus faible, avec 5,2 nm comme rapporté dans le Tab. 1 et observé Fig. 7. Cette valeur est surtout dictée par les conditions de fabrication de la Nafion™ 117 ainsi que son conditionnement avant l'expérience. Il convient de noter que les PEM testées ici sont sèches et que la rugosité peut changer une fois hydratées, du fait du gonflement.

L'ajout de polydopamine augmente la rugosité de presque dix fois la valeur initiale, avec 46 nm. La structure écaillée déjà observée par MEB explique cette augmentation.

Le recouvrement par l'argent présente la rugosité de loin la plus importante, en particulier pour « Ag 0.35 », avec une valeur de 438 nm, et une valeur moindre de 91 nm pour « Ag 0.035 ». Celle-ci est due à la forte taille des particules d'argent (environ 1,2 μm). Les particules d'argent imposent par leur présence une forte rugosité à l'échantillon, sans forcément se loger entre les écailles ou dans les craquelures de la polydopamine. Cette hypothèse est appuyée par les observations MEB préalablement effectuées, montrant des particules de forte taille, qui formant un relief marqué caractéristique.

Le recouvrement par le cuivre présente une rugosité relativement peu importante, à peine plus que l'échantillon témoin, avec 27 nm et 21 nm respectivement pour « Cu 0.035 » et « Cu 0.35 ». Nous observons ici une rugosité moins importante que celle de l'échantillon « Polydopamine ». L'hypothèse émise ici est que les particules de cuivre se répartissent préférentiellement entre les écailles ou dans les craquelures du revêtement en polydopamine, lissant ainsi les échantillons et réduisant de ce fait la rugosité. Cet effet est plus prononcé avec « Cu 0.35 », où on observe également une diminution de l'adhésion par rapport à « Cu 0.035 ».

Les valeurs données dans le Tab. 2, de module DMT, d'adhésion et de dissipation déduites des observations, permettent d'obtenir une description plus quantitative des échantillons. La Fig. 8 représente les valeurs sous forme graphique.

Le module DMT fait référence au modèle développé indépendamment par B.V. Derjaguin, V.M. Muller et Y.P. Toporov (DMT), qui est un modèle utilisé pour décrire les interactions entre deux surfaces solides en contact [8]. Ce modèle est souvent utilisé en AFM pour analyser les courbes de force et pour déterminer les propriétés mécaniques des échantillons, telles que la dureté et le module d'élasticité.

L'adhérence est la force d'attraction entre la pointe de l'AFM et l'échantillon lorsqu'ils sont séparés. L'adhérence est généralement causée par des forces van der Waals, capillaires, magnétiques, et peut être mesurées par la déflexion négative de la pointe de l'AFM lorsque celle-ci est retirée de l'échantillon.

La dissipation dans l'AFM est une mesure de l'énergie perdue au cours d'un cycle d'oscillation de la pointe de l'AFM. Elle est généralement due à la viscosité et à l'élasticité de l'échantillon. Dans le mode tapping de l'AFM, la dissipation peut être utilisée pour obtenir des informations supplémentaires sur les propriétés viscoélastiques de l'échantillon. Une valeur de dissipation élevée indique que l'échantillon est plus visqueux, tandis qu'une faible dissipation indique qu'il est plus élastique.

Tab. 2. Module DMT, d'adhésion et de dissipation déduites des observations AFM des PEM Nafion™ 117 modifiées.

Echantillon	Module DMT (GPa)	Adhésion (nPa)	Dissipation (kPa)
Témoin	1.5	176	13
Polydopamine	3.3	70	30
Cu 0.035 (Zone 1)	3.7	205	26
Cu 0.035 (Zone 2)	4.0	140	23
Cu 0.35 (Zone 1)	3.8	110	25
Cu 0.35 (Zone 2)	4.1	80	19
Ag 0.035	3.6	72	30
Ag 0.35	4.0	80	20

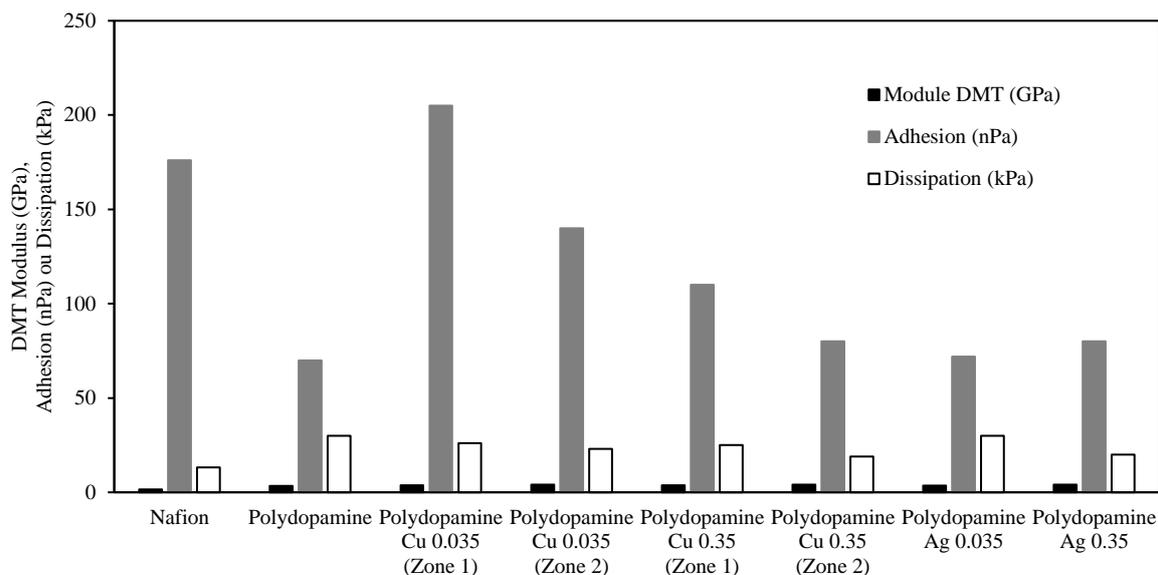


Fig. 8. Histogramme des Module DMT, d'adhésion et de dissipation déduites des observations AFM des PEM Nafion™ 117 modifiées.

La Fig. 8 met en évidence un phénomène d'adhésion important entre la pointe (Si_3N_4 recouverte de SiO_2) et les surfaces recouvertes de cuivre, mais aussi la présence de deux domaines distincts (zone 1 et zone 2), avec 205 et 140 nPa pour les deux zones de « Cu 0.035 » et 110 et 80 nPa pour les deux zones de « Cu 0.35 ». Ces valeurs augmentent fortement par rapport à la surface « polydopamine » qui a une adhésion mesurée de 70 nPa, mais sont pour la plupart plus faibles (sauf Cu 0,035 zone 1) que celle du « Témoin » Nafion™, qui est de 176 nPa. L'adhérence fait référence à la force d'attraction exercée par la pointe vis-à-vis de l'échantillon mais aussi par un simple phénomène d'affinité spécifique avec la pointe. La pointe étant faite de nitrure de silicium recouvert d'oxyde de silicium SiO_2 , il pourrait y avoir une affinité entre SiO_2 , et certains oxydes métalliques (dans notre cas le cuivre). Cela pourrait expliquer l'adhérence particulière du cuivre par rapport à l'argent. La présence de deux zones distinctes d'adhérence pour le cuivre pourrait s'expliquer par un recouvrement non homogène de la surface mais aussi par la présence d'oxyde de cuivre. SiO_2 est donneur au sens de Lewis car il possède 4 doublets non liants. Le cuivre oxydé a une case quantique vide (oxyde de cuivre Cu_2O , de l'ion cuivre Cu^+) ou deux (oxyde cuivrique ou sesquioxyde de cuivre Cu_2O_3 , de l'ion cuivre Cu^{2+}). Le cuivre oxydé est donc un accepteur au sens Lewis. Les atomes de cuivre peuvent certainement s'orienter différemment à la surface de la PEM, certains présentant leurs cases vides à la surface tandis que d'autres pas, ce qui pourrait également expliquer les résultats. Les valeurs d'adhésion obtenues avec « Ag 0.035 » et « Ag 0.35 » sont respectivement de 72 et de 80 nPa et montrent un seul domaine, ce qui ne semble pas indiquer la présence d'un oxyde d'argent Ag_2O .

L'adhésion est caractéristique de l'affinité entre la surface et la pointe en oxyde de silicium. Nos résultats nous ont ainsi permis de détecter la présence d'oxyde sur la surface de certaines PEM.

Cependant, nous aurions pu chercher à connaître l'adhésion potentielle de *T. harzianum* sur chacune des surfaces de PEM. Cela nous aurait permis d'anticiper lesquelles avaient le plus de risque de *biofouling*. Ainsi, pour se rapprocher au plus près du phénomène d'adhésion de *T. harzianum* à la surface des PEM, il aurait fallu immobiliser le champignon sur la pointe. Bowen *et al.* ont ainsi placé une cellule de *S. cerevisiae* sur l'extrémité d'un levier d'AFM, à la place de la pointe [9]. Ainsi, ils ont pu connaître l'adhérence de *S. cerevisiae* sur une surface de mica hydrophile, de mica avec un revêtement hydrophobe et de mica recouvert d'albumine bovine.

La dissipation montre également deux domaines pour le cuivre, avec 26 et 23 kPa pour « Cu 0.035 » et 25 et 19 kPa pour « Cu 0.35 », bien que la différence entre les deux soit moins flagrante. Elle indique pour les deux concentrations en Cu une zone plus visqueuse que l'autre, probablement la zone oxydée, nommée zone 1, en opposition à la zone non oxydée, nommée zone 2. Les échantillons avec les particules d'argent montrent une disparité plus marquée des valeurs de dissipation, avec 20 kPa pour « Ag 0.35 » et 30 kPa pour « Ag 0.035 », cette dernière étant proche de la valeur obtenue pour la surface « Polydopamine » qui est de 30 kPa. Cela confirme le recouvrement homogène de « Ag 0.35 » observée sur les images de la surface (Fig. 7). La PEM « Témoin » a une dissipation de 13,2 kPa, montrant l'élasticité la plus importante. L'ajout de couches supplémentaires tend à augmenter la viscosité.

Le module DMT reflète la propension à la fracture d'une surface sur laquelle une force est appliquée, en d'autres termes à sa fragilité. L'échantillon témoin a un module de 1,51 GPa, augmentant à 3,35 GPa avec l'ajout de polydopamine. Pour le cuivre, la zone 1, supposée oxydée possède des modules DMT de 3,76 et 3,81 GPa pour respectivement « Cu 0.035 » et « Cu 0.35 », tandis que la zone 2 possède des modules DMT de 4 et 4,1 GPa pour respectivement « Cu 0.035 » et « Cu 0.35 ». Pour comparaison, les modules DMT obtenus avec l'argent sont de 3,6 et 4 avec « Ag 0.035 » et « Ag 0.35 », montrant une déformabilité un peu plus importante.

III.4. Angles de contact

Les résultats des mesures d'angles de contact sont résumés Fig. 9.

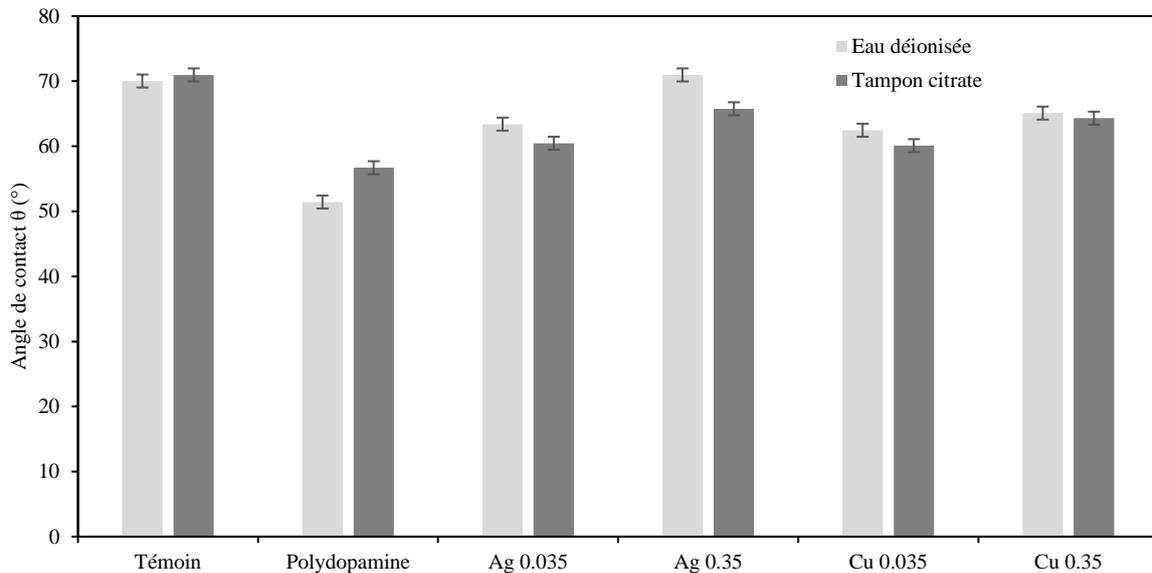


Fig. 9. Effet des modifications appliquées sur les PEM sur les angles de contact eau déionisée – PEM et tampon citrate – PEM.

Le dépôt de polydopamine provoque une diminution de l'angle de contact par rapport à la PEM NafionTM témoin quel que soit le milieu liquide testé. La PEM NafionTM possède des groupes fluorés hydrophobes qui expliquent ses plus forts angles de contact avec l'eau et le tampon. La polydopamine possède des groupes hydroxyles qui forment des liaisons hydrogène avec les molécules d'eau, provoquant une augmentation de l'hydrophilie de la surface.

L'ajout de particules métalliques à la polydopamine entraîne une augmentation des angles de contact, quelle que soit la nature de la particule (argent ou cuivre). Les métaux étant hydrophobes, ils écrantent les liaisons hydrogène entre la polydopamine et l'eau. De plus, d'après les observations AFM, la surface est rendue plus rugueuse ce qui empêche la propagation de la goutte sur la surface. Cet effet est plus important lorsque la concentration en particules métalliques utilisée pour modifier la PEM augmente.

L'ajout d'argent entraîne un angle de contact plus élevé que l'ajout de cuivre, quelle que soit la concentration ajoutée. La théorie de Pearson ou HSAB (hard and soft acids and bases) peut fournir un indice d'explication [10]. Une base dure est une base de Lewis dont le centre donneur d'électrons n'est pas très polarisable. Il s'agit généralement d'une petite molécule très chargée qui contient des atomes très électronégatifs et peu polarisables. L'oxygène dans la molécule d'eau est une base relativement dure. Un acide dur est un acide de Lewis dont le centre accepteur d'électrons n'est pas très polarisable. Un acide dur est donc généralement une molécule de petite taille et très chargée, formée d'atomes très électropositifs et peu polarisables. Le contraire d'un acide dur est un acide mou dont le centre accepteur est au contraire très polarisable. Le cuivre est un acide mou et l'argent est encore plus mou. Une base dure est plus susceptible de réagir avec un acide dur qu'avec un acide mou. Ainsi, l'oxygène a plus d'affinité avec le cuivre qu'avec l'argent. Ceci explique le plus grand angle de contact entre l'eau et

l'argent qu'avec le cuivre. De plus, la présence d'oxydes de cuivre pourrait expliquer cette différence d'angle de contact car l'oxygène de l'eau a des affinités avec l'oxygène des oxydes.

L'angle de contact mesuré entre le tampon de citrate et la PEM non modifiée augmente légèrement par rapport à l'eau, et beaucoup plus avec la PEM recouverte de polydopamine. D'autre part, l'effet inverse est observé quand des particules métalliques sont déposées. Les molécules de citrate sont plus grosses que les molécules d'eau, elles ont donc un contact moins facile avec la surface (qui est écaillée, comme l'ont montré les images MEB Fig. 6). Bien qu'elles contiennent trois groupes polaires, leur squelette carboné hydrophobe semble favoriser les interactions avec les particules métalliques hydrophobes. Park *et al.* ont obtenus des résultats similaires en étudiant les propriétés de surface de membranes, dont la composition n'est pas précisée, modifiées par des particules d'argent [11]. Leurs résultats montrent des angles de contact accrus en présence de particules d'argent et encore plus à mesure que leur concentration augmente.

En conclusion, le tampon citrate présent dans la MFC aura plus d'interactions avec la surface de la PEM Nafion™ quand celle-ci sera modifiée par la polydopamine et les particules métalliques.

III.5. Mesures de diffusion de protons

Dans le cadre des expériences de diffusion des protons à travers les PEM modifiées, plusieurs paramètres ont été étudiés, dont le flux molaire, le facteur d'hétérogénéité, la perméabilité intégrale, la perméabilité locale, le coefficient de diffusion et le facteur d'exclusion de Donnan.

Le flux molaire $J_{C(H+)}$ est une mesure du taux de transport des molécules à travers une surface unitaire. Lors de nos expériences, le flux molaire correspond à la quantité de protons traversant la PEM échangeuse par unité de temps et de surface. Il est généralement exprimé en mole par mètre carré par seconde ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Le facteur d'hétérogénéité z fait référence à la variabilité de la distribution des protons au sein de la PEM. Dans une PEM idéale, on s'attendrait à ce que cette distribution soit uniforme, mais dans la réalité, des variations peuvent survenir en raison de la structure de la PEM et des propriétés physicochimiques du soluté.

La perméabilité intégrale $P_{C(H+)}$ et locale $P_{C(H+)}^*$ sont deux concepts clés pour comprendre le comportement d'une PEM. La perméabilité intégrale se réfère à la capacité globale de la PEM à permettre le passage des protons, tandis que la perméabilité locale se réfère à la perméabilité à un point précis de la PEM. En raison de l'hétérogénéité de la PEM, la perméabilité locale peut varier significativement.

Le coefficient de diffusion $D_{C(H+)}$ est une mesure de la vitesse à laquelle les protons diffusent à travers la PEM. Il est influencé par de nombreux facteurs, y compris la température, la pression, le gradient de pH et les caractéristiques de la PEM (épaisseur, capacité d'échange...).

Enfin, le facteur d'exclusion de Donnan fait référence au rapport entre la perméabilité locale et le coefficient de diffusion. Ce paramètre est crucial pour comprendre comment la PEM sélectionne les ions pour le transport. Il prend en compte les interactions électrostatiques et les effets de taille qui peuvent affecter le passage des ions à travers la PEM.

Dans cette série d'expériences, l'impact de la modification de la PEM par la polydopamine, et par les particules d'argent et de cuivre sur la diffusion des protons a été étudié dans quatre systèmes se différenciant par leur gradient de pH. Les compartiments aval et amont des cellules de diffusion ont été respectivement placés à pH 1 et 7, 2 et 7, 5 et 7 (par HCl ou NaOH) et à pH 5 et 7 par un tampon citrate.

Le Tab. 3 regroupe les données obtenues lors des mesures de diffusion de protons à travers les PEM modifiées en comparaison avec la PEM sans modification. Les valeurs de $J_{C(H^+)}$, $P_{C(H^+)}$ et $P^*_{C(H^+)}$ de la PEM Nafion™ 117 sont en accord avec celles préalablement publiées et avec celles déjà obtenues par notre équipe sur des PEM synthétisées au laboratoire [12].

Tab. 3. Résultats des mesures de diffusion de protons à travers les PEM Nafion™ 117 non modifiées et modifiées. Les valeurs en italique ont été obtenues avec le tampon citrate.

	C_{H^+} en amont (mmol cm ⁻³)	$J_{C(H^+)}$ (mmol cm ⁻² s ⁻¹)	z	$P_{C(H^+)}$ (cm ² s ⁻¹)	$P^*_{C(H^+)}$ (cm ² s ⁻¹)	$D_{C(H^+)}$ (cm ² s ⁻¹)	$P^*_{C(H^+)}/D_{C(H^+)}$
Nafion™	<i>1E-05</i>	<i>3,3E-09</i>		<i>6,7E-06</i>			
	1E-05	7,9E-09		1,6E-05			
	1E-02	1,5E-07	0,77	3,0E-07	3,7E-07	3,0E-05	1,2E-02
	1E-01	2,5E-06	0,77	5,1E-07	6,2E-07	3,0E-05	2,0E-02
Poly-dopamine	<i>1E-05</i>	<i>4,2E-09</i>		<i>8,6E-06</i>			
	1E-05	1,8E-08		3,7E-05			
	1E-02	2,7E-07	0,82	5,6E-07	6,5E-07	3,0E-05	2,1E-02
	1E-01	4,0E-06	0,82	8,3E-07	9,8E-07	3,0E-05	3,2E-02
Ag 0.035	<i>1E-05</i>	<i>4,0E-09</i>		<i>8,3E-06</i>			
	1E-05	1,6E-08		3,3E-05			
	1E-02	2,4E-07	0,78	5,1E-07	6,2E-07	3,0E-05	2,0E-02
	1E-01	4,0E-06	0,78	8,4E-07	1,0E-06	3,0E-05	3,4E-02
Cu 0.035	<i>1E-05</i>	<i>3,7E-09</i>		<i>7,8E-06</i>			
	1E-05	1,2E-08		2,4E-05			
	1E-02	2,3E-07	0,77	4,7E-07	5,8E-07	3,0E-05	1,9E-02
	1E-01	3,9E-06	0,77	8,1E-07	10,0E-07	3,0E-05	3,2E-02
Ag 0.35	<i>1E-05</i>	<i>3,8E-09</i>		<i>8,0E-06</i>			
	1E-05	8,4E-09		1,8E-05			
	1E-02	2,1E-07	0,79	4,3E-07	5,3E-07	3,0E-05	1,7E-02
	1E-01	3,4E-06	0,79	7,1E-07	8,5E-07	3,0E-05	2,8E-01
Cu 0.35	<i>1E-05</i>	<i>3,5E-09</i>		<i>7,3E-06</i>			
	1E-05	7,7E-09		1,6E-05			
	1E-02	2,3E-07	0,97	4,8E-07	4,9E-07	3,0E-05	1,6E-02
	1E-01	2,5E-06	0,97	5,1E-07	5,3E-07	3,0E-05	1,7E-02

Suivant la modification apportée à la surface de la PEM, des différences significatives sont observées entre les valeurs de $J_{C(H+)}$, $P_{C(H+)}$ et $P^*_{C(H+)}$. La modification par la polydopamine, augmente significativement les valeurs de $J_{C(H+)}$, $P_{C(H+)}$ et $P^*_{C(H+)}$. La polydopamine, en raison de sa forte adhésivité à la surface de la PEM, pourrait favoriser l'affinité vis-à-vis des protons. En effet, la polydopamine apporte des groupements hydroxyles en surface, qui peuvent former des liaisons hydrogène avec les protons. Ces protons peuvent ensuite diffuser au sein de la PEM attirés par les groupes sulfonates de la PEM.

Par contre, l'introduction de particules d'argent ou de cuivre à la surface des PEM NafionTM entraîne une diminution de $J_{C(H+)}$, $P_{C(H+)}$ et $P^*_{C(H+)}$. Les particules métalliques pourraient gêner l'adhérence des protons à la PEM, limitant ainsi leur transport, notamment en empêchant les groupements hydroxyles du revêtement en polydopamine d'interagir favorablement avec les protons par écrantage. Le cuivre présente un impact plus significatif que l'argent, probablement en raison de la plus petite taille de ses particules. Il pourrait ainsi obstruer les canaux ioniques en formant une couche plus fine mais plus dense à la surface des PEM que l'argent, comme les résultats d'AFM l'ont montré. Les effets respectifs de l'argent et du cuivre sont d'autant plus prononcés que la concentration des solutions utilisées pour le dépôt augmente.

Enfin, le remplacement de l'eau par du tampon citrate entraîne une diminution de J_{CH+} , $P_{C(H+)}$ et $P^*_{C(H+)}$, quelle que soit la PEM utilisée. Le tampon citrate pourrait stabiliser le pH à l'intérieur des compartiments, ce qui pourrait diminuer le gradient de concentration de protons et, par conséquent, réduire $J_{C(H+)}$. En outre, le tampon citrate pourrait également interagir par ses charges avec la PEM, affectant ainsi $P_{C(H+)}$ et $P^*_{C(H+)}$. Il est possible que le tampon citrate entre en compétition avec les groupes sulfonates de la PEM et les groupes hydroxyles du revêtement en polydopamine pour attirer les protons, entraînant une mobilité moins importante.

Le facteur d'hétérogénéité z se situe entre 0,76 et 0,82, avec une valeur plus importante pour les PEM « Cu 0.35 », avec une valeur de 0,97. Ce dernier résultat confirme l'hypothèse que le cuivre a des effets négatifs sur $J_{C(H+)}$, $P_{C(H+)}$ et surtout sur $P^*_{C(H+)}$, car z se rapporte à l'hétérogénéité du flux de protons. La quantité de cuivre doit donc être ajustée afin de limiter ce phénomène.

La Fig. 10 illustre la diffusion des protons avec le temps à travers les différentes PEM pour le système pH 1 // pH 7. Les courbes ont toutes le même profil sauf celle correspondant à la PEM « Cu 0.35 », qui montre une inflexion aux alentours de $t = 70$ min. Ce ralentissement dans la diffusion pourrait s'expliquer par un colmatage des pores de la PEM, accompagnant un retard de diffusion plus important qu'avec les autres PEM testées.

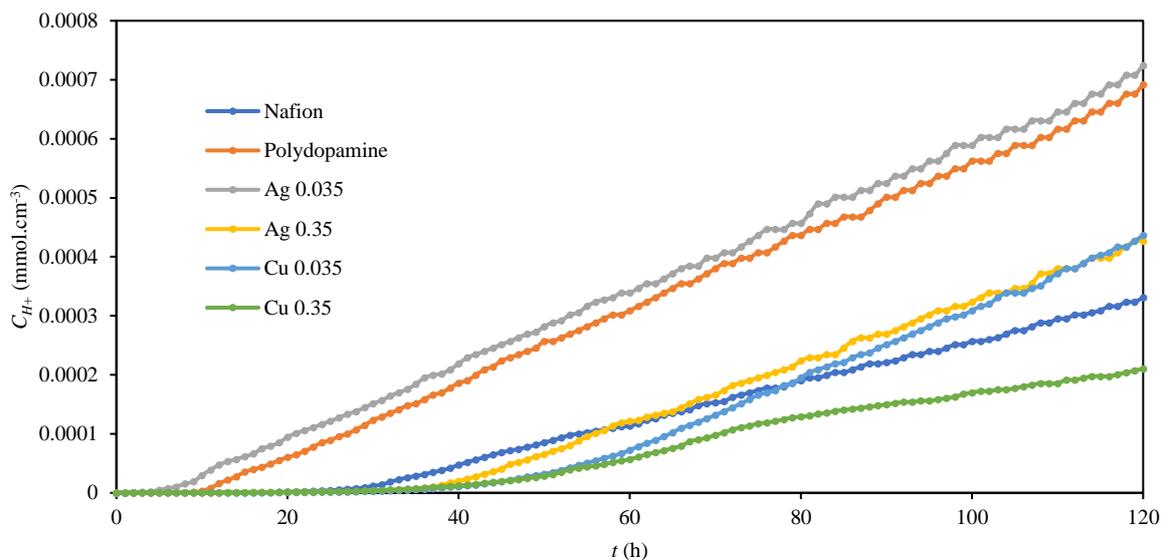


Fig. 10. Évolution de la concentration en protons dans le compartiment aval au cours du temps, en fonction de la modification appliquée à la PEM NafionTM 117 dans le système pH 1 // pH 7.

Les facteurs d'exclusion de Donnan $P_{C(H^+)}/D_{C(H^+)}$ sont d'autant plus petits que l'exclusion est élevée. Ici, la valeur la plus petite est pour l'échantillon « Cu 0.35 ». Cela confirme l'encombrement de la PEM par les particules de cuivre quand leur concentration est trop élevée.

Ces résultats mettent en évidence les mécanismes complexes par lesquels la polydopamine, les particules métalliques et le tampon citrate peuvent influencer le transport des protons à travers une PEM. Ils permettent aussi d'affiner le choix de la PEM modifiée qui devra être utilisée dans la MFC. En considérant uniquement les valeurs de perméabilité aux protons, il semble que les PEM modifiées Ag 0.035 et polydopamine sont les plus adaptées à la MFC (comparaison faite par rapport à la PEM NafionTM).

Cependant, ce choix devra également tenir compte des propriétés antimicrobiennes apportées par différentes modifications, ce qui est l'objectif final de notre étude.

III.6. Tests antimicrobiens sur cultures de *T. harzianum*

Dans le cadre de nos expériences, les mesures des diamètres d'inhibition nous ont permis d'évaluer l'efficacité de nos membranes modifiées contre *T. harzianum*. Si leurs propriétés antimicrobiennes sont suffisamment fortes, elles devraient inhiber la croissance de *T. harzianum* dans une zone circulaire autour des PEM (sous forme de disque).

Le cuivre et l'argent sont connus pour induire un stress oxydatif chez de nombreux micro-organismes. Cela pourrait entraîner des dommages cellulaires chez *T. harzianum*, et donc inhiber la croissance ou entraîner la mort du champignon. Il est aussi possible que *T. harzianum* s'adapte à ce stress et continue à pousser sur la boîte, voire accélérer sa croissance, comme si le stress oxydatif n'avait jamais eu lieu.

La Fig. 11 présente l'évolution des diamètres d'inhibition autour des PEM testées (diamètre des échantillons = 10 mm) en fonction du temps. Les échantillons « Cu 0.35 » ont induit la zone d'inhibition la plus importante avec un diamètre moyen maximal de 14,3 mm mesuré après 100 h d'expérience, et restant constant jusqu'à 500 h. Les PEM « Ag 0.35 » ont montré une zone moins importante de 12,3 mm, après 100 h et restant constante jusqu'à 500 h.

Les PEM « Ag 0.035 » et « Polydopamine » n'ont pas montré de zone d'inhibition. Les PEM « Cu 0.035 » montrent une évolution rapide de 24 h à 100 h, avec un diamètre d'inhibition se stabilisant à 13.2 mm. La concentration en cuivre utilisée étant plus faible, sa diffusion est plus ralentie dans le gel, entraînant une croissance initiale de *T. harzianum* suivie d'une inhibition. Les diamètres d'inhibition ne s'étendent pas au-delà de 100 h, puisque la diffusion des particules d'argent et de cuivre est ralentie par la présence de l'agar. Une diffusion très importante des particules n'est pas souhaitable pour les applications MFC car elles pourraient s'attaquer au biofilm de l'anode.

Le cuivre apparaît efficace contre la croissance de *T. harzianum*, ce qui a été confirmé dans la littérature [13], [14]. Dans d'autres études, il a été mis en évidence que la croissance de *T. harzianum* pouvait être inhibée de manière significative par des concentrations croissantes de particules d'argent et de cuivre [15], [16]. D'autres études ont montré que la croissance de *T. harzianum* était fortement inhibée avec des particules d'argent [17], [18], [19], [20].

Ces propriétés antimicrobiennes devront être confirmées dans une MFC.

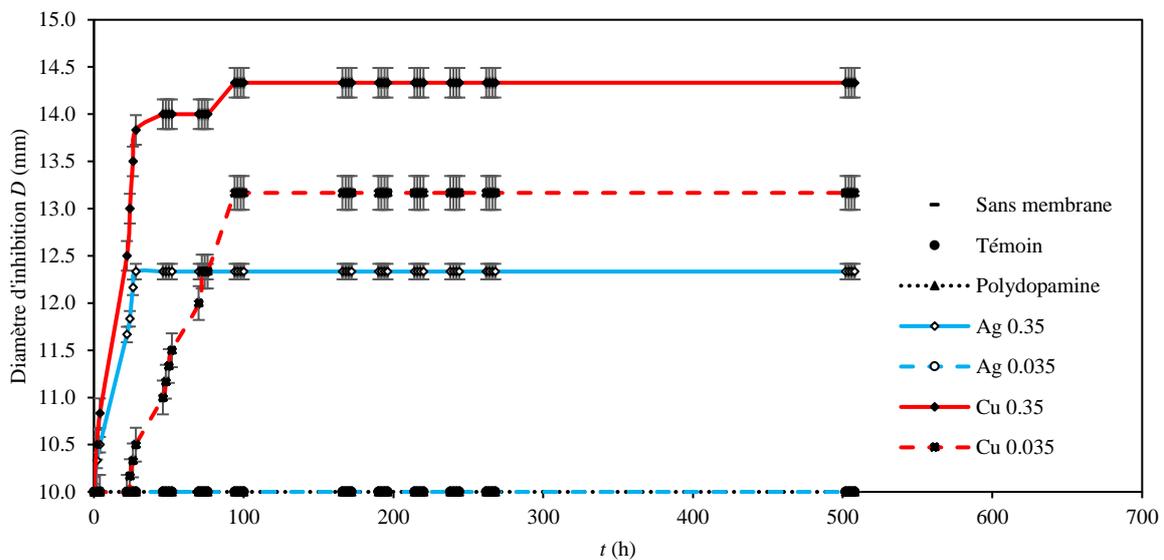


Fig. 11. Evolution des diamètres d'inhibition au cours du temps selon les modifications appliquées aux PEM (incluant les échantillons témoins).

La Fig. 12 met en évidence un phénomène de brunissement du champignon sur les boîtes. Il est lié à la présence de polydopamine et est influencé par la nature et la concentration des particules ajoutées. En absence de champignon, le brunissement dû à la polydopamine n'apparaît pas (pas montré sur la Fig. 12). Ce brunissement peut être dû à plusieurs facteurs,

comme la production de métabolites secondaires en réaction à un stress oxydatif, la production de spores de couleur plus foncés, mais encore à une modification de structure du mycélium.

Chez le champignon, le brunissement est provoqué par un stress. Un stress peut apparaître quand un champignon est confronté à un composé chimique ou même à un autre champignon. Dans les deux cas, un champignon engage un mécanisme de défense qui stimule des voies métaboliques complexes, conduisant à la production de divers produits bioactifs [21]. Ces produits peuvent être des alcools, des aldéhydes ou des espèces réactives de l'oxygène (ROS) [22]. Les ROS entraînent une augmentation des enzymes oxydatives, comme la manganèse peroxydase et la laccase [23]. La laccase est impliquée dans la production de mélanine [24], qui provoque le brunissement.

L'ajout de particules d'argent ou de cuivre fait diminuer ce brunissement. Ce phénomène est plus marqué quand la concentration en particules métallique augmente, mais également en présence de cuivre. La réaction du champignon au stress est donc diminuée. Pour expliquer cette observation, trois hypothèses peuvent être formulées.

Selon une première hypothèse, la diminution du brunissement observée peut être expliquée par une diminution de la vitalité du champignon provoquée par les particules, ou même par une mort cellulaire accrue. Si on considère qu'une concentration plus élevée en cuivre est plus efficace contre les champignons, il y aura moins de champignons vivants pour réagir avec la polydopamine et donc brunir. Si cette hypothèse est vraie, le cuivre devrait inhiber la formation de biofilm de *T. harzianum* sur les PEM.

Cependant, une autre hypothèse peut être posée. *T. harzianum* brunit plus au contact des échantillons « PEM Polydopamine », ce qui prouve une réaction de stress plus importante. La présence de particules d'argent et de cuivre pourraient diminuer la surface de contact entre *T. harzianum* et la polydopamine. La réaction de stress de *T. harzianum* serait alors moins importante, expliquant le brunissement moins marqué quand les particules d'argent ou de cuivre sont présentes. Quand la concentration en particules augmente, le recouvrement par les particules est plus important et donc le brunissement de *T. harzianum* diminue. D'après les observations AFM, le revêtement par les particules de cuivre est plus dense que celui obtenu avec l'argent. La surface de contact entre *T. harzianum* et la polydopamine est donc plus petite qu'en présence d'argent, et donc la réaction de stress provoquée par la polydopamine est moins importante. Cela pourrait expliquer pourquoi *T. harzianum* brunit moins avec le cuivre qu'avec l'argent.

Une troisième hypothèse pour expliquer le brunissement moins important de *T. harzianum* dans le cas de l'échantillon « Cu 0.35 » serait que le cuivre stimulerait l'activité de l'enzyme laccase ce qui permettrait au champignon de mieux résister au stress. En effet, la laccase est une oxydase utilisant le cuivre comme cofacteur [25]. Son activité a pu être accrue avec le cuivre disponible. Si cette hypothèse est vraie, le cuivre pourrait en réalité favoriser la formation de biofilm de *T. harzianum* sur les PEM plutôt que de l'inhiber.

Dans le but d'apporter à la PEM des propriétés contre le *biofouling*, nous avons donc testé les effets d'un recouvrement par la polydopamine seule, ou associé à des particules d'argent et le cuivre. Les résultats obtenus ont soulevé des interrogations quant à l'effet du cuivre. Trois hypothèses distinctes ont été formulées. La première suggère que le cuivre a effectivement un effet *antifouling*, la seconde ne confirme pas son effet, et la dernière qu'il pourrait en réalité favoriser le *biofouling*. Ces trois hypothèses seront vérifiées en utilisant la PEM modifiée par le cuivre dans une MFC.

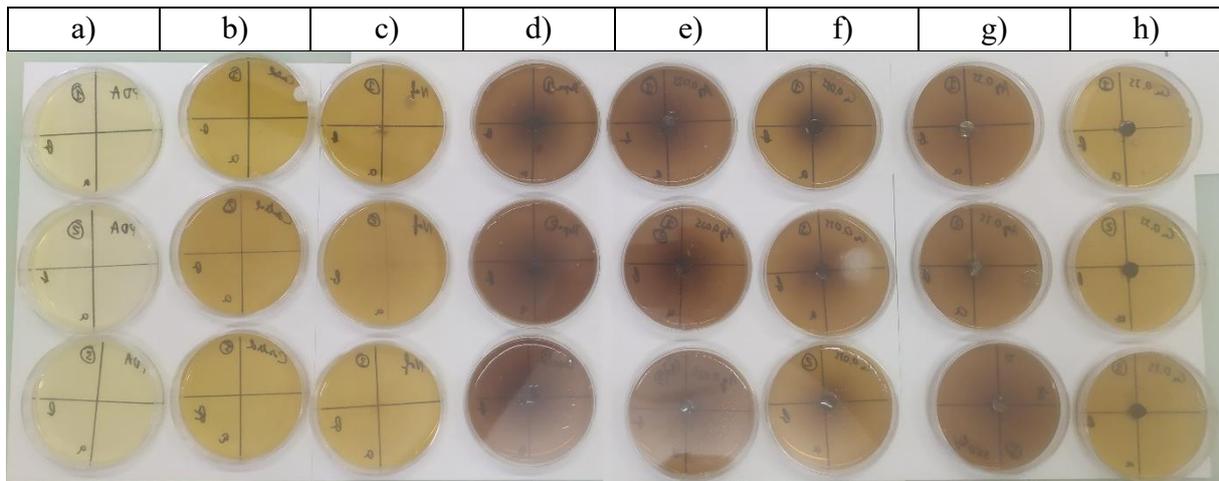


Fig. 12. Influence de la PEM sur un tapis de *T. harzianum* après un mois d'expérience. De gauche à droite : a) Sans PEM et sans tapis microbien ; b) Sans PEM ; c) Avec PEM témoin ; d) Avec PEM « Polydopamine » ; e) Avec PEM « Ag 0.035 » ; f) Avec PEM « Cu 0.035 » ; g) Avec PEM « Ag 0.35 » ; h) Avec PEM « Cu 0.35 ».

III.7. Expériences en MFC

Les expériences en MFC ont été réalisées avec la PEM « Cu 0.035 » (MFC B), car elle montre à la fois une activité antimicrobienne et une diminution modérée de la conductivité protonique. Une MFC témoins a été testé en parallèle avec une PEM en NafionTM non modifiée (MFC A). Nous avons choisi le substrat bleu de méthylène (MB) car il se dégrade plus facilement que le cristal violet (voir chapitre 1 et 2).

La Fig. 13 illustre l'évolution de la concentration en MB au cours du temps lors de quatre cycles successifs de fonctionnement. On observe lors du premier cycle, une élimination très rapide du MB dans la MFC B, suivie d'un ralentissement quand l'élimination a atteint 80 %. L'élimination est plus lente mais un peu plus efficace avec la MFC A (stable à 94 % au bout de 50 heures). Cette différence entre les 2 MFC, pourrait s'expliquer par une diminution de l'activité de *T. harzianum* en présence de cuivre du fait sa libération et de son effet inhibiteur en solution. Une autre hypothèse serait que le cuivre stimule l'activité de l'enzyme laccase dans la MFC B, permettant une élimination rapide de MB au début de l'expérience, mais aussi une formation plus rapide de biofilm sur la PEM, provoquant un arrêt prématuré de l'élimination de MB. Ces deux hypothèses ont déjà été formulées précédemment lors des expériences de mesures des diamètres d'inhibition.

Fig. 13a

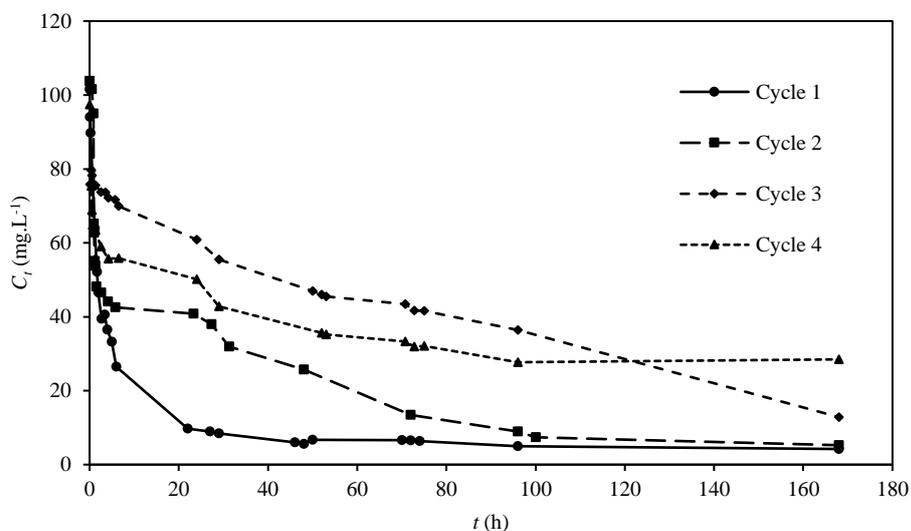


Fig. 13b

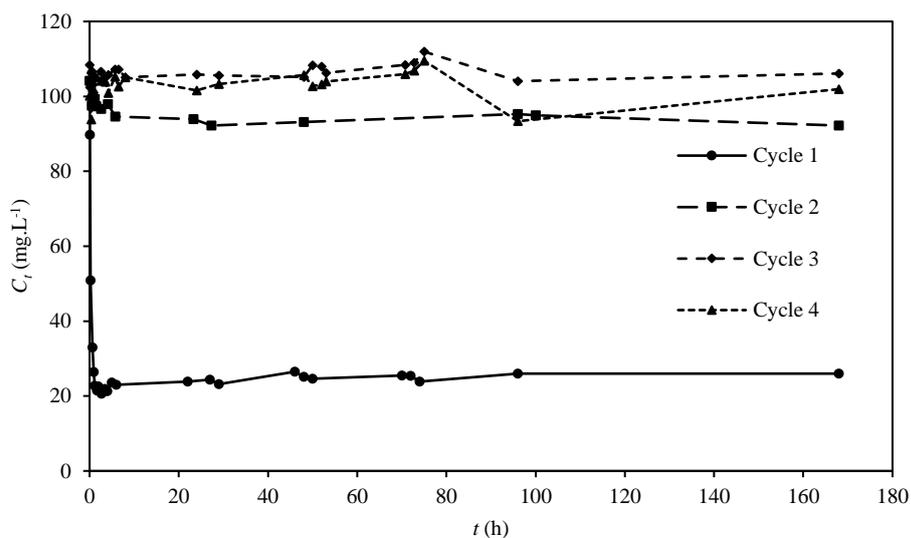


Fig. 13. Élimination de MB au cours du temps par MFC lors de 4 cycles successifs de fonctionnement : a) MFC A avec PEM en Nafion™ ; b) MFC B avec PEM « Cu 0.035 ».

Au deuxième cycle de fonctionnement, l'élimination de MB dans la MFC A est plus lente qu'au premier cycle. Cela est dû à un vieillissement du biofilm de l'anode, les champignons perdant une partie de leur capacité à dégrader le MB. Cela peut également s'expliquer par la formation de biofilm sur la PEM, ce qui peut entraver le passage des protons. Lors des troisième et quatrième cycle, l'élimination de MB continue de ralentir, montrant la baisse progressive de la performance de la MFC A. Concernant la MFC B, l'élimination de MB ne se fait plus pour les raisons évoquées précédemment.

La Fig. 14 montre l'évolution de la puissance produite par les MFC lors des 4 cycles de fonctionnement.

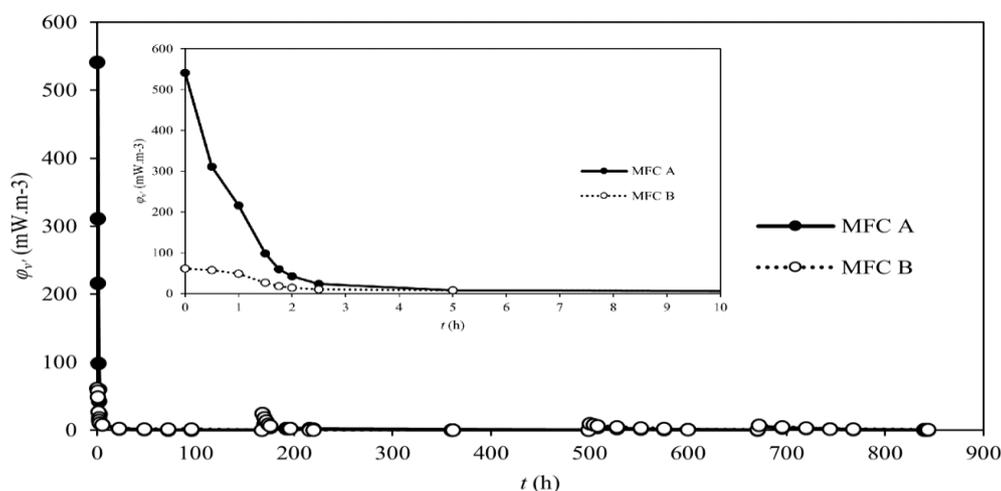


Fig. 14. Evolution de la puissance produite par les MFC lors des 4 cycles de fonctionnement.

Nous constatons une puissance moins importante pour la MFC B par rapport à la MFC A lors du premier cycle, avec une différence d'un facteur 10. Cela est certainement dû à la gêne provoquée par les particules de cuivre lors du passage des protons, provoquant une augmentation de la résistance interne de la pile. Ce résultat est confirmé par ceux obtenus lors des expériences de diffusion de protons (Tab. 3).

En revanche, lors du deuxième cycle de fonctionnement, la puissance de la MFC B devient plus importante que pour la MFC A, avec une augmentation d'un facteur 3, malgré une consommation en MB toujours plus lente. Cela signifie que la MFC B a conservé la possibilité de conversion du MB en production d'électricité malgré la présence de cuivre. Ce comportement pourrait s'expliquer par la présence du biofilm sur la PEM qui recouvre le cuivre, apportant ainsi un effet antifongique moins important.

Lors du troisième et du quatrième cycle de fonctionnement, la MFC B continue de générer plus de densité de puissance malgré l'élimination plus lente du MB.

En résumé, l'ajout de cuivre à la PEM en NafionTM 117 n'a pas amélioré la durabilité et l'efficacité des MFC. Des observations MEB de l'état des membranes après utilisation ont été réalisées afin de comprendre l'effet du cuivre sur *T. harzianum* en MFC.

III.8. Observations MEB des PEM après utilisation en MFC

La Fig. 15 rassemble les images MEB d'une PEM NafionTM 117 neuve (1), de la PEM NafionTM 117 qui a servi dans la MFC A et de la PEM « Cu 0.035 » qui a servi dans la MFC B.

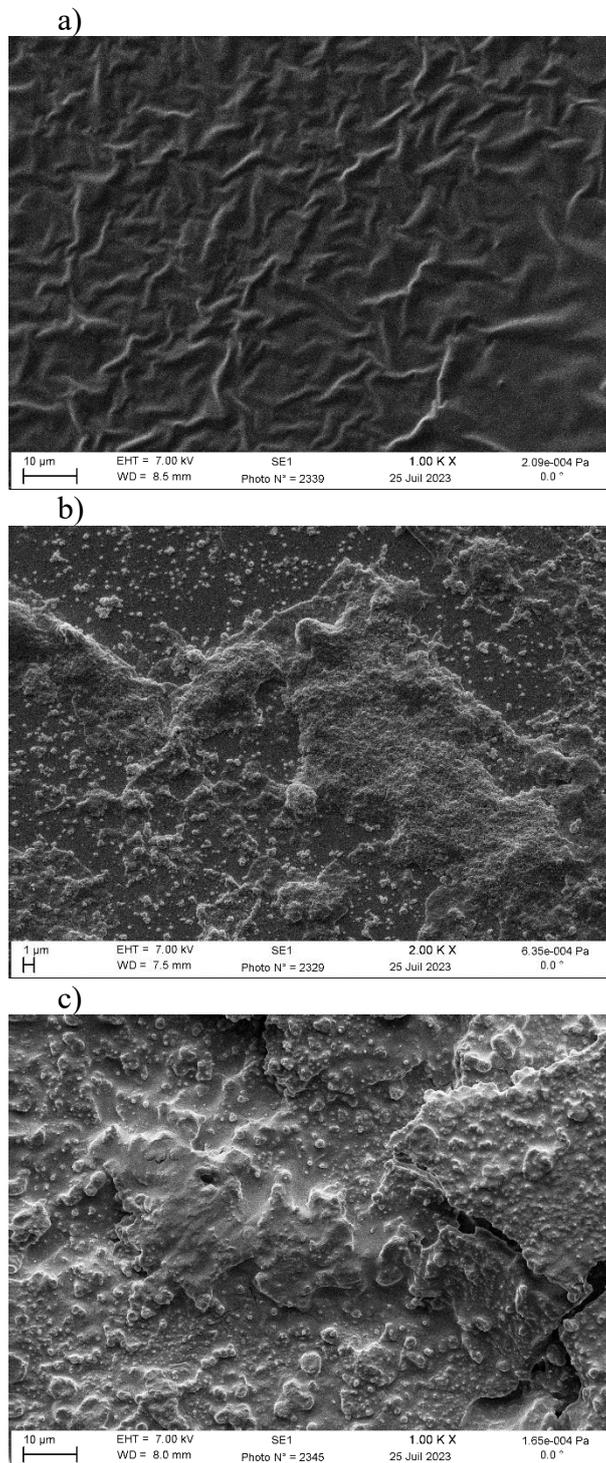


Fig. 15. Images MEB (grandissement x 1000) de PEM : a) PEM NafionTM 117 neuve ; b) PEM provenant de la MFC A ; c) PEM « Cu 0.035 » de la MFC B.

Nous constatons la présence d'un biofilm sur la PEM provenant de la MFC A, avec des spores visibles (Fig. 15b). Néanmoins, le biofilm ne recouvre pas toute la PEM. En revanche, le biofilm s'est beaucoup plus développé sur la PEM « Cu 0.035 », sous forme d'un « gâteau » qui s'est craquelé sous l'effet du faisceau MEB (Fig. 15c). On observe aussi de nombreuses spores. Sa présence explique les résultats obtenus en MFC : il ralentit le passage des protons, et par conséquent la dégradation du MB, ce qui entraîne la baisse rapide de la puissance produite par la pile.

Cette formation accrue de biofilm sur la PEM de la MFC B est due à la stimulation de l'enzyme laccase par la présence de cuivre. Cela permet à *T. harzianum* de mieux résister en milieu hostile et de se développer plus vite. C'est donc la troisième hypothèse formulée pour expliquer les résultats obtenus lors des mesures des diamètres d'inhibition qui est vérifiée. Le cuivre a donc eu l'effet inverse de celui espéré. Une concentration en cuivre plus importante aurait peut-être davantage empêché la formation de biofilm mais avec, c'est probable, un effet plus délétère vis-à-vis de *T. harzianum*.

IV. Conclusion

Ce chapitre avait pour but d'optimiser l'efficacité des biopiles vis-à-vis du MB en modifiant la PEM Nafion™ 117 pour lui apporter des propriétés antibiofilms. Deux stratégies ont été envisagées, l'une avec des particules de cuivre, l'autre avec des particules d'argent.

Des observations MEB ont permis d'avoir une première appréciation de la qualité des dépôts. La PEM modifiée avec des ions argent à $0,035 \text{ g L}^{-1}$ (« Ag 0.035 ») a montré une surface partiellement recouverte de particules. L'augmentation de la concentration en ions argent a permis d'augmenter le recouvrement. Les observations des PEM modifiée avec des ions cuivre n'ont pas montré de particules mais les analyses EDX ont confirmé la présence de cuivre.

Les images AFM ont quant à elles permis d'observer la présence de particules de cuivre sur les PEM « Cu 0.035 » et « Cu 0.35 », avec une répartition assez homogène. La couche de cuivre est apparue plus fine et dense que la couche d'argent, avec une plus forte adhésion sur la pointe d'oxyde de silice, qui a suggéré la présence d'oxyde de cuivre. Les mesures de dissipation ont révélé une viscosité plus importante des surfaces en présence de particules et celles des modules DMT une plus grande fragilité. Les mesures de rugosité ont montré de plus fortes valeurs avec l'argent du fait de la plus grande taille des particules (entre 1 et 3 μm) comparé au cuivre (0,5 μm) et la tendance de ces dernières à se placer dans les craquelures du revêtement de polydopamine, lissant la surface. L'AFM nous a donc permis de confirmer la présence de cuivre sur les PEM, mais aussi d'avoir des informations sur la morphologie des surfaces.

Les mesures d'angles de contact entre la surface des PEM et l'eau (ou un tampon citrate) ont été réalisées pour étudier l'effet des modifications sur les propriétés hydrophile/hydrophobe des surfaces. Par la présence de ses groupements hydroxyles, la polydopamine initialement déposée a rendu plus hydrophile la surface des PEM. En revanche, les particules de cuivre et d'argent ont rendu les surfaces plus hydrophobes. L'argent a eu plus d'effet sur les angles car il apporte de la rugosité aux surfaces modifiées. Le citrate, dont le squelette carboné est

hydrophobe a montré des interactions moins importantes avec la polydopamine, et plus forte avec les particules métalliques.

Ces études structurelles ont permis d'avoir une appréciation sur la qualité des dépôts et de valider nos méthodes. Des études fonctionnelles ont ensuite été réalisées afin de déterminer quelle PEM était la plus adaptée pour une utilisation en MFC.

Les mesures de diffusion protoniques ont montré que le dépôt de polydopamine augmentait significativement la perméabilité de la PEM aux protons, en raison de sa capacité à les attirer grâce à ses groupements hydroxyles. Cependant, l'ajout de particules d'argent ou de cuivre réduit les perméabilités, avec un effet plus marqué pour le cuivre et en présence de tampon citrate. Ces résultats suggèrent que les PEM « Polydopamine » et « Ag 0.035 » sont les moins impactées par le traitement de surface.

L'efficacité des revêtements contre *T. harzianum* a été évaluée par mesures des diamètres d'inhibition. Le revêtement « Cu 0.35 » semble être le plus efficace pour inhiber la croissance du champignon. De plus, les observations ont montré que *T. harzianum* réagissait au stress oxydatif en brunissant, mais ce brunissement était réduit en présence de particules et plus particulièrement avec le cuivre. Trois hypothèses ont été formulées pour expliquer ce phénomène : la mort cellulaire, la réduction de la surface de contact avec la polydopamine, et l'augmentation de l'activité de l'enzyme laccase.

À la suite de ces expériences, il est apparu que les PEM « Polydopamine » et « Ag 0.035 » avaient les meilleures propriétés de conduction protonique, mais de faibles propriétés antimicrobiennes. À l'inverse, la PEM « Cu 0.35 » a montré de meilleures propriétés antimicrobiennes, mais de plus faibles propriétés de transport. Pour ces raisons, ces trois membranes n'ont pas été étudiées en MFC.

Les PEM « Cu 0.035 » et « Ag 0.35 » ont semblé être un bon compromis entre efficacité antimicrobienne et transport des protons. Pour l'expérience en MFC, nous avons choisi la PEM modifiée « Cu 0.035 » car nous avons voulu vérifier les hypothèses formulées à propos de l'effet du cuivre. La PEM « Ag 0.35 » sera étudiée ultérieurement.

La MFC contenant la PEM « Cu 0.035 » a montré une élimination efficace du MB (80 %) et plus rapide par rapport à une MFC témoin sans modification. Ceci a été expliqué par l'apport du cuivre qui a stimulé l'activité de l'enzyme laccase. Dans le même temps la puissance électrique initiale produite est apparue plus faible certainement due à l'entrave des particules de cuivre au passage des protons.

Quatre cycles successifs de fonctionnement ont été appliqués aux piles. L'élimination du MB au cours des cycles est restée efficace mais plus lente pour la MFC à PEM non modifiée, contrairement à celle contenant la PEM « Cu 0.035 ». De plus, la puissance des deux MFC a fortement diminué, à cause de la formation d'un biofilm sur la PEM. L'ajout de cuivre à la PEM à partir d'une solution à $0,035 \text{ g L}^{-1}$ n'a pas donc amélioré les propriétés *antifouling*.

Ces résultats ont été confirmés par observation MEB des membranes après utilisation, avec un développement de biofilm plus important sur la membrane modifiée. Cette formation de biofilm accrue a été attribuée à la stimulation de l'enzyme laccase par le cuivre, permettant aux champignons relargués par l'anode à mieux résister au milieu environnant et de se

développer à la surface de la PEM. Par conséquent, l'ajout de cuivre a eu un effet contraire à l'objectif initial, favorisant la formation de biofilm plutôt que de le prévenir. Une concentration en cuivre plus importante aurait peut-être été plus adéquate, malgré son effet négatif sur la conductivité protonique.

Très récemment, une MFC contenant la PEM « Ag 0.35 » a été mise en fonctionnement mais sans suivre l'élimination de MB et les performances électriques. Seules des observations MEB ont été réalisées sur la PEM après un mois de fonctionnement. Les images obtenues montrent l'absence de biofilm, ce qui prouve l'efficacité du traitement « Ag 0.35 » contre le *biofouling* de *T. harzianum* (Fig. 16).

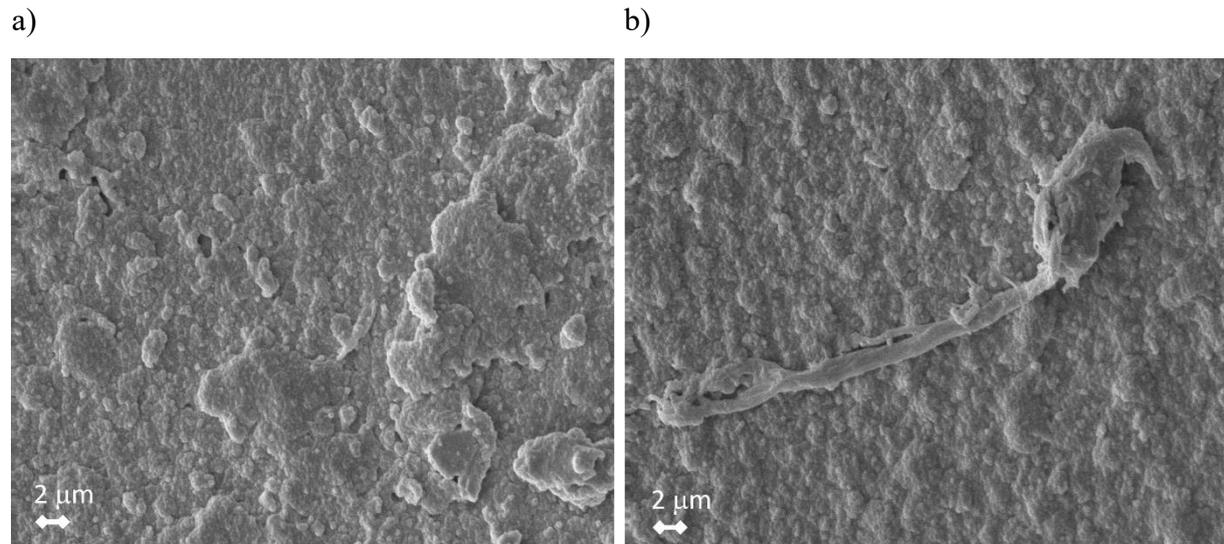


Fig. 16. Images MEB (grandissement x2000) de la PEM « Ag 0.35 » après un mois de fonctionnement en MFC : a) Dépôt d'argent ; b) Reste de filament de *T. harzianum* (rare).

Références

1. Ranimol G, Venugopal T, Gopalakrishnan S, Sunkar S (2018) Production of laccase from *Trichoderma harzianum* and its application in dye decolourisation. *Biocatal Agric Biotechnol* 16:400–404. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.09.003>
2. Shabani M, Pontié M, Younesi H, et al (2021) Biodegradation of acetaminophen and its main by-product 4-aminophenol by *Trichoderma harzianum* versus mixed biofilm of *Trichoderma harzianum*/*Pseudomonas fluorescens* in a fungal microbial fuel cell. *J Appl Electrochem* 51:581–596. <https://doi.org/10.1007/s10800-020-01518-w>
3. Lee H, Dellatore SM, Miller WM, Messersmith PB (2007) Mussel-inspired surface chemistry for multifunctional coatings. *Science* (1979) 318:426–430. <https://doi.org/10.1126/science.1147241>
4. Su L, Yu Y, Zhao Y, et al (2016) Strong Antibacterial Polydopamine Coatings Prepared by a Shaking-assisted Method. *Sci Rep* 6. <https://doi.org/10.1038/srep24420>
5. Liu H, Qu X, Tan H, et al (2019) Role of polydopamine's redox-activity on its pro-oxidant, radical-scavenging, and antimicrobial activities. *Acta Biomater* 88:181–196. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.02.032>
6. Da Silva, E. (2002). Elaboration de membranes homopolaires par la technique des réseaux de polymères semi-interpénétrés : Caractérisation et application à l'élaboration de membranes à comportement bipolaire.
7. Wang J, Xiao L, Zhao Y, et al (2009) A facile surface modification of Nafion membrane by the formation of self-polymerized dopamine nano-layer to enhance the methanol barrier property. *J Power Sources* 192:336–343. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2009.03.014>
8. Derjaguin B V, Muller VM, Toporov YP (1975) Effect of Contact Deformations on the Adhesion of Particles. *J Colloid Interface Sci* 53:314–326
9. Bowen WR, Lovitt RW, Wright CJ (2001) Atomic force microscopy study of the adhesion of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Colloid Interface Sci* 237:54–61. <https://doi.org/10.1006/jcis.2001.7437>
10. Pearson R (1963) Hard and Soft Acids and Bases. *J Am Chem Soc* 85:3533–3539
11. Park SG, Rajesh PP, Hwang MH, et al (2021) Long-term effects of anti-biofouling proton exchange membrane using silver nanoparticles and polydopamine on the performance of microbial electrolysis cells. *Int J Hydrogen Energy* 46:11345–11356. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.04.059>
12. Lebrun L, Da Silva E, Pourcelly G, Métayer M (2003) Elaboration and characterisation of ion-exchange films used in the fabrication of bipolar membranes. *J Memb Sci* 227:95–111. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2003.07.022>
13. Siddiquee S, Aishah SN, Azad SA, et al (2013) Tolerance and biosorption capacity of Zn²⁺, Pb²⁺, Ni³⁺ and Cu²⁺ by filamentous fungi (*Trichoderma harzianum*, *T. aureoviride* and *T. virens*). *Advances in Bioscience and Biotechnology* 04:570–583. <https://doi.org/10.4236/abb.2013.44075>
14. Racić G, Vukelić I, Kordić B, et al (2023) Screening of Native *Trichoderma* Species for Nickel and Copper Bioremediation Potential Determined by FTIR and XRF. *Microorganisms* 11. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030815>
15. Küpper V, Steiner U, Kortekamp A (2022) *Trichoderma* species isolated from grapevine with tolerance towards common copper fungicides used in viticulture for plant protection. *Pest Manag Sci* 78:3266–3276. <https://doi.org/10.1002/ps.6951>
16. Petrović JJ, Danilović G, Čurčić N, et al (2014) Copper tolerance of *Trichoderma* species. *Arch Biol Sci* 66:137–142. <https://doi.org/10.2298/ABS1401137J>
17. Gavanji S, Shams M, Shafagh N, et al (2012) Destructive Effect of Silver Nanoparticles on Biocontrol Agent Fungi *Trichoderma Viride* and *T. Harzianum*. *Caspian Journal of Applied Sciences Research* 1:83–90
18. Ganash M (2017) Genotoxicity and Molecular Response of Biotechnological Agent *Trichoderma harzianum* as a Result of Silver Nanoparticles Application. *J Pure Appl Microbiol* 11:821–827. <https://doi.org/10.22207/JPAM.11.2.21>
19. Machado GE, Pereyra AM, Rosato VG, et al (2019) Improving the biocidal activity of outdoor coating formulations by using zeolite-supported silver nanoparticles. *Materials Science and Engineering C* 98:789–799. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.040>
20. Mahdizadeh V, Safaie N, Khelghatibana F (2015) Evaluation of antifungal activity of silver nanoparticles against some phytopathogenic fungi and *Trichoderma harzianum*. *J Crop Prot* 4:291–300
21. Bertrand S, Bohni N, Schnee S, et al (2014) Metabolite induction via microorganism co-culture: A potential way to enhance chemical diversity for drug discovery. *Biotechnol Adv* 32:1180–1204
22. Evans JA, Eyre CA, Rogers HJ, et al (2008) Changes in volatile production during interspecific interactions between four wood rotting fungi growing in artificial media. *Fungal Ecol* 1:57–68. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2008.06.001>
23. Ferreira Gregorio AP, Da Silva IR, Sedarati MR, Hedger JN (2006) Changes in production of lignin degrading enzymes during interactions between mycelia of the tropical decomposer basidiomycetes *Marasmiellus troyanus* and *Marasmius pallenscens*. *Mycol Res* 110:161–168. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2005.10.002>

24. Boddy L, Hiscox J (2016) Fungal Ecology: Principles and Mechanisms of Colonization and Competition by Saprotrophic Fungi. *Microbiol Spectr* 4. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0019-2016>
25. Riva S (2006) Laccases: blue enzymes for green chemistry. *Trends Biotechnol* 24:219–226

PARTIE III. CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Ce travail a montré qu'il était possible d'utiliser *T. harzianum* comme biocatalyseur dans une MFC pour éliminer deux colorants polluants, MB et VC, tout en produisant de l'électricité. Les résultats obtenus diffèrent selon les colorants et les électrodes utilisés (KIP et CSV).

Les premières expériences ont montré une élimination quasi-complète du MB (à plus de 90 %) et incomplète du VC (inférieure à 60 %). Ceci a été expliqué par la structure du colorant. Le MB s'est avéré plus facile à assimiler par *T. harzianum* car il ne contient que deux noyaux aromatiques contrairement au VC qui en contient trois. De plus, le MB s'est révélé peu toxique pour le champignon contrairement au VC ($IC_{50} = 0,97 \pm 0,28 \text{ mg L}^{-1}$). Par contre, la puissance électrique produite a été plus importante avec VC ce qui prouve la capacité de *T. harzianum* à s'adapter à la nocivité du colorant.

Les électrodes ont également influencé la puissance produite. Cette dernière est apparue toujours plus élevée avec KIP du fait de sa structure plus épaisse et plus dense, ce qui lui a permis d'avoir une plus grande accumulation de charges menant à un potentiel électrique plus élevé, ainsi qu'à une plus faible résistance et donc une plus forte densité de puissance. De plus le caractère hydrophobe de KIP lui a permis de piéger une plus forte quantité de *T. harzianum*, qui est lui-même hydrophobe. La densité de puissance a atteint pour le VC $229,6 \text{ W m}^{-3}$ d'anode avec KIP et seulement $0,6 \text{ W m}^{-3}$ pour CSV, et pour BM 70 W m^{-3} avec KIP et 39 W m^{-3} avec CSV.

Lors des premières expériences, nous avons constaté qu'une partie du colorant (surtout MB) était adsorbée par l'anode (surtout KIP). Une étape de pré-saturation de l'anode en colorant a donc été appliquée avant de poursuivre les expériences de MFC. Cela a permis une augmentation de la puissance produite, en raison de la quantité plus importante de colorant disponible. Le fonctionnement des MFC en circuit fermé, a également permis une augmentation de la puissance en particulier avec MB.

Cette étude a donc permis de mettre au point une MFC efficace avec *T. harzianum* comme biocatalyseur pour l'élimination du MB et de VC.

La deuxième partie de la thèse a été consacrée à la modification de la PEM NafionTM présente dans la MFC afin de lui apporter des propriétés *antifouling*. Deux traitements ont été envisagés, avec un revêtement de particules de cuivre, ou d'argent, sur une couche de polydopamine. Des observations MEB ont montré un dépôt partiel de particules d'argent, et l'AFM a été nécessaire pour détecter les particules de cuivre sous la forme d'un dépôt plus fin et plus dense.

Des mesures d'angles de contact avec le tampon citrate, ont révélé le caractère hydrophile du revêtement de polydopamine, et hydrophobe des particules métalliques. La structure du citrate étant hydrophobe, le tampon citrate présent dans la MFC aura plus d'interactions avec la surface de la PEM NafionTM quand celle-ci sera recouverte de particules métalliques.

Des études fonctionnelles ont ensuite été réalisées afin de déterminer quelle PEM était la plus adaptée pour une utilisation en MFC.

Les mesures de diffusion protoniques ont montré que la polydopamine facilitait le transfert des protons, tandis que les particules métalliques le rendaient plus difficile. Le cuivre a eu un effet plus marqué en raison de sa couche plus dense sur la PEM. Ces résultats ont suggéré que les membranes « Polydopamine » et « Ag 0.035 » étaient les moins affectées pour le transport des protons.

Les mesures de diamètre d'inhibition ont révélé que le revêtement « Cu 0.35 » semblait le plus efficace pour inhiber la croissance de *T. harzianum*. Par ailleurs, le champignon réagissait au stress oxydatif par brunissement, mais cette réaction était réduite en présence de particules et plus particulièrement avec le cuivre. Trois hypothèses ont été formulées pour expliquer ce comportement : la mort cellulaire, la réduction de la surface de contact avec la polydopamine, et l'augmentation de l'activité de l'enzyme laccase.

Pour résumer, les PEM « Polydopamine » et « Ag 0.035 » ont montré les meilleures conductivités protoniques mais des propriétés antimicrobiennes faibles. En revanche, la PEM « Cu 0.35 » a montré la meilleure efficacité antimicrobienne, mais la plus faible conductivité protonique. Les PEM « Cu 0.035 » et « Ag 0.35 » nous ont semblé offrir le meilleur compromis entre ces deux propriétés clés pour une utilisation en MFC. La PEM « Cu 0.035 » a été choisie dans premier temps, afin de vérifier les hypothèses à propos de l'effet antimicrobien du cuivre.

La MFC à PEM « Cu 0.035 » a montré une élimination efficace du MB (80 %) et plus rapide qu'une MFC à PEM non modifiée. Nous avons expliqué ces résultats par l'apport du cuivre qui a probablement stimulé l'activité de l'enzyme laccase vis-à-vis du MB. En revanche, la puissance électrique initiale produite est apparue plus faible, du fait de l'entrave probable des particules de cuivre au passage des protons.

Quatre cycles successifs de fonctionnement ont été appliqué aux MFC. L'élimination du MB au cours des cycles est restée efficace mais de plus en plus lente pour la MFC à PEM non modifiée, contrairement à celle contenant la PEM « Cu 0.035 ». De plus, la puissance produite par les deux piles a fortement diminué à cause de la formation d'un biofilm sur la PEM que nous avons détecté par MEB après démontage. La PEM « Cu 0.035 » n'a donc pas été efficace pour empêcher le *biofouling*.

Le développement du biofilm est apparu plus important sur la membrane modifiée. Ceci a été expliqué par la stimulation de l'enzyme laccase par le cuivre, permettant aux champignons relarguée de l'anode de se développer à la surface de la PEM. Par conséquent, l'ajout de cuivre a eu un effet contraire à l'objectif initial, et n'a pas répondu à la problématique du *biofouling*.

Une ultime expérience en MFC avec la PEM « Ag 0.35 » a montré l'absence de biofilm après quatre cycles de fonctionnement, ce qui a prouvé l'efficacité de ce traitement.

Sur la base de ces résultats, plusieurs perspectives peuvent être proposées.

Pour les expériences de MFC, plusieurs pistes sont intéressantes à explorer.

Le mélange de MB et de VC pourrait être utilisé comme substrat pour étudier quel colorant est éliminé le plus facilement. D'autres colorants aromatiques comme le rouge Congo ou le vert malachite, pourraient être testés. D'autres co-substrats que le glucose pourraient être utilisés, comme l'acétate.

Au niveau des électrode, des essais avec une cathode en tissus de carbone de surface plus importante que celle de l'anode pourraient être réalisée afin d'optimiser la réduction du dioxygène. Dans le même but, le médiateur ferricyanure de potassium pourrait être remplacé par une molécule moins toxique et à une concentration plus faible. Il est aussi envisageable de modifier la cathode par un dépôt de nickel ou d'oxyde de graphène. Enfin, d'autres tissus de carbone, comme les références NSC et MRV commercialisées par Dacarb S.A.S. pourraient être testés.

Une expérience avec un biofilm mixte à l'anode, par exemple *T. harzianum* associé à *Pseudomonas fluorescens*, pourrait aussi améliorer les performances de la MFC.

Enfin, il serait intéressant de connaître précisément les produits de dégradation de MB et VC après les expériences de MFC. Pour ce faire, nous envisageons dans un futur proche d'analyser les anolytes par spectrométrie de masse.

Plusieurs orientations sont envisageables pour améliorer les propriétés *antifouling* des PEM.

Il serait pertinent de tester la PEM « Ag 0.035 » afin d'étudier l'influence de la concentration en argent sur les performances de la MFC et la présence de biofilm après quatre cycles de fonctionnement. Les performances électriques de la MFC à PEM « Ag 0.35 » devraient être testées dans les mêmes conditions.

Comme nous avons montré que le VC avait un effet inhibiteur sur la croissance de *T. harzianum*, il serait intéressant de fixer VC sur la PEM afin de lui apporter des propriétés *antifouling* ciblées contre ce champignon.

Fig A1. Influence of operative parameters on the MFC potential and power density at start of operation: potential E vs current density J and power density ϕ_s vs current density J : a) Non saturated CSV anode in OCV mode; b) Saturated CSV anode in OCV mode; c) Non saturated KIP anode in OCV mode; d) Saturated KIP anode in OCV mode; e) Saturated KIP anode in CCV mode.

Fig. A1a

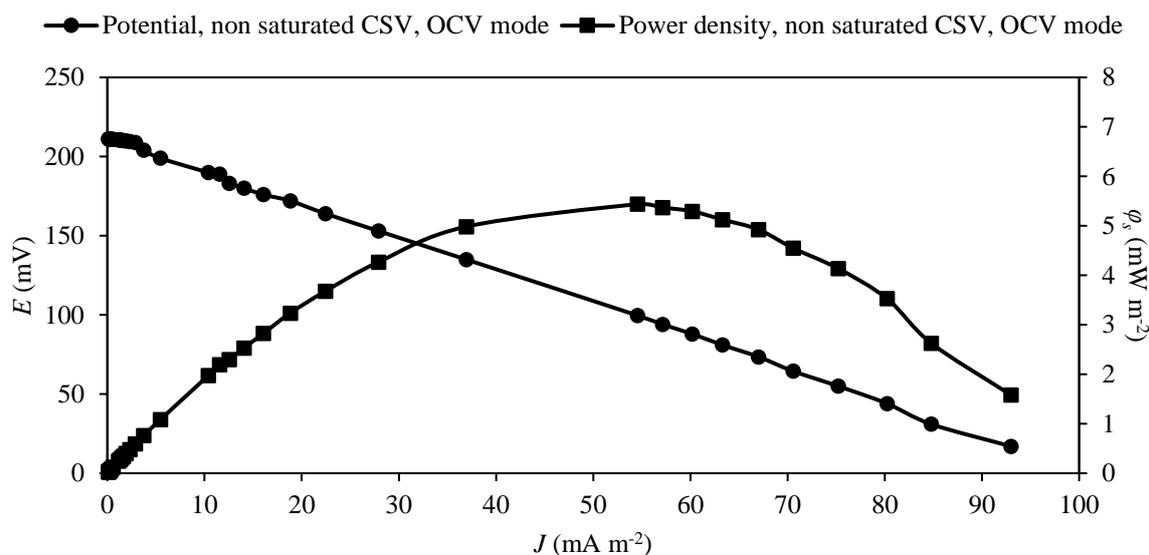


Fig. A1b

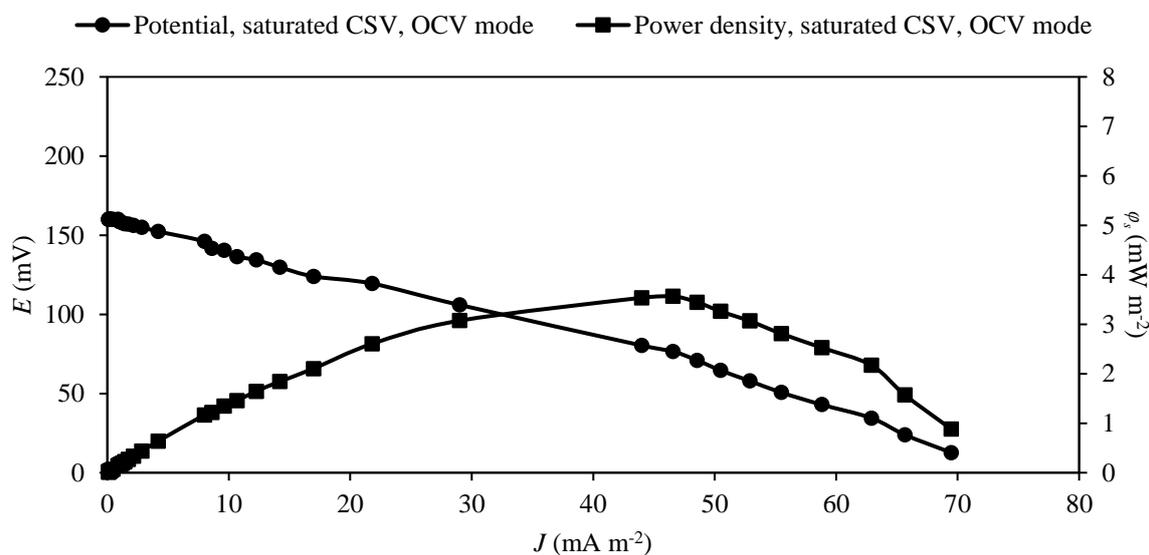


Fig. A1c

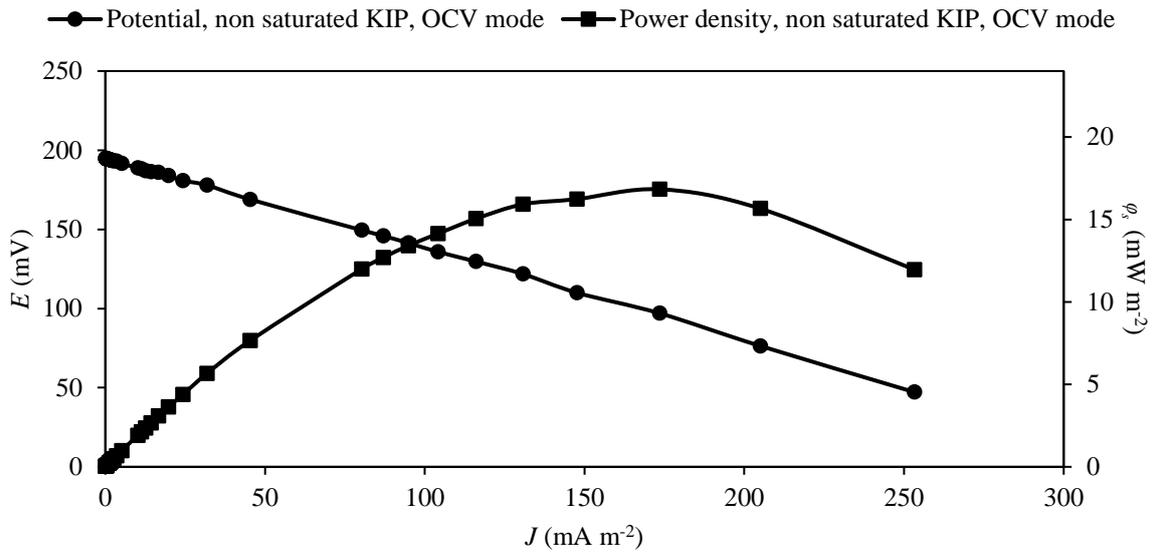


Fig. A1d

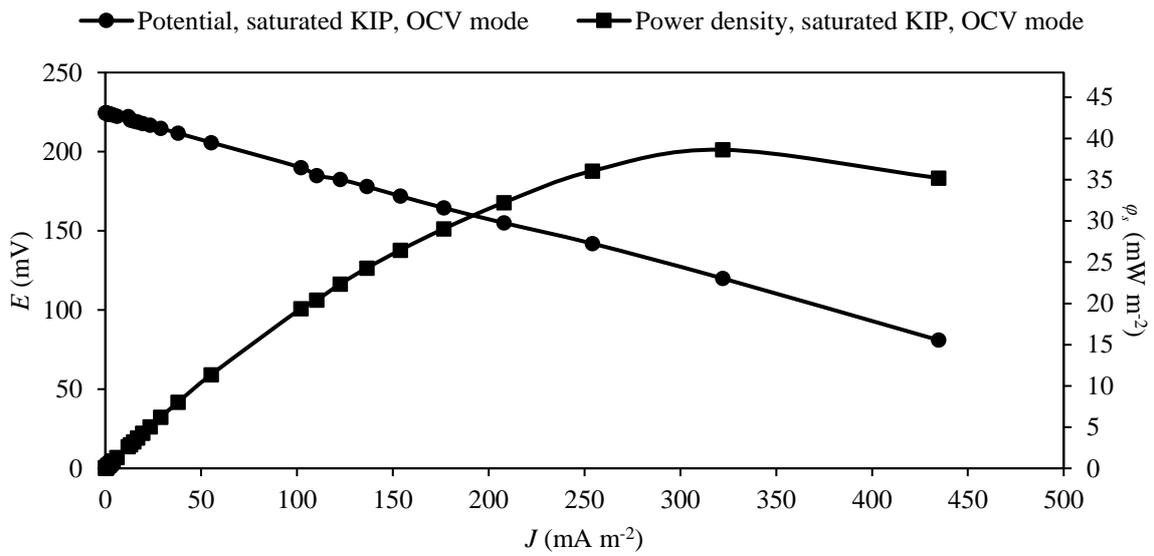


Fig. A1e

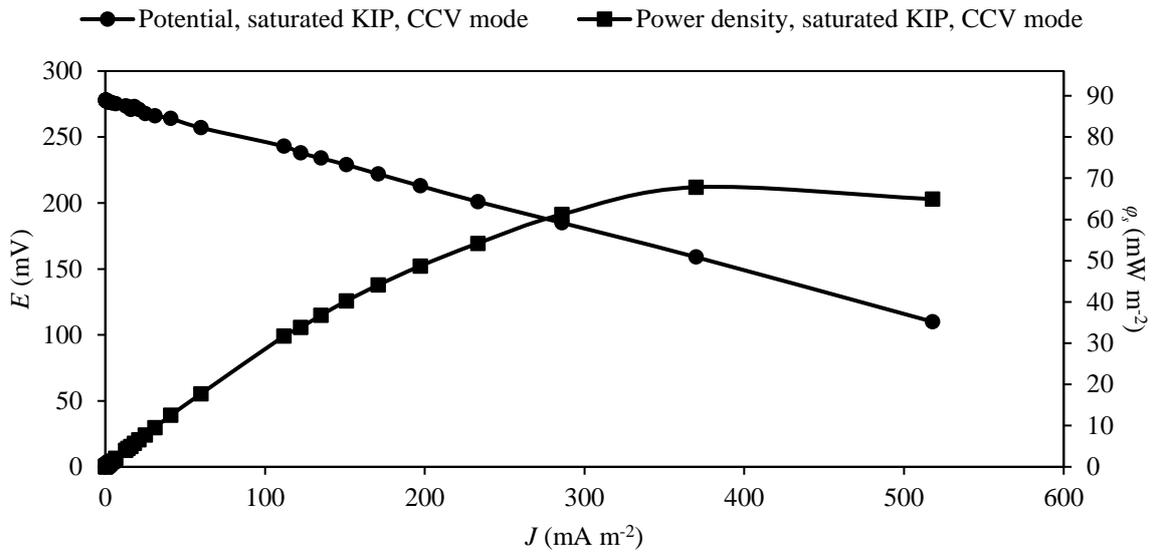


Fig A2. Influence of operative parameters on the MFC potential and power density at start of operation: potential E vs. current density J , and power density ϕ_s vs. current density J : a) Non saturated KIP anode in OCV mode, without biofilm ; b) Non saturated CSV anode in OCV mode; c) Saturated CSV anode in OCV mode; d) Non saturated KIP anode in OCV mode; e) Saturated KIP anode in OCV mode; f) Saturated KIP anode in CCV mode.

Fig. A2a

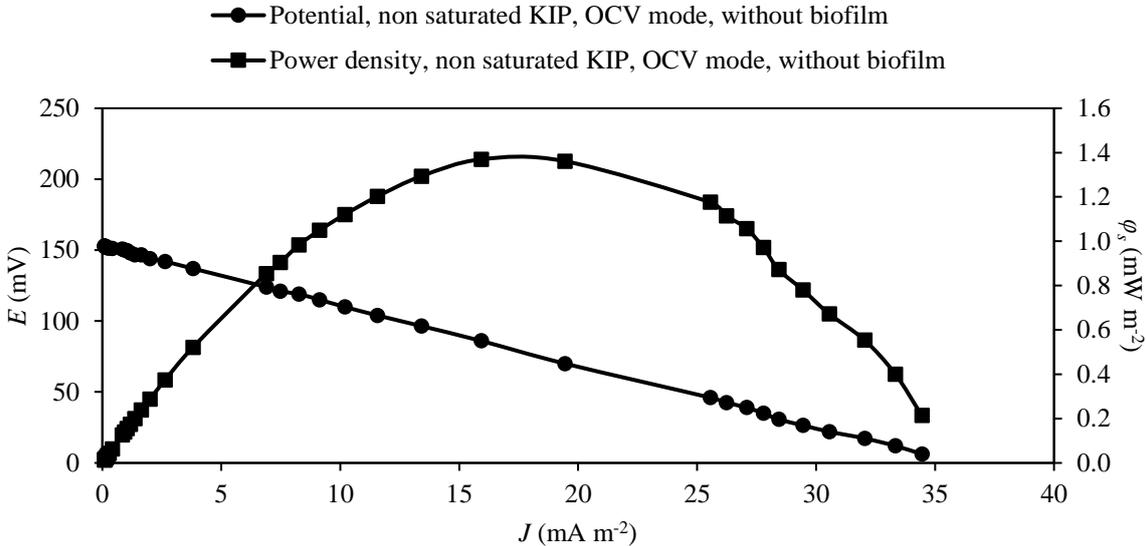


Fig. A2b

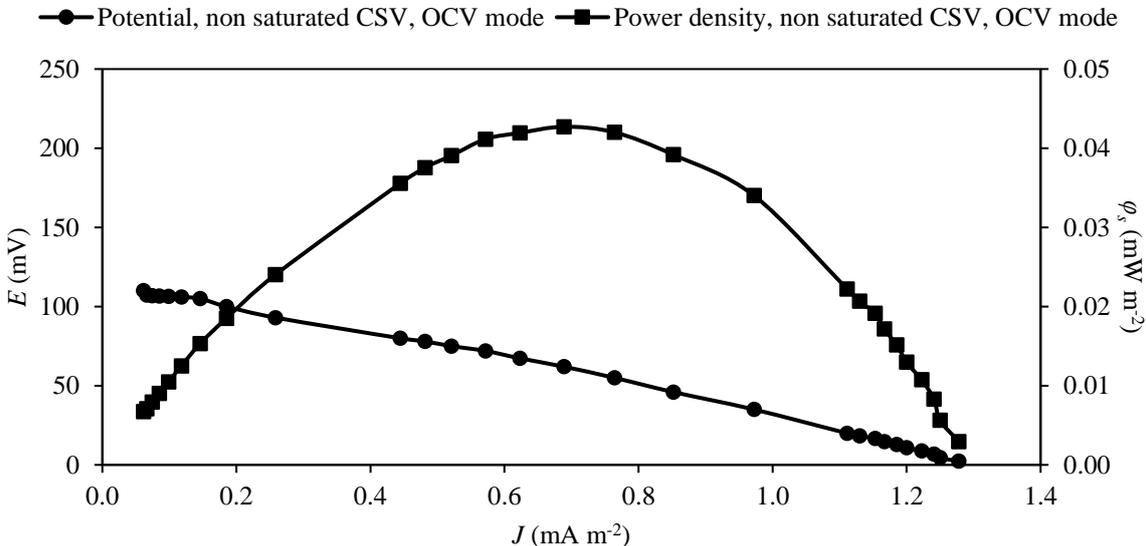


Fig. A2c

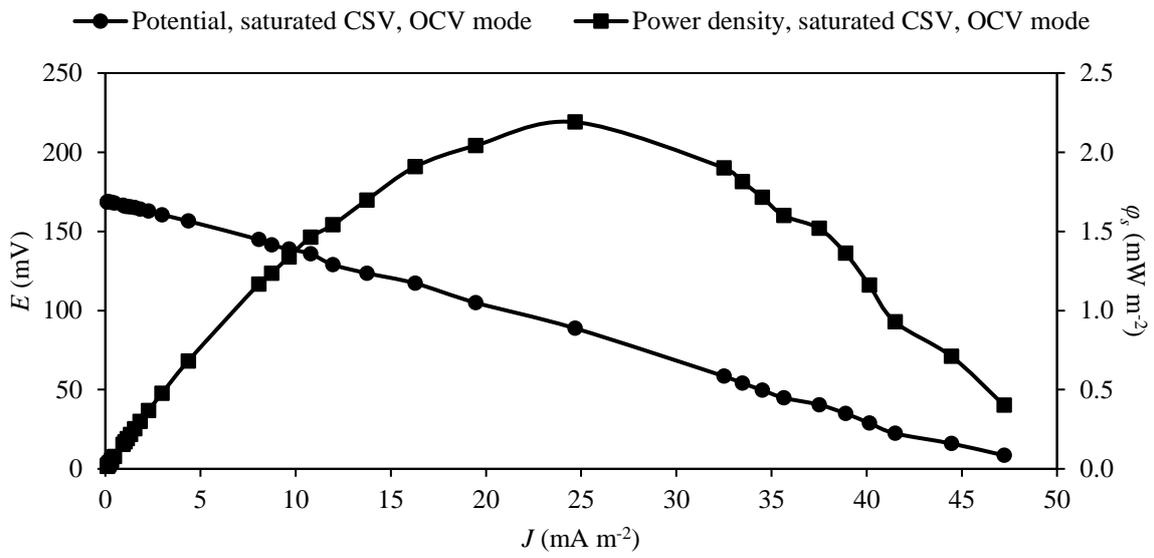


Fig. A2d

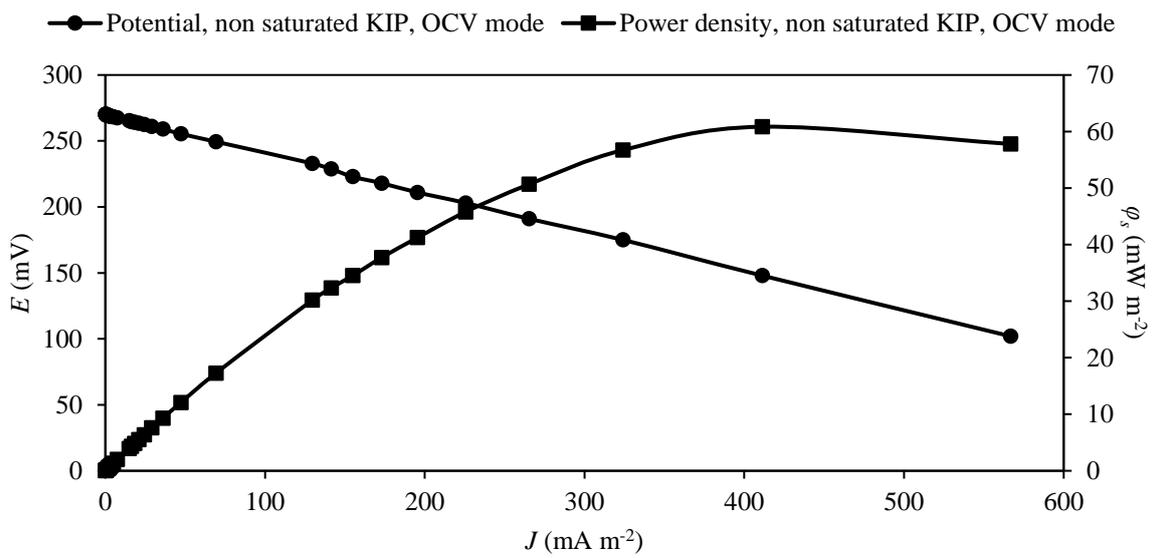


Fig. A2e

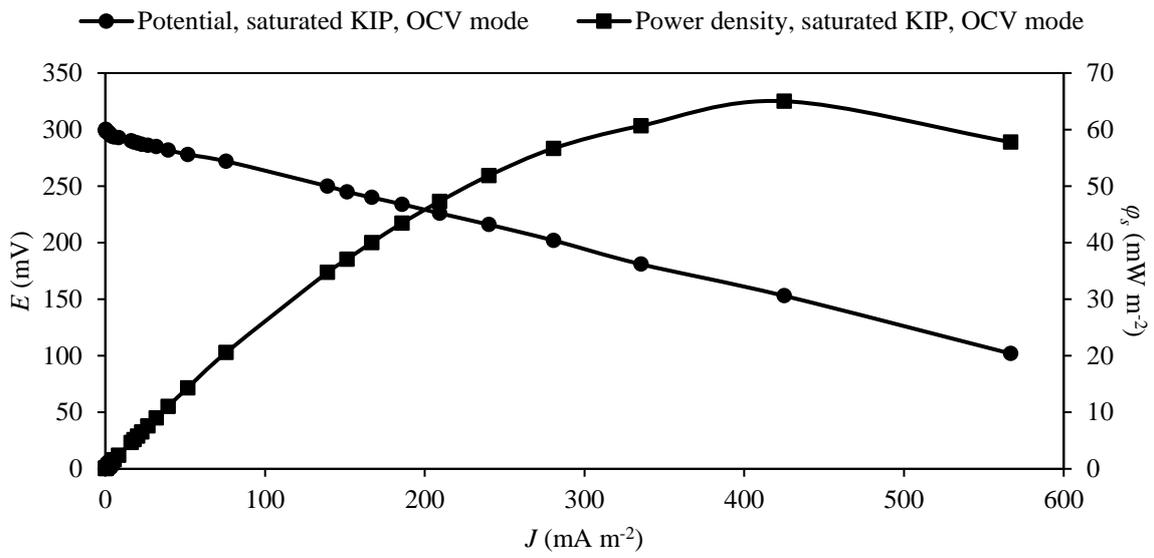
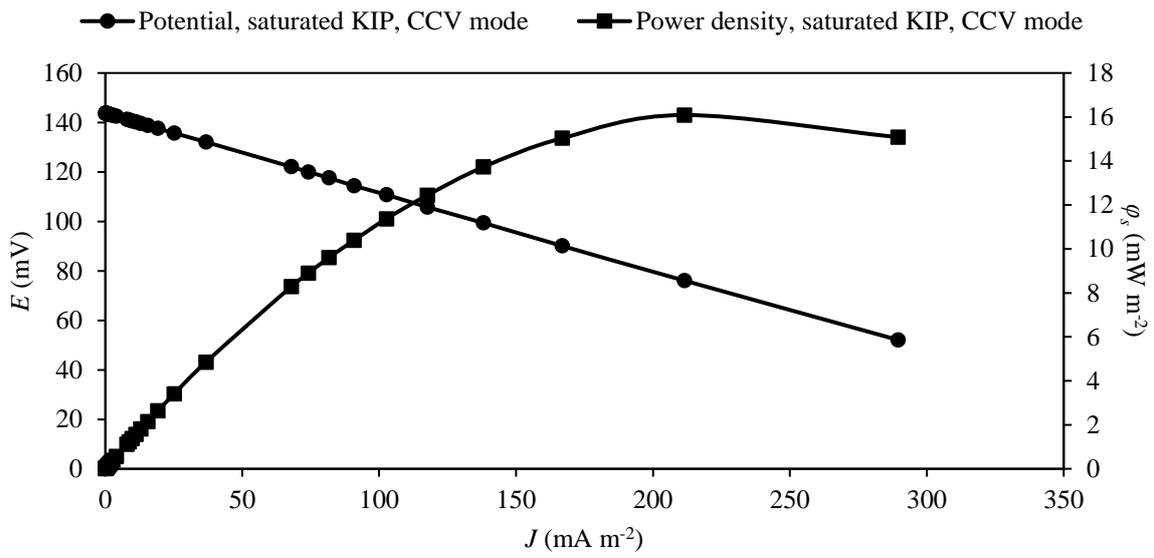


Fig. A2f



Mise au point de biopiles microbiennes

Résumé

L'objectif de ce travail a été d'utiliser les capacités qu'ont les champignons filamenteux pour dégrader les molécules organiques aromatiques par des réactions redox enzymatiques et les immobiliser dans une pile pour générer un courant électrique. Nous avons ainsi conçu une pile microbienne (MFC) qui utilisait le champignon *Trichoderma harzianum* pour éliminer le bleu de méthylène (MB) et le cristal violet (VC), qui sont deux colorants aromatiques nocifs pour l'environnement et la santé. Les électrodes employées (KIP et CSV) provenaient de la société Dacarb - France et étaient constituées de tissu de carbone. L'anode de notre MFC était revêtue d'un biofilm de *T. harzianum*. Nos expériences ont montré à la fois une influence de l'anode et du type de colorant testé. Par exemple, le bleu de méthylène (BM) a été éliminé beaucoup plus rapidement et complètement que le cristal violet (VC), ce qui pourrait être dû à sa structure chimique plus simple. Néanmoins, nous avons constaté que la MFC génère plus d'électricité avec VC en raison d'une libération d'électrons plus importante pendant sa dégradation. Les électrodes ont aussi une influence sur la puissance produite. Elle était toujours plus forte avec KIP, du fait de sa structure plus dense et plus épaisse, ainsi que son caractère hydrophobe plus marqué à l'égard du caractère lui-même hydrophobe de *T. harzianum* : pour VC, elle atteignait $229,6 \text{ W m}^{-3}$ avec KIP et seulement $0,6 \text{ W m}^{-3}$ pour CSV, et pour MB, elle était de 70 W m^{-3} avec KIP et de 39 W m^{-3} avec CSV. Une pré-saturation de l'anode en colorant a permis d'éliminer un phénomène de sorption et a montré une puissance électrique produite plus importante. Des expériences en faisant débiter la MFC ont permis d'augmenter la puissance produite avec MB. Pour optimiser les MFC, des modifications des membranes échangeuses de protons (PEM) ont été faites avec un revêtement de polydopamine seule (« Polydopamine ») ou associée à des particules d'argent et de cuivre à deux concentrations différentes (« Ag 0.35 », « Ag 0.035 », « Cu 0.35 », « Cu 0.035 »), afin de donner aux PEM des propriétés antifouling. Des observations MEB ont confirmé la présence d'argent, tandis que l'EDX a été nécessaire pour prouver la présence de cuivre. L'AFM a montré que le cuivre formait une couche plus fine et dense que l'argent. Des mesures d'angle de contact ont montré le caractère hydrophile de la polydopamine et hydrophobe des particules métalliques. Les mesures de diffusion protonique ont montré que la polydopamine facilitait le transfert de protons, tandis que les particules métalliques le rendaient plus difficile, avec un effet plus marqué pour le cuivre en raison de sa couche plus dense sur les PEM. Ces résultats ont suggéré que les PEM « Polydopamine » et « Ag 0.035 » étaient les moins impactées par le traitement de surface. Les mesures de diamètre d'inhibition ont révélé que le revêtement « Cu 0.35 » semblait le plus efficace pour inhiber la croissance de *T. harzianum*. Les PEM « Cu 0.035 » et « Ag 0.35 » semblaient offrir un équilibre favorable entre conduction protonique et propriétés antifouling pour notre MFC. La PEM « Cu 0.035 » a été choisie, afin de vérifier les hypothèses à propos de l'effet antimicrobien du cuivre. Elle a montré une élimination efficace de MB (80 %) et plus rapide par rapport à une MFC à PEM non modifiée. Ceci a été expliqué par l'apport du cuivre qui a probablement stimulé l'activité de l'enzyme laccase. Les MFC ont fonctionné pendant 4 cycles successifs. L'élimination du MB au cours des cycles est restée efficace mais de plus en plus lente pour la MFC à PEM non modifiée, contrairement à celle contenant la PEM « Cu 0.035 ». De plus, la puissance des deux MFC a fortement diminué, à cause de la formation d'un biofilm sur la PEM. La PEM « Cu 0.035 » n'a donc pas été efficace contre le biofouling. Des observations MEB des PEM après utilisation ont confirmé ces résultats, avec un développement de biofilm accru sur la PEM (« Cu 0.035 »). Une expérience de MFC avec la PEM « Ag 0.35 » ont montré l'absence de fouling, ouvrant une perspective intéressante.

Mots clés : *Trichoderma harzianum*, pile microbienne, bleu de méthylène, cristal violet, bioremédiation, membrane échangeuse de proton, antifouling, cuivre, argent, polydopamine.

Abstract

The aim of this work was to utilize the capabilities of filamentous fungi to degrade aromatic organic molecules through enzymatic redox reactions and to immobilize them in a cell to generate electric current. We designed a microbial fuel cell (MFC) that used the fungus *Trichoderma harzianum* to eliminate methylene blue (MB) and violet crystal (VC), which are two aromatic dyes harmful to both the environment and health. The electrodes used (KIP and CSV) were provided by Dacarb - France and were made of carbon fabric. The anode of our MFC was coated with a biofilm of *T. harzianum*. Our experiments showed both an influence of the anode and the type of dye tested. For example, MB was eliminated much more quickly and completely than VC, which may be due to its simpler chemical structure. Nevertheless, we found that the MFC generated more electricity with VC due to a greater release of electrons during its degradation. The electrodes also had an impact on the power output. It was always higher with KIP, due to its denser and thicker structure, as well as its more pronounced hydrophobic character compared to the inherently hydrophobic nature of *T. harzianum*: for VC, it reached 229.6 W m^{-3} with KIP and only 0.6 W m^{-3} for CSV, and for MB, it was 70 W m^{-3} with KIP and 39 W m^{-3} with CSV. Pre-saturating the anode with dye eliminated a sorption phenomenon and showed a higher electrical power output. Experiments by running the MFC increased the power output with MB. To optimize the MFC, modifications of the proton exchange membranes (PEM) were made with a coating of polydopamine only ("Polydopamine") or combined with silver and copper particles at two different concentrations ("Ag 0.35", "Ag 0.035", "Cu 0.35", "Cu 0.035"), to give the PEM antifouling properties. SEM observations confirmed the presence of silver, while EDX was necessary to prove the presence of copper. AFM showed that copper formed a thinner and denser layer than silver. Contact angle measurements revealed the hydrophilic nature of polydopamine and hydrophobic nature of the metallic particles. Proton diffusion measurements showed that polydopamine facilitated proton transfer, while the metallic particles made it more difficult, with a more pronounced effect for copper due to its denser layer on the PEM. These results suggested that the "Polydopamine" and "Ag 0.035" PEM were the least impacted by surface treatment. Diameter of inhibition measurements revealed that the "Cu 0.35" coating seemed the most effective in inhibiting the growth of *T. harzianum*. The "Cu 0.035" and "Ag 0.35" PEM appeared to offer a favorable balance between proton conduction and antifouling properties for our MFC. The "Cu 0.035" PEM was chosen to verify hypotheses about the antimicrobial effect of copper. It showed effective and faster elimination of MB (80%) compared to an unmodified PEM MFC. This was explained by the contribution of copper, which likely stimulated the activity of the laccase enzyme. The MFCs operated for four successive cycles. The elimination of MB during the cycles remained effective but increasingly slower for the MFC with the unmodified PEM, unlike the one containing the "Cu 0.035" PEM. Moreover, the power of both MFCs decreased significantly due to the formation of a biofilm on the PEM. The "Cu 0.035" PEM was therefore not effective against biofouling. SEM observations of the used PEM confirmed these results, with increased biofilm development on the "Cu 0.035" PEM. An MFC experiment with the "Ag 0.35" PEM showed the absence of fouling, opening an interesting perspective.

Keywords: *Trichoderma harzianum*, microbial fuel cell, methylene blue, violet crystal, bioremediation, proton-exchange membrane, antifouling, copper, silver, polydopamine.