

# Production d'hydrogène par procédés biologiques

Sabah Menia\*, Ilyés Nouicer, Yasmina Bakouri, Abdelhamid M'raoui, Hammou Tebibel, and Abdallah Khellaf

Centre de Développement des Energies Renouvelables, BP 62, Route de l'Observatoire, Bouzaréah, 16340 Alger, Algérie

Received: 19 September 2018 / Accepted: 10 December 2018

**Abstract.** L'hydrogène, s'il est produit à partir de matières premières renouvelables, est une source alternative viable pour remplacer les combustibles fossiles conventionnels en raison de son potentiel énergétique élevé (122 kJ/g). Quand l'hydrogène est utilisé comme carburant, son principal produit de combustion est l'eau, qui peut être recyclée pour produire plus d'hydrogène, mais contrairement aux combustibles fossiles, l'hydrogène n'est pas facilement disponible dans la nature et les méthodes de production couramment utilisées sont assez coûteuses. Actuellement, environ 98 % de l'hydrogène provient des combustibles fossiles. Globalement, 40 % de l'hydrogène est produit à partir de gaz naturel ou de reformage à la vapeur d'hydrocarbures, 30 % à partir de pétrole, 18 % à partir de charbon et 4 % à partir d'électrolyse de l'eau. Cependant, ces processus sont coûteux et pas toujours respectueux de l'environnement. Les procédés biologiques pour la production d'hydrogène peuvent fonctionner dans des conditions opératoires moins énergivores et plus respectueuses de l'environnement par rapport aux méthodes chimiques conventionnelles. Cette approche est non seulement écologique, mais ouvre aussi de nouvelles voies pour l'exploitation de ressources énergétiques renouvelables illimitées. En outre, ils peuvent également utiliser différents déchets, ce qui facilite le recyclage des déchets. La production d'hydrogène biologique utilisant la biomasse riche en hydrates de carbone comme ressource renouvelable est l'une des différentes méthodes dans lesquelles les processus peuvent se produire via un processus anaérobie et un processus de photosynthèse. Dans cet article, les différents procédés biologiques de production de l'hydrogène sont décrits et comparés.

## Nomenclature

AD	digestion anaérobie
ATP	adénosine triphosphate
Fd	ferrédoxine
HRT	temps de rétention hydraulique
NADP <sup>+</sup>	nicotinamide adénine di nucléotide phosphate
PS I	photosystème I
PS II	photosystème II
VFA	acides gras volatils

## 1 Introduction

La demande croissante d'énergie exige des scientifiques, des ingénieurs et une multitude d'équipes de recherche pour développer différents schémas de production d'énergie ayant un impact réduit sur l'environnement [1–6].

Au cours des dernières années, les intérêts de la recherche et du développement ont été orientés vers des technologies

d'énergies renouvelables telles que le solaire, l'éolien et la biomasse. Pour les vecteurs d'énergie alternative, l'hydrogène pourrait être le carburant du futur en raison de sa haute teneur en énergie, du respect de l'environnement et aussi parce qu'il peut donner des qualifications sociales, économiques et environnementales importantes. L'hydrogène peut également être utile pour faire face au réchauffement climatique et à l'augmentation des problèmes de pollution. En outre, il est préférable au méthane en raison de ses applications industrielles plus larges, à savoir H<sub>2</sub> est utilisé dans la synthèse de l'ammoniac et l'hydrogénation de l'huile comestible, du pétrole, du charbon et de l'huile de schiste. L'hydrogène peut être utilisé directement dans les moteurs à combustion en raison de son énergie plus élevée par unité de poids parmi les biocarburants gazeux connus (143 GJ/t) ou pour produire de l'électricité via les technologies des piles à combustible. Ainsi, la création d'une économie de l'hydrogène qui intègre la production et l'utilisation de l'hydrogène comme vecteur énergétique pourrait conduire à des systèmes énergétiques durables dans le futur [7–11].

L'hydrogène peut être produit à partir de processus biologiques moins énergivores et plus respectueux de l'environnement en termes de réduction globale de CO<sub>2</sub>. Ces technologies pour la production de bio-hydrogène

\* Auteur de correspondance: [sabah.menia@gmail.com](mailto:sabah.menia@gmail.com)

renouvelable ont le potentiel de devenir compétitives en termes de coûts car elles peuvent utiliser de la biomasse de faible coût comme matière première, par exemple les déchets municipaux, agricoles, industriels et les eaux usées. Le bio-hydrogène peut être produit par des micro-organismes autotrophes et hétérotrophes. Dans les conversions autotrophes (également connues sous le nom de bio-photolyse directe ou indirecte), l'énergie solaire est directement convertie en hydrogène par des réactions photosynthétiques via des micro-organismes photosynthétiques, à savoir les micro-algues et les bactéries photosynthétiques. Dans des conditions hétérotrophes, les substrats organiques sont transformés en composés organiques plus simples avec production simultanée d'hydrogène moléculaire [12, 13]. Il existe deux types de conversion hétérotrophique, la photo-fermentation réalisée par des bactéries photosynthétiques et la fermentation sombre réalisée par des bactéries anaérobies qui transforment les hydrates de carbone en bio-hydrogène [14].

L'objectif de cette étude est de comparer les différentes techniques de production de bio-hydrogène.

## 2 Étude théorique

### 2.1 Bio-hydrogène

L'hydrogène est l'un des carburants potentiels les plus propres pour l'avenir, car il s'agit d'une alternative prometteuse face aux carburants fossiles classiques, qui sont utilisés sans discernement et nuisent à l'environnement. Le bio-hydrogène est également respectueux de l'environnement car il libère uniquement de la vapeur d'eau et de l'énergie pendant la combustion. L'hydrogène a également la plus haute teneur en énergie, 142 kJ/g ou 61 000 Btu/lb de tous les combustibles connus. Aujourd'hui, 40 % de l'hydrogène est produit à partir de gaz naturel, 30 % à partir de pétrole lourd et de naphta, 18 % à partir de charbon, 4 % à partir de l'électrolyse et 1 % à partir de la biomasse. L'hydrogène est utilisé comme carburant pour un moteur à combustion interne ou comme carburant pour les piles à combustible. Cependant, les plus gros utilisateurs de l'hydrogène sont les industries des engrais et du pétrole avec respectivement 50 % et 37 % de la consommation. Grâce à l'utilisation de ressources énergétiques renouvelables, la durabilité est atteinte et, compte tenu de la crise énergétique et de la pollution environnementale, la production d'hydrogène biologique à température et pression atmosphérique continues attire de plus en plus l'attention à l'heure actuelle [15–21]. Contrairement aux carburants chimiques et électrochimiques, les processus biologiques de production de l'hydrogène sont catalysés par des micro-organismes dans un environnement aqueux à température et à pression atmosphérique optimales. Les caractéristiques de ces micro-organismes diffèrent considérablement les uns des autres en termes de substrat et de conditions de traitement. En outre, ces techniques sont parfaitement adaptées à la production d'énergie décentralisée dans les usines pilotes et à leur emplacement où la biomasse et les déchets sont facilement disponibles, évitant ainsi les coûts énergétiques et les coûts de transport [22, 23].

### 2.2 Méthodes de production de bio-hydrogène

La production d'hydrogène biologique implique l'utilisation de microbes spécialisés (*Clostridium* et *Rhodobacter*) dans un bioréacteur. Les méthodes courantes pour la production de bio-hydrogène comprennent la fermentation sombre, la photo-fermentation, la photolyse directe, la photolyse indirecte et la fermentation séquentielle (Fig. 1) [24].

Certaines enzymes de ces micro-organismes sont très importantes pour leur permettre de produire du bio-hydrogène. Des études récentes du potentiel enzymatique de la production d'hydrogène montrent qu'elles possèdent des groupes de métaux complexes en tant que sites actifs. Dans ce cas, les trois enzymes prédominantes impliquées dans cette réaction sont les suivantes : nitrogénase, Fe-hydrogénase et Ni-hydrogénase dans lesquelles la Fe-hydrogénase est largement utilisée en bio-photolyse et la nitrogénase dans le procédé de photo-fermentation [25].

Diverses méthodes de production de bio-hydrogène ont été expérimentées par différents groupes. [26–29] Les avantages et les inconvénients de ces processus sont résumés dans le tableau 1.

#### 2.2.1 Bio-photolyse de l'eau

La bio-photolyse peut se produire dans diverses espèces de bactéries et d'algues, comme les bactéries photosynthétiques du sol ou de l'eau, ou les algues eucaryotes *Chlamydomonas* de l'espèce *Reinhardt*. La production d'hydrogène dans un environnement durable et écologique pour produire de l'énergie propre à partir de sources renouvelables peut être acquise via la bio-photolyse de l'eau par les cyanobactéries et les algues vertes. Les cyanobactéries et les algues vertes peuvent diviser l'eau en hydrogène et en oxygène en utilisant la lumière du soleil [30, 31]. Le mécanisme de génération de bio-hydrogène via la bio-photolyse ou le processus photo auto trophique est l'hydrogène gazeux constitué à partir de l'eau en utilisant la lumière du soleil comme source unique d'énergie grâce au procédé de l'enzyme hydrogénase par les bactéries et les algues [32].

L'avantage de la bio-photolyse est qu'il n'est pas nécessaire d'ajouter du substrat en tant que nutriments. L'eau est le principal donneur d'électrons nécessaires à la production d'hydrogène gazeux. La lumière du soleil et le CO<sub>2</sub> sont les intrants de base nécessaires à la croissance de cyanobactéries ou de micro-algues par bio-photolyse via l'enzyme hydrogénase [33].

La production d'hydrogène gazeux par les algues vertes et les cyanobactéries est l'une des méthodes qui produisent des énergies renouvelables qui n'émettent pas de gaz à effet de serre avec la disponibilité de ressources abondantes, à savoir l'eau comme substrat et l'énergie solaire comme source d'énergie [34].

Dans le processus de bio-photolyse, l'énergie lumineuse est absorbée par les photosystèmes (PSI et PSII) des micro-algues ; cette énergie est ensuite transférée à travers la chaîne de transport d'électrons, réduisant à son tour la ferrédoxine et fournissant des électrons à l'enzyme hydrogénase. Dans certaines circonstances, comme dans des conditions anaérobies, par exemple à une pression d'hydrogène très faible ou faible, les hydrogénases peuvent fournir une

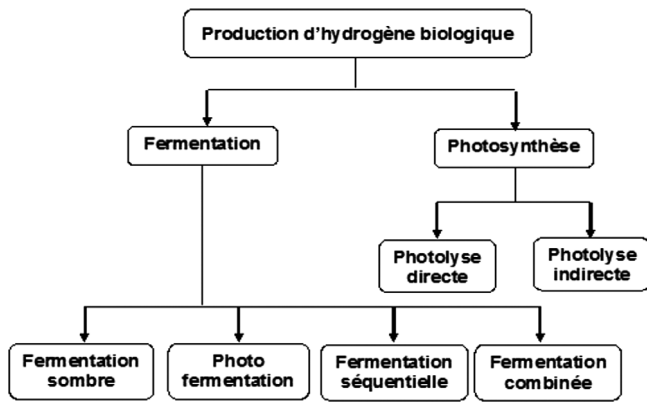


Fig. 1. Méthodes biologiques de production d'hydrogène [24].

solution pour les électrons en excès lorsque le composant de fixation du carbone de la chaîne photosynthétique est perturbé [35].

De nombreuses études ont été rapportées pour la production d'hydrogène par bio-photolyse. L'étude de l'évolution de l'hydrogène en tant que consommation d'équivalent réducteur de l'algue verte *Chlamydomonas* MGA161 a été introduite par Ohta *et al.* [36]. La démonstration d'une photo production prolongée d'hydrogène par *C.reinhardtii* immobilisé, dépourvu de soufre, en utilisant du CO<sub>2</sub> et de l'acétate comme source de carbone avec une intensité lumineuse de 100 μE/m<sup>2</sup>.s est également observée par Laurinavichene *et al.* [37]. Il existe plusieurs types bio-photolyse tels que *Platymonas subcordiformis*, [38] *Chlamydomonas reinhardtii* 137c, [39] *Chlorella sorokiniana* Ce [40] et *Chlamydomonas reinhardtii* CC-124 [41].

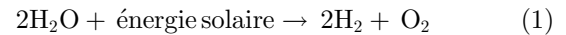
Berberoglu *et al.* [42] ont étudié l'effet des milieux nutritifs sur la production d'hydrogène photo biologique par *Anabaena variabilis* ATCC 29413 en utilisant H<sub>2</sub>O (95 %) et CO<sub>2</sub> (5 %) comme source de carbone et une intensité lumineuse de 150 μE/m<sup>2</sup>.s. La production d'hydrogène à partir des cyanobactéries telles que *Anabaena azollae* [43], *Chroococcidiopsis thermalis* CALU 758 [44], *Anabaena* PCC 7120 et AMC 414 [45], *Synechococcus* sp. H-1 [46] et *Arthrospira* sp. PCC 8005 [47] sont également reportées dans le tableau 2.

Une hydrogénase est une enzyme qui catalyse l'oxydation réversible de l'hydrogène moléculaire. Le but principal de l'étude de l'hydrogénase est de comprendre le mécanisme de la production d'hydrogène, le contrôle du métabolisme cellulaire, et finalement augmenter la production d'hydrogène. Les hydrogénases jouent un rôle essentiel dans la bio-photolyse par les cyanobactéries et les micro-algues vertes [48, 49]. Les hydrogénases ont été classées en fonction des métaux que l'on croyait être sur leurs sites actifs ; trois classes ont été reconnues : fer seulement ([FeFe]-hydrogénase), nickel-fer ([NiFe]-hydrogénase) et les hydrogénases sans métal [50].

### 2.2.1.1 Bio-photolyse directe

La bio-photolyse directe est un processus biologique qui peut produire de l'hydrogène directement à partir de l'eau en utilisant un système de photosynthèse de micro-algues

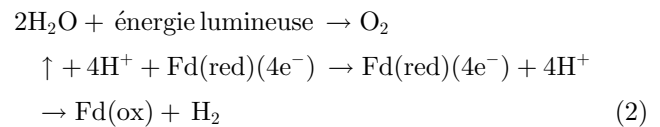
pour convertir l'énergie solaire en énergie chimique sous forme d'hydrogène [33].



En bio-photolyse directe, l'hydrogène est produit par photosynthèse en utilisant l'énergie solaire pour diviser les molécules d'eau. Dans ce processus, la ferrédoxine, l'hydrogénase ou la nitrogénase diminuent également (Fig. 2) [51].

L'avantage de ce procédé est que, même à faible intensité lumineuse, les algues vertes et les conditions anaérobies sont capables de convertir environ 22 % de l'énergie lumineuse en utilisant l'hydrogène comme donneur d'électrons dans le processus de fixation du CO<sub>2</sub>. La sensibilité de l'hydrogénase à l'oxygène est un grand défi pour cette méthode, de sorte que de nouvelles recherches sont nécessaires pour améliorer l'hydrogénase afin qu'elle ne soit pas sensible à l'inactivation de l'oxygène. Les micro-algues possèdent le mécanisme génétique, le transport enzymatique, métabolique et électronique pour produire de l'hydrogène, de sorte que l'hydrogénase est capable de libérer des électrons pour former de l'hydrogène. La synthèse de l'hydrogène permet l'écoulement des électrons à travers la chaîne de transport, ce qui favorise la synthèse de l'adénosine triphosphate (ATP) [32].

Dans la photosynthèse, le processus du photosystème se déroule en deux étapes, le photosystème I (PS I) et le photosystème II (PS II), les deux processus fonctionnent en série. Dans des conditions anaérobies, l'électron provenant de la ferrédoxine réduite est utilisé pour réduire les protons. L'inhibition incomplète de PS II peut générer des conditions anaérobies pour les cellules dans le photo-bioréacteur, car il y a moins d'activités d'oxydation de l'eau pour faire évoluer l'O<sub>2</sub> et les résidus utilisés par la respiration [52].



Dans le photosystème I (PS I), un réducteur est généré pour la réduction du CO<sub>2</sub> tandis que dans le photosystème II (PS II), il y a séparation de l'eau et de l'oxygène. Dans PS II, P680, l'absorption la plus forte par les pigments à des longueurs d'onde inférieures à 680 nm est ensuite transférée au centre de réaction PS II et produit un puissant oxydant capable de libérer des électrons à partir de l'eau. La réduction qui fournit des équivalents réducteurs à travers une série de porteurs d'électrons et de complexe cytochrome au centre de réaction oxydé PS I. Alors que le centre de réaction PS I, la plus forte absorption par le pigment à une longueur d'onde de 700 nm, P700. L'énergie lumineuse absorbée par PS I n'est pas seulement utilisée pour oxyder le centre de réaction, mais aussi pour générer un réducteur puissant capable de réduire le nicotinamide oxydé adénine di nucléotide phosphate (NADP +) en NADPH [53].

Hallenbeck *et al.* [25] ont mentionné que les deux protons de l'eau constituent du gaz hydrogène et induisent simultanément une réduction de CO<sub>2</sub> par PS I. Dans la famille des plantes vertes, en raison de l'absence d'hydrogénase,

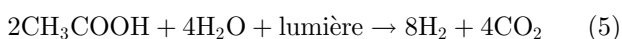
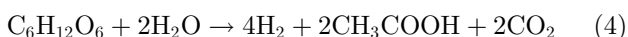
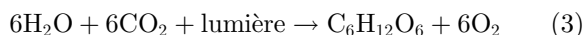
**Tableau 1.** Comparaison des méthodes biologiques de production de l'hydrogène. [24]

Avantages	Inconvénients
<b>1. Photosynthèse de l'hydrogène</b> (photolyse directe et indirecte) <ul style="list-style-type: none"> <li>• Substrat bon marché</li> <li>• Processus simple</li> <li>• Réduction des émissions de gaz à effet de serre</li> </ul>	Faible taux de conversion à bioréacteurs coûteux sont dans photosynthèse de l'hydrogène
<b>2. Photo-fermentation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Taux de conversion élevés des acides organiques</li> <li>• Peut être appliquée après une fermentation sombre</li> </ul>	Lumière exigée à concurrence des méthanogènes sont dans photo-fermentation
<b>3. Fermentation sombre</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Substrats bon marché</li> <li>• Technologie de réacteur simple</li> <li>• Grande productivité</li> <li>• Large gamme de spécialistes microbiens</li> </ul>	Rendements faibles et faible élimination de la DCO sont dans fermentation sombre
<b>4. Fermentation séquentielle</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Taux de production d'hydrogène élevé</li> <li>• Rendement supérieur au processus en une seule étape</li> <li>• Substrats organiques bon marché</li> <li>• Élimination élevée de la DCO des eaux usées</li> <li>• Moins d'acides organiques dans les effluents que dans une seule étape de fermentation</li> </ul>	Coûts d'investissement élevés à des coûts de production plus élevés dans fermentation séquentielle

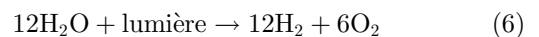
a lieu seulement la réduction de  $\text{CO}_2$ , à la différence les micro-algues et les cyanobactéries ont la capacité de générer de l'hydrogène, car ils possèdent une enzyme hydrogénase. Dans le processus PS II, l'électron est transmis à la ferrédoxine (Fd) en utilisant l'énergie solaire qui est absorbée dans PS I. Comme l'hydrogénase est très sensible à l'oxygène, la quantité d'oxygène doit être surveillée sous 0,1 %, de sorte que l'hydrogène puisse être stocké pour une efficacité maximale.

#### 2.2.1.2 Bio-photolyse indirecte

La bio-photolyse indirecte est un processus biologique qui peut générer de l'hydrogène à partir de l'eau en utilisant un système de micro-algues et de cyanobactéries pour transformer l'énergie solaire en énergie chimique sous la forme d'hydrogène à travers diverses étapes : (i) la production de biomasse par photosynthèse, (ii) la concentration de biomasse, (iii) la fermentation sombre qui produit 4 moles d'hydrogène/mole de glucose dans les algues, ainsi que 2 moles d'acétate, et (iv) la transformation de 2 moles d'acétate en hydrogène. Ce processus peut être classé en deux groupes distincts, dont l'un dépend de la lumière et l'autre est un processus indépendant de la lumière. La réaction est habituellement comme suit [54] :

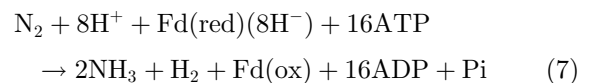


La réaction globale est la suivante :



Comme noté ci-dessus, le mécanisme du processus de photosynthèse de la séparation de l'oxygène et de l'hydrogène subit différentes étapes. L'oxydation des cyanobactéries retient les hydrates de carbone et génère de l'hydrogène. L'énergie nécessaire pour produire de l'hydrogène est également obtenue à partir des réserves d'amidon provenant de l'activité photosynthétique précédente [51].

Dans les cyanobactéries filamenteuses, telles que le genre *Anabaena*, séparant spatialement les deux processus en formant des hétérocystes, la nitrogénase est située dans des hétérocycles à PS I fonctionnels puis catalyse la formation de l'hydrogène. Les iso enzymes de la nitrogénase varient en fonction du nombre d'ions d'hydrogène associés à la fixation [55–57].



## 2.2.2 Fermentation

### 2.2.2.1 Photo-fermentation

Dans la photo-fermentation, l'hydrogène gazeux est produit par des bactéries anaérobies qui métabolisent les acides

**Tableau 2.** Comparaison des conditions optimales et des taux de production de l'hydrogène par les cyanobactéries et les micro-algues vertes.

Organisme	Souches bactériennes	Source de carbone	Intensité lumineuse ( $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ )	Condition optimale		Taux de production de $\text{H}_2$ ( $\text{ml.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ )	Réf.
				pH	T ( $^{\circ}\text{C}$ )		
Micro-algues vertes	<i>Chlamydomonas</i> MGA 161	$\text{CO}_2$ : 5 %, eau : 95 %	115	8	30	4.48	Ohta <i>et al.</i> [36]
	<i>Platymonas subcordiformis</i>	Air; nutriments	101	8	25	0.05	Guan <i>et al.</i> [38]
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-124	$\text{CO}_2$ : 3 %, eau : 97 %, acétate	100	7	28-30	2.2	Tamburic <i>et al.</i> [41]
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> 137c	Acétate-phosphate	110	7.2	25	2.5	Fouchard <i>et al.</i> [39]
	<i>Chlorella sorokiniana</i> Ce	Acétate	120	7.2	30	1.35	Chader <i>et al.</i> [40]
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-124	Eau, $\text{CO}_2$	<200	4-9	20	1.1	Tamburic <i>et al.</i> [41]
Cyanobactéries	<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	$\text{CO}_2$ : 2 %, $\text{N}_2$ : 25 %, Ag : 73 %	140	7.5	30	13	Berberoglu <i>et al.</i> [42]
	<i>Anabaena azollae</i>	$\text{CO}_2$ : 2 %	140	–	–	13	Tsygankov <i>et al.</i> [43]
	<i>Chroococcidiopsis thermalis</i> CALU758	$\text{CO}_2$ : 1 %, eau : 99 %	70	7.5	26	4.03	Serebryakova <i>et al.</i> [44]
	<i>Anabaena</i> PCC7120 and AMC 414	$\text{CO}_2$ : 2 %, eau : 98 %	110-220	8	30	4.9	Lindblad <i>et al.</i> [45]
	<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	$\text{CO}_2$ : 5 %, eau : 95 %	150	6.9 - 7.5	30	0.9	Berberoglu <i>et al.</i> [42]
	<i>Synechococcus</i> sp. Strain H-1	$\text{CO}_2$ : 6 %, eau : 94 %	100	8-8.5	55	0.9	Asami <i>et al.</i> [46]
	<i>Arthrospira</i> sp. PCC 8005	$\text{Fe}^{2+}$ : $\beta$ -mercaptoéthanol	40	7	30	5.91	Raksajit <i>et al.</i> [47]



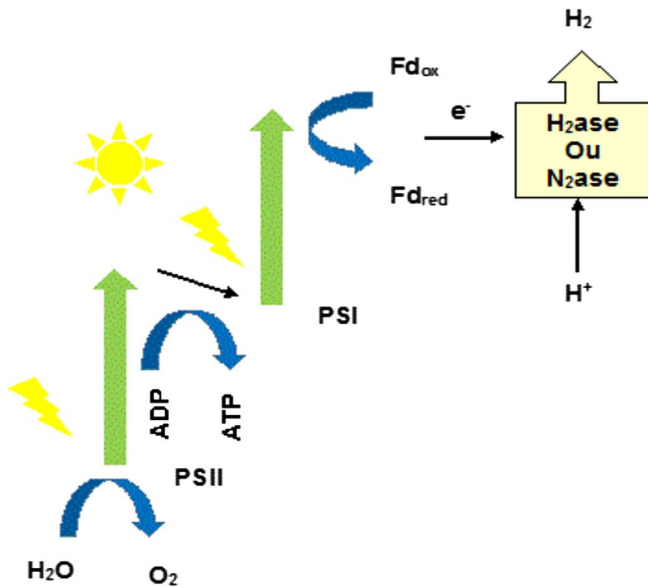


Fig. 2. Bio-photolyse directe d'algues vertes ou de cyanobactéries [51].

organiques volatils, y compris l'acide lactique, l'acide acétique et l'acide butyrique en présence de lumière. Ces acides volatils sont utilisés par les microbes comme source de carbone pour leur métabolisme libérant ainsi de l'hydrogène en tant que sous-produit. Les substrats acides volatils doivent être produits dans un processus séparé tel que la fermentation sombre. La fermentation de l'acide acétique qui est commun dans la fermentation sombre peut libérer quatre moles à travers le processus photosynthétique comme dans l'équation ci-dessous [28] :

$$\Delta G_0 = +104 \text{ kJ}$$



L'énergie positive de Gibbs implique qu'une source d'énergie externe est nécessaire pour la suite du processus. L'énergie lumineuse à cet égard fournit de l'énergie aux microbes. La productivité du processus de photo-fermentation de l'hydrogène est très dépendante de l'énergie lumineuse disponible (Fig. 3) [58].

Une étude utilisant *Rhodobacter sphaeroides* avec divers acides volatils comme source de carbone a rapporté un rendement maximal en hydrogène de 794 mmol H<sub>2</sub>/mole-substrat pour 2 g/l de lactate et 2 g/l de succinate [27]. La conception d'un réacteur de photo-fermentation et la sélection d'un spécialiste en bio-hydrogène sont les facteurs les plus importants pour améliorer les rendements de production [59]. L'utilisation de colonnes ou de tubes transparents est favorable car elle maximise la pénétration de la lumière dans le contenu du réacteur. Une étude de *Rhodobacter sphaeroides* dans un bioréacteur à colonne a montré un fonctionnement optimal à pH 7.5 pour la production d'hydrogène. L'étude a rapporté un taux de production d'hydrogène maximum de 40 ml/1-h [58].

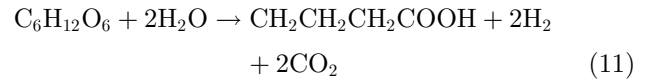
#### 2.2.2.2 Fermentation sombre

Dans la fermentation sombre, l'hydrogène est produit par des substrats glucidiques en l'absence de lumière. Les réactions de fermentation peuvent fonctionner à des températures mésophiles, thermophiles, thermophiles extrêmes ou hyper-thermophiles. Selon la voie de fermentation et les produits finis, la production d'hydrogène varie considérablement en ce qui concerne les espèces bactériennes telles que les *Entérobactéries*, *Bacillus* et *Clostridium* et les diverses formes de glucides préférés en tant que substrats [60]. Le procédé implique la production d'intermédiaires ou de produits chimiques volatils, y compris l'acétate, l'éthanol, le propionate ou le butyrate selon le mécanisme utilisé. La voie qui produit l'acétate est la plus favorable car elle peut donner jusqu'à quatre molécules d'hydrogène par hexose [24].

$$\Delta G_0 = -184.2 \text{ kJ}$$



Lorsque le butyrate est le produit final, on obtient un maximum théorique de 2 mol de H<sub>2</sub> /mol de glucose [60].



L'énergie négative implique que l'énergie est libérée et que le processus peut se poursuivre sans source d'énergie supplémentaire [24].

La production d'hydrogène par ces bactéries dépend fortement des paramètres du processus tels que le pH, le temps de rétention hydraulique (HRT) et la pression partielle du gaz qui affecte l'équilibre métabolique. Ainsi, les produits finis de fermentation produits par une bactérie dépendent des conditions environnementales dans lesquelles elle se développe. Les produits finis de fermentation tels que l'éthanol, le butanol et le lactate contiennent de l'hydrogène qui n'a pas été libéré sous forme gazeuse et pour maximiser le rendement de H<sub>2</sub>, le métabolisme de la bactérie doit être dirigé loin des alcools et des acides gras volatils (VFA). *C. pasteurianum* est un producteur classique de H<sub>2</sub> et de VFA, mais son métabolisme peut être dirigé loin de la production d'hydrogène et vers la production de solvants par de fortes concentrations de glucose, par le CO et en limitant les concentrations de Fe [61].

#### 2.2.2.3 Fermentation séquentielle

La fermentation sombre et la photo-fermentation ont été considérées comme des technologies importantes de production d'hydrogène. Cependant, l'inconvénient du procédé de fermentation sombre/photo-fermentation est un rendement d'hydrogène bas dû à l'accumulation d'acides organiques à chaîne courte et au coût des acides organiques purs. Ces problèmes peuvent être surmontés en adoptant la technique séquentielle de photo-fermentation et de fermentation sombre. Les déchets de la fermentation sombre sont utilisés comme substrat pour les bactéries photosynthétiques dans le processus de photo-fermentation [62, 63]. Le processus séquentiel de fermentation sombre et de photo-fermentation a un rendement d'hydrogène maximum théorique de 12 moles de H<sub>2</sub>/ mole de sucre [64]. La fermentation

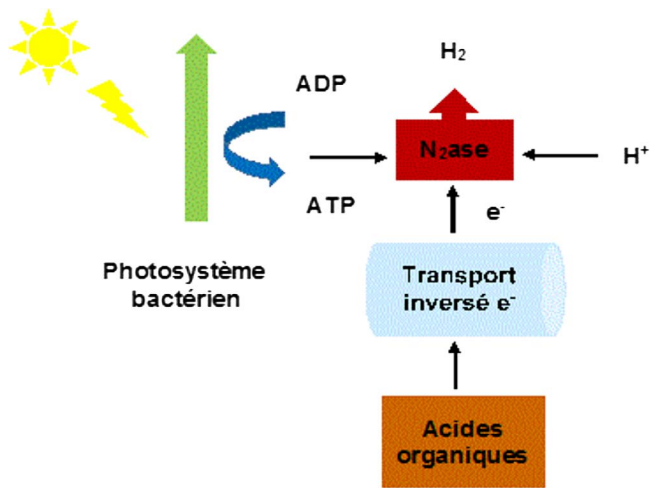
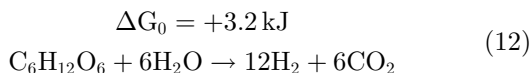


Fig. 3. Processus de photo-fermentation par des bactéries photosynthétiques [51].

séquentielle est une technique prometteuse pour augmenter la production d'hydrogène à partir de déchets riches en hydrates de carbone et d'eaux usées. La technique semble être l'approche la plus attrayante pour fournir de l'énergie propre et durable en fournissant un rendement en hydrogène plus élevé par rapport aux approches en une seule étape de fermentation sombre et de photo-fermentation. (Fig. 4) [65].



Divers chercheurs ont rapporté la technique de la fermentation séquentielle pour augmenter la production d'hydrogène. Le rendement de l'hydrogène produit à partir de l'amidon de manioc par des bactéries mélangées par une combinaison de fermentation sombre et de photo-fermentation a été rapporté par Cheng *et al.* [67]. Dans la phase de fermentation sombre, le rendement maximal en hydrogène était de 2.53 mol H<sub>2</sub>/mol hexose, en utilisant des bactéries anaérobies mixtes. En photo-fermentation, des bactéries mixtes immobilisées ont été utilisées pour produire de l'hydrogène à partir de produits métaboliques solubles de fermentation sombre. Le rendement maximum de l'hydrogène en photo-fermentation était de 3.54 mol H<sub>2</sub>/mol hexose. Le rendement total en hydrogène a considérablement augmenté de 2.53 à 6.07 mol H<sub>2</sub>/mol hexose par des bactéries mixtes et une immobilisation cellulaire combinée à une fermentation sombre et à une photo-fermentation. De même, Su *et al.* [68] ont rapporté que le rendement en hydrogène de l'amidon de manioc a considérablement augmenté, passant de 240.4 ml de H<sub>2</sub>/g d'amidon dans la fermentation sombre à 402.3 ml de H<sub>2</sub>/g d'amidon en mode combiné. Argun et Kargi [69] ont étudié la production d'hydrogène à partir d'amidon de blé usé par séquençage sombre et photo-fermentation. L'effluent a été d'abord fermenté par une fermentation sombre et un rendement d'hydrogène de 1.871 mol de H<sub>2</sub>/mol de glucose a été rapporté dans cette étape. Dans la seconde étape, l'effluent de la fermentation sombre a été soumis à une élimination, une centrifugation

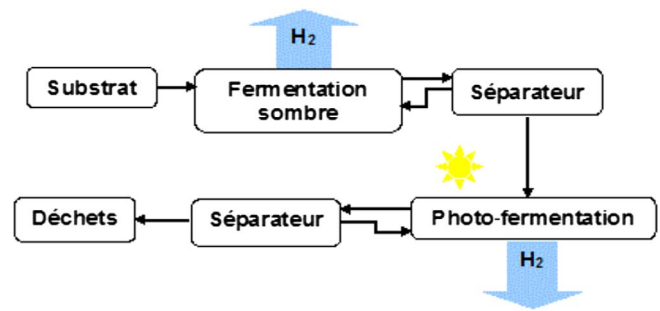


Fig. 4. Schéma de processus de fermentation séquentielle pour la production d'hydrogène à partir de la biomasse [66].

et une dilution de NH<sub>4</sub>-N afin d'obtenir des concentrations initiales d'acides gras volatils totaux (TVFA) et de NH<sub>4</sub>-N appropriés pour la photo-fermentation. Environ 60 % de TVFA initialement présents (2.1 g/L) ont été fermentés par *Rhodobacter sphaeroides* RV à une illumination de 5 Klux avec une lampe halogène, et le rendement en hydrogène était de 2.68 mol de H<sub>2</sub>/mol de glucose. Le rendement global en hydrogène rapporté dans la fermentation séquentielle était de 4.55 mol de H<sub>2</sub>/mol de glucose, ce qui était plus élevé que celui trouvé avec la fermentation sombre seule. Un système intégré en trois étapes comprenant la fermentation sombre, la photo-fermentation et la culture de micro-algues autotrophes pourrait permettre une production d'hydrogène continue et sans CO<sub>2</sub> en utilisant différentes charges, comme rapporté par Lo *et al.* [70]. Le saccharose a été soumis à une fermentation séquentielle en utilisant des bactéries *Clostridium butyricum* CGS5 et *Rhodospseudomonas palustris* WP3-5. La fermentation séquentielle a été effectuée de manière stable pendant près de 80 jours, donnant un rendement d'hydrogène maximal de 11.61 mol H<sub>2</sub>/mol saccharose, qui était plus élevé que ceux trouvés avec la fermentation sombre mono-étape et la photo-fermentation (6.56 et 5.06 mol H<sub>2</sub>/mol saccharose respectivement). Dans la dernière étape, le CO<sub>2</sub> gazeux produit à partir de la fermentation sombre et de la photo-fermentation est directement utilisé par la culture de micro-algues (*Chlorella vulgaris* C-C). Cela pourrait conduire à une amélioration marquée de la viabilité économique du système de production de bio-hydrogène sans CO<sub>2</sub> en trois étapes. Dans une autre étude, un système intégré en trois étapes consistant en une hydrolyse enzymatique, une fermentation sombre et une photo-fermentation a été utilisé pour améliorer la production courante d'hydrogène à partir d'amidon [71]. L'étape de fermentation sombre a donné un rendement en hydrogène de 5.40 mmol de H<sub>2</sub>/g de DCO et une élimination de la DCO d'environ 14,3 %. Ainsi, des processus combinés de fermentation sombre et de photo-fermentation ont permis une amélioration marquée du rendement global de production d'hydrogène (16.1 mmol de H<sub>2</sub>/g de DCO ou 3.09 mol de H<sub>2</sub>/mol de glucose) et ont également permis une élimination de 54,3 % de DCO. Ozgur *et al.* [72] ont rapporté l'étude de la fermentation thermophile séquentielle sombre et de la photo-fermentation pour la production d'hydrogène en utilisant la mélasse de betterave comme substrat, le substrat étant d'abord soumis à une fermentation sombre

en utilisant des bactéries *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* thermophiles comme inoculum.

Dans la fermentation sombre, le rendement en hydrogène était de 2.1 mol H<sub>2</sub>/ mol glucose en l'absence de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Dans la deuxième étape, des prétraitements ont été appliqués à l'effluent de la fermentation sombre, avant la photo-fermentation. Le rendement en hydrogène le plus élevé était de 4.75 mol H<sub>2</sub>/ mol glucose par des bactéries photosynthétiques dans la photo-fermentation. Le rendement global en hydrogène était beaucoup plus élevé, à 6.85 mol de H<sub>2</sub>/mol de glucose. Chen *et al.* [73] ont utilisé avec succès la fermentation séquentielle à deux étapes, non seulement pour augmenter le rendement en hydrogène, mais aussi pour diminuer le niveau de DCO de l'effluent. Tout d'abord, le saccharose a été soumis à une fermentation sombre en utilisant une souche pure de *Clostridium pasteurianum* CH<sub>4</sub>, fonctionnant à 32 °C, pH 7.1 et une concentration en saccharose de 20 000 mg DCO/L, donnant un rendement en hydrogène de 3.80 mol H<sub>2</sub>/mol saccharose. Dans l'étape suivante, le métabolite soluble de la fermentation sombre a été utilisé comme substrat et a donné un rendement total en hydrogène de 10.02 mol H<sub>2</sub>/ mol saccharose en utilisant *Rhodopseudomonas palustris* WP3-5. Le rendement global en hydrogène du procédé en deux étapes a été encore augmenté à 14,2 mol H<sub>2</sub>/mol saccharose avec une élimination de près de 90 % de la DCO lorsque le photo-bioréacteur a été éclairé avec des fibres optiques à lumière latérale et a été complété avec 2.0 % (w/v) de supports d'argile. Tao *et al.* [74] ont employé la photo-fermentation avec *Rhodobacter sphaeroides* SH2C pour convertir les acides gras produits pendant la fermentation sombre en hydrogène et augmenter le rendement total en hydrogène de 1.84 mol H<sub>2</sub>/mol hexose en fermentation sombre à 3.32 mol H<sub>2</sub>/mol hexose en utilisant les deux processus de fermentation. (Tab. 3).

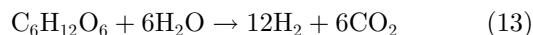
Ainsi, les techniques de fermentation séquentielle ont le potentiel d'augmenter la production de bio-hydrogène et les rendements des déchets industriels ou de la biomasse. Cependant, la fermentation séquentielle n'était pas économique en raison du nombre accru de réacteurs et des besoins d'espace supplémentaire [75]. Ainsi que la diminution de la pénétration de la lumière à cause des solides en suspension sont les problèmes majeurs dans les processus de fermentation séquentielle. Les coûts de production pour la fermentation séquentielle pourraient être réduits en développant des schémas de traitement plus efficaces et en associant la production d'hydrogène aux industries produisant des déchets [65].

#### 2.2.2.4 Fermentation combinée

La production d'hydrogène par fermentation de matières premières riches en hydrates de carbone présente des avantages significatifs par rapport aux procédés chimiques coûteux en raison de son fonctionnement dans des conditions douces. Cependant, un obstacle majeur à la production de bio-hydrogène est la faible productivité de l'hydrogène et les temps de séjour importants [76–79]. La technique combinée de la fermentation sombre et de la photo-fermentation permet de minimiser le temps de fermentation et d'augmenter le rendement en hydrogène.

En outre, la fermentation sombre combinée à la photo-fermentation est beaucoup plus efficace que la fermentation sombre et la photo-fermentation seules. Le processus combiné photo-sombre pourrait probablement atteindre la productivité théorique maximale en hydrogène de 12 mol H<sub>2</sub>/ mol de glucose (Fig. 5) [65].

$$\Delta G_0 = + 3.2 \text{ kJ}$$



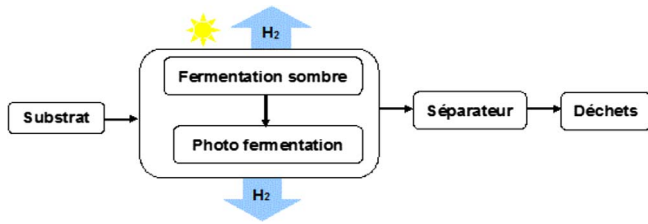
Seul un nombre limité d'études sur la fermentation combinée ont été mentionnées pour améliorer la production d'hydrogène à partir de matériaux riches en hydrates de carbone. Liu *et al.* [80] ont étudié la culture mixte de bactéries de fermentation sombre et de photo-fermentation (*Clostridium butyricum* et *Rhodopseudomonas faecalis* RLD-53) dans diverses proportions et utilisées pour la production d'hydrogène à partir de glucose. Une productivité maximale de 1.98 mol d'hydrogène/ mol de glucose a été obtenue lorsque le rapport entre *Clostridium butyricum* et *Rhodopseudomonas faecalis* RLD-53 était de 1/600 dans une culture mixte. La productivité en hydrogène (1.98 mol de H<sub>2</sub>/ mol de glucose) de la culture mixte était supérieure à celle obtenue avec une culture pure de *C. butyricum* (1.80 mol de H<sub>2</sub>/ mol de glucose). Dans une autre étude, Liu *et al.* [81] ont rapporté la production d'hydrogène en mélangeant *Clostridium butyricum* et *Rhodopseudomonas faecalis* RLD-53 dans des cultures discontinues utilisant le glucose comme substrat. Une productivité d'hydrogène beaucoup plus grande a été obtenue (5.16 mol de H<sub>2</sub>/ mol de glucose), et celle-ci a été améliorée pour atteindre 5.34 mol de H<sub>2</sub>/ mol de glucose, lorsque le rapport de dilution de l'effluent, le rapport entre les bactéries sombres et photo-fermentaires et l'intensité lumineuse étaient de 1:0.5, 1:2 et 10.25 W/m<sup>2</sup>, respectivement.

Miyake *et al.* [82] ont rapporté une production d'hydrogène à partir de glucose dans une culture discontinue et ont observé une augmentation du rendement en hydrogène de 1.1 mol H<sub>2</sub>/mol glucose à 7 mol H<sub>2</sub>/mol glucose en utilisant une co-culture de *Clostridium butyricum* et la bactérie photosynthétique non soufrée *Rhodopseudomonas sphaeroides* RV avec une concentration initiale en glucose de 5 g/L. Cependant, lorsque *Clostridium butyricum* et *Rhodopseudomonas sphaeroides* sont cultivées avec 5.04 g/L de glucose dans des conditions similaires, le rendement en hydrogène était beaucoup plus élevé (0.60 ml H<sub>2</sub>/ml milieu) qu'avec une culture pure de *Rhodopseudomonas sphaeroides* (0.56 ml H<sub>2</sub>/ml milieu) [83]. Yokoi *et al.* [84] ont obtenu un rendement plus élevé en hydrogène (4.5 mol/mol de glucose) en utilisant une co-culture mixte de *Clostridium butyricum* et de *Rhodobacter sphaeroides* que celui obtenu avec une fermentation sombre en une seule étape (1.9 mol de H<sub>2</sub>/mol de glucose). L'hydrogène gazeux a été produit à partir du glucose en utilisant le processus combiné de co-culture fermentation sombre et photo-fermentation [85], avec *Ethanoligenens harbinense* B49 et *Rhodopseudomonas faecalis* RLD-53 immobilisé comme inoculum. Le rendement maximal de 3.10 mol H<sub>2</sub>/mol de glucose a été obtenu en co-culture, quand la concentration en glucose de 6 g/L, la concentration en tampon



**Tableau 3.** Production de bio-hydrogène par fermentation séquentielle.

Inoculum	Substrat	Rendement en H <sub>2</sub> / fermentation sombre	Rendement en H <sub>2</sub> / photo-fermentation	Rendement en H <sub>2</sub> /fermentation séquentielle	Réf
Boues activées et PSB immobilisé ( <i>Rhodopseudomonas palustris</i> )	Amidon de manioc	2.53 mol H <sub>2</sub> / mol hexose	3.54 mol H <sub>2</sub> / mol hexose	6.07 mol H <sub>2</sub> / mol hexose	Cheng <i>et al.</i> [67]
Boues activées préchauffées et <i>Rhodopseudomonas palustris</i>	Amidon de manioc	240.4 ml H <sub>2</sub> /g d'amidon	131.9 ml H <sub>2</sub> /g d'amidon	402.3 ml H <sub>2</sub> /g d'amidon	Su <i>et al.</i> [68]
Boues anaérobies et <i>Rhodobacter sp. RV</i>	Solution de poudre de blé	1.87 mol H <sub>2</sub> / mol glucose	2.68 mol H <sub>2</sub> / mol glucose	4.55 mol H <sub>2</sub> / mol glucose	Argun et Kargi [69]
<i>C. butyricum et Rhodopseudomonas palustris</i>	Glucose	1.59 mol H <sub>2</sub> / mol glucose	4.16 mol H <sub>2</sub> / mol glucose	5.48 mol H <sub>2</sub> / mol glucose	
<i>Ethanoligenens harbinense B49 et Rhodopseudomonas faecalis RLD-5</i>	Glucose	1.83 mol H <sub>2</sub> / mol glucose	3.15 mol H <sub>2</sub> / mol glucose	6.32 mol H <sub>2</sub> / mol glucose	
<i>C. butyricum et Rhodopseudomonas palustris</i>	Amidon	5.40 mmol H <sub>2</sub> /g DCO	10.72 mmol H <sub>2</sub> /g DCO	16.1 mmol H <sub>2</sub> /g DCO	Lo <i>et al.</i> [71]
<i>C. butyricum CGS5 et Rhodopseudomonas palustris WP3-5</i>	Saccharose	6.56 mol H <sub>2</sub> / mol saccharose	5.06 mol H <sub>2</sub> / mol saccharose	11.61 mol H <sub>2</sub> / mol saccharose	Lo <i>et al.</i> [70]
<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus DSM 8903 et Rhodobacter capsulatus</i> type sauvage, <i>R. capsulatus hup_ mutant</i> et <i>Rhodopseudomonas palustris</i>	Mélasse de betterave à sucre	2.1 mol H <sub>2</sub> / mol glucose	4.75 mol H <sub>2</sub> / mol glucose	6.85 mol H <sub>2</sub> / mol glucose	Ozgur <i>et al.</i> [72]
<i>C. butyricum, la co-culture d'Enterobacter aerogenes et Rhodobacter sp. M-19</i>	Amidon de patate douce + liqueur de maïs	2.7 mol H <sub>2</sub> / mol hexose	4.5 mol H <sub>2</sub> / mol hexose	7.2 mol H <sub>2</sub> / mol hexose	
Bactéries anaérobies et <i>Rhodopseudomonas capsulata</i>	Glucose	1.36 mol H <sub>2</sub> / mol glucose	3.2 mol H <sub>2</sub> / mol glucose	4.56 mol H <sub>2</sub> / mol glucose	
Bouse de bovins et <i>Rhodobacter sphaeroides SH2C</i>	Saccharose	1.84 mol H <sub>2</sub> / mol hexose	1.48 mol H <sub>2</sub> /mol hexose	3.32 mol H <sub>2</sub> / mol hexose	Tao <i>et al.</i> [74]



**Fig. 5.** Schéma de processus de fermentation combinée pour la production d'hydrogène à partir de la biomasse [66].

phosphate de 50 mmol/L et le pH initial de 7.5 ont été contrôlés dans le milieu. Le rendement en hydrogène de la co-culture *E. harbinense* B49 et du système *R. faecalis* RLD-53 immobilisé a augmenté de 43.3 % par rapport à celui trouvé avec la monoculture *E. harbinense* B49 (1.95 mol H<sub>2</sub>/mol glucose).

La production d'hydrogène à partir de glucose dans l'étude de la fermentation combinée de Ding *et al.* [86] a utilisé une co-culture de *Clostridium butyricum* et de *Rhodopseudomonas faecalis* RLD-53 immobilisé, et le rendement en hydrogène était de 4.134 mol H<sub>2</sub>/mol glucose dans 6 g/L de glucose, 50 mmol/L de tampon phosphate, un pH initial de 7.5, un rapport bactérien de 1:10 et une intensité lumineuse de 8000 lux. Dans cette étude, *Rhodopseudomonas faecalis* RLD-53 peut utiliser l'acétate produit par *Clostridium butyricum* pour produire plus d'hydrogène en co-culture (4.134 mol H<sub>2</sub>/mol glucose) que dans la monoculture de *Clostridium butyricum* (1.92 mol H<sub>2</sub>/mol glucose). Une conception de Plackett-Burman et une méthode de conception composite centrale ont été utilisées pour augmenter la production d'hydrogène à partir du saccharose à travers la fermentation sombre et la photo-fermentation combinée sous un éclairage de 4 klux par Sun *et al.* [87]. On rapporte que le rendement en hydrogène passe de 1.83 mol H<sub>2</sub>/mol hexose pour la culture pure de *C. acidisoli* DSM12555 à 4.13 mol H<sub>2</sub>/mol glucose pour la co-culture dans des conditions de culture optimales (11.43 g de saccharose, pH de 7.13, et ratio d'inoculum de 0.83). Ozmihi et Kargi [88] ont effectué les essais de fermentation combinée afin d'améliorer la production d'hydrogène en utilisant de l'amidon de poudre de blé comme substrat. Le mélange d'inoculum utilisé comme boue anaérobie traitée thermiquement et de culture pure de *C. beijerinckii* (DSMZ 791T) a été combiné avec deux bactéries de photo-fermentation différentes de *Rhodobacter sphaeroides* (RS-NRRL et RS-RV). Le rendement en hydrogène obtenu par la combinaison de boues anaérobies traitées thermiquement et de *Rhodobacter sphaeroides*-NRRL (0.36 mol H<sub>2</sub>/mol glucose) était supérieur à celui trouvé avec la culture pure de *C. beijerinckii* (0.14 mol H<sub>2</sub>/mol glucose). Asada *et al.* [89] ont obtenu un rendement maximal en hydrogène de 7.1 mol de H<sub>2</sub>/mol de glucose parmi toutes les études de fermentation combinées rapportées. Une co-culture d'anaérobies facultatifs, *Lactobacillus delbrueckii* NBRC 13953 et *Rhodobacter sphaeroides*-RV a été utilisée comme souche bactérienne, et les expériences ont été réalisées avec une concentration initiale en glucose de 4.5 g/L, un pH de 6.8 et une température de 30°C. Le rendement en hydrogène le plus élevé a été rapporté au rapport optimal de

concentration bactérienne de *L. delbrueckii* à *Rhodobacter sphaeroides*-RV de 1:5 (Tab. 4).

Cependant, la fermentation combinée dans les systèmes à une seule étape a un succès limité pour la production d'hydrogène en raison de la dureté pour atteindre les états optimaux pour les différents organismes et à équilibrer la vitesse de réaction pour atteindre un consortium stable et réduire la pénétration de la lumière dans les systèmes de fermentation mixtes [90]. La faible performance des procédés combinés de fermentation sombre et de photo-fermentation pour la génération d'hydrogène peut être surmontée en choisissant et en employant une souche unique plus efficace pour réaliser la fermentation sombre et la photo-fermentation, optimiser les états environnementaux, améliorer l'efficacité d'utilisation de la lumière et créer des bioréacteurs plus efficaces [65].

## 2.3 Bioréacteurs

### 2.3.1 Photo-bioréacteur

La conception d'un photo-bioréacteur dépend des processus microbiologiques associés aux micro-algues, aux diatomées et aux cyanobactéries. Alors que ces bactéries photo-hétérotrophes diffèrent par leur efficacité photochimique, leur coefficient d'absorption et leur taille, le régime de lumière incluant les cycles de lumière et d'obscurité est supposé être beaucoup plus déterminant que les facteurs biologiques [112]. Par conséquent, la productivité d'un photo-bioréacteur dépend de la lumière et un rapport surface/volume élevé est une condition préalable à l'obtention d'un photo-bioréacteur productif pour une exposition optimale de la lumière aux algues. Des dispositions pour le contrôle thermique et la surveillance des débits, du pH et de l'oxygène dissous, du soufre et de l'hydrogène sont essentielles. Le développement technique s'oriente maintenant vers la conception de systèmes étanches aux gaz, de la culture de micro-algues ainsi que de systèmes de surveillance contrôlés par ordinateur, ainsi que de la délivrance automatique d'éléments nutritifs et de la dilution de la culture.

Les photos bioréacteurs ont été conçus pour obtenir une multiplication rapide et économique et une densité élevée de la culture de micro-algues [113]. Un apport de lumière adéquat est vital et les limitations de lumière doivent être réduites au minimum. Les rendements de conversion de la lumière sont faibles (théoriquement pas plus de 10 %) et ont tendance à diminuer à des intensités lumineuses plus élevées en raison de l'effet de saturation de la lumière [112]. Par conséquent, pour une production efficace de bio-hydrogène, il est essentiel de diluer la lumière et de la répartir sur le volume du réacteur, puis de mélanger la culture à des vitesses élevées, de sorte que les cellules ne soient exposées à la lumière que pendant une courte période.

La configuration exacte du bioréacteur doit également être établie pour une utilisation plus efficace de la lumière et de la surface. Le mélange de biomasse est donc important pour assurer une dispersion uniforme des nutriments et l'éclairage de la culture, ainsi que pour empêcher la sédimentation de la culture. Le piégeage et l'élimination de l'hydrogène gazeux dans le système sont également des

**Tableau 4.** Production de bio-hydrogène par fermentation combinée.

Inoculum	Substrat	Rendement en H <sub>2</sub> /fermentation sombre	Rendement en H <sub>2</sub> /photo-fermentation	Rendement en H <sub>2</sub> /fermentation combinée	Réf
<i>C. butyricum</i> DSM 10702 et <i>Rhodobacter</i>	Glucose	0.5 ml H <sub>2</sub> /ml milieu	0.55 ml H <sub>2</sub> /ml milieu	0.6 ml H <sub>2</sub> /ml milieu	Miyake et al. [82]
<i>Enterobacter cloacae</i> souche DM 11 et souche <i>Rhodobacter sphaeroides</i> O.U.001	Glucose	1.86 mol H <sub>2</sub> /mol glucose	1.5-1.72 mol H <sub>2</sub> /mol acide acétique	NR	
Boues anaérobies et mélange de <i>Rhodobacter sp.</i> (NRRL B-1727) <i>Rhodobacter sp.</i> (DSMZ-158) <i>Rhodopseudomonas palustris</i> (DSMZ-127) <i>Rhodobacter sp.</i> RV	Amidon de blé	1.32 mol H <sub>2</sub> /mol glucose	1.25 mol H <sub>2</sub> /mol glucose	1.16 mol H <sub>2</sub> /mol glucose	Ozmihci et Kargi [88]
<i>C. butyricum</i> et <i>Rhodobacter sp.</i> M-19	Amidon + extrait de levure + glutamate	1.9 mol H <sub>2</sub> /mol glucose	1.7 mol H <sub>2</sub> /mol glucose	6.6 mol H <sub>2</sub> /mol glucose	Yokoi et al. [84]

**Tableau 5.** Comparaison de différents systèmes de production de bio-hydrogène.

Réacteur	Stock d'alimentation	Rendement maximum en H <sub>2</sub>	Réf
<b>Fermentation</b>			
<b>Fermentation sombre</b>			
CSTR	Amidon	0,52 L/h/L et 13,2 mmol H <sub>2</sub> /g sucre total	[91]
Batch	Glycérol	0,41 mol H <sub>2</sub> /mol glycérol	[92]
FBR	Saccharose	4,26 mol H <sub>2</sub> /mol saccharose	[93]
Batch	Déchets alimentaires	593 ml H <sub>2</sub> /g glucides	[94]
Batch	Fumier de porc	18,7 × 10 <sup>-3</sup> g H <sub>2</sub> par g TVS	[95]
Batch	Saccharose	4,3 mol H <sub>2</sub> /mol saccharose	[96]
Batch	Fructose, sorbitol, glucose	1,27 ; 1,46 et 1,51 mol H <sub>2</sub> /substrat	[97]
Batch	Amidon, glucose	465 ml H <sub>2</sub> /g amidon, 3,1 mol H <sub>2</sub> /mol glucose	[98]
Batch	Déchets alimentaires	39,14 ml H <sub>2</sub> /g	[99]
Batch	Glycérol brut	64,24 mmol H <sub>2</sub> /L	[100]
Batch	Eaux usées	1 L H <sub>2</sub> /L	[101]
Batch	Lactosérum	94,2 L H <sub>2</sub> /kg	[102]
Batch	Jacinthe d'eau	76,7 ml H <sub>2</sub> /g	[103]
Batch	Déchets de blé	25,7 ml H <sub>2</sub> /g/h	[104]
<b>Photo-fermentation</b>			
CSTR	Saccharose	5,81 mol H <sub>2</sub> /mol hexose	[105]
Batch	Amidon de blé	201 ml H <sub>2</sub> /g	[106]
Batch	Mélasses	0,5 mmol H <sub>2</sub> /L	[107]
Batch	Mélasses de betterave	10,5 mol H <sub>2</sub> /mol saccharose	[108]
Batch	Saccharose	14 mol H <sub>2</sub> /mol saccharose	[108]
Batch	Acides organiques dérivés de la lignocellulose	7 ml H <sub>2</sub> /ml	[109]

(Continued on next page)

**Tableau 5.** (Continued)

Réacteur	Stock d'alimentation	Rendement maximum en H <sub>2</sub>	Réf
<b>Photosynthèse</b>			
<b>Photolyse directe</b>			
Batch	Lactate	54 ml/h.g	[110]
<b>Photolyse indirecte</b>			
Batch	Arabinose et xylose	14,55 mmol H <sub>2</sub> /g (arabinose); 13,73 mmol H <sub>2</sub> /g xylose	[111]

considérations importantes pour la conception des photos bioréacteurs [114].

### 2.3.2 Bioréacteurs à fermentation sombre

Des études sur des bioréacteurs produisant de l'hydrogène en discontinu, semi-continu et continu ont été menées. La fermentation discontinue de l'hydrogène entraîne normalement des taux de production d'hydrogène inférieurs à ceux de sa contrepartie semi-continue ou continue. Du point de vue de l'ingénierie, la production continue d'hydrogène est préférable. Outre le réacteur à agitation continue largement étudié (CSTR), de nombreux procédés de bioréacteurs à hydrogène tels que le réacteur séquentiel discontinu anaérobie (ASBR), le bioréacteur à membrane (MBR), le bioréacteur à lit fixe, le bioréacteur à lit fluidisé et le bioréacteur à boue anaérobie à flux ascendant (UBAS) ont été développés avec des rendements et une production élevés (Tableau 5) [115].

L'influence de la configuration du réacteur sur la production d'hydrogène a été évaluée en examinant les systèmes CSTR et les réacteurs à lit fluidisé anaérobie (AFBR) avec boues granulaires pour la production d'hydrogène [116–119]. Les taux maximaux de production d'hydrogène des boues en suspension, des boues granulaires CSTR, des boues granulaires AFBR et des boues de biofilm étaient essentiellement corrélés à la concentration de la biomasse, indiquant que la performance du système est largement influencée par la rétention de biomasse du réacteur. Par rapport au CSTR, une plus grande rétention de biomasse a été retenue dans le réacteur AFBR (35 g-VSS /litre par rapport à 16 g-VSS/litre), qui pourrait être attribué à la structure intrinsèque du réacteur. Un rapport hauteur/diamètre de section plus grand du réacteur à colonne, tel que AFBR, peut être un avantage en faveur de la séparation solide/liquide et de la rétention de la biomasse, d'où la production d'hydrogène. Il convient de souligner que Wu *et al.* ont signalé le taux de production d'hydrogène le plus élevé, jusqu'à 15 litres/litre, qui a été réalisé par un système CSTR à base de granulés avec un temps de rétention hydraulique de 0,5 h [120]. La concentration de biomasse de la culture CSTR maintenue à un niveau de 32,5 g-VSS/litre, qui était comparable à celle du système AFBR actuel, mais était deux fois supérieure à celle du CSTR actuel.

## 3 Conclusion

En conclusion, la production organique d'hydrogène est l'engagement le plus difficile de la dernière décennie, alors

que la demande énergétique mondiale augmente, les ressources fossiles sont réduites et la nécessité de réduire au minimum les émissions de gaz à effet de serre devient de plus en plus inquiétante.

Étant donné que l'oxydation partielle des hydrocarbures fossiles fonctionne à des températures élevées, les méthodes chimiques nécessitent des coûts d'exploitation très élevés. Il est nécessaire de développer un nouveau procédé pour obtenir de l'hydrogène avec un faible coût de production. La voie biologique a un potentiel comme alternative aux technologies renouvelables actuelles (photovoltaïque, éolienne, ...), car elle offre des avantages prometteurs tels que l'exploitation dans des conditions douces et un taux de conversion acceptable.

Différentes technologies sont utilisées pour la production biologique d'hydrogène, y compris la bio-photolyse de l'eau par les cyanobactéries et les micro-algues vertes, la photo-fermentation, la fermentation sombre et les processus bio-électrochimiques. La production d'hydrogène en utilisant des systèmes de bio-photolyse par des cyanobactéries et des micro-algues vertes devient une méthode alternative de récupération de l'énergie gazeuse et peut être appliquée dans la production d'énergie renouvelable.

Dans la fermentation sombre, la conversion de composés organiques en hydrogène par un processus complexe implique un groupe divers de bactéries avec une série de réactions biochimiques. Lors de la photo-fermentation, la conversion des composés organiques en hydrogène gazeux ne peut avoir lieu qu'en présence de lumière. En combinant les deux processus, c'est actuellement l'approche la plus intéressante qui peut être utilisée pour augmenter la production d'hydrogène. Dans ce processus, en plus d'avoir des niveaux plus élevés de production d'hydrogène, un fonctionnement rapide et simple, il peut être utilisé avec une variété de déchets organiques comme substrats. Ainsi, par rapport à la production d'hydrogène par photosynthèse, la production d'hydrogène par fermentation est plus adaptée pour produire de l'énergie plus propre et pour traiter les déchets organiques plus efficacement.

Les progrès de la recherche et du développement ont montré un potentiel prometteur pour la production de bio-hydrogène en tant que biocarburant pour l'avenir, ainsi que sa capacité à réduire la dépendance aux combustibles fossiles et les émissions de carbone. L'avènement de l'hydrogène en tant qu'énergie renouvelable aura des implications économiques importantes et le bio-hydrogène va jouer un rôle important dans une future économie de l'hydrogène. Pour que les progrès actuels en matière



de recherche sur le bio-hydrogène atteignent un niveau de maturité technologique supérieure, il convient de surmonter les obstacles scientifiques et technologiques. Il est donc important d'intensifier la Recherche & Développement dans le domaine de la production d'hydrogène.

## References

- 1 Algapani D.E., Qiao W., Su M., di Pumpo F., Wandera S.M., Adani F., Dong R. (2016) Bio-hydrolysis and bio-hydrogen production from food waste by thermophilic and hyper thermophilic anaerobic process, *Bioresour. Technol.* **216**, 768–777.
- 2 Chandolias K., Pardaev S., Taherzadeh M.J. (2016) Bio hydrogen and carboxylic acids production from wheat straw hydrolysate, *Bioresour. Technol.* **216**, 1093–1097.
- 3 Jariyaboon R., O-Thong S., Kongjan P. (2015) Bio-hydrogen and bio-methane potentials of skim latex serum in batch thermophilic two-stage anaerobic digestion, *Bioresour. Technol.* **198**, 198–206.
- 4 Kumar G., Bakonyi P., Periyasamy S., Kim S.H., Nemestóthy N., Bélafi-Bakó K. (2015a) Lignocellulose bio hydrogen: practical challenges and recent progress, *Renew. Sust. Energ. Rev.* **44**, 728–737.
- 5 Pachapur V.L., Sarma S.J., Brar S.K., Le Bihan Y., Buelna G., Verma M. (2015) Bio hydrogen production by co-fermentation of crude glycerol and apple pomace hydrolysate using co-culture of *Enterobacter aerogenes* and *Clostridium butyricum*, *Bioresour. Technol.* **193**, 297–306.
- 6 Kumar G., Mudhoo A., Sivagurunathan P., Nagarajan D., Ghimire A., Lay C.H., Lin C.Y., Lee D.J., Chang J.S. (2016) Recent insights into the cell immobilization technology applied for dark fermentative hydrogen production, *Biore-sour. Technol.* **219**, 725–737.
- 7 Marbán G., Valdés-Solís T. (2007) Towards the hydrogen economy? *Int. J. Hydrogen Energy* **32**, 1625–1637.
- 8 Kotay S.M., Das D. (2008) Bio hydrogen as a renewable energy resource – prospects and potentials, *Int. J. Hydrogen Energy* **33**, 258–263.
- 9 Kothari R., Singh D.P., Tyagi V.V., Tyagi S.K. (2012) Fermentative hydrogen production – an alternative clean energy source, *Renew. Sustain. Energy. Rev.* **16**, 2337–2346.
- 10 Alves H.J., Bley Junior C., Niklevicz R.R., Frigo E.P., Frigo M.S., Coimbra-Araújo C.H. (2013) Overview of hydrogen production technologies from biogas and the applications in fuel cells, *Int. J. Hydrogen Energy* **38**, 5215–5525.
- 11 Ekins P., Hughes N. (2009) The prospects for a hydrogen economy (1): hydrogen futures, *Technol. Anal. Strateg. Manage.* **21**, 783–803.
- 12 Das D., Veziroglu T. (2008) Advances in biological hydrogen production processes, *Int. J. Hydrogen Energy* **33**, 6046–6057.
- 13 Li C., Fang H.H.P. (2007) Fermentative hydrogen production from wastewater and solid wastes by mixed cultures, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **37**, 1–39.
- 14 Ghimire A., Frunzo L., Pirozzi F., Trabaly E., Escudie R., Lens P.N.L., Esposito G. (2015) A review on dark fermentative bio hydrogen production from organic biomass: process parameters and use of by-products, *Applied Energy* **144**, 73–95.
- 15 Sinha P., Pandey A. (2011) An evaluative report and challenges for fermentative bio hydrogen production, *Int. J. Hydrogen Energy* **36**, 7460–7478.
- 16 Das D. (2009) Advances in bio hydrogen production process: an approach towards commercialization, *Int. J. Hydrogen Energy* **34**, 7349–7457.
- 17 Suzuki Y. (1982) On hydrogen as fuel gas, *Int. J. Hydrogen Energy* **7**, 227–230.
- 18 Nath K., Das D. (2003) Hydrogen from biomass, *Curr. Sci.* **85**, 265–271.
- 19 Boyles D. (1984) *Bioenergy technology – thermodynamics and costs*, Wiley, New York.
- 20 Benemann J.R. (1996) Hydrogen biotechnology: progress and prospects, *Nat. Biotechnol.* **14**, 1101–1103.
- 21 Momirlan M., Veziroglu T.N. (2002) Current status of hydrogen energy, *Renew. Sustain. Energy Rev.* **6**, 141–179.
- 22 Das D., Veziroglu T.N. (2001) Hydrogen production by biological processes: a survey of literature, *Int. J. Hydrogen Energy* **26**, 13–28.
- 23 Nandi R., Sengupta S. (1998) Microbial production of hydrogen: an overview, *Crit. Rev. Microbiol.* **24**, 61–84.
- 24 Arimi M.M., Knodel J., Kiprop A., Namango S.S., Zhang Y., Geißen S.U. (2015) Strategies for improvement of bio hydrogen production from organic-rich wastewater: a review, *Biomass Bioenergy* **75**, 101–118.
- 25 Hallenbeck P.C., Benemann J.R. (2002) Biological hydrogen production: fundamentals and limiting processes, *Int. J. Hydrogen Energy* **27**, 1185–1193.
- 26 Benemann J.R. (2000) Hydrogen production by microalgae, *J. Appl. Phycol.* **12**, 3–5, 291–300.
- 27 Han H., Liu B., Yang H., Shen J. (2012) Effect of carbon sources on the photo biological production of hydrogen using *Rhodobacter sphaeroides* RV, *Int. J. Hydrogen Energy* **37**, 17, 12167–12174.
- 28 Ren N., Li J., Li B., Wang Y., Liu S. (2006) Bio hydrogen production from molasses by anaerobic fermentation with a pilot-scale bioreactor system, *Int. J. Hydrogen Energy* **31**, 15, 2147–2157.
- 29 Chen C.Y., Yang M.H., Yeh K.L., Liu C.H., Chang J.S. (2008) Bio hydrogen production using sequential two-stage dark and photo fermentation processes, *Int. J. Hydrogen Energy* **33**, 18, 4755–4762.
- 30 Hallenbeck P.C., Kochian K.V., Weissman J.C., Benemann J.R. (1978) Solar energy conversion with hydrogen producing cultures of the blue-green alga, *Anabaena cylindrica*, *Biotechnol. Bioeng. Symp.* **8**, 283–297.
- 31 Miyamoto K., Hallenbeck P.C., Benemann J.R. (1979) Solar energy conversion by nitrogen limited cultures of *Anabaena cylindrica*, *J. Ferment. Technol.* **57**, 287–293.
- 32 Ghirardi M.L., Zhang L., Lee J.W., Flynn T., Seibert M., Greenbaum E., et al. (2000) Microalgae: a green source of renewable H<sub>2</sub>, *Trends Biotechnol.* **18**, 506–511.
- 33 Azwar M.Y., Hussain M.A., Abdul-Wahab A.K. (2014) Development of bio hydrogen production by photo biological, fermentation and electrochemical processes: A review, *Renew. Sust. Energ. Rev.* **31**, 158–173.
- 34 Maness P.C., Yu J., Eckert C., Ghirardi M.L. (2009) Photo biological hydrogen production – prospects and challenges, *Microbe* **4**, 6, 275–280.
- 35 Akkerman I., Janssen M., Rocha J.M.S., Reith J.H., Wijffels R.H. (2003) *Photo biological hydrogen production: photochemical efficiency and bioreactor design*, Dutch Biological Hydrogen Foundation, Pet-ten, The Netherlands, pp. 124–145.
- 36 Ohta S., Miyamoto K., Miura Y. (1987) Hydrogen evolution as a consumption mode of reducing equivalents in green algal fermentation, *J. Plant. Physiol.* **83**, 1022–1026.

- 37 Laurinavichene T.V., Fedorov A.S., Ghirardi M.L., Seibert M., Tsygankov A.A. (2006) Demonstration of sustained hydrogen photo production by immobilized, sulphur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii* cells, *Int. J. Hydrogen Energy* **31**, 659–667.
- 38 Guan Y.F., Deng M.C., Yu X.J., Zhang W. (2004) Two-stage photo biological production of hydrogen by marine green alga *Platymonas subcordiformis*, *Biochem. Eng. J.* **19**, 69–73.
- 39 Fouchard S., Hemschemeier A., Caruana A., Pruvost J., Legrand J., T. Happe T. (2005) Autotrophic and mixotrophic hydrogen photo production in sulphur-deprived *Chlamydomonas* cells, *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 6199–6205.
- 40 Chader S., Haceneb H., Agathos S.N. (2009) Study of hydrogen production by three strains of *Chlorella* isolated from the soil in the Algerian Sahara, *Int. J. Hydrogen Energy* **34**, 4941–4946.
- 41 Tamburic B., Zemichael F.W., Maitland G.C., Hellgardt K. (2010) Parameters affecting the growth and hydrogen production of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*, *Int. J. Hydrogen Energy* **35**, 1–5.
- 42 Berberoglu H., Jenny J., Laurent P. (2008) Effect of nutrient media on photo biological hydrogen production by *Anabaena variabilis* ATCC 29413, *Int. J. Hydrogen Energy* **33**, 1172–1184.
- 43 Tsygankov A.A., Hall D.O., Liu J., Rao K. (1998) An automated helical photo bioreactor incorporating cyanobacteria for continuous hydrogen production, in: *Bio hydrogen*, Zaborsky O.R. (ed), Plenum Press, London, pp. 431–440.
- 44 Serebryakova L.T., Sheremetieva M.E., Lindblad P. (2000) H<sub>2</sub>-uptake and evolution in the unicellular cyanobacteria *Chroococciopsis thermalis* CALU 758, *Plant Physiol. Biochem.* **38**, 525–530.
- 45 Lindblad P., Christensson K., Lindberg P., Fedorov A., Pinto F., Tsygankov A. (2002) Photo production of H<sub>2</sub> by wild type *Anabaena* PCC 1720 and a hydrogen uptake deficient mutant: from laboratory to outdoor culture, *Int. J. Hydrogen Energy* **27**, 1271–1282.
- 46 Asami K., Fujioaka M., Yamamoto T., Ohtaguchi K. (2011) Production of hydrogen by thermophilic Cyanobacteria *Synechococcus* sp. strain H-1, *J. Chem. Eng. Jpn.* **44**, 37–43.
- 47 Raksajit W., Satchasataporn K., Lehto K., Maenpaa P., Incharoensakdi A. (2012) Enhancement of hydrogen production by the filamentous non-heterocystous cyanobacterium *Arthrospira* sp. PCC 8005, *Int. J. Hydrogen Energy* **37**, 18791–18797.
- 48 Adams M.W.W., Stiefel E.I. (1998) Biological hydrogen production: not so elementary, *Science* 1842–1843.
- 49 Frey M. (2002) Hydrogenases: hydrogen-activating enzymes, *Chem. Bio. Chem.* **3**, 153–160.
- 50 Vignais P.M., Billoud B., Meyer J. (2001) Classification and phylogeny of hydrogenases, *FEMS Microbiol. Rev.* **25**, 455–501.
- 51 Hallenbeck P.C., Ghosh D. (2009) Advances in fermentative bio hydrogen production: the way forward, *Trends Biotechnol.* **27**, 5, 287–297.
- 52 Wykoff D.D., Davies J.P., Melis A., Grossman A.R. (1998) The regulation of photosynthetic electron transport during nutrient deprivation in *Chlamydomonas reinhardtii*, *Plant Physiol.* **117**, 129–139.
- 53 Akkerman I., Janssen M., Rocha J.M.S., Reith J.H., Wijffels R.H. (2002) Photo biological hydrogen production: photochemical efficiency and bioreactor design, *Int. J. Hydrogen Energy* **27**, 1195–1208.
- 54 Gaudernack B. (1998) Photo production of hydrogen: Annex 10 of the IEA Hydrogen Program, in: *Proceedings of the 12th WHEC, hydrogen energy progress XII* vol 3, 2011–2023.
- 55 Stal L.J., Krumbein W.E. (1985) Oxygen protection of nitrogenase in the aerobically nitrogen fixing, non-heterocystous *Cyanobacterium Oscillatoria* sp., *Arch. Microbiol.* **143**, 72–76.
- 56 Stal L.J., Krumbein W.E. (1987) Temporal separation of nitrogen fixation and photosynthesis in the filamentous, non-heterocystous cyanobacterium *Oscillatoria* sp., *Arch. Microbiol.* **149**, 76–80.
- 57 Brentner L.B., Peccia J., Zimmerman J.B. (2010) Challenges in developing bio hydrogen as a sustainable energy source: implications for a research agenda, *Environ. Sci. Technol.* **44**, 2243–2254.
- 58 Akroum-Amrouche D., Abdi N., Lounici H., Mameri N. (2011) Effect of physico-chemical parameters on bio hydrogen production and growth characteristics by batch culture of *Rhodobacter sphaeroides* CIP 60.6, *Appl. Energy* **88**, 6, 2130–2135.
- 59 Basak N., Das D. (2009) Photo fermentative hydrogen production using purple non-sulfur bacteria; *Rhodobacter sphaeroides*-OU 001 in an annular photo bioreactor: a case study, *Biomass Bioenergy* **33**, 6, 911–919.
- 60 Hawkes F.R., Dinsdale R., Hawkes D.L., Hussy I. (2002) Sustainable fermentative bio hydrogen: challenges for process optimization, *Int. J. Hydrogen Energy* **27**, 1339–1347.
- 61 Dabrock B., Bahl H., Gottschalk G. (1992) Parameters affecting solvent production by *Clostridium pasteurianum*, *Appl. Environ. Microbiol.* **58**, 1233–1239.
- 62 Afsar N., Ozgur E., Gurgan M., Akko S., Yucel M., Gunduz U., Eroglu I. (2011) *Int. J. Hydrogen Energy* **36**, 432.
- 63 Perera K.R.J., Ketheesan B., Gadhamshetty V., Nirmalakhandan N. (2010) *Int. J. Hydrogen Energy* **35**, 12224.
- 64 Claassen P.A.M., de Vrije T. (2006) *Int. J. Hydrogen Energy* **31**, 1416.
- 65 Singh L., Wahid Z.A. (2015) Methods for enhancing bio-hydrogen production from biological process: a review, *J. Ind. Eng. Chem.* **21**, 70–80.
- 66 Redwood M.D., Macaskie L.E., Beedle M.P. (2009) *Rev. Environ. Sci. Biotechnology* **8**, 149.
- 67 Cheng J., Su H.B., Zhou J.H., Song W.L., Cen K.F. (2011) *Int. J. Hydrogen Energy* **36**, 450.
- 68 Su H.B., Cheng J., Zhou J.H., Song W.L., Cen K.F. (2009) *Int. J. Hydrogen Energy* **34**, 1780.
- 69 Argun H., Kargi F. (2010) *Int. J. Hydrogen Energy* **35**, 1595.
- 70 Lo Y.C., Chen C.Y., Lee C.M., Chang J.S. (2010) *Int. J. Hydrogen Energy* **35**, 10944.
- 71 Lo Y.C., Chen S.D., Chen C.Y., Huang T.I., Lin C.Y., Chang J.S. (2008) *Int. J. Hydrogen Energy* **33**, 5224.
- 72 Ozgur E., Mars A.E., Peksell B., Louwerse A., Yucel M., Gunduz U., Claassen P.A.M., Eroglu I. (2010) *Int. J. Hydrogen Energy* **35**, 511.
- 73 Chen C.Y., Yang M.H., Yeh K.L., Liu C.H., Chang J.S. (2008) *Int. J. Hydrogen Energy* **33**, 4755.
- 74 Tao Y., He Y., Wu Y., Liu F., Li X., Zong W., Zhou Z. (2008) *Int. J. Hydrogen Energy* **33**, 963.
- 75 Ren N.Q., Wang A.J., Cao G.L., Xu J.F., Gao L.F. (2009) *Biotechnol. Adv.* **27**, 1051.
- 76 Kapdan I.K., Kargi F. (2006) *Enzyme Microb. Technol.* **38**, 271.
- 77 Sigal A., Leiva E.P.M., Rodriguez C.R. (2014) *Int. J. Hydrogen Energy* **39**, 8204.

- 78 Manish S., Banerjee R. (2008) *Int. J. Hydrogen Energy* **33**, 279.
- 79 Ni M., Leung D.Y.C., Leung M.K.H., Sumathy K. (2006) *Fuel Process. Technol.* **87**, 461.
- 80 Liu B.F., Ren N.Q., Tang J., Ding J., Liu W.Z., Xu J.F., Cao G.L., Guo W.Q., Xie G.J. (2010) *Int. J. Hydrogen Energy* **35**, 2858.
- 81 Liu B.F., Ren N.Q., Xie G.J., Ding J., Guo W.Q., Xing D.F. (2010) *Bioresour. Technol.* **101**, 5325.
- 82 Miyake J., Mao X.Y., Kawamura S., Ferment J. (1984) *J. Ferment. Technol.* **62**, 531.
- 83 Fang H.H.P., Zhu H., Zhang T. (2006) *Int. J. Hydrogen Energy* **31**, 2223.
- 84 Yokoi H., Mori S., Hirose S., Takasoki Y., Takasoki T. (1998) *Biotechnol. Lett.* **20**, 895.
- 85 Xie G.J., Feng L.B., Ren N.Q., Ding J., Liu C., Xing D.F., Qian G.W., Ren H.Y. (2010) *Int. J. Hydrogen Energy* **35**, 1929.
- 86 Ding J., Liu B.F., Ren N.Q., Xing D.F., Guo W.Q., Xu J.F., Xie G.J. (2009) *Int. J. Hydrogen Energy* **34**, 3647.
- 87 Sun Q., Xiao W., Xi D., Shi J., Yan X., Zhou Z. (2010) *Int. J. Hydrogen Energy* **35**, 4076.
- 88 Ozmihi S., Kargi F. (2010) *J. Ind. Microbiol. Biotechnol* **37**, 341.
- 89 Asada Y., Tokumoto M., Aihara Y., Oku M., Iahimi K., Wakayama T., Miyake J., Tomiyama M., Kohno H. (2006) *Int. J. Hydrogen Energy* **31**, 1509.
- 90 Redwood M.D., Macaskie L.E. (2006) *Int. J. Hydrogen Energy* **31**, 1514.
- 91 Chen S.D., Lo Y.C., Lee K.S., Huang T.I., Chang J.S. (2009) Sequencing batch reactor enhances bacterial hydrolysis of starch promoting continuous bio-hydrogen production from starch feedstock, *Int. J. Hydrogen Energy* **34**, 8549–8557.
- 92 Seifert K., Waligorska M., Wojtowski M., Laniecki M. (2009) Hydrogen generation from glycerol in batch fermentation process, *Int. J. Hydrogen Energy* **34**, 3671–3678.
- 93 Lin C.N., Wu S.Y., Chang J.S., Chang J.S. (2009) Bio hydrogen production in a three-phase fluidized bed bioreactor using sewage sludge immobilized by ethylene-vinyl acetate copolymer, *Bioresour. Technol.* **100**, 3298–3301.
- 94 Yasin Nazlina H.M., Aini R., Ismail F., Zulkhairi M., Hassan M.A. (2009) Effect of different temperature, initial pH and substrate composition on bio hydrogen production from food waste in batch fermentation, *Asian J. Biotechnology* **1**, 42–50.
- 95 Zhu J., Li Y., Wu X., Miller C., Chen P., Ruan R. (2009) Swine manure fermentation for hydrogen production, *Bioresour. Technol.* **100**, 5472–5477.
- 96 Gadhamshetty V., Johnson D.C., Nirmalakhandan N., Smith G.B., Deng S. (2009) Feasibility of bio hydrogen production at low temperatures in unbuffered reactors, *Int. J. Hydrogen Energy* **34**, 1233–1243.
- 97 Ghosh D., Hallenbeck P.C. (2009) Fermentative hydrogen yields from different sugars by batch cultures of metabolically engineered *Escherichia coli* DJT135, *Int. J. Hydrogen Energy* **34**, 7979–7982.
- 98 Kargi F., Pamukoglu M.Y. (2009) Dark fermentation of ground wheat starch for bio-hydrogen production by fed-batch operation, *Int. J. Hydrogen Energy* **34**, 2940–2946.
- 99 Han W., Ye M., Zhu A.J., Zhao H.T., Li Y.F. (2015) Batch dark fermentation from enzymatic hydrolyzed food waste for hydrogen production, *Bioresour. Technol.* **191**, 24–29.
- 100 Chookaew T., O-Thong S., Prasertsan P. (2015) Bio hydrogen production from crude glycerol by two stage of dark and photo fermentation, *Int. J. Hydrogen Energy* **40**, 7433–7438.
- 101 Wicher E., Seifert K., Zagrodnik R., Pietrzyk B., Laniecki M. (2013) Hydrogen gas production from distillery wastewater by dark fermentation, *Int. J. Hydrogen Energy* **38**, 7767–7773.
- 102 Moreno R., Escapa A., Cara J., Carracedo B., Gómez X. (2015) A two-stage process for hydrogen production from cheese whey: integration of dark fermentation and bio catalysed electrolysis, *Int. J. Hydrogen Energy* **40**, 168–175.
- 103 Su H., Cheng J., Zhou J., Song W., Cen K. (2010) Hydrogen production from water hyacinth through dark and photo fermentation, *Int. J. Hydrogen Energy* **35**, 8929–8937.
- 104 Argun H., Kargi F. (2009) Effects of sludge pre-treatment method on bio-hydrogen production by dark fermentation of waste ground wheat, *Int. J. Hydrogen Energy* **34**, 8543–8548.
- 105 Laurinavichene T.V., Belokopytov B.F., Laurinavichius K.S., Tekucheva D.N., Seibert M., Tsygankov A.A. (2010) Towards the integration of dark- and photo-fermentative waste treatment. 3. Potato as substrate for sequential dark fermentation and light-driven H<sub>2</sub> production, *Int. J. Hydrogen Energy* **35**, 8536–8543.
- 106 Ozmihi S., Kargi F. (2010) Effects of starch loading rate on performance of combined fed-batch fermentation of ground wheat for bio-hydrogen production, *Int. J. Hydrogen Energy* **35**, 1106–1111.
- 107 Avcioglu S.G., Ozgur E., Eroglu I., Yucel M., Gunduz U. (2011) Bio hydrogen production in an outdoor panel photo bioreactor on dark fermentation effluent of molasses, *Int. J. Hydrogen Energy* **36**, 11360–11368.
- 108 Keskin T., Hallenbeck P.C. (2012) Hydrogen production from sugar industry wastes using single-stage photo fermentation, *Bioresour. Technol.* **112**, 131–136.
- 109 Zhu Z., Shi J., Zhou Z., Hu F., Bao J. (2010) Photo-fermentation of *Rhodobacter sphaeroides* for hydrogen production using lignocellulose-derived organic acids, *Process Biochem.* **45**, 1894–1898.
- 110 Francou N., Vignais P.M. (1984) Hydrogen production by *Rhodospseudomonas capsulata* cells entrapped in carrageenan beads, *Biotechnol. Lett.* **6**, 639–644.
- 111 Taguchi F., Mizukami N., Hasegawa K., Saito-Taki T. (1994) Microbial conversion of arabinose and xylose to hydrogen by a newly isolated *Clostridium* sp No. 2, *Can. J. Microbiol.* **40**, 228–233.
- 112 Akkerman I., Janssen M., Rocha J.M.S., Reith J.H., Wijffels R.H. (2003) Photo biological hydrogen production: photochemical efficiency and bioreactor design, in: Reith J.H., Wijffels R.H., Barten H. (eds), *Bio methane and bio hydrogen: status and perspectives of biological methane and hydrogen production*, Dutch Biological Hydrogen Foundation, Hague, pp. 124–145.
- 113 Evens T.J., Chapman D.J., Robbins R.A., D'Asaro E.A. (2000) An analytical pat-plate photo bioreactor with a spectrally attenuated light source for the incubation of phytoplankton under dynamic light regimes, *Hydrobiologia* **434**, 55–62.
- 114 Laurinavichene T.V., Kosourov S.N., Ghirardi M.L., Seibert M., Tsygankov A.A. (2008) Prolongation of H<sub>2</sub> photo production by immobilized, sulphur-limited *Chlamydomonas reinhardtii* cultures, *J. Biotechnol.* **134**, 275–277.
- 115 Show K.Y., Lee D.J., Chang J.S. (2011) Bioreactor and process design for bio hydrogen production, *Bioresour. Technol.* **102**, 8524–8533.

- 116 Show K.Y., Zhang Z.P., Tay J.H., Liang T.D., Lee D.J., Jiang W.J. (2007) Production of hydrogen in a granular sludge-based anaerobic continuous stirred tank reactor, *Int. J. Hydrogen Energy* **32**, 4744–4753.
- 117 Show K.Y., Zhang Z.P., Tay J.H., Liang T., Lee D.J., Ren N.Q. (2010) Critical assessment of anaerobic process for continuous bio hydrogen production from organic wastewater, *Int. J. Hydrogen Energy* **35**, 13350–13355.
- 118 Zhang Z.P., Show K.Y., Tay J.H., Liang D.T., Lee D.J., Jiang W.J. (2007b) Rapid formation of hydrogen-producing granules in an anaerobic continuous stirred tank reactor induced by acid incubation, *Biotechnology Bioeng.* **96**, 1040–1050.
- 119 Zhang Z.P., Show K.Y., Tay J.H., Liang T.D., Lee D.J., Wang J.Y. (2008d) The role of acid incubation in rapid immobilization of hydrogen-producing culture in anaerobic up flow column reactors, *Int. J. Hydrogen Energy* **33**, 5151–5160.
- 120 Wu S.Y., Hung C.H., Lin C.N., Chen H.W., Lee A.S., Chang J.S. (2006) Fermentative hydrogen production and bacterial community structure in high-rate anaerobic bioreactors containing silicone-immobilized and self-flocculated sludge, *Biotechnology Bioeng.* **93**, 934–946.