## **COLLOQUE BIOÉNERGIES**



9 ET 10 OCTOBRE 2012 - Espace Hamelin - PARIS



La nécessité de développer des alternatives aux énergies fossiles apparaît de plus en plus pressante, pour des raisons liées à la fois à la protection de l'environnement, mais aussi à l'épuisement programmé de la ressource elle-même.

Dans ce cadre, l'ANR finance des projets dans le domaine des bioénergies, depuis 2005, au travers de trois programmes successifs : le PNRB, le programme Bioénergies (Bio-E) et le programme Bio-Matières et Energies (Bio-ME).

Ces programmes ont pour objectif d'accompagner le développement de vecteurs énergétiques à faible impact environnemental. Ils s'intéressent, en particulier, aux différentes voies conduisant à la production de biocarburants liquides ou gazeux de 2ème et 3ème générations mettant en œvre des processus de conversions thermochimique et biologique.

#### Objectifs des journées

- rappeler les enjeux et les objectifs du programme Bio-ME
- présenter les résultats de projets BIO-E 2008 et Bio-E 2009
- échanger avec la communauté scientifique







#### Programme du colloque

9-10 octobre 2012

Espace Hamelin - 17 rue de l'Amiral Hamelin, Paris 16ème

#### Restitution des projets BIO-E éditions 2008-2009-2010

#### Journée du 9 octobre 2012

13h00 : Accueil café et installation des posters BIO-E

13h30: Introduction - Marc ROUSSET, responsable du programme Bio-Matières et Energies à l'ANR

14h00 début des présentations des projets

#### La ressource lignocellulosique

**EMERGE** (Bio-E 2008) - Des évaluations compatibles de volumes, biomasses et minéralomasses en forêt : vers une gestion comptable et durable du bois énergie — *Christine DELEUZE, Chargé R&D Modélisation, ONF* 

**SYLVABIOM** (Bio-E 2008) - Nouveaux concepts de cultures ligneuses durables pour la production de biomasse à des fins énergétiques – *Jean-Charles BASTIEN, Ingénieur de Recherche, INRA* 

Présentation des posters autour de la thématique « ressource » : AMAZON, FORESEE, MECABIOFOR

#### Transformation de la biomasse par voie thermochimique

**TURBOPLASMA** (Bio-E 2009) - Destruction de goudrons assistée par plasma thermique - *Alice Fourcault, Chef de projet EUROPLASMA* 

Présentation des posters autour de la thématique « voie thermochimique» : BIOVIVE, GAMECO, RECO2

16h00 Pause-café

#### Méthanisation

**ANAMIX** (Bio-E 2008) - Caractérisation des paramètres rhéologiques et des transferts pour l'amélioration des procédés de méthanisation par voie sèche – *Pierre BUFFIERE, Professeur, INSA de Lyon* 

**WINSEAFUEL** (Bio-E 2009) - Production de macroalgues en pleine mer pour une valorisation en biométhane et autres bioproduits — *Thomas LASSERRE, Responsable du pôle Bioénergies, La Compagnie du Vent* 

DANAC (Bio-E 2009) - Digestion ANaérobie Activée - Jean-Jacques GODON, Directeur de Recherche, INRA

Présentation des posters autour de la thématique « Méthanisation» : DIVA

Session libre de discussion autour des posters

18h30 Cocktail dinatoire

#### Journée du 10 octobre 2012

8h40: Accueil café

9h00 : début des présentations des projets

#### Production d'hydrogène ou de butanol par voie microbienne

**ANABIO-H2** (Bio-E 2008) - Valorisation des coproduits agricoles et industriels via la production d'hydrogène utilisant des souches microbiennes anaérobies mésophiles – *Gwendoline CHRISTOPHE, Maître de Conférences, Institut Pascal* 

**InGEcoH** (Bio-E 2008) - Ingénierie écologique d'écosystèmes microbiens producteurs de biohydrogène par voie fermentaire — *Eric Trably, Chargé de Recherche, INRA* 

**BioButaFuel** (Bio-E 2008) - Bioconversion d'hydrolysat de lignocellulose en Butanol, biocarburant de nouvelle génération de haute efficacité, à haut titre et *rendement - Isabelle MEYNIAL-SALLES, Enseignant Chercheur, LISBP-INRA* 

Présentation des posters autour de la thématique « Production de biohydrogène » : ACTIFE, ALGO-H2, ENGINEERING-H2 CYANO, HYCOFOL\_BV

11h00 Pause-café

#### La voie électrochimique : Pile à combustible microbienne et catalyse bioélectrochimique

**AGRIELEC** (Bio-E 2008) - Conception basée sur la connaissance de piles à combustible microbiennes pour la production d'électricité à partir de déchets des filières agricole et forestière – *Alain BERGEL, Directeur de Recherche, CNRS LGC* 

Présentation des posters autour de la thématique « Pile à combustible microbienne et catalyse bioélectrochimique » : BIOPAC, DEFI H12

Session libre de discussion autour des posters

13h00 Déjeuner

14h00 : Présentation de l'AAP 2013 du programme Bio-Matières et Energies de l'ANR (sortie de l'AAP prévue fin octobre/début novembre 2012) – Marc ROUSSET, responsable de programme, ANR

Modalités et informations pratiques sur la soumission d'un projet ANR – *Liz PONS, Chargée Mission Scientifique, ANR* 

15h00 : Clôture du colloque

#### Liste des posters présentés

**ACTIFE (2009)** - Adaptation des Cellulases de *T. reesei* aux contraintes de la Fermentation Ethanolique

**AGRI-ELEC (2008)** - Conception basée sur la connaissance de piles à combustible microbiennes pour la production d'électricité à partir de déchets des filières agricole et forestière

**Algo-H2 (2010)** - Optimisations génétiques, métaboliques, et procédé de la photobioproduction d'hydrogène par la microalgue verte *Chlamydomonas reinhardtii* 

AMAZON (2008) - Adéquation Multiressources à la gAZéificatiON

Anabio-H2 (2008) - Valorisation des coproduits agricoles et industriels via la production d'hydrogène utilisant des souches microbiennes anaérobies mésophiles

**ANAMIX (2008)** - Caractérisation des paramètres rhéologiques et des transferts pour l'amélioration des procédés de méthanisation par voie sèche

**BioButaFuel (2008)** - Bioconversion d'hydrolysat de lignocellulose en Butanol, biocarburant de nouvelle génération de haute efficacité, à haut titre et rendement

BIOPAC (2010) - Biocatalyseur d'oxydation de l'hydrogène pour les piles à combustible

BIOVIVE (2009) - Biomasse viticole dans les fours à verre via un procédé de gazéification

DANAC (2009) - Digestion ANaérobie Activée

DEFIH12 (2009) - Production de bio-hydrogène par électrolyse microbienne

**DIVA (2010)** - Caractérisation des DIgestats et de leurs filières de Valorisation Agronomique

**EMERGE (2008)** - Des évaluations compatibles de volumes, biomasses et minéralomasses en forêt : vers une gestion comptable et durable du bois énergie

**ENGINEERING H2 CYANO (2009)** - Ingénierie de la cyanobactérie modèle *Synechocystis* pour une meilleure photoproduction d'hydrogène

FORESEE (2010) - Caractérisation de la ressource forestière pour les bioénergies

GAMECO (2010) - Gazéification AMEliorée pour des applications Cogénération

**HYCOFOL\_BV (2010)** - Production d'HYdrogène par COuplage de procédés de Fermentation à l'Obscurité et à la Lumière appliqué à la Biomasse Végétale

**InGEcoH (2008)** - Ingénierie écologique d'écosystèmes microbiens producteurs de biohydrogène par voie fermentaire

**MECABIOFOR (2010)** - Mécanisation et optimisation des techniques de production et d'exploitation de biomasse forestière issue de cultures dédiées ou semi-dédiées

**RECO2 (2010)** - Recyclage et valorisation du CO<sub>2</sub> dans un procédé de vapogazéification de biomasse en lit fluidisé

**SYLVABIOM (2008)** - Nouveaux concepts de cultures ligneuses durables pour la production de biomasse à des fins énergétiques

TURBOPLASMA (2009) - Destruction de goudrons assistée par plasma thermique

**WINSEAFUEL (2009) -** Production de macroalgues en pleine mer pour une valorisation en biométhane et autres bioproduits

### **SOMMAIRE**

#### Projets financés dans la thématique « La ressource lignocellulosique »

EMERGE – Des évaluations compatibles de volumes, biomasses et minéralomasses en forêt : vers ui gestion comptable et durable du bois énergie	
SYLVABIOM – Nouveaux concepts de cultures ligneuses durables pour la production de biomasse à fins énergétiques	des
AMAZON – Adéquation Multiressources à la gAZéificatiON	
FORESEE – Caractérisation de la ressource forestière pour les bioénergies	
MECABIOFOR – Mécanisation et optimisation des techniques de production et d'exploitation de biomasse forestière issue de cultures dédiées ou semi-dédiées	
Projets financés dans la thématique « Transformation de la biomasse par voie thermochimique»	
TURBOPLASMA – Destruction de goudrons assistée par plasma thermique	15
BIOVIVE – Biomasse viticole dans les fours à verre via un procédé de gazéification	17
GAMECO – Gazéification AMEliorée pour des applications Cogénération	19
RECO2 – Recyclage et valorisation du CO₂ dans un procédé de vapogazéification de biomasse en lit fluidisé	
Projets financés dans la thématique « Transformation de la biomasse par voie biologique»	
ANAMIX – Caractérisation des paramètres rhéologiques et des transferts pour l'amélioration des procédés de méthanisation par voie sèche	23
WINSEAFUEL – Production de macroalgues en pleine mer pour une valorisation en biométhane et autres bioproduits	25
DANAC – Digestion ANaérobie Activée	27
DIVA – Caractérisation des DIgestats et de leurs filières de Valorisation Agronomique	29
Anabio-H2 – Valorisation des coproduits agricoles et industriels via la production d'hydrogène utilis des souches microbiennes anaérobies mésophiles	
InGEcoH – Ingénierie écologique d'écosystèmes microbiens producteurs de biohydrogène par voie fermentaire	33
BioButaFuel – Bioconversion d'hydrolysat de lignocellulose en Butanol, biocarburant de nouvelle génération de haute efficacité, à haut titre et rendement	35
ACTIFE – Adaptation des Cellulases de <i>T. reesei</i> aux contraintes de la Fermentation Ethanolique	37
Algo-H2 – Optimisations génétiques, métaboliques, et procédé de la photobioproduction d'hydrogè par la microalgue verte <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	
ENGINEERING H2 CYANO – Ingénierie de la cyanobactérie modèle Synechocystis pour une meilleure photoproduction d'hydrogène	
HYCOFOL_BV – Production d'HYdrogène par COuplage de procédés de Fermentation à l'Obscurité e Lumière appliqué à la Biomasse Végétale	
AGRI-ELEC – Conception basée sur la connaissance de piles à combustible microbiennes pour la production d'électricité à partir de déchets des filières agricole et forestière	45
BIOPAC – Biocatalyseur d'oxydation de l'hydrogène pour les piles à combustible	47
DEFIH12 – Production de bio-hydrogène par électrolyse microbienne	49
Contact	50

# EMERGE – Des évaluations compatibles de volumes, biomasses et minéralomasses en forêt : vers une gestion comptable et durable du bois énergie

Contact : Christine Deleuze - ONF - christine.deleuze@onf.fr

Vers une gestion comptable et durable du bois énergie en forêt

#### Des évaluations compatibles de volumes, biomasses et minéralomasses des arbres

Si les forestiers savent depuis longtemps estimer le volume commercial de leurs arbres à l'aide des « tarifs de cubage », le premier objectif de ce projet est de pouvoir estimer le volume complémentaire de bois énergie que l'on trouve principalement dans le houppier (les branches). En effet, les coefficients de passage habituellement utilisés pour estimer ce foisonnement à partir du volume de la tige sont trop approximatifs et rigides, ne tenant pas compte des variations entre essences, tailles et contextes différents.

L'idée est d'obtenir alors des prédictions de biomasse de bois énergie compatibles avec les estimations de volumes de bois d'industrie et de bois d'œuvre. À ces modèles seront associés des estimations de minéralomasse et de pouvoir calorifique afin d'étudier plus finement les exports en éléments minéraux et l'énergie récupérable.

Ces tarifs doivent être assez robustes pour être utilisés dans différentes régions et pour les principales essences forestières afin de permettre des estimations cohérentes et comparables. Les gestionnaires ont besoin de ces outils partagés pour mobiliser le bois énergie, mais ces mêmes outils seront utilisés à l'échelle nationale pour les estimations de biomasse et de carbone.

#### Des innovations attendues en métrologie : du laser terrestre au scanner tomographique

En parallèle d'un travail central sur la modélisation des volumes, biomasses et minéralomasses, le projet EMERGE a également pour objectif de tester l'apport de nouvelles technologies en dendrométrie, c'est-à-dire en métrologie appliquée à l'arbre. Deux technologies en pointe sont abordées : le laser terrestre pour appréhender les mesures externes de l'arbre en forêt et le scanner tomographique pour évaluer la distribution de densité interne de l'arbre. Si la seconde technique permet d'accélérer et de fiabiliser en laboratoire les mesures de densité de bois sur de larges échantillons, la première pourrait être utilisée à terme en forêt. Concernant le laser terrestre, deux objectifs sont visés : 1) une approche « appliquée » pour tester et développer des algorithmes d'inventaires automatiques de placettes forestières à partir de scans laser 2) une approche « recherche » pour évaluer la faisabilité de mesures non destructives de volumes de houppiers par laser. La complexité des houppiers explique la difficulté à reproduire beaucoup de mesures sur arbres abattus (photo c de la figure) et l'intérêt de pouvoir accéder à ces informations par de nouveaux outils rapides et non destructifs.

Le premier résultat majeur de ce projet est la création d'un entrepôt de données d'une ampleur nouvelle, base des travaux de modélisation générique. Ces données sont valorisées dans les modèles de volume, biomasse et minéralomasse, l'étape clé étant de travailler sur la cohérence entre ces variables. Les premiers travaux sur le laser appliqué apportent des algorithmes automatiques d'inventaires forestiers, en cours de test. Les approches plus complexes sur le houppier laissent entrevoir des méthodes semi-automatiques. La coopération avec d'autres organismes prend de l'ampleur avec des collaborations en France (LE2I, ENSAM) et à l'étranger (Canada, Allemagne, Belgique). Les premiers essais sur scanner permettent de fournir des cartes de densité avec une méthode originale qui va être publiée.

A mi-parcours, 1 article sur la biomasse est paru, un autre sur le laser terrestre est en cours de révision et un dernier sur la minéralomasse est soumis. 7 communications ont été faites dans des conférences internationales. D'autres articles sont en cours de rédaction.

EMERGE est un projet de développement expérimental, coordonné par l'Office National des Forêt. Il réunit l'ensemble des partenaires forestiers intéressés par la quantification des ressources forestières : le LERFOB (INRA), le BEF (INRA), l'IRSTEA, FCBA, le CIRAD, l'IFN, le CNPF, l'ONF et le LIAMA. Ce projet a démarré en décembre 2008 pour une durée de 4 ans. Il a bénéficié d'un financement ANR de 715 k€ pour un coût global de 2,3 M€.



La force du projet EMERGE a été de réunir pour la première fois l'ensemble des données disponibles de volumes, biomasse et minéralomasse des différents partenaires, alliant des échelles variées de détails de mesure

#### SYLVABIOM – Nouveaux concepts de cultures ligneuses durables pour la production de biomasse à des fins énergétiques

Contact: Jean-Charles Bastien - INRA - Jean-Charles.Bastien@orleans.inra.fr

Un référentiel agronomique sur la biomasse produite par les ligneux pérennes en relation avec le contexte pédoclimatique

#### Variabilités génétique et environnementale des déterminants de la productivité en biomasse de ligneux pérennes

La pérennité économique des filières de production de bioénergie, et en particulier de carburants d'origine lignocellulosique, nécessite de mobiliser durablement de très grands volumes de biomasse sur des territoires restreints. L'utilisation de cultures d'arbres à croissance rapide, spécifiquement dédiées à la production de biomasse est une des voies envisageables pour contribuer aux objectifs fixés par l'union européenne en matière de développement des énergies renouvelables. Toutefois, l'extension de ces cultures, dédiées à des territoires en général moins fertiles qu'en exploitation agricole, suppose en premier lieu une bonne adéquation entre la station, l'espèce et les méthodes de culture. Dans ce contexte, le projet SYLVABIOM vise à estimer, pour diverses espèces ligneuses, l'influence des facteurs génétiques et environnementaux ainsi que leur interaction sur les paramètres du fonctionnement de l'arbre qui déterminent sa production de biomasse. Outre le milieu, le paramètre clé de l'environnement étudié est le mode de traitement sylvicole en comparant l'effet sur les rendements de durées de rotation variables ou d'épandage de produits résiduaires.

#### Un référentiel d'essais, en partie instrumentés, en vue d'optimiser les futures plantations dédiées à la production de biomasse énergétique

La démarche adoptée permettra de réévaluer le concept de cultures énergétiques d'espèces ligneuses à la lumière des relations plante x environnement x mode de culture. Dans le cadre d'un traitement en taillis à courte et très courte rotation (TCR et TTCR) et pour trois espèces (peuplier, robinier et saule), le projet s'appuie sur le suivi de la croissance et de l'efficacité avec laquelle les arbres utilisent l'eau et l'azote dans un réseau de sites ateliers situés dans des stations contrastées et dans lesquelles sont suivis les paramètres environnementaux (climat, humidité et température du sol, rayonnement incident, fertilité du sol), l'espacement initial et la diversité génétique de chaque espèce. Un objectif fondamental est aussi d'évaluer la pertinence du niveau de méthylation de l'ADN en tant que marqueur précoce du niveau de productivité. Dans le cadre d'un traitement en futaie, le projet repose sur la collecte de données de croissance dans les réseaux expérimentaux des programmes de sélection génétique de l'INRA et de FCBA, en vue de construire des tarifs de biomasse et minéralomasse compartimentées pour des essences peu documentées (séquoia, thuya, douglas, mélèze, etc.).

A mi-projet, le résultat marquant est l'achèvement de l'installation d'un réseau expérimental couvrant 7 ha de plantations à vocation énergétique dans quatre sites contrastés en France. Après deux années, un très grand nombre de données de croissance, de production en biomasse, de phénologie, d'architecture et d'efficience d'utilisation des ressources ont été obtenues pour les trois espèces cultivées en TCR et TTCR. Les résultats sont en cours d'exploitation. En futaie, les données de biomasse et minéralomasse compartimentées sont obtenues pour trois espèces : douglas, mélèze et peuplier.

Une communication et un poster ont été présentés au 5<sup>ème</sup> Symposium International du Peuplier à Orvieto, Italie en septembre 2010. Ils présentent l'approche envisagée pour d'une part, estimer la variabilité génétique de la productivité et de l'efficience d'utilisation de l'eau et de l'azote chez le peuplier, le saule et le robinier et d'autre part évaluer la pertinence du niveau de méthylation de l'ADN en tant que marqueur précoce de niveau de productivité.

SYLVABIOM est un projet de recherche coordonné par l'INRA d'Orléans (Unité Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières). Il associe le FCBA, l'INRA de Nancy (UMR Ecologie et Ecophysiologie Forestières), l'IDF et le Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures (Univ. Orléans). Ce projet a commencé en décembre 2008 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 814 k€ pour un coût global de 1,7 M€.



Site atelier d'Echigey (21): taillis à très courte rotation de Peuplier en 2e année de croissance

#### AMAZON – Adéquation Multiressources à la gAZéificatiON

Contact: Denilson Ds Silva Perez - FCBA - denilson.dasilvaperez@fcba.fr

Les procédés de production par gazéification de carburants liquides de deuxième génération (filière BtL - Biomass to Liquid) et de gaz combustible (filière Synthetic Natural Gas) sont actuellement dans une phase de développement préalable à leur déploiement industriel. Si ces procédés offrent d'importantes perspectives de débouchés pour les ressources lignocellulosiques françaises, tant forestières qu'agricoles, celles-ci sont cependant limitées, et il est nécessaire d'éviter la compétition avec la production agricole à vocation alimentaire ainsi que la déstabilisation des filières agro-forestières déjà en place. L'objectif du projet AMAZON est d'optimiser l'utilisation du potentiel de biomasses lignocellulosiques diversifiées (France - Brésil) dans les procédés de transformation par voie thermochimique, en particulier la gazéification pour les voies BtL et SNG. Il s'agit de confronter le comportement théorique espéré à partir de la caractérisation physicochimique de la biomasse avec le comportement réel observé à la fois en dispositifs analytiques et en pilotes de laboratoire, afin d'obtenir des informations cruciales pour la mise en oeuvre prochaine en France de pilotes à plus grande échelle (démonstrateurs ou semiindustriels).

Le projet est axé sur les ressources françaises (existantes et celles développées à l'heure actuelle pour la bioénergie) et biomasses d'importation (Brésil), pour lesquelles plusieurs tests de prétraitement seront réalisés sur des pilotes de laboratoire ou semi-industriels avant d'être soumis à la gazéification dans les unités pilotes en France.

AMAZON est un projet de recherche franco-brésilien coordonné par le FCBA. Il associe côté français, le CEA, le CIRAD, l'ENSTIMAC/RAPSODEE, GDF Suez, me GIE Arvalis-Onidol et le RAGT. Il a démarré en décembre 2008 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 1 M€ pour un coût global de 2 M€.

## FORESEE – Caractérisation de la ressource forestière pour les bioénergies

Contact: Francis de Morogues - FCBA - Francis.de.Morogues@fcba.fr

#### Caractérisation de la ressource forestière pour les bioénergies

#### Spatialiser et caractériser la ressource forestière à un niveau proche de l'opérationnel

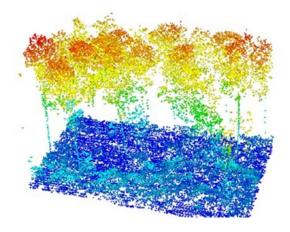
Une bonne connaissance de la localisation de la biomasse forestière, de ses caractéristiques (quantités et qualités) et de ses contraintes de mobilisation (desserte, pente, ...) est une condition nécessaire pour la structuration d'une filière capable d'assurer l'approvisionnement sur le long terme de sites importants (centrales de cogénération, réseaux de chaleur, ...). Il s'agit donc de combiner efficacité économique et gestion durable de la forêt. Les données aujourd'hui disponibles sont statistiques, à l'échelle nationale et ne se prêtent pas à la cartographie à l'échelle infra-régionale du bassin d'approvisionnement. Le recours aux données de télédétection actuelles ne permet pas d'évaluer avec précision les paramètres utiles aux gestionnaires et exploitants forestiers. Les développements du LiDAR (Light Detection And Ranging) combiné à d'autres sources de données (images satellites à haute résolution, photographies aériennes) vont permettre d'apporter une réponse innovante. FORESEE vise ainsi à tester des méthodes et à fournir les outils (méthodologies, algorithmes, ...) d'évaluation des caractéristiques, de la dynamique et des conditions de la mobilisation de la ressource forestière à l'échelle de bassins d'approvisionnement et adaptés aux différents contextes forestiers français.

#### Une approche intégrée entre technologies et traditions

Les principaux verrous technologiques sont relatifs à l'hétérogénéité des peuplements forestiers qui rend difficile l'estimation des volumes de biomasse et de la productivité de la forêt (détecter le sous-bois, le mélange d'essence, ...). L'enjeu est celui de la précision des estimations et de la généricité de l'approche par rapport à la diversité des forêts françaises. La combinaison des données du LiDAR, de la photogrammétrie et des savoirs forestiers (fonctions allométriques) apporte des solutions nouvelles. Il s'agit d'identifier et de caractériser toute une chaîne de production comprenant la collecte des données (protocole, relevés, ...), des spécifications techniques (nombre d'impacts laser au m², ...), l'élaboration et l'articulation d'algorithmes et de méthodes statistiques de traitement de l'information pour in fine cartographier les résultats Des avancées scientifiques notables sont attendues sur les estimations de biomasses pour des peuplements feuillus et dans les zones de montagne et le développement d'un nouvel indice de productivité basé sur les accroissements en hauteur des peuplements. Ce projet proposera aussi des perspectives de développement concret de ces applications.

Les études exploratoires ont montré qu'il existe un lien complexe entre structure de peuplement et texture d'image et que la définition « sylvicole » des peuplements n'est pas directement utilisable dans l'analyse des données de télédétection. Les études de sensibilité montrent l'importance des protocoles de collecte des données terrains. Pour la hauteur dominante les modèles sont robustes et sont d'une précision équivalente aux mesures réalisées sur le terrain. Pour la surface terrière et le volume la modélisation reste à approfondir. Le benchmark montre que l'application Lidar privilégiée est la topographie. Cependant, en Europe du Nord, à la ressource forestière homogène, il est utilisé pour des inventaires de gestion. En France, l'enquête auprès des professionnels et gestionnaires forestiers a permis d'identifier les informations et les précisions attendues ce qui permettra d'élaborer une stratégie de déploiement des acquis de cette recherche qui sera proposée aux acteurs publiques et privés. Les acteurs professionnels et gestionnaires attendent une information sur la ressource qui soit de qualité équivalentes aux relevés de terrain réalisés par leur technicien. Cette information porte essentiellement sur le volume de bois, les produits associés et les conditions de récolte. A court terme, l'extraction de la desserte forestière sur la base de données Lidar permettra de réduire considérablement le coût actuel de numérisation. Les études économiques montrent que le déploiement des technologies est une perspective crédible à moyen terme. Cependant, les propositions de scénarios de déploiement réclament une synergie fine entre acteurs publics et privés. D'étroites collaborations avec d'autres projets ont pu être engagées. A ce jour, 5 articles ont été produits.

FORESEE est un projet de développement expérimental coordonné par le FCBA. Il associe également 4 organismes publics, l'ONF, l'IRSTEA, l'IGN, l'INRA et une entreprise de géomètres, Sintegra. Il a débuté en décembre 2010 pour une durée de 42 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 902 k€ pour un coût global de 3,1 M€. Ce projet est labellisé par les pôles Tenerrdis et Xylofutur.



Nuage de points Lidar

# MECABIOFOR – Mécanisation et optimisation des techniques de production et d'exploitation de biomasse forestière issue de cultures dédiées ou semi-dédiées

Contact: Philippe Ruch - FCBA - philippe.ruch@fcba.fr

## Une mécanisation plus efficace pour une biomasse issue de cultures forestières plus attractive

#### Industrialiser les techniques de plantation, entretien et récolte des cultures de biomasse

La récolte de biomasse sur des rotations généralement inférieures à 10 ans devient un enjeu stratégique afin de faire face à une demande croissante en biomasse d'origine lignocellulosique pour une valorisation énergétique (bioénergie) ou pour la production de bioproduits industriels (chimie verte). Les cultures dédiées d'espèces forestières (TCR, TTCR, et SD) vont contribuer à l'apport de cette matière première ligno-cellulosique. Le recours à des méthodes « artisanales » de production, essentiellement manuelles qui ont prévalu jusque là, depuis la plantation jusqu'à la récolte de la biomasse, n'est plus possible économiquement. Aussi, il faut rationaliser la mécanisation des opérations liées à ces cultures (plantation, entretien et récolte) afin de diminuer leurs coûts tout en facilitant les travaux (ergonomie des postes de travail) par une main d'œuvre, par ailleurs, en pénurie. Les choix des matériels et des techniques culturales sont orientés pour bien intégrer également la dimension environnementale.

#### Innover pour lever les verrous technologiques

La définition des besoins exprimés par les praticiens de terrain et l'évaluation des matériels existants réalisée par l'ensemble des partenaires permettent de définir les cahiers des charges fonctionnels des équipements à développer. Sur ces bases sont élaborés des avant projets d'ensemble détaillé, associant les chercheurs et des constructeurs français. Suivant la faisabilité et l'état d'avancement technologique, certains équipements seront réalisés sous forme de prototypes qui seront testés en conditions réelles. Les éléments recueillis permettront de réaliser des synthèses économiques et environnementales à travers notamment une analyse de cycle de vie. Les résultats seront transférés auprès du public professionnel (articles et démonstrations) et du public scientifique (articles et participation à des colloques).

Cette première année a consisté à mettre en place 4 cahiers des charges fonctionnels pour les différents équipements, ainsi que les fiches machines recensant et décrivant le matériel existant et essais avec évaluation des performances des équipements intéressants (suivis de chantiers de plantation et de récolte) et les fiches de suivis des chantiers de plantation, d'entretien et de récolte, permettant de collecter les informations nécessaires aux évaluations techniques, économiques et environnementales des systèmes étudiés.

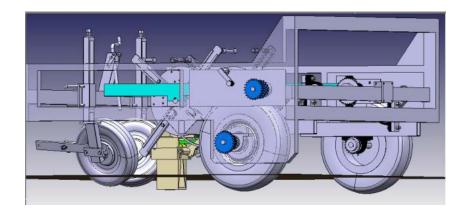
Une planteuse moyenne capacité de mottes et conteneurs ont dû subir des modifications et sont à présent opérationels. : des modifications ont été réalisées sur une machine existante, pour améliorer la qualité de la mise en terre avec, comme conséquence immédiate, l'économie d'un opérateur. Des plans ont également été réalisés pour la fabrication de becs permettant la plantation de plants à racines nues. Une nouvelle canne à planter plus ergonomique a été crée. Enfin, concernant la mise en place de techniques d'entretien alternative et d'essais herbicides, une 1ère campagne de tests, avec 7 herbicides et 4 techniques de paillage a été réalisée.

Il est prévu, qu'au cours de la 2<sup>ème</sup> période du projet, une machine d'entretien de précision au plus près du rang soit conçue et qu'une tête de récolte pour les TCR et SD soit améliorée.

Les résultats et technologies qui résulteront de ce projet sont transférables à d'autres secteurs d'activités tels que la foresterie traditionnelle pour tous les équipements et l'arboriculture et viticulture pour les équipements de plantation et d'entretien. Ce projet a pour but d'améliorer de la rentabilité de ces cultures avec identification précise des postes clés. Au regard des résultats obtenus, une redéfinition des chaînes logistiques pourra être étudiée en fonction des paramètres économiques et environnementaux identifiés.

Les résultats pourront se traduire par un brevet potentiel pour la nouvelle canne à planter et éventuellement pour les modifications apportées à la planteuse moyenne capacité modifiée.

MECABIOFOR est un projet de développement expérimental coordonné par le FCBA. Il associe également l'UCFF, l'IRSTEA, le SKCDP et Fibre Excellence R&D KRAFT. Il a démarré en janvier 2011 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 939 k€ pour un coût global de 2,2 M€. Il a été labellisé par les pôles de compétitivité AGRIMIP INNOVATION, VIAMECA et XYLOFUTUR.



<u>Planteuse moyenne capacité. Modèle présenté avec becs planteurs pour plants en mottes ou en godets (IRSTEA)</u>

# TURBOPLASMA – Destruction de goudrons assistée par plasma thermique

Contact: Jean-Paul Arnouil - Turboplasma - jprarnouil@europlasma.fr

Le Turboplasma®: craquage thermique des goudrons

## Développement d'un réacteur haute température pour purifier un gaz de synthèse de ses goudrons

La matière organique est l'une des plus importantes sources d'énergie renouvelable. Cette matière organique se trouve sous forme de biomasse ou de déchets et peut être valorisée par conversion thermochimique de cette matière première en un gaz combustible. Le gaz issu de cette transformation peut alors être utilisé directement pour la production de chaleur, d'électricité ou comme produit de base pour la synthèse chimique de carburant liquide.

Si le gaz obtenu est effectivement composé de CO, H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> il est aussi ensemencé d'impuretés telles que les goudrons. Ces derniers se condensent à basse température, freinant ainsi la valorisation du gaz qui s'opère à 40°C. Cette perte de matière diminue l'efficacité énergétique du procédé et fait s'envoler les coûts opérationnels de l'installation du fait des indisponibilités potentielles des matériaux pollués. A l'heure actuelle la plupart des procédés de dépollution sont complexes et/ou onéreux. Le craquage thermique de ces goudrons est une solution prometteuse qui peut être mise en œuvre grâce aux propriétés thermique du plasma. Une fois le gaz purifié il est possible de produire de l'électricité avec rendement optimal.

## Elaboration d'un étage haute température alimenté par une torche à plasma pour la dégradation thermique des goudrons présents dans les gaz de synthèse

L'objectif du Turboplasma® est d'abattre d'au moins 2 décades la concentration de goudrons ensemençant un gaz combustible. Le gaz combustible est surchauffé par une torche à plasma, qui délivre des températures de l'ordre de 4000°C, ce qui permet une dégradation efficace des goudrons.

Pour optimiser un tel procédé, il faut :

- Approfondir les connaissances sur le comportement du dard plasma dans une enceinte confinée: essais avec la torche à plasma pour cartographier le dard
- Comprendre l'aérodynamique interne du réacteur : développement d'un modèle numérique représentant le Turboplasma® afin d'en optimiser la géométrie et d'avoir un aperçu de la composition du gaz et des champs de vitesse/température
- Déterminer les matériaux réfractaires à utiliser dans ces conditions extrêmes (composition du gaz et température), grâce aux résultats précédents. L'élaboration de matériaux réfractaires adaptés se fait par des essais de corrosion par les inorganiques présents dans le gaz.

 Développer un moyen d'analyse des goudrons afin d'évaluer la performance du réacteur. La méthodologie choisie est l'échantillonnage sur phase solide (SPME) qui permet d'échantillonner le gaz en quelques minutes là ou les prélèvements classiques prennent plusieurs heures.

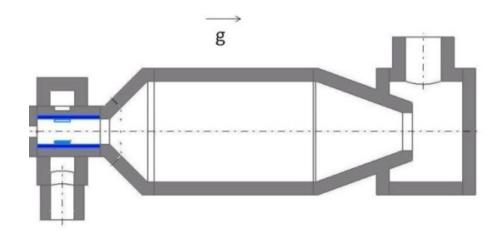
#### Résultats majeurs du projet

Le Turboplasma® est dédié à la purification des gaz de synthèses issus des procédés de gazéification, de leurs goudrons. Les résultats majeurs sont : 1) Le développement d'un système d'analyse des goudrons contenus dans les gaz, plus simple que celui du « Tar protocole » 2) Le moyen de prélèvement de ces gaz à hautes températures.

Ces avancées nous permettront d'améliorer le système de traitement des goudrons et concevoir ainsi un Turboplasma® adaptable aux unités de gazéifications.

A ce stade d'avancement des travaux, deux volets de résultats sont attendus pour cette année, le premier concerne la modélisation du réacteur à l'échelle 1/6ème. Après avoir déterminé une première géométrie pour ce réacteur, les résultats du modèle de simulation permettent de caractériser l'efficacité du réacteur, et les transferts d'énergie qui y prennent place et donc de proposer des voies pour l'amélioration de son fonctionnement, ces résultats seront présentés à la conférence organisée par la société Française de génie des procédés 2011. Parallèlement, une avancée certaine est réalisée pour le développement d'un système d'analyse des goudrons. Des articles sont en cours de réalisation.

TURBOPLASMA est un projet de recherche industriel, coordonné par Europlasma. Il associe également les Laboratoires : de Thermique Energétique et Procédés (LaTEP), des Conditions Extrêmes et Matériaux -Hautes Température et Irradiation (CEMHTI) ainsi que FLORALIS UJF-filiale. Le projet a commencé en décembre 2009 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 522 k€ pour un coût global de 1,2 M€.



Cette figure présente la nouvelle géométrie du réacteur Turboplasma. Cette configuration a été conçue dans le cadre de ce projet ANR

## BIOVIVE – Biomasse viticole dans les fours à verre via un procédé de gazéification

Contact: Laurent Pierrot - Saint Gobain - Laurent.Pierrot@saint-gobain.com

## La biomasse du vignoble champenois, source d'énergie renouvelable pour la production de bouteilles

#### Développer les technologies et les filières

Saint-Gobain Emballage, qui commercialise ses produits sous la marque Verallia, GDF SUEZ, XYLOWATT, le CIRAD et le CIVC se mobilisent pour accélérer la substitution de l'énergie fossile par de l'énergie renouvelable d'origine viticole.

Le projet BioViVe (Biomasse Viticole pour la fusion du Verre) est un projet de R&D ayant pour objectif l'utilisation directe, dans un four verrier, d'un gaz de synthèse obtenu à partir des sousproduits ligneux issus de la taille et de l'arrachage de la vigne, en remplacement des énergies fossiles. Le vignoble champenois dispose de ressources de biomasse non encore valorisées comme les bois de taille brûlés sur parcelle ou les ceps arrachés. Ce projet consiste en l'adaptation aux caractéristiques des bois de vignes d'un procédé de gazéification et l'optimisation du gaz de synthèse obtenu pour une utilisation dans un four verrier. Ainsi, la vigne, qui produit le vin de Champagne, servira également à produire une partie de l'énergie nécessaire à la fabrication des bouteilles dans lesquelles il sera commercialisé. Parallèlement aux recherches sur le gaz de synthèse, les partenaires souhaitent créer une filière de collecte de la biomasse, pérenne et locale, mobilisant les vignerons de Champagne.

#### Adaptation du procédé de gazéification à l'utilisation en verrerie

Le procédé de production de gaz par fermentation n'étant pas adapté à la biomasse ligneuse, c'est le procédé de gazéification qui a été retenu dans le cadre du projet. Le choix s'est porté sur l'utilisation d'un réacteur de gazéification XW1000g, qui produit un gaz de synthèse (syngaz) à très faible teneur en goudron grâce à l'emploi de la technologie NOTAR® développée par XYLOWATT. Le pouvoir calorifique du syngaz produit, qui contient en volume environ 20 % de CO et 20 % de H2, est de l'ordre de 5000 kJ/Nm<sup>3</sup>, soit 7 fois inférieur à celui du gaz naturel. Des travaux ont démarré pour accroître le pouvoir calorifique du syngaz et faciliter son utilisation en four de verrerie. Tout au long des 3 années de recherches, des moyens importants seront mobilisés pour réaliser à la fois des caractérisations en laboratoire, des tests sur une cellule de combustion semi-industrielle de 2 MW du CRIGEN à Saint-Denis, et près d'une année de test in situ sur le four de Verallia en Champagne. A l'issue du projet, les partenaires BioViVe espèrent avoir testé un taux de substitution d'environ 7 % du combustible alimentant le four verrier de Oiry par du syngaz et avoir acquis les connaissances nécessaires pour envisager le développement de la filière pour des taux de substitution allant jusqu'à 50 %. En cas de succès, le projet BioViVe permettra d'économiser dans sa phase industrielle 10 000 t de CO₂ par an, soit l'équivalent des émissions d'environ 5 000 véhicules.

L'évaluation et la caractérisation de la ressource en sous-produits ligneux issus de la taille et de l'arrachage des vignes ont démarré. La moitié du gisement champenois, soit environ 75 000 t, apparaît mobilisable aujourd'hui. Des essais préliminaires d'accroissement du pouvoir calorifique du syngaz par utilisation d'air enrichi à l'oxygène ont été conduits par XYLOWATT sur le réacteur pilote de gazéification de l'Université Catholique de Louvain de 100 kW. Ces essais indiquent qu'il est possible d'atteindre les valeurs de pouvoir calorifique visées (~10 000 kJ/Nm³). Ces résultats seront à confirmer lors des essais sur la cellule de combustion semi-industrielle de 2MW du CRIGEN. Des mesures de profils thermiques et chimiques dans le « Continuous Fluid Bed Reactor » du CIRAD ont été conduites afin de caractériser finement la première étape du procédé de gazéification, la pyrolyse.

2 résumés ont été soumis pour une communication à la 11<sup>ème</sup> "International Conference on Polygeneration Strategies" (Autriche, 2011). 1 résumé pour communication à "l'International Nordic BIOENERGY Conference" (Finlande, 2011).

BioViVe est un projet de recherche industrielle coordonné par Saint-Gobain Emballage. Il associe également le CIRAD, XYLOWATT, GDF SUEZ et le Comité Interprofessionnel du Vin de Champagne (CIVC). Le projet a démarré en décembre 2009, pour une durée de 3 ans. Il bénéficie d'un financement ANR de 1,2 M€ pour un budget total de 4,8 M€. Ce projet a été labellisé par les pôles de compétitivité IAR et DERBI.



Le réacteur pilote de gazéification de l'Université Catholique de Louvain, d'une puissance de 100 kW, utilisé pour les essais d'accroissement du pouvoir calorifique par gazéification à l'air enrichi à l'oxygène

#### GAMECO – Gazéification AMEliorée pour des applications Cogénération

Contact: Olivier Authier - EDF - olivier.authier@edf.fr

Amélioration d'un procédé de gazéification de la biomasse pour des applications cogénération de moyenne puissance

## Extension de la flexibilité, augmentation de la fiabilité et maîtrise du changement d'échelle d'un procédé de gazéification de la biomasse

La programmation pluriannuelle des investissements (PPI) de production d'électricité prévoit l'installation en France de 2300 MWe d'unités de production d'électricité à partir de biomasse pour la période 2009-2020. Dans cette perspective, la gazéification est une voie prometteuse de valorisation thermochimique de la biomasse ligno-cellulosique (c.-à-d. bois, sous-produits forestiers et agricoles, cultures dédiées comme le miscanthus) par rapport à la combustion dans les chaudières traditionnelles.

Le projet GAMECO vise à l'amélioration d'un réacteur de gazéification de la biomasse en lit fluidisé bouillonnant développé par EQTEC (Espagne) et intègre des objectifs en termes de : i) extension de la flexibilité d'un procédé existant afin de valoriser des biomasses plus variées, ii) augmentation de la fiabilité du procédé pour favoriser sa disponibilité, iii) maîtrise des lois de changement d'échelle du procédé pour réduire les risques à échelle industrielle. Les perspectives d'application s'inscrivent dans l'accélération de la maturation d'un procédé performant de gazéification et l'amélioration de sa compétitivité en vue d'un déploiement industriel à moyen terme sur certains territoires français.

#### Optimisation d'un procédé de gazéification de la biomasse par une approche multi-échelle

La structuration scientifique du projet repose sur l'étude des verrous techniques d'un gazogène en lit fluidisé bouillonnant :

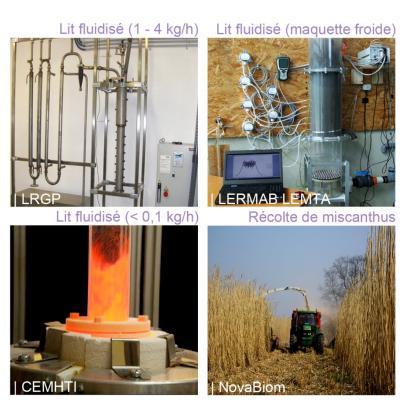
- agglomération du lit par interactions des composés inorganiques issus de la biomasse avec le matériau du lit
- présence de goudrons en sortie du gazogène contrôlée par les réactions chimiques dans le gazogène
- écoulement de la biomasse dans le lit fluidisé (lois de mélange et de ségrégation). Les travaux sont réalisés au moyen de modélisation, d'expérimentation à l'échelle du laboratoire (0,1 – 4 kg/h) et de campagnes d'essais dans un pilote instrumenté de gazéification (50 kg/h).

L'étude porte également sur la caractérisation détaillée de trois biomasses ligno-cellulosiques (miscanthus, biomasses forestière et agricole) sur le pilote, l'identification de biomasses alternatives et à bas-coût, disponibles en France et adaptées à la technologie, ainsi que l'évaluation technico-économique et environnementale du procédé de gazéification intégrant la chaîne complète de conversion.

Les premiers résultats portent sur le comportement des composés mis en jeu dans le réacteur de gazéification. Des phases cristallines et amorphes ont été identifiées dans les cendres de miscanthus, révélant que la transition de phases se produit à température relativement basse. L'analyse des interactions chimiques entre des goudrons et le matériau du lit a révélé la formation de différents types de dépôts carbonés en fonction du matériau et de sa granulométrie. Pour permettre l'étude des écoulements gaz-solide en maquette froide, une technique prometteuse d'activation de particules solides a été développée. Par ailleurs, 5 biomasses alternatives ont été sélectionnées, parmi une trentaine, sur la base de critères d'adéquation avec le procédé, de coût incluant les étapes de pré-traitement et de disponibilité sur le territoire. Enfin, le potentiel français de la filière miscanthus a été évalué sur la base de critères économiques et environnementaux. L'impact environnemental de la récolte de miscanthus est limité par les bonnes pratiques d'exploitation de NOVABIOM.

Une publication a été soumise à Chemical Engineering Journal sur l'analyse des interactions entre les composés inorganiques de la biomasse avec le matériau du lit. Six communications couvrant les axes du projet ont été réalisées dans des congrès internationaux, ainsi que deux communications dans des congrès français.

GAMECO est un projet de recherche industrielle, coordonné par EDF et associant 4 laboratoires de recherche public (CEMHTI-CNRS, LRGP-CNRS, LEMTA-CNRS, LERMAB) et deux autres entreprises (NOVABIOM, EQTEC). Il a débuté en décembre 2010 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 1,015 M€ pour un coût global de 2,67 M€. Il a été labellisé par le Pôle Fibres.



Photos de lits fluidisés et d'une récolte de Miscanthus

## RECO2 – Recyclage et valorisation du CO<sub>2</sub> dans un procédé de vapogazéification de biomasse en lit fluidisé

Contact : Laurent Bedel - CEA - laurent.bedel@cea.fr

## Recyclage du CO<sub>2</sub> pour la conversion de la biomasse en carburant liquide ou en SNG

#### Etudier la pyrolyse et la gazéification de la biomasse sous une atmosphère CO<sub>2</sub>+H<sub>2</sub>O

Le projet vise l'étude du recyclage partiel ou total du CO<sub>2</sub> dans un procédé de gazéification de la biomasse ligno-cellulosique sous vapeur d'eau en lit fluidisé pour les filières BtL (Biomass to Liquid) et SNG (Synthetic Natural Gas). Les principaux objectifs sont les suivants : (i) Etude et compréhension les phénomènes de pyrolyse-gazéification de particules de biomasse dans un mélange H<sub>2</sub>O-CO<sub>2</sub>, notamment en comparaison de vapeur d'eau seule (ii) Synthétiser les résultats expérimentaux pour conduire une évaluation technico-économique du procédé avec un recyclage du CO<sub>2</sub> (iii) Evaluer les rendements énergétiques et les coûts des différentes chaînes de procédés (BtL et SNG) avec différents taux de recyclage du CO<sub>2</sub> vers un gazéifieur en lit fluidisé.

Les enjeux sont d'éviter un approvisionnement spécifique en gaz neutre pour l'alimentation de la biomasse vers le gazéifieur mais aussi un gain d'énergie car le chauffage du CO<sub>2</sub> est moins consommateur que la vaporisation et le chauffage de l'eau. Des gains potentiels sur le plan à la fois économique et environnemental sont possibles en termes de rendement énergétique du procédé et de limitation des quantités d'effluents ou de leur traitement (H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>).

#### De l'étude de compréhension à l'échelle de la particule à l'évaluation technico-économique

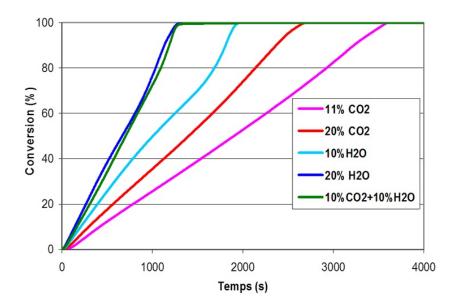
L'approche du projet est de conduire cette étude en trois phases complémentaires avec (i) tout d'abord des travaux expérimentaux et scientifiques de compréhension, (ii) puis une synthèse de ce travail pour la conduite d'une évaluation du procédé à une échelle industrielle et (iii) finalement une évaluation technico-économique d'un recyclage du CO<sub>2</sub> dans une procédé de conversion de la biomasse par vapo-gazéification en lit fluidisé.(i) Des études expérimentales au niveau de la particule de biomasse permettant de comprendre les phénomènes mis en jeu lorsque du dioxyde de carbone est ajouté à l'atmosphère pendant la pyrolyse et la gazéification du résidu carboné. (ii) Une étude sur les mêmes phénomènes mais sur un gazéifieur à lit fluidisé alimenté en continu en biomasse avec un débit de 3 kg/h. Dans ce réacteur les phénomènes ne sont pas isolés et peuvent donc interférer entre eux. L'augmentation de taille et de débit permet d'étudier l'effet global et cumulé des phénomènes qui auront été étudiés indépendamment à l'échelle de la particule. (iii) La synthèse des résultats expérimentaux obtenus à l'échelle de la particule puis à l'échelle du pilote pour dégager les principes de fonctionnement applicables sur un gazéifieur industriel. (iv) Une étude technico-économique du procédé de gazéification avec un recyclage partiel ou total du CO<sub>2</sub> vars le gazéifieur. Cette évaluation sera effectuée pour les deux applications (SNG et BtL).

Les essais de gazéification à l'échelle de la particule ont permis de caractériser et quantifier l'influence de différents paramètres sur la gazéification de résidu de pyrolyse. La nature de l'atmosphère de pyrolyse (sous N<sub>2</sub> ou sous CO<sub>2</sub>) a une influence sensible sur les cinétiques de gazéification sous vapeur d'eau et sous un mélange de vapeur d'eau et de CO<sub>2</sub>. A pression partielle équivalente de gazéifiant (CO<sub>2</sub>+H<sub>2</sub>O), la gazéification sous CO<sub>2</sub> est plus lente que celle sous H<sub>2</sub>O, ce qui est en accord avec la plupart des articles de la littérature sur ce sujet. Enfin, la gazéification sous atmosphère mixte contenant 10% H<sub>2</sub>O + 10% CO<sub>2</sub> est plus rapide que celle sous H<sub>2</sub>O seul ou CO<sub>2</sub> seul. Ces deux espèces pourraient donc réagir sur des sites distincts du résidu carboné. Les essais de pyro-gazéification dans un lit fluidisé avec l'introduction de CO<sub>2</sub> change le ratio entre les gaz H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, CO et H<sub>2</sub>O en sortie de gazéifieur sans altérer le taux de conversion en carbone. La réaction de gaz à l'eau inverse semble expliquer en grande partie ces évolutions.

Des essais complémentaires de pyrolyse et de gazéification sont en cours pour mieux comprendre ces résultats décrits ci-dessus. Les lois cinétiques applicables à la gazéification dans un gaz réactif contenant  $H_2O$  et  $CO_2$  seront déterminées. Une analyse complète et détaillée des tous ces essais sera conduite afin de mener une évaluation technico-économique d'un recyclage du  $CO_2$  et de sa pertinence à l'échelle industrielle pour les filières BtL et SNG.

Les résultats des études à l'échelle des particules apportent de nouveaux résultats pour la communauté scientifique. Des communications orales et des publications sont planifiées dans la deuxième partie du projet.

RECO2 est un projet de recherche fondamentale coordonné par le CEA. Il associe RASPSODEE-ARMINES, EDF R&D et l'Université Technologique de Vienne (TUW). Ce projet a commencé en janvier 2011 pour une durée de 3 ans. Il a bénéficié d'un financement ANR de 665 k€ pour un coût complet de 1, 45 M€. Il a été labellisé par les pôles de compétivité TENNERDIS et AGRIMIP.



Influence de l'atmosphère de gazéification sur des échantillons préalablement pyrolysés. La figure ci-contre présente le taux de conversion en fonction du temps sous différentes atmosphères (H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> et mélange CO<sub>2</sub>+H<sub>2)</sub>

# ANAMIX – Caractérisation des paramètres rhéologiques et des transferts pour l'amélioration des procédés de méthanisation par voie sèche

Contact : Pierre Buffière - INSA de LYON - pierre.buffiere@insa-lyon.fr

De l'énergie à partir de nos déchets : la méthanisation

#### Mieux connaître la méthanisation dans les milieux complexes

La méthanisation est un processus biologique qui permet de convertir la matière organique en biogaz riche en méthane. Elle s'applique aux résidus et déchets organiques, agricoles ou urbains, dont le gisement a permis une production d'énergie équivalente à plus de 6 millions de tonnes de Pétrole en 2010 en Europe. Le biogaz constitue une source d'énergie connue dont l'utilisation peut, sous réserve d'une purification adéquate, s'appuyer sur des méthodes existantes et maîtrisées (la Suède fait rouler près de 800 bus, 4500 voitures et... un train avec du biogaz !). Aujourd'hui, la majorité des systèmes utilisés pour les déchets urbains sont des procédés de digestion sèche : ils sont plus efficaces et consomment peu d'eau par rapport aux procédés classiques, mais la structure mécanique de ces milieux de digestion est encore mal connue et difficile à contrôler à l'échelle industrielle. L'objectif de ce projet est d'acquérir des connaissances sur le fonctionnement de ces procédés afin d'en améliorer la conception et la mise en œuvre, afin de pérenniser la technologie et de contribuer à son développement. Les déchets étudiés sont les ordures ménagères résiduelles et les biodéchets issus de la collecte sélective.

#### Génie des procédés et microbiologie au service d'un procédé industriel

Le projet ANAMIX a pour objet de lever le voile sur les questions scientifiques associées aux problèmes opérationnels de la digestion sèche, en utilisant de nouvelles techniques et de nouvelles approches pour la description des milieux denses ou pâteux. Il associe des concepts du Génie des Procédés (rhéologie, transferts, mélange) et des sciences de la vie (cinétique microbienne, microbiologie des écosystèmes) pour en étudier les interactions complexes. Le point clé pour la méthanisation des déchets est la gestion de la teneur en eau, qui affecte à la fois les propriétés mécaniques du milieu, mais également le fonctionnement biologique. La nature des déchets traités est également un paramètre crucial. Ce projet se concrétise par la mise au point d'un modèle pour la simulation de ces processus. Notre projet est guidé par une double ambition : améliorer la connaissance des mécanismes de base, et rendre les installations industrielles de demain plus simples à concevoir et à faire fonctionner.

Le projet ANAMIX est le premier projet collaboratif d'envergure sur la digestion par voie sèche. Il a permis de :

- Mieux connaître la nature des différents déchets et leur influence sur les procédés ;
- Mettre en évidence l'importance de la teneur en eau sur les propriétés physiques (états de l'eau, rhéologie) selon le type de déchets ;
- Développer des outils de mesure et de connaissance des procédés : tests d'effondrement, traçages, modèle de simulation.
- Identifier un seuil limite de teneur en eau entraînant un fonctionnement dégradé des procédés sur le plan microbiologique et cinétique.
- Il ouvre également des perspectives sur le rôle du transfert de matière aux faibles teneurs en eau, qui constitue le verrou objectif de l'intensification du procédé.

Le projet a donné lieu à 5 articles publiés (revues internationales) directement liés aux résultats scientifiques du projet. 2 portent sur la caractérisation des déchets et digestats (revues : Waste Management IF 2,66 et Chemical Engineering Journal IF 3,17), 4 sur l'influence de la teneur en eau sur différents aspects de la cinétique et de sa modélisation. Le projet a également donné lieu à 8 communications orales dans 5 congrès internationaux, ainsi qu'à 3 présentations au congrès SFGP 2011.

ANAMIX est un projet de recherche fondamentale, coordonné par le Laboratoire de Génie Civil et d'Ingénierie Environnementale de l'INSA de Lyon. Il associe aussi Valorga International, ainsi que le Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement de l'INRA de Narbonne). Le projet a commencé en décembre 2008 et a duré 39 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 528 k€ pour un coût global de l'ordre de 1,6 M€.



<u>Vue des deux réacteurs VALORGA de l'usine de traitement des déchets de Varennes-Jarcy</u>
(France)

## WINSEAFUEL – Production de macroalgues en pleine mer pour une valorisation en biométhane et autres bioproduits

Contact: Thomas Lasserre - La Compagnie du Vent -Thomas.LASSERRE@compagnieduvent.com

Culture de macroalgues en pleine mer pour une valorisation en biométhane et autres bioproduits

## Créer une filière de production de bioénergie innovante et durable à partir de macroalgues cultivées au pied d'un parc éolien offshore

L'objectif du projet WinSeaFuel est d'élargir la palette des matières premières mobilisables pour des applications conjointes bioénergie/produits à haute valeur ajoutée. Ceci par l'écoconception (concevoir en intégrant le critère environnemental) d'une filière dont le potentiel est considérable en termes de diversité et de capacité de développement : la biomasse végétale marine de culture. Pour étudier et écoconcevoir cette filière, le projet WinSeaFuel étudie trois principaux domaines : 1) Culture de macroalgues en mer, depuis les études en laboratoires (étapes critiques de la reproduction des espèces autochtones choisies) et l'ensemencement de supports de culture jusqu'aux tests en mer sur la concession du partenaire Aléor. 2) Co-valorisation de la biomasse algale : extraction en tête de biomolécules d'intérêts et optimisation de la méthanisation jusqu'à la valorisation des digestats. 3) Synergies avec l'énergie éolienne offshore, WinSeaFuel étant adossé au développement d'un projet de parc éolien en mer dans le nord de la France.

## De la culture en mer sur supports préalablement ensemencés de plantules en écloserie vers la méthanisation et l'extraction de biomolécules valorisables

La démarche utilisée pour écoconcevoir cette nouvelle filière de production repose sur des études en laboratoire et des expérimentations pilotes adossées d'analyses à la fois technico-économiques et environnementales (analyse de cycle de vie). Pour cela, le projet se divise en 5 tâches :

- 1. Culture « offshore » et récolte de macroalgues : production en grande quantité de plantules sélectionnées et étude de la logistique de production et de récolte en lien avec l'exploitation éolienne,
- 2. Valorisation intégrée de co-produits d'intérêt : étude des composés à haute valeur ajoutée et essais d'extraction à différentes échelles,
- 3. Méthanisation des macroalgues : étude des conditions optimales de méthanisation, caractérisation de la biodégradation, essais en réacteurs à plus grande échelle,
- 4. Analyse de cycle de vie (ACV) : Inventaire des flux de matière et d'énergie de la filière, ACV pour les différentes étapes et scénarios, Optimisation de la durabilité de la filière,
- 5. Analyse globale de la filière : étude de la faisabilité technico-économique, synergies administratives & logistiques avec l'éolien offshore, dimensionnement du projet de démonstration, élaboration d'un plan de déploiement industriel.

Aujourd'hui la culture de biomasse marine en conditions offshores et en grande quantité ainsi que les valorisations associées ne sont pas maîtrisées en Europe. Elles présentent des problèmes scientifiques et technologiques qui nécessitent de la recherche et du développement pour mettre au point une filière économique viable et durable. Le but du projet WinSeaFuel est donc de lever les verrous techniques et scientifiques liés à la culture des macroalgues et à leur co-valorisation en biogaz et autres biomolécules d'intérêt ; et de dimensionner un projet de démonstration pour aller vers l'industrialisation.

Les études scientifiques et techniques de WinSeaFuel contribuent à l'enrichissement de différents domaines de connaissances et de savoir-faires qui pourraient être le point de départ de nombreux autres projets pour la recherche tout comme pour l'industrie.Plusieurs brevets sont susceptibles d'être déposés sur chacune des thématiques étudiées. Les résultats non brevetables et non secrets feront l'objet de publications scientifiques.

WinSeaFuel est un projet de recherche industrielle coordonné par La Compagnie du Vent (Pôle Bioénergies). Il regroupe 5 autres partenaires : Naskeo et Aléor, le CEVA, le Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement et SupAgro. Le projet a commencé en décembre 2009 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 900 k€ pour un coût global de 2 M€. Il a été labellisé par les pôles DERBI et TRIMATEC.

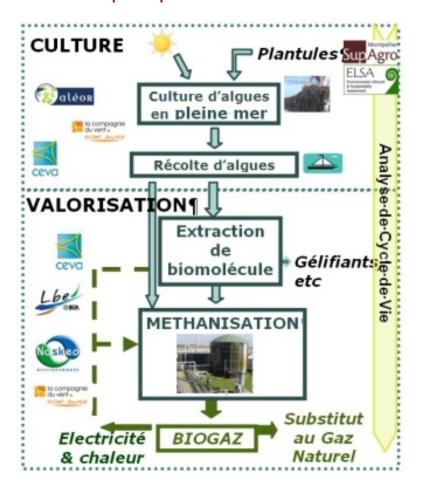


Schéma général de la filière étudiée

#### DANAC – Digestion ANaérobie Activée

Contact: Jean-Jacques Godon - INRA - godon@supagro.inra.fr

#### Utiliser les 200 millions d'années d'expérience des animaux en digestion anaérobie

#### Amélioration de la digestion anaérobie par bio-mimétisme

Aujourd'hui, les technologies industrielles consistent à mettre en œuvre au sein d'un même réacteur les différents processus biochimiques de la digestion anaérobie. Cependant, aucune de ces technologies à ce jour n'est capable de dépasser le seuil de 60 % de dégradation de la matière organique, limitant ainsi la production de biogaz-méthane associé. Par ailleurs, la digestion anaérobie est un procédé largement répandu notamment dans le tube digestif des êtres vivants. Dans ces écosystèmes, les performances de digestion peuvent atteindre de 60 à 75 % de la matière organique. Ces résultats tendent à montrer que le monde vivant a sélectionné des systèmes capables de lever le verrou de l'accessibilité de la matière organique afin d'en optimiser sa transformation en composés énergétiques.

L'objectif du projet DANAC est ainsi d'analyser l'ensemble des processus de digestion des êtres vivants, et par mimétisme de développer de nouveaux procédés de production de biogaz à partir de déchets permettant une dégradation de la matière organique supérieure à 70 %.

#### Des digesteurs qui copient le vivant

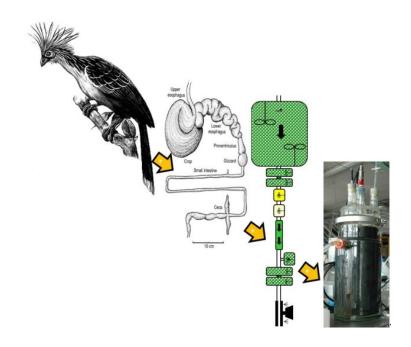
Ce programme de recherche part d'un constat, le faible rendement de la digestion anaérobie industrielle, et d'une idée, le vivant a « optimisé » la digestion anaérobie de tous les substrats organiques. L'objectif est d'identifier les « innovations » du vivant pour dégrader différents substrats en digestion anaérobie et de transposer ces systèmes digestifs en procédés innovants. La contribution de l'inoculum microbien sera aussi évaluée.

Les systèmes digestifs animaux sont plus performants que les procédés industriels. L'objectif est dans un premier temps d'identifier les innovations et déterminants « procédés » du vivant et les déterminants structurels et fonctionnels « microbiens » qui expliquent ces gains en performance. Dans un second temps, ces déterminants explicatifs seront utilisés à l'échelle laboratoire pour mimer deux systèmes digestifs jugés les plus pertinents. La « copie » procédé dissociée ou non de la composante microbiologique devrait permettre de renseigner les rôles respectifs de ces deux composantes. Il s'agira de valider la faisabilité technico-économique des combinaisons étudiées afin d'identifier et de sélectionner la synergie industriellement réalisable.

Ce projet a permis de faire, avec une vision procédé, l'inventaire de 190 systèmes digestifs animaux (mammifères, oiseaux, poissons, insectes, etc.). Ils peuvent tous être groupés en 5 structures de base. La taille relative des réacteurs au sein de ces structures et leur « choix » sont compétemment corrélés au régime alimentaire (de facilement à difficilement dégradable). Deux de ces structures (type « vache » et type « termite ») ont été reproduite à l'échelle du laboratoire. Les premiers résultats montrent une augmentation significative de la production de méthane pour les deux systèmes bio-mimés alimentés avec des boues de stations d'épuration en comparaison avec des réacteurs témoins. L'inoculation au démarrage de communautés microbiennes « classiques » issues de « boues de stations d'épuration » ou issue de l'animal bio-mimé ne semble pas avoir d'impact notoire. Ces communautés seront fonctionnellement et structurellement caractérisées.

La contribution des différentes microflores dans l'augmentation de rendement observé reste à déterminer. L'intérêt des résultats devra être conforté par une étude de faisabilité industrielle. Outre celles testées sur les modèles « vache » et « termite », d'autres innovations du vivant en termes de digestion anaérobie ont été identifiées, leurs potentiels restent à explorer.

DANAC est un projet de recherche fondamentale coordonné par l'INRA (LBE). Il associe l'IRSTEA (HBAN), l'IRD (BIOEMCO-IBIOS), l'INRA (Inst. MICALIS) et Suez Environnement (CIRSEE). Ce projet a commencé en décembre 2009 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 585 k€ pour un coût global de 1,7 M€. Il a été labellisé par les pôles de compétitivité DERBI, AXELERA, ADVANCITY.



De l'animal au digesteur biomimétique : exemple de l'hoazi

#### DIVA – Caractérisation des Digestats et de leurs filières de **Valorisation Agronomique**

Contact: Patrick Dabert - CEMAGREF - patrick.dabert@cemagref.fr

Valorisation agronomique des digestats de méthanisation

#### Caractériser les digestats et leurs méthodes de post-traitement pour une meilleure valorisation

Pour pouvoir être utilisés comme produit fertilisant ou amendement, les digestats doivent présenter des critères spécifiques de composition en matière sèche et organique, en minéraux, nutriments etc... et être dépourvus de microorganismes pathogènes et de composés phytotoxiques. Ils doivent de plus être stables dans le temps. La grande variabilité des filières de méthanisation développées aujourd'hui et la grande variabilité des déchets entrant dans ces filières ont conduit à des questionnements importants sur la qualité des digestats générés. Ainsi, les digestats sont généralement compostés avant d'être utilisés sur les terres agricoles. Le projet DIVA a pour objectifs de caractériser la composition des digestats des différentes filières de méthanisation françaises et d'étudier les possibilités de valorisation de ces digestats en agriculture.

#### Une approche basée sur l'optimisation environnementale de la filière

Les filières de méthanisation représentatives de la diversité française ont été déterminées par une étude bibliographique et la rencontre d'experts. Cinq filières ont été choisies : deux méthanisations agricoles, une méthanisation d'ordures ménagères, une méthanisation de biodéchets et une méthanisation territoriale. La caractérisation des digestats de ces 5 filières a été réalisée par cinq campagnes de prélèvements réparties sur environ un an. Ces digestats sont maintenant analysés et testés pour une utilisation en tant que produit fertilisant ou amendement. Des tests supplémentaires sont menés en rhéologie, en agronomie (minéralisation) et en biologie pour rechercher des liens entre composition des digestats, stabilité biologique, qualité des digestats et valeur agronomique. En parallèle, plusieurs procédés de post-traitement des digestats sont évalués évaluées : le séchage, le compostage, le traitement biologique et la filtration membranaire.

La valorisation agronomique des digestats est abordée par des essais au laboratoire, des essais au champ et de la modélisation qui permettent de déterminer : la valeur fertilisante azotée à court terme, la dynamique de minéralisation C et N, les risques de phytotoxicité, et la simulation du devenir au champ C et N. Des essais au champ viennent compléter les études menées au laboratoire et permettent de mesurer les émissions d'ammoniac et de gaz à effet de serre lors de l'épandage des digestats. L'évaluation technico-économique des filières se fait par un audit de site réel et par l'évaluation des couts de fonctionnement des filières étudiées.

L'évaluation environnementale se fait par ACV des filières de post-traitement étudiées et du retour au sol des digestats bruts et transformés sur la base des impacts au sol et des émissions gazeuses : CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub> et NH<sub>3</sub>.

#### Résultats majeurs du projet

Les premiers résultats intéressants suggèrent que la composition des digestats est relativement stable comparée à la variabilité des déchets entrant dans les méthaniseurs. Des analyses sont en cours et afin de valider les résultats. Les perspectives du projet sont nombreuses :

- La caractérisation des digestats sur 1 an va permettre de fournir des données sur la composition et la stabilité des digestats des filières étudiées. Ces données seront utiles pour mesurer la distance qui sépare encore les digestats des valeurs souhaitées par les normes et pour définir le post-traitement le plus adapté,
- Les essais de post-traitement vont permettre de valider et optimiser différentes technologies de séchage, compostage, traitement biologique et filtration membranaire,
- Les essais agronomiques vont permettre de déterminer la qualité agronomique des digestats bruts et de valider l'intérêt des procédés de post-traitement. Ces données seront utilisées pour construire un modèle mathématique de prédiction de la valeur agronomique des digestats en fonction de leur composition,
- L'analyse technico économique et environnementale des filières permettra de valider l'approche qui conduit au meilleur compromis entre valorisation.

DIVA est un projet de recherche expérimental, coordonné par IRSTEA. Il associe Solagro, Armines, l'université de Montpellier, l'INRA, ainsi que deux organismes privés GEOTEXIA et Suez Environnement. Il a débuté en décembre 2010 pour une durée de 4 ans et bénéficie d'un financement ANR de 1,2 M€ pour un coût global de 3,8 M€. Il a été labellisé par le pôle de compétitivité Agrimip Innovation.



Unité de méthanisation territoriale (crédits : P. Dabert)

# Anabio-H2 – Valorisation des coproduits agricoles et industriels via la production d'hydrogène utilisant des souches microbiennes anaérobies mésophiles

Contact: Christian Larroche - LGCB - christian.larroche@univ-bpclermont.fr

Comment utiliser des déchets agroindustriels pour produire de l'énergie?

### Production d'H2 et d'acides gras volatils sur substrats protéiques : valorisation de co-produits de la filière viande

Ce projet vise à produire du biohydrogène à partir de coproduits de la filière agricole et de la filière viande en utilisant des consortia de microorganismes anaérobies mésophiles présents naturellement dans certains écosystèmes tels que le fond des lacs (ex : le lac Pavin situé en Auvergne). Ce projet s'articule autour de quatre tâches. La première étape est la mise en place de consortia microbiens capables de produire de l'hydrogène en utilisant ces substrats protéiques. Ces consortia sont ensuite caractérisés par identification des souches microbiennes les composant. Le suivi de leur évolution en cours de culture est effectué par le biais de l'utilisation de biopuces à ADN et à ARN, ce qui constitue l'une des innovations de ce projet. La dégradation de ces co-produits permet la production d'hydrogène et de composés carbonés tels que l'éthanol, lactate et acides gras volatils ou AGVs (acétate, propionate, butyrate, valérate). La dernière étape de ce projet propose d'utiliser ces derniers composés comme source de carbone pour l'accumulation de biolipides ou SCOs (single cell oils) par des microorganismes oléagineux. Ces lipides microbiens peuvent, s'ils répondent à certaines normes, être utilisés dans la filière biocarburant.

## Mise en œuvre et suivi de consortia microbiens anaérobies mésophiles non méthanogènes pour la valorisation de co-produits agro-industriels

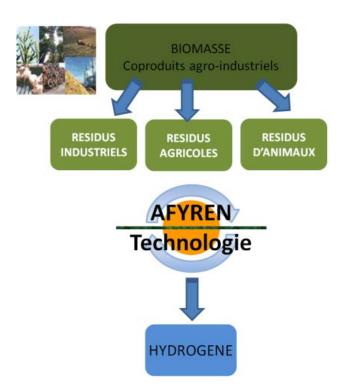
La démarche utilisée pour valoriser les déchets lignocellulosiques et les déchets de la filière viande en hydrogène repose sur un criblage de souches présentes dans l'environnement et produisant naturellement de l'hydrogène. Ce criblage permet d'isoler des consortia non producteurs de méthane par des techniques de microbiologie anaérobie. Deux consortia ont été sélectionnés, un pour sa capacité à produire de l'hydrogène sur déchets lignocellulosiques et un pour sa capacité à croître sur co-produits de la filière viande. Durant les cultures sur les substrats étudiés, le suivi de la composition et de la dynamique de la communauté microbienne est effectué par l'utilisation de biopuces à ADN, ces biopuces sont validées. Le suivi des voies métaboliques d'intérêt a été effectué par l'utilisation de biopuces à ARN.

La démarche utilisée pour valoriser les AGVs issus de la production d'hydrogène par la voie fermentaire repose sur l'utilisation de souches oléagineuses capables d'accumuler une quantité importante de SCOs via des cultures en hautes densités cellulaires.

Une production d'hydrogène (35% du gaz produit) est observée sur les déchets lignocellulosiques, associée à une accumulation majoritaire d'acétate. Ce composé utilisé comme source de carbone par *Yarrowia lipolytica* en limitation par l'azote permet la production de 40% de masse sèche de levure en lipides. Les cultures sur déchets de viande ne mettent pas en évidence de production significative d'hydrogène, mais une production d'AGVs, de lactate, et d'éthanol. Ces AGVs constituent un point de départ pour l'obtention de commodités chimiques et sont utilisables par des levures oléagineuses pour la production de SCOs. Il faut aussi noter un dégagement d'azote, cette caractéristique ouvre des voies de valorisation dans la dépollution anaérobie de milieux riches en composés azotés.

Six articles dans des revues internationales à comité de lecture sont parues, dont une dans les techniques de l'ingénieur en collaboration avec le LBE de Narbonne sur la production d'hydrogène par voie fermentaire sombre. Cinq présentations ont été effectuées, une lors d'une journée d'études "Valorisation énergétique de la biomasse" de groupes de travail de la Société Française de Génie des Procédés (2009, Paris), une aux 7<sup>ème</sup> rencontres des microbiologistes du pôle Clermontois (2010, Clermont-Ferrand), deux congrès ICBF (2010, Curitiba, Brésil) et une au GDR biohydrogène (2010, Carry Le Rouet). L'entreprise Afyren, portée par Régis Nouaille, a été crée le 11 avril 2012.

ANABIO-H2 est un projet de recherche fondamentale, coordonné par le LGCB (UBP Clermont-Fd). Il associe également le LMGE (UBP Clermont-Fd) et 2 partenaires privés : l'ADIV (Association pour le Développement de l'Institut de la Viande) et Biobasic Environnement. Le projet a débuté en décembre 2008 pour une durée 42 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 695 k€ pour un coût global de 1,4 M€.



<u>Technologie AFYREN : Valorisation de coproduits agroindustriels vers une production de biohydrogène</u>

# InGEcoH – Ingénierie écologique d'écosystèmes microbiens producteurs de biohydrogène par voie fermentaire

Contact: Eric Trably - LBE/ INRA - trably@supagro.inra.fr

## Le contrôle biologique des communautés microbiennes au service des bioénergies

## Une meilleure compréhension des réseaux métaboliques au sein des écosystèmes bactériens producteurs de bioH<sub>2</sub>

Un grand nombre d'espèces microbiennes, issues d'environnements variés, peuvent produire du biohydrogène par voie fermentaire. Le potentiel des cultures mixtes microbiennes est particulièrement intéressant pour traiter des ressources organiques complexes issus du traitement de la biomasse. Toutefois, la diversité microbienne des cultures mixtes est également source d'instabilité des procédés via la présence des métabolismes bactériens multiples pouvant conduire à une reconsommation du bioH2. A ce jour, peu de moyens d'actions, notamment physico-chimiques, permettent d'en assurer le contrôle et le fonctionnement continu pour une production optimale de biohydrogène. Le projet InGEcoH s'intéresse donc à identifier puis à utiliser des espèces-clés situées au cœur des réseaux métaboliques en tant que contrôleur biologique des écosystèmes microbiens. Au-delà du projet InGEcoH, il est attendu que cette approche puisse s'appliquer à d'autres applications biotechnologiques et environnementales à travers l'utilisation de co-cultures microbiennes contrôlées.

#### Du développement de souches hyperproductrices à l'ingénierie de consortium de microorganismes

Le projet InGEcoH développe une méthodologie innovante d'ingénierie des écosystèmes microbiens qui consiste en la conception, la construction et la maintenance de consortiums afin de mieux en contrôler les réseaux d'interactions métaboliques produisant de l'hydrogène. Cela consiste en:

- 1. développer par ingénierie métabolique des souches productrices d'hydrogène à un rendement proche du rendement théorique maximal. La stratégie est de remplacer les voies métaboliques consommant indirectement le potentiel d'hydrogène chez *Clostridium acetobutylicum* par des voies alternatives issues d'autres microorganismes.
- 2. de construire des consortia microbiens « synthétiques » comportant des souches naturelles ou modifiées de *Clostridium acetobutylicum* associées à des espèces-clés retrouvées dans les consortia naturels, pour en déterminer les mécanismes d'interactions et développer des modèles métaboliques de la production d'hydrogène.

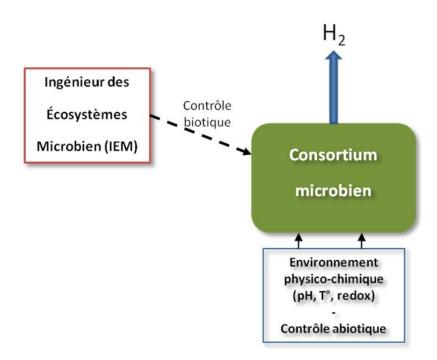
3. de sélectionner des consortia bactériens issus du milieu naturel et d'en identifier les espècesclés pouvant être utilisées comme « ingénieur des écosystèmes microbiens » (IEM) et ainsi de proposer des solutions de contrôle biologique de ces écosystèmes, tout en étudiant leur résistance et résilience face à des stress environnementaux.

#### Résultats majeurs du projet

Les résultats préliminaires ont permis de développer des outils moléculaires innovants permettant un suivi fin des populations et métabolismes bactériens liés à la production d'hydrogène. L'identification d'espèces bactériennes « clés » au sein d'écosystèmes naturels, puis leur réassociation a permis d'améliorer les rendements en hydrogène de près de 2,5 fois la valeur nominale obtenue en culture pure (*Clostridium acetobutylicum*). L'importance des interactions non trophiques a été mise en évidence et ouvre de nouveaux champs d'exploration en cultures mixtes. A cela s'ajoute la création d'un partenariat international avec l'Université du Queensland (Australie) sur les réseaux métaboliques liés au biohydrogène.

Les premiers résultats ont conduit à la parution de 3 publications dans un journal international de référence dans le domaine de l'hydrogène (Int. J. Hyd. Egy.), et plusieurs publications sont en processus final d'écriture. Plus de 13 communications en congrès nationaux et internationaux ont été effectuées dont une présentation orale au congrès international sur l' « ingénierie écologique : des concepts aux applications » (Paris, Déc. 2009).

InGEcoH est un projet de recherche fondamentale, coordonné par le LBE (INRA Narbone), associant le BIP (CNRS Marseille) et le LISBP (INSA Toulouse). Il a démarré en décembre 2008 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 706 k€ pour un coût global de 1,7 M€. Il a été labellisé par le pôle de compétitivité CapEnergies.



Contrôle biotique de la production de biohydrogène par l'utilisation d'ingénieur des écosystèmes microbiens (IEM) sous l'influence des paramètres physicochimiques

#### BioButaFuel – Bioconversion d'hydrolysat de lignocellulose en Butanol, biocarburant de nouvelle génération de haute efficacité, à haut titre et rendement

Contact: Isabelle Meynial-Salles - LISBP - meynial@insa-toulouse.fr

## Développer de nouvelles voies biologiques compétitives pour la production de biocarburant

## Développer une nouvelle souche d'*E. coli* capable de produire du butanol comme unique produit de fermentation à partir de sucres simples

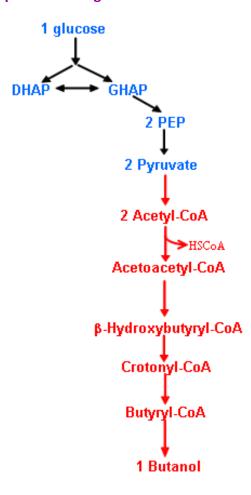
Parmi les molécules d'intérêt pour le développement de nouveau biocarburant, le n-butanol possède plusieurs avantages : il est moins volatile, moins corrosif et il dispose d'une meilleure valeur calorique lui permettant de restituer davantage d'énergie que l'éthanol. Enfin, il peut être utilisé directement comme un additif à l'essence. C'est pourquoi, beaucoup de moyen sont mis en œuvre pour développer une voie biologique performante de production du n-butanol. Les bactéries naturellement productrices de butanol possèdent plusieurs désavantages en raison de la co-production d'acétone et éthanol diminuant les rendements de production et nécessitant une étape de purification pour éliminer ces co-produits. L'approche développée dans le cadre du projet BioButaFuel est de concevoir une souche d'E. coli capable de convertir les sucres simples C5 ou C6 en butanol comme unique produit de fermentation, à un rendement proche du rendement théorique maximal (1 mol/mol), en intégrant une nouvelle voie métabolique jamais décrite jusqu'à présent. Pour atteindre cet objectif une stratégie d'ingénierie rationnelle du métabolisme couplée à une approche de biologie synthétique est utilisée.

## Identification d'enzymes à activité ferrédoxine NADH oxydoréductases, enzymes clefs du métabolisme de *Clostrididum acetobutylicum*

Les ferrédoxine NADH oxydoréductases sont des enzymes clefs du métabolisme central de acetobutylicum, (bactérie naturellement Clostridium productrice acétone/butanol/éthanol). Cependant, bien que son génome ait été séquencé en 2001, les gènes codant ces enzymes n'ont pas été identifiés. Une des étapes du projet a donc été de développer une stratégie de production/purification, afin d'identifier les gènes codant pour ces enzymes. Ces travaux, réalisés en collaboration avec le projet AcetoH2 (PNRB 2006), ont permis d'identifier plusieurs protéines dont l'activité enzymatique a ensuite été validée par caractérisation biochimique. A partir des connaissances acquises, la deuxième étape a été la conception d'une nouvelle voie métabolique de synthèse du butanol à partir de pyruvate à l'aide de gènes synthétiques afin d'optimiser l'expression de ces gènes chez E. coli. En parallèle, des modifications ont été introduites au sein du métabolisme d'E. coli pour réorienter le métabolisme vers la production de pyruvate et NADH. Enfin, la dernière étape est l'expression de la voie métabolique synthétique dans la souche d'E. coli préalablement modifiée.

Les travaux réalisés dans le cadre de ce projet ont permis d'identifier de nouvelles enzymes clefs du métabolisme de C. acetobutylicum impliquées dans la voie de production du butanol, d'améliorer les connaissances sur le fonctionnement de la voie de synthèse du butanol chez C. acetobutylicum, de construire une nouvelle voie synthétique de conversion du pyruvate en butanol et d'évaluer les aptitudes de la nouvelle souche d'E.coli à produire du butanol à partir de glucose. Si les performances attendues de la souche sont confirmées, cette nouvelle souche E. coli, après optimisation, pourrait être utilisée dans un procédé de production de butanol. Ce projet a fait l'objet de plusieurs présentations dans des congrès nationaux ou internationaux. Un brevet rassemblant les résultats des projets AcetoH2 (PNRB 2006) et BioButafuel est actuellement en cours de dépôt reportant la publication des résultats à une étape ultérieure.

BioButaFuel est un projet de recherche fondamentale, coordonné par le LISBP et associant MEtabolic Explorer. Il a débuté en décembre 2008 et a duré 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 263 k€ pour un coût global de 470 k€.



Représentation schématique du métabolisme de la nouvelle souche d'E. coli productrice de butanol à partir de glucose : en bleu, les voies naturellement présentes chez E. coli, en rouge la nouvelle voie synthétique conçue dans le cadre du projet BioBut

# ACTIFE – Adaptation des Cellulases de T. reesei aux contraintes de la **Fermentation Ethanolique**

Contact: Antoine Margeot - IFPEN - Antoine.MARGEOT@ifpenergiesnouvelles.fr

Vers un procédé de production de bio-éthanol intégré et à coût réduit

### Réduire les coûts en enzymes et simplifier le schéma de production d'éthanol 2G

La mise en place d'une filière de production d'éthanol à partir de biomasse végétale non alimentaire (éthanol dit de seconde génération, ou 2G) est un enjeu important pour le secteur des transports. Dans ce procédé de production, la biomasse végétale prétraitée subit une hydrolyse par des enzymes produites par un champignon filamenteux, Trichoderma reesei. Celles-ci vont couper la cellulose en monomères de glucose. Ensuite, la levure de boulangerie Saccharomyces cerevisiae fermente ce glucose en éthanol. L'étape d'hydrolyse enzymatique reste de loin la plus coûteuse du procédé, car une grande quantité d'enzymes doit être utilisée, notamment parce que le glucose inhibe l'action des enzymes. Un élément de solution possible est de réaliser la fermentation dans le même réacteur que l'hydrolyse afin que le glucose soit consommé au fur et à mesure de sa libération par les enzymes, mais les deux réactions requièrent des conditions opératoires différentes. Cela limite aujourd'hui les avantages de ce procédé de "SSF" (Simultaneous Saccharification and Fermentation). Le projet ACTIFE (Adaptation des Cellulases de Trichoderma reesei aux contraIntes de la Fermentation Ethanolique) vise à adapter les enzymes de T. reesei aux contraintes de la fermentation afin d'en diminuer les quantités à mettre en œuvre. L'objectif est de rendre le schéma de SSF avantageux par rapport au schéma classique comprenant des réactions séparées (SHF, Separate Hydrolysis and Fermentation).

### Une adaptation des enzymes clés pour la SSF par évolution dirigée

Le projet s'appuie en grande partie sur les technologies dites d'évolution dirigée. Ces technologies d'ingénierie génétique permettent de créer des "super-enzymes" adaptées aux conditions industrielles, et aux performances bien supérieures à celles des enzymes naturelles. Le principe est de créer des milliers de versions du gène codant pour l'enzyme d'origine, par mutation ou par recombinaison aléatoire de l'ADN, et de sélectionner les quelques-unes codant pour des enzymes ayant les propriétés recherchées. Cette dernière étape nécessite un criblage haut débit adapté (plusieurs dizaines de milliers de versions de l'enzyme criblées). Ces technologies miment les mécanismes de la sélection naturelle, mais l'accélèrent et l'adaptent aux besoins des procédés industriels. ACTIFE fait également appel à des techniques de biochimie utilisées pour identifier, parmi le mélange d'enzymes produit par T. reesei, celles qui limitent l'hydrolyse dans les conditions de SSF. Ces enzymes limitantes sont améliorées par évolution dirigées puis réintroduites par génie génétique dans la souche d'origine ou la levure S. cerevisiae qui réalise la fermentation.

L'efficacité des nouveaux mélanges et souche est évaluée en SSF et comparée à celle du mélange de base. Enfin, l'impact sur le coût de production de l'éthanol est évalué par simulation du procédé de production complet.

### Résultats majeurs du projet

Au cours de la première année du projet, le rôle de chacune des enzymes principales du mélange d'enzymes de *T. reesei* en conditions de SSF a été étudié, permettant d'établir les cibles principales pour l'évolution dirigée. Cette technologie a également fait l'objet de développements spécifiques, et des verrous importants ont pu être levés au niveau des systèmes d'expression des enzymes et des méthodes de criblage haut débit de celles-ci. Des tests standards de SSF ont été mis au point et ont permis une première évaluation du procédé et la définition de cibles en termes de coût et de performance. Plus de 10 versions d'enzymes adaptées à une température d'hydrolyse plus faible sont actuellement réintroduites dans le champignon *T. reesei* ou la levure *S. cerevisiae*. Quatre d'entre elles ont été exprimées avec succès et l'amélioration d'activité dans ces nouveaux hôtes a pu être confirmée dans plusieurs cas.

Les enzymes développées dans ce projet pourront être utilisées dans tout procédé de conversion directe de biomasse lignocellulosique en carburant ou produit chimique où la température optimale du micro-organisme est un obstacle à l'activité des enzymes. Plus largement les cribles et méthodes développés pour les enzymes cellulolytiques pourront être employés à nouveau pour l'optimisation d'autres propriétés en fonction du procédé considéré. Les méthodes de criblage d'enzymes et de détermination de leurs activités, stabilités et paramètres limitants pourront faire l'objet de publications et de présentations en congrès. Les enzymes améliorées seront brevetées. Actuellement, nous avons un brevet en cours de rédaction et un projet de publication. D'autres brevets sont possibles, en fonction des performances des nouvelles enzymes aujourd'hui en cours d'évaluation.

ACTIFE est un projet de recherche industrielle coordonné par IFP Energies nouvelles. Il associe également la société de biotechnologie Protéus (Nîmes) et l'UPR 5301 du CNRS (CERMAV de Grenoble). Le projet a débuté en décembre 2009 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 873 k€ pour un coût total de 2,2 M€. Il a été labellisé par le pôle de compétitivité DERBI.

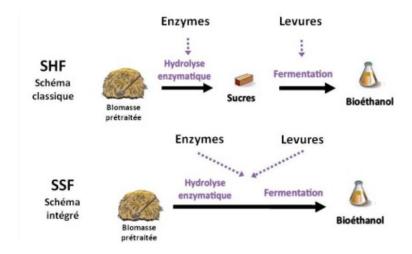


Schéma de conversion de biomasse en éthanol par saccharification et fermentation simultanées (SSF) et schéma classique de SHF (hydrolyse et fermentations séparées)

# Algo-H2 – Optimisations génétiques, métaboliques, et procédé de la photobioproduction d'hydrogène par la microalgue verte Chlamydomonas reinhardtii

Contact: Guillaume Cogne - GEPEA - guillaume.cogne@univ-nantes.fr

Vers la production d'hydrogène par voie biologique photosynthétique issu de microalgues

### Objectifs et originalité

L'objectif du projet est d'étudier la production d'hydrogène par voie biologique photosynthétique en choisissant comme organisme modèle Chlamydomonas reinhardtii, connue pour produire de l'hydrogène grâce à une enzyme Fe-hydrogénase à forte activité. Cette microalgue présente naturellement dans le sol, et cultivable aisément en photobioréacteur en culture libre, a été très étudiée aux niveaux physiologique et génétique. Le séquençage récent de son génome et l'existence de nombreux outils génétiques, ouvrent des perspectives d'optimisation biotechnologique sans égal.

L'originalité du projet est de combiner expérimentations en conditions contrôlées, tout en abordant simultanément les voies principales d'optimisation de la production d'hydrogène par une approche expérimentale et théorique multiéchelle.

#### Méthodologie

Pour améliorer significativement l'état des connaissances sur la production d'hydrogène par des microalgues, et amener à des ruptures par rapport à l'état de l'art, le projet a comme idées directrices:

- Combinaison dans un programme intégratif de trois voies d'optimisation de la production d'hydrogène par Chlamydomonas reinhardtii : optimisation génétique dirigée pour améliorer la tolérance à l'oxygène de l'hydrogénase à Fer de C. reinhardtii, optimisation énergétique et métabolique et recherche de mutants affectés dans les voies bioénergétiques impliquées dans la production d'hydrogène, et optimisation des protocoles de production et des stratégies de conduite des photobioréacteurs de production.
- 2. Utilisation de photobioréacteurs d'étude pour rechercher et tester de nouveaux protocoles en conditions rigoureusement contrôlées.
- Intégration des résultats dans une démarche transversale de modélisation appliquée à l'échelle cellulaire (chaîne de transporteurs, métabolisme énergétique, voies de production d'H<sub>2</sub>) et au réacteur pour l'optimisation des protocoles de production et élaboration d'outils en vue du contrôle et du dimensionnement ultérieur de procédés de production adaptés

A l'heure actuelle, les travaux portant sur l'amélioration génétique de Chlamydomonas reinhardtii vis-à-vis de la sensibilité de l'hydrogénase à fer à l'O<sub>2</sub> ont conduit à la mise en place d'un premier crible pour l'évolution dirigée de l'H2ase [Fe-Fe] de C. reinhardtii.

Concernant l'optimisation des voies métaboliques impliquées dans la production d'H2, l'étude d'un mutant affecté dans le transfert cyclique des électrons autour du PSI, a permis de mettre en évidence que la voie directe de production d'H2 était limitée par le gradient transmembranaire de protons lui-même dépendant de l'activité du transfert cyclique des électrons autour du PSI. Enfin, un premier montage de procédé bi-étagé de production continu d'H<sub>2</sub> a été mise en place. Celui-ci est actuellement en cours de caractérisation.

Une production d'énergie propre (l'hydrogène) intégralement basée sur des sources renouvelables (eau et soleil) pourrait finalement être mise en place. Cet enjeu majeur explique les nombreux travaux engagés de par le monde sur l'utilisation directe des micro-organismes photosynthétiques.

Le projet a donné lieu à ce jour à 4 publications dans des revues à comités de lecture internationales et 1 communication internationale

ALGO-H2 est une projet de recherche fondamentale coordonné par le GEPEA. Il associe également les laboratoires du CEA (LPB), du CNRS (BIP et LBVME) et le LGCB (UBP Clermont-Fd). Il a débuté en janvier 2011 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 1,2 M€ pour un coût global de 3,8 M€. Il a été labellisé par le pôle de compétivité CAPENERGIES.

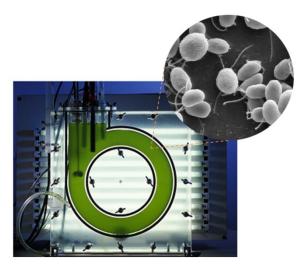


Photo du réacteur et vue microscopique de Chlamydomondas reinhardtii

# ENGINEERING H2 CYANO – Ingénierie de la cyanobactérie modèle Synechocystis pour une meilleure photoproduction d'hydrogène

Contact: Franck Chauvat - CEA - franck.chauvat@cea.fr

## Vers une production durable d'hydrogène par voie biologique

### Ingénierie de cyanobactéries (phytoplancton) pour une meilleure production d'hydrogène, à partir d'eau et d'énergie solaire

Le développement d'organismes capables d'utiliser l'énergie solaire pour une production propre et durable d'hydrogène (H2) à partir d'eau, est d'un grand intérêt public. Les cyanobactéries sont propices à la photoproduction d'hydrogène, car elles sont très faciles à cultiver et leur hydrogénase (le complex enzymatique Hox) qui produit l'hydrogène, tolère mieux l'oxygène que l'enzyme des algues. Cependant, les souches naturelles ne produisent que de très faibles quantités l'hydrogène, et seulement dans des conditions défavorables à leur croissance. Pour augmenter la production d'hydrogène, nous utilisons les approches modernes de la biologie synthétique pour construire, et analyser en détail, des mutants capables de produire plus de complexes Hox (et sa machinerie d'assemblage Hyp), mieux tolérants à l'oxygène. Notre démarche est comparable à celle des ingénieurs de l'automobile qui travaillent à l'amélioration des performances des moteurs: alimentation, puissance et robustesse.

## Utilisation des techniques de biologie systémique pour augmenter les performances de la machinerie cellulaire de photoproduction d'hydrogène

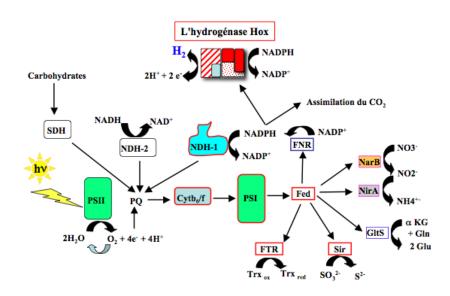
La machine de production d'hydrogène est complexe, et étroitement imbriquée avec l'ensemble du métabolisme cellulaire. L'hydrogénase (Hox) comporte 5 protéines (HoxEFUYH), et plusieurs cofacteurs métalliques (Ni, Fe et des centres Fe-S) qui transfèrent à l'H2, les électrons issus de la photosynthèse qui produit aussi l'oxygène. En outre, Hox est assemblée par un complexe, Hyp, de 6 protéines (HypABCDEF). Utilisant nos 25 ans de pratique de la génétique des cyanobactéries, nous construisons des mutants surproduisant la machine de photoproduction d'H<sub>2</sub>. Nes stratégies prennent en compte les difficultés techniques du clonage et de l'expression simultanée des 11 gènes codant pour les complexes Hox et Hyp. Nous tentons également d'augmenter la tolérance à l'oxygène de l'enzyme Hox. Ces mutants (et leur descendants) sont (seront) analysés par les techniques "à haut débit", transcriptome et métabolome, pour caractériser l'adaptation métabolique à une forte production d'H2. Les nouvelles souches et les connaissances issues de notre travail devraient permettre de franchir un pas important vers une future production durable (propre et rentable) d'hydrogène par voie biologique.

Nous avons déjà construit deux mutants dotés d'une meilleure activité hydrogénase (Hox). Le premier résulte de l'inactivation d'un répresseur de la production de Hox. Le second résulte du remplacement du faible promoteur des gènes hox par un promoteur fort et thermo-iductible. Les mesures précises de photoproduction d'H<sub>2</sub> sont en cours. Elles dépendent de l'éclairement qui produit l'énergie, mais aussi l'O<sub>2</sub> qui inhibe Hox; la teneur en Fe, Ni et S, indispensables à Hox; etc. Ces travaux sont décrits dans un article publié, et 2 manuscrits (en cours d'évaluation). Nos travaux vont déboucher sur une meilleure compréhension de la synthèse et du role de la machinerie biologique des cyanoabcyéries capable de produire de l'hydrogène à partir d'eau et d'énergie solaire.

Les connaissances et outils développés dans notre projet seront aussi très utiles pour la future l'ingéniérie de cyanobactéries pour la production durable d'autres biocarburants (éthanol, éthylène, lipides).

Il est clair que ces travaux difficiles et ambitieux méritent un soutien financier important et durable, en adéquation avec l'importance de la production durable de biocarburants qui n'entrent pas en compétition avec l'alimentation pour l'eau douce et les sols cultivables. Jusqu'à présent nous avons publié un article, soumis 2 manuscrits (en cours d'évaluation), et présenté nos résultats dans 13 séminaires, 10 posters, et 3 conférences de vulgarisation.

EngineeringH2Cyano est un projet de recherche fondamentale, coordonné par le CEA (Saclay), impliquant le laboratoire de Bioénergétique et Ingénierie des Protéines (CNRS). Il a démarré en octobre 2009 pour une durée de 4 ans. Il a bénéficié d'un financement ANR de 1 M€ pour un coût global de 3,4 M€.



La machine cyanobactérienne de photoproduction d'hydrogène

# HYCOFOL BV – Production d'HYdrogène par COuplage de procédés de Fermentation à l'Obscurité et à la Lumière appliqué à la Biomasse Végétale

Contact: John Willison - CEA - john.willison@cea.fr

## Bioproduction d'hydrogène à partir d'un déchet agricole, la paille de blé

### Proposer un procédé biologique pour la production d'H<sub>2</sub> à partir de la biomasse végétale

Ce projet a pour objet de proposer un bioprocédé de production d'hydrogène à partir de paille de blé, un sous-produit d'origine agricole. Après un traitement enzymatique de la paille, un effluent riche en sucres C5 (xylose) et C6 (glucose) est libéré et ensuite transformé en H2 suivant 2 étapes de fermentation. La première à haute température (70-80°C) est réalisée par des bactéries hyperthermophiles de l'ordre des Thermotogales (elles fermentent les sucres C5 et C6 en acétate, CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>). La seconde étape est réalisée à la lumière par photofermentation de l'acétate en H<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub>, avec des bactéries photohétérotrophes du genre Rhodobacter. Dans ce cas, la plupart du CO2 reste piégé dans le milieu de culture et le biogaz produit est pur à >95%. Le couplage de ces deux procédés de fermentation (haute température et photofermentation) pourrait conduire à une conversion complète des sucres en H2, avec un rendement théorique de 12 mol H2 par mol de glucose. Chaque étape du procédé sera optimisée par rapport à l'efficacité de conversion des composés organiques en H<sub>2</sub>. De plus, la stabilité microbiologique sera contrôlée au cours de chaque étape de la fermentation. L'ensemble des données obtenues permettra, à terme, d'intégrer des deux étapes dans un procédé couplé qui servira à produire de l'électricité ou à alimenter des véhicules à H<sub>2</sub>.

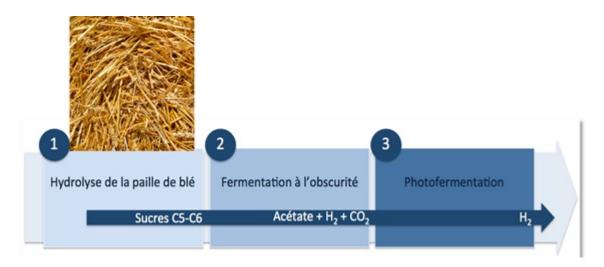
### Microbiologie fondamentale et moléculaire, génie des procédés, biotechnologies

Le choix de la meilleure souche pour la fermentation à haute température s'effectue par criblage d'une collection de bactéries hyperthermophiles appartenant à l'IRD. Ces souches sont testées pour leur capacité à produire de l'H<sub>2</sub> à partir de la paille de blé prétraitée. Ces tests sont effectués dans un milieu de base modifié. Ensuite, la production d'H2 par la souche sélectionnée est optimisée, d'abord en petit volume, puis dans des bioréacteurs de 1L. La meilleure souche pour la photofermentation est choisie parmi des espèces de bactéries photosynthétiques obtenues de la collection allemande DSMZ, mais aussi à partir d'une collection de mutants isolés au CEA. L'optimisation de la photoproduction d'H<sub>2</sub> à partir de l'acétate se fait au CNRS par la méthode des plans d'expériences, une approche statistique qui permet d'analyser un grand nombre de paramètres et de déterminer l'interaction entre eux. Le suivi microbiologique des étapes de fermentation (au BRGM) s'effectue, soit par l'analyse des acides nucléiques, comme l'ARN ribosomial 16S, dont la séquence et spécifique à chaque espèce, soit par le marquage (hybridation) des cellules bactériennes avec des sondes spécifiques fluorescentes qui sont détectées au microscope sous UV. Le prétraitement de la paille de blé se fait à ARD par un procédé industriel déjà mis au point.

ARD a fourni une quantité de paille de blé prétraitée (hydrolysée) suffisant pour l'ensemble d'expériences de fermentation à haute température, de sorte que toutes les expériences peuvent être effectuées avec le même lot. L'analyse complète physico-chimique/chimique a été effectuée, avec notamment la teneur en sucres. La meilleure souche de bactérie hyperthermophile (*Thermotoga maritima*) a été identifiée et un milieu de base modifié a été défini qui servira de point de départ pour les études d'optimisation. En ce qui concerne l'étape de photofermentation, la comparaison de bactéries photosynthétiques est en cours, ainsi que les études d'optimisation en milieu synthétique avec de l'acétate. Un dispositif expérimental permettant l'analyse en plans d'expériences de 48 cultures différentes a été construit. L'analyse microbiologique de la paille de blé avant et après prétraitement a été réalisée. Les résultats montrent notamment le faible nombre de bactéries sporulantes potentiellement capables de survivre à l'étape de fermentation à haute température (70-80°C) et de contaminer l'étape de photofermentation.

Nous espérons que les résultats obtenus au cours du projet HYCOFOL\_BV seront assez probants pour justifier la construction d'un réacteur pilote pré-industriel et pour démontrer la faisabilité d'un procédé qui permet à la fois la valorisation d'un déchet agricole renouvelable, l'utilisation de l'énergie solaire et la production d'un biogaz de haute pureté. Les partenaires ont présenté plusieurs communications (orales et posters) à des congrès internationaux, notamment au congrès Bioénergie du CEA (Bioenergy DSV/CEA Conference) à Paris en février 2012, et au WHEC 2012 (19th World Hydrogen Energy Conference) à Toronto en juin 2012.

HYCOFOL\_BV est un projet de recherche fondamentale coordonné par le CEA (LCBM). Il associe également le CNRS (LEPMI), l'IRD (LMBEC), le BRGM (EPI) et l'ARD. Il a débuté en novembre 2010 pour une durée de 36 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 775 k€ pour un cout global de 1,8 M€.



<u>Couplage des procédés d'hydrolyse enzymatique, fermentation et photofermentation</u>
(crédits, Google, jardivrac.com)

# AGRI-ELEC – Conception basée sur la connaissance de piles à combustible microbiennes pour la production d'électricité à partir de déchets des filières agricole et forestière

Contact: Alain Bergel - LGC/ INP Toulouse - alain.bergel@ensiacet.fr

### Produire de l'électricité à partir de résidus agricoles et forestiers

### Des micro-organismes qui catalysent les réactions électrochimiques

Les piles à combustible permettent de transformer directement en énergie électrique l'énergie chimique contenue dans certains combustibles, l'hydrogène par exemple. Le principe repose sur deux électrodes : l'anode extrait des électrons du combustible (oxydation) et injecte ces électrons dans le circuit électrique externe ; la cathode récupère les électrons et les transfère à un comburant (réduction) le plus souvent l'oxygène. Pour l'instant seul un très petit nombre de composés peut être utilisé comme combustible. Il a été découvert au début des années 2000 que certains micro-organismes sont capables de former des films à la surface des électrodes qui catalysent l'oxydation d'un très grand nombre de matières organiques (acétates, sucres, alcools, acides gras volatils...). C'est un saut scientifique majeur car il est devient alors possible d'exploiter comme combustibles une grande variété de matières organique renouvelables telles que les résidus agricoles et forestiers. Grâce à la technologie des piles à combustible microbiennes (PCM) l'énergie chimique contenue dans ces résidus peut être transformée directement en électricité.

#### Identifier les microorganismes électroactifs efficaces et optimiser les modules de pile

Le projet AgriElec veut évaluer le potentiel des PCM pour la production d'électricité à partir d'effluents des industries du papier et de déchets agricoles. La première phase du projet consiste à identifier des micro-organismes capables de catalyser l'oxydation électrochimique de ces composés. Des flores des sols et d'effluents sont testées en priorité et la très riche biodiversité des milieux Amazoniens (Guyane) constitue également une cible privilégiée. Une procédure de formation de films microbiens (biofilms) sur les électrodes a été définie afin de favoriser le développement des bactéries d'intérêt et optimiser la vitesse des transferts d'électrons aux interfaces électrode/biofilm.

Le couplage de l'électrochimie analytique aux outils de la biologie moléculaire et aux techniques d'imagerie par microscopie permet d'établir des corrélations entre l'électroactivité des biofilms, leur structure et leur composition microbienne. La plus grande partie des recherches est dédiée à la conception d'anodes microbiennes. Pour les cathodes, le projet mène en parallèle une voie abiotique avec la mise au point de cathodes à air et une voie biologique avec la mise en œuvre de souches capables de catalyser la réduction de l'oxygène.

Le projet a identifié de nouveaux milieux dont la flore microbienne permet de former des biofilms électroactifs très efficaces sur l'anode. Des densités de courant supérieures à 30 A/m<sup>2</sup> sont maintenant obtenues pour des potentiels inférieurs à OV/ESH, valeurs qui représentent les meilleures performances actuelles. L'étude des mécanismes a permis d'atteindre des densités de courant de 65 A/m², ce qui constitue une avancée de niveau mondial. Pour la catalyse de la réduction de l'oxygène une souche a été identifiée qui va permettre de réaliser la première cathode microbienne mono-espèce.

De nombreux résultats ont été exposés lors de conférences nationales et internationales, plusieurs articles ont été publiés en particulier dans les journaux Energy and Environmental Science (facteur d'impact 9,6) et Bioresource Technology (facteur d'impact 4,9) d'autres sont en cours de rédaction et deux brevets ont été déposés.

AGRI-ELEC est un projet de recherche fondamentale coordonné par le LGC (Toulouse) associe le LEMiRE (Cadarache), ECOFOG (Cayenne), le LECA (CEA-Saclay), le CTP (Grenoble), le LCA (Toulouse) et la société grenobloise PaxiTech SAS. Il a démarré en décembre 2008 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 1,2 M€ pour un coût global de 2,9 M€. Il a été labellisé par les pôles de compétitivité Agrimip Innovation, Axelera et Capénergies.

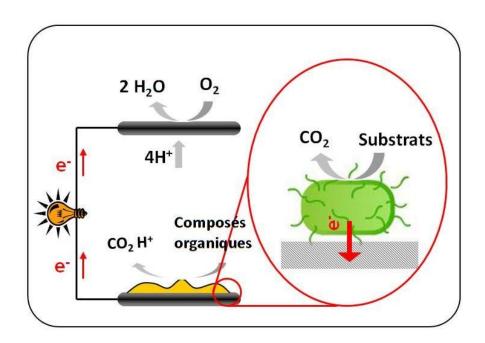


Schéma d'une pile à combustible microbienne (PCM). A l'anode un biofilm microbien catalyse <u>l'oxydation de composés organiques ; la cathode abiotique dite « à air » assure la réduction</u> de l'oxygène

# BIOPAC – Biocatalyseur d'oxydation de l'hydrogène pour les piles à combustible

Contact: Elisabeth Lojou - BIP - lojou@ifr88.cnrs-mrs.fr

# Biomolécules comme catalyseurs d'oxydation de l'hydrogène dans des procédés type pile à combustible

### Immobilisation fonctionnelle d'une hydrogenase tolérante à O2, CO et T° pour une biopile $H_2/O_2$

La plupart des hydrogénases caractérisées à ce jour présentent une forte sensibilité à O2. BIOPAC repose sur l'utilisation d'hydrogénases extraites de bactéries extrémophiles, qui possèdent une tolérance naturelle à O2, mais aussi au CO et à la T°. Ces enzymes deviennent ainsi des catalyseurs très attractifs pour une utilisation en pile à combustible, en remplacement des catalyseurs chimiques, chers et peu spécifiques, dès lors que leur immobilisation fonctionnelle sur des électrodes est optimisée. De nombreux challenges subsistent, que BIOPAC se propose d'explorer. En particulier, afin d'augmenter les densités de courant et les puissances susceptibles d'être délivrées par la future biopile, le contrôle de l'immobilisation de l'enzyme à l'électrode, ainsi que l'augmentation du nombre d'enzymes connectées doivent être réalisés. Les nouveaux matériaux carbonés synthétisés et caractérisés, associés à une modélisation de l'immobilisation de l'enzyme purifiée, permettront de contrôler et d'augmenter les transferts d'électron interfaciaux dans des électrodes volumiques.

## Modélisation et approche électrochimique de l'immobilisation de l'hydrogénase sur supports carbonés mésoporeux

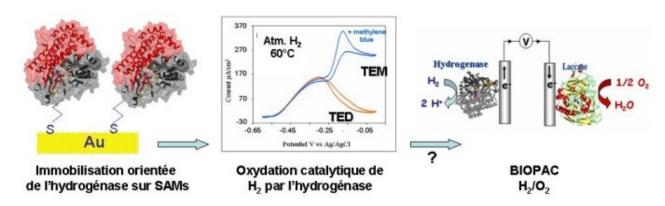
L'objectif fondamental du projet BIOPAC est la connaissance, la modélisation, puis l'optimisation des paramètres physico-chimiques et structuraux qui contrôlent l'interaction entre une hydrogenase résistante à l'oxygène et au CO et un support conducteur pour une oxydation efficace de l'hydrogène. La modélisation préalable des interactions hydrogénaseélectrode doit permettre de définir les modifications à apporter au support pour une catalyse efficace. De nouveaux matériaux carbonés de porosité contrôlée seront développés et caractérisés pour une augmentation de la quantité d'enzymes actives connectées. Le contrôle des paramètres qui régissent l'immobilisation doit permettre à terme de définir une bioanode basée sur l'immobilisation de l'enzyme sur des matériaux carbonés poreux pour une application en biopile  $H_2/O_2$ .

L'identification d'une hydrogénase active pour l'oxydation de H<sub>2</sub> sur une gamme de température allant de 25 à 85°C, et présentant des propriétés essentielles de tolérance à l'oxygène et au CO a été réalisée. La purification de cette enzyme membranaire de l'organisme hyperthermophile Aquifex aeolicus (Aa), seule ou en complexe avec l'ancre membranaire a été mise au point. Le rôle essentiel du détergent servant à l'extraction de l'enzyme a été étudié par électrochimie et biochimie. Deux hydrogénases ont été modélisés : le système *Desulfovibrio fructosovorans* (Df), abondamment étudié, mais sensible à l'oxygène, et Aa, tolérante à l'oxygène, mais plus complexe, car membranaire. De longues simulations de dynamique moléculaire (>0.6 µs) en solvant explicite ont permis de caractériser les propriétés physicochimiques et la dynamique de ces espèces. La synthèse de nanofibres de carbones optimisées pour l'immobilisation de protéines a été réalisée. Une synthèse originale en utilisant un support carboné qui permet d'éviter plusieurs traitements chimiques et limite très fortement la présence d'impuretés dans le matériau final a été mis au point.

Les travaux vont se poursuivre pour d'une part utiliser les données obtenues en modélisation pour fonctionnaliser les fibres, caractériser ces fibres, établir les corrélations entre thermodynamique/cinétique d'adsorption et activité électrochimique des enzymes, et d'autre part optimiser l'immobilisation fonctionnelle de l'hydrogénase sur les supports élaborés. Un premier prototype de biopile  $H_2/O_2$  utilisant les bioélectrodes optimisées sera réalisé.

Trois papiers sont publiés dans des journaux de rang A sur le contrôle de l'orientation de l'hydrogénase associé à une augmentation du transfert d'électron interfacial. Un papier est actuellement sous presse qui traite de l'influence des détergents nécessaires à la purification de l'enzyme sur le processus d'immobilisation.

BIOPAC est un projet de recherche fondamentale coordonné par le laboratoire de bioingénierie des protéines (CNRS). Il associe 3 autres laboratoires publics : IS2M, LCP, LBT. Il a débuté en décembre 2010 pour une durée de 48 mois. Il bénéficie d'un financement ANR de 650 k€ pour un coût global de 2 M€. Il a été labellisé par le pôle CAPENERGIES.



<u>Biopac optimise l'immobilisation d'une hydrogénase tolérante à O2 sur électrode volumique</u> en vue du développement de la première biopile H2/O2. Crédit : E. Lojou

# DEFIH12 – Production de bio-hydrogène par électrolyse microbienne

Contact: Marie-Line Delia - ENSIACET - marieline.delia@ensiacet.fr

L'utilisation de l'hydrogène comme vecteur énergétique présenterait de nombreux avantages à condition de développer des filières de production durables. Le projet DéfiH12 propose de convertir en hydrogène les acides organiques issus de la fermentation grâce à la technologie des « Microbial Electrolysis Cells (MEC) ». Une MEC est un électrolyseur qui réalise l'oxydation des acides acétique/butyrique à l'anode, alors que la cathode assure classiquement la réduction abiotique de l'eau. En fait, l'oxydation est catalysée à l'anode par un biofilm microbien qui joue le rôle d'électro-catalyseur. Le couplage fermentation/MEC amènerait un total de 8 à 9 moles d'hydrogène par mole de glucose, soit un pas considérable vers la limite théorique de 12 moles d'hydrogène tout en induisant un coût énergétique réduit à 1 kWh/m<sup>3</sup> H<sub>2</sub>.

DéfiH12 propose de former des biofilms microbiens spécifiques pour le développement d'anodes de MEC en identifiant des sources d'inoculum innovantes, en adaptant la population microbienne et en déterminant les caractéristiques structurales du biofilm qui optimisent ses propriétés électroactives.

Les acquis fondamentaux seront exploités pour concevoir un prototype préfigurant un pilote industriel permettant de fournir des informations pour évaluer le potentiel de la production de bio-hydrogène par électrolyse de matière organique.

DEFI-H12 est un projet de recherche fondamentale, coordonné par le LGC. Il associe également l'INRA (LBE), le CEA (LEMIRE) et l'entreprise 6T-MIC. Ce projet a débuté en décembre 2009 pour une durée de 48 mois. Il a bénéficié d'un financement ANR de 916 k€ pour un coût global de 2,6 M€. Il a été labellisé par les pôles DERBI et CAPENERGIES.

### **Contacts**

### Responsable de Programme ANR Bioénergies

Marc Rousset Marc.rousset@agencerecherche.fr

### Chargée de Mission Scientifique

Liz Pons Liz.pons@agencerecherche.fr Tél: 01 78 09 80 49

#### **Gestionnaire Administratif**

Catherine Audifax Catherine.audifax@agencerecherche.fr Tél: 01 73 54 81 85

### **Site internet**

Site internet du colloque : http://www.agence-nationalerecherche.fr/Colloques/BioEnergies2012/

Site internet du programme : http://www.agence-nationale-recherche.fr/programmes-derecherche/energie-durable/bio-matieres-et-energies/

Téléchargez ce document sur www.agence-nationale-recherche.fr/Colloques/BioEnergies2012/

www.agence-nationale-recherche.fr





212 rue de Bercy - 75012 Paris France Tél. : +33 (0)1 78 09 80 00