

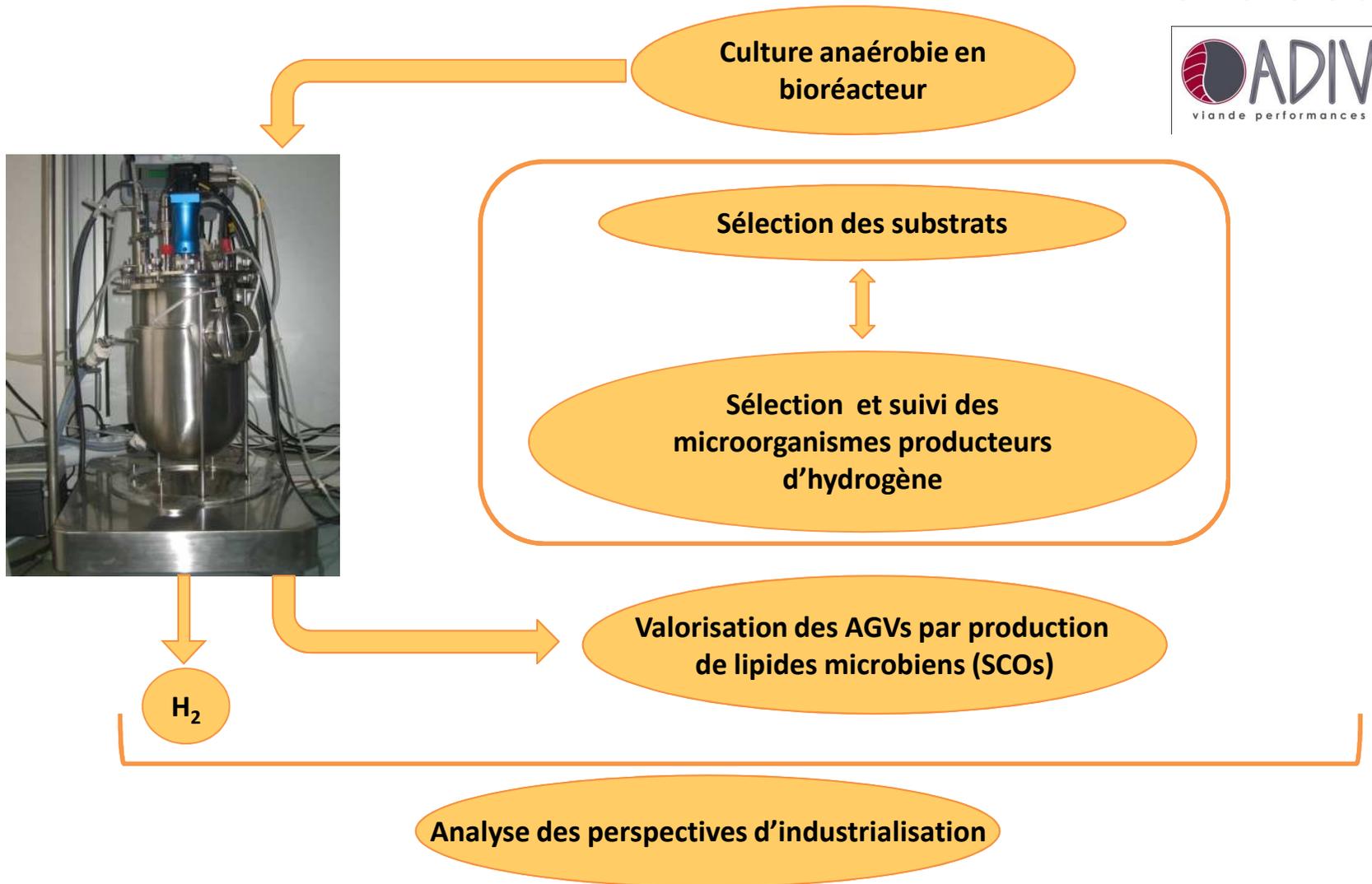
ANABIO-H₂

Valorisation des coproduits agricoles et industriels via la production d'hydrogène utilisant des souches microbiennes anaérobies mésophiles



Structure du projet

AAP 2008



Sélection des déchets

- Substrats cellulosiques et lignocellulosiques : des déchets issus de la filière agricole : paille et cellulose

- Substrats protéiques : des déchets carnés et lignocellulosiques issus des filières d'abattage et de découpe

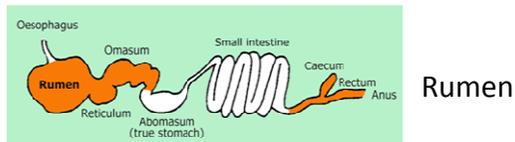
Echantillon type retenu pour la réalisation d'une collection de microorganismes producteurs d'hydrogène :

- 40% déchets carnés (os, viande, ...)
- 20% viscères (boyaux, estomacs)
- 20% matières stercoraires (contenu de la panse des ruminants)
- 20% sang

Sélection des microorganismes

- Principe

- Exploration d'écosystèmes naturels anoxiques (rumen, lac Pavin)
- Isolement et sélection de souches et de consortia : mise en adéquation substrats/microorganismes/produits
- Modification de la chaîne trophique naturelle (pas de production de CH₄)



zone anoxique
du lac Pavin



- Plus de 80 souches et 20 consortia

- Souches et consortia retenus

- Production d'H₂ sur paille, cellulose, xylane
 - Souche RA (*Ruminococcus*) : 150 mL H₂.g⁻¹ cellulose.sem⁻¹
 - Consortium AC (19 genres bactériens) : 135 mL H₂.g⁻¹ cellulose.sem⁻¹
- Production d'H₂ sur substrats protéiques (production principalement d'AGVs)
 - Consortium PDV : 2mL d'H₂ g⁻¹ substrat.sem⁻¹
 - Consortium reconstitué PBr

Production d'hydrogène

Matériel et méthodes

Bioréacteur anaérobie de 7,5L (5L de phase liquide) mode batch séquentiel

Conditions de culture

T=38°C, P_{atm}

RedOx= -350 à -600 mV

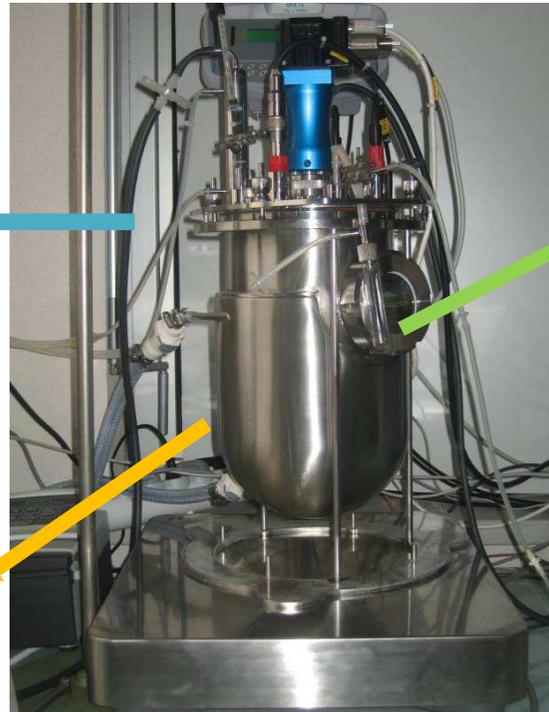
pH=6,8

Phase gazeuse

H₂, CO₂, N₂, CH₄...

Micro-GC, Débitmètre
volumétrique

Stabilité microbienne
et expression des gènes
d'intérêt (HydA)
TGGE, qPCR, biopuces



Phase liquide

AGVs, Lactate, Ethanol...

HPLC, RMN

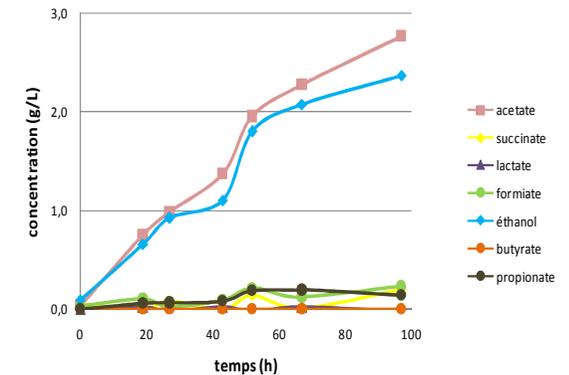
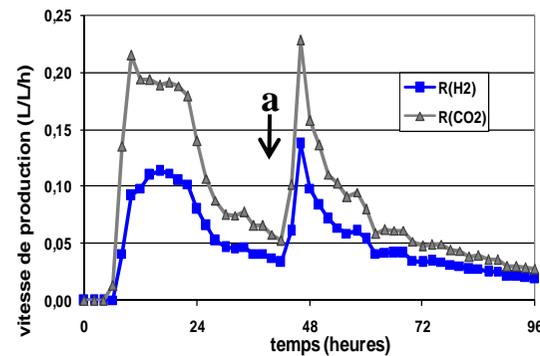
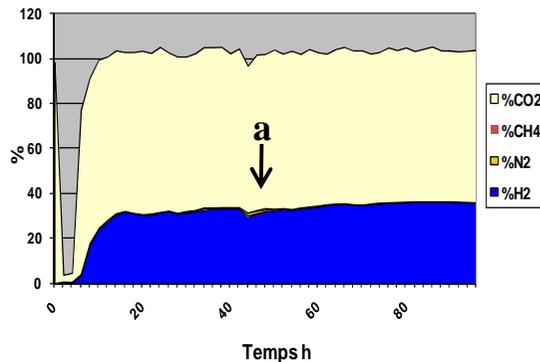
DCO, nitrites, nitrates,
l'azote total : Kits Hach

Production d'hydrogène

Bioréacteur 1

Inoculum : souche RA (genre *Ruminococcus*)

Substrat : cellulose Avicel et papier filtre (10 g/L) puis ajout à 43 h de 25 g (a)



Phase gazeuse

Absence de méthane

Taux moyen d'H₂ dans le gaz 35%

Reprise de production d'H₂ lors de l'ajout de cellulose

2,4 mol H₂. mol⁻¹ éq hexose (0,30 L. g⁻¹ cellulose)

Phase liquide

Production majoritaire et continue d'acétate et d'éthanol

0,65 mol Ethanol. mol⁻¹ éq hexose (0,17 g. g⁻¹ cellulose)

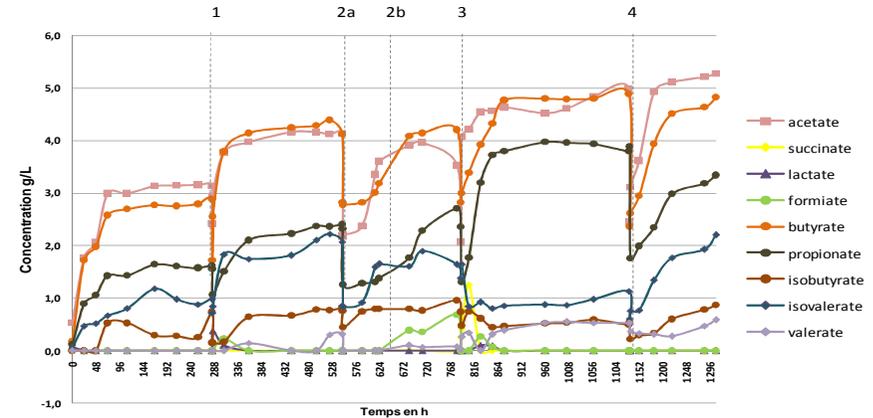
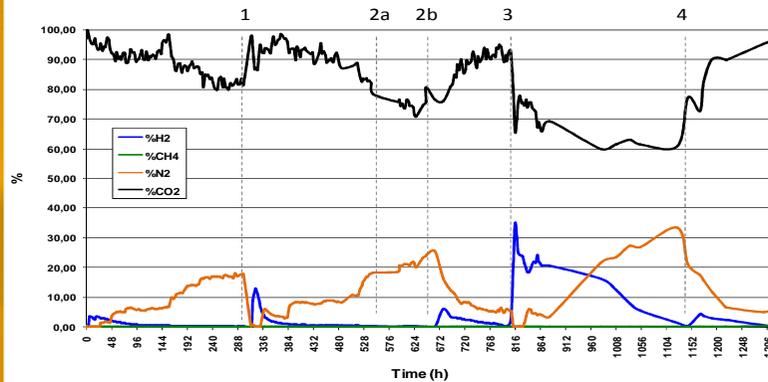
0,62 mol Acétate. mol⁻¹ éq hexose (0,21 g. g⁻¹ cellulose)

Production d'hydrogène

Bioréacteur 2

Inoculum : consortium PBr

Substrat : déchets carnés (100 g. L^{-1}) à 0h puis à 286 h, 664 h et 1153 h et de glucose à 816 h



Phase gazeuse

$\text{H}_2 < 1\%$, $\text{N}_2 20\%$, $\text{CO}_2 80\%$, ($0,5 \text{ mol H}_2 \cdot \text{mol}^{-1} \text{ glucose}$)

Production de N_2 sur substrats protéiques (10% des entrants)

Reprise de production d' H_2 lors de l'ajout de glucose

Phase liquide

Production majoritaire d'acétate et butyrate et synthèse de propionate, isobutyrate, isovalérate

$0,38 \text{ g d'AGVs. g}^{-1} \text{ de MS}$

Phase solide

92% de dégradation, $2 \text{ g MS. L}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ soit 3 à $3,6 \text{ t de déchets. m}^{-3} \cdot \text{an}^{-1}$

Stabilité microbiologique : TGGE et biopuces métaboliques

Production d'hydrogène

Conclusions

Capacité de production significative d' H_2 sur substrats lignocellulosiques et négligeable sur substrats protéiques mais la communauté hydrogénogène toujours présente

Pas de CH_4 : conforme à la simplification de la chaîne trophique naturelle
Production de N_2 : nouvelle voie de traitement de la pollution azotée

Pas d'effet négatif de la non-stérilité des substrats
Le traitement thermique n'améliore pas la digestibilité du substrat

Valorisation des déchets d'abattoir via les AGVs : molécules plateforme (chimie verte, bioénergie (SCOs))

1. Etude du métabolisme

- ⇒ Ecriture des équations stoechiométriques et validation du schéma métabolique par modélisation

2. Validation du concept de la faisabilité de production de SCO sur AGVs

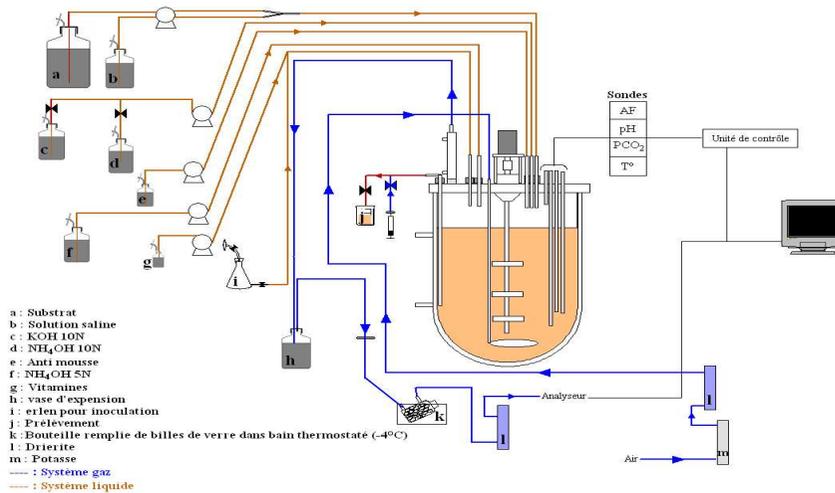
- ⇒ Production de biomasse de *Yarrowia lipolytica* ou *Cryptococcus curvatus* sur acétate mais vitesses faibles

3. Stratégie

- ⇒ Procédé de culture de type fed-batch permettant d'atteindre de hautes densités cellulaires avec une première phase sur glucose, une deuxième phase sur acétate (C/N=10) puis une troisième sur acétate (C/N=50)

Valorisation des AGVs

Cultures en bioréacteur

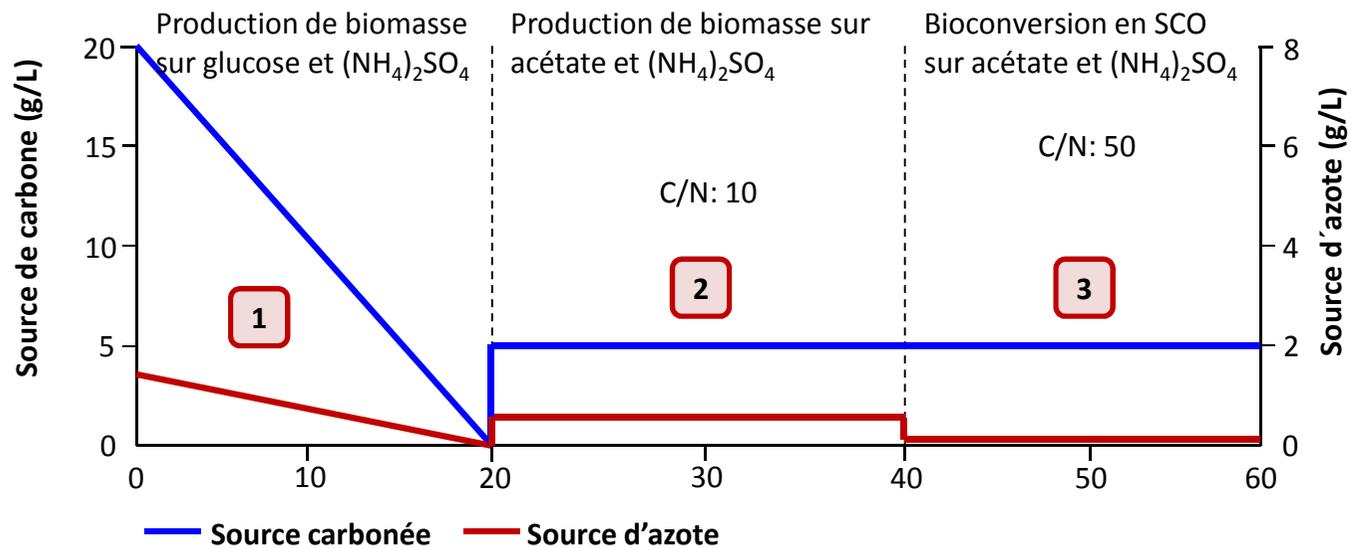


Conditions

Souche : *Cryptococcus curvatus*

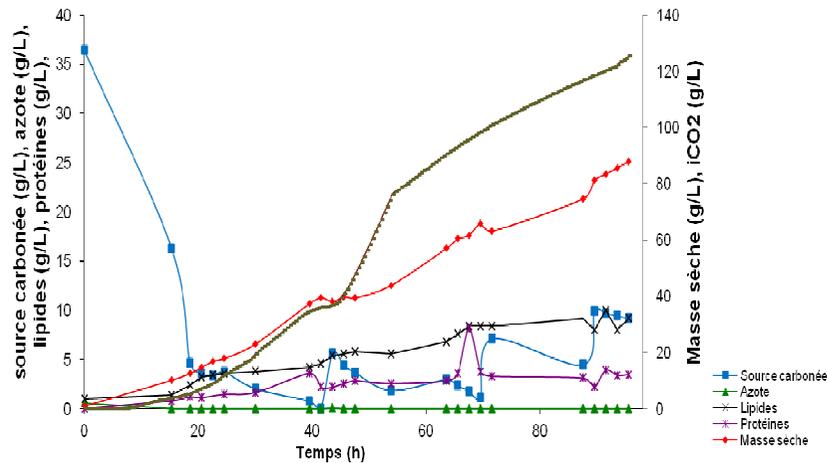
T : 30°C

pH : 5,6

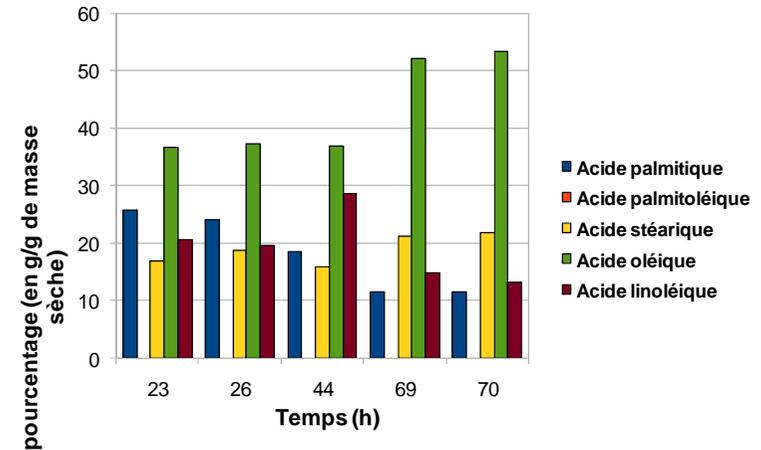


Valorisation des AGVs

Cultures en bioréacteur



C/N maintenu à 50
87 g/L de biomasse
12,5% de lipides



Composition compatible avec une utilisation comme biodiesel

D'autres conditions opératoires doivent être testées pour améliorer les rendements de production de biomasse et de lipides

Perspectives d'industrialisation

Contexte : Apporter aux abattoirs de nouvelles solutions de traitement des coproduits

L'enlèvement et l'élimination des coproduits des abattoirs et ateliers de découpe représentent environ 10% des charges d'un outil moyen

Etude technico-économique

- Chiffrage de la solution adaptée à chaque outil d'abattage et de l'investissement génie civil
- Estimation des coûts annexes (consommables, énergie, entretien, personnel et traitement des sortants)
- Estimation de la valorisation des AGVs (H_2 rendement trop faible sur ce substrat)
- Calcul du coût de production à la tonne traitée

Le coût du milieu est un point critique mais ceci semble être une voie de valorisation alternative (étude au cas par cas)

Conclusions

Maîtrise de la mise au point de mix microbiens protéolytiques comme PBr, non producteurs de méthane, non OGM à partir d'écosystèmes naturels

Validation de 2 biopuces : une fonctionnelle (gène hydA sur PBr) et une phylogénétique (sur AC), Mais cette technique est difficilement applicable dans le cadre d'un suivi industriel fondé sur la valorisation de déchets

Bioréacteur anaérobie de 7,5L fonctionnel en mode fed batch (>2000h) pour la production de gaz et d'AGVs selon les substrats

Développement d'un procédé de production de lipides microbiens à partir des coproduits de fermentation (acétate, butyrate) avec deux souches de levures oléagineuses

- ➔ Passage en continu
- Mise en place d'un système membranaire (Essais préliminaires en cours)

Développement économique potentiellement intéressant pour la filière viande si l'ensemble des coproduits peut être valorisé (approche bioraffinerie)

Valorisation

Présentation dans des congrès

Rencontres des microbiologistes du pôle Clermontois en 2010 et 2011

GDR BioH2, 8-18 Novembre 2010, Carry Le Rouet, France

GDR PROBBE, du 28 Novembre au 1 décembre 2011, Carry Le Rouet, France

SFGP, 29 novembre-1 décembre 2011 à Lille, France

ICBF, 5-8 octobre 2010 à Curitiba, Brésil

NHBT, 21-24 novembre 2011 à Trivandrum, Inde

Annual World Congress of Bioenergy, 25-30 Avril 2011, Dalian, Chine

IFIB, 7-10 octobre 2012 à Taiwan, Chine

Articles

- Latrille E., Trably E., Larroche C. (2011) Production de biohydrogène : Voie fermentaire sombre, Techniques de l'Ingénieur, article numéro BIO 3351 (19 pages)
- Fontanille P., Kumar V., Christophe G., Nouaille R., Larroche C. (2012), Bioconversion of volatile fatty acids into lipids by the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica*. Bioresource Technology, 114, 443-449.
- Christophe G., Kumar V., Nouaille R., Gaudet G., Fontanille P., Pandey A., Soccol C.R., Larroche C. (2012) Recent developments in microbial oils production: a possible alternative to vegetable oils for biodiesel without competition with human food?, Brazilian Archives of Biology and Technology, 55 (1), 29-49.
- Christophe G., Lara Deo J., Kumar V., Nouaille R., Fontanille P., Larroche C. (2012) Production of oils from acetic acid by the oleaginous yeast *Cryptococcus curvatus*, Applied Biochemistry and Biotechnology, 167 (5), 1270-1279.
- Nouaille R., Pessiot J., Christophe G., Fontanille P., Larroche C. (2012) Fed-batch anaerobic valorization of slaughterhouse by-products with mesophilic microbial consortia without methane production Applied Biochemistry and Biotechnology, 167 (6), 1728-1743.
- Singhanian R. R., Christophe G., Perchet G., Troquet J., Larroche C. (2012). Immersed membrane bioreactors: an overview with special emphasis on anaerobic bioprocesses. Bioresource Technology, 122, 171-180.

9 Présentations

5 ACL

Valorisation

Création de l'entreprise AFYREN technologie

- Répondre à une demande sur les risques de pénurie des énergies primaires
- Proposer une énergie renouvelable sans émission de gaz à effet de serre
- Proposer un service de prestations R&D (commercialisation de ferments)
- Création Janvier 2012.

Accueil | Domaines d'expertise | Contexte & enjeux | Positionnement Technologie | Partenariats | Modèle économique | Nous contacter

AFYREN TECHNOLOGIE

AFYREN est une société spécialisée dans l'ingénierie en microbiologie pour la valorisation de la biomasse non alimentaire en bioénergies

Un défi énergétique à relever ...
Notre dépendance aux fossiles combustibles est de plus en plus problématique pour des raisons économiques mais aussi environnementales.
Il devient aujourd'hui impératif de trouver des sources d'énergie alternatives.

... Tout en préservant les ressources vivrières ...
Le développement des agrocarburants de 1ère génération, comme source d'énergie, présente l'inconvénient de venir en compétition des cultures vivrières (utilisation des surfaces ou récoltes...)
Aussi est-il nécessaire de trouver de nouvelles alternatives.

... En étant économiquement viable.
Via une meilleure valorisation des coproduits/déchets agro-industriels (ignocellulose, paille, déchets d'abattoir...)
Via une réduction des coûts grâce à la mise en œuvre d'un procédé innovant simple et direct combinant hydrolyse et fermentation.

Afyren développe des briques technologiques dans une approche de type bioaffinerie respectueuse de l'environnement.

AFYREN TECHNOLOGIE

Afyren développe ses procédés de fermentations à partir de microorganismes issus d'écosystèmes naturels, non OGM.

INVESTISSEURS ou PARTICULIERS, participez au développement d'Afyren !

Accueil | Domaines d'expertise | Contexte & enjeux | Positionnement Technologie | Partenariats | Modèle économique | Nous contacter | En savoir plus | Liens externes | Mentions légales

Share / Save

Remerciements



Aurélie BOURNILHAS, Gérard FONTY, Anne MONE, Jérémy PESSIOT, Pierre PEYRET, Télésphore SIME-NGANDO...



David DUCHEZ, Pierre FONTANILLE, Geneviève GAUDET, Christian LARROCHE...



Florent MASSOULIER...



Geoffrey PERCHET, Julien TROQUET...



Régis NOUAILLE

Stagiaires, Master, Post doctorants.....



Merci de votre attention

AGENCE NATIONALE DE LA RECHERCHE
ANR

