

Titre: Effet des oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction
Title: bioélectrochimique du dioxyde de carbone

Auteur: Tambakassi Mihin
Author:

Date: 2026

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Mihin, T. (2026). Effet des oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction
Citation: bioélectrochimique du dioxyde de carbone [Thèse de doctorat, Polytechnique
Montréal]. PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/76609/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/76609/>
PolyPublie URL:

**Directeurs de
recherche:** Oumarou Savadogo, & Boris Tartakovsky
Advisors:

Programme: Génie biomédical
Program:

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

**Effet des oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction bioélectrochimique
du dioxyde de carbone**

TAMBAKASSI MIHIN

Institut de génie biomédical

Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de *Philosophiæ Doctor*

Génie biomédical

Avril 2026

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Cette thèse intitulée :

Effet des oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction bioélectrochimique du dioxyde de carbone

présentée par **Tambakassi MIHIN**

en vue de l'obtention du diplôme de *Philosophiæ Doctor*

a été dûment acceptée par le jury d'examen constitué de :

Olivier HENRY, président

Oumarou SAVADOGO, membre et directeur de recherche

Boris TARTAKOVSKY, membre et codirecteur de recherche

L'Hocine YAHIA, membre

Jesse GREENER, membre externe

DÉDICACE

Je dédie ce travail à mon père, ma mère et mes frères et sœurs

À mon épouse et ma fille

À mes enseignants Karifa BAYO et Lucien BONOU

Pour leur soutien, leur encouragement et leur disponibilité.

REMERCIEMENTS

Je tiens à traduire mes sincères remerciements à mon directeur et codirecteur de recherche, Monsieur Oumarou Savadogo, Ph.D, professeur titulaire à Polytechnique Montréal et Monsieur Boris Tartakovsky, Ph.D, Agent de recherche principal au Conseil National de Recherche du Canada (CNRC) pour leur confiance portée à ma modeste personne en acceptant de superviser ce travail. Leur disponibilité sur le plan académique ainsi que social m'ont apporté une motivation constante tout au long de ce projet de recherche doctoral. Leur rigueur scientifique et leurs conseils se sont inscrits dans le progrès et le perfectionnement de ce travail.

Je remercie mes collaborateurs de LaNoMat pour le climat convivial et riche d'échange dont j'ai bénéficié. Leur disponibilité, leurs soutiens et leurs conseils ont facilité mon intégration dans l'équipe et contribué à l'aboutissement de ce projet doctoral.

Je remercie également les membres de l'équipe de recherche du CNRC pour leur disponibilité, leur encouragements et l'environnement stimulant qui y règne. J'ai beaucoup appris auprès d'eux durant mes travaux de recherche au CNRC. Emmanuel, Frédérique, Marie-Josée, Julien et Sunandan, je suis très reconnaissant de votre soutien constant.

Mes remerciements vont à l'endroit de toutes ces personnes qui de près ou de loin m'ont accordé leur soutien pour l'aboutissement de ce travail.

RÉSUMÉ

L'utilisation importante d'énergie fossile dégage du CO₂, principal composant des gaz à effet de serre. La transition vers des énergies renouvelables est une alternative nécessaire pour diminuer l'impact climatique de la pollution engendré par le rejet du CO₂. Les systèmes de capture et de conversion du CO₂ constituent une autre alternative parallèle aux énergies renouvelables. Les systèmes bioélectrochimiques notamment les cellules d'électrosynthèses microbiennes (MESs) se présentent comme des dispositifs pouvant utiliser les énergies renouvelables pour la réduction du CO₂ en produits à valeur ajoutée. Les MESs présentent cependant des limites telles que leur faible densité de courant, leur faible sélectivité des produits et le coût et la stabilité des matériaux d'électrode. L'étude des matériaux cathodiques stables pouvant améliorer la formation de biofilm conducteur, efficace et sélectif constitue un champ de recherche promettant pour améliorer les performances des MESs. Cette thèse explore des matériaux cathodiques à base d'oxydes bimétalliques non nobles pour la réduction bioélectrochimique du CO₂ dans une MES.

Cinq combinaisons d'oxydes bimétalliques non nobles (CuFeO, CuMnO, CuSnO, FeSnO et CoMnO) avec différents ratios métalliques molaires ont été étudiées. Les impacts de ces matériaux sur la réduction biochimique du CO₂ ont d'abord été évalués par des tests batch en bouteilles en utilisant un mélange gazeux de CO₂/H₂ comme source de carbone et d'électrons. Les résultats montrent que ces oxydes bimétalliques non nobles affectent les activités métaboliques de microorganismes méthanogènes et acétogènes d'une culture mixte. Alors que les oxydes bimétalliques à base de Cu inhibent la réduction biochimique du CO₂ par les méthanogènes et acétogènes, les oxydes bimétalliques FeSnO et CoMnO ont un effet diversifié. L'oxyde bimétallique FeSnO équimolaire affecte positivement la réduction du CO₂ en méthane par les méthanogènes hydrogénotrophes et en acides gras volatils par les acétogènes et inhibe la production du méthane à partir de l'acétate par les méthanogènes acétoclastes. L'oxyde bimétallique CoMnO équimolaire a cependant un effet positif sur la réduction du CO₂ en acides gras volatils par les acétogènes et sur la production du méthane à partir de l'acétate par les acétoclastes.

Des expériences électrocatalytiques sur trois oxydes bimétalliques promettants (CuFeO, FeSnO et CoMnO) ont ensuite été réalisées dans une cellule électrochimique. Les résultats montrent que ces oxydes bimétalliques ne sont pas efficaces pour la réduction électrochimique du CO₂ à des densités

de courants comprises entre 13 et 156 A m⁻². La réduction du CO₂ a conduit à la formation de méthanol et tertbutanol avec une efficacité coulombique totale inférieure à 20%. La formation d'hydrogène a été la réaction la plus favorable. L'oxyde bimétallique FeCuO a relativement été plus efficace entre 31 et 75 A m⁻².

L'utilisation d'une cathode à base de l'oxyde bimétallique FeSnO a permis de réduire le CO₂ à plus de 85% et d'atteindre une vitesse de consommation de CO₂ égale à 1,60 L (L_C j)⁻¹ dans une MES à des densités de courant égales à 5,2 à 8,3 A m⁻². Le taux de conversion de CO₂ dans une MES utilisant une cathode de feutre de carbone est également supérieur à 85% et la vitesse maximale de conversion égale à 1,54 L (L_C j)⁻¹. Sans courant imposé, la réduction biochimique du CO₂ dans ces MESs est faible avec une vitesse de conversion inférieure à 0,67 L (L_C j)⁻¹. Les efficacités coulombiques en acides gras volatils des MESs utilisant une cathode de feutre de carbone sont comprises entre 53 et 86 % et celles correspondantes aux MESs utilisant une cathode de FeSnO se situent entre 48% et 93 %. La réduction du CO₂ en butyrate et caproate dans la MES a été augmentée à plus de 4 fois en utilisant une cathode à base de FeSnO par rapport à l'utilisation d'une cathode de feutre de carbone. Les résultats voltamétriques et impédancemétriques montrent également que la cathode à base de FeSnO favorise le développement de biofilm conducteur avec une faible résistance de transfert de charge.

La bioaugmentation de l'inoculum par *Clostridium kluyveri* a permis d'accroître la réduction du CO₂ en butyrate et caproate et d'atteindre une sélectivité totale de butyrate et caproate d'environ 80 % dans la cellule à cathode à base de FeSnO. Une vitesse de conversion du CO₂ égale à 2,36 L (L_C j)⁻¹ a été atteinte à densité de courant (14,6 A m⁻²) et débit de CO₂ (500 mL par jour) plus élevés.

Les résultats d'analyse biomoléculaire suggèrent que les bactéries BRH-c20a, *Dysgonomonas sp*, *Sporanaerobacter acetigenes* et *Desulfovibrio desulfuricans* sont responsables de l'amélioration de du transfert de charge des biofilms développés sur les électrodes. De plus, les bactéries *Megasphaera sueciensis*, *Caproiciproducens galactitolivorans* et *C. kluyveri* sont à l'origine de la production de butyrate et caproate.

ABSTRACT

The extensive use of fossil fuels releases CO₂, the main component of greenhouse gases. The transition to renewable sources of energy is a necessary alternative to mitigate the pollution caused by CO₂ emissions. Carbon capture and conversion systems serve as complementary approach to renewable sources of energy. Bioelectrochemical systems, particularly microbial electrosynthesis cells (MESs), are promising devices capable of utilizing renewable electricity to convert CO₂ into valuable products. However, MESs face limitations such as low current density, limited product selectivity, as well as high costs and low stability of electrode materials. The study of stable cathode materials capable of enhancing the formation of conductive, efficient, and selective biofilms represents a promising research area to improve MES performance. This thesis explores cathode materials based on non-noble bimetallic oxides for bioelectrochemical reduction of CO₂ in an MES.

Five combinations of non-noble bimetallic oxides (CuFeO, CuMnO, CuSnO, FeSnO, and CoMnO) with different molar metal ratios were studied. The effects of these materials on the biochemical reduction of CO₂ were initially evaluated through batch tests in bottles using a CO₂/H₂ gas mixture as a carbon and electron source. The results indicate that all tested non-noble bimetallic oxides influenced the metabolic activities of methanogenic and acetogenic microorganisms within a mixed culture. While Cu-based bimetallic oxides inhibited biochemical CO₂ reduction by methanogens and acetogens, FeSnO and CoMnO exhibited diverse effects. Equimolar FeSnO positively influenced CO₂ reduction into methane by hydrogenotrophic methanogens and into volatile fatty acids by acetogens, while simultaneously inhibiting methane production from acetate by acetoclastic methanogens. Conversely, equimolar CoMnO positively affects CO₂ reduction into methane and volatile fatty acids by hydrogenotrophic methanogens and acetogens, respectively. It also demonstrated a positive effect on methane production from acetate.

Electrocatalytic experiments with three promising bimetallic oxides (CuFeO, FeSnO, and CoMnO) were then conducted in an electrochemical cell. The results indicate that these bimetallic oxides are not highly effective for electrochemical CO₂ reduction at current densities between 13 and 156 A m⁻². CO₂ reduction produced methanol and tert-butanol, with a total Coulombic efficiency below 20%. Hydrogen formation was the most favored reaction. Among them, FeCuO demonstrated relatively higher Coulombic efficiency at current densities between 31 and 75 A m⁻².

Using a cathode based on FeSnO enabled over 85% reduction of CO₂ and achieved a CO₂ consumption rate of 1.60 L (L_C d)⁻¹ in an MES at current densities of 5.2 to 8.3 A m⁻². The CO₂ conversion rate in an MES using a carbon felt cathode was also above 85%, reaching a maximum conversion rate of 1.54 L (L_C d)⁻¹. Without an applied current, the biochemical reduction of CO₂ in these MESs is low, with a conversion rate below 0.67 L (L_C d)⁻¹. Coulombic efficiencies into volatile fatty acids of MESs using a carbon felt cathode ranged from 53% to 86%, whereas those with an FeSnO cathode ranged from 48% to 93%. The production of butyrate and caproate from CO₂ reduction in the MES increased by more than four times with an FeSnO-based cathode compared to a carbon felt cathode. Voltammogram and impedance measurements further indicate that the FeSnO-based cathode promotes the development of conductive biofilms with low charge transfer resistance.

Bioaugmentation of the inoculum with *Clostridium kluyveri* enabled an increase in CO₂ reduction to butyrate and caproate, achieving an overall selectivity of approximately 80% for butyrate and caproate in the FeSnO-based cathode MES cell. It also resulted in a higher CO₂ conversion rate of 2.36 L (L_C d)⁻¹ at a current density of 14.6 A m⁻² and a CO₂ flow rate of 500 mL per day.

Biomolecular analysis suggests that bacteria BRH-c20a, *Dysgonomonas mossii*, *Sporanaerobacter acetigenes*, and *Desulfovibrio desulfuricans* are responsible for improving the charge transfer of the biofilms developed on the electrodes. Additionally, bacteria such as *Megasphaera sueciensis*, *Caproiciproducens galactitolivorans*, and *C. kluyveri* are involved in the production of butyrate and caproate.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	iii
REMERCIEMENTS	iv
RÉSUMÉ.....	v
ABSTRACT	vii
TABLE DES MATIÈRES	ix
LISTE DES TABLEAUX.....	xvi
LISTE DES FIGURES.....	xviii
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	xxii
LISTE DES ANNEXES	xxv
CHAPITRE 1 INTRODUCTION.....	1
1.1 Introduction générale	1
1.2 Contexte et problématique	2
1.3 Contenu de la thèse	3
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE	5
2.1 Principe de fonctionnement d'une cellule d'électrosynthèse microbienne	5
2.2 Population microbienne et réduction bioélectrochimique du dioxyde du carbone	6
2.2.1 Population microbienne.....	6
2.2.2 Microorganismes et production des acides gras volatils	7
2.2.3 Transfert d'électrons à l'interface cathodique.....	9
2.2.3.1 Voies de transfert d'électrons direct	9
2.2.3.2 Voies de transfert d'électrons indirect	10
2.3 Opération et configuration d'une cellule d'électrosynthèse microbienne.....	12
2.3.1 Configurations	12

2.3.2	Conditions opératoires.....	15
2.3.2.1	Le temps de rétention hydraulique	15
2.3.2.2	L'apport de dioxyde de carbone	15
2.3.2.3	Le potentiel d'électrode.....	16
2.3.2.4	La température et le pH du catholyte	17
2.4	Matériaux d'électrode	18
2.4.1	Matériaux anodiques	18
2.4.1.1	Anodes abiotiques	18
2.4.1.2	Bioanodes	19
2.4.2	Matériaux cathodiques	19
2.4.2.1	Cathodes abiotiques.....	20
2.4.2.2	Biocathodes	22
2.5	Produits de réduction du dioxyde de carbone	24
2.5.1	Produits de réduction électrochimique	24
2.5.2	Produits de réduction bioélectrochimique	26
2.6	Limites et perspectives	30
CHAPITRE 3 OBJECTIFS, METHODOLOGIE ET ORGANISATION DE LA THÈSE		33
3.1	Hypothèse de recherche	33
3.2	Originalité et impacts du sujet.....	33
3.3	Objectifs de la thèse	33
3.3.1	Objectif général	34
3.3.2	Objectifs spécifiques	34
3.4	Méthodologie	35
3.4.1	Méthodologie liée à l'objectif spécifique 1	35

3.4.1.1	Synthèse et caractérisation des oxydes bimétalliques non nobles.....	35
3.4.1.2	Choix du support en carbone.....	36
3.4.1.3	Dépôt des oxydes bimétalliques non nobles sur le support.....	36
3.4.2	Méthodologie liée à l'objectif spécifique 2.....	36
3.4.2.1	Choix de la configuration de la cellule électrolytique.....	37
3.4.2.2	Réduction électrochimique du CO ₂	37
3.4.2.3	Évaluation des performances des catalyseurs	38
3.4.3	Méthodologie liée à l'objectif spécifique 3.....	38
3.4.3.1	Choix de la source de microorganismes.....	38
3.4.3.2	Tests d'activité en mode batch	38
3.4.4	Méthodologie liée à l'objectif spécifique 4.....	40
3.4.4.1	Choix de l'inoculum et du matériau cathodique	40
3.4.4.2	Réduction bioélectrochimique du CO ₂ dans la MES	40
3.4.4.3	Optimisation des performances de la MES	41
CHAPITRE 4	TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES	43
4.1	Caractérisation structurale et de la composition chimique des oxydes bimétalliques non nobles	43
4.1.1	Diffraction des rayons X (DRX).....	43
4.1.2	Microscopie électronique à balayage (MEB)-Spectroscopie à énergie dispersive des rayons X (EDS).....	45
4.2	Caractérisation électrochimique des électrodes	46
4.2.1	Mesures voltamétriques.....	47
4.2.2	Mesures impédancemétriques	49
4.3	Réduction du dioxyde de carbone	51

4.4	Analyse des produits de réduction du dioxyde de carbone par chromatographie gazeuse.....	53
4.5	Caractérisation biomoléculaire des microorganismes	55
4.5.1	La réaction en chaîne par polymérase numérique à gouttelettes (ddPCR)	55
4.5.2	Séquençage du gène de l'ARNr 16S	58
CHAPITRE 5 ARTICLE 1 : NON-NOBLE BIMETALLIC OXIDES AS ELECTROCATALYSTS FOR ELECTROCHEMICAL AND MICROBIAL CARBON DIOXIDE REDUCTION.....		62
5.1	Introduction	63
5.2	Materials and Methods	64
5.2.1	Synthesis and characterization of non noble bimetallic oxides.....	64
5.2.2	Preparation of the electrodes	64
5.2.3	Configuration and operation of the electrochemical cell	65
5.2.4	Analytical methods.....	65
5.2.5	Electrochemical experiments and calculations	65
5.2.6	Batch bottle tests	66
5.3	Results and discussions	67
5.3.1	Characterization of non noble bimetallic oxides.....	67
5.3.1.1	Physicochemical properties of non noble bimetallic oxides	67
5.3.1.2	Electrochemical properties of non noble bimetallic oxides	70
5.3.2	Electrocatalytic performances of non noble bimetallic oxides for the CO ₂ electrochemical reduction	72
5.3.3	Influence of non noble bimetallic oxides on biochemical conversion of CO ₂	79
5.3.4	Importance of electrocatalytic reaction products for bioelectrochemical reduction of CO ₂	82

5.4	Conclusion.....	82
CHAPITRE 6 ARTICLE 2: IMPACT OF NON-NOBLE BIMETALLIC OXIDES ON BIOELECTROCHEMICAL REDUCTION OF CARBON DIOXIDE TO VOLATILE FATTY ACIDS.....		
6.1	Introduction	85
6.2	Materials and Methods	87
6.2.1	Analytical methods, electrochemical characterization and calculations	87
6.2.2	Synthesis of bimetallic oxides	88
6.2.3	Preparation of electrodes and electrolytes	89
6.2.4	Microbial cultures	89
6.2.5	Batch tests	89
6.2.5.1	Anaerobic sludge tests	90
6.2.5.2	Acetogenic enrichment tests.....	91
6.2.6	MES design and operation	91
6.3	Results and discussion.....	92
6.3.1	Impact of bimetallic oxides on anaerobic and acetogenic cultures	92
6.3.1.1	Batch tests with anaerobic sludge	92
6.3.1.2	Batch tests with acetogenic enrichment	96
6.3.2	Microbial electrosynthesis experiments	98
6.3.2.1	Operation of the MES cell with carbon felt cathode	99
6.3.2.2	Operation of the MES cell with FeSnO cathode	102
6.3.2.3	Impact of current density and FeSnO cathode on CO ₂ conversion to MCFAs	107
6.4	Conclusion.....	111

CHAPITRE 7	ARTICLE 3 : ENHANCING MICROBIAL ELECTROSYNTHESIS OF FATTY ACIDS FROM CARBON DIOXIDE BY COMBINING BIOAUGMENTATION OF AN ACETOGENIC ENRICHMENT AND FE-SN OXIDE CATHODE COATING.....	113
7.1	Introduction	115
7.2	Materials and methods	116
7.2.1	MES setup and operating conditions	116
7.2.2	Microbial enrichment and pure culture preparation.....	119
7.2.3	Electrochemical measurements	119
7.2.4	Analytical methods and calculations.....	119
7.2.5	Microbial community analysis	121
7.3	Results and discussion.....	122
7.3.1	Impact of CO ₂ flow and applied current	122
7.3.2	Distribution of VFAs.....	125
7.3.3	The impact of bioaugmentation with <i>C. kluyveri</i> and ethanol addition on butyrate and caproate production	129
7.3.4	Microbial community analysis	136
7.3.5	Microbial production of caproate.....	139
7.3.6	Electroactivity of cathodic biofilms	143
7.4	Conclusion.....	144
CHAPITRE 8	DISCUSSIONS GÉNÉRALES	146
8.1	Effet des oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction biochimique du CO ₂ par les microorganismes méthanogènes et acétogènes	146
8.2	Effet des oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction électrochimique du CO ₂	150
8.3	Effet des oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction bioélectrochimique du CO ₂ en AGVs.....	151

8.4	Effet des oxydes bimétalliques non nobles sur la distribution de la communauté microbienne et la formation de biofilm.....	155
8.5	Effet de la bioaugmentation de l'enrichissement acétogène par <i>Clostridium kluyveri</i> sur la réduction bioélectrochimique du CO ₂ en AGVs	158
CHAPITRE 9 CONCLUSION		163
9.1	Conclusion.....	163
9.2	Recommandations	165
RÉFÉRENCES.....		166
ANNEXES		214

LISTE DES TABLEAUX

Table 5.1 Coulombic efficiency (%) of the electrochemical reduction of CO ₂ to by-products on bimetallic oxides electro-catalysts deposited on carbon felt.	76
Table 5.2 Comparison parameters of the CO ₂ reduction on various electrode materials. C1, C2, C3 and C4 refer, respectively, to 1 carbon, 2 carbons, 3 carbons and 4 carbons reduced by-products. CE = Coulombic efficiency.	77
Table 5.3 The impact of bimetallic oxides on the production of volatile fatty acids from CO ₂ and H ₂ by acetogenic enrichment, tests carried out in triplicate.	81
Table 5.4 The impact of bimetallic oxides on the production of alcohols from CO ₂ and H ₂ by an enriched acetogenic mixed culture, tests carried out in triplicate.	81
Table 6.1 Batch tests conditions.	90
Table 6.2 Phases and operating parameters of MES experiments.	92
Table 6.3 Production of VFAs by anaerobic sludge in the presence of bimetallic oxides and BES (methanogenesis inhibitor).	96
Table 6.4 Production of volatile fatty acids and H ₂ during CF-2 experiment.	101
Table 6.5 Production of volatile fatty acids and H ₂ during the FeSnO-2 experiment.	103
Table 6.6 Performance of MES cells equipped with metal oxide-based cathodes and fed with CO ₂ . Cathode potentials (E _{cath}) are provided vs an Ag/AgCl reference electrode.	105
Table 7.1 Phases and operating parameters of MES cells.	118
Table 7.2 Comparison of acetate, butyrate and caproate performance of MES cells using CO ₂ as a carbon source.	134
Tableau 8.1 Production des AGVs par la boue anaérobique à partir du CO ₂ et H ₂	148
Tableau 8.2 Production des AGVs à partir du CO ₂ et H ₂ par la boue anaérobique en présence des oxydes bimétalliques et l'acide 2-bromoéthanesulfonique (inhibiteur de méthanogènes).	148
Tableau 8.3 Production des AGVs par l'enrichissement acétogène à partir du CO ₂ et H ₂ en présence des oxydes bimétalliques non nobles.	149

Tableau 8.4 Efficacité coulombique (%) de la réduction électrochimique du CO ₂ sur les oxydes bimétalliques non nobles.	151
Tableau 8.5 Phases et paramètres d'opération des MESs.	152
Table 8.6 Les caractéristiques électrochimiques des biocathodes obtenues par simulation des circuits équivalents des courbes de Nyquist (erreurs de simulation inférieures à 9 %).	158
Table A.6.1 Production of volatile fatty acids by anaerobic sludge.	217
Table A.6.2 Hydrogen consumption and methane production rates observed in the anaerobic sludge batch tests.	217
Table A.6.3 Alcohol production in the acetogenic mixed culture batch test.	218
Table A.6.4 The results of Nyquist curves fitting with equivalent circuits of the of the CF-2 and FeSnO-2 cells.	219
Table A.6.5 VFA production rates and selectivity observed during CF-1 cell operation.	220
Table A.6.6 VFA production rates and selectivity observed during FeSnO-1 cell operation.	221
Table A.6.7 Relative abundance of predominant amplicon sequence variants (ASVs) merged at the species in the inoculum, catholyte and biofilm samples. Only ASVs of more than 5% relative abundance in at least one sample are shown.	222

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 Représentation schématique des systèmes bioélectrochimiques.	6
Figure 2.2 Mécanismes de l'élongation de la chaîne carbonée des acides gras volatils [48].	9
Figure 2.3 Configurations des cellules d'électrosynthèse microbienne.	13
Figure 2.4 Approche de modification de la surface des électrodes en A) une structure 3D, B) structure 3D fonctionnalisée et C) structure chargée positivement [18].	24
Figure 3.1 Représentation schématique des objectifs de la thèse.	34
Figure 4.1 Représentation schématique d'un diffractomètre et son fonctionnement [197].	43
Figure 4.2 Le diffractogramme de la phase cubique de NiCo_2O_4 [199].	44
Figure 4.3 Schéma de principe du MEB et coupe d'une colonne Jeol 35CF [204].	46
Figure 4.4 Assemblage du système à trois électrodes: WE, CE et RE [205].	47
Figure 4.5 Un voltamogramme cyclique montrant la présence d'une réaction redox électrochimique caractérisée par des pics de réduction (cathodique) et d'oxydation (anodique) à E_{pc} et E_{pa} respectivement, ainsi que par les courants cathodique (I_{pc}) et anodique (I_{pa}) associés [206].	48
Figure 4.6 Configuration expérimentale simplifiée pour l'EIS potentiostatique et principe de fonctionnement d'un analyseur de réponse en fréquence. « X » représente les multiplicateurs et « J » les intégrateurs [213].	50
Figure 4.7 Diagramme de Nyquist et le circuit électrique équivalent de Randles [213].	51
Figure 4.8 Représentation schématique des cellules électrochimiques à 2 électrodes et à 3 électrodes [216].	52
Figure 4.9 Chromatographe gazeux et ses principaux composants [221].	54
Figure 4.10 Les étapes principales de la technique ddPCR [225].	55
Figure 4.11 Présentation schématique du principe de la réaction en chaîne par polymérase [226].	56

Figure 4.12 Spectre ddPCR d'un échantillon contenant le viroïde responsable de la chlorose des fruits du pommier [231].	57
Figure 4.13 Les régions de l'acide ribonucléique ribosomal (ANRr16S) [232].....	59
Figure 4.14 Flux de travail suivi par les pipelines bioinformatiques pour le traitement des données d'amplicons du gène de l'ARN ribosomal 16S (ANRr 16S). ASVs, variantes de séquences d'amplicons ; no., nombre ; OTUs, unités taxonomiques opérationnelles ; PCR, réaction en chaîne par polymérase [232].	61
Figure 5.1 EDS spectra of the bimetallic oxides A) FeCuO (1:2) B) FeCuO (1:1) and C) FeCuO (2:1).	68
Figure 5.2 EDS spectra of the bimetallic oxides A) CoMn(1:2) B) CoMnO (1:1) and C) CoMnO (2:1).	68
Figure 5.3 EDS spectra of the bimetallic oxides A) FeSnO (1:2) B) FeSnO (1:1) and C) FeSnO (2:1).	69
Figure 5.4 XRD spectra of the bimetallic oxides A) FeCuO (1:2) B) CoMnO (2:1) and C) FeSnO (1:1).	70
Figure 5.5 Linear voltammograms measured at 5 mV/s using A) FeCuO B) CoMnO and C) FeSnO electrodes.....	71
Figure 5.6 Variation of the cathodic potential during 20 h of reaction at 156 A m ² using the electrodes based on oxides A) FeCuO B) CoMnO C) FeSnO.	72
Figure 5.7 Variation of the cathodic potential at different applied current densities (13, 31, 50, 75, 100, 156 A m ⁻²) using A) CF-FeCuO (1:2) B) CF-CoMnO (2:1) and C) CF-FeSnO (1:1) electrodes.....	75
Figure 5.8 Consumption of A) H ₂ and B) CO ₂ by a enriched acetogenic mixed culture in the presence of bimetallic oxides, tests carried out in triplicate. Error bars represent standard deviation.	80
Figure 5.9 CO ₂ consumption rate by acetogenic enrichment in the presence of bimetallic oxides, tests carried out in triplicate. Error bars represent standard deviation.	80

Figure 6.1 Rates of A) H ₂ consumption and CH ₄ production from CO ₂ and H ₂ and B) CH ₄ production from acetate using anaerobic sludge inoculum. Error bars represent standard deviation.	94
Figure 6.2 A) CO ₂ consumption rate and B) Production of VFAs from CO ₂ by the acetogenic enrichment. Error bars represent standard deviation.	98
Figure 6.3 VFA concentrations (A, C) and CO ₂ conversion efficiencies (B, D) corresponding to steady state performance at the end of each operating phase of CF-2 (A, B) and FeSnO-2 (C, D). Experimental conditions corresponding to each phase are provided in Table 1.	100
Figure 6.4 A comparison of VFA production rates in all MES experiments. In the CF-1 experiment phase 3 was omitted. Error bars show standard deviation.	107
Figure 6.5 (A) Cathodic cyclic voltammogram, (B) Nyquist plot and (C) equivalent Nyquist circuit for CF-2 and FeSnO-2 cells.	109
Figure 7.1 A) CO ₂ removal efficiency and B) carbon balance in the MES cells under different operating conditions.	124
Figure 7.2 Coulombic efficiency of A) MES1, B) MES2 and C) MES3 in different operating conditions. Error bars show standard deviation of periodic analysis.	125
Figure 7.3 Production of VFAs in A) MES1, B) MES2 and C) MES3 under different operating conditions.	127
Figure 7.4 Selectivity of VFAs in A) MES1, B) MES2 and C) MES3 experiments under different operating conditions.	130
Figure 7.5 Number of genome copies of <i>C. kluyveri</i> in cathode off liquid of MES2 and MES3 as determined by ddPCR.	133
Figure 7.6 Relative abundances of the most abundant ASVs (based on the mean abundance across samples) in the base enrichment, the inoculum of MES2/MES3, and the catholyte and biofilm samples. Taxonomic identity of ASVs is color-coded. ASV identifiers and predicted function (EA-AG, electroactive acetogen; EA-HG, electroactive hydrogenogen; HAG, homoacetogen; CE, chain-elongator) within the MES cells are provided in parentheses. ASVs with a function	

prediction are emphasized in bold print. Please note that the presence of <i>C. kluyveri</i> in the inoculum of MES2 and MES3 represents the bioaugmentation.	137
Figure 7.7 Simplified conceptual model of microbial caproate production in the MES cells. (Created with BioRender (https://BioRender.com)).....	141
Figure 7.8 A) Linear voltammograms (sweep rate 5 mV s ⁻¹) and B) Nyquist plot recorded during MES1 and MES2 experiments at open circuit voltage.	144
Figure 8.1 Vitesses de A) consommation de H ₂ et de production de CH ₄ à partir du CO ₂ et B) production de CH ₄ à partir de l'acétate en utilisant la boue anaérobique. Les barres d'erreur représentent l'écart type.	148
Figure 8.2 Consommation de CO ₂ par l'enrichissement acétogène en présence des oxydes bimétalliques non nobles. Les barres d'erreur représentent l'écart type.	150
Figure 8.3 Efficacité de conversion du CO ₂ dans les cellules CF-2 et FeSnO-2.	153
Figure 8.4 Abondances relatives des communautés microbiennes des échantillons de l'enrichissement acétogène, de la cellule à cathode de feutre de carbone (CF-2) et de la cellule à cathode de FeSnO (FeSnO-2).	156
Figure 8.5 Voltammogrammes enregistrés sur les biocathodes des cellules CF-2 et FeSnO-2.	158
Figure 8.6 Évolution de la concentration du génome de <i>Clostridium kluyveri</i> dans les cellules MES2 et MES3.	161
Figure 8.7 Production des AGVs dans les cellules A) MES1 et B) MES2.	162
Figure A.6.1 A) Hydrogen consumption and B) methane production by anaerobic sludge using BES as inhibitor, tests carried out in triplicate.	214
Figure A.6.2 Concentrations of alcohols produced at the cathode of A) CF-1 cell, B) CF-2 cell, C) FeSnO-1 cell and D) FeSnO-2 cell.	215
Figure A.6.3 Cathodic concentrations of volatile fatty acids during the different operating phases of A) CF-1 and E) FeSnO-1 and Carbon dioxide conversion efficiency during operation of B) CF-1, D) FeSnO-1. Experimental conditions corresponding to each phase are provided in Table 6. 1.	216

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ACP: Acyl carrier protein

ADN: Acide désoxyribonucléique

AGV: Acide gras volatil

AIE: Agence internationale de l'énergie

A m⁻² : Ampère par mètre carré

ARNr-16S: Acide ribonucléique ribosomal 16S

ASV: Variante de séquences d'amplicons

BES: Système bioélectrochimique

C_{dl}: capacitance de la double couche

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

CE : Contre électrode, efficacité coulombique

CF : Feutre de carbone

CoA : Coenzyme A

CoMnO : Oxyde bimétallique de cobalt manganèse

CuFeO: Oxyde bimétallique de cuivre fer

CuMnO: Oxyde bimétallique de cuivre manganèse

CuSnO: Oxyde bimétallique de cuivre étain

CV : Voltamétrie cyclique

ddNTP : Didésoxynucléotide

ddPCR: Réaction en chaîne par polymérase numérique à gouttelettes

DRX: Diffraction des rayons X

EDS: Spectroscopie à énergie dispersive des rayons X

EIS : Spectroscopie d'impédance électrochimique

ESH: Électrode standard à hydrogène

ENH: Électrode normal à hydrogène

FAB: Fatty acid biosynthesis

FeSnO: Oxyde bimétallique de fer étain

FT-IR: Spectroscopie infrarouge à transformé de Fourier

g (L j)⁻¹ : Gramme par litre par jour

g (L d)⁻¹ : Gram per liter per day

JCPDS: Joint Committee on Powder Diffraction Standards

LV: Voltamétrie linéaire

MEB: Microscopie électronique à balayage

MEC: Microbial electrolysis cell

MES : Cellule d'électrosynthèse microbienne

MFC : Pile à combustible microbienne

mg : Milligramme

mL : Millilitre

OCP : Potentiel à circuit ouvert

ONT : Oxford Nanopore Technology

OTU : Unité taxonomique opérationnelle

Ox : Oxydant

PacBio : Pacific Biosciences

pb : paire base

PCR : Réaction en chaîne par polymérase

qPCR : Réaction en chaîne par polymérase quantitative

RBO : Reverse bêta oxidation

R_{CT} : Résistance de transfert de charge

Red : Réducteur

RE: Electrode de référence

rGO : Oxyde de graphène réduit

R_S : Résistance de solution

R_t : Temps de rétention

R_u : Résistance de solution

R_W : Résistance de Warburg

SFC: Chromatographie à fluide supercritique

SM: Spectrométrie de masse

TLC: Chromatographie à couche mince

TRH : Temps de rétention hydraulique

V : Volt

WE: Électrode de travail

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE A INFORMATION SUPPLÉMENTAIRE DE L'ARTICLE2	214
ANNEXE B INFORMATION SUPPLÉMENTAIRE DE L'ARTICLE3	225

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

1.1 Introduction générale

L'industrialisation grandissante et l'explosion démographique requièrent une consommation d'énergie importante. Entre 1980 et 2022, la consommation d'énergie a doublé et les estimations prévoient qu'elle va tripler d'ici 2030 selon l'Agence internationale de l'énergie (AIE) [1]. Cette demande importante en énergie est majoritairement assurée par l'énergie fossile qui représente plus de 80 % de cette demande [2]. Cependant, l'utilisation des énergies fossiles constitue la principale source de rejet des gaz à effet de serre (GES) dans l'atmosphère. Le dioxyde de carbone (CO_2) est l'un des principaux gaz à effet de serre contribuant au réchauffement climatique. Selon le rapport de l'AIE sur les émissions de CO_2 de 2023, la concentration atmosphérique mondiale moyenne est passée de 388,7 ppm en 2010 à 419,3 ppm en 2023 [3]. Face à ce problème environnemental préoccupant, les énergies renouvelables constituent une alternative aux énergies fossiles. Parallèlement à la transition aux énergies renouvelables, le CO_2 est une source de carbone abondante dont la capture et la conversion en d'autres produits constitue une approche visant à le valoriser et réduire la pollution [4] [5].

La conversion du CO_2 présente un défi important du fait de sa grande stabilité chimique due à la forte énergie de la double liaison carbone oxygène présente en son sein. Les dispositifs de conversion développés reposent sur divers processus dont les processus photochimique, thermochimique, électrochimique, biochimique et bioélectrochimique [5] [6] [7]. La réduction du CO_2 par la méthode bioélectrochimique combine activité métabolique des microorganismes et énergie électrique pour catalyser la réduction du CO_2 . C'est une technologie d'avenir de plus en plus étudiée visant l'utilisation d'énergies renouvelables pour la conversion du CO_2 . En effet, les systèmes bioélectrochimiques (BESs) reposant sur ce processus bioélectrochimique offrent la possibilité de réduire le CO_2 en composés polycarbonés à valeur ajoutée tels que les alcools [8], [9], les polyhydroxyalcanoates [10] et les acides gras volatiles [11], [12]. Ce qui s'avère difficile pour les méthodes abiotiques notamment les méthodes thermocatalytique et électrocatalytique.

La technologie des BESs dépend de plusieurs facteurs notamment la configuration du réacteur, la source d'inoculum, la nature du substrat, le mécanisme de transfert d'électrons, le type de membrane, le mode et les conditions opératoires et la nature et configuration des matériaux

d'électrode [13] [14] [15]. Une meilleure compréhension des impacts de ces différents facteurs sur les performances des BESs permettra d'implémenter cette technologie à grande échelle.

1.2 Contexte et problématique

La technologie des BESs est confrontée en général à des défis majeurs tels que le coût et la stabilité des matériaux d'électrodes, les surtensions élevées, la faible densité de courant et la faible sélectivité des produits de réaction [16]. La réduction bioélectrochimique du CO₂ dans la cellule d'électrosynthèse microbienne (MES) est donc confrontée à ces défis.

Ainsi, pour faire face à ces défis, les recherches sont plus orientées vers le développement de matériaux cathodiques peu coûteux, stables, facilitant le développement de biofilm et le transfert rapide d'électrons [13], [17]. À cet effet, les matériaux en carbone commerciaux (feutre, tissu, brosse, papier, tige) sont largement utilisés pour leur coût relativement bas, leurs propriétés électroconductrices ainsi que leur biocompatibilité [18]. Dans l'objectif de réduire leur résistance aux transferts de charges, augmenter leurs surfaces spécifiques et améliorer leurs propriétés d'adhésion aux microorganismes, la modification de surface avec des nanomatériaux s'est présentée comme une alternative. Ainsi, les polymères organiques conductifs, les matériaux métalliques, les composés organométalliques ont été utilisés à cet effet [18] [19] [20] [21]. Il en ressort que les matériaux d'électrode jouent un rôle important sur le processus de transfert d'électrons, la formation et la composition du biofilm [15]. Les transferts d'électrons entre la cathode et les microorganismes peuvent s'opérer directement ou indirectement à partir des produits intermédiaires tels que l'hydrogène (H₂), le formate (HCOO⁻), le monoxyde de carbone (CO) [15]. Pour minimiser les pertes d'électrons, le mécanisme de transfert direct d'électrons est le plus souhaitable. Cependant, les paramètres contribuant à sa réalisation ne sont pas clairement maîtrisés. En revanche, la formation des produits intermédiaires servant de sources d'électrons pour le mécanisme de transfert indirect d'électrons dépend de la nature et configuration du matériau cathodique ainsi que du potentiel cathodique. Certains métaux peuvent être sélectifs pour la production d'intermédiaires monocarbonés (Ag, Pd, In, Pb et Sn) et d'autres pour l'hydrogène (Ni, Fe, Pt, Ti) [22]. Cependant, la corrosion des métaux non nobles en solution aqueuse constitue un problème majeur pour leur biocompatibilité à long terme [23] [24].

Les oxydes métalliques sont des matériaux relativement stables dont les propriétés surfaciques, la conductivité et les propriétés catalytiques pourraient faciliter la formation de biofilms conductifs

et actifs et les transferts d'électrons par les voies direct et indirect. D'ailleurs certains travaux utilisant des oxydes métalliques tels que MnO_2 [25] et Co_3O_4 [26] comme matériaux d'électrodes ont conduit à l'amélioration de la réduction bioélectrochimique du CO_2 en facilitant le transfert d'électrons et la formation de biofilm. Les oxydes bimétalliques CuFe_2O_4 [27] et NiFe_2O_4 [28] ont également montré un impact positif sur la réduction bioélectrochimique du CO_2 . Les transferts d'électrons et les densités de courant ont été améliorés en utilisant ces matériaux comme cathodes. Les contributions électrochimiques de ces matériaux n'ont cependant pas été étudiées. De plus, ces expériences ont été réalisées en mode discontinue, condition d'opération au cours de laquelle les nutriments essentiels aux microorganismes ne sont pas apportés en permanence. Ce qui ne favorise pas une activité métabolique accrue des microorganismes et par conséquent une opération optimale des MESs.

Ce présent travail propose d'étudier des oxydes bimétalliques non nobles comme matériaux cathodiques pour la réduction bioélectrochimique du CO_2 dans une MES en opération continue. À partir de tests batch en bouteilles, les effets des oxydes bimétalliques à base de Fe, Cu, Mn, Sn, et Co seront d'abord évalués. Les performances de ces oxydes bimétalliques en tant que catalyseurs électrochimiques seront ensuite évaluées. Ces expériences conduiront enfin à la réduction bioélectrochimique du CO_2 par des microorganismes dans une MES en utilisant une cathode à base d'oxyde bimétallique non noble.

1.3 Contenu de la thèse

Cette thèse comporte neuf chapitres dont les contenus sont décrits brièvement dans ce paragraphe. Le premier chapitre porte sur l'introduction qui s'étale sur le contexte et la problématique de la thèse.

Le deuxième chapitre est consacré à la revue de littérature sur la réduction bioélectrochimique du CO_2 . Le principe de fonctionnement de la cellule d'électrosynthèse microbienne (MES) y est décrit. Les configurations et les conditions opératoires affectant ses performances sont également décrites. Ce chapitre fait un aperçu des matériaux d'électrodes utilisées dans la MES et les performances de celle-ci en termes d'efficacité coulombique, de densité de courant et de sélectivité des produits de réaction. Les limites de cette méthode de réduction sont énumérées et des perspectives sont proposées.

Le troisième chapitre décline les objectifs de la thèse et présente la méthodologie adoptée pour les atteindre. L'hypothèse de recherche ainsi que l'originalité du sujet sont également présentées dans ce chapitre.

Le chapitre 4 décrit les outils et techniques expérimentaux utilisés dans ce travail. Les techniques de caractérisation des oxydes bimétalliques non nobles et des électrodes, les techniques d'analyse des produits de réaction et les techniques d'analyse des populations microbiennes sont principalement décrites.

Les chapitre 5, 6 et 7 présentent respectivement le premier, deuxième et troisième article de cette thèse. Le premier article porte sur les résultats de la réduction du CO_2 sur les oxydes bimétalliques non nobles par la méthode électrochimique et les impacts des oxydes bimétalliques non nobles promettant sur la réduction biochimique du CO_2 . L'article 2 est consacré principalement aux résultats de la réduction du CO_2 par la méthode bioélectrochimique dans des MESs utilisant d'une part une cathode à base d'oxyde bimétallique non noble et d'autre part une cathode de feutre de carbone. Le dernier article porte sur l'amélioration de la réduction bioélectrochimique du CO_2 en butyrate et caproate en ajoutant une culture pure à l'inoculum initial.

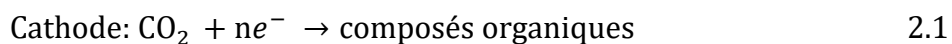
L'ensemble des résultats obtenus sont discutés dans le huitième chapitre.

Le neuvième et dernier chapitre porte sur la conclusion et les recommandations pour d'autres travaux.

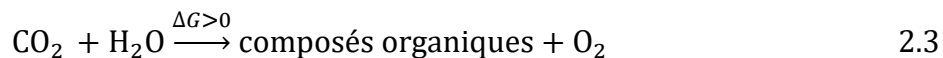
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

2.1 Principe de fonctionnement d'une cellule d'électrosynthèse microbienne

Les systèmes bioélectrochimiques (BES) sont fondamentalement basés sur les microorganismes, les électrodes et les transferts d'électrons entre ceux-ci (Figure 2.1). Parmi ces BES nous avons la pile à combustible microbienne (MFC), la cellule d'électrolyse microbienne (MEC) et la cellule d'électrosynthèse microbienne (MES). La MFC a pour principale objectif de dépolluer les eaux en oxydant les composés organiques à l'anode (par des microorganismes) et en réduisant l'oxygène à la cathode tout en produisant de l'électricité. La MEC a également pour objectif de dépolluer les eaux à l'anode par oxydation microbienne des composés organiques. À la différence de la MFC, celle-ci nécessite de l'énergie pour fonctionner et produisent des composés tels que l'hydrogène (H₂) ou le méthane (CH₄) à la cathode à l'aide de microorganismes ou par électrocatalyse. Une différence de potentiel inférieure à celle de l'électrolyse de l'eau dans les conditions standard (1,2V) est appliquée à la cellule. La MES nécessitent également de l'énergie pour son fonctionnement et a pour objectif la réduction du CO₂ en composés organiques, un gaz polluant à effet de serre. Elle comporte deux électrodes (anode et cathode) placées dans des compartiments différents et séparés par une membrane échangeuse d'ions. Chaque électrode baigne dans un électrolyte et sont reliées à l'aide d'un circuit externe à une source d'énergie qui peut être renouvelable. À l'interface de chaque électrode se produit une réaction électrochimique : une oxydation à l'anode et une réduction à la cathode. Le CO₂ est réduit en composés organiques à la cathode par des microorganismes anaérobiques et l'eau est oxydée à l'anode en oxygène (O₂) selon les équations simplifiées ci-dessous.



L'équation de réaction simplifiée de la MES s'écrit :



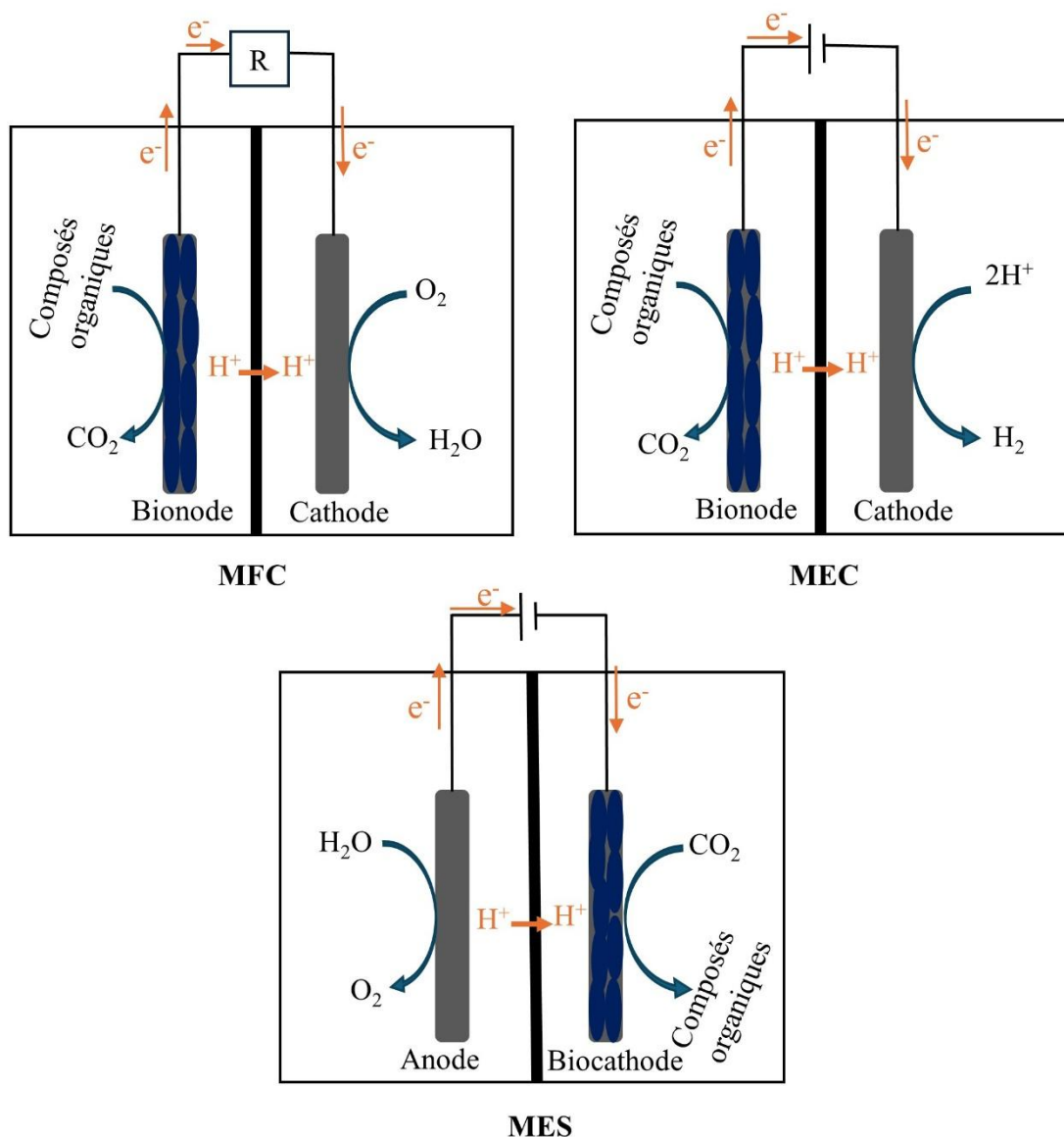


Figure 2.1 Représentation schématique des systèmes bioélectrochimiques.

2.2 Population microbienne et réduction bioélectrochimique du dioxyde du carbone

2.2.1 Population microbienne

Les microorganismes autotrophes (bactéries, cyanobactéries, microalgues, archées) réduisent naturellement le CO_2 en composés organiques via diverses voies métaboliques en utilisant l'énergie solaire (photoautotrophes) ou l'énergie chimique (chimioautotrophes) de certains composés

chimiques (H_2 , NO_2^- , S^{2-} , Fe^{2+} , etc.) [29]. Leur utilisation dans les systèmes bioélectrochimiques constitue une des approches visant à améliorer l'efficacité de la réaction de réduction microbienne du CO_2 par l'énergie électrique [29].

Les systèmes bioélectrochimiques peuvent être inoculés par des inocula à population mixte ou pure selon l'étude. Les inocula proviennent de diverses sources environnementales dont les eaux usées domestiques, les sédiments marins, les boues d'épuration et les déchets d'industrie agroalimentaire [30]. Les cultures pures ont l'avantage d'être plus sélectives et faciles à optimiser le taux et rendement de production de composés cibles mais requiert une préparation laborieuse [31]. Les inocula à population mixte sont disponibles, résistent mieux aux changements de conditions opératoires et à des contaminations d'oxygène [32]. Au sein des inocula à population mixtes des interactions inter espèces tels que les transferts d'électrons peuvent exister générant un consortium efficace [33], [34]. Ils peuvent cependant être moins sélectifs du fait de la compétition d'autres réactions indésirables. L'enrichissement de l'inoculum à population mixte dans des conditions déterminées ainsi que la bioaugmentation avec des cultures pures constituent des approches minimisant les réactions indésirables et orientant les réactions microbiennes vers des produits cibles [35], [36].

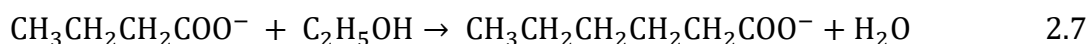
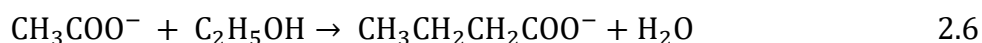
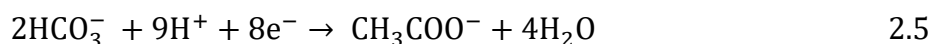
En raison de la diversité des microorganismes autotrophes ainsi que leurs voies métaboliques, la conversion du CO_2 conduit à un large éventail de produits dont les composés gazeux (méthane, éthylène, ...) les solvants (éthanol, butanol, glycérol, ...), les acides carboxyliques (acides gras volatils, ...) [37]. Ce travail porte une attention particulière à la réduction du CO_2 en acides gras volatils dans la MES.

2.2.2 Microorganismes et production des acides gras volatils

Les acides gras volatils sont en général produits par la méthode thermochimique à partir des dérivés pétrochimiques [38]. La production microbienne est une alternative prometteuse plus écologique à cette méthode, particulièrement à partir du dioxyde de carbone, un gaz à effet de serre. Les acides gras volatils sont produits par voie microbienne à partir de la dégradation de composés organiques complexes par les microorganismes hétérotrophes ou partir de composés inorganiques simple tels que le dioxyde de carbone par les microorganismes autotrophes. Plus de 100 espèces microbiennes autotrophes appartenant à 26 familles ont été identifiés capables de convertir des composés carbonés simples (C_1) en d'autres composés dont les acides gras volatils [39].

La production microbienne d'acide gras volatil à partir du CO₂ a été observée pour la première fois en 1932 lorsque de l'acétate a été produit par une boue de digestion anaérobie à partir d'un mélange de H₂ et CO₂ [40]. Quelques années plus tard, des espèces acétogènes tels que *Clostridium aceticum* (en 1936) [41], [42] et *Clostridium thermoaceticum* (en 1942) [43] ont été isolées, ouvrant ainsi la porte à l'étude sur les microorganismes homoacétogènes ainsi que leurs voies métaboliques de production d'acides gras volatils par réduction du CO₂. La fixation anaérobie du CO₂ s'opère principalement par la voie de Wood-Ljungdahl, aussi connue sous le nom de voie réductive acétyl-CoA [44], [45]. La fixation d'une mole de CO₂ conduit à une mole d'acétyl-CoA qui est ensuite convertie en acétate. Divers microorganismes homoacétogènes convertissent le CO₂ en acétate selon cette voie d'acétyl-CoA en utilisant l'hydrogène comme donneur d'électrons (Équation 2.4). Les plus représentatifs appartiennent aux genres *Acetobacterium*, *Clostridium*, *Morella*, *Eubacterium*, *Sporomusa*, ou *Ruminococcus* [46].

Dans la MES, l'acétyl-CoA est également un composé intermédiaire pour la production de l'acétate à partir du CO₂ par des microorganismes acétogènes électroactifs utilisant directement les électrons de la cathode (équation 2.5) [15]. Ainsi, l'acétyl-CoA est une molécule centrale pour la production d'autres acides gras volatils (butyrate, caproate, etc.), des alcools (éthanol, isopropanol, butanol, etc.), des cétones (acétone) et d'autres composés organiques [47].



La production de butyrate et caproate se fait par un processus de chaîne élongation ajoutant successivement deux carbones à l'acétate (Équation 2.6, 2.7). Ce processus s'opère selon deux voies notamment le cycle FAB (Fatty Acid Biosynthesis) et le cycle RBO (Reverse Beta Oxidation) comme le montre la figure 2.2 [48]. Le mécanisme de chaîne élongation est généralement initié par l'oxydation en acétyl-CoA de donneurs d'électrons tels que l'éthanol et le lactate. L'acétyl-CoA produit entre dans le cycle de RBO ou dans le cycle de FAB sous forme de malonyl-ACP pour convertir l'AGV C_n en AGV C_{n+2} et ainsi de suite. Les microorganismes à chaîne carbonée

élongateurs couramment étudiés appartiennent au genres *Clostridium*, *Caproiciproducens*, *Megasphaera*, *Eubacterium*, and *Ruminococcaceae* [48].

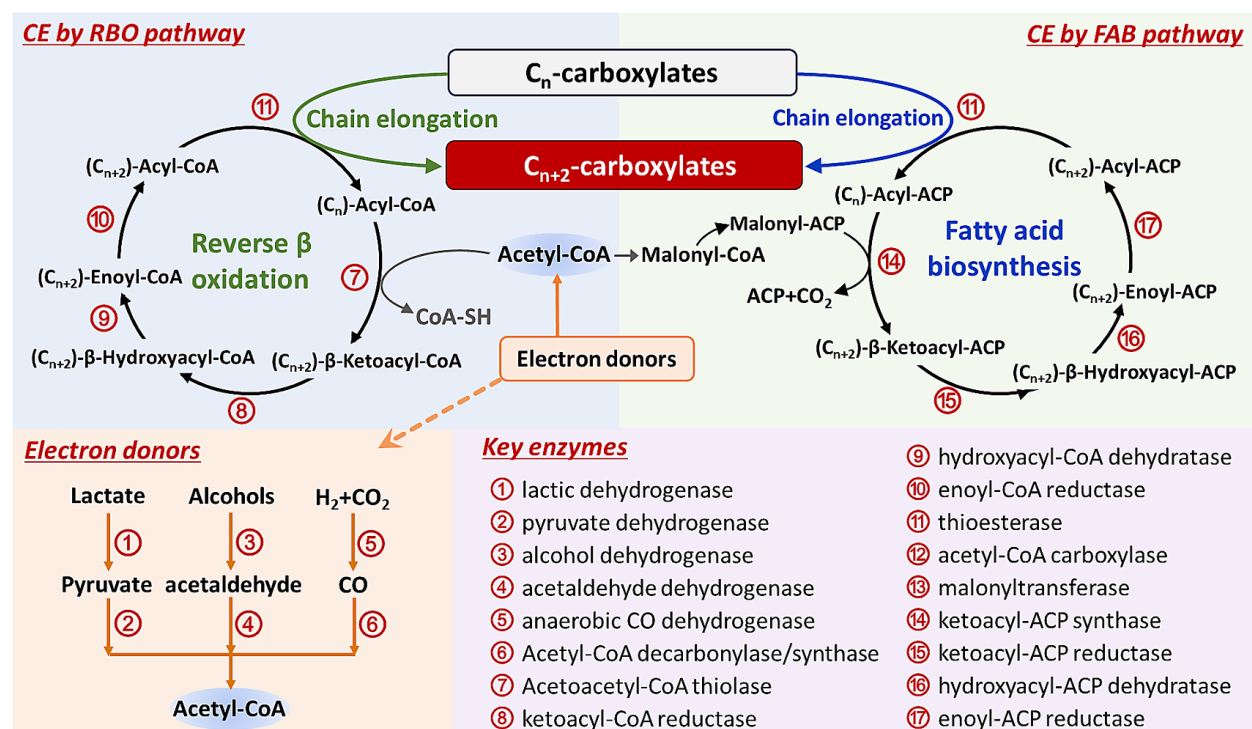


Figure 2.2 Mécanismes de l'élongation de la chaîne carbonée des acides gras volatils [48].

2.2.3 Transfert d'électrons à l'interface cathodique

Dans la MES, l'oxydation de l'eau à l'anode libère des électrons qui passent par le circuit extérieur pour réduire le CO_2 à la cathode par les microorganismes. A l'interface du matériau cathodique, deux voies de transfert de ces électrons aux microorganismes sont proposées notamment un transfert direct et un transfert indirect nécessitant des intermédiaires [15]. Maîtriser ce flux d'électrons permettrait d'améliorer les performances de la MES.

2.2.3.1 Voies de transfert d'électrons direct

Après inoculation des systèmes bioélectrochimiques, certains microorganismes s'attachent aux électrodes formant des biofilms. L'adhésion de ces microorganismes aux matériaux d'électrodes dépend non seulement des propriétés surfaciques de celles-ci mais également des caractéristiques intrinsèques microbienne. Les microorganismes ayant des nanofils (pili) [49] et des cytochromes membranaires de type C [50], [51], [52] sont désignés électroactifs pouvant échanger des électrons

avec les électrodes. Plusieurs espèces microbiennes ont été identifiées comme électroactives dont *Geobacter sulfurreducens* et *Shewanella oneidensis* ont été considérées comme espèces électroactives modèle [53]. Divers travaux ont mentionné l'amélioration des performances des MFCs en raison du développement de biofilms électroactifs sur des matériaux anodiques, oxydant les composants organiques et transférant les électrons aux matériaux anodiques [54], [55], [56], [57]. Ce phénomène a également suscité un intérêt pour le développement de biocathodes conductives et efficaces pour la réduction du CO₂ dans les MESs. Nevin et al. ont publié pour la première fois la conversion du CO₂ par *Sporomusa ovata* en acétate et 2-oxobutyrate en absence de production d'hydrogène [58]. Divers autres microorganismes ont été cités comme électroactifs incluant des espèces acétogènes (*Clostridium ljungdahii*, *Clostridium aceticum* et *Morella thermoacetica*) [15] et méthanogènes (*Methanobacterium palustre*, *Methanobacterium brianii* et *Methanosarcina mazei*) [13]. Plusieurs approches sont explorées tant au niveau des matériaux cathodiques qu'au niveau des microorganismes afin de favoriser le développement de biofilm conducteur et améliorer l'efficacité du transfert d'électrons direct à l'interface électrode-biofilm. Parlant des microorganismes, les efforts sont orientés sur la modification génétique conduisant à l'augmentation de l'expression des cytochromes conductifs ainsi qu'à la formation de nanofils conductifs [59]. En ce qui concerne les matériaux d'électrodes, les approches visent à développer de matériaux à grandes surfaces spécifiques et compatibles aux microorganismes. Dans ce sens, les recherches sur les matériaux bi- et tridimensionnels [18], les matériaux poreux [60], les revêtements par des nanoparticules conductifs [61] [62], la modification de la morphologie et la charge [63] des matériaux se sont montrées prometteuses.

2.2.3.2 Voies de transfert d'électrons indirect

Les microorganismes dans le catholyte peuvent se procurer des électrons via divers intermédiaires. Certains microorganismes sécrètent naturellement des médiateurs redox tels que les phénazines et les riboflavines pour servir de vecteurs d'électrons. De multiples médiateurs redox artificiels ont alors été utilisés dans les systèmes bioélectrochimiques [64]. L'ajout du rouge neutre et de la 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone au milieu de culture microbienne d'une MES a permis d'accroître le transfert d'électrons entre la cathode et les microorganismes en suspension et augmenté la production d'acétate à partir du CO₂ [65]. La modification de feutre de carbone comme cathode d'une MES avec du rouge neutre et l'anthraquinone-2,6-disulfonate comme médiateur redox a permis d'améliorer respectivement de 5,8 et 3,5 fois la production de méthane par une culture mixte

[66]. D'autres résultats ont également montré une amélioration de la réduction microbienne du CO₂ en butyrate [67] [68] en utilisant le rouge neutre et l'anthraquinone-2,6-disulfonate comme médiateurs redox. Le coût et la cytotoxicité peuvent cependant limiter leur usage.

Les composés monocarbonés (monoxyde de carbone (CO), le formate (HCOO⁻), le méthanol (CH₃OH)) et l'hydrogène peuvent être produits par électrocatalyse dépendamment du potentiel et de la nature du matériau cathodique (équation 2.8 à 2.11). Ils sont utilisables par les microorganismes comme intermédiaires pour le transfert d'électrons aux microorganismes planctoniques.



Il a été rapporté que la plupart des microorganismes méthylotrophes peuvent métaboliser les composés monocarbonés [69]. Zhu et al. ont exploré la réduction du CO₂ par *Clostridium ljungdahlii* dans une MES par la voie indirecte en développant des catalyseurs 2D et 3D de phtalocyanine de cobalt (II) pour catalyser la formation du gaz de synthèse (CO + H₂) [70]. Les résultats ont montré que le catalyseur 3D était plus efficace pour la formation du gaz de synthèse ainsi qu'à la production de d'acétate et d'éthanol par *C. ljungdahlii*. Jiang et al. ont plutôt utilisé des électrodes hybrides de feutre de carbone et plaques métalliques (In, Zn, Ti et Cu) pour la réduction du CO₂ dans une MES inoculée par une culture à population mixte [24]. Les résultats ont indiqué la contribution des plaques métalliques à la formation de composés monocarbonés et de l'hydrogène indispensables à la production d'acétate par voie indirecte. L'électrode hybride de Zn a été la plus efficace pour la production d'acétate (1,23 grammes par litre par jour, g (L j)⁻¹). Cependant, les performances de la MES ont diminué rapidement après 28 jours d'opération du fait de la corrosion du matériau et aussi de la formation de composés à trois carbones (C3) et cinq carbones (C5). Les travaux de Huang et al. ont aussi suggéré la contribution du formate produit sur une plaque d'étain à la production de méthane par *Methanococcus maripaludis* [71]. Qiu et al. ont déposé des nanoparticules d'étain (Sn) sur du feutre de carbone comme catalyseur pour la réduction bioélectrochimique du CO₂ par voie indirecte [72]. La production d'acétate dans la MES a été multipliée d'environ trois fois en utilisant l'électrode à base nanoparticules de Sn supportées par

du feutre de carbone que l'électrode de feutre de carbone. Cette amélioration a été expliquée par la contribution des nanoparticules de Sn comme catalyseur pour la production de formate et comme support pour la formation de biofilm efficace enrichi par *Acetobacterium*. D'autres recherches ont également relaté l'implication de l'hydrogène comme source d'électrons pour la bioconversion du CO₂. Les travaux de Zhang et al. ont évalué l'impact de la composition d'un mélange gazeux de H₂/CO₂ sur la production de méthane par une boue anaérobie [73]. Il a été montré que la production du méthane augmente avec le rapport volumique du mélange gazeux H₂/CO₂ jusqu'à un seuil de 20%. De même, Blanchet et al. ont montré l'apport de l'hydrogène comme donneur d'électrons pour la réduction du CO₂ en acétate par une culture mixte et une culture pure de *Sporomusa ovata* en variant le débit de l'apport externe de l'hydrogène [74]. Bian et al. ont utilisé des cathodes hybrides de feutre de carbone et mousse de nickel ou grille d'acier inoxydable dans une MES pour la production d'acétate à partir du CO₂ par une culture mixte enrichie [75]. Les résultats ont montré que l'électrode hybride de mousse de nickel a été plus efficace que l'électrode hybride de grille d'acier inoxydable et celle de feutre de carbone simple. L'hydrogène a été produit in situ et a servi d'intermédiaire pour le transfert d'électrons aux microorganismes planctoniques. Yao et collaborateurs ont utilisé CH₃OH comme source de carbone en plus du CO₂ dans une MES inoculée par une culture à population mixte et dont la cathode est composée de tiges et granules de graphite [76]. En plus de constituer une source de carbone CH₃OH a été utilisé comme donneur d'électrons permettant d'améliorer la production de butyrate de la MES. La production de butyrate est passée de $0.20 \pm 0.03 \text{ g (L j)}^{-1}$ sans CH₃OH à $0.36 \pm 0.01 \text{ g (L j)}^{-1}$ avec CH₃OH en plus du CO₂. Une électrode produisant CH₃OH in situ pourrait donc augmenter la production de butyrate dans cette MES.

2.3 Opération et configuration d'une cellule d'électrosynthèse microbienne

2.3.1 Configurations

La MES se présente en trois principales configurations notamment les configurations à une chambre, à deux chambres et à trois chambres (figure 2.3). La MES à une chambre est la plus pratique, simple et facile à construire [77]. Les électrodes partagent le même électrolyte sans séparation membranaire. L'absence de membrane diminue non seulement la résistance interne de la cellule mais aussi facilite l'échange de matières entre les électrodes et améliore les performances de la cellule [78]. Cette configuration est adaptée pour les recherches sur la

valorisation des déchets organiques dans la MES dont l'anode sert de réaction d'oxydation microbienne de composés organiques et la cathode pour la production de biogaz à partir de dioxyde de carbone, de gaz de synthèse ou également de composés organiques.

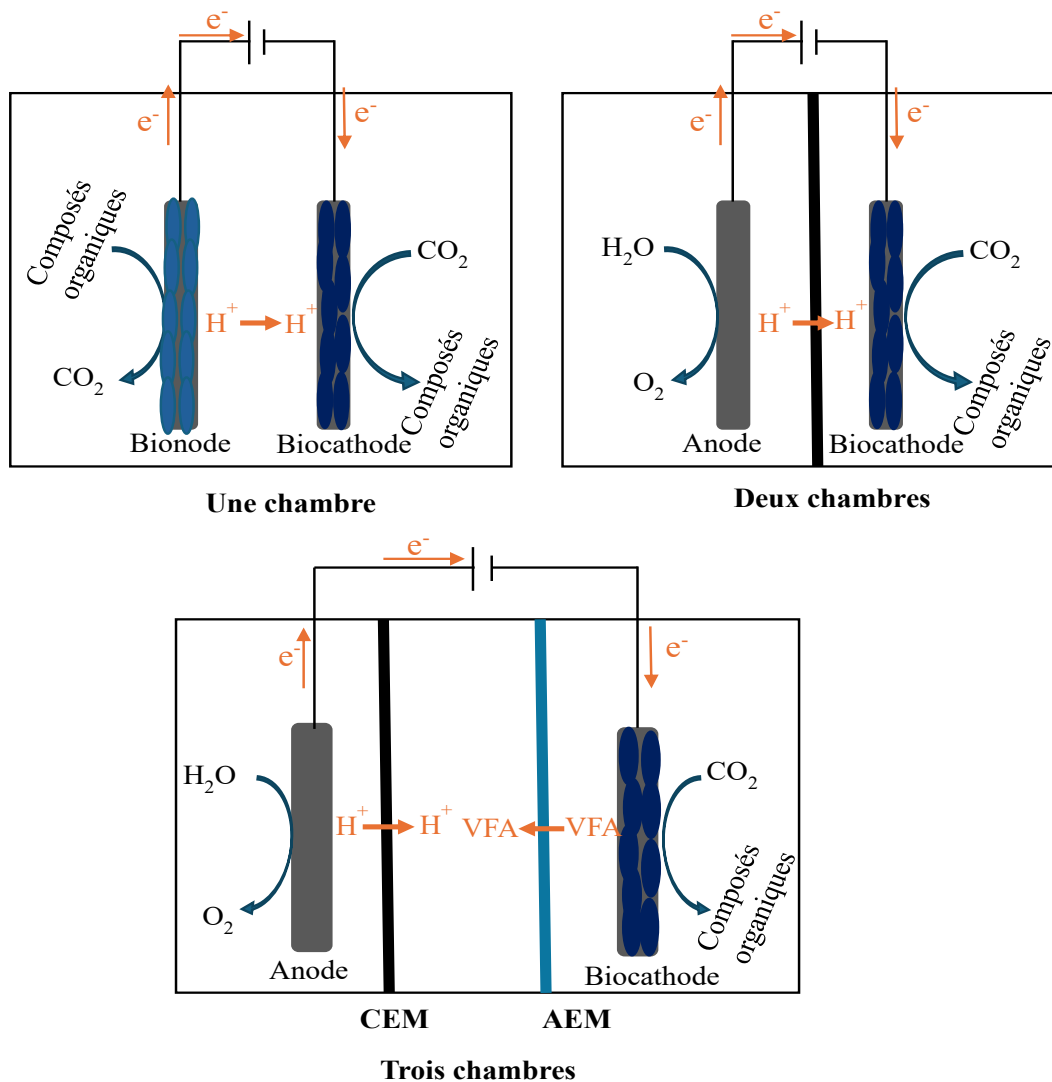


Figure 2.3 Configurations des cellules d'électrosynthèse microbienne.

Récemment, une étude [79] portée sur la fermentation de CO_2 et H_2 à potentiel négatif (-0.8 V versus (vs) Ag/AgCl) a abouti à un échec alors qu'une autre étude [80] similaire a conduit à la formation majoritaire de méthane et d'acétate en minorité. La fenêtre de potentiel à explorer dans cette configuration à chambre unique est restreinte, un potentiel cathodique très négatif pourrait engendrer l'oxydation de l'eau en oxygène à l'anode et compromettre la survie des microorganismes anaérobiques.

Contrairement aux configurations à chambre unique, les configurations à chambres doubles sont séparées par une membrane échangeuse d'ions servant de barrière à la diffusion de l'oxygène de l'anode vers la cathode, des espèces microbiennes et des produits de part et d'autre de la membrane. Ces configurations sont les plus utilisées malgré le coût, le gradient de pH et la résistance ohmique liés à l'intégration de la membrane [81]. Les MESs à deux compartiments existent sous différentes configurations dont celles de type H, celles autoassemblées et celles de forme tubulaire sont les plus répandues [82], [83]. La MES de type H constituée de deux bouteilles séparées par une membrane offre plusieurs avantages notamment la facilité d'assemblage et de stérilisation et la résistance à la diffusion de produits de réaction inter compartiments [82]. Elle est plus sollicitée à l'échelle laboratoire pour des recherches fondamentales sur les inocula, les matériaux d'électrode, les membranes ainsi que les mécanismes de transfert d'électrons [82]. Elle n'est pas adaptée pour des usages industriels en raison des difficultés d'agitation et barbotage, la résistance interne élevée et sa complexité de mise en œuvre [84]. Quant à la MES tubulaire avec une cathode concentrique recouverte d'une membrane tubulaire et une anode externe, elle se veut plus adéquate face aux défis d'optimisation de la surface des électrodes et de la membrane par rapport au volume de la cellule. La compacité de sa configuration permet de réduire la résistance interne ainsi que la résistance de transfert de masse [85]. Avec cette configuration, la cellule peut être opérée en mode continu et élaborée à grande échelle mais nécessite une énergie importante pour la recirculation [82]. La cellule autoassemblée a une configuration prédisposée pour une opération en continu, une réduction de la résistance interne en raison de la proximité des deux compartiments et de la flexibilité quant à la taille de la membrane et une implémentation à échelle pilote [82]. Elle est constituée par assemblage de deux plaques (ou plus) en forme rectangulaire ou de disque séparées par une membrane échangeuse d'ions [82], [86]. Ainsi, les volumes des compartiments de la MES peuvent être ajustés en ajustant le nombre et l'épaisseur des plaques ; ce qui rend son usage plus flexible [87]. Cependant, son assemblage peut s'avérer complexe comparativement à la cellule de type H.

La configuration à trois chambres des systèmes bioélectrochimiques a été beaucoup plus expérimentée pour la désalinisation des eaux salines [83]. Elle est similaire à celle autoassemblée mais celle-ci utilise plus de plaques afin de constituer trois chambres différentes séparées par des membranes et dont les compartiments anodique et cathodique sont aux extrémités. Pour l'utilisation de cette configuration comme MES, la chambre du milieu est utilisée pour l'extraction

des produits de réaction tels que l'acétate et sert également de compartiment pour la conversion des AGVs à chaîne courte en AGVs à chaîne moyenne [88], [89], [90].

2.3.2 Conditions opératoires

Diverses conditions opératoires notamment le potentiel cathodique, le débit de dioxyde de carbone, le temps de rétention hydraulique (TRH) et la température et pH du catholyte peuvent affecter les performances de la MES. Pour optimiser l'efficacité de la MES, ces facteurs doivent être considérés et choisis conséquemment.

2.3.2.1 Le temps de rétention hydraulique

Selon la configuration d'une MES, elle peut être opérée en mode batch comme en mode continu. Le fonctionnement en mode batch est plus simple à réaliser mais présente cependant des inconvénients tels que la variation du pH et la limitation du transfert de masse en raison de la nature statique du milieu et du non-contrôle du pH. En revanche, le fonctionnement continu permet de contrôler le pH et de rafraîchir constamment le milieu réactionnel en nutriments et matières importantes. Ce qui en conséquence, permet d'améliorer l'efficacité coulombienne et le taux de production de produits à valeur ajoutée. En effet, les travaux réalisés par Izadi et al. [91] sur un système fonctionnant en mode continu pour la réduction du CO₂ leur ont permis de contrôler le pH et par conséquent améliorer le rendement faradique en acétate. En revanche, l'augmentation du temps de rétention hydraulique (TRH) de 3 à 7 jours a diminué le rendement faradique en acétate et occasionné la formation de produits à chaîne carbonée plus longue tels que l'isobutyrate, l'isovalérate, le caproate et l'hexanol. D'autres résultats ont également mentionné l'importance du contrôle du TRH sous condition d'alimentation suffisante de CO₂ sur les performances de la MES [92]. Ces résultats ont montré que sous débit de CO₂ élevé (173 L j⁻¹), le TRH de 14 jours favorisait la chaîne élongation en butyrate et caproate atteignant une sélectivité en carbone de 53,6 ± 4,1%.

2.3.2.2 L'apport de dioxyde de carbone

L'impact de la nature de la source de carbone inorganique ainsi que son mode d'alimentation sur les performances de la MES ont déjà fait l'objet d'études. Le bicarbonate (HCO₃⁻) est souvent utilisé au lieu du CO₂ gazeux. Des travaux [93] ont porté un intérêt à l'impact de ces deux formes de carbone inorganique sur l'activité et le développement de biofilm sur un feutre de graphite dans une MES. Il en ressort qu'au potentiel cathodique égal à -1 V vs Ag/AgCl, un biofilm dense,

conductif et majoritairement composé de microorganismes acétogènes s'est mieux développé sur la cathode lorsque le CO₂ gazeux est utilisé. De plus, la MES opérée sous barbotage de CO₂ a produit plus de composés organiques, majoritairement l'acétate. Des résultats similaires ont également été obtenus lorsque le CO₂ gazeux et sous forme de bicarbonate ont été utilisés [94]. La meilleure production d'acétate ($9,68 \text{ g m}^{-2} \text{ j}^{-1}$) a été obtenue sous l'apport continu de CO₂ gazeux par rapport à l'apport de bicarbonate ainsi que l'apport discontinu de CO₂. Cependant, la production la plus élevée en butyrate ($0,39 \text{ g m}^{-2} \text{ j}^{-1}$) a été obtenue lors du barbotage discontinu de CO₂. L'augmentation de l'apport de carbone augmente la production de composés organiques plus particulièrement l'acétate [95], [96]. Les résultats de Jourdin et al. [92] par exemple ont montré que la production des AGVs évoluait avec le débit de CO₂ apporté. L'augmentation du débit de CO₂ a non seulement augmenté la production d'acétate mais aussi celle de butyrate et de caproate. Il a également été montré que la production de butyrate et caproate augmentait lorsque l'acétate est ajouté dans une MES en plus du CO₂ comme source de carbone et accepteur d'électrons. Cependant, cet ajout a conduit à une diminution de l'efficacité de conversion du CO₂ [97].

2.3.2.3 Le potentiel d'électrode

Le potentiel cathodique imposé est un facteur important qui influence la nature et quantité des produits de réduction du CO₂. En effet, des travaux réalisés dans des conditions de haute pression et de température (5 MPa, 55 °C) sur des microorganismes thermophiles ont montré une amélioration de la production de méthane de 34,9 à 168,4 mmol m⁻² j⁻¹ lorsque la tension de la MES appliquée est augmentée de 0,4 à 0,9 V [98]. D'autres travaux ont exploré l'effet de trois valeurs de potentiel de cellule (0,4 V, 0,8 V et 1,0 V) sur l'activité d'un inoculum à population mixte prétraité thermiquement pour la réduction de CO₂ en AGVs [99]. Les résultats obtenus indiquent que l'acétate et l'isobutyrate ont été produits aux différentes conditions de potentiels. Cependant, les concentrations des produits ainsi que l'efficacité coulombique ou faradique maximales ont été obtenues à potentiel 0,8V. Les résultats de caractérisation microscopique et électrochimique ont montré un biofilm électroactif et solidement attaché à l'électrode à 0,8V. Des résultats similaires ont également été obtenus dans une MES dont le potentiel cathodique est contrôlé à -0,8 et -1 V vs Ag/AgCl [93]. Un biofilm dense, stable et électroactif a été formé à -1 V vs Ag/AgCl conduisant à la production maximale en acétate alors qu'aucun biofilm n'est formé à -0,8 V vs Ag/AgCl. Par ailleurs, l'impact du potentiel cathodique sur la sélectivité de la réduction du CO₂ par un inoculum à population mixte a été étudié [100]. À potentiel cathodique entre -850

mV et -950 mV vs Ag/AgCl, le méthane et l'hydrogène ont été les produits de réaction formés. Cependant, au potentiel plus négatif (<-950 mV vs Ag/AgCl) l'acétate a été produit en plus du méthane et de l'hydrogène. Ce qui suggère que l'activité métabolique des espèces méthanogènes et acétogènes est impactée différemment selon la valeur du potentiel appliquée à la cathode. D'autres chercheurs ont plutôt exploré l'impact du potentiel cathodique sur la conversion de CO₂ et l'éthanol en AGVs à chaîne carbonée moyenne notamment le caproate [101]. En appliquant des valeurs de potentiel cathodique de -0,8 V, -1 V et -1.2 V vs Ag/AgCl, la production de caproate a été maximale à -1 V vs Ag/AgCl. La diminution de la production de caproate à potentiel plus négatif (-1.2 V vs Ag/AgCl) a été justifiée par une oxydation excessive de l'éthanol et la libération importante de H₂ et d'électrons contribuant à produire de l'acétate par les microorganismes acétogènes. Ce potentiel a également été considéré comme inhibant l'activité des microorganismes ou causant la mort des cellules microbiennes.

2.3.2.4 La température et le pH du catholyte

La température et le pH sont des facteurs qui affectent la croissance et l'activité métabolique des microorganismes dépendamment de leurs biotopes d'origine. Les systèmes bioélectrochimiques particulièrement la MES sont généralement opérés dans des conditions de température moyenne (20-60) [102]. Les inocula à population microbienne mésophile sont par conséquent les plus appropriés pour l'inoculation de la MES. La résistance à la température des microorganismes est souvent exploitée pour éliminer certains microorganismes indésirables et enrichir d'autres afin d'améliorer l'efficacité et la sélectivité de la réaction désirable dans la MES. C'est le cas des populations microbiennes homoacétogènes et méthanogènes qui forment naturellement un consortium efficace pour la fixation du CO₂ [46]. Les inocula à population mixte sont parfois traités thermiquement dans le but d'éliminer les espèces méthanogènes et enrichir celles acétogènes pour la production bioélectrochimique des AGVs dans la MES [93], [99].

Les microorganismes prospèrent différemment dans des conditions de pH acide, neutre ou alcalines. La distribution de la population microbienne dans un inoculum à population mixte peut donc varier considérablement en fonction des conditions de pH [103]. En conséquence, l'activité microbienne ainsi que la sélectivité des produits de réaction en dépendent. Nwanebu et al. ont tenté de supplanter la production de méthane à celle d'acétate à partir du CO₂ par une boue de digesteur anaérobie en variant le pH du compartiment cathodique d'une MES entre conditions acide (pH

5,3), neutre (pH 7) et basique pH (8) [104]. Même si la production d'acétate a augmenté à pH acide, celle de méthane a persisté en ce milieu où les méthanogènes résisteraient moins. Il a été montré que les conditions de pH faible favorisent le processus solvantogénique conduisant à la formation d'alcools [9], [105]. Ces conditions sont favorables au processus de chaîne élongation des AGVs puisque l'éthanol produit par ce processus solvantogénique est utilisé comme donneur d'électrons par des bactéries tels que *Clostridium kluyveri* pour la conversion de l'acétate en d'autres AGVs à chaîne carbonée plus élevée par bêta oxydation inverse (RBO) [106]. Quintela et al. ont observé la réduction du CO₂ en butyrate et caproate à pH 6 dans une MES dont l'inoculum est à population mixte [97]. De plus, la diminution du pH à 5 a facilité le processus solvantogénique et favorisé la chaîne élongation. De même, les travaux de Vassilev et al. ont également abouti à des résultats similaires lorsque le pH du catholyte a été fixé à environ 5,2 [107]. Cependant, des conditions de pH très acide (inférieur à 4,5) pourraient être défavorables non seulement à la production d'éthanol mais également à la chaîne élongation des AGVs [9]. Certains résultats ont montré que la production de butyrate par une culture mixte dominée par le genre *Eubactérium* à partir du CO₂ et du méthanol était plus élevé à pH 6 et 7 qu'à pH 5,5 [108]. Si le pH acide favorise la formation d'éthanol utilisé comme donneur d'électrons, les bactéries à chaîne élongation comme *Clostridium kluyveri* prospèrent optimalement dans des conditions de pH presque neutre [106]. Un compromis est donc parfois nécessaire pour favoriser ces deux voies métaboliques complémentaires.

2.4 Matériaux d'électrode

Les électrodes sont des composants importants des systèmes bioélectrochimiques puisqu'elles constituent le siège des réactions qui régissent leur fonctionnement.

2.4.1 Matériaux anodiques

L'anode est le siège de la réaction d'oxydation dans la MES. L'oxydation de l'eau sur des matériaux catalytiques (anodique abiotique) est la réaction la plus privilégiée dans la MES même si d'autres recherches s'intéressent à l'oxydation de composés organiques par des microorganismes colonisant les matériaux anodiques (bioanodes) comme dans les MFCs.

2.4.1.1 Anodes abiotiques

L'oxydation de l'eau à l'anode est une réaction s'effectuant à potentiel positif. Des électrodes stables à potentiel anodique et ayant des propriétés électrocatalytiques sont alors requises à cet

effet. De nombreux catalyseurs sont étudiés dont les catalyseurs à base de métaux, d'oxyde métallique et d'(oxy)hydroxyde métallique [109], [110]. Ces catalyseurs sont généralement testés dans des milieux acides [111], alcalins [112] ou neutres [113]. Pour la MES dont le pH du compartiment cathodique est généralement proche de la neutralité ou légèrement acide, les catalyseurs anodiques efficaces en milieu acide sont mieux adaptés. Dans ces conditions, les catalyseurs à base d'oxyde d'iridium (IrO_2) et de ruthénium (RuO_2) sont les plus stables et efficaces [110], [111], [114].

2.4.1.2 Bioanodes

Les bioanodes sont plus étudiées dans les MFCs et MECs pour l'oxydation des composés organiques. L'oxydation anaérobie de composés organiques par les microorganismes constitue la réaction anodique dans ces systèmes. Le potentiel anodique nécessaire pour amorcer cette réaction est plus faible que celui de l'oxydation de l'eau et pouvant être négatif [115]. Pour le fonctionnement de la MEC, la tension de la cellule nécessaire est donc inférieure au potentiel standard d'oxydation de l'eau (1.23 V vs ENH). Les matériaux commerciaux à base de carbone ou de métaux sous diverses formes ont été initialement testés comme matériaux anodiques [116], [117], [118]. Il s'est avéré que le traitement de surface de ces matériaux pouvait améliorer leurs performances. Ainsi, des traitements thermiques [119] [120] et chimiques (à l'ammoniac, l'acide, etc.) [121], [122] ont été bénéfiques pour l'adhésion microbienne et par conséquent pour la conversion des composés organiques. Une autre approche pour améliorer leur biocompatibilité ainsi que leur conductivité a consisté à augmenter leur surface spécifique par des revêtements avec des nanomatériaux conducteurs notamment les nanotubes de carbone, les nanoparticules métalliques et organométalliques, de polymères conducteurs et les oxydes métalliques [123], [124], [125]. Ainsi, les oxydes SnO_2 [126], Fe_2O_3 [127], TiO_2 [128], Fe_3O_4 [129], Mn_3O_4 [129] et MnO_2 [130] ont été testés comme matériaux anodiques dans des MFCs. Dans la plupart, les performances des MFCs correspondantes ont été améliorées comparativement à celles utilisant les supports de carbone non modifiés. Des oxydes bimétalliques tels que CoMn_2O_4 [131], FeMoO_4 [132] ont également montré de bonnes performances en tant que bioanodes dans une MFC.

2.4.2 Matériaux cathodiques

La conversion du CO_2 est une tâche difficile du fait de son inertie chimique due à sa structure linéaire formée de deux doubles liaisons $\text{C}=\text{O}$ ayant une énergie de liaison très élevée (750 kJ

mol^{-1}) [133]. La réaction de réduction du CO_2 nécessite donc d'être catalysée. Outre le développement de matériaux (cathodes abiotiques) pour la réduction électrochimique, d'autres recherches associent activités métaboliques microbiennes aux matériaux cathodiques (biocathodes) afin de réduire le CO_2 .

2.4.2.1 Cathodes abiotiques

La réduction électrochimique en milieu non microbien est l'une des méthodes utilisées pour convertir le CO_2 en composés chimiques à valeur ajoutée en imposant un courant ou un potentiel de réduction. Le matériau cathodique est l'un des composants importants du dispositif électrolytique devant contribuer à la diminution de l'énergie d'activation du CO_2 . Les métaux connus pour leurs propriétés conductrices et électrocatalytiques sont les plus étudiés comme catalyseurs pour la réduction électrochimique du CO_2 .

De façon générale, les produits de réduction du CO_2 sont des composés monocarbonés (CO , CH_4 , HCOOH , CH_3OH) dont la cinétique de formation est relativement favorable. En 1985, Hori et collaborateurs ont testé différents métaux (Cu , Au , Ag , Zn , Pb , In , Ni , Fe , Au et Sn) comme catalyseurs dans un électrolyte aqueux de KHCO_3 saturé de CO_2 [22]. Les métaux Pb , In , Sn et Cd étaient plus sélectifs pour le formate (HCOO^-) alors que les métaux Au , Ag , Zn avaient tendance à catalyser la formation du monoxyde de carbone (CO). Ni et Fe étaient plutôt sélectifs vis-à-vis de l'hydrogène. Cu a été favorable à la formation de CH_4 et moins favorable pour HCOO^- et CO . Par ailleurs, Cu est le métal qui s'est avéré prometteur pour la formation de composés polycarbonés. En effet, une autre recherche de Hori et al. sur le métal Cu dans différents électrolytes a conduit à la formation d'éthylène (C_2H_4) à 48% et d'éthanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) et de propanol ($\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$) à des rendements appréciables [134]. La sélectivité des catalyseurs est en général faible à des densités de courant élevées. En effet, une étude a comparé l'activité, la sélectivité et la stabilité de certains métaux de transition (Au , Pd , Ag , Sn , Cu) sur une électrode à diffusion de gaz dans une plage de courant imposé de 10 à 200 mA cm^{-2} [135]. L'hydroxyde de potassium (KOH 1M) et le bicarbonate de potassium (KHCO_3 1M) ont été utilisés comme électrolytes lors de l'électrolyse pendant 1h de temps. Il en ressort que les métaux Au , Ag et Pd sont sélectifs pour la formation de CO à faible densité de courant (10 mA cm^{-2}). Cependant, la sélectivité de Au et Pd diminue significativement lorsque la densité de courant est fixée à 200 mA cm^{-2} . Les densités de courant limites pour Au et Pd obtenues sont respectivement 72 et 50 mA cm^{-2} . Les analyses surfaciques ont montré des

modifications structurales des catalyseurs après les expériences électrolytiques. Le dépôt de Sn a été particulièrement dissout en milieu alcalin (KOH) mettant en évidence sa faible stabilité.

Pour améliorer l'activité et la sélectivité des catalyseurs certaines approches ont consisté à préparer des alliages ou des matériaux tandems. Ainsi, des recherches ont montré que Ag a une synergie d'action catalytique avec certains métaux comme Pd [136], In [137] et Au [138] pour la formation de CO. Abdinejad et al. par exemple ont réalisé des aérogels de Ag-Pd sur des nanotubes de carbone [139]. A potentiel cathodique $-0,7$ V vs électrode normale à hydrogène (ENH), l'efficacité faradique (91%) et la densité de courant (-38 mA cm^{-2}) sur l'alliage sont plus élevées que celles des catalyseurs monométalliques Ag et Pd à $-0,8$ V vs ENH. Par ailleurs, le dépôt de particules de Au sur une feuille de Cu a augmenté 100 fois son activité catalytique pour la formation de composés polycarbonés notamment l'éthanol et le propanol du fait de la synergie d'action de Au avec Cu [140]. En effet, Au a servi de site de formation d'intermédiaire CO^* et Cu pour le couplage des liaisons C-C. Un alliage de Zn et Cu a également permis de produire de l'éthylène (C_2H_4) avec un rendement faradique de 33,3% [141]. D'autre part le catalyseur tandem de Ag-Cu a été sélectif pour la formation de l'éthanol avec un rendement faradique atteignant 41% [142]. Hoang et collaborateurs ont développé un catalyseur nanoporeux d'alliage de Ag-Cu par électrodéposition [143]. L'utilisation de ce catalyseur dans la cellule électrochimique a conduit à la production de l'éthylène et de l'éthanol à des rendements faradiques respectifs 60 et 25 % à une densité de courant d'environ 300 mA cm^{-2} . La formation d'une couche stable de Cu_2O et d'intermédiaire de CO sur Ag a été suggérée étant à l'origine de production de ces composés.

La modification de la valence des métaux ainsi la formation de composites peuvent impacter également propriétés électrocatalytiques des matériaux. Des recherches ont montré que les liaisons Ag-O [139] et Ag-S [144] au sein d'un catalyseur à base de particules de Ag améliorent son activité catalytique pour la réduction de CO_2 en CO. Ding et al. ont développé un catalyseur tandem de sulfure et d'oxyde de d'étain ($\text{SnS}_2/\text{Sn}_1\text{-O}_3\text{G}$) pour la réduction du CO_2 en éthanol [145]. La cellule a atteint 82,5 % de sélectivité à $-0,9\text{V}$ vs ENH avec ce catalyseur comme cathode. Jiang et al. ont préparé un catalyseur de SnO_2 stabilisé par un dopage à Cu, Bi ou Pt pour la réduction du CO_2 en formate [146]. L'efficacité faradique atteinte est supérieure à 80% sur Cu-SnO_2 à densité de courant supérieure à 500 mA cm^{-2} . Hazarika et al. ont préparé des catalyseurs de nanoparticules de Cu et Cu_2O pour réduire le CO_2 en méthanol (CH_3OH) [147]. Cu_2O a été plus efficace pour la

formation de méthanol atteignant 49 % d'efficacité coulombique à -2,0 V vs électrode standard à hydrogène (ESH). CH₄ et C₂H₄ ont été les produits majoritaires sur le catalyseur Cu. Chu et al. ont plutôt testé un catalyseur à base d'oxyde bimétallique (CuO-CeO₂) pour la réduction du CO₂ [148]. C₂H₄ a été produit majoritairement (maximum 50,0 % à -1,1V vs ENH) tandis que CO, CH₄, HCOOH et C₂H₅OH ont été produit en minorité. De plus, la production de C₂H₄ a été améliorée 2,6 fois par rapport à CuO. Paris et al. ont aussi préparé un autre catalyseur à base d'oxyde bimétallique (Cr₂O₃-Ga₂O₃) déposé sur une électrode de carbone vitreux [149]. L'oxalate a été produit à une efficacité coulombique de 49 % avec une surtension de 690 mV. CO, HCOOH et CH₃OH ont été produits à des pourcentages faibles. Cependant l'oxalate n'a pas été produit lorsque les oxydes métalliques sont pris séparément. Ce qui suggère que le développement de couche d'oxydes bimétalliques sur des électrodes à base de carbone pourrait favoriser la formation de composés polycarbonés. Toutefois, les résultats sur les catalyseurs abiotiques présentent des rendements faradiques faibles et une stabilité généralement évaluée à quelques heures. Face à cette difficulté de réduire sélectivement le CO₂ en composés polycarbonés, les microorganismes constituent une alternative à explorer.

2.4.2.2 Biocathodes

Les biocathodes sont des matériaux sur lesquels la réduction de CO₂ par des microorganismes électroactifs s'opère. Comme les bioanodes, les travaux de recherche s'accroissent sur la modification des matériaux commerciaux tels que les tissus, tiges et feutres de carbone comme matériaux cathodiques dans l'objectif d'accroître leur conductivité, leur surface spécifique et leurs propriétés d'adhésion avec les microorganismes [18]. Ces modifications sont généralement de nature à rendre la surface tridimensionnelle et/ou poreuse, fonctionnalisée ou chargée (Figure 2.4). Ainsi, Yu et al. en modifiant un tissu de carbone par des nanoparticules de carbones imbibées de *Morella thermoautotrophica* ont remarqué une augmentation de la production de formate et d'acétate d'un facteur de 7,9 et 14 respectivement [62]. De même, Chen et al. ont obtenu une amélioration de la production d'acétate par *Sporomusa ovata* d'un facteur de 11,8 en modifiant du tissu de carbone par du graphène réduit fonctionnalisé par du tétraéthylène pentamine [63]. La présence de fonction amine sur le modifiant a probablement favorisé la formation de biofilm conducteur de *S. ovata*, une espèce désignée électroactive. Zhang et al. ont étudié l'impact de la modification d'un tissu de carbone par une série de composés organiques (chitosan, polyaniline, melanine, 3-aminopropyltriéthoxysilane, 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine, ammoniac...) et de métaux

(Au, Pd, Ni) sur la production d'acétate par *S. ovata* [150]. Toutes les biocathodes formées ont occasionné une amélioration de la production d'acétate par un facteur allant de 3 à 7 hormis les biocathodes de mélanine et de l'ammoniac. La meilleure performance a été obtenue avec le chitosan, un polysaccharide riche en groupes fonctionnels amine et hydroxyle dont le dépôt a amélioré 9 fois la densité du biofilm développé. Ce qui suggère l'importance de groupements fonctionnels sur la formation de biofilm. Vidales et al. ont aussi mentionné un impact positif de l'électrodéposition de nanoparticules de Ni et Fe sur du feutre de carbone sur la production de méthane et d'acétate par une boue anaérobique [151]. Par ailleurs, l'étude du revêtement d'un bloc de graphite avec différents types de matériaux notamment le sulfure de fer (FeS) et de molybdène (MoS_2), les particules d'acier (Fe), de nickel (Ni) et de platine (Pt), la ferrihydrite ($\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$) et la magnétique (Fe_3O_4) sur la production de méthane par une boue anaérobique montre que seul le platine a démontré un effet positif significatif [23]. La caractérisation des électrodes en fin d'opération révèle la disparition de $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$, Fe_3O_4 , FeS, et Ni. La stabilité des électrodes est donc capitale pour booster la performance des biocathodes. D'autre part, il a été démontrée que le traitement thermique d'un feutre d'acier améliore les performances de la biocathode correspondante pour la réduction du CO_2 en méthane [152]. Une amélioration qui serait due à la formation d'oxyde de fer 3D lors du traitement thermique facilitant le développement de biofilm conducteur. Par ailleurs, le dépôt de Fe_2O_3 sur du feutre de carbone par irradiation à la microonde d'une solution de ferrocène améliore d'environ 5 fois la production d'acétate par une culture pure de *Sporomusa ovata* [60]. L'électrodéposition de l'oxyde de manganèse (MnO_2) sur du feutre de carbone a également montré un effet positif sur la production de l'acétate par une boue anaérobique [153]. Du et al. ont évalué l'effet du revêtement de feutre de carbone avec trois oxydes métalliques (MnO , Fe_2O_3 et MnFe_2O_4) sur la conversion du CO_2 en acétate par une culture mixte enrichie [154]. L'électrode de feutre de carbone a présenté la plus faible production d'acétate suivie de celle à base de MnO , Fe_2O_3 et de MnFe_2O_4 . L'amélioration de la production d'acétate sur la cathode de MnFe_2O_4 serait due aux propriétés redox des couples Mn(III)/(II) et Fe(III)/(II) facilitant le transfert d'électrons et l'enrichissement de *Acetobacterium wieringae* sur la cathode, une espèce homoacétogène convertissant le CO_2 et H_2 en acétate. De résultats similaires ont été obtenus avec un dépôt de Co_3O_4 sur du feutre de carbone. La production d'acétate a été multipliée par 2,1 avec l'électrode à base de Co_3O_4 [26]. Cet oxyde métallique a non seulement augmenté 4,4 fois la production d'hydrogène mais aussi amélioré la formation d'un biofilm enrichi par les genres

Acetobacterium et *Arcobacter*. Ce qui met en exergue les propriétés catalytiques de l'oxyde métallique vis-à-vis de l'hydrogène important pour les espèces en solution, mais aussi les propriétés surfaciques facilitant le développement de biofilm. Tahir et al. ont modifié du feutre de carbone avec l'oxyde bimétallique NiFe_2O_4 pour la conversion du CO_2 en AGVs dans une MES [28]. Le revêtement de feutre de carbone par NiFe_2O_4 a en plus d'augmenter le courant cathodique, enrichi sélectivement des phyla *Proteobacteria* et *Thermotogae* produisant le butyrate. En conséquence, la sélectivité de butyrate a atteint 95 % et sa production a été multipliée par 1,2. Au regard de ce qui précède, on peut conclure que la nature et les propriétés surfaciques du matériau cathodique ont donc un impact déterminant sur la composition microbienne du biofilm et sur les performances de la MES.

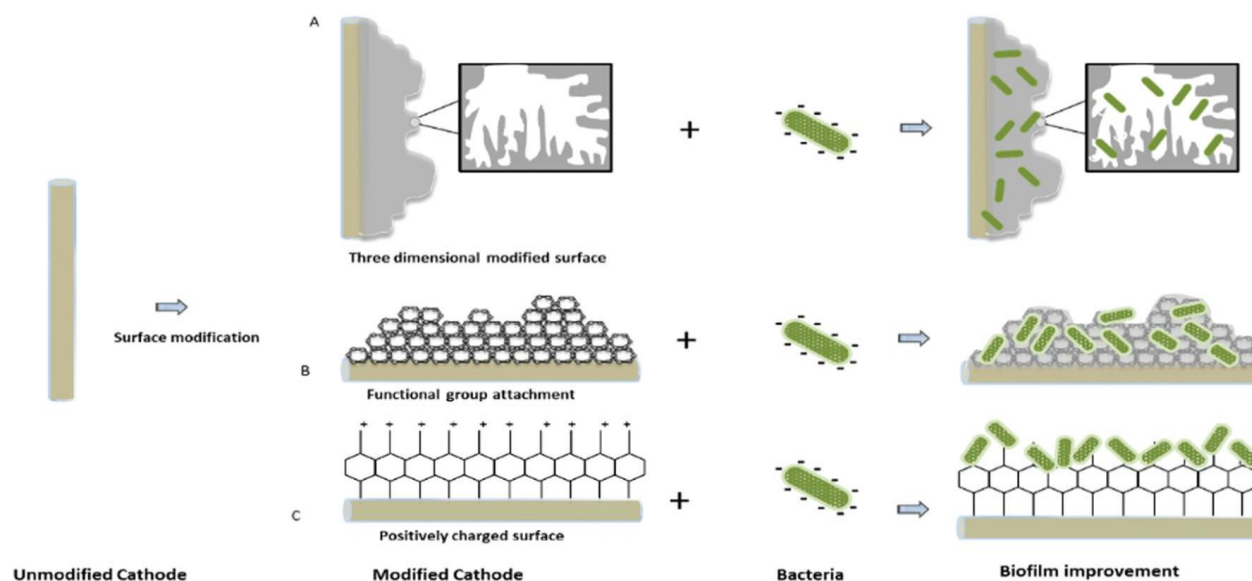


Figure 2.4 Approche de modification de la surface des électrodes en A) une structure 3D, B) structure 3D fonctionnalisée et C) structure chargée positivement [18].

2.5 Produits de réduction du dioxyde de carbone

2.5.1 Produits de réduction électrochimique

La réduction électrochimique du CO_2 conduit généralement aux composés monocarbonés notamment CO , HCOO^- , CH_3OH , et CH_4 . La sélectivité de CO et HCOO^- est en général plus élevée en raison du mécanisme de formation nécessitant deux électrons. Pour la production de CO , les catalyseurs à base d'argent (Ag) sont les plus étudiés et prometteurs [155]. À pression élevée

(18.5 atm), plus de 80 % d'efficacité faradique a été obtenue sur un catalyseur à base de Ag à 225 mA cm⁻² [156]. Mieux, les résultats de Ma et al. ont atteint 95% d'efficacité faradique à 350 mA cm⁻² sur une électrode composite de nanoparticules de Ag et de nanotubes de carbone [157]. Quant à HCOO⁻, les catalyseurs à base de In, Bi et Sn présentent une sélectivité favorable permettant d'atteindre des rendements faradiques appréciables [158] [159]. Par exemple, en déposant des particules de Bi sur un support à base de Ag comme catalyseur (Ag@Bi), Nguyen et ses collègues ont produit HCOO⁻ à plus de 90 % de rendement faradique pendant 500 h à 100 mA cm⁻² dans un électrolyte de KHCO₃ [160]. Avec un alliage de Bi-In l'efficacité de la réduction de CO₂ en HCOO⁻ a atteint 83,5% ± 1.1% à 60 mA cm⁻² puis diminué à 60,8 ± 0.6% lorsque la densité de courant a été augmentée à 400 mA cm⁻² [161]. Zhu et collaborateurs ont obtenu 95 % d'efficacité faradique en HCOO⁻ à 265,1 mA cm⁻² en utilisant un catalyseur hétérogène à base de Sn (CeO_x-Sn) [162]. CH₃OH, et CH₄ sont cependant produits avec des rendements faradiques relativement faibles. Les catalyseurs à base de Cu sont les plus prometteurs pour la formation de ces composés. À -178,8 mA cm⁻², un rendement coulombique de 47,6 % a été réalisé avec un catalyseur de Cu organométallique avec KOH comme électrolyte [163]. Un rendement coulombique plus élevé (81,2 %) a été atteint en utilisant un autre catalyseur organométallique de Cu en imposant une densité de courant égal à -313 mA cm⁻² [164]. Yang et al. ont préparé un catalyseur organométallique tétracoordiné (Cu-N₄) pour la réduction de CO₂ en CH₃OH [165]. La cellule électrochimique a réalisé 100% de rendement faradique en composés monocarbonés dont 44 % correspond à la production de CH₃OH avec une densité de courant partiel égale à -93 mA cm⁻². Guo et al. ont atteint 88,6 % d'efficacité faradique en CH₃OH à -67 mA cm⁻² en utilisant un catalyseur composite de CuO et Sn atomique [166].

Outre les composés monocarbonés, les composés bicarbonés tels que l'éthanol (C₂H₅OH), l'éthylène (C₂H₄) et l'acétate sont d'autres produits de réduction électrochimique du CO₂. Les catalyseurs à base de Cu sont également les plus prometteurs pour la réduction de CO₂ en C₂H₅OH et C₂H₄. Le développement par exemple d'une couche de Cu₂O/CuO sur une mousse de cuivre a permis à Daiyan et al. d'atteindre un rendement faradique en C₂H₅OH de 31 % à faible potentiel cathodique (-0,3 V vs ENH) [167]. Un rendement similaire (32 %) a été obtenu par Zhu et al. sur une couche dendritique de Cu/Cu₂O à un potentiel cathodique de -0,4 V vs ENH [168]. L'utilisation d'un alliage Cu-Au a conduit également un rendement faradique faible (29 %) à un potentiel cathodique plus négatif (-0,8 V vs ENH) [169]. Un rendement faradique plus élevé (41,4%) a été

atteint en milieu alcalin sur un autre alliage Cu-Ag à une densité de courant égal à 250 mA cm^{-2} [170]. En milieu neutre, 37 % de rendement faradique a été obtenu en utilisant le même catalyseur à une densité de courant relativement plus élevée (300 mA cm^{-2}). C_2H_4 a été produit à des rendements faradiques égaux à 66, 65 et 63 % sur une nano couche de Cu lorsque la densité de courant a été respectivement fixée à 275, 500 et 750 mA cm^{-2} en milieu alcalin (KOH 3,5-10 M) [171]. Un alliage Cu-Ag a également favorisé la formation de C_2H_4 à -300 mA cm^{-2} avec un rendement faradique atteignant 60%. En ce qui concerne l'acétate, divers types de catalyseurs ont été développés ayant une sélectivité favorable [172]. Les résultats de Sun et al. ont montré par exemple qu'un catalyseur hétérogène à base de complexe organométallique de cuivre et de nitrure de bore pouvait atteindre un rendement faradique en acétate d'environ 80 % à une densité de courant égale à $13,9 \text{ mA cm}^{-2}$ [173]. En revanche, les catalyseurs pris séparément n'ont aucune sélectivité vis-à-vis de l'acétate. D'autres auteurs ont atteint une efficacité faradique de 97% et une sélectivité de l'acide acétique de 61% sur un catalyseur d'oxyhydroxyde de fer et de graphite dopé à l'azote soumis à un faible potentiel de $-0,5 \text{ V vs Ag/AgCl}$ [174]. À une densité de courant plus élevée (110 mA cm^{-2}), une cellule électrochimique utilisant un catalyseur de $\text{Mo}_8\text{-Cu}$ a réalisé une efficacité faradique en acétate égale à 48,68 % [175].

En plus des composés mono et bicarbonés, certains composés de trois à quatre carbones peuvent également se produire par la réduction électrochimique du CO_2 . Le propanol, le propane, le butanol et tertbutanol font partie des composés de trois à quatre carbones qui sont souvent produits [176]. Cependant, les rendements faradiques sont en général faibles. L'utilisation des microorganismes comme catalyseurs peut en revanche faciliter la formation de composés polycarbonés à des rendements faradiques plus considérables.

2.5.2 Produits de réduction bioélectrochimique

Les microorganismes ont la possibilité de réduire le CO_2 en divers composés dont les acides carboxyliques. Les acides gras volatils ($\text{C}_2\text{-C}_6$, C : carbone et 2-6 le nombre de carbone) sont les acides carboxyliques les plus étudiés par la MES. La première étude portant sur la réduction bioélectrochimique du CO_2 dans une MES a utilisé une culture pure de *Sporomusa ovata* comme biocatalyseur et obtenu l'acétate comme produit majoritaire et le 2-oxobutyrate en tant que produit minoritaire [58]. *Sporomusa ovata* a réduit le CO_2 à $-0,4 \text{ V vs ESH}$ en utilisant les électrons à l'interface de la cathode en tige de graphite. À $-0,6 \text{ V vs ESH}$, des traces d'hydrogène ont été

mesurées suggérant qu'à potentiel plus négatif, l'hydrogène peut être produit et utilisé comme donneur d'électrons par des espèces homoacétogènes. Les mêmes auteurs ont par la suite investigué sur d'autres microorganismes acétogènes (*Sporomusa silvacetica*, *Sporomusa sphaeroides*, *Clostridium ljungdahlii*, *Clostridium aceticum*, *Moorella thermoacetica* et *Acetobacterium woodii*) [177]. En imposant un potentiel cathodique égal à -0,4 V vs ESH, toutes ces espèces ont été capables de réduire le CO₂ sauf *Acetobacterium woodii*, une espèce homoacétogène nécessitant H₂ comme donneur d'électrons pour réduire le CO₂. Le formate, l'acétate et le 2-oxobutyrate ont été produits avec l'acétate comme produit majoritaire. Les auteurs ont également mentionné une prédominance de la formation du 2-oxobutyrate avec *Clostridium aceticum*. Les efficacités coulombiques les plus élevées (>80%) ont été obtenues en utilisant *S. sphaeroides*, *C. ljungdahlii*, et *M. thermoacetica*. À ce jour, plusieurs travaux ont été menés afin d'améliorer la production d'acétate par la réduction bioélectrochimique du CO₂ dans la MES. Ces efforts s'inscrivent sur la diversification des inocula, la variation des conditions opératoires et l'exploration de différents matériaux d'électrodes.

En 2013, Marshall et collaborateurs ont opéré une MES à longue terme (150 jours) afin d'augmenter la production d'acétate par un inoculum à population mixte à -0,59V vs ESH [178]. Le 2-bromoethanesulfonate a été ajouté au milieu pour inhiber l'activité des méthanogènes présents au sein de la population microbienne. La cellule avait pour cathode une tige de graphite plongée dans 30 g de granules de graphite et opérait en mode batch. Après plusieurs cycles, la production d'acétate a atteint 1,04 g (L j)⁻¹ et sa concentration maximale était égale à 10,5 g L⁻¹. H₂ a été produit dans ces conditions à 0,2 mentionné et a probablement contribué au processus de transfert d'électrons. L'efficacité coulombique totale a été évaluée à 84.3 ± 7.6% incluant l'apport d'autres composés minoritaires (formate, propionate et butyrate). Les résultats d'analyse microbienne ont montré que les espèces d'*Acetobacterium* étaient prépondérantes dans le biofilm formé.

Labelle et ses collègues ont plutôt combiné l'opération en mode continue sous condition galvanostatique et l'usage de cathode 3D poreux pour améliorer la production d'acétate par une culture mixte [179]. La cathode utilisée était une mousse de carbone vitreux réticulé et la densité de courant fixée à 83,3 A m⁻², condition à laquelle la production de H₂ était attendue. La production maximale d'acétate a été évaluée à 18,72 g (L j)⁻¹ avec un rendement faradique maximal égal 35 %. H₂ a été le produit majoritaire et le rendement faradique total des deux produits était compris entre 80 et 100%. Malgré la production élevée d'acétate, la proportion importante de H₂ suggère

que l'activité des microorganismes homoacétogènes en solution n'a pas été efficace face à la production de H_2 in situ.

Flexer et collaborateur se sont focalisés sur le développement de matériaux très conductifs et macroporeux permettant le développement d'un biofilm dense [180]. De nanotubes de carbone ont été déposées sur du carbone vitreux réticulé pour former une structure très poreuse et améliorer la conductivité électrique du matériau support. L'utilisation de ces matériaux comme cathodes dans une MES opérant pendant 140 jours a conduit à la formation d'un biofilm dense délivrant une densité de courant égal à -200 A m^{-2} à $-1,1 \text{ V}$ vs ESH. L'efficacité de courant de la réduction du CO_2 a été évaluée à environ 100% avec une production d'acétate maximale de $1330 \text{ g m}^{-2} \text{ j}^{-1}$. Selon les auteurs, la production d'acétate a été effective au sein du biofilm et les espèces du genre *Acetoanaerobium* étaient responsables de la conversion du CO_2 et H_2 produit en acétate.

Deutzmann et collaborateurs ont quant à eux combiné l'utilisation d'un catalyseur efficace en production d'hydrogène et l'activité d'une espèce homoacétogène thermophile afin de produire spécifiquement l'acétate [181]. En effet, ces auteurs ont déposé une couche d'alliage NiMo par électrodéposition sur des plaques d'acier comme matériau d'électrode et utilisé une culture de *Thermoanaerobacter kivui* comme inoculum. La MES a été opérée en mode continu à pH 6,8 et le milieu de culture microbien a été ajouté à différent débit. Les résultats obtenus montrent que la production d'acétate était limitée par son accumulation et augmentait avec la dilution. La production ($18,24 \text{ g (L j)}^{-1}$) et le rendement faradique (95,7 %) les plus élevés ont été obtenus au taux de dilution plus élevé ($0,76 \text{ j}^{-1}$) alors que la concentration mesurée était plus élevée au faible taux de dilution ($0,25 \text{ j}^{-1}$).

En plus des recherches sur l'amélioration de la production d'acétate à une densité de courant élevée pour une éventuelle application à grande échelle, d'autres s'orientent de plus en plus vers l'amélioration de la sélectivité des acides gras volatils à chaîne carbonée plus longue (C4 plus) tels que le butyrate, le valérate et le caproate dont les valeurs ajoutées sont considérées plus importantes. Diverses approches ont été examinées afin d'augmenter la sélectivité de la conversion microbienne du CO_2 vers les composés à chaîne carbonée plus longue. Les conditions opératoires tels que le pH de catholyte [9], [182], le potentiel cathodique [99], le temps de rétention hydraulique [92], [182] sont autant de facteurs influençant l'élongation de la chaîne carbonée. Certains chercheurs suggèrent qu'un pH cathodique légèrement acide (environ 5) favorise la formation

d'éthanol nécessaire à la chaîne élongation et par conséquent améliore la production de composés tels que le butyrate et le caproate [97] [107]. Jourdin et collaborateurs ont opéré une MES en continue à pH 5,7 et à $-100,8 \text{ A m}^{-2}$. En augmentant le débit de CO_2 de $8,6 \text{ L j}^{-1}$ à $173,2 \text{ L j}^{-1}$, la production moyenne d'acétate est passée de $2.3 \pm 0.7 \text{ g (L j)}^{-1}$ à $7.3 \pm 1.8 \text{ g (L j)}^{-1}$. En plus de l'augmentation de la production d'acétate, celles de butyrate et caproate ont également augmenté atteignant respectivement des valeurs maximales de 5.7 g (L j)^{-1} et $1.3 \pm 0.3 \text{ g (L j)}^{-1}$ [92]. Chaitanya et ses collègues ont étudié l'impact du potentiel cathodique sur la conversion du CO_2 et l'éthanol externe en caproate [101]. Trois MESs opérant en mode batch ont été inoculées par un enrichissement à population mixte et leurs pH cathodiques initiaux fixés à 7,15. Les cathodes trois MESs étaient des feutres de carbone ($3.5 \text{ cm} \times 5.7 \text{ cm}$). Cependant, les potentiels cathodiques imposés étaient tous différents ($-0,8 \text{ V}$, -1V et $1,2 \text{ V}$ vs Ag/AgCl). Les résultats montrent que *Clostridium kluyveri*, une espèce productrice de caproate s'était bien développée dans les MESs opérant à $-0,8\text{V}$ et -1V vs Ag/AgCl. De plus, la MES opérant à -1V vs Ag/AgCl a présenté la meilleure sélectivité en caproate ($68 \pm 7 \%$). Cependant, la plus faible valeur de courant a été mesurée sur cette MES. Ce qui pourrait se justifier par la faible conductivité du biofilm formé à -1V vs Ag/AgCl. Jiang et collègues ont étudié l'effet de la densité de courant et de l'ajout d'éthanol sur la conversion du CO_2 dans une MES en opération en mode batch dont la cathode est à base de feutre de carbone [183]. Pour se faire, plusieurs MESs identiques ont été opérées sous différentes conditions. Une MES a été inoculée avec une boue anaérobie et opérée à 10 A m^{-2} en ajoutant initialement 5g/L d'éthanol au catholyte. Une deuxième MES a été opérée dans les mêmes conditions sans ajout d'éthanol. Une troisième a été inoculée avec ajout initial d'éthanol mais opérant à circuit ouvert. Pour la dernière, l'éthanol a été ajouté au milieu de culture sans inoculation et le courant de 10 A m^{-2} a été appliqué. Les résultats montrent que la production de caproate mesurée dans la MES ($0.51 \pm 0.71 \text{ g (L j)}^{-1}$) opérant à circuit ouvert, était 74 % plus faible que celle de la MES opérant sous courant imposé avec un ajout initial d'éthanol ($2.09 \pm 0.01 \text{ g (L j)}^{-1}$). Ce qui met en exergue l'apport du courant pour booster l'activité microbienne. L'acétate et le butyrate ont été produits dans les deux MESs mais avec des concentrations plus élevées dans la dernière. Dans la MES opérant sous courant imposé sans ajout initial d'éthanol, l'acétate a été formé majoritairement avec de faible quantité de propionate, d'isobutyrate, de butyrate et de caproate. Ce qui témoigne du rôle que joue l'éthanol pour l'élongation de la chaîne carbonée des AGVs. La MES opérant en milieu abiotique n'a produit aucun de ces AGVs en absence de

microorganismes. La production de caproate dans la MES utilisant le courant ainsi que l'éthanol comme donneurs d'électrons en revanche a été inhibée lorsque la densité de courant a été augmentée à 20 A m^{-2} alors que la production d'acétate a doublé dans la MES similaire sans ajout d'éthanol. Cette inhibition a été justifiée par la non-résistance microbienne à l'effet toxique de l'éthanol à 20 A m^{-2} conduisant à une alcalinisation du catholyte. La production de caproate a cependant augmenté lorsque la concentration d'éthanol initial a été doublée à 10 g L^{-1} dans la même MES. Ce qui laisse penser que la toxicité de l'éthanol à 5 g L^{-1} ne peut justifier l'inhibition de la production de caproate. Les espèces élongatrices de chaîne carbonée résistent probablement moins à un potentiel plus négatif auquel l'électrode est soumise à 20 A m^{-2} .

Le matériau cathodique peut également impacter l'enrichissement du biofilm et en conséquence sur la sélectivité des produits de réaction. Les modifications des supports de carbone (feutre ou tissu de carbone) par des matériaux composites d'oxyde de graphène réduit et MnO_2 [25] ou CuFe_2O_4 [27] se sont montrées bénéfiques pour formation de biofilms denses conductif conduisant à l'amélioration de la production des AGVs notamment l'acétate et l'isobutyrate et de la résistance de transfert de charge des supports en carbone. Des résultats similaires pour la production de butyrate ont également été obtenus dans une MES utilisant une cathode à base de NiFe_2O_4 déposé sur du feutre de carbone [28]. Malgré les améliorations de performances de ces MESs utilisant ces différents oxydes métalliques, les densités de courant sont inférieures à 4 A m^{-2} . Une opération de ces différentes MESs en continu permettrait de renouveler le milieu de culture pour les microorganismes et contrôler le pH des catholytes, ce qui pourrait améliorer le développement des microorganismes et améliorer les performances globales des MESs.

2.6 Limites et perspectives

La viabilité de la réduction bioélectrochimique du CO_2 en produits à valeur ajoutée dans une MES dépend principalement du coût et l'efficacité de la technologie. Tous les différents composants de la MES (design, électrodes, membranes), les conditions opératoires et les microorganismes sont sujets à amélioration. La recherche sur la MES est actuellement plus focalisée sur l'amélioration de la sélectivité de la réaction, du rendement faradique et de la densité de courant. Les efforts dans ce sens se concentrent sur la préparation d'inocula plus efficaces, de cathodes biocompatibles favorisant la formation de biofilms denses, conductifs et actifs et la maîtrise de l'impact des modes et conditions opératoires sur les performances de la MES. Le taux de conversion du CO_2 est en

général ignoré dans les travaux de recherche, pourtant l'objectif principal est sa réduction. La recherche devrait inclure en plus de l'efficacité de la conversion du CO_2 , son taux de conversion.

Pour l'inoculation des MESs, les inocula à population pure ou mixte sont étudiés. Les inocula à population pure sont en général plus sélective mais nécessitent une préparation laborieuse et résistent moins aux changements de conditions opératoires. En revanche, ceux à population mixte sont plus résistantes mais peuvent être moins sélectifs en raison de l'activité de certains microorganismes indésirables [104]. Les alternatives consistent à enrichir préalablement l'inoculum, utiliser des produits chimiques [184] ou des traitements thermiques [185] pour éliminer l'activité des microorganismes indésirables ou procéder à la bioaugmentation [36] avec des microorganismes dont leurs fonctions métaboliques sont désirables.

Quant aux conditions opératoires, les températures moyennes (30-40), les valeurs pH non extrêmes, le potentiel cathodique moins négatif semblent plus raisonnables pour la survie et l'activité de la plupart des microorganismes. Les valeurs de pH légèrement acides sont considérées favorables à la formation des alcools alors que les conditions de pH proches de la neutralité sont propices à la production des AGVs [9]. Les potentiels cathodiques inférieurs à -1 V vs Ag/AgCl sont parfois considérés défavorables au développement de biofilms efficaces [101], [186]. La réponse microbienne à ces différentes conditions opératoires peut cependant varier en fonction de l'inoculum.

Les densités de courant les plus élevées obtenues dans les MESs sont encore évaluées à quelques dizaines de mA cm^{-2} [32], [180]. Pour améliorer la densité de courant ainsi que l'efficacité de la réduction bioélectrochimique du CO_2 une importance particulière est portée au développement de matériaux cathodiques stables et biocompatibles permettant le développement de biofilm dense et conducteur et ou catalysant la formation d'intermédiaires réactionnels utilisés comme donneurs d'électrons pour des microorganismes planctoniques. Les matériaux conducteurs à grande surface spécifique tels que les matériaux 3D poreux et les nanoparticules se sont illustrés de meilleurs candidats à cet effet [102], [180], [187], [188]. Les recherches sont plus orientées sur les modifications de leurs surfaces par des nanoparticules de polymères conductifs, de métaux et alliages ou d'oxydes métalliques [189], [190]. Dans la plupart des cas ces modifications conduisent à l'amélioration de la conductivité des biocathodes ainsi qu'au développement de biofilm plus actif. L'utilisation des électrodes à base des oxydes métalliques MnFe_2O_4 [154] et Co_3O_4 [26] dans des

MESs a conduit à l'amélioration de la production d'acétate en induisant l'enrichissement d'espèces acétogènes dans les biofilms formés. Par ailleurs, d'autres résultats avec les électrodes à base des oxydes CuFe_2O_4 [27] et NiFe_2O_4 [28] montrent une amélioration de la production d'isobutyrate et de butyrate, respectivement. Bien vrai que les conditions d'opération et les inocula utilisés ne sont pas identiques, en raison de la nature mixte des inocula utilisés l'enrichissement des différents microorganismes au sein des biofilms pourrait dépendre de la nature et propriétés surfaciques matériaux cathodiques. Une meilleure compréhension sur l'impact des matériaux cathodiques sur la formation et l'activité métabolique microbienne pourrait contribuer à améliorer la sélectivité de la réduction bioélectrochimique du CO_2 . Étant donné que les microorganismes sont présents dans la MES sous forme planctonique ou en biofilm, une solution objective pour maximiser la réduction bioélectrochimique du CO_2 serait de développer un matériau cathodique facilitant la formation de biofilm conducteur et actif et également la formation d'intermédiaires réactionnels utilisables comme donneurs d'électrons par les microorganismes planctoniques.

Dans l'optique de favoriser la production des AGVs à valeurs ajoutée plus élevée notamment les acides gras chaîne carbonée plus longue comme le butyrate, valérate et caproate, une cathode catalysant la formation de méthanol ou d'éthanol serait utile étant donné que ces composés sont des donneurs d'électrons dont se servent des microorganismes pour la chaîne élongation des AGVs. Les matériaux à base de Cu semblent démontrer plus de performances catalytiques pour la formation de méthanol et d'éthanol [166], [170], [191].

CHAPITRE 3 OBJECTIFS, METHODOLOGIE ET ORGANISATION DE LA THÈSE

Ce chapitre décline les objectifs de la thèse ainsi que la méthodologie adoptée pour les atteindre. Il présente également l'hypothèse de recherche et l'originalité de la thèse.

3.1 Hypothèse de recherche

Le développement de couche d'oxyde bimétallique non noble sur des supports de carbone améliore la réduction du CO₂ par synergie des processus électrocatalytique et bioélectrocatalytique dans une cellule d'électrosynthèse microbienne.

3.2 Originalité et impacts du sujet

L'originalité de cette thèse réside sur l'étude de l'effet des oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction bioélectrochimique du CO₂ par des microorganismes dans une cellule d'électrosynthèse microbienne. L'impact des oxydes bimétalliques non nobles sur l'activité métabolique des microorganismes méthanogènes, acétogènes et élongateurs de chaîne carbonée dans une culture microbienne à population mixte sera démontré pour la première fois.

Par ce projet de recherche, les performances électrocatalytiques des oxydes bimétalliques non nobles seront évaluées en milieu aqueux non agressif. Il est attendu également mettre en évidence l'impact de ces matériaux sur la réduction biochimique du CO₂ par des microorganismes mixtes ainsi que sur les propriétés de biofilm. Ce travail contribuera de plus à l'étude du rôle des matériaux cathodiques inorganiques particulièrement les oxydes bimétalliques non nobles sur la bioélectroconversion du CO₂. Il permettra de faire une comparaison entre la réduction électrochimique et bioélectrochimique du CO₂ sur des oxydes bimétalliques non nobles.

3.3 Objectifs de la thèse

Ce travail vise à réduire le CO₂ par la méthode bioélectrochimique en privilégiant les deux voies de transfert d'électrons entre cathode et microorganismes notamment la voie directe et la voie indirect pour laquelle des produits intermédiaires servent de vecteurs pour le transfert d'électrons aux microorganismes. Les oxydes bimétalliques non nobles par leur propriétés électrocatalytiques et leurs grandes surfaces spécifiques peuvent contribuer à réduire le CO₂ en tant que matériaux cathodiques. Les propriétés électrocatalytiques des oxydes bimétalliques non nobles seront

évaluées ainsi que leur impact sur les activités métaboliques des microorganismes convertissant le CO_2 . Ce qui permettra d'identifier une cathode pouvant servir de catalyseur électrochimique et de support biocompatible aux microorganismes pour une formation de biofilm conducteur efficace. La figure 3.1 ci-dessous schématise l'approche à adopter pour atteindre l'objectif général.

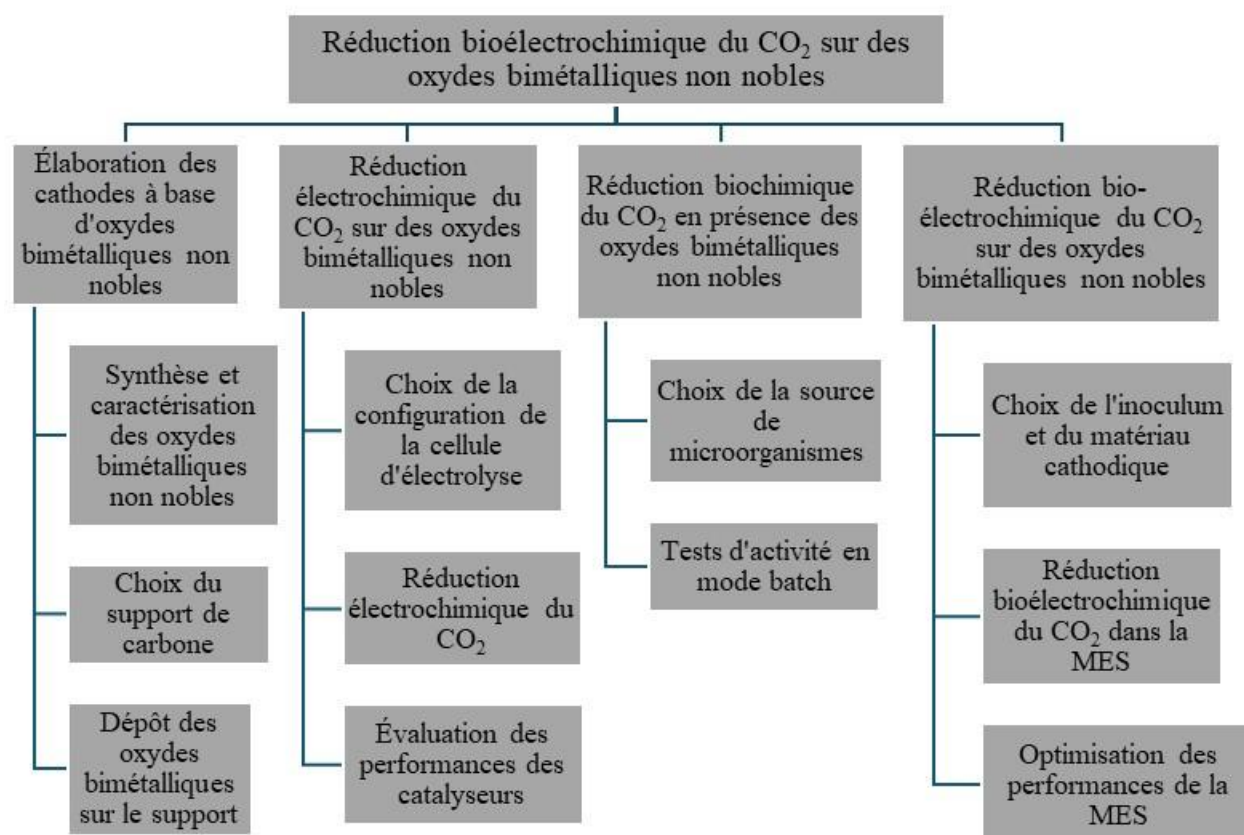


Figure 3.1 Représentation schématique des objectifs de la thèse.

3.3.1 Objectif général

L'objectif général de ce projet consiste à réduire le CO_2 dans une cellule d'électrosynthèse microbienne dont la cathode est à base d'oxyde bimétallique non noble. L'atteinte de cet objectif passe nécessairement par la réalisation d'un certain nombre d'objectifs spécifiques.

3.3.2 Objectifs spécifiques

Objectif spécifique 1 : Préparer des électrodes cathodiques à base d'oxydes bimétalliques non nobles sur un support de carbone

Objectif spécifique 2 : Évaluer la réduction électrochimique du CO_2 sur les cathodes à base des oxydes bimétalliques non nobles.

Objectif spécifique 3 : Étudier l'effet des oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction biochimique du CO_2 par une culture mixte à l'aide de tests en mode batch et identifier les oxydes bimétalliques non nobles ayant un effet positif sur l'activité métabolique du CO_2 des microorganismes.

Objectif spécifique 4 : Évaluer la réduction bioélectrochimique du CO_2 sur une cathode à base d'oxyde bimétallique non noble prometteur pour la catalyse électrochimique du CO_2 et ayant un effet positif sur la réduction biochimique.

3.4 Méthodologie

Ce travail vise à réduire le CO_2 par la méthode bioélectrochimique dans une MES en utilisant des cathodes à base d'oxydes bimétalliques non nobles. Cet objectif a été scindé en objectifs spécifiques à atteindre. Pour se faire une méthodologie est adoptée et répartie en tâches à réaliser.

3.4.1 Méthodologie liée à l'objectif spécifique 1

Pour élaborer les électrodes, la démarche est de préparer et caractériser les oxydes bimétalliques non nobles puis choisir le support de carbone et procéder au dépôt des oxydes bimétalliques non nobles.

3.4.1.1 Synthèse et caractérisation des oxydes bimétalliques non nobles

Plusieurs techniques sont utilisées pour la préparation des oxydes métalliques dont la méthode par électrodéposition, sol gel et hydrothermal. L'électrodéposition permet le dépôt de couche d'oxyde métallique sur des supports, cependant cette méthode est inadaptée pour des oxydes bimétalliques du fait de la difficulté de contrôler la composition métallique et la taille des particules. La méthode hydrothermale quant à elle est énergivore par rapport à la méthode sol gel du fait de la température élevée de synthèse. La méthode sol gel à l'avantage d'être réalisée à température basse, de produire un bon rendement et également de contrôler la taille des particules et la structure des oxydes par la concentration des précurseurs métalliques et par la température de cuisson [192]. Les oxydes bimétalliques dans ce présent travail sont synthétisés par la méthode sol gel en trois principales étapes successives à savoir la formation du gel, le séchage du gel obtenu et la cuisson du produit séché. L'acide citrique est utilisé comme agent complexant dont le rôle est de faciliter la formation

d'un gel homogène. Une série d'oxydes bimétalliques composée de métaux non nobles Fe, Cu, Sn, Co et Mn est synthétisée suivant trois rapports molaires (1/2, 1/1 et 2/1). Étant donné que Cu favorise la formation de liaison C-C [193], il est couplé avec Sn, Fe et Mn dans le but de favoriser la réduction CO_2 en composés polycarbonés. D'autres combinaisons Fe-Sn et Co-Mn sont faites pour éviter Cu qui pourrait présenter des propriétés antimicrobiennes [194].

Les oxydes bimétalliques non nobles préparés sont caractérisés par la diffraction des rayons X (DRX) pour déterminer les phases cristallines formés et par microscopie électronique à balayage couplé à la spectroscopie des rayons X à énergie dispersive (MEB-EDS) pour déterminer la composition chimique élémentaire des différents métaux contenus dans les oxydes bimétalliques.

3.4.1.2 Choix du support en carbone

Le choix du support repose principalement sur son accessibilité, sa stabilité chimique, sa conductivité électrique, sa surface spécifique, sa porosité, sa flexibilité à la modification surfacique et sa biocompatibilité. Les matériaux carbonés bi et tridimensionnels sont les plus utilisés puisqu'ils répondent mieux à ces caractéristiques. Le feutre de carbone est particulièrement intéressant en raison de sa flexibilité, porosité, adhésion bactérienne et sa facilité à la modification [18]. Il est par conséquent utilisé comme support pour le dépôt des oxydes bimétalliques non nobles.

3.4.1.3 Dépôt des oxydes bimétalliques non nobles sur le support

Le feutre de carbone est un support poreux. Un dépôt uniforme de couche d'oxyde bimétallique non noble sur ce support sans obstruer sa porosité nécessite une technique adaptée. Une solution semi-pâteuse de poudre d'oxyde bimétallique non noble a été préparée et déposée sur le feutre de carbone par absorption dans un moule convenable. Une solution de nafion 5% (pourcentage massique) a servi de liant.

3.4.2 Méthodologie liée à l'objectif spécifique 2

Les électrodes de travail à base des oxydes bimétalliques non nobles élaborées sont utilisées dans un dispositif expérimental à trois électrodes pour la réduction électrochimique du CO_2 . Il convient tout d'abord de choisir une cellule électrolytique puis réaliser l'électrolyse du CO_2 dans différentes conditions opératoires et évaluer l'efficacité de la réduction électrochimique.

3.4.2.1 Choix de la configuration de la cellule électrolytique

Des cellules électrochimiques de configuration identique sont utilisées pour la réduction électrochimique et bioélectrochimique. La réduction bioélectrochimique nécessite une séparation du compartiment cathodique contenant les microorganismes anaérobiques du compartiment anodique où l'oxygène est libéré. Cette séparation minimise également des risques d'explosion du fait de la présence simultanée de l'oxygène et de l'hydrogène qui peut être produit sur le matériau cathodique. Les cellules à deux chambres séparées par une membrane sont de ce fait adaptées pour la réduction du CO_2 . La configuration de type H et celle autoassemblée sont principalement utilisées pour ces types d'expérience. La distance élevée entre les électrodes augmente la résistance interne de la cellule de type H. Ce qui constitue le principal inconvénient de la configuration de type H [102]. Dans ce présent travail, des cellules autoassemblées sont utilisées pour la réduction électrochimique et bioélectrochimique.

3.4.2.2 Réduction électrochimique du CO_2

La cellule électrolytique autoassemblée est utilisée pour la réduction du CO_2 sur les cathodes élaborées. Un dispositif à trois électrodes est utilisé pour une réduction en mode galvanostatique permettant d'évaluer facilement l'efficacité faradique de la réaction. Les différentes électrodes sont soumises à un test de stabilité afin d'identifier les plus stables et actifs pour d'éventuelles expériences sous différentes valeurs de densité de courant. Les électrodes identifiées sont par la suite utilisées pour la réduction électrochimique du CO_2 sous différentes valeurs de densité de courant afin de déterminer la sélectivité de la réaction de réduction du CO_2 sous diverses conditions de courant. Le catholyte et l'anolyte sont respectivement des solutions de bicarbonate de sodium (NaHCO_3 , 0,5M) et de tampon phosphate (0,5M). Le CO_2 est flushé à débit constant de 1L par jour et le pH du catholyte est contrôlé à 6,5. La contre électrode est une grille de titane supportant par les oxydes d'iridium et de ruthénium (IrO_2 - RuO_2) et l'électrode de référence est une électrode de chlorure d'argent (Ag/AgCl , KCl 1M). Lors des expériences électrolytiques, les produits de réduction gazeux et liquide sont analysés périodiquement par des méthodes chromatographiques gazeuses.

3.4.2.3 Évaluation des performances des catalyseurs

Les performances des matériaux cathodiques sont évaluées selon la nature des produits de réaction et le rendement faradique. Le rendement coulombique de la conversion du CO₂ est évalué à partir de l'équation 3.1.

$$CE (\%) = \frac{F \sum_j (\chi_j n_j)}{\int_t^{t+1} Idt} \cdot 100 \quad 3.1$$

Avec χ_j le nombre de moles de l'espèce j produit, n_j le nombre d'électrons requis pour la formation de l'espèce j , F la constante de Faraday (96485 C/mole), I le courant dans le circuit (A) et t le temps de réaction (s).

3.4.3 Méthodologie liée à l'objectif spécifique 3

Parallèlement à l'évaluation des propriétés electrocatalytiques des oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction du CO₂ en milieu abiotique, il convient d'étudier leurs impacts sur la réduction biochimique et préparer une culture efficace pour la réduction bioélectrochimique.

3.4.3.1 Choix de la source de microorganismes

La réduction microbienne du CO₂ s'opère par plusieurs populations microbiennes dont les méthanogènes, les acétogènes et les solvantogènes. Une source de populations microbiennes mixtes disponible est idéale pour non seulement évaluer l'effet des oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction biochimique du CO₂ mais aussi préparer une culture mixte efficace pour la réduction bioélectrochimique du CO₂ en produits spécifiques. Une boue anaérobie d'un réacteur traitant de déchets agricole est donc choisie comme source de populations microbiennes mixtes.

3.4.3.2 Tests d'activité en mode batch

Les tests en bouteilles sont un moyen plus simple et rapide pour vérifier la biocompatibilité des oxydes bimétalliques vis-à-vis des microorganismes. Au regard du nombre élevé des oxydes bimétalliques non nobles, l'approche consiste à tester les oxydes bimétalliques non nobles équimolaires afin d'éliminer certains types d'oxydes bimétalliques. Cette première série de tests avec la boue anaérobie a pour but d'évaluer l'effet général des cinq types d'oxydes bimétalliques non nobles sur les microorganismes méthanogènes et acétogènes et de réduire le nombre à utiliser pour la réduction électrochimique du CO₂. La boue anaérobie est utilisée dans des bouteilles

sérologiques et H_2 et CO_2 sont barbotés comme source d'électrons et de carbone pour les microorganismes présents dans la boue anaérobie. Pour ce premier test un tampon phosphate (pH 7,5) est utilisé comme milieu microbien et la poudre des oxydes bimétalliques non nobles équimolaires y est ajoutée à 2,5 g/L. Des bouteilles sans oxyde bimétallique non noble servent de contrôle négatif. Les méthodes chromatographiques sont utilisées pour analyser périodiquement les produits de réaction gazeux et liquides. Les activités des méthanogènes sont évaluées par la production périodique de méthane et celles des acétogènes sont évaluées en mesurant les concentrations finales des AGVs en fin de tests. À des résultats de ce premier test, un autre test est réalisé avec l'acétate source de carbone et d'électrons pour évaluer l'effet des oxydes bimétalliques non nobles sur l'activité des méthanogènes acétoclastes qui dégradent l'acétate pour produire du méthane. Ce deuxième test est réalisé dans les mêmes conditions que précédemment en remplaçant le mélange de H_2/CO_2 par N_2/CO_2 . Les activités des méthanogènes acétoclastes sont évaluées à partir de la production périodique de méthane. La boue anaérobie étant fortement méthanogène un troisième visant à évaluer spécifiquement l'effet des oxydes bimétalliques sur les acétogènes est réalisé en inhibant les activités des méthanogènes par d'acide 2-bromoéthanesulfonique. Les activités des acétogènes sont alors évaluées à partir de la consommation périodique de CO_2 et les concentrations finales des AGVs produits. Les trois premiers tests avec les oxydes bimétalliques non nobles équimolaires permettent d'évaluer les 5 combinaisons d'oxydes bimétalliques et choisir les plus promettant pour des expériences électrocatalytiques. Ils permettent également d'évaluer la boue anaérobie afin de trouver une culture permettant de réduire efficacement le CO_2 .

Le dernier test en bouteilles est réalisé en utilisant les oxydes bimétalliques non nobles promettant après la réduction électrochimique du CO_2 . Il vise à préparer une culture mixte acétogène et évaluer l'effet des oxydes bimétalliques non nobles sur les activités des acétogènes au sein de cette culture. La première partie de ce test consiste à préparer la culture mixte acétogène. La boue anaérobie est traitée thermiquement afin d'éliminer les méthanogènes et mélangé à équivolume avec le liquide d'un autre réacteur fermentant les déchets organiques alimentaires riches en microorganismes acétogènes. Pour enrichir le mélange obtenu en microorganismes acétogènes, il est alors maintenant dans une bouteille sérologique sous pression de mélange de H_2/CO_2 . Un milieu de culture spécifique composé sel minéraux, d'éléments trace et de vitamines est utilisé à la place de la solution de phosphate précédente. Le mélange gazeux est remplacé périodiquement et le liquide est transféré périodiquement dans un milieu de culture frais pour assurer la croissance microbienne.

La culture mixte acétogène obtenue est enfin utilisée comme inoculum pour le test en bouteille en présence de pièces des électrodes préparées avec les oxydes bimétalliques promettants. Le mélange de H_2/CO_2 est encore utilisé comme source d'électrons et de carbone pour les microorganismes. La consommation du mélange gazeux est suivie périodiquement et les concentrations des AGVs mesurées en fin de test. Les résultats de ce test permettent d'identifier l'électrode promettante pour la réduction bioélectrochimique du CO_2 dans la MES. Durant tous ces différents tests, les bouteilles sont placés dans un incubateur sous agitation.

3.4.4 Méthodologie liée à l'objectif spécifique 4

Après avoir évalué l'effet des différents oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction microbienne du CO_2 et évalué leurs propriétés catalytiques, il est question de réduire le CO_2 par la méthode bioélectrochimique en combinant propriétés des oxydes bimétalliques non nobles et celles métaboliques des microorganismes de la culture mixte acétogène préparée.

3.4.4.1 Choix de l'inoculum et du matériau cathodique

Les tests en bouteilles conduisent finalement à la préparation de culture mixte acétogène qui sert d'inoculum pour la MES. Également, sur la base de ces tests et les expériences électrocatalytiques l'oxyde bimétallique non noble impactant positivement la réduction microbienne et démontrant de performances électrocatalytiques pour la réduction électrochimique est choisi comme matériau cathodique pour la MES.

3.4.4.2 Réduction bioélectrochimique du CO_2 dans la MES

L'électrode promettante est utilisée comme cathode dans la MES pour une opération selon un dispositif à deux électrodes. Une électrode de feutre de carbone est également comme cathode pour une autre opération servant de contrôle négatif. La MES est opérée en mode continu afin de contrôler le pH du compartiment cathodique et apporter des nutriments nécessaires aux microorganismes. Ce mode d'opération permet également la recirculation du catholyte et une amélioration de la dissolution du CO_2 et du transfert de masse. Le pH et la température du catholyte sont fixés dans les conditions modérées pour permettre une bonne croissance et activité des populations microbiennes de l'inoculum. La stratégie adoptée de débiter l'opération de chaque MES par une phase d'acclimatation durant laquelle le mélange de H_2/CO_2 est apporté au catholyte sans courant imposé. Après cette phase d'acclimatation des microorganismes, le courant est imposé

et le CO₂ apporté. La densité de courant et le débit de CO₂ sont augmentés de façon progressive pour non seulement ajuster ces paramètres à la croissance progressives des microorganismes mais aussi évaluer l'efficacité de la conversion du CO₂ apporté en fonction de la densité de courant. Cette approche a également pour but de déterminer les limites d'opération de la MES. Les gaz sortant du compartiment cathodique et les produits de réduction liquides (alcools et AGVs) sont analysés périodiquement par les méthodes chromatographiques. Afin d'évaluer le taux de conversion du CO₂, le CO₂ dissout est également analysé périodiquement et le débit de gaz sortant au compartiment cathodiquement mesuré par un compteur de gaz.

Les analyses périodiques des produits de réaction permettent d'évaluer périodiquement le rendement faradique de la MES. En plus du rendement faradique, la production de chaque produit de réaction est évaluée en grammes par unité de volume de catholyte et par unité de temps (g (Lc j)⁻¹). Le suivi de la concentration de CO₂ dissous et du CO₂ sortant du compartiment cathodique permet également de calculer le taux de conversion et la consommation de CO₂. Les méthodes voltamétriques et impédancemétrique sont utilisées pour déterminer l'évolution des propriétés électrochimiques des cathodes au cours de l'opération de chaque MES. Le courant mesuré par la caractérisation voltamétrique et la résistance de transfert de charge déterminée à partir des résultats de caractérisation impédancemétrique permettent d'évaluer la biocathode formée. Les analyses de la population microbienne de l'inoculum, du catholyte ainsi que du biofilm développé sur la cathode ont pour objectif d'étudier l'impact des matériaux d'électrode sur les microorganismes et comprendre les implications de la composition microbienne à la réduction du CO₂ en produits à valeur ajoutée. Le séquençage du gène de l'ARNr 16S et la PCR numérique en gouttelettes (ddPCR) sont utilisées pour l'analyse de la communauté microbienne.

3.4.4.3 Optimisation des performances de la MES

L'inoculum utilisé est pour la réduction bioélectrochimique dans la MES est un enrichissement acétogène à population mixte. Pour améliorer la sélectivité de la réduction du CO₂ vers des produits de réaction à valeur ajoutée, cet inoculum initial est amélioré par l'ajout d'espèce microbienne pure. L'apport de nutriments aux microorganismes est donc adapté en tenant compte des conditions optimales de prolifération de l'espèce microbienne ajoutée afin de favoriser le développement d'un consortium efficace. Cette bioaugmentation vise en plus d'améliorer la sélectivité, d'augmenter la conversion du CO₂. Dans ce sens, le débit de CO₂ et le courant imposé à la MES sont également

augmentés. Les performances de la MES sont également évaluées à partir du taux de consommation de CO_2 , du rendement faradique, de la production des produits de réduction, des résultats de caractérisation voltamétrique et impédancemétrique et de l'analyse de la composition microbienne dans le catholyte et le biofilm.

CHAPITRE 4 TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

Différentes techniques de caractérisation et d'analyse sont utilisées pour caractériser les matériaux utilisés, analyser les produits de réaction et analyser la composition des populations microbiennes. Ce chapitre décrit leurs principes de fonctionnement, leurs modes opératoires et les informations qu'elles peuvent fournir.

4.1 Caractérisation structurale et de la composition chimique des oxydes bimétalliques non nobles

4.1.1 Diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X (DRX) est une technique de caractérisation des matériaux cristallins réalisée par un diffractomètre. Elle offre de nombreuses applications dont l'identification et la quantification de phases cristallines, la détermination de la taille des cristaux, des paramètres de réseaux cristallins et des contraintes/déformations résiduelles [195] [196]. Cette technique est basée sur l'interférence constructive des rayons X monochromatiques et la structure cristalline d'un échantillon. Les rayons X sont générés par un tube cathodique, filtrés par un monochromateur, collimatés et orientés sur l'échantillon (Figure 4.1).

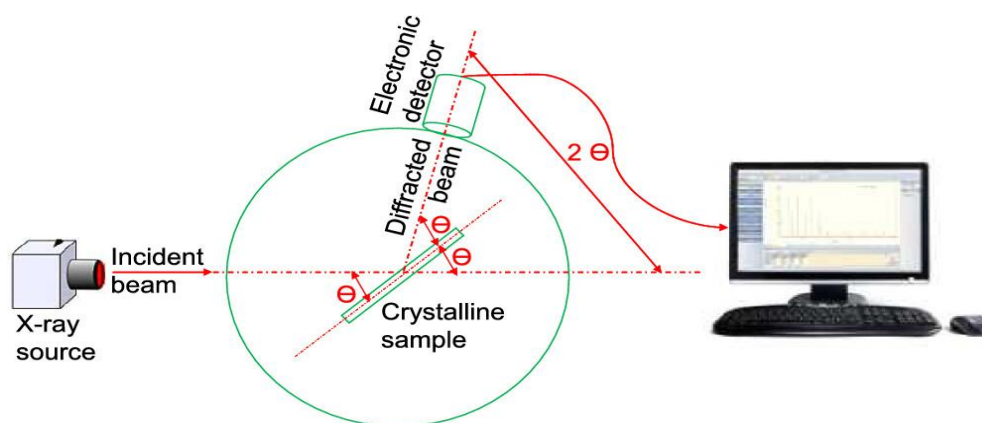


Figure 4.1 Représentation schématique d'un diffractomètre et son fonctionnement [197].

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad 4.1$$

Le paramètre n est l'ordre de réflexion, λ est la longueur d'onde des rayons X, d est l'espacement interplanare, et θ est l'angle de diffraction.

Les interférences constructives entre les rayons incidents et l'échantillon sont celles qui satisfont à la loi de Bragg (Équation 4.1) [197]. Dépendamment des différentes familles de plans réticulaires (hkl) au sein de l'échantillon, les rayons X sont diffractés selon un angle θ sur le détecteur (Figure 4.1). L'analyse de ces résultats permet de générer un diffractogramme (Figure 4.2) présentant des pics dont les positions, les formes et les intensités renseignent sur l'échantillon. Les positions de réflexion déterminent les phases cristallines de l'échantillon alors que les intensités et formes de pics renseignent sur les tailles des cristaux et des microdéformations [198]. Les diffractogrammes sont des empreintes des phases cristallines permettant de les identifier en comparant les positions et intensités relatives des pics constitutifs à celles des diffractogrammes compilés dans des bases de données [195]. La figure 4.2 par exemple présente un diffractogramme illustratif correspondant à la phase cubique de l'oxyde bimétallique NiCo_2O_4 identifiée à partir de la base de données JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards).

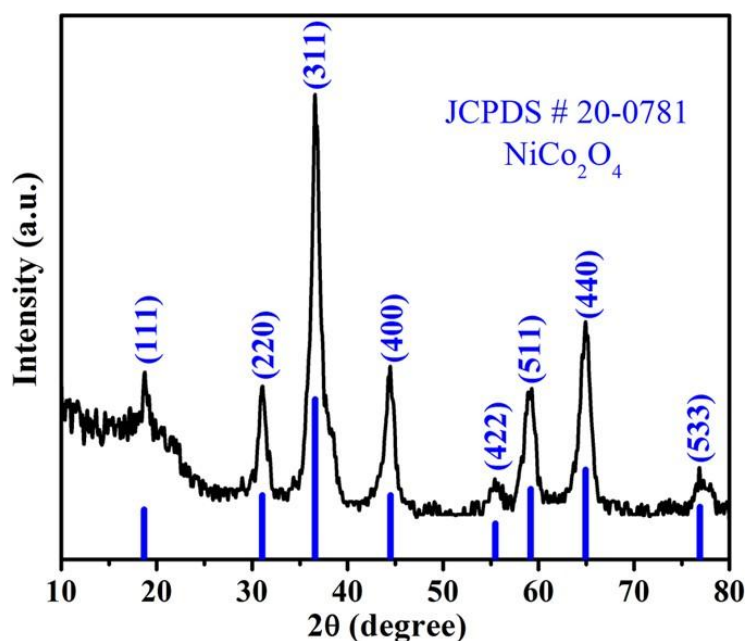


Figure 4.2 Le diffractogramme de la phase cubique de NiCo_2O_4 [199].

Les diffractogrammes présentés dans cette thèse ont été obtenus à l'aide du diffractomètre Bruker AXS D8 Advance utilisant une anode de Cu ($K\alpha_1$) comme source de rayons X de longueur d'onde 1,54056 Å. L'appareil est muni d'un détecteur linéaire X'Celerator et les données acquises sont analysées par le logiciel EVA et utilise la base de données JCPDS pour l'identification des phases.

Les données ont été enregistrées sur une plage angulaire de 15 à 90°(2 θ), avec un pas angulaire de 0,02°.

4.1.2 Microscopie électronique à balayage (MEB)-Spectroscopie à énergie dispersive des rayons X (EDS)

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une technique de caractérisation puissante utilisée pour diverses applications dont l'étude de la morphologie de surface, la composition et la topographie de matériaux. Elle peut produire une image avec un grossissement atteignant 500.000 fois et une résolution atteignant 0,6 nm. Elle est fréquemment couplée à la spectroscopie à énergie dispersive des rayons X (EDS) pour l'analyse de la composition chimique des matériaux [200].

Le fonctionnement de la MEB repose principalement sur le balayage de la surface du matériau par un faisceau d'électrons et la détection des électrons secondaires résultant de l'interaction entre le faisceau d'électrons et le matériau. Elle est constituée principalement d'un canon électrons, d'une colonne sous vide, de lentilles pour la condensation, la focalisation et le balayage du faisceau d'électrons, de chambre à échantillon, de détecteurs de signaux et de système de traitement et de visualisation des images [201], [202]. La figure 4.3 présente les composants principaux de la MEB. Le canon à électrons produit les électrons et les accélère jusqu'à un niveau d'énergie de 0,1 à 30 keV. Le faisceau d'électrons est ensuite condensé et focalisé sur l'échantillon. Lorsque le faisceau d'électrons frappe l'échantillon, l'interaction avec les atomes de l'échantillon génère divers signaux provenant des électrons secondaires, des électrons rétrodiffusés, des rayons X, des photons ou électrons transmis [200]. Le détecteur d'électrons secondaires détecte les électrons à faible énergie (<50 eV) produits par le matériau et sont traités pour constituer une image de surface de l'échantillon. Toutes les MEBs disposent d'ailleurs de détecteur d'électrons secondaires. Les électrons rétrodiffusés sont formés lors de la diffusion élastique, et leurs énergies sont proches de celles des électrons incidents et peuvent provenir d'une profondeur de 1 à 2 μ m. L'image constituée à partir des électrons rétrodiffusés permet une vue en profondeur de l'échantillon [200]. La présence d'un détecteur à énergie dispersive de rayons X permet d'analyser la composition chimique élémentaire de l'échantillon [202]. Les échantillons doivent cependant être non volatiles et conducteurs électriques, les échantillons non conducteurs comme certains polymères nécessitent un renforcement de conductivité par un revêtement avec des métaux tels que l'or [200], [203].

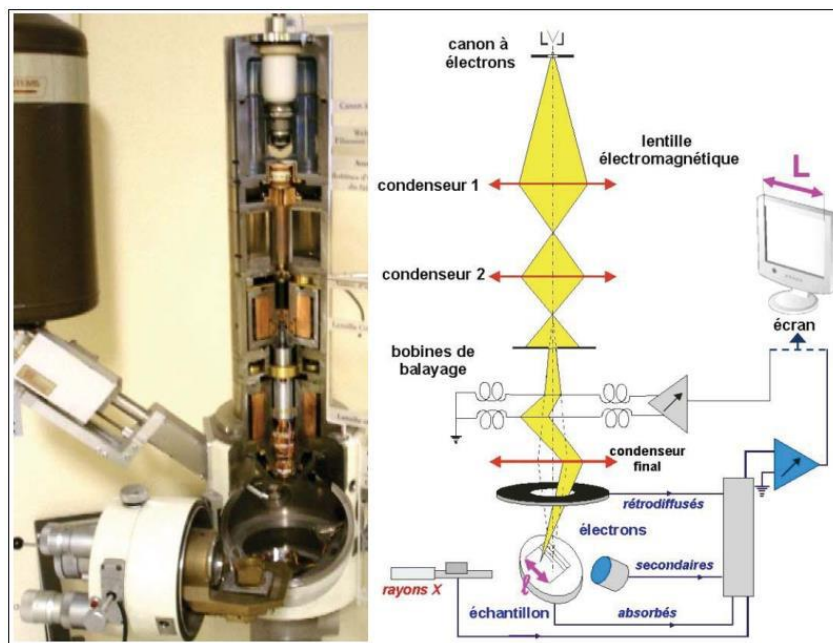


Figure 4.3 Schéma de principe du MEB et coupe d'une colonne Jeol 35CF [204].

Les échantillons d'oxydes bimétalliques non nobles ont été visualisés et leur composition chimique analysés par une MEB couplé à un détecteur à énergie dispersive de rayons X.

4.2 Caractérisation électrochimique des électrodes

Les techniques électrochimiques telles que la voltamétrie et la spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) sont fréquemment utilisées pour analyser le comportement électrochimique des électrodes en milieu abiotique comme biotique. Les mesures sont en général réalisées dans une cellule à trois électrodes par un potentiostat (Figure 4.3). Une analyse complémentaire des résultats de ces différentes mesures électrochimiques permet une meilleure compréhension des propriétés électrochimiques des électrodes ainsi que des électrolytes.

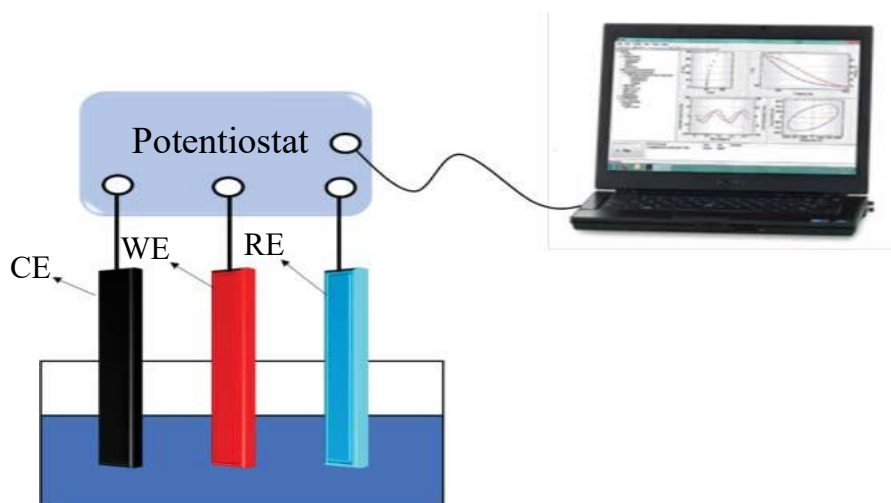


Figure 4.4 Assemblage du système à trois électrodes: WE, CE et RE [205].

4.2.1 Mesures voltamétriques

Les voltamétries cyclique (CV) et linéaire (LV) sont des techniques électrochimiques fréquemment utilisées pour l'étude des réactions redox ainsi que des propriétés électrochimiques des électrodes et électrolytes. Comme mentionné précédemment, ces techniques utilisent un montage à trois électrodes notamment une électrode de travail (WE), une contre électrode (CE) et une électrode de référence (RE). Ce sont des techniques potentiodynamiques pour lesquelles le potentiel entre WE et RE est varié à vitesse constante et le courant résultant est mesuré. Pour la LV, le balayage de potentiel est unidirectionnel tandis que pour la CV, il est bidirectionnel. Le courant mesuré est une résultante de courant capacitif et faradique. Le courant capacitif est dû à l'accumulation de charge à l'interface de l'électrode alors que le courant faradique est le résultat de réaction rédox à l'interface de l'électrode (Figure 4.5).

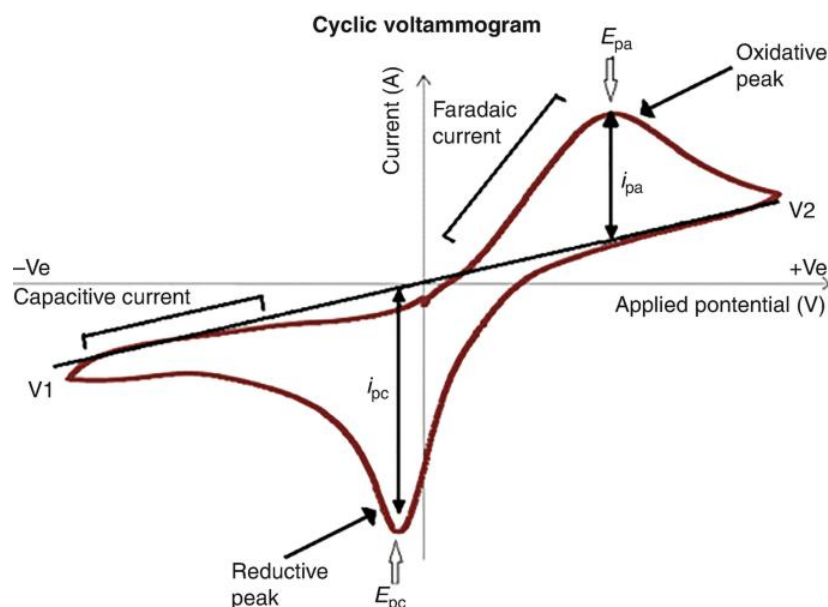


Figure 4.5 Un voltammogramme cyclique montrant la présence d'une réaction redox électrochimique caractérisée par des pics de réduction (cathodique) et d'oxydation (anodique) à E_{pc} et E_{pa} respectivement, ainsi que par les courants cathodique (i_{pc}) et anodique (i_{pa}) associés [206].

Le courant faradique dépend du potentiel standard de la réaction, des vitesses de réaction, et du transport de masse des espèces redox vers la surface de l'électrode [205]. Lorsque le balayage de potentiel est bidirectionnel (CV), le voltammogramme enregistré peut présenter plusieurs pics tant sur la partie cathodique (vers les potentiels négatifs) que sur la partie anodique (vers les potentiels positifs). Ces pics correspondent à des réactions de réduction (Équation 4.2) d'une espèce oxydante (Ox) ou d'oxydation (Équation 4.3) d'une espèce réductrice (Red). Pour une réaction réversible, les pics cathodique et anodique sont symétriques. La relation entre les espèces redox notamment l'oxydant (Ox) et le réducteur (Red) est donnée par l'équation de Nernst (Équation 4.4) [205].



$$E_T = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{Ox}]}{[\text{Red}]} \quad 4.4$$

E_T et E^0 représentent respectivement le potentiel réversible à la température T et le potentiel standard de la réaction, R la constante des gaz parfaits, F la constante de Faraday et n le nombre d'électrons.

A 25°C, le courant de crête (i_p) mesuré par voltamétrie linéaire (unidirectionnel) ou cyclique (bidirectionnel) dépend de la concentration de l'espèce réactive (C) et la vitesse de balayage (v) selon l'équation de Randles-Sevcik (équation 4.5) [205].

$$i_p = 2,69 \times 10^5 A C n^{3/2} D^{1/2} v^{1/2} \quad 4.5$$

La voltamétrie cyclique permet de déterminer le type de réaction (réversible ou irréversible), le nombre d'électrons impliqués et le nombre d'étapes de réaction en se basant des caractéristiques des voltamogrammes enregistrés. La cinétique de réaction spécifique peut être évaluée par voltamétrie linéaire à partir du courant mesuré en fonction du potentiel. Dans le cadre de la réduction électrochimique du CO_2 , ces méthodes voltamétriques sont utilisées pour déterminer l'électroactivité des électrodes et évaluer leurs propriétés catalytiques sur la réaction de réduction à partir de la présence de pics redox et de l'intensité de courant mesuré. Ces méthodes sont également utilisées pour étudier le développement de biofilm sur une électrode et évaluer son électroactivité [13] [73] lors de la réduction bioélectrochimique du CO_2 .

Dans le cadre des travaux de cette thèse, ces techniques voltamétriques sont utilisées en complémentarité avec d'autres techniques notamment la spectroscopie d'impédance électrochimique pour analyser les propriétés électrochimiques des électrodes. Les mesures ont été réalisées par un potentiostat de type CHI 760C (CH Instruments, Bee Cave, TX, USA). Une électrode de référence de chlorure d'argent (Ag/AgCl, KCl 1M) a été utilisée.

4.2.2 Mesures impédancemétriques

La spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) est une technique d'analyse électrochimique utilisée en générale pour étudier les phénomènes à l'interface électrode/électrolyte tels que la cinétique de corrosion, les réactions de surface et le dépôt électrochimique et la synthèse d'une large gamme de matériaux. Elle est utilisée dans les systèmes bioélectrochimiques pour le suivi de la formation de biofilm sur les électrodes, déterminer les caractéristiques des biofilms et étudier les mécanismes de transfert d'électrons entre matériaux d'électrode et microorganismes [207], [208], [209], [210], [211], [212].

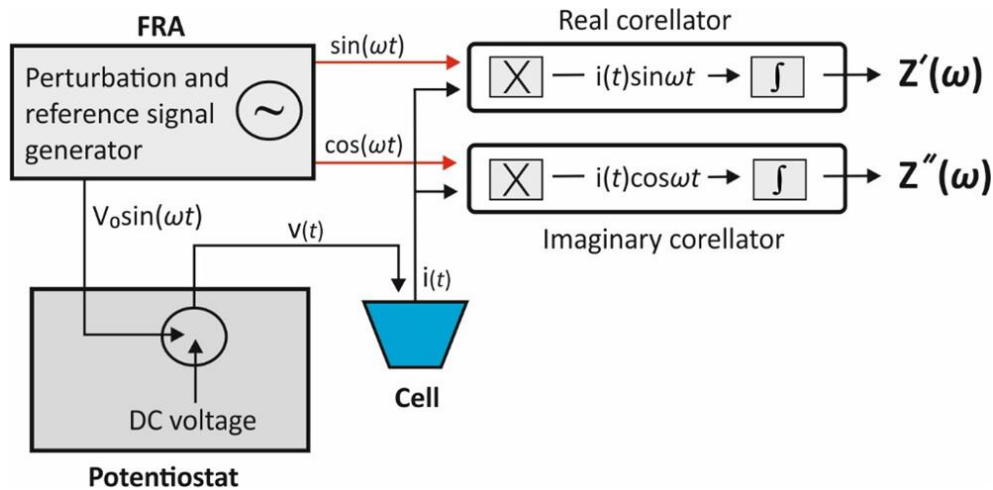


Figure 4.6 Configuration expérimentale simplifiée pour l'EIS potentiostatique et principe de fonctionnement d'un analyseur de réponse en fréquence. « X » représente les multiplicateurs et « ∫ » les intégrateurs [213].

La technique EIS repose sur l'application d'un signal électrique de faible amplitude (potentiel ou courant), ainsi que sur la mesure de la réponse résultante (courant ou potentiel) sur une large gamme de fréquences (0,01 Hz à 1MHz). Une représentation schématique du dispositif utilisé incluant un potentiostat et la cellule électrochimique est présentée par la figure 4.5. Pour un potentiel sinusoïdal appliqué E_t , son expression est une fonction du temps t selon l'équation 4.6. Les équations 4.7 et 4.8 représentent respectivement le courant I_t et l'impédance Z correspondants [214]. L'impédance Z est composée d'une composante réelle Z' et d'une composante imaginaire Z'' . Ces deux composantes réelle et imaginaire sont respectivement représentées en abscisse et en ordonnée dans un diagramme de Nyquist comme le montre la figure 4.7.

$$E_t = E_0 \sin(\omega t) \quad 4.6$$

$$I_t = I_0 \sin(\omega t + \varphi) \quad 4.7$$

$$Z = E/I = Z_0 \exp(i\varphi) = Z_0 \cos \varphi + i \sin \varphi \quad 4.8$$

Z , E , I , ω et φ sont respectivement l'impédance, le potentiel, le courant, la fréquence et le déphasage entre E et I .

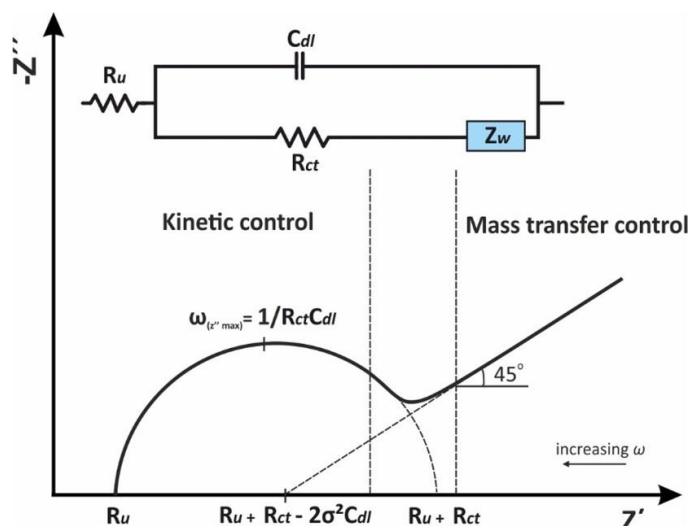


Figure 4.7 Diagramme de Nyquist et le circuit électrique équivalent de Randles [213].

Ce diagramme est généralement composé d'une partie semi-circulaire (moyenne fréquence) contrôlée des phénomènes de transfert de charge à l'interface électrode-électrolyte et une partie linéaire (basse fréquence) contrôlée par le transfert de masse du volume de solution vers la surface de l'électrode. Une exploitation du diagramme de Nyquist consiste à simuler un circuit équivalent constitué de résistance, de capacitance et ou d'inductance selon le modèle de Randles [214]. Ce circuit équivalent permet de déterminer la résistance de transfert de charge (R_{ct}), la résistance de la solution (R_u), la résistance de transfert de masse (R_w) ainsi que la capacitance de la double couche (C_{dl}) formée à l'interface de l'électrode [214].

Dans le cadre des expériences avec la MES, des mesures impédancemétriques ont été réalisées périodiquement pour évaluer l'évolution des propriétés des biocathodes au cours de la réduction bioélectrochimique du CO_2 . Ces expériences ont été menées en utilisant le postententiostat de type CHI 760C (CH Instruments, Bee Cave, TX, USA). Les diagrammes de Nyquist ainsi que les circuits équivalents correspondant ont été tracés à l'aide de ce potentiostat.

4.3 Réduction du dioxyde de carbone

La réduction électrochimique et bioélectrochimique sont réalisables à courant imposé (galvanostatique) ou à potentiel imposé (potentiostatique). Le contrôle de courant ou de potentiel peut se faire avec un dispositif à deux électrodes, une anode sur laquelle la réaction d'oxydation a lieu et une cathode sur laquelle se fait la réaction de réduction. Pour étude de catalyseur, une

électrode de référence (Ag/AgCl par exemple) est nécessaire afin de mesurer le potentiel de l'électrode de travail (Figure 4.7). Ainsi, le courant d'électrolyse passe à travers la cathode et l'anode pendant que l'électrode de référence sert de soude pour le potentiel de l'électrode de travail. Pendant l'électrolyse en mode potentiostatique, le potentiostat compare le potentiel entre les électrodes de travail et de référence avec le potentiel de contrôle souhaité et minimise cette différence en contrôlant la tension appliquée à la contre-électrode [215]. Le courant passant à travers l'électrode de travail est mesuré en fonction du temps ($I=f(t)$). En mode galvanostatique, le potentiostat régule le courant traversant la cathode et le potentiel de l'électrode de travail est mesuré en fonction du temps ($E=f(t)$).

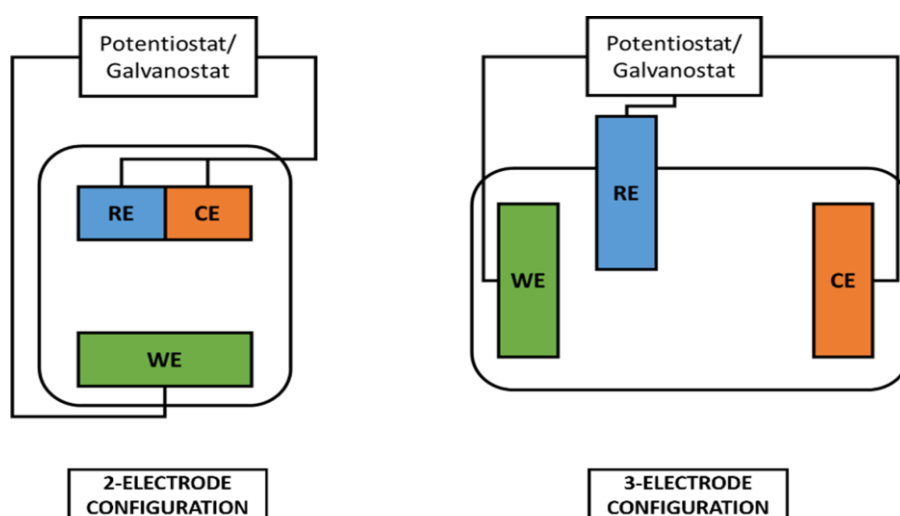


Figure 4.8 Représentation schématique des cellules électrochimiques à 2 électrodes et à 3 électrodes [216].

La réduction électrochimique du CO_2 a été menée en utilisant un dispositif à trois électrodes en mode galvanostatique. En ce qui concerne la réduction bioélectrochimique, les expériences ont été réalisées en utilisant un dispositif à deux électrodes en contrôlant également le courant. Des mesures périodiques de potentiel cathodique ont été réalisées en insérant l'électrode de référence d'argent (Ag/AgCl, KCl 1M) dans le compartiment cathodique.

4.4 Analyse des produits de réduction du dioxyde de carbone par chromatographie gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique analytique puissante qui peut être utilisée pour séparer, identifier et quantifier des composés chimiques volatils dans des mélanges complexes. Le principe de la CPG repose sur la répartition différentielle des constituants volatils d'un échantillon liquide ou gazeux entre une phase mobile gazeuse (gaz vecteur) et une phase stationnaire (liquide ou solide) dans une colonne chauffée. La séparation des composés dans la phase gazeuse se fait selon leur affinité avec la phase stationnaire et leur volatilité [217]. Les molécules présentes dans l'échantillon doivent cependant être volatiles et stables thermiquement.

Les analyses par la CPG se font par un chromatographe gazeux dont les principaux composants sont représentés dans la figure 4.9. Lorsque l'échantillon est injecté dans la colonne à partir du port d'injection, il est acheminé à travers la colonne vers le détecteur à la sortie de celle-ci. Les molécules de l'échantillon se répartissent entre la phase gazeuse et la phase stationnaire selon leur affinité avec la phase stationnaire. Dépendamment des interactions spécifiques des différentes molécules avec la phase stationnaire, elles arrivent séparément au niveau du détecteur dont le rôle est l'identification et la quantification. Le temps écoulé entre l'injection et la sortie de la colonne est appelé temps de rétention R_t , une caractéristique importante pour chaque composé [217]. La colonne constitue donc le cœur de la CPG en raison du rôle que joue la phase stationnaire dans la séparation des molécules constituant l'échantillon. À cela s'ajoutent la source et le contrôle du débit du gaz vecteur à travers la colonne, le port d'introduction des échantillons et le détecteur des molécules éluées. Les détecteurs utilisés dans les chromatographes sont de natures diverses, les plus courants sont les détecteurs de conductivité thermique et les détecteurs à ionisation de flamme [217]. Le détecteur de conductivité thermique est basé sur la variation de la conductivité du gaz vecteur selon sa composition. Le détecteur à ionisation de flamme beaucoup plus sensible et utilisé pour les composés organiques, mesure un signal électrique dû à la formation d'ions résultants de la combustion du gaz vecteur dans un mélange d'hydrogène et d'air. Cependant, l'efficacité de la CPG dépendant de plusieurs paramètres dont le type d'injecteur, la température et le volume d'injection, le type et débit de gaz vecteur, le type de colonne, son diamètre interne et sa température, et type de détecteur et sa température [217].

Selon la composition des échantillons, certains composants peuvent avoir le même temps de rétention et leurs pics apparaissent superposés sur le spectrogramme. Un couplage multidimensionnel de chromatographes sert à séparer d'avantage les pics superposés. Ce couplage se fait entre chromatographe gazeux ainsi qu'avec d'autres techniques chromatographiques notamment la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la chromatographie à fluide supercritique (SFC) et la chromatographie à couche mince (TLC) [218], [219], [220]. La CPG est souvent couplé à d'autres techniques d'analyse physico-chimiques telles que la spectrométrie de masse (SM), la spectrométrie à mobilité d'ions et la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) [220].

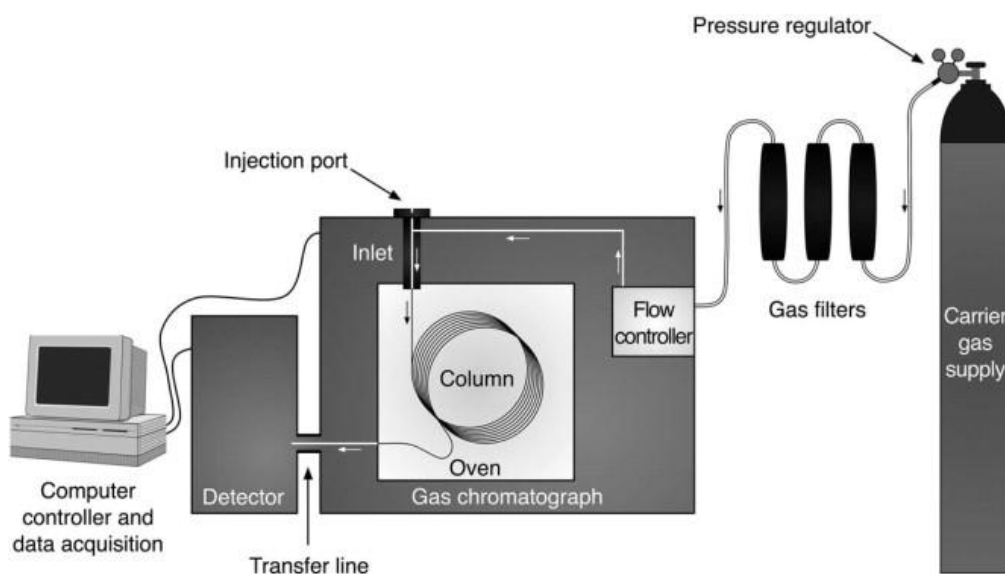


Figure 4.9 Chromatographe gazeux et ses principaux composants [221].

Dans le cadre des expériences de cette thèse, les composés gazeux (N_2 , H_2 , CO_2 , CO , CH_4), les alcools (C1-C4) et les acides gras volatils (C2-C6) ont été analysés par la chromatographie en phase gazeuse. Trois chromatographes gazeux de marque Agilent Technologies ont été utilisés pour les analyses de ces différents types de composés. Ces chromatographes disposent de colonnes en acier inoxydable ou en silice fondue et de détecteurs à ionisation de flamme ou à conductivité thermique. L'hélium et l'argon ont été utilisés comme gaz vecteur.

4.5 Caractérisation biomoléculaire des microorganismes

Pour comprendre et améliorer les résultats de réduction du CO₂ par les microorganismes, il est nécessaire d'analyser la composition microbienne de l'inoculum, des catholytes ainsi que des biocathodes des MESs. Le séquençage du gène de l'ARNr 16S et la PCR numérique à gouttelettes (ddPCR) ont été utilisés à cet effet.

4.5.1 La réaction en chaîne par polymérase numérique à gouttelettes (ddPCR)

La PCR numérique à gouttelettes est une technique de quantification très précise et ultrasensible des acides nucléiques utilisée pour diverses applications dont la détection et quantification microbienne [222], [223], [224]. Elle repose sur le partitionnement d'extrait d'ADN en plus de 20000 gouttelettes de l'ordre du nanolitre, l'amplification par PCR d'un fragment spécifique de l'ADN contenu dans chaque gouttelette, la détection par fluorescence de la séquence amplifiée et sa quantification sur la base du modèle statistique de Poisson. La figure 4.10 donne un aperçu des principales étapes de réalisation de cette technique.

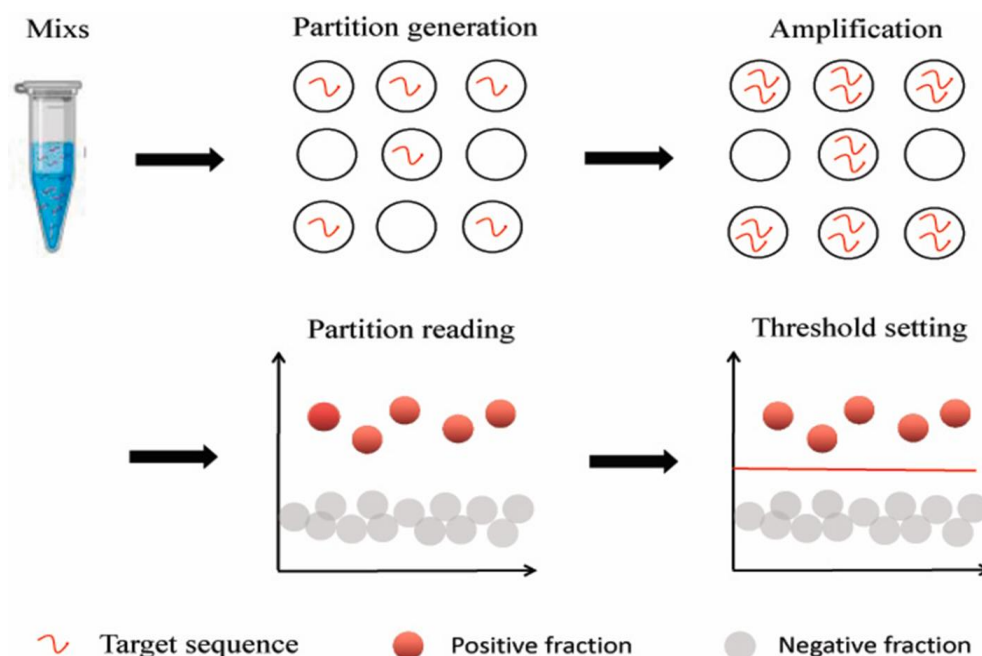


Figure 4.10 Les étapes principales de la technique ddPCR [225].

L'ADN de l'échantillon est extrait et purifié avant d'être mélangé aux réactifs de la réaction en chaîne par polymérase (PCR) dont deux amorces spécifiques. Un générateur de gouttelettes permet

de partitionner le mélange obtenu en des milliers de gouttelettes dans différents puits. Un thermocycleur permet d'amplifier par PCR un gène spécifique (par exemple l'ARNr 16S) de l'ADN contenu dans chaque gouttelette. Ce processus se fait en trois phases principales notamment la dénaturation, l'hybridation et l'extension (Figure 4.11) [226]. Après cette phase d'amplification, les échantillons sont transférés à un lecteur de gouttelettes par fluorescence des séquences amplifiées. Les gouttelettes contenant la séquence cible sont comptées positivement tandis que gouttelettes dans lesquelles la séquence est absente sont comptées négativement. Le traitement de ces résultats par des logiciels spécifiques permet de générer un spectre comme l'illustre la figure 4.12. Sur la base du modèle de poisson, les équations 4.9 et 4.10 permettent de calculer la concentration C de l'ADN [222].

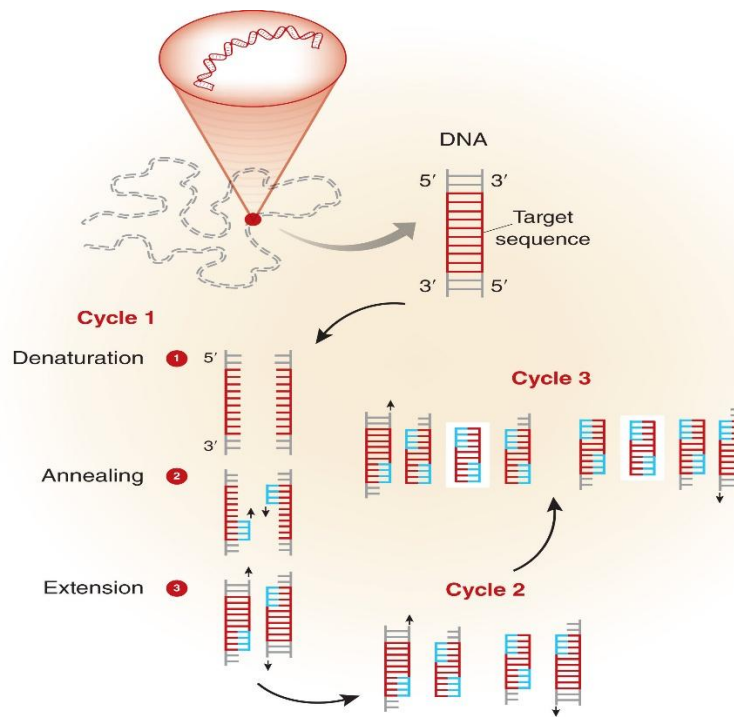


Figure 4.11 Présentation schématique du principe de la réaction en chaîne par polymérase [226].

$$C = \frac{\lambda}{V} \quad 4.9$$

λ représente le nombre moyen de copies par partition et V , le volume de réactifs PCR dans chaque gouttelette.

$$\lambda = -\ln(z/n) \quad 4.10$$

z est le nombre de gouttelettes présentant une fluorescence négative, n est le nombre total de gouttelettes.

La technique ddPCR est donc une technique de détection et de quantification d'ADN comme la technique conventionnelle PCR quantitative (qPCR) [227], [228], [229], [230]. D'ailleurs, de nombreux travaux comparant ces deux méthodes ont soutenu que la ddPCR est plus efficace que la qPCR. Dans le cadre des travaux de cette thèse, la technique ddPCR a été utilisée pour détecter et quantifier une souche pure de *Clostridium kluyveri* utilisée pour la bioaugmentation de l'inoculum de la MES. Le générateur et lecteur de gouttelettes QX200 ainsi que l'analyseur de données Qantasoft™ de BioRad Technologies ont été utilisés. Les amorces (sens : 5'-CAAGCCTGGTAGTTGATACG-3' ; antisens : 5'-TTAAAGGCCCTCTGTACTCC-3') ciblant *C. kluyveri* ont été utilisées pour l'amplification par PCR.

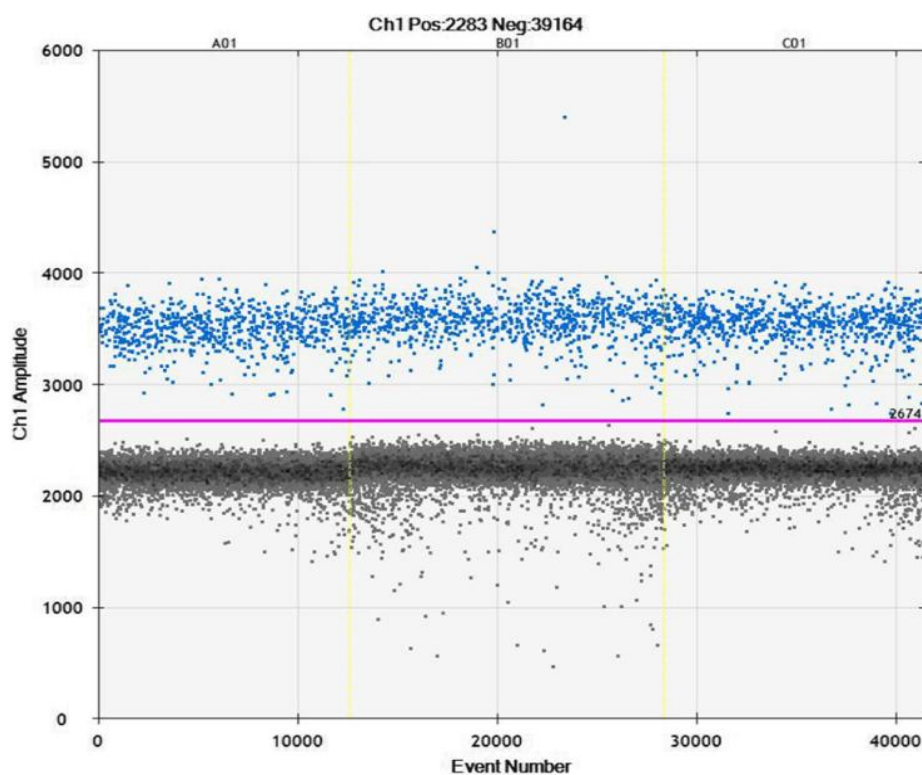


Figure 4.12 Spectre ddPCR d'un échantillon contenant le viroïde responsable de la chlorose des fruits du pommier [231].

4.5.2 Séquençage du gène de l'ARNr 16S

Le séquençage du gène de l'ARNr 16S est couramment utilisé pour l'analyse des communautés microbiennes dans des échantillons environnements. Elle permet de déterminer la composition des espèces, la diversité et la structure des communautés dans les échantillons. L'ARNr 16S est une macromolécule et sous unité ribosomale présente dans tous les microorganismes procaryotes avec dix régions (C1-C10) conservées et 9 régions variables (V1-V9), d'où son importance pour les études phylogénétiques et taxonomiques (Figure 4.10) [232]. Le principe de séquençage repose sur l'analyse de la séquence nucléotidique de cette macromolécule. Il existe trois principales méthodes de séquençage notamment les séquençages de première, deuxième et troisième génération. Le séquençage de première génération ou séquençage Sanger développé en 1977 permet un séquençage précis de fragments du gène de l'ARNr 16S, cependant il est limité par le faible débit (capacité de séquencer plusieurs fragments à la fois) et le temps de séquençage [232]. Le séquençage de deuxième génération permet un séquençage massif et à haut débit de nombreux fragments. Les technologies de deuxième génération les plus utilisées sont le pyroséquençage Roche 454, Illumina et Ion Torrent [232]. Ces technologies sont plus coûteuses et sont limitées par la courte longueur de lecture (600-800 pb). Les technologies de séquençage de troisième génération ou technologies de séquençage de longue lecture actuellement développées par Oxford Nanopore Technology (ONT) et Pacific Biosciences (PacBio) permettent une lecture intégrale du gène de l'ARNr 16S (~1 500 pb) avec un délai de traitement des échantillons plus réduit [232]. Ce qui offre une résolution taxonomique plus élevée conduisant à la classification microbienne au niveau des espèces ou des souches. La technologie de séquençage PacBio a d'ailleurs été utilisée pour le séquençage des échantillons microbiens préparés dans le cadre des expériences de cette thèse.

16s rRNA Gene Regions

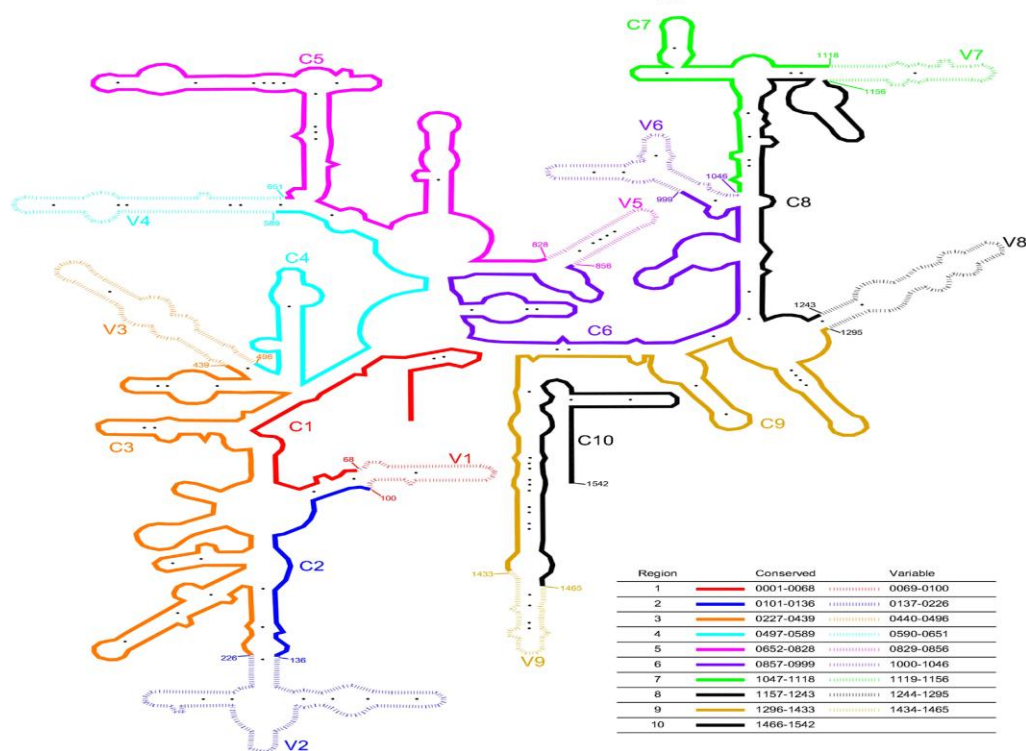


Figure 4.13 Les régions de l'acide ribonucléique ribosomal (ANRr16S) [232].

Le processus de séquençage de gène comprend plusieurs étapes successives dont l'extraction et la purification de l'ADN, l'amplification de la région 16S, le séquençage des amplicons et l'analyse bioinformatique des séquences obtenues. La précision et la fiabilité des résultats de séquençage dépendent en grande partie de l'extraction de l'ADN. Les méthodes d'extraction d'ADN sont des méthodes physiques ou chimiques. Parmi les méthodes développées, les méthodes d'extraction sur colonne de silice et sur billes de silice sont les plus couramment utilisées. Après la lyse membranaire des cellules, l'ADN libéré s'adsorbe sur la silice et des étapes de lavage et d'élution permettent d'obtenir l'ADN [233].

Après extraction de l'ADN, le gène 16S est amplifiée par la réaction en chaîne par polymérase (PCR) en utilisant des amorces spécifiques ou universelles. Pour le séquençage de Sanger, les amorces universelles telles que 27F et 1492R sont utilisées pour cibler les régions conservées du gène 16S et amplifier des fragments longs. Les amorces spécifiques (515F et 806R par exemple) sont beaucoup plus utilisées pour amplifier de régions spécifiques du gène 16S pour un séquençage haut débit de deuxième génération. Pour les technologies de troisième génération, des amorces

universelles permettant une amplification complète du gène 16S sont également choisies. D'ailleurs, cette étape d'amplification peut être omise avec les technologies de troisième génération. L'amplification du gène de l'ARNr 16S prend fin avec la purification visant à éliminer les excès de nucléotides et d'amorces et assurer la qualité du séquençage éventuel.

Les fragments du gène ARNr 16S sont utilisés pour le séquençage selon la technologie adoptée. Pour le séquençage Sanger, une PCR de terminaison de chaîne est réalisée similairement à la PCR précédente mais ajoutant des didéoxynucléotides (ddNTPs) fluorescents. Les fragments obtenus sont ensuite séparés par électrophorèse capillaire afin de déterminer l'ordre des nucléotides (A, T, C, G) [234]. Pour ce qui concerne les séquençages de deuxième et troisième génération, des bibliothèques sont constituées à partir des amplicons du gène ARNr 16S. Une fragmentation supplémentaire peut être réalisée pour les technologies de deuxième génération. Les séquences des fragments sont enregistrées sur des plateformes de deuxième génération (Illumina par exemple) par un séquençage par synthèse basée par la lecture par fluorescence de nucléotides fluorescentes ajoutée individuellement. Pour le séquençage de troisième génération, les plateformes PacBio et Oxford Nanopore font une lecture unique des fragments entiers du gène ARNr 16S constitués. Cette lecture de fragments de fait par synthèse continue (PacBio) ou par détection de changement de signal (Oxford Nanopore).

Après séquençage, les données obtenues sont analysées par des outils bioinformatiques. Les électrophorégrammes obtenus du séquençage Sanger sont analysés et les séquences correspondantes comparées avec celles existantes en utilisant des logiciels comme BLAST ayant accès à des bases de données. Les séquences des amplicons de séquençage haut débit sont analysées à l'aide de divers pipelines de bioinformatique tels que mothur, USEARCH, dada2, QIIME et QIIME2 [232] [235]. Les étapes d'analyse conduisant à la classification taxonomique des données de séquençage sont illustrées par la figure 4.11.

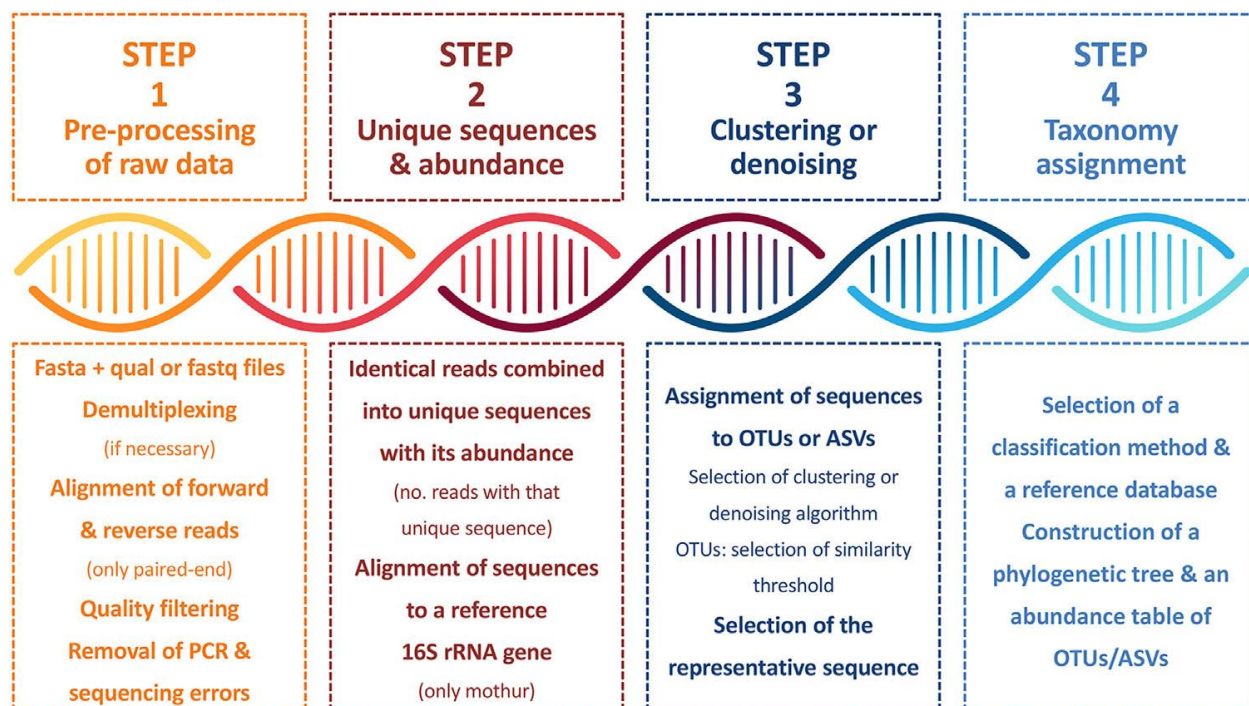


Figure 4.14 Flux de travail suivi par les pipelines bioinformatiques pour le traitement des données d'amplicons du gène de l'ARN ribosomal 16S (ARNr 16S). ASVs, variantes de séquences d'amplicons ; no., nombre ; OTUs, unités taxonomiques opérationnelles ; PCR, réaction en chaîne par polymérase [232].

CHAPITRE 5 ARTICLE 1: NON-NOBLE BIMETALLIC OXIDES AS ELECTROCATALYSTS FOR ELECTROCHEMICAL AND MICROBIAL CARBON DIOXIDE REDUCTION

Tambakassi Mihin, Boris Tartakovsky, Oumarou Savadogo

Published in: Journal of The Electrochemical Society

Submission date: March 14, 2026

Abstract

In this study, FeCuO, CoMnO, and FeSnO bimetallic oxides, were synthesized in three distinct molar ratios (1:2, 1:1, and 2:1) using sol-gel method. These oxides were subsequently evaluated for the first time as electrocatalysts for the electrochemical reduction of carbon dioxide (CO₂) under ambient conditions. Furthermore, their effects on the biochemical reduction of CO₂ were assessed through bottle tests conducted with an enriched acetogenic mixed culture. The results indicated that less than 20% of the applied current contributed to the conversion of CO₂ into methanol and tert-butanol. Notably, the hydrolysis of water to hydrogen emerged as the predominant reaction facilitated by these bimetallic oxides. Additionally, certain oxides, such as CoMnO (2:1) and FeCuO (1:2), exhibited an inhibitory effect on bacterial activity. In contrast, bimetallic oxide FeSnO (1:1) demonstrated a significant positive influence on the metabolic activity of microorganisms involved in volatile fatty acids production.

Keywords: Synthesis, non-noble bimetallic oxide, electrochemical, microbial, reduction, CO₂, mixed culture.

5.1 Introduction

The global atmospheric concentration of carbon dioxide (CO₂) is rising due to increasing industrialization driven by the growing demand for energy and consumer products from an expanding global population. Due to energy utilization based mostly on fossil fuels, between 2000 and 2024, greenhouse gas emissions increased by 34.6%, leading to a rise in atmospheric CO₂ from 25.2 to 37.41 GtCO₂ (Gigatons of CO₂) [236]. This accumulation of CO₂ presents a significant global environmental concern. Consequently, research efforts are intensifying to develop efficient and sustainable technologies for the capture and recycling of CO₂ [4], [18], [37], [237], [238], [239].

Challenges related to the reduction of CO₂ are related to its high chemical stability, which is attributed to the strong carbon-oxygen bond. Among the various methods for CO₂ conversion, electrocatalytic reduction using electrochemical cells has emerged as a promising approach [7], [240], [241]. This method utilizes electrical energy to activate the carbon-oxygen double bond, allowing the transformation of CO₂ to by-products including value-added compounds. However, the performance of electrolytic cells is hindered by several factors such as system configuration, CO₂ solubility, electrode overpotentials, reaction selectivity, the stability of device components, and the catalytic activity of cathode materials. The development of effective cathode materials is particularly critical, as the cathode is the site of the reduction reaction, and its stability and catalytic efficiency are essential for successful CO₂ reduction [240].

Various materials, including metallic and organometallic compounds, are being tested as catalysts at the cathode [242]. Monocarbon compounds are typically produced in the highest yields, while some polycarbon compounds are generated with lower Coulombic efficiency [239], [243], [244]. Despite significant advancements, challenges such as the stability of electrolytic cell components, selectivity at high current densities, and low Faradaic and energy yields persist, rendering the conversion method currently unviable. Therefore, prioritizing the search for new electrocatalysts and exploring the coupling of this method with other techniques is essential [241], [245].

Heterometallic oxides, known for their chemical stability and favorable electrochemical and electrocatalytic properties, are being investigated as promising materials for CO₂ reduction. These oxides serve as potential alternatives to graphite anodes in Li-ion batteries, owing to their considerable electrochemical performance [246], [247], [248], [249], [250]. Furthermore, they may

act as catalysts that could replace noble metals like platinum, ruthenium (RuO_2), and iridium (IrO_2), which are commonly used in reactions governing the operation of devices such as fuel cells, water electrolyzers, and metal-air batteries [251], [252], [253], [254], [255], [256], [257]. Additionally, bimetallic oxides are being explored as future materials capable of substituting platinum for catalyzing hydrogen production in alkaline water electrolyzers [258], [259], [260].

In this study, bimetallic oxides are proposed as electrocatalysts for CO_2 reduction in electrolytic cells, followed by an evaluation of their effects on microbial reduction of CO_2 through bottle activity tests conducted with an enriched acetogenic mixed culture.

5.2 Materials and Methods

5.2.1 Synthesis and characterization of non noble bimetallic oxides

Three types of bimetallic oxides are synthesized using the sol-gel method, employing a combination of five metals: SnFe, CuFe, and CoMn. These metals are mixed in three distinct molar ratios: 1:2, 1:1, and 2:1. To prepare the solutions, a total of 0.04 mol of metal precursors (SnSO_4 , $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, CoCl_2 , and $\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) is dissolved in 200 mL of distilled water. This mixture is subjected to vigorous stirring and heated to approximately 80 °C. Subsequently, 0.06 mol of citric acid is incorporated as a complexing agent. The pH of the solution is adjusted to 10 through the gradual addition of a 2M sodium hydroxide solution, facilitating the formation of the colloidal solution. Following a six-hour reaction period, the resulting gel is filtered and thoroughly washed with distilled water, followed by rinsing with ethanol. The isolated product is then dried in an oven at 120 °C for 12 hours. After drying, the product undergoes a calcination process in an oven at 450 °C for 5 hours. X-ray diffractometry (XRD) analysis is performed to determine the crystalline structure of the product, using a 1.5406 Å $\text{CuK}\alpha 1$ radiation source. Additionally, the product is deposited onto carbon felt with Nafion serving as a binder and is further characterized by scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS) for elemental composition.

5.2.2 Preparation of the electrodes

Carbon felts are used as a support for bimetallic oxides. Before any use, a pretreatment of the cut carbon felts (6cm x 9cm x 0.5 cm) is carried out to eliminate residual impurities. The carbon felts are then sonicated in absolute ethanol then in acetone for 30 minutes for each step. They are then

heated slightly (60 °C) in hydrogen peroxide (10%) then in 10% hydrochloric acid for 15 minutes. The carbon felts are finally rinsed abundantly with distilled water then dried at 120 °C for 12 h.

A mixture consisting of 540 mg of bimetallic oxide, 10 mL of a 5% Nafion solution, and 20 mL of isopropanol was prepared in a beaker and subjected to ultrasonic treatment for 1.5 hours. Following sonication, the homogeneous mixture was carefully transferred into a suitable mold, ensuring it was absorbed on one side of the carbon felt. The carbon felt was then placed in an oven and dried at 120 °C for 12 hours. Subsequently, the dried felt was cut into electrodes measuring 4 cm x 4 cm x 0.5 cm.

5.2.3 Configuration and operation of the electrochemical cell

The electrochemical device used is a three-electrode cell with a total volume of 350 mL (150 mL cathode compartment and 200 mL anodic compartment). The cathode electrode is a carbon felt supporting bimetallic oxides and the anodic electrode is a titanium mesh coated with iridium oxides (10 cm x 5 cm x 1 mm). A silver chloride electrode Ag/AgCl (KCl, 1M) is used as a reference electrode in the cathode chamber. A 0.5M sodium bicarbonate (NaHCO₃) solution (pH 6.5) serves as a catholyte and a 0.5M phosphate buffer solution (pH 2.5) is used as an anolyte. The cathode compartment is flushed with pure carbon dioxide at a flow rate of 1 L per day. The pH of the cathode is continuously controlled at 6.5 using a phosphoric acid solution H₃PO₄ (0.5M) and a pH controller equipped with a pH probe.

5.2.4 Analytical methods

The flow rate of the cathode off-gas is measured using a flowmeter (MilliGascounter, PMMA, Ritter, Germany) and its composition is analyzed by a gas chromatograph (HP 6890 GC, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA). Volatile fatty acids and alcohols are analyzed by gas chromatography (Agilent 6890 N, Santa Clara, CA, USA) and Agilent 6890 N, Wilmington, CA, USA), respectively. Voltammetric and impedancemetric characterizations are performed by a CHI 760C potentiostat (CH Instruments, Bee Cave, TX, USA).

5.2.5 Electrochemical experiments and calculations

Before any other experiment, open circuit potential, impedancemetric and voltammetric characterizations are successively carried out. After this characterization of the electrode, a current density of 156 A m⁻² is applied for 20 hours to access catalysts' stabilities. Different current density

values were successively applied for 06 hours to the electrolytic cell using the most stable catalysts: 13 A m⁻², 31 A m⁻², 50 A m⁻², 75 A m⁻², 100 A m⁻² and 156 A m⁻². Coulombic Efficiency (CE) was calculated using the following equation:

$$CE (\%) = \frac{F \sum_j (\chi_j n_j)}{\int_t^{t+1} I dt} \cdot 100 \quad 5.1$$

where F is the Faraday constant (984,851 C/mol), χ_j is the amount of chemical j (mol), n_j is the number of electrons required for production of j -th chemical production, and I is the applied current.

5.2.6 Batch bottle tests

Several types of electrodes specifically CF, CF-CoMnO (2:1), CF-CuFeO (2:1), and CF-FeSnO (1:1) were utilized for activity tests conducted in serum bottles. The electrodes were cut into three parts for triplicate tests. Each piece is further cut into small pieces of approximately 4 mm on each side. The small pieces of electrodes were introduced into 60 mL serum bottles then flushed with pure nitrogen for 5 min to eliminate oxygen. 15 mL of culture medium were sequentially introduced into closed bottles, followed by the addition of 5 mL of the enriched acetogenic mixed culture, using syringes. The bottles were then flushed with a gas mixture of H₂/CO₂ (80:20 vol%) for 5 minutes before being pressurized. Subsequently, the bottles were placed in an incubator maintained at 35 °C and agitated at 125 RPM. Periodic analysis of the gaseous compositions in the bottle headers was performed using a gas chromatograph. At the conclusion of the experiment, the compositions of volatile fatty acids and alcohols in the liquid phase were assessed using high-performance liquid chromatography and gas chromatography, respectively.

The medium for microbial culture growth, was prepared as follows: 15 mL of a mineral solution, 10 mL of trace metals solution, 0.5 g of yeast extract and 1 mL of resazurin 0.1% (w/v) were added to distilled water for a total volume equal to 1L. Serum bottles containing this solution were placed in a microwave for 5 to 10 min and then flushed with gas containing N₂/CO₂ (80/20 v/v) for 15 min. The bottles were then autoclaved for 20 min at 121 psi. After cooling, 1 mL of a vitamin solution, 1.3 mL of cysteine 30 g L⁻¹, 1 ml of Na₂S.9H₂O 2.5% (w/v) and 5 ml of MES 200 g L⁻¹ were added to 100 mL autoclaved solution. The vitamin solution is obtained by introducing in 1L of distilled water these chemicals: biotin (2mg), folic acid (2mg), pyridoxine-HCl (10mg), thiamine-HCl.2H₂O (5mg), riboflavin (5mg) nicotinic acid (5mg) and D-ca-pantothenate (5mg).

The mineral aqueous solution contains NH_4Cl (100 g L^{-1}), NaCl (80 g L^{-1}), KCl (10 g L^{-1}), KH_2PO_4 (10 g L^{-1}), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (20 g L^{-1}), $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (4 g L^{-1}).

Trace elements solution is an aqueous solution of those chemicals: Na-EDTA ($0,5 \text{ g L}^{-1}$), $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2 g L^{-1}), H_3BO_3 ($0,05 \text{ g L}^{-1}$), ZnCl_2 ($0,05 \text{ g L}^{-1}$), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($0,04 \text{ g L}^{-1}$), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($0,5 \text{ g L}^{-1}$), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($0,05 \text{ g L}^{-1}$), $\text{AlCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($0,054 \text{ g L}^{-1}$), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($0,15 \text{ g L}^{-1}$), $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($0,1 \text{ g L}^{-1}$), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 g L^{-1}), $\text{Na}_2\text{Se}_3\text{O}_3$ ($0,05 \text{ g L}^{-1}$).

5.3 Results and discussions

5.3.1 Characterization of non noble bimetallic oxides

5.3.1.1 Physicochemical properties of non noble bimetallic oxides

The Energy Dispersive Spectroscopy (EDS) spectra of various bimetallic oxides synthesized at three distinct molar ratios (1:2, 1:1, and 2:1) are illustrated in Figures 5.1-5.3. Analysis of the results indicates that the expected molar ratios are not consistently achieved in the final products. The average molar ratios calculated from three separate points for the oxides FeCuO , CoMnO , and FeSnO are as follows: FeCuO (1:1.9, 1.3:1, 2.8:1), CoMnO (1:2.1, 1:1.1, 1.9:1), and FeSnO (1.3:1, 1.8:1, 3.3:1). Notably, the molar ratios of the Fe and Sn based oxides deviate significantly from the initial synthesis ratios, primarily due to the low solubility of tin sulfate (SnSO_4).

Figures 5.4 show the X-ray diffraction (XRD) spectra of three distinct bimetallic oxides: FeCuO (1:2), CoMnO (2:1), and FeSnO (1:1). In Figure 5.4B, the peaks observed at diffraction angles of 18.9° , 31.1° , 36.6° , 44.5° , 55.3° , 58.9° , 64.8° , and 76.8° correspond to the (111), (220), (311), (400), (422), (511), (440), and (533) crystallographic planes of the cubic spinel phase of MnCo_2O_4 . The crystalline phase is estimated at 100% according to the Debye Scherrer method. In contrast, the bimetallic oxide FeSnO (1:1) exhibits an amorphous content of 80%. Around 92% of the crystalline phase corresponds to iron oxyhydroxide ($\delta\text{-Fe}_{0.5}\text{O}_{0.5}(\text{OH})_{0.5}$) characterized by a hexagonal structure, with its significant planes (100), (011), (012), and (003) appearing at 35.1° , 40.2° , 53.2° , and 59.6° respectively, as illustrated in Figure 5.4C. The remaining 8% of crystallinity is attributed to the tetragonal phase of $\text{Fe}_{0.02}\text{Sn}_{0.98}\text{O}_{1.98}$, whose key crystallographic planes (110), (101), (211) are found at 26.4° , 33.8° , and 51.5° . Additionally, the peaks at 32.5° , 35.4° , 38.7° , 48.7° , 53.5° , 58.2° , 61.5° , 66.2° , 68.1° , 72.3° , and 75.2° correspond to the (110), (002), (111), (-202), (020), (202), (-113), (-311), (220), (311), and (-222) planes of $\text{Cu}_{0.70}\text{Fe}_{0.20}\text{O}$, which

crystallizes in a monoclinic structure, as depicted in Figure 5.4A. This oxide demonstrates a crystallinity estimated at 100%.

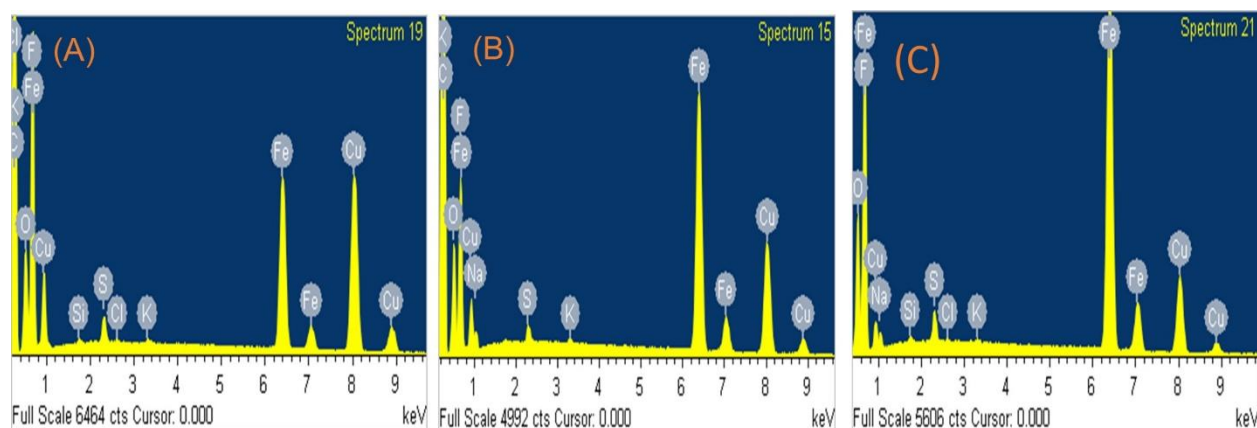


Figure 5.1 EDS spectra of the bimetallic oxides A) FeCuO (1:2) B) FeCuO (1:1) and C) FeCuO (2:1).

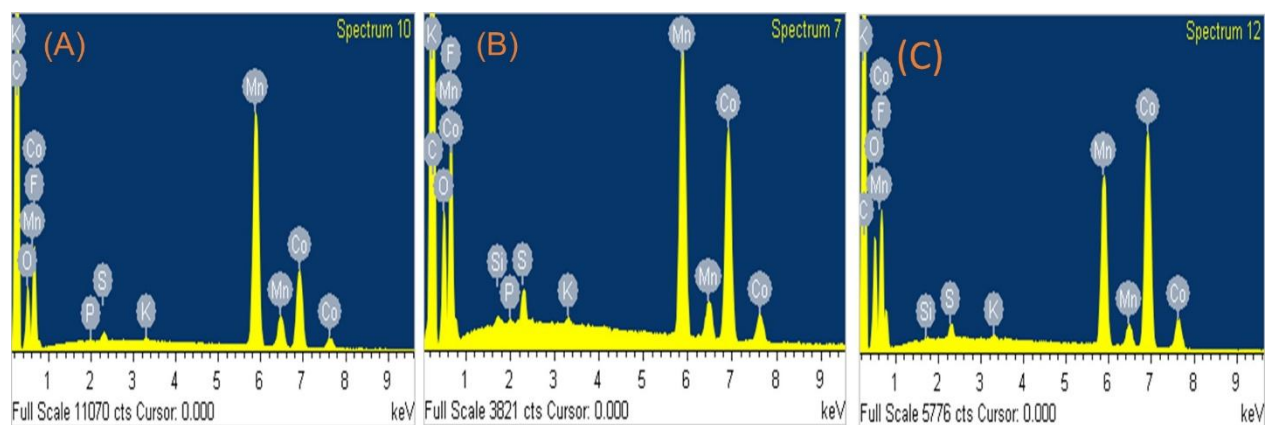


Figure 5.2 EDS spectra of the bimetallic oxides A) CoMn(1:2) B) CoMnO (1:1) and C) CoMnO (2:1).

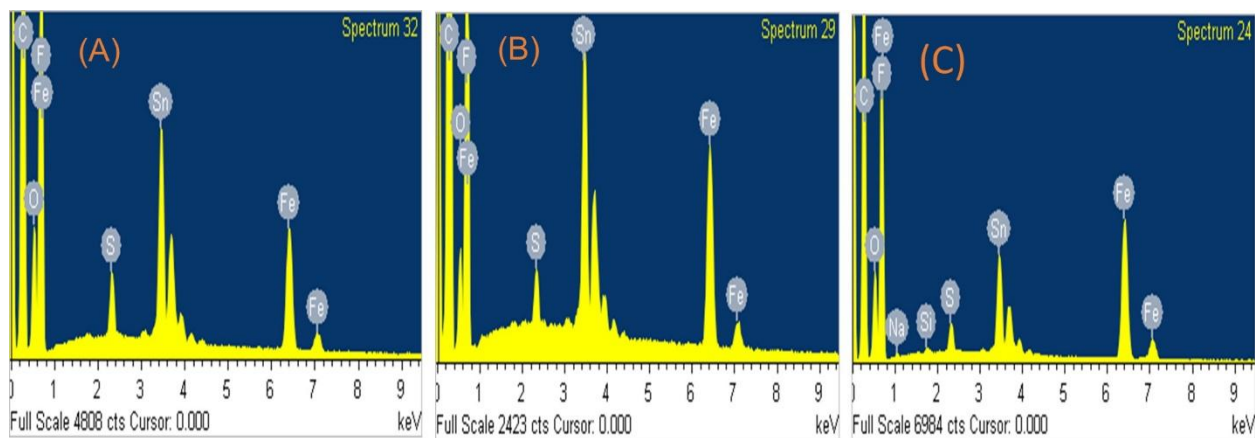


Figure 5.3 EDS spectra of the bimetallic oxides A) FeSnO (1:2) B) FeSnO (1:1) and C) FeSnO (2:1).

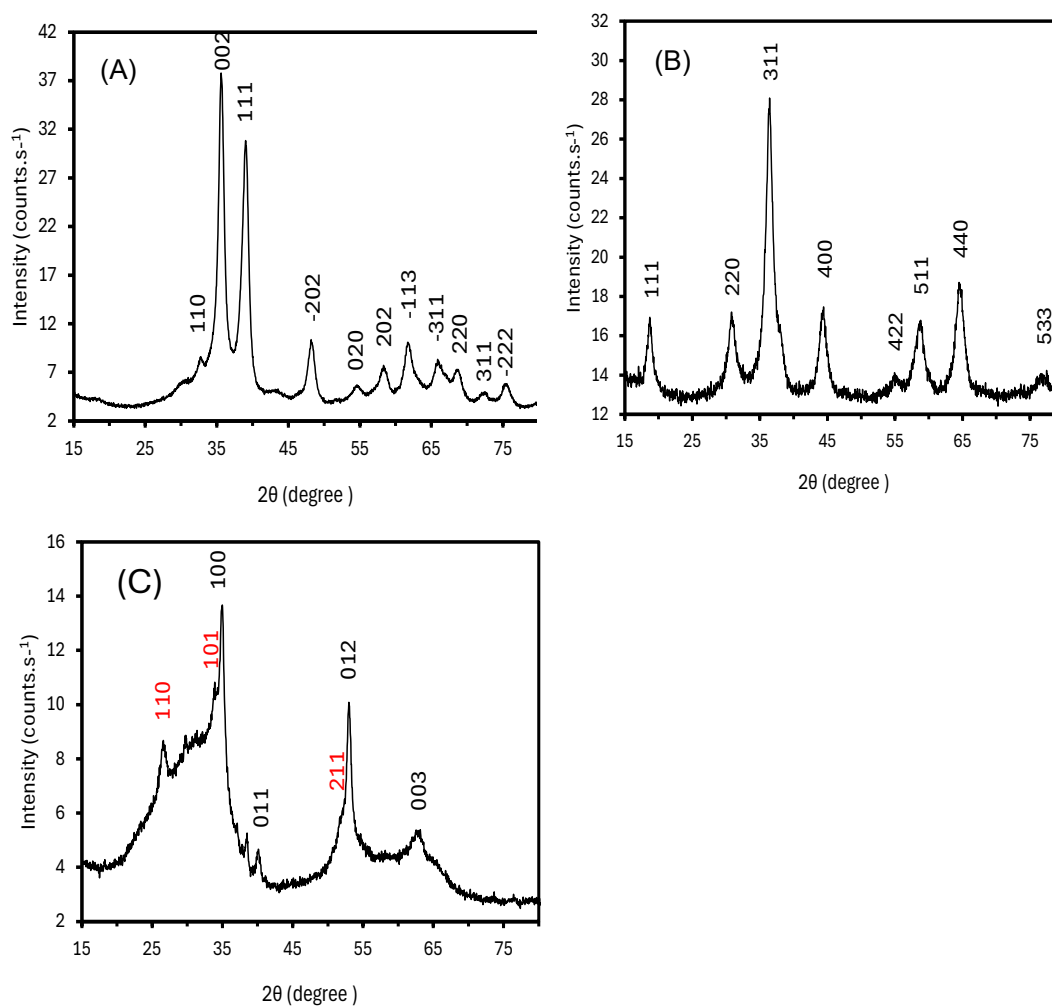


Figure 5.4 XRD spectra of the bimetallic oxides A) FeCuO (1:2) B) CoMnO (2:1) and C) FeSnO (1:1).

5.3.1.2 Electrochemical properties of non noble bimetallic oxides

Linear voltammograms recorded on electrodes based on different bimetallic oxides are presented in Figures 5.5A-C. Current densities are similar for different types of bimetallic oxides. No significant difference is observed depending on the variations of the molar metal ratios. CO₂ reduction peaks are not clearly observed on the recorded voltammograms except on those recorded on electrodes based on FeCuO bimetallic oxides where a low intensity reduction peak is observed at -0.2 V vs Ag/AgCl. This reduction peak is attributable to the formation of tertbutanol.

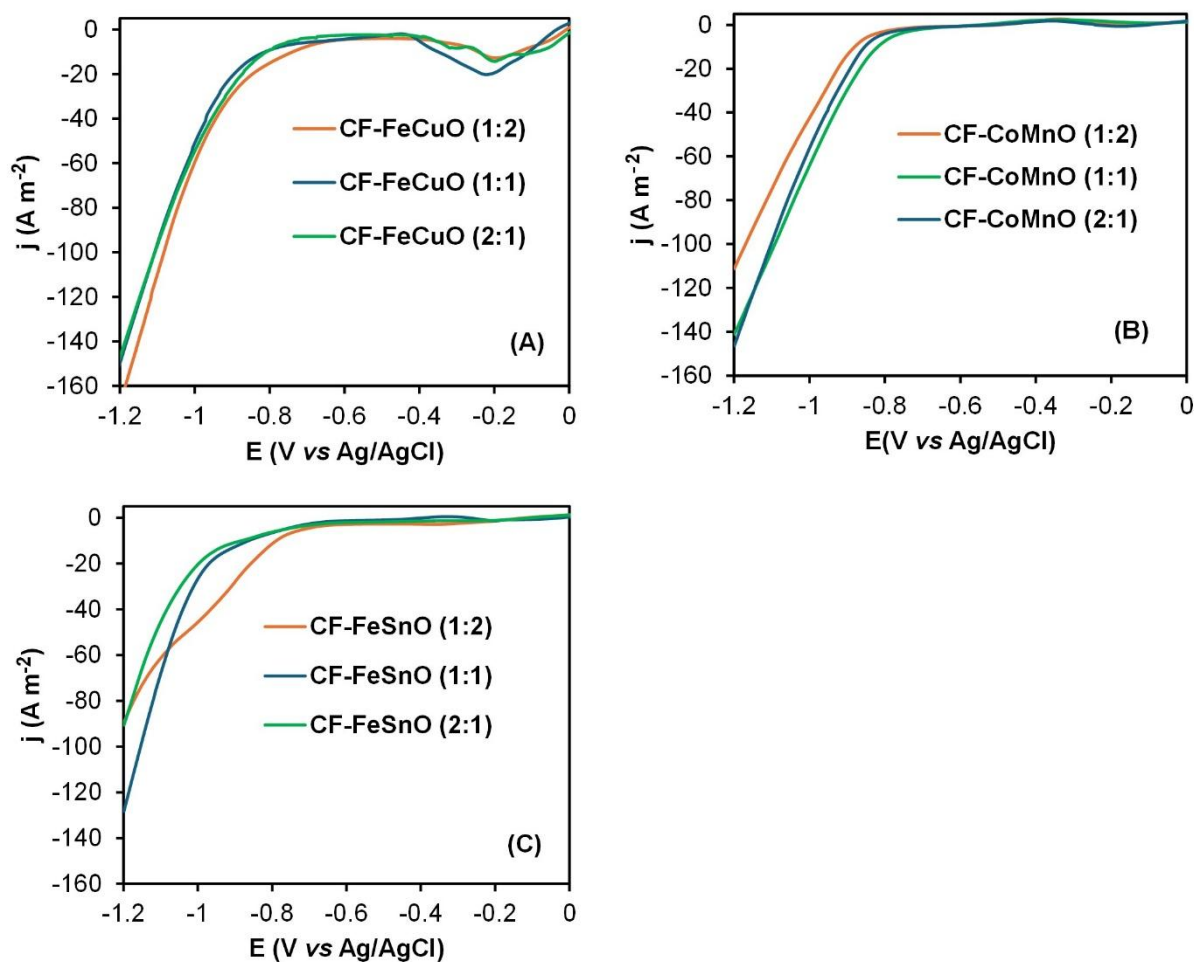


Figure 5.5 Linear voltammograms measured at 5 mV/s using A) FeCuO B) CoMnO and C) FeSnO electrodes.

A first stability test was previously carried out to eliminate non-stable bimetallic oxides and reduce the number of oxides to be tested at different current values. Figures 5.6A-C present the chronopotentiograms recorded at 156 A m^{-2} of applied current density for 20 hours. This chosen current density is within the range of current densities of recent laboratory-scale systems, ranging from less than 10 A m^{-2} to more than 1000 A m^{-2} [261]. Accordingly, one electrode per type of bimetallic oxide is chosen based on the stability of cathodic potential over time and of the lowest overvoltage for further experiments at different current densities. The CF-FeCuO (1:2), CF-CoMnO (2:1) and CF-FeSnO (1:1) electrodes are then chosen for the electrocatalytic tests. Effectively Figure 5.6A-C shows non-important variation of the cathodic potential during the 20 hours of reaction at 156 A m^{-2} of current density for these 3 electrodes supports the above results.

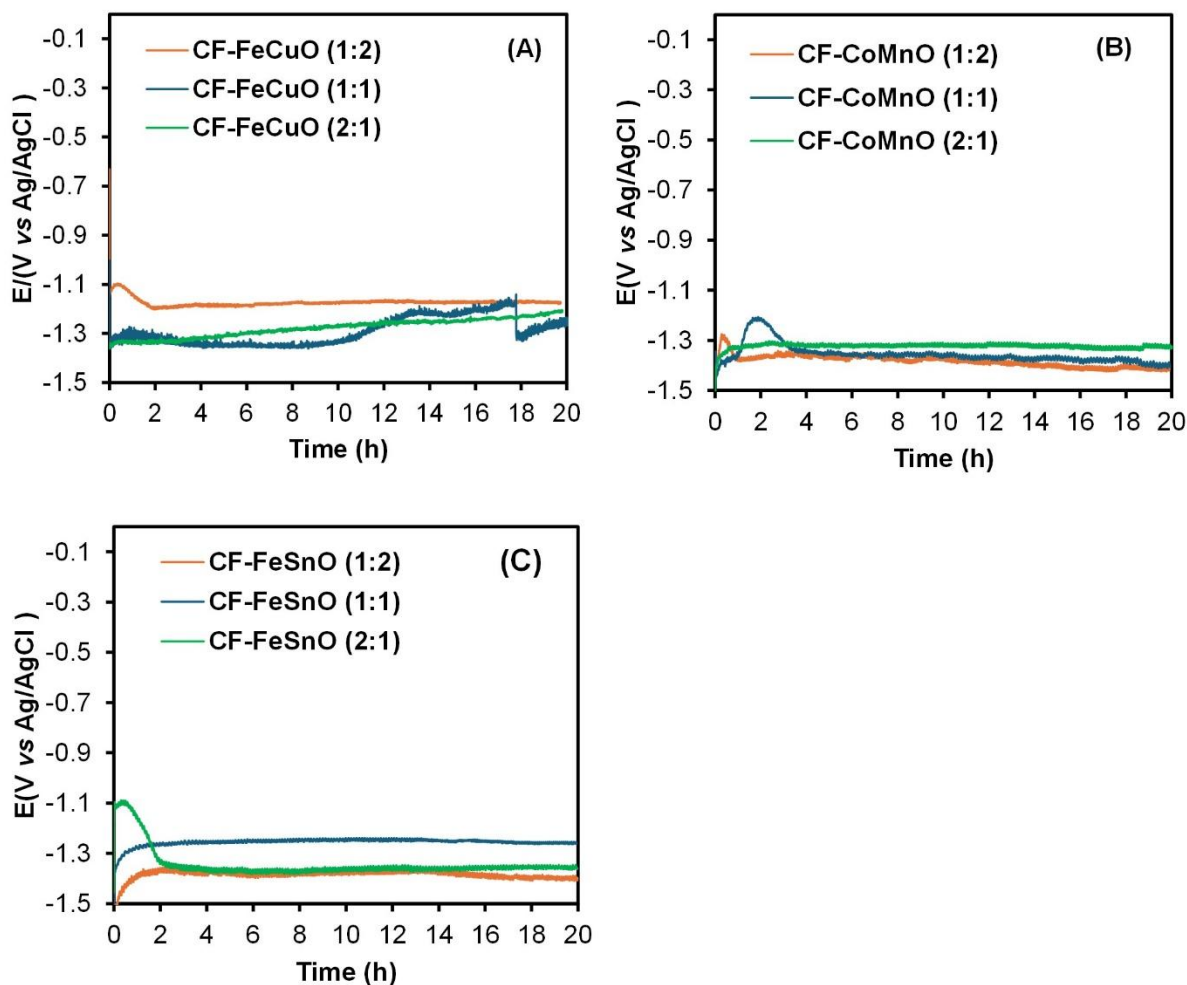
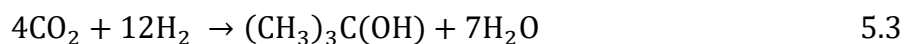


Figure 5.6 Variation of the cathodic potential during 20 h of reaction at 156 A m² using the electrodes based on oxides A) FeCuO B) CoMnO C) FeSnO.

5.3.2 Electrocatalytic performances of non noble bimetallic oxides for the CO₂ electrochemical reduction

The electrochemical reduction of CO₂ to carbon-based products use hydrogen. For example, in the cases of CO₂ reduction reaction to methanol and tertbutanol are respectively illustrated by:



These reactions which involve hydrogen consumption use 3 moles of hydrogen and one mole of CO₂ to produce one mole of methanol and 12 moles of hydrogen with 4 moles of CO₂ to give one

mole of tertbutanol. Accordingly, the current efficiency of carbon-based by-products production might be related to those of the hydrogen production on the same surface electrode. As both reactions are dependent on the same applied current density, it is important to determine the effect of the current density on the current efficiency of the carbon by-products and the hydrogen production of CO₂ reduction.

Different current densities of 13 A m⁻², 31 A m⁻², 50 A m⁻², 75 A m⁻², 100 A m⁻² and 156 A m⁻² were applied over a reaction period of 6 hours. Figures 5.7A-C illustrate the variations of the respective cathodic potential of each of these current densities as a function of time. The results indicate that the cathodic overpotential increases, of course, with the current applied to the various electrodes. Notably, for the same current density, the CF-FeCuO (1:2) electrode exhibits slightly lower overpotentials compared to the CF-CoMnO (2:1) and CF-FeSnO (1:1) electrodes, suggesting that FeCuO (1:2) is more active for the electrochemical reduction of CO₂. This behaviour might be related to the current efficiency.

The gaseous and liquid reaction products were subsequently analyzed, and the respective Coulombic efficiencies (CE) or Faradic efficiencies (FE) of CO₂ reduction and hydrogen production on these electrodes are summarized in Table 5.1. Generally, for each of the 3 electrodes, the highest Coulombic efficiency of the methanol or the tertbutanol formation, is obtained for the current density of 31 A m⁻². The higher total Coulombic efficiencies of the CO₂ reduction to methanol plus tertbutanol were observed at the two low current densities e.g. the current density of 13 A m⁻² or 31 A m⁻², with a coulombic efficiency of 11.8 or 12.5 %, respectively. This efficiency of the CO₂ reduction to methanol or tertbutanol decreases when the current density increases. This is probably related to the competition between CO₂ reduction and hydrogen production. Hydrogen production increases, of course, with cathodic current density. Accordingly, the ratio of the current density used for the CO₂ reduction to carbon-based by-products may decrease when the electrolytic current density increases. This is an indication that the electrode material may, of course, affect the current of the CO₂ reduction for a given applied current.

At a current density of 13 A m⁻², tertbutanol was produced on all three electrodes: CF-FeCuO (1:2), CF-CoMnO (2:1), and CF-FeSnO (1:1), with corresponding Coulombic efficiencies of 11.8 %, 7.3 %, and 10.3 %, respectively. These efficiencies declined with increasing current density. Methanol production was initiated only at a current density of 31 A m⁻², yielding Coulombic efficiencies of

2.0 %, 7.0 %, and 0.4 % for the CF-FeCuO (1:2), CF-CoMnO (2:1), and CF-FeSnO (1:1) electrodes, respectively. These Coulombic efficiencies have not exceeded 8 % across the different current densities. Overall, the Coulombic efficiencies for CO₂ reduction were consistently below 20% under ambient operating conditions, indicating that these materials are not efficient for CO₂ reduction in this context. The optimal conditions for CO₂ reduction correspond to current densities between 31 and 75 A m⁻².

On the other hand, the hydrogen evolution, of course, increases with the current density. The total efficiency of the CO₂ reduction and the water reduction to hydrogen increases with the electrolytic current density. For example, this total Coulombic efficiency increases from 86.9% at the current density of low current density to 98.0 at high current from the CF-FeCuO (1:2) based electrode. Among the reaction products hydrogen, methanol, and tert-butanol, hydrogen was identified as the predominant component. The hydrogen Coulombic Efficiency exhibited an increasing trend with higher current densities across the electrodes tested. Specifically, the lowest hydrogen. Coulombic efficiency of approximately 75 % was recorded at 13 A m⁻² for the CF-FeCuO electrode. Given this high minimum efficiency, it can be concluded that these electrodes demonstrate enhanced activity for the hydrolysis of water into hydrogen.

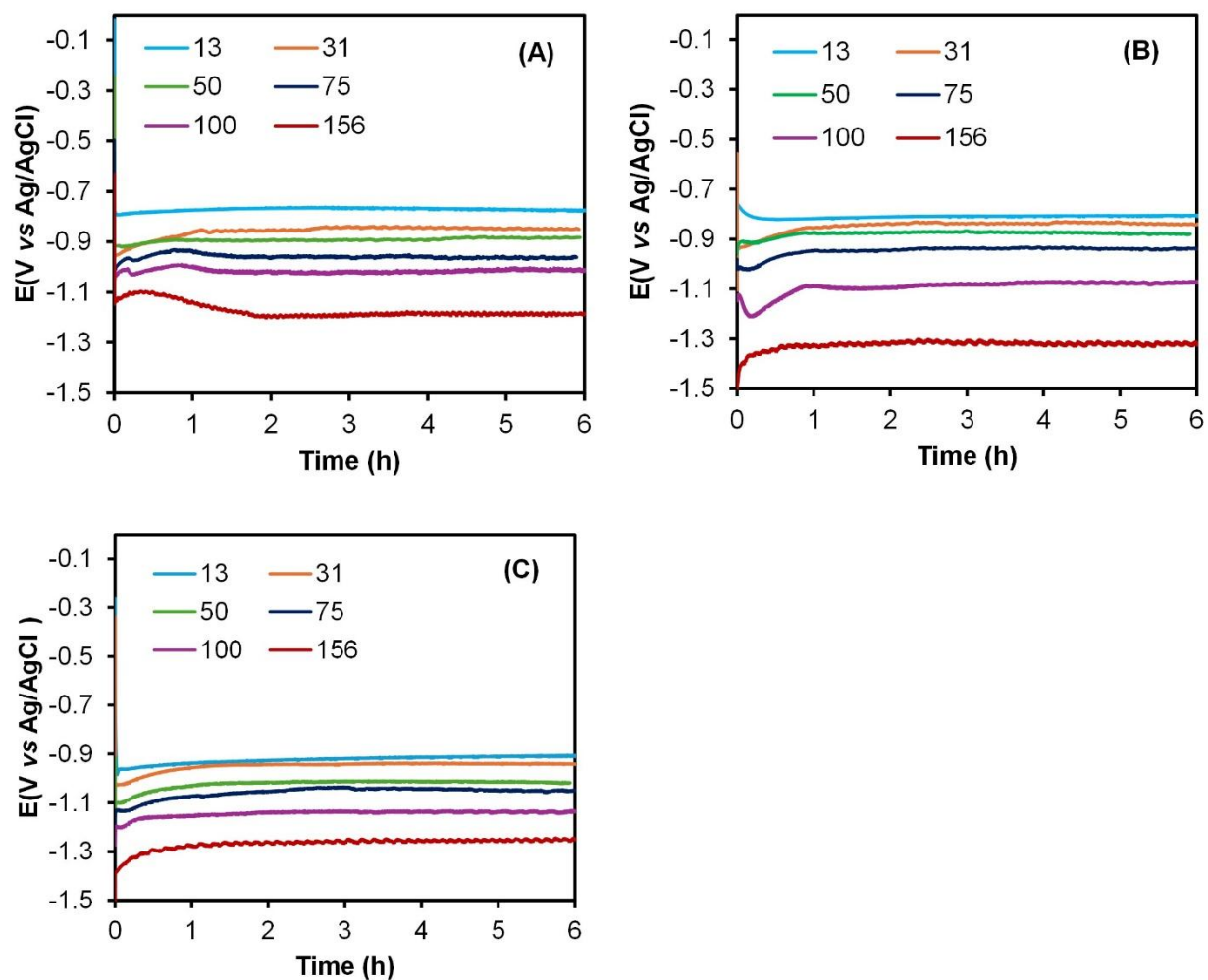


Figure 5.7 Variation of the cathodic potential at different applied current densities (13, 31, 50, 75, 100, 156 A m^{-2}) using A) CF-FeCuO (1:2) B) CF-CoMnO (2:1) and C) CF-FeSnO (1:1) electrodes.

Table 5.1 Coulombic efficiency (%) of the electrochemical reduction of CO₂ to by-products on bimetallic oxides electro-catalysts deposited on carbon felt.

Catalyst	Current (A m ⁻²)	13	31	50	75	100	156
FeCuO (1:2)	Methanol	0.0	2.0	6.9	2.7	0.6	0
	Tertbutanol	11.8	12.5	6.5	4.4	3.4	0
	H ₂	75.1	84.4	85.4	89.2	88.1	98.2
	Analyzed products	86.9	98.9	98.8	96.3	92.1	98.2
	±	0.6	0.9	2.8	0.8	1.0	-
CoMnO (2:1)	Methanol	0.0	7.0	0.7	0.5	0.0	0
	Tertbutanol	7.3	7.0	3.7	0.6	0.3	0.1
	H ₂	80.4	85.6	94.9	98.3	97.9	99.5
	Analyzed products	87.8	99.6	99.3	99.4	98.2	99.5
	±	2.1	2.9	1.1	1.6	1.5	-
FeSnO (1:1)	Methanol	0.0	0.4	7.6	0.0	0.0	0
	Tertbutanol	10.3	4.6	3.0	2.1	0.0	0.1
	H ₂	84.0	87.6	89.0	93.1	96.0	98.8
	Analyzed products	94.4	92.6	99.6	95.2	96.0	98.9
	±	0.5	0.7	2.4	0.6	0.4	-

Table 5.2 Comparison parameters of the CO₂ reduction on various electrode materials. C1, C2, C3 and C4 refer, respectively, to 1 carbon, 2 carbons, 3 carbons and 4 carbons reduced by- products. CE = Coulombic efficiency.

Catalysts	E _{cath} (V/RHE)	Current (mA/cm ²)	Stability (h)	CE (%)					Ref.
				H ₂	C1	C2	C3 et C4	Total	
CeO ₂ /In ₂ O ₃	-0.80	-	> 10h	1.3 ± 0.3	HCOO ⁻ and CO 98.7 ± 0.3	-	-	-	[262]
Pd ₈₅ Cu ₁₅ /C	-0.89	6.9	-		HCOO ⁻ (1.6); CO (86)	-	-	-	[263]
3D-h Cu-Sn	-0.45	3.65	-	1.3	CO (98.6)	-	-	-	[264]
Cu nanowires	-	-45	2h	14.7 ± 4.67	CH ₃ OH (66.1 ± 1.9) HCOO ⁻ (14.9 ± 2.2) CO (0.6 ± 0.46)	C ₂ H ₅ OH (3.2 ± 0.4)	-	-	[265]
Porous Cu	-0.67	653	2h	-	CO (14.7)	C ₂ H ₄ (38.6) C ₂ H ₅ OH (16.6)	nPrOH (4.5)	79	[266]

Ni enriched (Cr ₂ O ₃) ₃ Ga ₂ O ₃	-1.48 vs Ag/AgCl	-	-	37	CH ₃ OH (1.6) HCOOH (0.57)	AcOH (9.2) Acetone (0.4.1) Acetaldehyde (0- 5.1)	3-hydroxy- butanal (5.2) nBuOH (42.0)	-	[267]
Ag-S- C ₃ N ₄ /CNT	-0.6	-	-	12.1 ± 0.02	CO:69.5 ± 0.01	-	-	-	[268]
Ag/Co ₃ O ₄	-1V vs SCE	-	10h	80	CO:19.9	-	-	-	[269]
Ag/TiO ₂	- 0.35 to - 0.56 V	-	-	40	CO:60	-	-	-	[270]
Ag@ZnO @rGO	-1.6V vs SCE	-	-	19.9	CO:69.9	-	-	-	[271]
FeCuO	-0.9 vs Ag/AgCl	5	20h	84.4	CH ₃ OH (2.0)	-	tBuOH (12.5)	98.9	This work

5.3.3 Influence of non noble bimetallic oxides on biochemical conversion of CO₂

Carbon dioxide is a molecule that autotrophic microorganisms naturally convert into organic compounds including organic acids and corresponding alcohols [272]. This conversion process requires electrons that can be provided by other compounds such as hydrogen. Many studies have reported that the addition of particles of various materials in an anaerobic digester affects positively as well as negatively the activities of methanogenic microorganisms for the conversion of carbon dioxide into methane [273], [274], [275], [276], [277], [278]. The same remarks are observed when the electrodes of bioelectrochemical systems are modified by particles of various materials [279], [280], [281], [282], [283], [284], [285], [286], [287], [288], [289], [290].

The effect of the three bimetallic oxides and the carbon felt on the activities of microorganisms is presented by the curves of consumption of CO₂ and H₂ (Figure 5.8A, B). After three days of testing, the quantities of H₂ and CO₂ decreased progressively, synonymous with their consumption by the microorganisms. The corresponding curves for the bottles containing the bimetallic oxide FeSnO (1:1) show a more decreasing slope than the others. This means that the presence of the carbon felt pieces supporting the oxide FeSnO (1:1) positively affects the activities of the microorganisms. The opposite effect is observed on the curves corresponding to the bottles containing the carbon felts supporting the bimetallic oxides FeCuO (1:2) and CoMnO (2:1). These materials therefore have an inhibitory effect on the activity of microorganisms. The presence of simple carbon felt pieces has no significant impact on their activities. CO₂ consumption rates are shown in Figure 5.9. It is obvious that the presence of the oxides FeCuO (1:2) and CoMnO (2:1) slow down the activities of the microorganisms. As for the presence of FeSnO (1:1), it improves CO₂ consumption by 4.3 times.

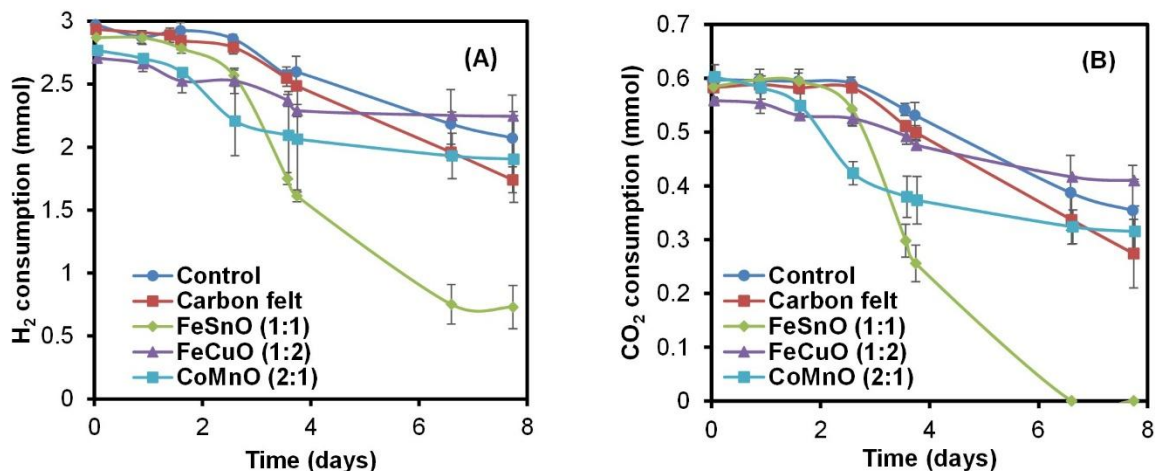


Figure 5.8 Consumption of A) H₂ and B) CO₂ by an enriched acetogenic mixed culture in the presence of bimetallic oxides, tests carried out in triplicate. Error bars represent standard deviation.

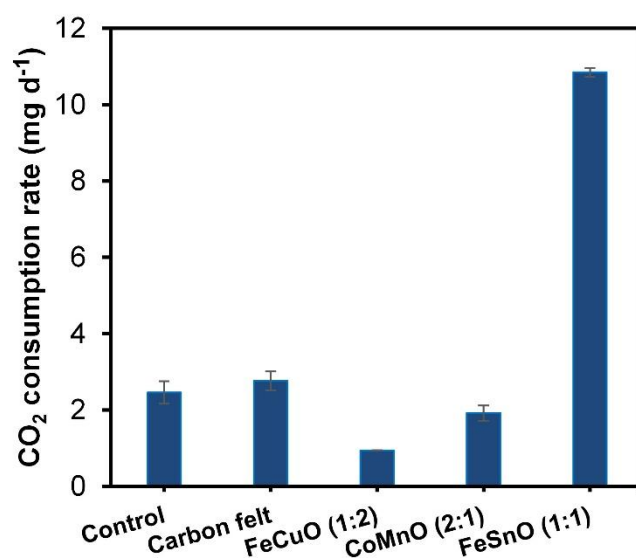


Figure 5.9 CO₂ consumption rate by acetogenic enrichment in the presence of bimetallic oxides, tests carried out in triplicate. Error bars represent standard deviation.

The effect of bimetallic oxide particles is not significant on the production of alcohol at the end of the tests (Table 5.4). On the other hand, this effect is visible on the concentrations of volatile fatty acids at the end of the tests (Table 5.3). The concentrations of the different volatile fatty acids decreased with the presence of bimetallic oxide particles FeCuO (1:2). Likewise with bimetallic

oxide CoMnO (2:1) except the concentrations of acetate and propionate which were not affected. Bimetallic oxide CoMnO (2:1) is therefore not active on the activity of microorganisms that extend carbon chains into medium-chain volatile fatty acids (butyrate, valerate, caproate). The positive effect of the bimetallic oxide particles FeSnO (1:1) is visible on the concentrations of acetate and butyrate. The concentration of acetate increased from 1541 ± 46 mg/L in the control bottles without bimetallic oxide particles to 2039 ± 83 with the presence of FeSnO (1:1) particles supported on carbon felt. That of butyrate increased analogously from 858 ± 69 to 1232 ± 72 .

Table 5.3 The impact of bimetallic oxides on the production of volatile fatty acids from CO₂ and H₂ by acetogenic enrichment, tests carried out in triplicate.

Tests	Acetate	Propionate	Butyrate	Valerate	Caproate
Control	1541 ± 46	28 ± 3	858 ± 69	52 ± 1	101 ± 6
Carbon felt	1723 ± 69	19 ± 1	760 ± 23	48 ± 1	88 ± 2
FeCuO (1:2)	431 ± 10	19 ± 4	653 ± 8	10 ± 1	68 ± 1
CoMnO (2:1)	1480 ± 63	31 ± 3	672 ± 5	41 ± 1	71.3 ± 0.3
FeSnO (1:1)	2039 ± 83	20 ± 2	1232 ± 72	55 ± 2	100 ± 7

Table 5.4 The impact of bimetallic oxides on the production of alcohols from CO₂ and H₂ by an enriched acetogenic mixed culture, tests carried out in triplicate.

Tests	Methanol	Ethanol	C3 alcohols	C4 alcohols
Control	8.7 ± 0.2	15.3 ± 1.5	0.8 ± 0.1	23.5 ± 1.2
Carbon felt	8.4 ± 0.5	14.1 ± 0.2	0.6 ± 0.1	23.1 ± 1.1
FeCuO (1:2)	8.5 ± 0.5	10.1 ± 0.5	0.54 ± 0.02	19.4 ± 1.0
CoMnO (2:1)	8.9 ± 0.3	15.4 ± 1.9	0.7 ± 0.1	20.9 ± 1.2
FeSnO (1:1)	8.7 ± 0.5	14.4 ± 1.0	0.8 ± 0.2	21.6 ± 1.6

5.3.4 Importance of electrocatalytic reaction products for bioelectrochemical reduction of CO₂

In addition to functioning as supports and anchor points for microorganisms, cathode materials play a crucial role in catalyzing the production of compounds that serve as intermediates for indirect electron transfer to microorganisms developed in biofilms on the cathode or suspended in solution [15], [237]. Single-carbon compounds (CH₃OH, CO, HCOO⁻) resulting from CO₂ reduction and hydrogen produced by water hydrolysis have been identified in various studies as key intermediates facilitating the indirect electron transfer process [15], [61], [237], [291], [292], [293], [294], [295]. Ethanol is another significant compound used by microorganisms for volatile fatty acids carbon chain elongation [296], [297].

Hydrogen produced mainly on the different electrodes has been referenced in literature as an essential intermediate product, enhancing the performance of microbial electrosynthesis cells [61], [298], [299]. The methanol produced at low coulombic efficiency is also a compound used by autotrophic microorganisms to produce organic compounds such as volatile fatty acids [293], [294], [295]. The bimetallic oxide FeSnO (1:1) that has improved the production of volatile fatty acids in batch bottle tests can be used for the development of an efficient cathode to produce volatile fatty acids. The specific surface area of these particles may facilitate microbial growth and promote direct electron transfer between microbial species. In this context, hydrogen and methanol could serve as intermediates in an indirect electron transfer mechanism, further contributing to the overall efficiency of the microbial electrosynthesis process. Furthermore, pH conditions (pH=6.5) close to neutrality are favorable to microbial proliferation and metabolic activity.

5.4 Conclusion

Electrochemical reduction of CO₂ was studied on three bimetallic oxides catalysts (FeCuO, CoMn and FeSnO) synthesized with three molar metal ratios (1:2, 1:1 and 2:1). It was found that the initial metal ratios 1:2, 2:1 and 1:1 for FeCu, CoMn and FeSn based oxides respectively are more stable and exhibit the lowest cathodic overpotentials. The reduction of CO₂ on these bimetallic oxides led to methanol and tertbutanol at a total coulombic efficiency lower than 20%. Hydrogen was the major product produced at a minimum efficiency of 75%. Batch bottle tests with an enriched acetogenic mixed culture in the presence of the most stable catalysts showed that the bimetallic oxide FeSnO (1:1) has an activating effect on the activity of microorganisms producing volatile

fatty acids. This is an important result for biochemical and bioelectrochemical systems for CO₂ reduction. Further research should focus on CO₂ reduction in microbial electrosynthesis cell using FeSnO (1:1) based cathode.

CRedit authorship contribution statement

Tambakassi Mihin: Writing – review & editing, Writing – original draft, Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation.

Oumarou Savadogo: Conceptualization, Writing – review & editing, Methodology, Formal analysis.

Boris Tartakovsky: Writing – review & editing, Writing – original draft, Validation, Supervision, Project administration, Methodology, Funding acquisition, Formal analysis, Conceptualization.

CHAPITRE 6 ARTICLE 2: IMPACT OF NON-NOBLE BIMETALLIC OXIDES ON BIOELECTROCHEMICAL REDUCTION OF CARBON DIOXIDE TO VOLATILE FATTY ACIDS

Tambakassi Mihin, Oumarou Savadogo, Boris Tartakovsky

Published in: Process Biochemistry

Publication date: September 19, 2025

Abstract

The conversion of CO₂ into value-added chemicals via microbial electrosynthesis (MES) offers a promising route for sustainable production of high-value chemicals. The study evaluates five bimetallic oxides (FeCuO, FeSnO, SnCuO, MnCuO, and CoMnO) for their impact on mixed microbial cultures capable of CO₂ utilization. FeSnO significantly enhanced acetogenic and chain-elongating activity while suppressing acetoclastic methanogenesis. When used to coat carbon felt cathodes in microbial electrosynthesis (MES) cells, FeSnO increased CO₂ conversion efficiency to over 90%, and enabled the production of butyrate and caproate at rates up to 566 mg (L_c d)⁻¹ and 89 mg (L_c d)⁻¹, respectively. Maximum product selectivity reached 53% for butyrate and 10% for caproate, surpassing by 4-fold those achieved with unmodified cathodes. Electrochemical impedance spectroscopy revealed that FeSnO coatings decreased charge transfer resistance from 209.4 Ω to 0.9 Ω, while promoting biofilm formation. These findings suggest that FeSnO coating not only enhances electrochemical performance but also facilitates microbial chain elongation critical for successful CO₂ conversion to medium-chain fatty acids.

Keywords: microbial electrosynthesis; non-noble bimetallic oxide; volatile fatty acids, CO₂ utilization; mixed culture.

6.1 Introduction

The rising concentration of carbon dioxide (CO_2) in the atmosphere remains a global environmental concern [300]. Consequently, the development of sustainable technologies for CO_2 capture and utilization has become a focus of many studies, [4], [301], [302], [303], [304]. Among various approaches for CO_2 utilization, such as photocatalytic, thermocatalytic, biocatalytic, electrocatalytic, and bioelectrocatalytic methods, electrocatalytic cells (ECs) and microbial electrosynthesis cells (MES) cells have attracted significant attention [7]. Both ECs and MES cells offer promising solutions for producing renewable chemicals from CO_2 [19].

In ECs, CO_2 reduction takes place at the cathode within a system typically comprising an anode and cathode compartments separated by an ion-exchange membrane. The cathode material plays a key role in determining the efficiency of CO_2 reduction. This process generally yields mono-carbon compounds including formate (HCOO^-), carbon monoxide (CO), methanol (CH_3OH), and methane (CH_4) [238], [239], [305], [306]. Multi-carbon compounds, such as ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), ethylene (C_2H_4) and propanol ($\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$), can also be produced on heterogeneous cathodes, including bimetallic alloys (e.g. Au-Cu, Zn-Cu, Ag-Cu) [169], [238], [307]. However, electrochemical CO_2 reduction faces several limitations, including the high cost and low stability of cathode materials, as well as low rate and efficiency of CO_2 conversion, particularly at high current densities [240], [241].

Bioelectrochemical catalysis in MES cells involves living microorganisms that catalyze the reduction of CO_2 into various chemicals. This process has attracted increasing interest due to its ability to produce a broad range of short and medium chain carboxylic acids, and their corresponding alcohols [187], although production of acetate is more common [184], [308]. Nevertheless, several recent studies demonstrated production of butyrate and caproate through microbial electrosynthesis [108], [309]. Additionally, a two-phase (tandem) process combining CO_2 conversion to carbon monoxide (CO) followed by the microbial CO conversion to medium chain fatty acids was recently proposed [310].

The performance of MES cells depends on factors such as the microorganisms inhabiting the cathode compartment and forming electroactive biofilms, the electrode materials, and the overall cell design [311]. Key challenges in MES cell applications include much lower current densities compared to ECs and low yields of multi-carbon products, partly due to the wide spectrum of

carboxylic acids produced by the microorganisms. Additionally, improving MES cell performance is hindered by limited understanding of the electron transfer mechanism [187]. Despite these challenges, the MES approach is considered a promising pathway for developing scalable processes for CO₂ reduction into high value chemicals such as carboxylic acids and biofuels. Overall, electricity-driven microbial metabolism can be used for the valorization of CO₂ and a broad range of organic wastes, as highlighted in recent reviews [312], [313].

The rate of CO₂ reduction in a MES cell and the spectrum of resulting products can be significantly affected by the cathodic microbial populations and the cathode surface properties, as well as such operating conditions as cathode potential, partial pressure of CO₂ and H₂, hydraulic retention time and other factors [314]. As far as microbial populations are concerned, the presence of methanogenic microorganisms, hydrogenotrophic methanogens in particular, leads to extensive CH₄ production [315]. Acetoclastic bacteria can successfully compete with the hydrogenotrophic methanogens leading to the production of acetate [316]. Furthermore, if chain – elongating bacteria are also present in the mixed microbial population, short and medium chain fatty acids (SCFAs and MCFAs), such as butyrate and caproate, can be produced, although long hydraulic retention times are required [92], [317], [318].

Developing low-cost, highly stable cathode materials that facilitate microbial adhesion and electron transfer at the cathode-biofilm interface is a critical research area for overcoming the challenges of CO₂ reduction in MES cells [17], [319]. Commercial two- and three-dimensional carbon materials, such as carbon paper, carbon felt, carbon fiber, granular graphite, etc, are widely used due to their relatively low cost, good conductivity and large specific surface area [18]. Modifying the surface of these materials with metal-based nanoparticles offers a promising approach, as it increases the available surface area for electroactive biofilm formation and reduces charge transfer resistance. Several studies have demonstrated enhanced MES cell performance using cathodes with metal oxides (Fe₂O₃, MnO₂) deposited on carbon materials [60], [153].

Furthermore, mixed metal oxides are widely used in electrochemical cells due to their conductive and electrocatalytic properties as well as their high stability [246], [252], [255], [256], [260], [286]. These materials exhibit good catalytic properties for CO₂ reduction and may facilitate biofilm formation and microbial activity. Moreover, they may produce intermediate products that serve as

electron sources and organic carbon substrates for microbial transformations, such as chain elongation [15].

Accordingly, this study focuses on estimating the impact of five bimetallic oxides on methanogenic (hydrogenotrophic and acetoclastic) and acetogenic mixed microbial populations. Following these initial assays, the best performing FeSnO bimetallic oxide deposited onto carbon felt cathode was used for enhancing CO₂ reduction in a MES cell inoculated with a mixed anaerobic acetogenic microbial enrichment lacking methanogenic populations and capable of combining CO₂ reduction to acetate with microbial chain elongation of acetate into butyrate and caproate.

6.2 Materials and Methods

6.2.1 Analytical methods, electrochemical characterization and calculations

The bottle headspace, MES cell's cathode and anode off-gas composition were analyzed using a gas chromatograph (HP 6890 C, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA). Volatile fatty acids (VFAs) and alcohols were also analyzed by gas chromatography (Agilent 6890 N, Santa Clara, CA, USA) and Agilent 6890 N, Wilmington, CA, USA), respectively. Method details can be found elsewhere [320]. The flow rate of the cathode compartment off-gas was measured using gas flowmeter (MilliGascounter, PMMA, Ritter, Germany).

Catholyte, which also served as a medium for microbial culture growth, was prepared as follows: 15 mL of a mineral solution, 10 mL of trace metals solution, 0.5 g of yeast extract and 1 mL of resazurin 0.1% (w/v) were added to distilled water for a total volume equal to 1L. Serum bottles containing this solution were placed in a microwave for 5 to 10 min and then flushed with gas containing N₂/CO₂ (80/20 v/v) for 15 min. The bottles were then autoclaved for 20 min at 121 psi. After cooling, 1 mL of a vitamin solution, 1.3 mL of cysteine 30 g L⁻¹, 1 mL of Na₂S·9H₂O 2.5% (w/v) and 5 mL of MES 200 g L⁻¹ were added to 100 mL autoclaved solution. The anolyte consisted of 0.05M phosphate (pH 6.2) solution containing 1.20 g of K₂HPO₄ and 5.87 g of KH₂PO₄. Mineral, trace element, and vitamin solution compositions are provided in Annexe A.

Biomolecular analysis of microbial communities was carried out using amplicon sequencing of nearly full-length 16S rRNA genes as detailed in Annexe A (Section A-4).

Voltammetric and electrochemical impedance spectroscopy (EIS) characterization was performed using a CHI 760C potentiostat (CH Instruments, Bee Cave, TX, USA). An Ag/AgCl (KCl, 1M)

electrode was inserted into the MES cell cathode compartment during electrochemical tests and served as a reference, while a dimensionally stable anode located in the anode compartment was used as a counter-electrode.

Coulombic Efficiency (CE) was calculated as:

$$CE (\%) = \frac{F \sum_j (\chi_j n_j)}{\int_t^{t+1} I dt} \cdot 100 \quad 6.1$$

where F is the Faraday constant (984,851 C/mol), χ_j is the amount of chemical j (mol), n_j is the number of electrons required for production of j -th chemical from CO_2 , and I is the current.

Selectivity (Se) was defined as the fraction of total electrons used for the production of a specific VFA relative to the total number of electrons in VFAs:

$$Se (\%) = \frac{\chi_j n_j}{\sum_j (\chi_j n_j)} \cdot 100 \quad 6.2$$

where χ_j is the amount of j -th VFA (mol), n_j is the number of electrons required for production of j -th VFA from CO_2 .

The CO_2 removal efficiency (E_{CO_2}) was calculated as follows:

$$E_{CO_2} = \frac{F_{CO_2}^{in} - F_{CO_2}^{cat} C_{CO_2}}{F_{CO_2}^{in}} \cdot 100 \quad 6.3$$

where $F_{CO_2}^{in}$ is the flow rate of pure CO_2 supplied to the cathode ($mL d^{-1}$), $F_{CO_2}^{cat}$ is the cathode off-gas flow ($mL d^{-1}$), and C_{CO_2} is the concentration of CO_2 in the cathode off-gas.

6.2.2 Synthesis of bimetallic oxides

Bimetallic oxides were prepared using the sol-gel method with different combinations of Fe, Cu, Sn, Mn, and Co salts. The following five bimetallic oxides were prepared: FeCuO, FeSnO, SnCuO, MnCuO, and CoMnO. Each oxide was prepared at equimolar metal ratio (1:1), unless specified otherwise. The procedure involved dissolving 0.04 mol of metal precursors ($SnSO_4$, $Fe(NO_3)_3$, $Cu(CH_3COO)_2$, $CoCl_2$, $Mn(CH_3COO)_2$) in 200 mL of distilled water followed by adding 0.06 mol of citric acid. The solution was heated to approximately $80^\circ C$ and kept under vigorous stirring on a hot plate. The pH of the solution was adjusted to 10 by slowly adding 2M NaOH. After 6 hours, the formed product was filtered, washed with distilled water, and rinsed with ethanol. The resulting product was dried at $120^\circ C$ for 12 hours and calcinated at $450^\circ C$ for 5 hours.

6.2.3 Preparation of electrodes and electrolytes

Carbon felt pieces (6 cm x 9 cm x 0.5 cm) were pretreated by sonication for 30 min in pure ethanol and then for additional 30 min in acetone to eliminate residual impurities, then heated to 60°C in 10% H₂O₂ solution, and then in 10% HCl solution for 15 min. The felt pieces were rinsed thoroughly with distilled water and dried in an oven at 120 °C for 12 h.

For cathode preparation, 540 mg of bimetallic oxide, 10 mL of 5% Nafion (w/v) solution and 20 mL of isopropanol were mixed and sonicated for 1.5 h. This mixture was transferred into a suitable mold for absorption on one side of the pretreated carbon felt. The carbon felt was then dried in an oven at 120 °C for 12h. The same procedure was repeated for the other side of the carbon felt. The dried material was cut into 4 cm x 4 cm x 0.5 cm pieces. The cathode was assembled by connecting three sandwiched pieces of carbon felt with titanium wire, which served as a current collector. The anode was made using two 7 cm × 5 cm × 0.1 cm Ti/mixed metal oxide mesh pieces with a titanium wire current collector.

6.2.4 Microbial cultures

Granular anaerobic sludge from an upflow sludge bed (UASB) reactor treating agricultural wastes (Lassonde Inc, Rougemont, QC, Canada) was used as a source of mixed microbial population in batch activity tests aimed at evaluating CO₂ / H₂ and acetate consumption. Acetogenic enrichment was prepared from a mixture containing equal volumes of sludge collected from a laboratory-scale fermenter fed with organic food waste and heat-treated anaerobic sludge from the UASB reactor. The anaerobic sludge was heat-treated (80°C for 20 min) and then combined with the fermenter sludge. To adapt this inoculum for CO₂ conversion to volatile fatty acids (VFAs), the culture was maintained in serum bottles flushed with CO₂ and H₂ (20/80 v/v). Bottle headspace was re-flushed once a week. Periodic (approximately every 3 weeks) culture transfers were performed to enrich this culture in acetogenic and chain elongating bacteria. A total of 5 transfers was performed. The resulting mixed microbial culture was capable of efficient CO₂ conversion to acetate and microbial chain elongation to butyrate and caproate.

6.2.5 Batch tests

Batch microbial activity tests were conducted in 60 mL serum bottles containing 0.05 M phosphate buffer solution at pH 7.5 (details provided in Annexe A) and microbial culture. Bottles were

flushed with either H₂/CO₂ (80/20 v/v) or N₂/CO₂ (80/20 v/v). After inoculation, the bottles were incubated at 35°C and 120 rpm (Innova 42R, New Brunswick). Bimetallic oxides were tested at concentrations 1-2.5 g L⁻¹ with bimetallic oxide-free bottles swerving as controls. All tests were carried out in triplicate. Table 6.1 summarizes batch test conditions.

Table 6.1 Batch tests conditions.

Inoculum (amount)	Metabolic activity	Carbon source	Headspace	BES	Bimetallic oxide amount (g L ⁻¹)
Anaerobic sludge (0.55 g)	Hydrogenotrophic methanogenic	CO ₂	H ₂ /CO ₂	No	2.5
Anaerobic sludge (1.4 g)	Acetoclastic methanogenic	Acetate	N ₂ /CO ₂	No	2.5
Anaerobic sludge (0.55 g)	acetogenic	CO ₂	H ₂ /CO ₂	Yes	1
acetogenic enrichment (5 mL)	acetogenic	CO ₂	H ₂ /CO ₂	No	1

6.2.5.1 Anaerobic sludge tests

In these tests, the impact of bimetallic oxides on the hydrogenotrophic methanogenic, acetoclastic methanogenic, and acetogenic activities was evaluated. To study H₂/CO₂ consumption (hydrogenotrophic activity), each test bottle contained 0.55 g of anaerobic sludge, corresponding to a concentration of 2 g L⁻¹ of volatile suspended solids (VSS), 50 mg of bimetallic oxide powder (2.5 g L⁻¹), and 19.5 mL of 0.05M phosphate buffer solution. To initiate the test, the bottles were flushed with H₂/CO₂ for five minutes and pressurized to 15 psi.

To investigate the impact of bimetallic oxides on the acetoclastic methanogenic activity, 1.4 g of the anaerobic sludge (5 g L⁻¹ of VSS), 50 mg powder of a bimetallic oxide (2.5 g L⁻¹) and 18.5 mL of 0.05 M phosphate buffer (pH=7.5) were added to each bottle. Each bottle was flushed with N₂/CO₂ for 5 minutes. Finally, 0.2 mL of nutrients solution containing 300 g L⁻¹ of acetate was added to provide carbon source for the acetoclastic methanogens.

To study the impact of bimetallic oxides on acetogenic microorganisms, same experimental conditions as in the H_2/CO_2 consumption tests were used. However, 2-bromo-ethanesulfonic acid (BES) at 5 mmol L^{-1} as an inhibitor of methanogenic activity was added to each bottle. Also, the amount of bimetallic oxides added to each bottle was reduced to 20 mg (1 g L^{-1}) and only FeSnO, FeCuO, and CoMnO oxides were used for this test.

6.2.5.2 Acetogenic enrichment tests

The batch H_2/CO_2 consumption tests described above were repeated using a mixed enrichment culture. The tests were conducted with FeSnO (1:1), FeCuO (1:2), and CoMnO (2:1). For each test, 0.7 g of coated carbon felt pieces (0.5 cm per side), 15 mL of medium used as the catholyte, as described above, and 5 mL of the acetogenic enrichment were introduced into each bottle. The bottles were flushed with H_2/CO_2 (80/20 v/v) following the procedure described for other bottle tests.

6.2.6 MES design and operation

Two MES cells were simultaneously operated, each with a 180 mL cathode compartment and 50 mL anode compartment separated by a Nafion® 211 membrane (Nafion® NR-211, DuPont) covered by nylon cloth, as described elsewhere [321]. In total, four MES experiments were conducted. Two experiments used carbon felt cathodes (CF-1, CF-2), and two used FeSnO-coated carbon felt cathodes (FeSnO-1, FeSnO-2). The catholyte solution was supplied using a 50 mL syringe at a flow rate of 10 mL d^{-1} , while the anolyte solution was fed by a peristaltic pump at 22 mL d^{-1} . Catholyte pH was maintained at $\text{pH } 6 \pm 0.1$ by a pH controller using a pH probe installed in the external recirculation line and a peristaltic pump, which added 0.5M phosphoric acid. The temperature was maintained at $32.5 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ by a temperature controller using a rope heater attached to the external recirculation loop and a temperature probe placed inside the compartment. Gaseous CO_2 was continuously supplied into the cathode compartment through a sparger using a peristaltic pump. The MES cells were operated under a constant current mode using a power supply (DC Power supply, PW18–1.8AQ, TEXIO Kenwood, Japan). Table 6.2 summarizes all operating phases.

Table 6.2 Phases and operating parameters of MES experiments.

Phase	Duration (day)	Current (mA)	Current density (mA L ⁻¹)	H ₂ flow rate (mL d ⁻¹)	CO ₂ flow rate (mL d ⁻¹)
1	14	0	0	800	200
2	14	50	278	0	200
3*	14	50	278	0	300
4	7-10	80	444	0	300

* This phase was not used during the CF-1 experiment.

6.3 Results and discussion

To evaluate the impact of bimetallic oxides on CO₂ reduction to short chain fatty acids (SCFAs), followed by microbial chain elongation, this study began with a series of bottle tests aimed at assessing the effects of various bimetallic oxides on methanogenic and acetogenic mixed microbial populations. Based on this comparison, the best-performing bimetallic oxide was selected for MES experiments. In these experiments, the CO₂ flow rate supplied to the cathode compartment, and the current density were progressively increased to determine the maximum attainable rate of CO₂ consumption and the resulting conversion products. Additionally, experimental results from MES cells equipped with carbon felt cathodes were used to assess the impact of the bimetallic oxide on CO₂ conversion.

6.3.1 Impact of bimetallic oxides on anaerobic and acetogenic cultures

6.3.1.1 Batch tests with anaerobic sludge

In several recent MES studies, anaerobic sludge was used as an inoculum for the conversion of CO₂ and H₂ into CH₄ or acetate due to its diverse microbial community and metabolic capabilities [151], [322]. Anaerobic sludge contains complex microbial consortium of various anaerobic microorganisms including hydrogenotrophic and acetoclastic archaea, and acetogenic bacteria. The hydrogenotrophic methanogens and acetogens can efficiently utilize CO₂ as a carbon source with H₂ acting as an electron donor to produce CH₄ through hydrogenotrophic methanogenesis or acetate via acetogenesis, respectively. Additionally, anaerobic sludge is readily available as a by-

product of anaerobic wastewater treatment, potentially making it a cost-effective and sustainable inoculum for MES cells.

Some transition metals, like Fe, Co, and Mn, exhibit low-toxicity towards acetogenic activity, but are vital for acetogenic metabolism, likely impacting dehydrogenases and electron carriers. Considering that methanogenic and acetogenic microorganisms use different metabolic pathways for CO₂ conversion, it was hypothesized that these microorganisms react differently to the presence of trace levels of metal ions and that certain bimetallic oxides can enhance acetogenesis since these metals can act as redox mediators and facilitate extracellular electron transfer from a cathode to acetogenic bacteria, while suppressing hydrogenotrophic and acetoclastic methanogenesis. Previous studies have shown that Fe and Ni ions increase acetogenic activity [323]. At the same time, inhibition of methanogenic activity in the presence of Ni and Cu ions was observed, while acetogenic activity was suppressed to a lesser degree [321]. Interestingly, electrochemical CO₂ reduction on a Cu-based cathode can lead to ethanol production from CO₂ [169], [238]. Also, homoacetogenic CO₂ reduction can be enhanced because the Wood-Ljungdahl pathway is affected by the presence of transition metals or metal oxides. Finally, acetogens and methanogens compete for the same electron donors (e.g. H₂ or electrons) and the presence of metal oxides or corresponding metals can change the equilibrium between these two populations. Consequently, the impact of bimetallic oxides on CO₂ reduction was assessed in a series of batch activity tests conducted using five different bimetallic oxides.

Figure 1 presents the rates of H₂ consumption and CH₄ production in batch tests designed to evaluate hydrogenotrophic and acetoclastic methanogenic activities, respectively, in the presence of five bimetallic oxides. By comparing these rates with those observed in control bottles without bimetallic oxides, the impact of the bimetallic oxides on the two trophic groups becomes evident.

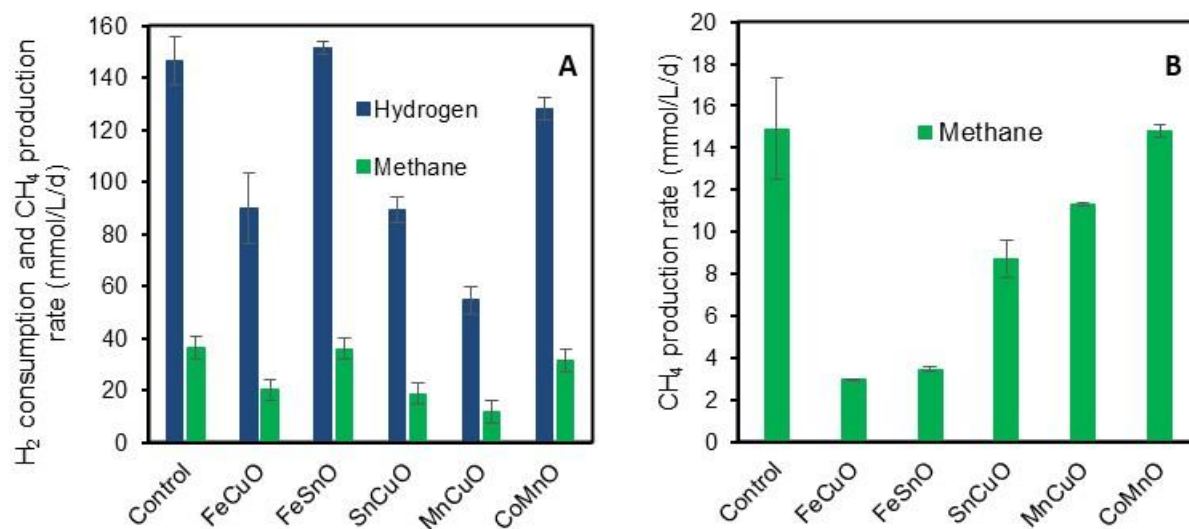


Figure 6.1 Rates of A) H₂ consumption and CH₄ production from CO₂ and H₂ and B) CH₄ production from acetate using anaerobic sludge inoculum. Error bars represent standard deviation.

Notably, both acetoclastic and hydrogenotrophic activities were significantly lower in the presence of copper-based bimetallic oxides (FeCuO, SnCuO and MnCuO), suggesting an inhibitory effect of Cu on methanogenic populations. Hydrogenotrophic activity can be inhibited through enzyme inhibition or electron competition. In particular, Cu can substitute essential metals like Ni or Fe in the active centers of enzymes [324]. Some transition metals, like Fe, Co, and Mn, exhibit low toxicity towards acetogenic activity, but are vital for acetogenic metabolism, impacting enzymatic activity and electron transport [321], [325], [326]. Considering that methanogenic and acetogenic microorganisms use different metabolic pathways for CO₂ conversion, it was expected that these microorganisms react differently to the presence of metals and/or metal oxides.

In contrast, the presence of FeSnO and CoMnO in the test bottles did not significantly affect hydrogenotrophic or acetoclastic methanogenesis (Figure 6.1). However, a reduction in the acetate conversion rate to CH₄ by acetoclastic methanogens was observed in the presence of FeSnO. These observations suggest that FeSnO negatively affects acetoclastic methanogens, while enhancing hydrogenotrophic methanogenic activity.

Additionally, product analysis at the end of the test showed low concentrations of all VFAs (below 10 mg L⁻¹, Table A.6.1 in Annexe A). However, the appearance of butyrate and valerate in bottles containing FeSnO and CoMnO (as compared to the control bottles lacking bimetallic oxides) suggest that acetate and propionate chain elongation was enhanced in the presence of these bimetallic oxides.

Low VFA concentrations could be attributed to hydrogenotrophic archaea outcompeting acetogenic bacteria for the common carbon source (CO₂). Additionally, conversion of acetate to CH₄ by the acetoclastic archaea likely contributed to the low VFA levels. Fast CO₂ consumption by hydrogenotrophic methanogens appeared to be the most plausible explanation, as the H₂ consumption to CH₄ production ratio was close to the stoichiometric ratio of 4 mol/mol (Table 6.2B), agreeing with the material balance for CH₄ production from H₂. In contrast, a two-step process of CO₂ conversion to acetate followed by its consumption for CH₄ production, would be expected to result in a higher microbial maintenance requirement, leading to increased H₂ consumption and, consequently, a higher H₂ consumption to CH₄ production ratio. Furthermore, CH₄ production in the presence of bimetallic oxides (except CoMnO) was inhibited compared to the control test (Figure A.6.1).

Overall, results of these tests suggested a significant effect of bimetallic oxides on the activity of the methanogenic microorganisms. However, none of the tested bimetallic oxides suppressed the hydrogenotrophic methanogenic activity to a degree, which would be sufficient for extensive production of acetate and other VFAs. Accordingly, in the following test the methanogenic activity was inhibited by the addition of 2-bromoethanesulfonic acid (BES), a well-known methanogenesis inhibitor [327], at 5 mmol L⁻¹. CoMnO, FeSnO, and FeCuO bimetallic oxides were used in these tests. The choice of these bimetallic oxides was based on the observed production of VFAs in the first test (Table A.6.1 in Annexe A), where butyrate and valerate were produced in the presence of FeSnO and CoMnO, while FeCuO resulted in a higher concentration of acetate.

In the test using BES, methanogenic activity was completely inhibited, as evidenced from the absence of CH₄ production after approximately 24 h from the test startup (Figure A.6.1). The inhibition of methanogenic activities resulted in a substantial increase in acetate concentration in the bottles, compared to previous tests without the inhibitor. In particular, results given in Table 6.3 demonstrate that VFA production increased with the presence of bimetallic oxides FeSnO and

FeCuO compared to the control test. Despite the improvement in acetate production, the concentrations of butyrate, valerate and caproate remained low indicating a lack of chain-elongating microorganisms, although in the bottles with FeSnO powder butyrate concentration increased to $29 \pm 1 \text{ mg L}^{-1}$ (Table 6.3). Microbial chain elongation proceeds by adding two carbon atoms per step via reverse β -oxidation [328]. Accordingly, acetate is elongated to butyrate and further to caproate. It can be hypothesized that FeSnO facilitated microbial chain elongation resulting in improved acetate conversion to butyrate. In addition to limited population of bacteria capable of chain elongation, acetate conversion to butyrate and caproate requires the availability of suitable electron donors, such as ethanol. Under anaerobic conditions, acetogenic bacteria such as *Clostridium ljungdahlii*, can produce ethanol from CO_2 and H_2 through the Wood-Ljungdahl pathway [329]. A lack of ethanol or another electron donor could have been another factor limiting microbial chain elongation in test bottles. Overall, batch tests using anaerobic sludge showed that while it can be used for acetate production, microbial chain-elongating populations required for successful acetate conversion to butyrate and caproate are lacking, limiting formation of chain elongation products from SCFAs.

Table 6.3 Production of VFAs by anaerobic sludge in the presence of bimetallic oxides and BES (methanogenesis inhibitor).

VFA (mg L^{-1})	Acetate	Propionate	Butyrate	Valerate	Caproate
Initial ($t=0$)	0	0	0	0	0
Control	54 ± 2	11.0 ± 0.6	17 ± 4	5 ± 1	0
CoMnO	118 ± 8	14 ± 1	9 ± 1	10 ± 1	0
FeSnO	1723 ± 38	15 ± 3	29 ± 1	5 ± 1	0
FeCuO	1544 ± 141	18 ± 2	11 ± 1	7.8 ± 0.2	0

6.3.1.2 Batch tests with acetogenic enrichment

Based on the results of batch tests with anaerobic sludge, it became clear that to successfully combine CO_2 conversion with microbial chain elongation the development of a specialized microbial consortium is required. Accordingly, efficient mixed microbial consortium capable of

combining CO₂ conversion and chain elongation for butyrate and caproate production was developed following the enrichment procedure outlined in Materials and Methods. This microbial consortium was used for a series of batch activity tests in the presence of different bimetallic oxides.

For these experiments bimetallic oxides FeSnO (1:1), CoMnO (2:1) and FeCuO (1:2) were used. The selection of ratios was based on the improved stability of these oxides in electrocatalytic tests (results not shown). Figure 6.2A compares the rates of CO₂ conversion by the acetogenic microorganisms in the presence of these oxides coating carbon felt. CO₂ consumption increased 4.4 times in the presence of FeSnO (1:1), while CoMnO (2:1) and FeCuO (1:2) have a negative impact on CO₂ consumption. Indeed, CO₂ consumption decreased by 21.8 % and 61.6 % in the presence of CoMnO (2:1) and FeCuO (1:2), respectively. VFA concentrations in all bottles measured after 8 days of the test showed significant production of acetate and butyrate, while propionate, valerate and caproate concentrations remained low (Figure 6.2B). The presence of FeCuO (1:2) and CoMnO (2:1) led to a decrease in VFA production, while concentrations of acetate and butyrate were somewhat increased in the presence of FeSnO (1:1). However, valerate and caproate concentrations were low all test bottles. Such relatively low difference could be explained by the short test time (8 days) to observe chain elongation to these VFAs. Also, liquid pH was observed to decrease to 4.5 – 4.8 in all bottles. While formation of alcohols by acetogenic bacteria at pH values below 5 can be hypothesized, no significant impact on the production of alcohols was observed with ethanol concentrations at around 30 mg L⁻¹ in all test bottles (Table A.6.3).

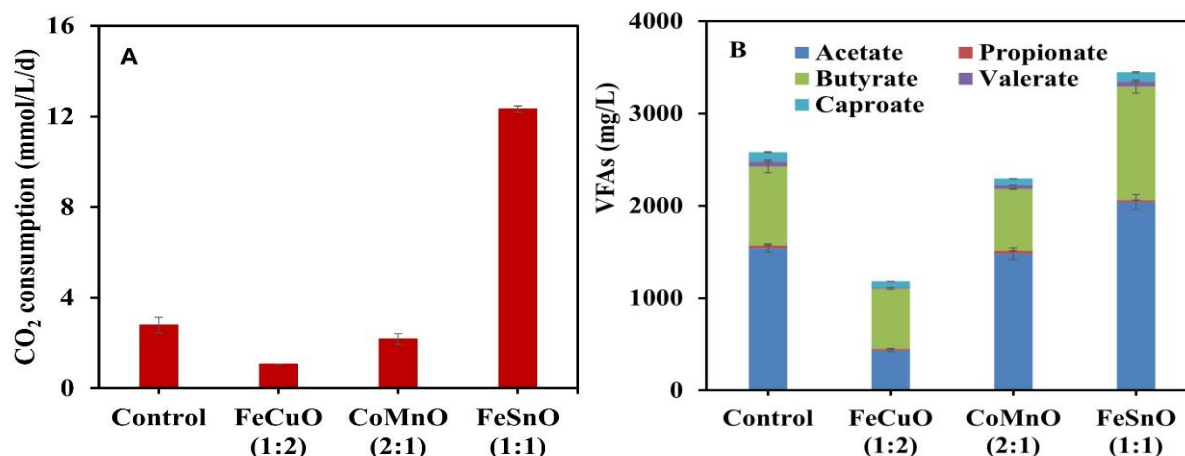


Figure 6.2 A) CO₂ consumption rate and B) Production of VFAs from CO₂ by the acetogenic enrichment. Error bars represent standard deviation.

Overall, batch test results suggest that bimetallic oxides can influence microbial metabolic activities both positively and negatively, corroborating literature findings that highlight the impact of metal nanoparticles on the activity of mixed microbial populations in anaerobic digesters [330]. Cu-based bimetallic oxides inhibited both methanogenic and acetogenic microorganisms. In contrast, FeSnO and CoMnO particles positively affected acetogenic populations, thus enhancing CO₂ conversion. Unlike CoMnO, FeSnO was observed to inhibit acetoclastic methanogens while leading to a higher rate of CO₂ consumption in the acetogenic culture test. Based on these results, FeSnO was selected for further testing as a cathode coating for MES cells.

6.3.2 Microbial electrosynthesis experiments

Batch activity tests helped to select the microbial inoculum and the bimetallic oxide most suitable for the efficient conversion of CO₂ to VFAs under bioelectrochemical conditions. Based on these results, MES cells were inoculated with a mixed acetogenic microbial enrichment and used FeSnO – coated carbon felt cathodes. To assess FeSnO impact, on CO₂ conversion, experiments were conducted using both plain carbon felt cathode (CF-1 and CF-2 experiments) and FeSnO cathode (FeSnO-1 and FeSnO-2 experiments) under varying CO₂ flow rates and current densities (Table 6.2). The following discussion focusses on the best performing experiments in each series (CF-2 and FeSnO-2), with reproducibility discussion also referring to CF-1 and FeSnO-1 experiments.

6.3.2.1 Operation of the MES cell with carbon felt cathode

Figure 6.3A shows steady state values of VFA concentrations at the end of each experimental phase of CF-2 operation, while the corresponding CO₂ conversion efficiencies are shown in Figure 6.3B. Additionally, results of the CF-1 experiment, which showed significantly lower production of butyrate and caproate, are shown in Figure B.6.3 and Table A.6.5 (Annexe A).

During Phase 1 (zero applied voltage), of the CF-2 experiment, CO₂ and H₂ were continuously supplied at flow rates of 200 mL d⁻¹ and 800 mL d⁻¹, respectively (Table 6.2). Under these operating conditions, VFA concentrations stabilized after first 7 days of operation with moderate concentrations of all measurable VFAs. Notably, the CF-2 inoculum had low pH of 4.5 and, accordingly, contained 1,880 mg L⁻¹ of ethanol, produced from acetate via solventogenesis [331]. In contrast, all other inoculum bottles containing the same mixed anaerobic enrichment prepared for inoculating MES cells, had a final pH between 5.0 - 5.2, with ethanol concentration below 150 mg L⁻¹. As a consequence of high initial ethanol concentration in the bottle containing the CF-2 inoculum, valerate and caproate concentrations reached 250 mg L⁻¹ and 550 mg L⁻¹, respectively, by the end of Phase 1, likely due to microbial chain elongation in the presence of ethanol [92], [318]. However, in the CF-1 experiment, which had low initial ethanol concentration (7 mg L⁻¹), the valerate and caproate concentration at the end of Phase 1 were below 20 mg L⁻¹ (Figure A.6.3 in Annexe A). Importantly, by the end of Phase 1 ethanol concentration in CF-2 declined to 1-2 mg L⁻¹, suggesting limited solventogenesis at pH 6 (Figure A.6.2).

In Phase 2, applying 50 mA current and removing H₂ from the gas stream (Table 6.2) resulted in increased CO₂ consumption and acetate production, with CO₂ conversion efficiency stabilizing at 98% (Figure 3B). Caproate and valerate concentration declined (Figure 6.3A), while ethanol concentration remained low (Figure A.6.2A).

In Phase 3 the same current density was maintained, but CO₂ supply was increased to 300 mL d⁻¹. The high CO₂ conversion efficiency (> 91%) and increased acetate production confirmed improved availability of dissolved H₂ under bioelectrochemical conditions. Propionate concentration also increased, suggesting that its formation occurred in the cathodic biofilm receiving higher influx of dissolved H₂/CO₂. At the same time valerate and caproate concentrations continued to decline with caproate concentration decreasing below 200 mg L⁻¹ (Figure 6.3A, B).

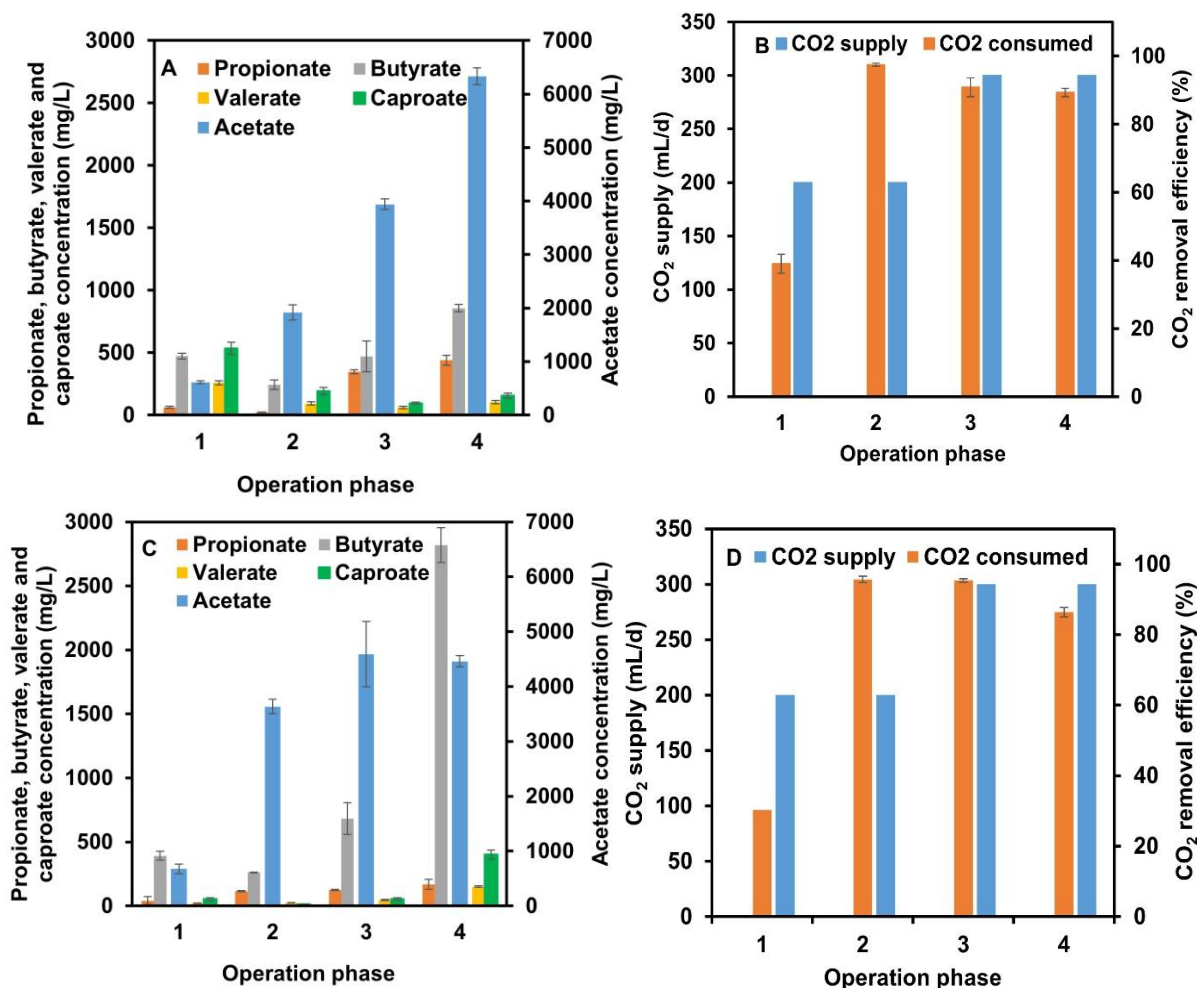


Figure 6.3 VFA concentrations (A, C) and CO₂ conversion efficiencies (B, D) corresponding to steady state performance at the end of each operating phase of CF-2 (A, B) and FeSnO-2 (C, D).

Experimental conditions corresponding to each phase are provided in Table 1.

Phase 4 involved the highest applied current of 80 mA, while maintaining CO₂ flow at 300 mL d⁻¹. CO₂ consumption remained nearly unchanged, while acetate and propionate continued to accumulate. Additionally, butyrate, valerate and caproate concentrations slightly increased compared to Phase 3 (Figure 6.3A).

Overall, CF-2 demonstrated effective CO₂ conversion into SCFAs, primarily acetate and propionate. High initial ethanol concentration led to butyrate and caproate production in Phase 1, but low ethanol levels in Phases 2-4 reduced their production. Even at the highest tested current

and CO₂ flow low chain elongation activity was observed. A similar pattern of low butyrate and caproate production was observed in the CF-1 experiment (Figure A.6.3 in Annexe A).

Low concentration of ethanol in Phases 2-4, was likely due to the catholyte pH of 6, optimal for acetogens but limiting solventogenesis. It is well established that substantial production of alcohols in a MES cell requires pH values below 6 [331]. At the same time, microbial elongation of SCFAs to butyrate and caproate requires higher pH values. For example, *Clostridium khuyveri*, a well-known chain elongating microorganism, has an optimal pH of 7 [36], [332]. To maintain both acetogenic and chain elongating microbial activities pH 6 was chosen for the experiment. However, in a future study, this value may be optimized to maximize butyrate and caproate selectivity.

Interestingly, removal of H₂ from the feed stream in Phase 3 did not reduce VFA production. This observation suggests that a sufficient amount of H₂ was produced at the cathode surface by a combination of electrochemical and microbially catalyzed activities to ensure efficient CO₂ conversion to acetate and propionate. It can be hypothesized that in addition to indirect (through H₂) pathway of CO₂ conversion to SCFAs, direct conversion of CO₂, protons and electrons to SCFAs by electroactive acetogens, also contributed to the overall rate of acetate production [58], [99], [177], [333].

Table 6.4 Production of volatile fatty acids and H₂ during CF-2 experiment.

Products / Phase		1	2	3	4
Acetate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	65 ± 1	832 ± 73	1115 ± 131	1151 ± 130
	Selectivity (%)		80 ± 7	69 ± 8	73 ± 8
Propionate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	11.8 ± 0.2	5 ± 2	132 ± 12	73 ± 6
	Selectivity (%)		0.7 ± 0.2	12 ± 1	6.5 ± 0.6
Butyrate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	49 ± 1	49 ± 5	132 ± 1	141 ± 2
	Selectivity (%)		8.0 ± 0.8	15 ± 1	15.3 ± 0.2

Valerate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	20 ± 1	19 ± 3	15.5 ± 0.3	16.9 ± 0.3
	Selectivity (%)		3.5 ± 0.5	1.85 ± 0.04	2.05 ± 0.02
Caproate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	50 ± 6	38 ± 7	20 ± 2	23 ± 2
	Selectivity (%)		7.2 ± 1	2.5 ± 0.3	2.2 ± 0.2
All VFAs	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	196 ± 9	943 ± 89	1415 ± 147	1404 ± 141
	CE(%)		56 ± 6	86 ± 9	53 ± 5
H ₂	CE(%)		3 ± 0.3	5 ± 1	20 ± 2
All products	CE(%)		59 ± 6	90 ± 10	72 ± 7

Measurements of the anolyte composition showed that almost 50% of the organic compounds diffused towards the anode through the proton exchange membrane. Thus, transport of VFAs to the anode had to be accounted for in VFA production rates and Coulombic Efficiency calculations (Table 6.4). Additionally, this table presents the corresponding selectivity values estimated for each phase of operation using Eq (6.2). Acetate remained the predominant product throughout the operation of CF-2 accounting for more than 60% of all produced VFAs.

Similar VFA distribution was observed throughout CF-1 operation (Table A.6.5), which also showed progressive increase in acetate and propionate production at increasing current and CO₂ supply values. As mentioned previously, in this experiment initial ethanol concentration was below 15 mg L⁻¹. Accordingly, at the end of Phase 1 of the CF-1 experiment only 15 mg L⁻¹ of valerate and 6 mg L⁻¹ of caproate was measured. While by the end of Phase 4 valerate and caproate concentrations somewhat increased, once again the chain elongating microbial activity was lacking.

6.3.2.2 Operation of the MES cell with FeSnO cathode

Experimental conditions used for the CF-1 and CF-2 experiments were replicated during FeSnO experiments. However, FeSnO-1 experienced O₂ contamination of the CO₂ stream with 0.5 – 10% of oxygen detected in the cathode headspace due to a defective gas bag for CO₂ storage. This

problem was not encountered throughout the FeSnO-2 experiment, which showed zero O₂ concentration in the cathode off-gas. Although the presence of O₂ in the CO₂ stream fed to FeSnO-1 had no observable impact on the rate of CO₂ consumption, VFA distribution was significantly affected, as compared to FeSnO-2. While the mixed microbial consortium of the acetogenic enrichment is expected to contain facultative anaerobic bacteria capable of consuming dissolved oxygen thus protecting strictly anaerobic species from oxygen toxicity, the chain elongating microbial population was apparently affected. Accordingly, the following discussion is focused on the FeSnO-2 results.

In Phase 1 (zero current) FeSnO-2 exhibited low CO₂ conversion efficiency, similar to CF-2 (Figure 6.3B, D), likely due to H₂ gas-to-liquid transfer limitation. Once current was applied in Phase 2, CO₂ conversion sharply increased to 96% and remained above 90% in subsequent phases. At a current of 80 mA (Phase 4), CO₂ Conversion slightly declined (Figure 6.3D).

A comparison of VFA concentrations in the CF-2 and FeSnO-2 experiments showed that VFA production trends differed between the two cells. In FeSnO-2, acetate production increased rapidly from Phase 2 to Phase 3 (Figure 6.3A, C). Unlike CF-2, where acetate continued to accumulate, FeSnO-2 showed increased butyrate and caproate production in Phase 4, which reduced acetate concentration, while propionate concentration remained stable. Valerate increased slightly with butyrate and caproate reaching 2800 mg L⁻¹ and 400 mg L⁻¹, respectively. Production rates, accounting for VFA's transport to anolyte, are given in Table 6.5. Also, Figure 6.4 highlights FeSnO's impact on VFA production. Notably, even FeSnO-1, despite O₂ contamination, outperformed CF-1 and CF-2 in butyrate and caproate production.

Table 6.5 Production of volatile fatty acids and H₂ during the FeSnO-2 experiment.

Products / Phase		1	2	3	4
Acetate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	93 ± 14	865 ± 69	1054 ± 128	754 ± 46
	Selectivity (%)		87 ± 7	72 ± 8	37 ± 3
Propionate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	31 ± 7	26 ± 5	22 ± 4	26 ± 6

	Selectivity (%)		3.8 ± 0.7	2.2 ± 0.4	1.8 ± 0.4
Butyrate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	26 ± 1	47 ± 3	201 ± 33	566 ± 38
	Selectivity (%)		8.1 ± 0.4	23 ± 3	48 ± 3
Valerate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	1.23 ± 0.02	5.8 ± 0.3	9.5 ± 0.1	42 ± 7
	Selectivity (%)		1.11 ± 0.05	1.24 ± 0.01	3.1 ± 0.7
Caproate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	3.8 ± 0.5	2.9 ± 0.4	16 ± 1	89 ± 7
	Selectivity (%)		0.8 ± 0.2	2.3 ± 0.1	9.3 ± 0.7
All VFAs	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	155 ± 4	946 ± 15	1303 ± 33	1478 ± 21
	CE (%)		53 ± 5	79 ± 10	67 ± 5
H ₂	CE (%)		10 ± 1	2.5 ± 0.1	21 ± 1
All products	CE (%)		63 ± 6	82 ± 10	88 ± 6

Compared to other studies cited in Table 6.6, the FeSnO-2 MES cell exhibited higher CO₂ uptake rates and demonstrated long-term, continuous production of acetate, butyrate, and caproate. MnO₂ [63] and TiO₂ [64] cathodes were previously demonstrated to enhance acetogenic activity, leading to increased acetate production. In another study, carbon cloth modified with a bimetallic oxide, Fe_xMnO_y, increased the Coulombic efficiency of acetate production in a MES cell [65]. Additionally, the charge transfer resistance of the electrode was reduced by approximately 70%, and the current density increased by a factor of 7.2. Furthermore, modifying a carbon felt cathode with the bimetallic oxide NiFe₂O₄ improved butyrate production and increased the MES cell's current density by factors of 1.2 and 2.7, respectively [66]. In addition to increasing acetate production, Fe oxides have been experimentally confirmed to increase the rate of chain elongation to medium chain fatty acids from waste activated sludge [334], [335].

Table 6.6 Performance of MES cells equipped with metal oxide-based cathodes and fed with CO₂. Cathode potentials (E_{cath}) are provided vs an Ag/AgCl reference electrode.

Inoculum	Cathode	Current A m^{-2}	$E_{\text{cath}}/\text{Ag/AgCl}$ V	Concentration mg L^{-1}			Electron Recovery %	Reference
				acetate	butyrate	caproate		
Anaerobic sludge	MnO ₂ -CF	0.0037	-1.15	2205	-	-	82.3	[336]
Enriched mixed culture	TiO ₂ -CF	-	-0.9	8860	-	-	72.76	[337]
Anaerobic mix consortium	Fe _x MnO _y -CC	10.6	0.8 ^a	381	199	-	58.6	[338]
Mixed culture	NiFe ₂ O ₄ -CF	-0.14	-0.8	50	958	-	-	[28]
Acetogenic enrichment	FeSnO-CF	8.3	-1.1	4459	2819	400	88	This work (FeSnO-2)
Acetogenic enrichment	CF	8.3	-1.3	6330	856	155	72	This work (CF-2)

^a MES cell voltage

Notations: CF - carbon felt; CC - carbon cloth.

Importantly, Sn-based materials can act as effective biocathodes as well as an electrochemical catalyst, e.g. for the production of formate from CO₂ [339], [340], [341]. Formate can be used as an electron donor, facilitating microbial chain elongation. While formate was not detected in the catholyte, it may have been rapidly consumed by the cathodic biofilm, resulting in a near-zero formate concentration in the cathodic liquid. In addition, the deposition of FeSnO particles on the carbon felt support is expected to increase the cathode's specific surface area, providing more anchoring points for biofilm formation. Although direct comparisons with other studies mentioned in Table 6.6 are limited due to differences in MES cell design and operating conditions, the observed production rates are comparable to, or exceed values reported for MES systems fed solely with CO₂ [312], [342].

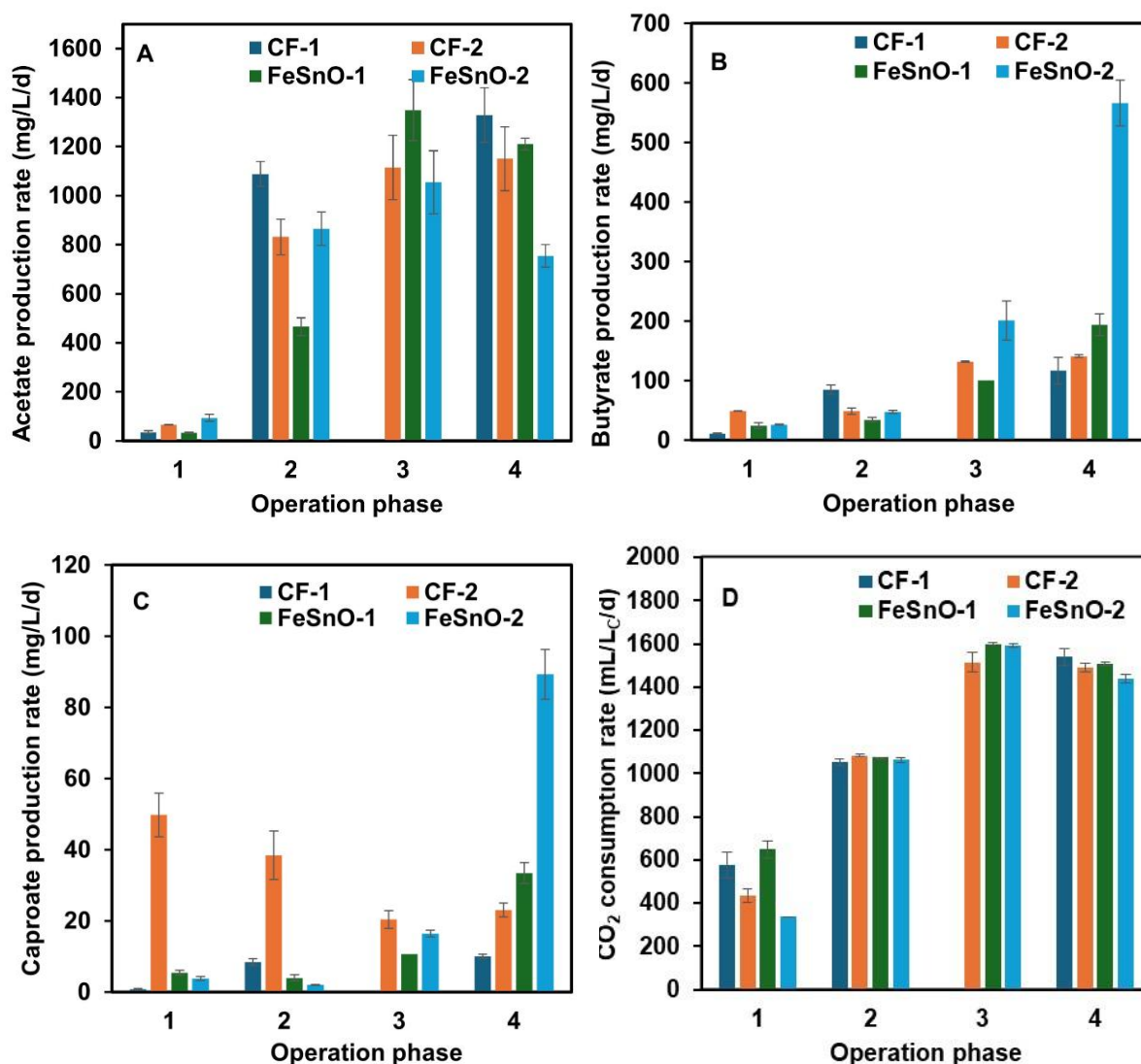


Figure 6.4 A comparison of VFA production rates in all MES experiments. In the CF-1 experiment phase 3 was omitted. Error bars show standard deviation.

6.3.2.3 Impact of current density and FeSnO cathode on CO₂ conversion to MCFAs

The impact of applied current on CO₂ conversion to SCFAs and chain elongation can be inferred from the comparison of Phase 1 (zero current) and Phase 2 ($i = 50$ mA). As can be clearly seen from the VFA concentrations and CO₂ consumption in Figure 6.3, bioelectrochemical conditions led to higher acetate production in all experiments.

The positive impact of current on MCFA production became evident at increased CO₂ supply and higher current density in Phase 4, where CO₂ conversion efficiency remained above 90%, while selectivity for butyrate and caproate production increased (Tables 6.5 and 6.6). For CF-2, selectivity values at the end of Phase 4 were $15.3 \pm 0.2\%$ for butyrate and $2.2 \pm 0.2\%$ for caproate. In the FeSnO-2 experiment, the highest selectivity for butyrate ($48 \pm 3\%$) and caproate ($9.3 \pm 0.7\%$), was observed. Additionally, during Phase 4, alcohol concentrations increased somewhat in both FeSnO experiments (Figure A.6.2), although ethanol concentration remained low. Since ethanol can be produced electrochemically [343], [344], [345], [346], it could be hypothesized that this increase resulted from the electrocatalytic reduction of CO₂ on FeSnO to ethanol at a current density of 444 mA L^{-1} .

The significant production of H₂ under bioelectrochemical conditions in all experiments suggests that it served as a main intermediate in the two-step pathway for CO₂ conversion. This pathway likely benefited from H₂ production at the cathode surface. Indeed, electrochemically and bioelectrochemically - catalyzed production of H₂ at the cathode surface facilitates H₂ transport to H₂ – consuming acetogenic bacteria in both the cathodic biofilm and bulk liquid. This explains the significant improvement in CO₂ conversion efficiency observed in all experiments starting from Phase 2. Nevertheless, direct production of acetate by electroactive acetogens cannot be excluded. The existence of both direct and indirect pathways for acetate formation from CO₂ has been extensively discussed in several previous studies, with the direct pathway being considered more energy-efficient [58], [177], [333].

In addition to acetogenic bacteria, the cathodic mixed microbial population included chain elongating microorganisms [347], [348], [349]. These species are expected to benefit from the abundance of dissolved H₂ under bioelectrochemical conditions. Also, the presence of cathode-respiring chain-elongating bacteria in the cathodic biofilm cannot be excluded [92].

A comparison of the CF and FeSnO experiments shown in Figure 6.4 also highlights the impact of FeSn bimetallic oxide on CO₂ reduction products. While CO₂ consumption rates were statistically similar across all experiments at each phase of operation (Figure 6.4D), product selectivity differed significantly. In particular, butyrate and caproate production rates in FeSnO-2 were 4.0- and 3.9-fold higher, respectively, compared to CF-2 in Phase 4. This increase can be attributed to the proliferation of chain elongating bacteria in the catholyte and biofilm detected using 16S

sequencing (Table A.6.7). Indeed, *Anaeroglobus sp900240295* (82.5%) and *Caproiciproducens galactitolivorans* proliferated in the FeSnO-2 catholyte, while *Caproiciproducens galactitolivorans* and *Anaerosalibacter_A sp900155565* constituted 26.5% and 32.3%, respectively, in the cathodic biofilm. It is likely that these species were responsible for the production of butyrate and caproate in the FeSnO-2 cell [350], [351], [352], [353]. *Anaerosalibacter_A sp900155565* and *Anaeroglobus sp900240295* had higher relative abundances in the biofilm and catholyte of the FeSnO-2 cell than in the CF-2 cell, where these species constituted less than 3% of the microbial population. Overall, substantial differences in microbial populations of FeSnO-2 and CF-2 cells suggest a significant positive impact of FeSnO on the chain-elongating microbial community.

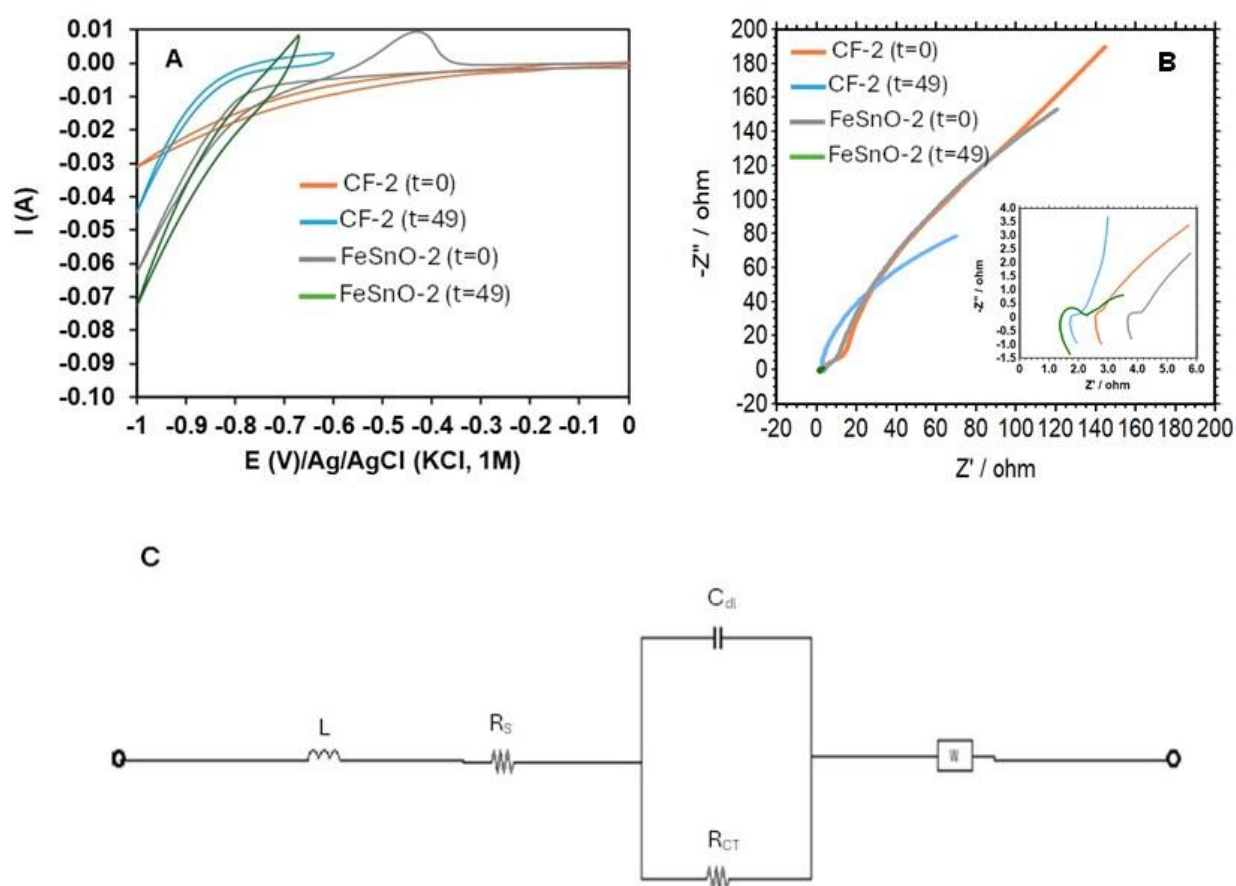


Figure 6.5 (A) Cathodic cyclic voltammogram, (B) Nyquist plot and (C) equivalent Nyquist circuit for CF-2 and FeSnO-2 cells.

Further confirmation of the positive impact of the FeSnO on cathodic microbial populations was observed based on the electrochemical characterization of the cells. The electrochemical properties

of the electrodes were evaluated through cyclic voltammetry and impedance tests conducted after inoculation ($t=0$) and at the end of the operation ($t=49$ days) of the MES cells. Figure 6.5 presents the recorded voltammograms, the Nyquist plots, and the resulting equivalent circuit. The data fitting error for the equivalent circuits was less than 9% (Table A.6.4). The higher currents observed on the FeSnO-2 cathode compared to the CF-2 cathode immediately after inoculation and at the end of the experiment indicate that the deposition of FeSnO on carbon felt enhanced both electrochemical and bioelectrochemical activities of the carbon felt and reduced overpotentials (Figure 6.5A). However, this deposition reduced the porosity of the carbon felt, as evidenced by the lower values of diffusion resistance obtained with CF-2 (Table A.6.4). A more porous 3-dimensional cathode, such as recently introduced 3D-printable conductive polylactic acid (PLA) lattice [354], is expected to resolve this limitation and provide further increase in the volumetric rate of CO_2 conversion.

The presence of an inductive component (L) in the equivalent circuits of the Nyquist curves is attributable to the contact resistance between the titanium wire current collector and the electrodes [355]. The increase in diffusion resistance values R_w at the end of the operation (8-fold and 16-fold increase for CF-2 and FeSnO-2, respectively) could be attributed to biofilm development on the cathode surface. This increase is more pronounced in the FeSnO-2 experiment, suggesting that a thicker biofilm has developed on the FeSnO-2 cathode. Furthermore, the capacitance of the double layer, which was initially similar for both cathodes (0.11 F and 0.09 F for CF-2 and FeSnO-2, respectively) became significantly lower for FeSnO-2 at the end of the operation (97 μF and 28.7 μF , for CF-2 and FeSnO-2, respectively). Since double layer capacitance is inversely proportional to its thickness, a lower value corresponds to a thicker double layer [356]. This corroborates the greater increase in diffusion resistance for FeSnO-2 and supports the hypothesis of a thicker biofilm on the FeSnO-2 electrode. Finally, the charge transfer resistance (R_{CT}) of the FeSnO-2 cathode, initially close to that of CF-2 (239.0 Ω and 209.4 Ω , for CF-2 and FeSnO-2, respectively), also significantly decreased by the end of the experiment (118.5 Ω and 0.9 Ω for CF-2 and FeSnO-2, respectively). This decrease can be attributed to the electrochemical activity of electroactive bacteria. The prevalence of *Anaerobaculum* *A. sp900155565* within the microbial community of the FeSnO-2 biofilm (Table A.6.7) suggests its affinity for FeSnO particles. Several studies have shown that iron-based materials enhance electron transfer through the Fe(III)/Fe(II) redox couple [357], [358].

The lower charge transfer resistance of FeSnO-2 suggests that the biofilm developed on the FeSnO-2 cathode is more active than the biofilm formed on the CF-2 cathode. The decrease in solution resistance (R_s) for both CF-2 and FeSnO-2 cells during the experiments is probably due to improved solution conductivity resulting from carboxylic acids.

To emphasize, the results presented in Figure 6.5 show that the FeSnO coating reduced charge transfer resistance compared to the uncoated CF cathode with electrochemical performance improved over time. The FeSnO-2 cell exhibited significantly higher current than the CF-2 cell by the end of the experiment (Figure 6.5A). Based on these observations, it can be hypothesized that the formation of a conductive biofilm on the cathode surface decreased activation losses and facilitated CO_2 reduction to acetate and microbial chain elongation. Moreover, the FeSnO coating may have further reduced activation losses, thereby enhancing overall electronic conductivity compared to the CF cathode.

Notably, in bioelectrochemical systems, charge transfer resistance is not necessarily correlated with electronic conductivity of the cathode. Accordingly, a highly conductive material is not always an effective catalyst for CO_2 reduction, as the catalytic activity of transition metals depends on factors such as their ability to absorb CO_2 , the binding strength of reaction intermediates, and the metal's electronic structure. Additionally, the cathode surface must support electroactive biofilm formation and promote direct electron exchange with electroactive microorganisms.

6.4 Conclusion

This study demonstrates that bimetallic oxides significantly influence the metabolic activities of microbial populations, including methanogenic, acetogenic, and chain-elongating microorganisms. In particular, experimental results show that FeSnO bimetallic oxide significantly enhances the production of carboxylic acids by stimulating the metabolic activity of acetogenic and chain-elongating microorganisms. In H_2/CO_2 bottle tests, FeSnO promoted the activity of these populations. In the MES cell equipped with carbon felt-supported FeSnO cathode a 4-fold increase in butyrate and caproate production was observed, with maximum selectivities of 53% and 10%, respectively. These improvements are attributed to FeSnO ability to facilitate electroactive biofilm formation, enhance interspecies electron transfer, and catalyze production of H_2 and, potentially, ethanol, which serve as key intermediates in chain elongation. FeSnO cathode coating likely facilitated direct CO_2 reduction to acetate by electroactive acetogens. Overall, this work highlights

the potential of bimetallic oxides to direct microbial metabolism and improve the efficiency of CO₂ to multi-carbon compounds conversion. Further research should focus on detailed characterization of microbial populations in the biofilm colonizing the cathode and in the catholyte to clarify the role of FeSn bimetallic oxide on microbial populations. An increase in butyrate and caproate selectivity might be achieved by optimizing CO₂ supply, catholyte pH, and cathode potential.

CRedit authorship contribution statement

Tambakassi Mihin: Writing – review & editing, Writing – original draft, Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation, Conceptualization. **Oumarou Savadogo:** Writing – review & editing, Methodology, Formal analysis, Conceptualization. **Boris Tartakovsky:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Validation, Supervision, Project administration, Methodology, Funding acquisition, Formal analysis, Conceptualization.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgement

We are thankful to Dr. Lars Schreiber (National Research Council of Canada) for amplicon sequences analysis and the insightful discussions that helped to better relate potential links between bioelectrochemical performance and microbial populations.

CHAPITRE 7 ARTICLE 3 : ENHANCING MICROBIAL ELECTROSYNTHESIS OF FATTY ACIDS FROM CARBON DIOXIDE BY COMBINING BIOAUGMENTATION OF AN ACETOGENIC ENRICHMENT AND Fe-Sn OXIDE CATHODE COATING

Tambakassi Mihin, Lars Schreiber, Oumarou Savadogo, Boris Tartakovsky

Published in: RSC Advances

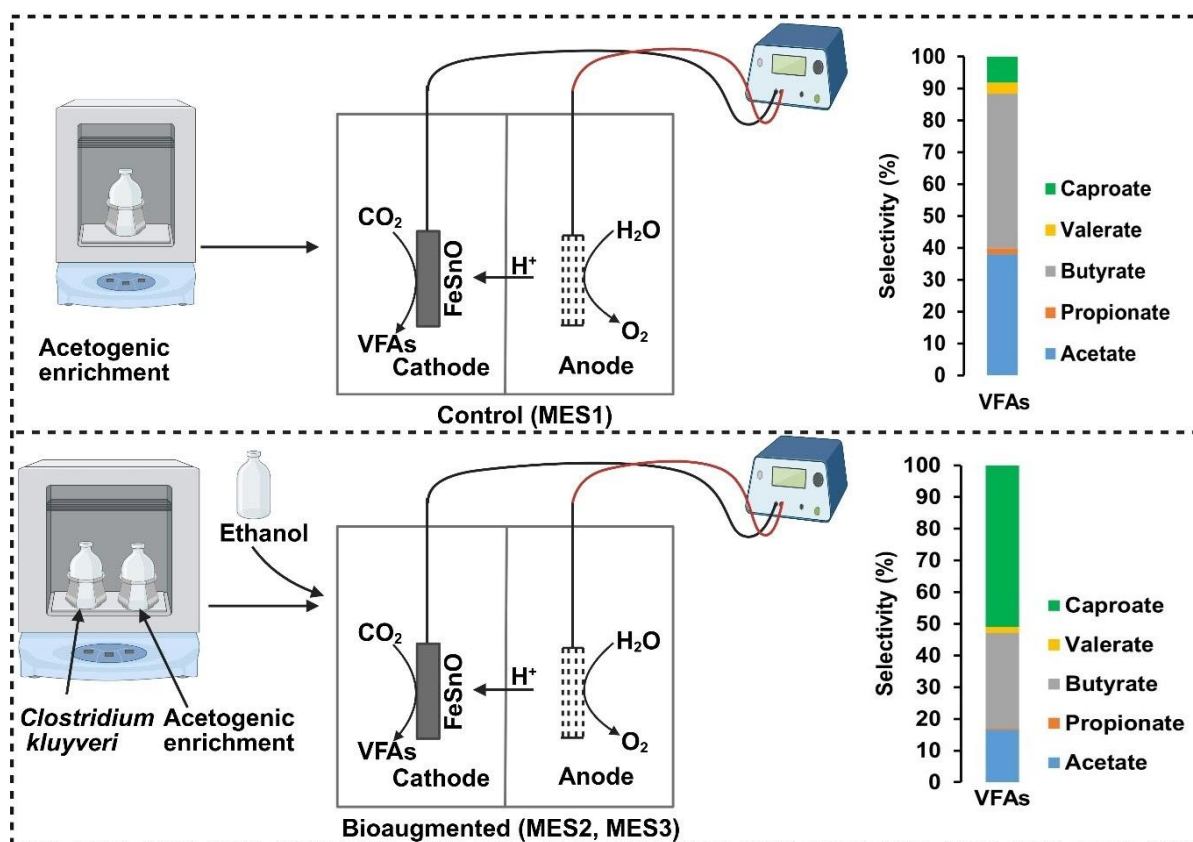
Publication date: March 12, 2026

Abstract

This study evaluated the impact of bioaugmenting a mixed acetogenic enrichment with *Clostridium kluyveri* on CO₂ reduction to fatty acids, specifically butyrate and caproate, in a microbial electrosynthesis (MES) cell equipped with an FeSn oxide - coated cathode. Without bioaugmentation, at a volumetric CO₂ inflow of 1.67 L_{CO2} (L_c d)⁻¹ (per cathode chamber volume) approximately 86% of the CO₂ was converted to the target products leading to maximum production rates of butyrate and caproate of 875 mg (L_c d)⁻¹ and 94 mg (L_c d)⁻¹, respectively. With inoculum bioaugmentation and ethanol supplementation, CO₂ conversion reached 85% at a higher inflow rate of 2.78 L_{CO2} (L_c d)⁻¹ and the production of butyrate and caproate reached 733 mg (L_c d)⁻¹ and 792 mg (L_c d)⁻¹ respectively. Biomolecular analysis of microbial populations confirmed the proliferation of the bioaugmented *C. kluyveri* in cathodic biofilms and liquid, however only under an external ethanol supply. In addition, the MES cells also featured a significant quantity of the chain-elongating bacterium *Megasphaera sueciensis*. Initial microbial conversion of H₂ and CO₂ in the cells was most likely carried out by a so-far undescribed representative of the Bacillota BRH-c20a clade. Overall, this study demonstrates that by combining advanced cathode materials, such as FeSn bimetallic oxide, with a specialized bioaugmented microbial consortium a high rate of butyrate and caproate production from CO₂ can be achieved.

Keywords: Microbial Electrosynthesis; Bioaugmentation; *Clostridium kluyveri*; chain elongation, FeSn bimetallic oxide.

Graphical Abstract



7.1 Introduction

Microbial electrosynthesis (MES) has emerged as a promising carbon capture and utilisation technology for the bioelectrochemical conversion of CO₂ into value-added chemicals [359]. MES uses electroactive (cathodophilic) microorganisms to catalyze the reduction of CO₂ using electrons supplied by a cathode. Compared to electrochemical and thermochemical CO₂ reduction processes, MES operates under milder temperature and pH conditions. Furthermore, the Faradaic and CO₂ conversion efficiencies of MES cells are significantly higher. Most interestingly, MES enables the integration of CO₂ reduction with microbial chain elongation to produce upper chain fatty acids (UCFAs), such as butyric and caproic acids, which are used in various applications including chemical precursors for antimicrobial agents, bioplastics, biofuels, food additives [38], [360].

Despite its potential, MES faces several challenges that limit process scale-up. Key limitations include low current density, slow bioreaction rates, and a broad spectrum of products resulting from the metabolic diversity of mixed microbial communities commonly used in MES cells. Recent attempts to address these limitations include studies dedicated to optimizing cathode materials [11], [361], [362], [363], [364] and developing microbial populations capable of efficient electron transfer and improved product specificity [365], [366], [367]. In this context, the development of biocompatible and highly conductive cathode materials, such as carbon-based electrodes modified with metal oxides, has shown promise in improving biofilm formation and electron transfer efficiency [28], [368], [369], [370].

In addition to cathode material selection, the composition of the microbial community plays a crucial role in determining MES performance. Strategies such as bioaugmentation in which specific microbial strains are introduced, have been explored to enrich acetogenic populations and suppress methanogenic activity, thereby enhancing the production of target compounds, like acetate and UCFAs [12], [36], [183], [371], [372], [373], [374]. Introducing a pure strain of chain-elongating bacteria to a mixed acetogenic population can improve chain elongating efficiency and product yield, as the newly introduced strain might have higher specificity for elongation pathways, leading to more consistent and predictable production of UCFAs [36]. The resulting bioaugmented microbial community may become more efficient, with enhanced key metabolic functions. However, the introduced strain could outcompete native species or disrupt syntrophic interactions essential for CO₂ conversion, thereby disturbing the natural microbial population balance.

Additionally, maintaining the added strain under mixed-culture conditions requires careful control of environmental parameters (e.g., pH) and nutrient availability to sustain its desired activity. As a result, the activity of the acetogenic population may be negatively affected. Overall, the success of bioaugmentation is not guaranteed, as it strongly depends on the compatibility of the introduced strain with the existing microbial community and the operational conditions of the MES system [35].

Our recent study has shown the positive impact of an FeSn bimetallic oxide cathode on the reduction of CO₂ to fatty acids, especially butyrate and caproate, by an acetogenic enrichment [370]. To further improve MES performance, the present study investigated bioaugmentation of this enrichment with *Clostridium kluyveri* [106]. Unlike other members of the genus *Clostridium*, *C. kluyveri* lacks the genetic repertoire for CO₂ fixation via the Wood–Ljungdahl pathway and therefore cannot grow autotrophically using H₂ and CO₂ as sole substrates [375]. Although frequently detected in MES systems targeting UCFA production (e.g. [36], [376]), its role in these systems is typically restricted to chain elongation, as it cannot obtain electrons directly from the cathode [377]. Importantly, *C. kluyveri* requires both ethanol and acetate as substrates for growth and energy generation, carrying out reverse β -oxidation that converts these precursors to butyrate and caproate [378]. By integrating advancements in cathode material design, particularly FeSn bimetallic oxide coating, and microbial community engineering, this study aims to contribute to the optimization of MES systems for efficient and selective CO₂ conversion to UCFAs.

7.2 Materials and methods

7.2.1 MES setup and operating conditions

Three MES cells were operated (MES1, MES2 and MES3), each with a 180 mL cathode compartment volume and a 50 mL anode compartment volume. The cells had a flat plate design with the anode and cathode compartments separated by a Nafion® 211 membrane (Nafion 211, IonPower, Tyrone, PA, USA) with a surface area of 35 cm². The membrane was covered by nylon cloth on both sides to provide protection from accidental damage during electrode installation, as described elsewhere [321]. All MES cells used FeSn bimetallic oxide (FeSnO)-coated carbon felt cathodes and Ti/mixed metal oxide mesh anode as described previously [370]. The cells were operated with a continuous supply of catholyte and anolyte solutions, and gaseous CO₂. The catholyte was continuously supplied using a 50 mL syringe pump at a flow rate of 10 mL d⁻¹, while

the anolyte solution was fed by a peristaltic pump at an average flow rate of 22 mL d⁻¹. Catholyte fed to MES2 and MES3 cells contained variable ethanol concentrations as specified in Table 7.1.

Catholyte pH was maintained at 6 ± 0.1 for MES1 and at 6.5 ± 0.1 for MES2, MES3 cells using a pH probe installed in the external recirculation loop, a pH controller, and a peristaltic pump, which added 2 - 5 mL d⁻¹ of 0.5M phosphoric acid. Based on the catholyte and pH control streams, an average retention time (HRT) of 13 ± 1 days was maintained in the cathode compartments of all MES cells. The catholyte temperature was maintained at 32.5 ± 1 °C by a temperature controller using a rope heater attached to the external recirculation loop and a temperature probe placed inside the cathode compartment. Gaseous CO₂ was continuously supplied into the cathode compartment through a sparger using a peristaltic pump. Additionally, H₂ was supplied during the startup phase to obtain a H₂/CO₂ ratio of 4:1.

The MES cells were operated in constant current mode using a power supply (DC Power supply, PW18-1.8AQ, TEXIO Kenwood, Japan). MES1 was inoculated with 100 mL of an acetogenic enrichment described below. For MES2 and MES3, the same acetogenic enrichment was bioaugmented with *C. kluyveri* culture at approximately 25 % of the total inoculum volume. The MES2 and MES3 cells were started after the completion of the MES1 cell and were operated under identical conditions to evaluate the reproducibility of the bioaugmentation approach. Table 7.1 summarizes the phases of operation for all MES cells, including the corresponding H₂, ethanol, and CO₂ flow rates, and the applied current.

Table 7.1 Phases and operating parameters of MES cells.

MES cell	Phase		Interval (day)	Current		CO ₂ (mL d ⁻¹)	H ₂ (mL d ⁻¹)	Ethanol (mg (L _c d) ⁻¹)
				mA	A m ⁻²			
MES1	Acclimatization	1	0-8	0	0	200	800	0
	Switch to current supply	2	8-15	30	3.1	200	0	0
	Ramp-up of CO ₂ and current supply	3	15-22	50	5.2	200	0	0
		4	22-29	50	5.2	300	0	0
		5	29-45	80	8.3	300	0	0
MES2 and MES3	Acclimatization	1	0-8	0	0	200	800	300
	Switch to current supply	2	8-15	50	5.2	300	0	300
		3	15-22	50	5.2	300	0	0
	Ramp-up of CO ₂ and current supply	4	22-34	80	8.3	300	0	0
		5	34-50	80	8.3	300	0	900
		6	50-59	120	12.5	400	0	900
		7	59-69	140	14.6	500	0	900

7.2.2 Microbial enrichment and pure culture preparation

A mixed microbial enrichment containing acetogenic and chain elongating microorganisms was used as an inoculum. The development of this enrichment is described elsewhere [370]. The enrichment was maintained at 35 °C on a rotary shaker in 120 mL serum bottles with H₂/CO₂ headspace. The bottle headspace was flushed with H₂/CO₂ (80:20 vol/vol) once a week. To maintain the mixed microbial consortium of acetogenic and chain elongating bacteria, the culture was transferred to a new set of bottles containing *P7* growth medium (pH 6.0) once a month.

A culture of *C. kluyveri* DSM 555 obtained from the Leibniz Institute DSMZ (Braunschweig, Germany) was used to bioaugment the acetogenic inoculum of the MES2 and MES3 cells. A 60 mL serum bottle of this culture was carefully maintained in a Brunswick shaker incubator at 35 °C, with continuous agitation at 120 rpm to ensure optimal growth conditions and metabolic activity. A volume of 20 mL of this culture was added under a biological hood to 100 mL of *C. kluyveri* medium then flushed with N₂/CO₂ (80:20 vol/vol) for 5 min. The 500 mL serum bottles were placed in a Brunswick shaker at 35°C with shaking at 120 RPM. *P7* and *C. kluyveri* culture media composition are provided in Annexe B.

7.2.3 Electrochemical measurements

Electrochemical characterization, including voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy (EIS), was conducted using a CHI 760C potentiostat (CH Instruments, Bee Cave, TX, USA). Data acquisition and analysis were performed with the CHI version 20.01 software. An Ag/AgCl (+0.199 V vs. reversible hydrogen electrode, RHE, CH Instrument, Bee Cave, TX, USA) electrode was inserted into the cathode compartment during electrochemical characterization and served as a reference, while a dimensionally stable anode located in the anode compartment was used as a counter-electrode.

7.2.4 Analytical methods and calculations

The composition of the cathode and anode off-gas of the MES cells was analyzed using a gas chromatograph (HP 6890 C, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA). Volatile fatty acids (VFAs) and alcohols were also analyzed by gas chromatographs (Agilent 6890 N, Santa Clara, CA, USA) and (Agilent 6890 N, Wilmington, CA, USA), respectively. Method details can be found elsewhere [320]. The flow rate of the cathode compartment off-gas was measured using gas flowmeter

(MilliGascounter, PMMA, Ritter, Germany). Dissolved CO₂ concentration was measured by a headspace method after sample acidification as described in the Annexe B.

The catholyte solution consisted of mineral compounds, trace metals, vitamins, and yeast extract. A 0.05 M potassium phosphate solution was used as the anolyte. Detailed composition of all solutions is provided in the Annexe B.

Coulombic Efficiency (CE) was calculated as:

$$CE (\%) = \frac{F \sum_j (\chi_j n_j)}{F \chi_E n_E + \int_t^{t+1} I dt} \cdot 100 \quad 7.1$$

where F is the Faraday constant (984,851 C/mol), χ_j is the amount of chemical j (mol) (χ_E corresponds to ethanol), n_j is the number of electrons required for the production of j -th chemical (n_E corresponds to ethanol) from CO₂, and I is the current.

Production rates (P , in mg (L_c d)⁻¹) of each measurable VFA were calculated based on their concentrations in the anode and cathode compartments and the corresponding liquid flow rates for each compartment.

$$P_j = \frac{C_{cj}Q_c + C_{aj}Q_a + \Delta C_{cj}V_c + \Delta C_{aj}V_a}{V_c} \quad 7.2$$

where C_{cj} and C_{aj} are the concentrations of j^{th} VFA in the cathode and anode compartments, respectively (mg L⁻¹); Q_c and Q_a are the flow rates of the catholyte and anolyte, respectively (L d⁻¹); V_c and V_a are the cathode and anode compartment volumes (L); ΔC_{cj} and ΔC_{aj} are the concentration difference between two last measurements of j^{th} VFA in the cathode and anode compartments, respectively.

VFA production selectivity (Se) was defined as the fraction of total electrons used for the production of a specific VFA relative to the total number of electrons in VFAs:

$$Se (\%) = \frac{\chi_j n_j}{\sum_j (\chi_j n_j)} \cdot 100 \quad 7.3$$

where χ_j is the amount of j -th VFA (mol), n_j is the number of electrons required for production of j -th VFA from CO₂.

The CO₂ removal efficiency (E_{CO_2}) was calculated as follows:

$$E_{CO_2} = \frac{F_{CO_2}^{in} - F^{cat} C_{CO_2} - C_{CO_2}^{aq}}{F_{CO_2}^{in}} \cdot 100 \quad 7.4$$

where $F_{CO_2}^{in}$ is the flow rate of pure CO_2 supplied to the cathode ($mL\ d^{-1}$), F^{cat} is the cathode off-gas flow ($mL\ d^{-1}$), $C_{CO_2}^{aq}$ is dissolved CO_2 in solution ($mL\ d^{-1}$), and C_{CO_2} is the fraction of CO_2 in the cathode off-gas.

7.2.5 Microbial community analysis

The acetogenic inocula, the catholytes, and the cathodic biofilms samples were kept frozen at $-30^\circ C$ until biological analysis. Microbial genomic DNA was extracted using the DNeasy PowerLyzer PowerSoil Kits from Qiagen (Hilden, Germany) following the manufacturer's guide. Genomic DNAs were quantified using the Qubit 1X dsDNA HS assay kit (ThermoFisher Scientific). Microbial community of the samples was characterized by amplicon sequencing of nearly full-length 16S rRNA genes, amplified using the primers 27F (5'-AGRGTITYGATYMTGGCTCAG-3') [379] and 1492R (5'-RGYTACCTTGTTACGACTT-3') [380]. Amplicons were sequenced by Circular Consensus Sequencing (CCS) on a PacBio sequencing platform. Amplicon generation and sequencing were carried out at the Integrated Microbiome Resource facility (Dalhousie University, Canada). Amplicon sequences were analyzed following the longread workflow of the DADA2 pipeline (version 1.32) [381]. Amplicon sequence variants (ASVs) generated through the pipeline were taxonomically classified using the dada2-internal implementation of the RDP Naive Bayesian Classifier [382], and using representative 16S rRNA gene sequences of the SILVA database (NR99 v138.2; [383]).

Downstream analyses of ASV count tables were carried out in R (v4.4.1; <http://www.r-project.org>) using (i) the tidyverse package read (v2.1.5 and v1.3.1) [384], and the Bioconductor (www.bioconductor.org) package ShortRead (v1.62.0) [385] for data wrangling; and (ii) the tidyverse package ggplot2 (v2.5.2) for visualizing prominent ASVs. The obtained ASVs were aggregated at the species level using PhyloSeq (v1.48.0) [386] using prior to data analysis.

The sequencing data for this study have been deposited in the European Nucleotide Archive (ENA) at EMBL-EBI under accession number PRJEB106961 (<https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/view/PRJEB106961>).

The catholytes of MES2 and MES3 were periodically sampled to quantify the *C. kluyveri* population by droplet digital PCR (ddPCR). To this end, genomic DNA was extracted and

quantified as before. ddPCR reactions were prepared with primers targeting *C. kluyveri* (forward: 5'-CAAGCCTGGTAGTTGATACG-3'; reverse: 5'-TTAAAGGCCCTCTGTACTCC-3') [387], along with ddPCR supermix (BioRad Laboratories), and DNA templates. Reactions were partitioned into droplets using QX200 droplet generator, followed by thermal cycling under standard cycling conditions (initial denaturation at 95°C for 5 min followed by 40 cycles of 95°C for 30 sec, 59°C for 60 sec, 72°C for 30 sec; cooling at 4°C for 5 min followed by a final extension at 90°C for 5 min then a 4°C hold; ramp rate = 50% (2°C/sec)). Droplets were read using the QX200 Droplet Digital reader, and data was analyzed with QuantaSoft™ software (Bio-Rad) to determine the absolute abundance of *C. kluyveri* genome copies on Poisson statistics. Additional details are provided in Annexe B.

7.3 Results and discussion

7.3.1 Impact of CO₂ flow and applied current

Throughout the experiments, the impacts of CO₂ flow and applied current were investigated by a stepwise increase of the CO₂ inflow and a simultaneous increase in the applied current to provide a sufficient supply of electrons for microbial metabolic activities leading to CO₂ reduction to VFAs (Table 7.1). The experiments were carried out in distinct phases. Immediately after inoculation, H₂ (800 mL d⁻¹) and CO₂ (200 mL d⁻¹) were supplied to all MES cells to serve as sources of electrons and inorganic carbon, respectively, and promote initial microbial growth (Phase 1). During this acclimation and biofilm growth phase, the current was set to zero. In Phase 2, a current was applied to all MES cells, replacing H₂ as the electron donor. For MES1, the current density was fixed at 3.1 A m⁻² and the CO₂ flow rate was maintained at 200 mL d⁻¹. In Phases 3 – 5, the current was gradually increased to 8.3 A m⁻² and the CO₂ flow rate was increased to 300 mL d⁻¹. Such gradual increase in CO₂ supply and applied current was implemented to allow the acetogenic enrichment (inoculum) to gradually adapt to the changing cathodic conditions, where the cathode provides electrons and/or H₂, and avoid inhibition of acetogenic and chain-elongating microbial activity by excessive cathode potential and high concentrations of dissolved CO₂ and H₂ [101]. This approach also enabled the evaluation of steady-state performance at the end of each phase, facilitating the analysis of product selectivity in relation to operating conditions.

For MES2 and MES3, based on the fast adaptation to current during Phase 1 observed for MES1 (which was operated earlier), the current density was set to 5.2 A m⁻² and the CO₂ flow rate to

300 mL d⁻¹ (Phase 2). The current and CO₂ flow rate were then gradually increased reaching 14.6 A m⁻² and 500 mL d⁻¹, respectively in Phase 7. In contrast to MES1, MES2 and MES3 were fed with ethanol during Phases 1, 2 and then Phases 5 - 7 to support chain-elongation by *C. kluyveri*. The impact of ethanol and *C. kluyveri* on VFA production will be discussed later. Notably, the MES1 inoculum was not bioaugmented with *C. kluyveri* and provided with ethanol, as it was intended to be used as a “negative control” to evaluate the impact of this chain-elongating strain on butyrate and caproate formation and assess whether the native microbial community alone could accomplish CO₂ reduction and chain elongation to caproate. Thus, MES1 provided a baseline for comparison with MES2 and MES3.

In the absence of current, the CO₂ consumption rate was low for all three MES cells (< 60 %; Figure 7.1A). For MES1, when current was applied and the CO₂ flow rate was set to 200 mL d⁻¹ (1.11 L (L_c d)⁻¹), over 90% CO₂ was consumed, corresponding to a CO₂ consumption rate of 1.0 L (L_c d)⁻¹. However, CO₂ consumption decreased to 86 % when the CO₂ flow rate was increased to 300 mL d⁻¹ (1.67 L (L_c d)⁻¹) and the current density was increased to 8.3 A m⁻² (Phase 5). This decrease in CO₂ removal suggests that under these operating conditions the maximum rate of CO₂ uptake for MES1 had been reached, corresponding to 1.43 L (L_c d)⁻¹, and that CO₂ reduction became limited by microbial metabolism.

It should be noted that CO₂ transfer to liquid could also have limited its rate of uptake. Indeed, dissolved inorganic carbon (CO₂ and carbonate) measurements (detailed method description provided in Annexe B) showed low concentration (< 0.2 g L⁻¹) of inorganic carbon in liquid at all tested CO₂ flow rates and in all MES cells. Such low concentration can be attributed to fast CO₂/carbonate consumption by acetogenic bacteria. At the same time, as will be emphasized later in the discussion, higher CO₂ uptake rates were observed for MES2 and MES3, while dissolved CO₂ and bicarbonate concentrations were similar, thus suggesting that microbial metabolism was the main limiting factor in CO₂ uptake. For MES2 and MES3, the CO₂ consumption rate was relatively higher (1.57 L (L_c d)⁻¹) at a flow rate of 300 mL d⁻¹ and current density of 8.3 A m⁻². However, the CO₂ removal efficiency decreased from 94 % to 85 % (2.36 L (L_c d)⁻¹) at the highest CO₂ inflow rate of 2.78 L (L_c d)⁻¹ (500 mL d⁻¹), indicating a similar limitation due to bacterial activity. Nevertheless, this CO₂ uptake rate was 14 % higher than that of MES1.

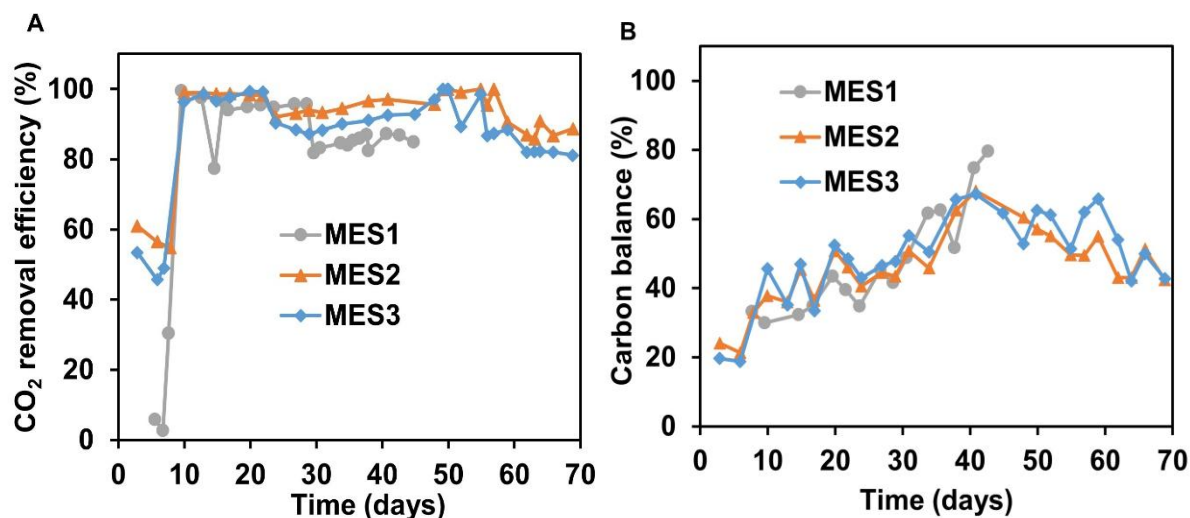


Figure 7.1 A) CO₂ removal efficiency and B) carbon balance in the MES cells under different operating conditions.

The Coulombic efficiencies (CE) were calculated for each phase of operation of the MES cells except for Phase 1 during which no current was applied (Figure 7.2). These calculations took into account the electrons supplied by the ethanol for MES2 and MES3 operation. During the operation phases 2 and 3 of MES1 (Figure 7.2A), the Coulombic efficiency remained relatively low ($60 \pm 6\%$ and $63 \pm 1\%$, respectively). CE values increased during the following two operational phases, reaching $88 \pm 1\%$ in the final Phase 5, while the CO₂ consumption rate decreased during this phase, as mentioned above. Additionally, the corresponding VFA carbon balance showed less than 50% carbon recovery (Figure 7.1B), suggesting that other unmeasured compounds may have been produced.

Since MES2 and MES3 demonstrated above 90% CO₂ consumption at a CO₂ supply of 300 mL d⁻¹, the CO₂ flow and current density in Phase 7 were increased to 500 mL d⁻¹ ($2.78 \text{ L (L}_c \text{ d)}^{-1}$) and 14.6 A m^{-2} , respectively. Overall, MES2 and MES3 showed similar performance, with minor differences observed during Phases 2 (days 8–15) and 4 (days 22–34) (Figures 7.2B, C). The Coulombic efficiencies of these cells were relatively higher compared to MES1 at the same operating conditions. During operation phases 3 and 4, MES2 and MES3 were maintained at current densities of 5.2 A m^{-2} and 8.3 A m^{-2} (CO₂ flow of 300 mL d⁻¹) and with no external ethanol supply. These operating conditions correspond to phases 4 and 5 of MES1 (Table 7.1). CE values of MES3 during Phases 3 and 4 were $99 \pm 6\%$ and $99 \pm 10\%$, respectively, while corresponding

CE values (Phase 4 and 5) for MES1 were lower ($82 \pm 2\%$ and $88 \pm 2\%$, respectively). However, when the current density was increased to 12.5 A m^{-2} (120 mA) (days 50–59; Figures 2B, C), a significant CE decrease was observed suggesting that microbial metabolic activity is not always proportional to the applied current density or that unidentified compounds were produced based on the low value of carbon recovery ($< 66\%$, Figure 7.1B).

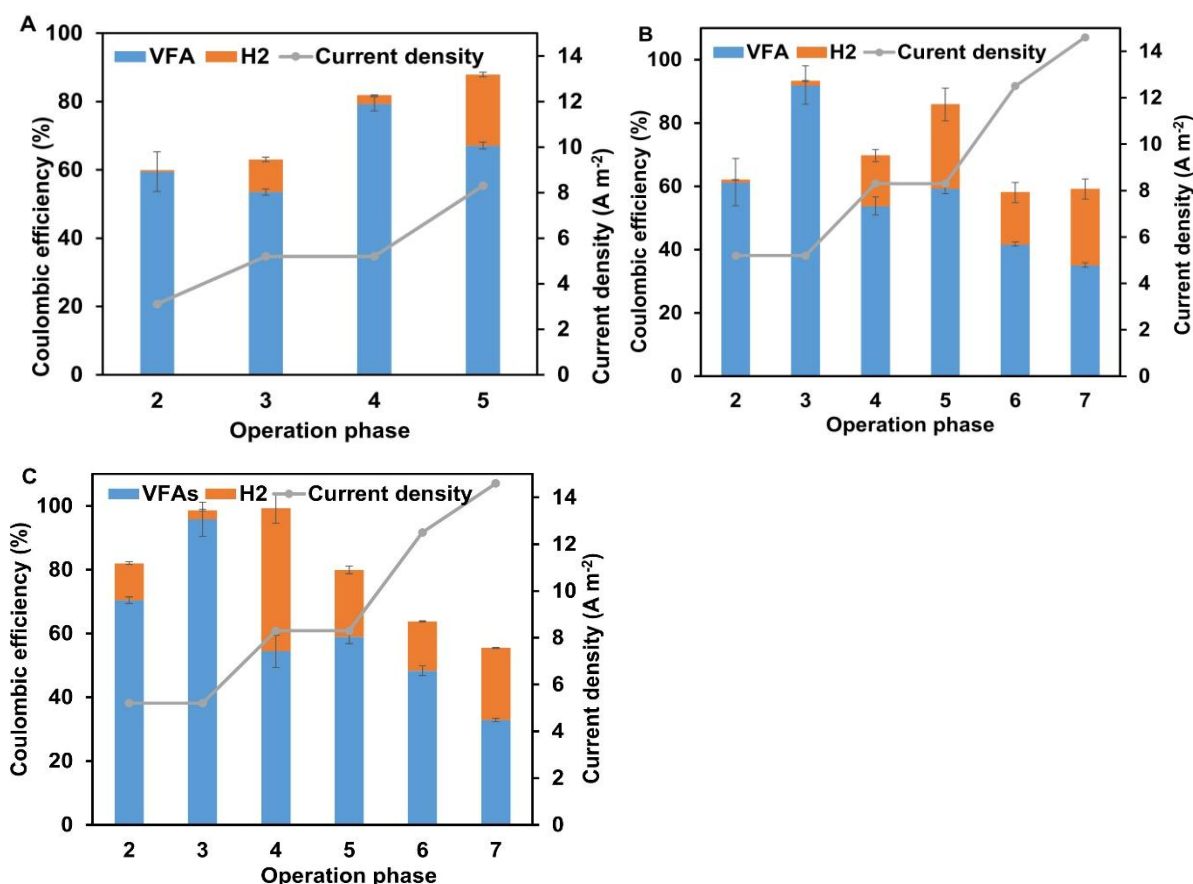


Figure 7.2 Coulombic efficiency of A) MES1, B) MES2 and C) MES3 in different operating conditions. Error bars show standard deviation of periodic analysis.

7.3.2 Distribution of VFAs

The measurable CO_2 reduction products included alcohols and VFAs in the anolyte and catholyte effluent streams. Based on analytical measurements, nearly 50% of all produced compounds were recovered in the anolyte, indicating significant diffusion of CO_2 reduction products through the Nafion membrane, most likely due to VFA concentration and pH gradients. Indeed, the anolyte pH of 1.5 – 2 might lead to VFAs protonation near the membrane thus increasing the transport of

undissociated molecules. Since the acetogenic enrichment used to inoculate the MES cells did not contain detectable methanogenic populations, CH₄ was not detected in the cathode off-gas, while C2-C6 VFAs represented the majority of recovered products, as demonstrated by the CE calculations (Figure 7.2). Measured alcohol concentrations were low (including methanol, ethanol, propanol, butanol, tertbutanol), always below 80 mg L⁻¹, although actual production may have been higher due to rapid bacterial consumption. Therefore, alcohol production was not included in the electron efficiency calculations. Hydrogen was generated in all MES cells. The Coulombic efficiency corresponding to the hydrogen released from the cathode compartment generally increased with current density but remained low compared to that of VFAs (Figure 7.2).

VFA production showed an increasing trend during almost all phases of operation of the MES1, MES2, and MES3 cells (Figure 7.3). This suggests that in response to increasing CO₂ and current supply, microbial activity increased both in the cathodic biofilm and the catholyte. In MES1, VFA production was low (< 100 mg (L_c d)⁻¹) after inoculation. Acetate production gradually increased from the start of current application, reaching a peak of 1,145 mg (L_c d)⁻¹. This highlights the impact of current (electron availability) on microbially catalyzed CO₂ reduction. After day 22 (Phase 3), the measured acetate concentration and, accordingly, acetate production decreased over time, while butyrate production, initially low, significantly increased. A maximum production rate of 875 mg (L_c d)⁻¹ was achieved on day 45 (Phase 5), indicating that chain-elongating microorganisms, which proliferated in the bulk liquid and cathodic biofilm, utilized acetate to produce butyrate (Figure 7.3A). Subsequently, caproate production increased suggesting the conversion of butyrate into caproate through the chain elongation process [388]. A maximum caproate production of 94 mg (L_c d)⁻¹ was reached on day 43 (Phase 5).

Coating of carbon-based materials is a promising approach for improving the charge transfer of biocathodes as well as the selectivity of reaction products. Several studies have demonstrated the positive impact of modifying carbon supports with various metal-based materials (CuO/g-C₃N₄/rGO, Fe_xMnO_y, Mo₂C/N, TiO₂, MnO₂) on the bioelectrochemical reduction of CO₂ by mixed microbial consortia to VFAs, especially acetate (Table 7.2) [61], [336], [338], [389], [390]. Additionally, an engineered *Clostridium ljungdahlii* used in MES cell with a Ni-P coated cathode was shown to enhance butyrate production [391]. The achieved butyrate production in that work was 100 mg (L d)⁻¹, which is much lower than that of MES1 (875 mg (L_c d)⁻¹) of the current study.

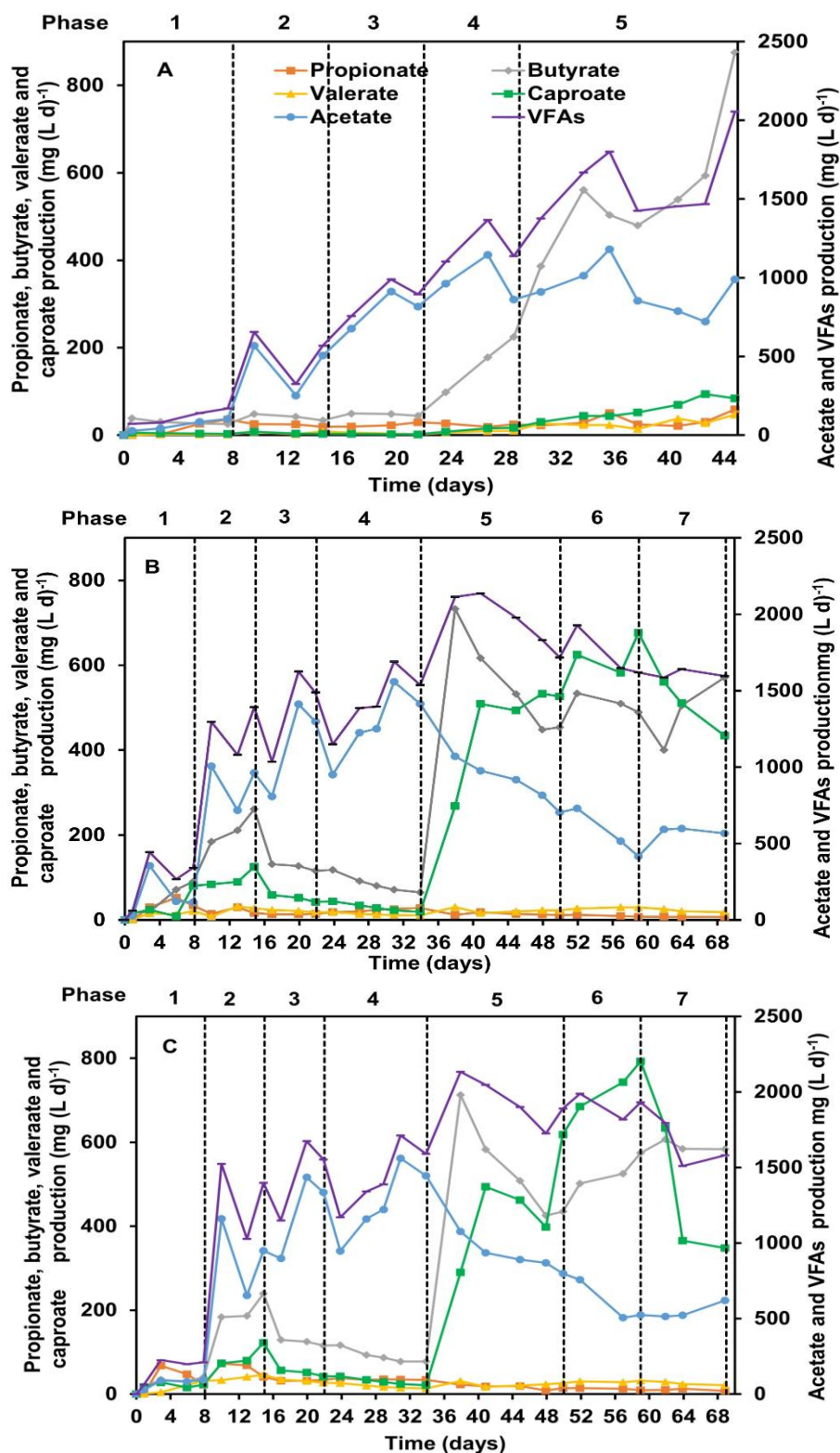


Figure 7.3 Production of VFAs in A) MES1, B) MES2 and C) MES3 under different operating conditions.

Another study demonstrated that coating a carbon felt cathode with a bimetallic oxide NiFe_2O_4 in a MES cell, improves butyrate selectivity from 37% to 95% [28]. The associated butyrate production with this cathode was $191.5 \text{ mg (L}_c \text{ d)}^{-1}$, which is still lower compared to the performance of MES1.

The FeSnO catalyst played a crucial role in facilitating both electrochemical and bioelectrochemical reactions in the MES2 and MES3 cells. Under abiotic conditions, FeSnO primarily catalyzed hydrogen production, while after inoculation with the acetogenic enrichment it enhanced electron transfer between the cathode and the electroactive biofilm. This improved electron flow supported acetogenic activity, leading to efficient acetate formation and chain elongation. Overall, FeSnO not only promoted hydrogen evolution, but also accelerated bioreaction rates by facilitating the interaction between the electrode and microbial cells, e.g. through reduced activation losses.

The trends of VFA production in MES2 and MES3 differed from those of MES1 (Figure 7.3B and C). Similar to MES1, after current application acetate production rate rapidly increased to $1,559 \text{ mg (L}_c \text{ d)}^{-1}$ and $1,561 \text{ mg (L}_c \text{ d)}^{-1}$ in MES2 and MES3, respectively. Unlike MES1, the production rate of butyrate and caproate increased simultaneously suggesting efficient acetate chain elongation by *C. kluyveri*, using ethanol as an electron donor [378] [318]. From day 15 (end of Phase 2), ethanol addition was stopped, causing a sharp decrease in butyrate and caproate production and confirming that, as expected, ethanol was the main electron donor for acetate conversion by *C. kluyveri*. Compared to similar phases during the operation of MES1, butyrate and caproate production remained low in the absence of ethanol despite an increase in current density to 8.3 A m^{-2} . Upon resumption of ethanol feeding at a higher flow rate ($900 \text{ mg (L}_c \text{ d)}^{-1}$), in Phase 5 (days 34–50), butyrate and caproate production rapidly increased. The butyrate production rate reached $733 \text{ mg (L}_c \text{ d)}^{-1}$ in MES2 and $713 \text{ mg (L}_c \text{ d)}^{-1}$ in MES3 by day 38. Subsequently, caproate production rate peaked at the end of Phase 6 (day 59), reaching $676 \text{ mg (L}_c \text{ d)}^{-1}$ in MES2 and $792 \text{ mg (L}_c \text{ d)}^{-1}$ in MES3. Importantly, in both cells ethanol feed did not affect the rate of CO_2 uptake. By the end of the last operational Phase 7, corresponding to a current density of 14.6 A m^{-2} , the caproate production rate decreased, while the butyrate production rate minimally increased. Also, acetate production (and therefore steady-state concentration) somewhat increased.

7.3.3 The impact of bioaugmentation with *C. kluyveri* and ethanol addition on butyrate and caproate production

In the MES1, acetate was the main VFA produced during the first 29 days of operation (Phases 1-4). Subsequently, increased chain elongation was observed between days 29-45 (Phase 5), where the production rate of butyrate and caproate reached $875 \text{ mg (L}_c \text{ d)}^{-1}$ and $94 \text{ mg (L}_c \text{ d)}^{-1}$, respectively. The corresponding average selectivities for butyrate and caproate were estimated at $49 \pm 2\%$ and $9 \pm 2\%$, respectively (Figure 7.4A). Also, the maximum ethanol concentration observed during this period was 72 mg L^{-1} . Phase 5 corresponded to MES1 operation at an increased current density of 8.3 A m^{-2} (Table 7.1). It can be hypothesized that in this phase ethanol produced through solventogenesis from acetate and/or electrochemically from CO_2 was used as an electron source for the conversion of acetate to butyrate and caproate.

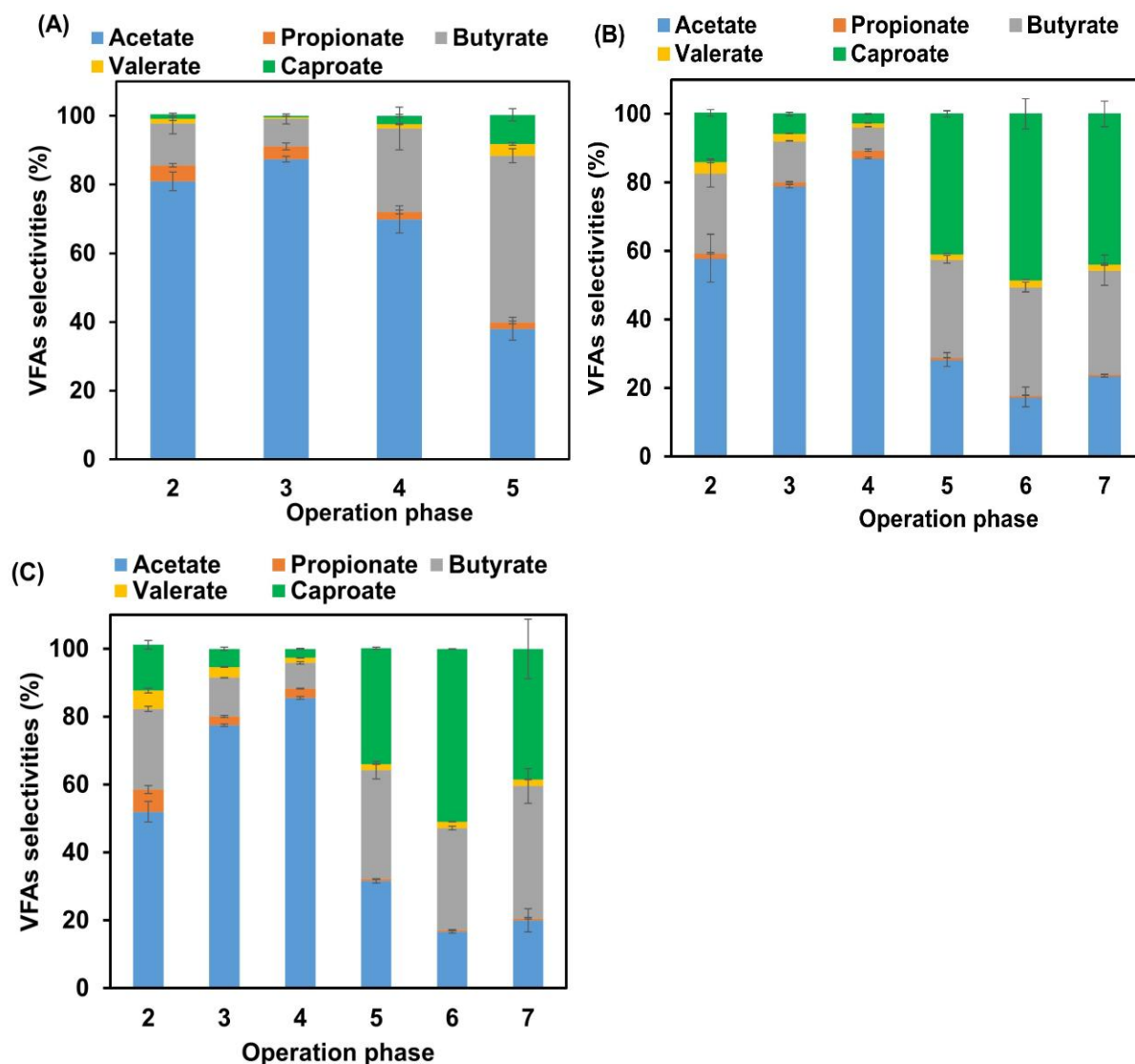


Figure 7.4 Selectivity of VFAs in A) MES1, B) MES2 and C) MES3 experiments under different operating conditions.

The impact of bioaugmentation with *C. kluyveri* and ethanol addition on CO₂ reduction to butyrate and caproate was assessed during the operation of MES2 and MES3. Unlike MES1, butyrate and caproate production was already significant from the start of the MES2 and MES3 operation and during Phases 1 and 2. However, when the ethanol supply was stopped (Phases 3 and 4), the concentrations (and therefore the production) of these VFAs immediately declined. Accordingly, during Phase 4 (days 22–34), the production rates of butyrate and caproate in MES2 and MES3

were lower than in MES1. This decline suggests that the chain elongating microbial populations in MES1 evolved to be less dependent on ethanol. In the absence of ethanol supplied to MES2 and MES3, the population of *C. kluyveri* declined compared to its initial density (Figure 7.5), confirming its dependence on exogenous ethanol. These observations indicate that ethanol production by the mixed acetogenic consortium and/or through the electrocatalytic activity of the FeSnO cathode coating was insufficient to sustain the metabolic activities of *C. kluyveri*. At the same time, chain-elongating bacteria within the mixed microbial consortium were likely better adapted to low ethanol availability and/or capable of using the cathode as an electron source [376].

To support growth and metabolic activity, between days 34 – 69 (Phases 5-7), ethanol supply to MES2 and MES3 resumed at a load of $900 \text{ mg (Lc d)}^{-1}$, resulting in renewed chain elongation and, consequently, higher concentrations of butyrate and caproate. Also, based on ddPCR monitoring of catholyte, proliferation of *C. kluyveri* was confirmed throughout these phases (Figure 7.5). Notably, caproate production in MES2 and MES3 increased 6 and 5-fold, respectively, compared to a similar period of MES1 operation (days 29–45). The highest average selectivities were achieved during Phase 7 (days 50–59) and were estimated at $32 \pm 1\%$ (butyrate) and $48 \pm 4\%$ (caproate) for MES2, and $30 \pm 1\%$ (butyrate) and $51.0 \pm 0.1\%$ (caproate) for MES3 (Figures 7.4B and C). However, the CE calculated for VFA production remained below 50% (Figure 7.2 B and C). During phase 7 (days 59-69), the caproate production rate was decreasing, while the acetate production rate was increasing. Considering the progressively increasing density of *C. kluyveri*, which has been shown to also produce caprylate [392], caproate conversion into caprylate (C8 fatty acid) can be hypothesized [392]. However, analytical methods used in this study did not include caprylate measurements. A decrease in caproate production when the cathode potential changed from -1 V to -1.1 V/Ag/AgCl has been previously demonstrated [101] and can explain a lower caproate concentration in Phase 7. Similar results were also obtained in another study at a more negative potential of -1.2 V vs Ag/AgCl [186]. At a current density of 14.6 A m^{-2} (Phase 7), a cathodic potential of $-1.29 \pm 0.03 \text{ V vs Ag/AgCl}$, could either result in decreased caproate production or caproate conversion into caprylate (or both), thus explaining the decrease in caproate production. In this phase, the low CE ($< 65\%$) and incomplete carbon balance suggest that reaction products other than C2-C6 VFAs and H_2 were produced by other members of the mixed microbial consortium.

The addition of external electron sources like methanol and ethanol to enhance chain elongation of short and medium chain fatty acids in MES cells has been explored in various studies (Table 7.2). The conversion of CO₂ and ethanol into caproate in a MES cell using mixed microbial consortium and a carbon felt cathode has previously been demonstrated. The results showed a caproate production of $2410 \pm 690 \text{ mg (L}_c \text{ d)}^{-1}$ with a very high selectivity of $91.47 \pm 0.58\%$ [183]. However, the CE in this MES cell was low ($12.23 \pm 0.02\%$) because of high ethanol utilization. Similarly, another study examined the use of methanol as an additional electron donor in a MES cell to reduce CO₂ using a mixed microbial culture predominantly consisting of *Eubacterium* genus [76]. In this case, butyrate was the main product, reaching a production rate of $360 \pm 10 \text{ mg (L}_c \text{ d)}^{-1}$. It can be hypothesized that methanol produced by electrochemical catalysis on FeSn bimetallic oxide probably contributed to butyrate production in the three MES cells. Table 7.2 compares the performance of MES cells with that of recent work using modified electrodes.

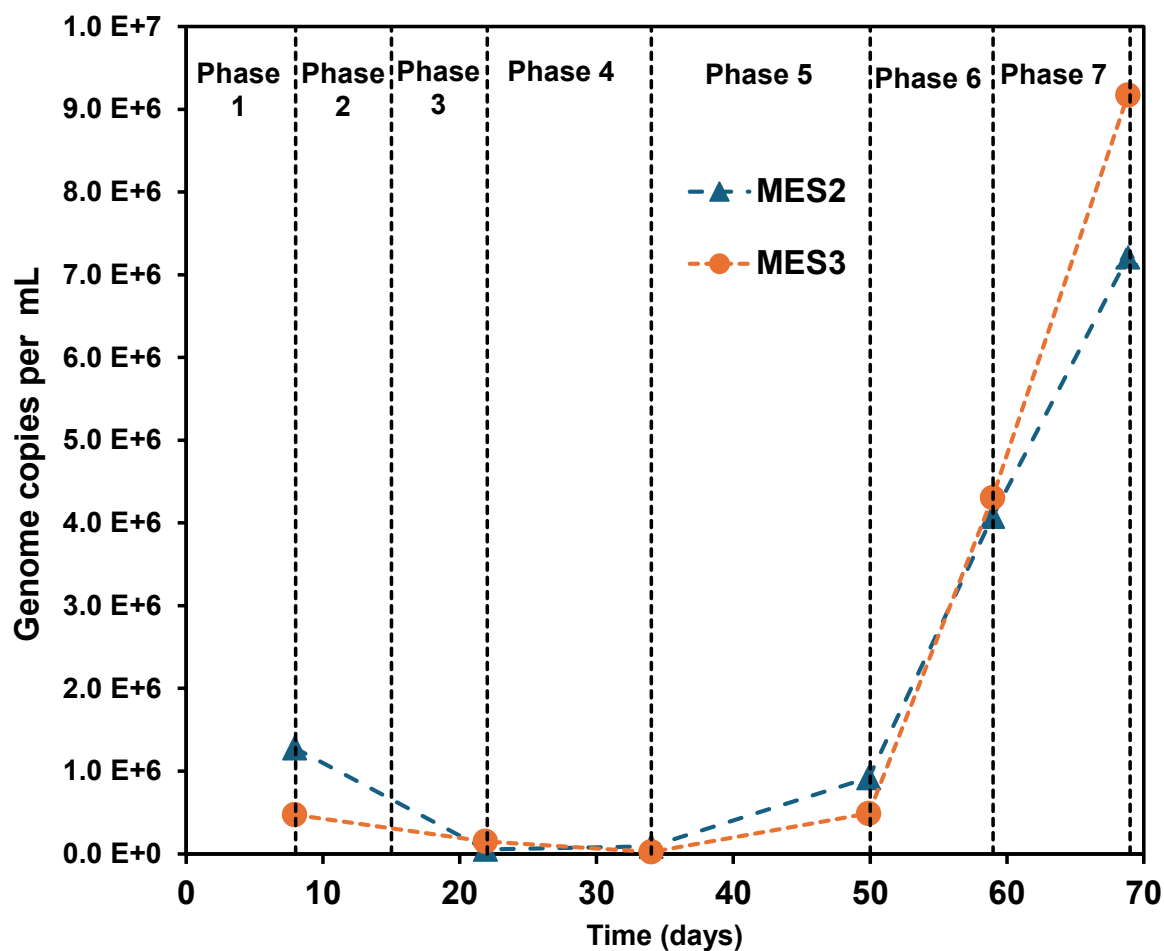


Figure 7.5 Number of genome copies of *C. kluyveri* in cathode off liquid of MES2 and MES3 as determined by ddPCR.

Table 7.2 Comparison of acetate, butyrate and caproate performance of MES cells using CO₂ as a carbon source.

Inoculum	Cathode materials	Substrates	Current	E _{cath}	VFAs production (mg (L d) ⁻¹)			VFAs Titer (mg L ⁻¹)			CE (%)	Ref.
			A m ⁻²		C2	C4	C6	C2	C4	C6	%	
Mixed culture	CuO/g-C ₃ N ₄ /rGO-CF	CO ₂	-14.8	-0.9	270	-	-	3800 ± 50	-	-	-	[390]
Enriched mixed culture	Mo ₂ C/N-LS	CO ₂	-	-1.05	150	-	-	6080	-	-	68	[389]
Enriched mixed culture	TiO ₂ -CF	CO ₂	-	-0.9	2150 ± 150	-	-	8860	-	-	72.76 ± 6.28	[61]
<i>C. ljungdahlii</i>	Ni-P-CF	CO ₂	-	-1.05	1700	100	-	1180 ± 10	670 ± 10	-	81.7	[391]
Mixed culture	NiFe ₂ O ₄ -CF	CO ₂	-0.14	-0.8	-	191.52	-	50	958	-	-	[28]
Mixed culture	Graphite granules	CO ₂ + methanol	1.3	-1.0	60 ± 20	280 ± 40	-	1300-2100	7000 ± 1000	-	77.2 ± 10.0	[76]

Raw activated sludge	CF	CO ₂ + Ethanol	10	-	-	-	2410 ± 690	1150 ± 770	1220 ± 730	7660 ± 1380	12,23 ± 0,02	[183]
Enriched mixed culture	FeSnO-CF	CO ₂	8.3	-0.95	754 ± 46	566 ± 38	89 ± 7	4459 ± 103	2819 ± 137	400 ± 37	88 ± 2	This work (MES1)
Enriched mixed culture	FeSnO-CF	CO ₂ + Ethanol	12.5	-1.05	515 ± 12	550 ± 34	768 ± 35	2343 ± 46	2845 ± 12	2519 ± 87	64 ± 2	This work (MES3)

7.3.4 Microbial community analysis

In order to characterize the microbial communities associated with the individual MES cells, the inocula, catholytes and cathode-associated biofilms were collected at the end of the experiment and were analyzed by 16S rRNA gene amplicon long-read sequencing (Figure 7.6).

The enrichment used as inoculum, originally sourced from combined dark-fermentation and anaerobic-digestion sludges, underwent successive transfers in serological bottles under a H₂ and CO₂ atmosphere, promoting a metabolic shift from chemoorganotrophy to chemolithotrophy, and thereby enriching microorganisms capable of carbon dioxide fixation. The resulting microbial community was able to produce significant concentrations of acetate and butyrate, as well as smaller amounts of propionate, valerate, and caproate. This enrichment culture primarily consisted of bacteria classified as *Megasphaera sueciensis* (ASV1; 53%), *Clostridium aciditolerans* (ASV14; 15%), *Prevotellaceae* sp. (ASV3; 13%), *Clostridium autoethanogenum* (ASV9; 13%) and a minor population of *C. ljungdahlii* (ASV23; 2%). *Megasphaera sueciensis* is a known chain elongator that has been shown to produce butyrate and caproate from acetate [393], [394]. *Clostridium aciditolerans* is an acid-tolerant fermentative bacterium that is unable to grow by homoacetogenesis [395]. *Clostridium autoethanogenum* is a well-characterized homoacetogen capable of producing acetate and ethanol from CO₂ and H₂ [396]. *C. ljungdahlii* [397] is another homoacetogen with metabolic capabilities similar to those of *C. autoethanogenum*; however, the two species differ in key physiological traits, including the ratios of produced end products (e.g., [398], [399]. The detected *Prevotellaceae* sp. sequence is most closely affiliated (99.93% sequence identity over a length of 1453 basepairs) with *Segatella asaccharophila* - a species showing enhanced growth in the presence of CO₂ and being capable of producing succinate and acetate by fermentation [400].

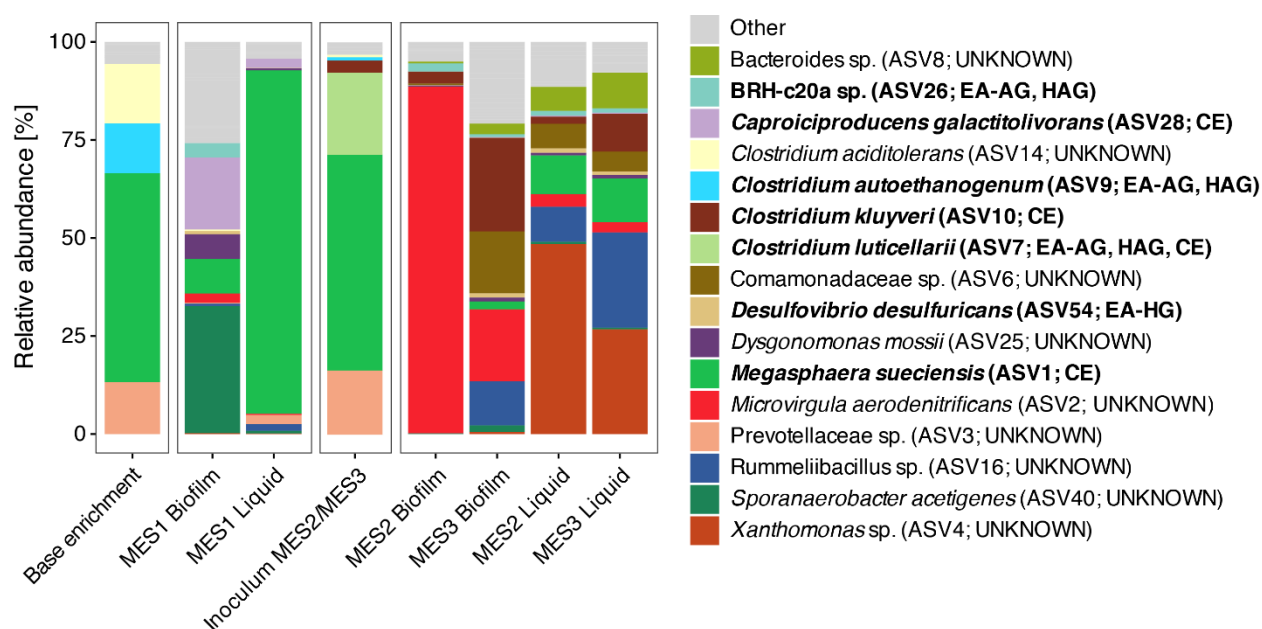


Figure 7.6 Relative abundances of the most abundant ASVs (based on the mean abundance across samples) in the base enrichment, the inoculum of MES2/MES3, and the catholyte and biofilm samples. Taxonomic identity of ASVs is color-coded. ASV identifiers and predicted function (EA-AG, electroactive acetogen; EA-HG, electroactive hydrogenogen; HAG, homoacetogen; CE, chain-elongator) within the MES cells are provided in parentheses. ASVs with a function prediction are emphasized in bold print. Please note that the presence of *C. kluyveri* in the inoculum of MES2 and MES3 represents the bioaugmentation.

Despite efforts to maintain identical enrichment conditions, the microbial composition of the enrichment culture had somewhat shifted by the time it was used to inoculate the MES2 and MES3 cells, nearly 8 months after the operation of MES1. The relative abundances of *Megasphaera sueciensis* (55%), *Prevotellaceae* sp. (16%) and *C. ljungdahlii* (1%) remained similar to the initial enrichment culture, however the population of *Clostridium aciditolerans* had been greatly reduced (1%) and *Clostridium autoethanogenum* was no longer detectable. Instead, this evolved enrichment contained a significant proportion of bacteria classified as *Clostridium laticellarii* (ASV7; 21%). *Clostridium laticellarii* is a known chain elongator that has been shown to produce butyrate, isobutyrate, and caproate from methanol and acetate [401]. It is also able to grow on H₂ and CO₂ with acetate and butyrate being the main products, and caproate being produced in trace amounts [401].

Of the bacteria dominating the inocula, only *M. sueciensis* thrived under the operating conditions of the MES cells, being detectable in all but one of the collected MES samples, and representing up to 83% of the individual microbial communities (Figure 7.6). In addition to *M. sueciensis* already enriched in the inoculum and the bioaugmentation strain *C. kluyveri*, microbial communities at the end of the experiment consisted primarily of bacterial species that were not detectable in the initial inoculum. Furthermore, the composition of the microbial communities varied considerably not only between the bioaugmented MES cells and the control, but also between the two bioaugmented replicates.

At the end of the experiment, the cathodic biofilm of the control MES1 cell was dominated primarily by *Sporanaerobacter acetigenes* (ASV40; 33%), *Caproiciproducens galactitolivorans* (ASV28; formerly *Clostridium* sp. BS-1; 18%), the aforementioned *M. sueciensis* (9%) and a bacterium identified as *Dysgonomonas mossii* (ASV41; 6%). *Caproiciproducens galactitolivorans* has previously been shown to produce H₂, CO₂, ethanol, acetate, butyrate, and caproate through fermentation of sugars and alcohols [353]. It has also been reported that this bacterium exhibits enhanced growth when co-cultured with ethanol, acetate, and butyrate producers [353]. Based on these observations, it can be hypothesized that *C. galactitolivorans* is capable of producing caproate from ethanol, acetate, and butyrate; however, experimental evidence for this metabolic capability is currently lacking. Representatives of the genus *Dysgonomonas* have previously been detected in other bioelectrical systems [402], [403], [404] suggesting that bacteria of this clade are electroactive. However, their exact role in these systems is currently still unknown. Finally, *S. acetigenes* has also previously been suggested to be electroactive [274] and has been associated with ethanol consumption in CO₂-supplemented carboxylate-fed bioreactors [405]. The microbial community of the corresponding catholyte of MES1 consisted primarily of *M. sueciensis* (88%).

The composition of the cathode biofilms between the bioaugmented MES2 and MES3 cells differed considerably despite same operating conditions for both cells. The MES2 biofilm consisted primarily of a bacterium closely affiliated with *Microvirgula aerodenitrificans* (ASV2; 88%) and the added *C. kluyveri* (ASV10; 3%). Both of these bacteria were also present in the MES3 biofilm, albeit with notably different relative abundances: *M. aerodenitrificans* (18%), *C. kluyveri* (23%). Additional noteworthy bacteria detected in the MES3 biofilm include a bacterium identified as *Rummeliibacillus* sp. (ASV16; 11%) and a bacterium identified as Comamonadaceae sp. (ASV6; 16%). Representatives of *M. aerodenitrificans* [406] and *Rummeliibacillus* sp. [407] have

previously been detected in bioelectrochemical systems, however their exact role in these systems remains unclear. The closest cultured relative of the Comamonadaceae-affiliated bacterium is *Saezia sanguinis*. *S. sanguinis* has been isolated from blood [408], and there have so far not been any reports regarding the presence of these bacteria in a bioelectrochemical or biotechnological systems.

Despite the significant differences between the cathode biofilms of the MES2 and MES3 cells, the microbial communities of the corresponding catholyte samples were surprisingly similar. Both catholyte samples were dominated by a bacterium affiliated with the Lysobacteraceae SN8 clade (ASV4; relative abundances: MES2, 49%; MES3, 27%), a clade characterized by the presence of *Xanthomonas massiliensis* SN8. Interestingly, this bacterium only represented a negligible portion (<1% relative abundance) of all the other collected samples, and can therefore be considered specific to the catholytes of the two bioaugmented MES cells. Representatives of the genus *Xanthomonas* are primarily known as plant pathogens [409], although some representatives have also been detected in engineered systems such as microbial fuel cells [410] or bioreactors [411]. The species *Xanthomonas campestris* has been shown to grow under anaerobic conditions by using extracellular electron transfer mechanisms [412]. Despite this, the role of *Xanthomonas* species in engineered systems currently unknown. Interestingly, while *Xanthomonas* in engineered systems are typically encountered in the form of biofilms (e.g. [410], [413], the *Xanthomonas* sp. detected in the present study appeared to thrive predominantly in planktonic form. In addition to *Xanthomonas*, the microbial communities of the MES2 and MES3 catholytes consisted primarily of bacterial populations also detected in cathode biofilms, such as *M. aerodenitrificans* (MES2: 3%; MES3: 3%), *Rummeliibacillus* sp. (9%; 24%), *M. sueciensis* (10%; 11%), Comamonadaceae sp. (7%; 5%), and *C. kluyveri* (2%; 10%).

7.3.5 Microbial production of caproate

Based on a simplified conceptual model for the production of the medium-chain fatty acid caproate (Figure 7.7) and the composition of the individual microbial communities, it can be attempted to reconstruct how caproate was produced in the different setups: In the base enrichment culture, *C. autoethanogenum* may have been primarily responsible for the initial conversion of H₂ and CO₂, as suggested by its elevated relative abundance. In the evolved enrichment culture used to inoculate the MES2 and MES3 cells, this initial conversion appears to have been mainly taken over by *C.*

luticellarii. Minor populations of *C. ljungdahlii* were detected at both stages and could have contributed to the conversion of H_2 and CO_2 throughout the enrichment process. The acetate, ethanol, and butyrate produced during both stages of the enrichment were most likely utilized by *M. sueciensis* for chain elongation, resulting in the production of caproate. The role of the detected Prevotellaceae sp. in the inoculum remains unresolved.

Notably, acetate conversion to caproate required the presence of ethanol. It can be hypothesized that electrochemical and microbial pathways for ethanol production coexisted (Figure 7.7). Electrochemically catalyzed ethanol production is plausible, while acetate conversion to ethanol through solventogenesis is a well-established microbial process, typically involving species such as *C. ljungdahlii* and *Clostridium autoethanogenum* [414]. However, abiotic operation of MES cells demonstrated that electrochemical CO_2 reduction resulted in very low production rates, with ethanol concentration at around 1 mg L^{-1} at a current of 30 mA. Under these conditions electrochemical production of acetate was also observed, yet acetate production was also low with a concentration of 20 - 45 mg L^{-1} . Based on these results the solventogenesis pathway appears to be the more likely mechanism. Nevertheless, the conceptual model in Figure 7.7 includes both electrochemical and microbial pathways of ethanol production.

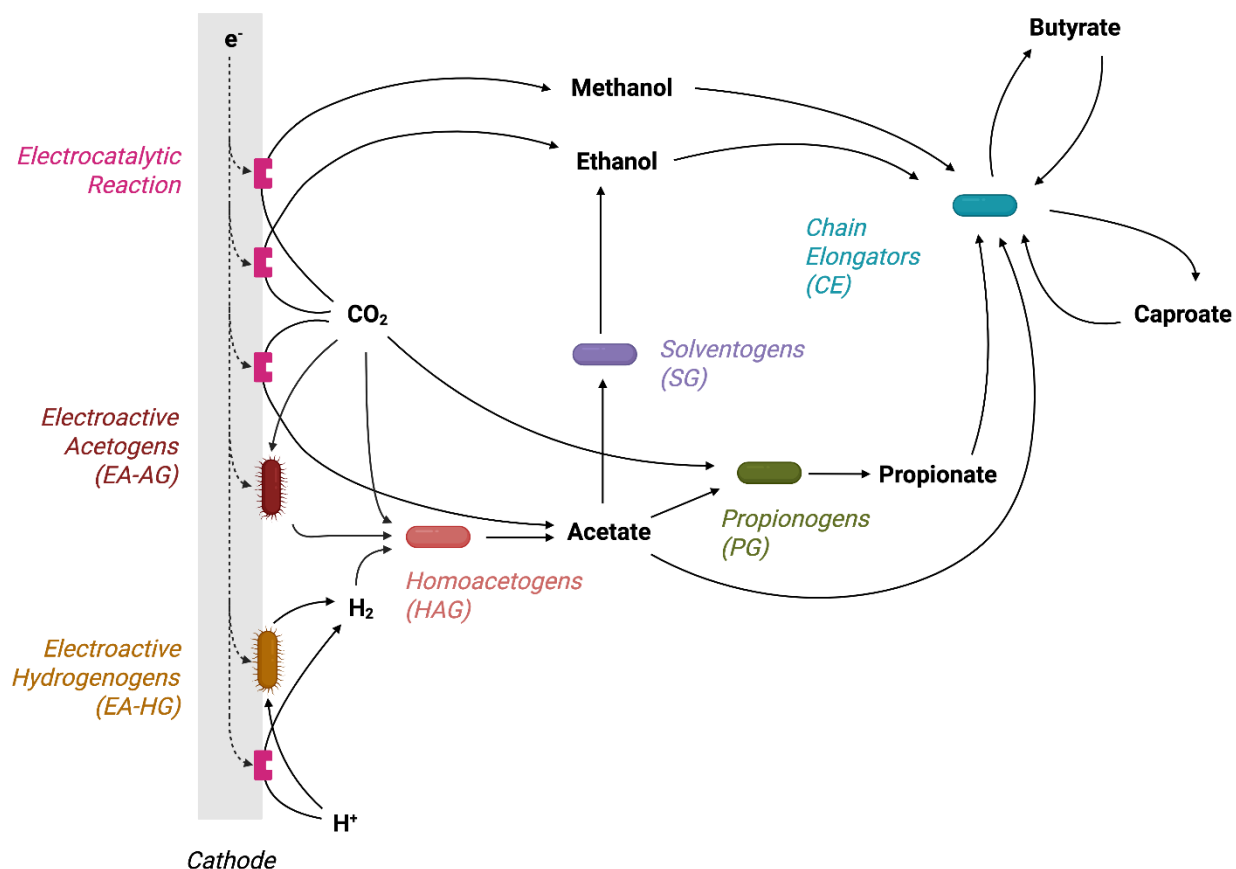


Figure 7.7 Simplified conceptual model of microbial caproate production in the MES cells.

(Created with BioRender (<https://BioRender.com>)).

Desulfovibrio desulfuricans (ASV54) accounted for approximately 1% of the bacterial community in all MES cells. Known for its electroactive hydrogen production [415], this species likely catalyzed hydrogen generation, complementing the predominantly abiotic electrochemical production expected at the applied voltages.

In the MES1 cell, it is not immediately clear how the initial CO₂ conversion to more reduced organic compounds such as acetate or ethanol proceeded. The microbial communities of MES1 did not include representatives of common homoacetogenic genera such as *Acetobacterium*, *Clostridium*, *Morella*, *Eubacterium*, *Sporomusa*, or *Ruminococcus* [46]. Furthermore, none of the dominant genera in the MES1 cell – bacteria of the genera *Sporanaerobacter*, *Caproiciproducens*, *Megasphaera*, and *Dysgonomonas* - have previously been shown to carry out H₂/CO₂ conversion. The only possible candidate capable of CO₂ conversion in the MES1 cell is a bacterium (ASV26) that was identified belonging to the BRH-c20a clade, and representing 4% of the biofilm

community of the MES1 cathode. The BRH-c20a clade has frequently been suggested as being a key player in the electrochemical reduction of CO₂ to acetate [183], [291], [416]. Interestingly, the closest known relative within the BRH-c20a clade - a bacterium detected in a syngas-based acetate-producing bioreactor (KF956436; [417] - shares only 95% 16S rRNA gene sequence identity with the bacterium detected in the present study, suggesting that ASV18 may represent a new genus or even a new family within this clade. Downstream chain-elongation to butyrate and caproate was likely carried out by populations of *Megasphaera* and, possibly, *Caproiciproducens* detected in the MES1 cell.

In the absence of other possible homoacetogens, the initial CO₂ reduction in the MES2 and MES3 cells was likely also carried out by the detected BRH-c20a bacterium (ASV26) similarly to MES1. However, this bacterium represented only a small fraction (1–2%) of the microbial communities in these cells (Figure 7.6). *Clostridium luticellarii*, the dominant homoacetogenic species in the inoculum, was not detected in MES2 and MES3. In the MES2 and MES3 cells, chain elongation to butyrate was likely carried out by populations of *Megasphaera* (ASV1) and the introduced *C. kluyveri* (ASV10).

Overall, the initial conversion of CO₂ through homoacetogenesis appears to have been carried out by bacterial populations present at comparatively low abundance, indicating that this group was the most sensitive to the experimental conditions. Based on this observation, follow-up experiments could be designed to further improve the efficiency and stability of the MES system. The homoacetogens in the original inoculum (*C. luticellarii*) and those eventually detectable in the MES cells (the BRH-c20a bacterium) exhibited very limited growth under the MES operating conditions, as evidenced by their low relative abundance in the microbial communities. In fact, it has been shown that *C. luticellarii* grows very poorly in bioreactors with CO₂ loading rates as were used in this study, thriving best at loading rates nearly an order of magnitude higher [405]. It has also been shown that bacteria associated with BRH-c20a exhibit lower relative abundances in ethanol-fed MES cells (such as the MES2 and MES3 cells in this study) compared to those supplied exclusively with reducing equivalents from an electrode [183]. Given that the low abundance of homoacetogens suggests microbial acetate production could represent a bottleneck in caproate synthesis under the tested MES configuration, enriching or increasing the abundance of the homoacetogenic population may enhance overall caproate yields. Such enrichment could be achieved by increasing the CO₂ loading rate of the MES cells, which might promote the

establishment of *C. luticellarii* (from the inoculum) within the system. Alternatively, the homoacetogenic population could be strengthened through bioaugmentation with known electroactive homoacetogens, such as representatives of the genera *Acetobacterium* or *Sporomusa* [418], which may be better adapted to the conditions of the tested MES setup.

7.3.6 Electroactivity of cathodic biofilms

To confirm the presence of electroactive bacteria in the catholytes and biofilms of the MES cells, the electrodes were characterized by cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy (i) immediately after inoculation ($t=0$), and (ii) at the end of the experiment ($t=45$ or 69 day) for the MES1 and MES2 cells. The current at the startup of MES1 was more negative than that of MES2 (Figure 7.8A). The more negative current observed in MES1 can most likely be attributed to its lower pH (6.0), which promotes the electrochemical hydrogen evolution reaction (HER), relative to MES2 (pH 6.5). For both cells, the observed currents were lower at the end of the experiments than at the beginning, indicating the development of electroactive (i.e. electron-consuming) biofilms on the cathodes. This conclusion is consistent with the obtained electrochemical impedance spectroscopy results (Figure 7.8B). There, the charge transfer resistance obtained from Nyquist plot fitting decreased from an initial $209\ \Omega$ to $0.9\ \Omega$ in MES1 and from $302\ \Omega$ to $2.3\ \Omega$ in MES2 by the end of the experiment. Corresponding microbial community data suggests that the increased cathodic current is a result of the cathode being colonized by the electroactive hydrogenogen *D. desulfuricans* [415] and electroactive homoacetogens associated with the Bacillota-affiliated BRH-c20a clade [183].

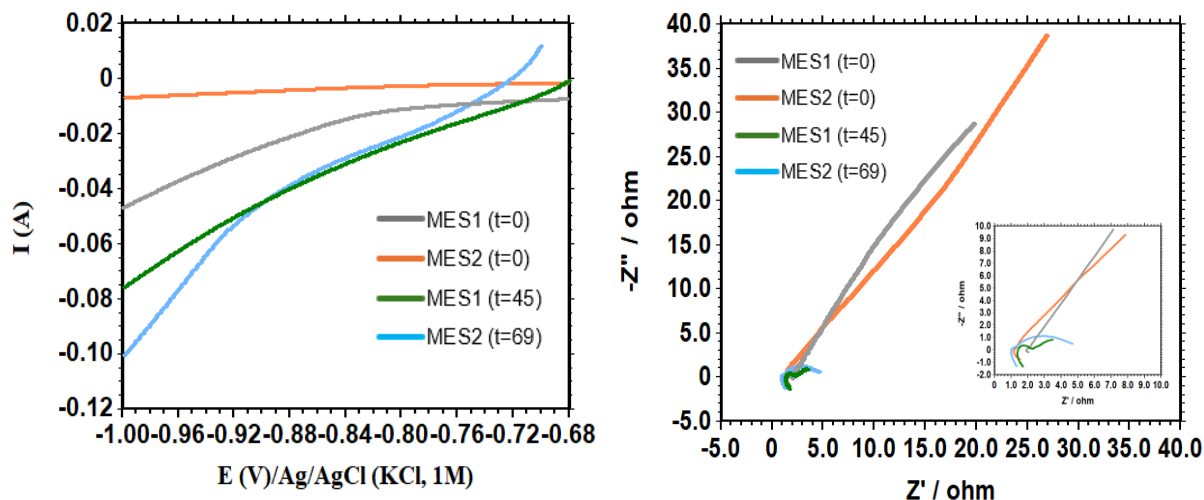


Figure 7.8 A) Linear voltammograms (sweep rate 5 mV s^{-1}) and B) Nyquist plot recorded during MES1 and MES2 experiments at open circuit voltage.

7.4 Conclusion

This study demonstrates the effect of bioaugmenting MES cells, inoculated with a mixed acetogenic enrichment, with *Clostridium kluyveri*. Importantly, bioaugmentation with this strain of chain elongating bacteria was combined with the deposition of FeSn bimetallic oxide on the cathode surface resulting in high acetogenic and chain elongating microbial activities. Electrochemical impedance spectroscopy and voltammetry results confirmed the development of electroactive biofilms on cathodes coated with FeSn bimetallic oxide. In the MES1 control cell inoculated solely with the acetogenic enrichment, the main CO_2 reduction products included acetate and butyrate and only small quantities of caproate. In the MES2 and MES3 cells bioaugmented with *C. kluyveri*, caproate production increased more than 8-fold. However, the proliferation and metabolic activity of this chain-elongating bacterium are highly dependent on ethanol supply, implying that further research is needed to overcome this limitation. It can be hypothesized that enhancing ethanol availability - either through the development of a bimetallic oxide cathode for efficient electrochemical ethanol production or through the promotion of microbial ethanol synthesis – can increase the rate of chain elongation. This approach could eliminate the need for an external electron donor and improve selectivity toward caproate production.

Data contribution statement

T.M.: Methodology, investigation, data curation, formal analysis, visualization, writing, review; L.S.: data curation, formal analysis, visualization, writing, review; O.S.: Methodology, formal analysis, review; B.T.: conceptualization, methodology, formal analysis, visualization, writing, review, funds acquisition.

Conflict of interest statement

The authors declare no competing interests.

Acknowledgements

The research was supported by the National Research Council Canada Materials for Clean Fuels Challenge Program. Assistance of Marie-Josée Levesque (National Research Council of Canada) in sample preparation for 16S rRNA sequencing and carrying out droplet digital PCR (ddPCR) analysis is greatly appreciated.

CHAPITRE 8 DISCUSSIONS GÉNÉRALES

Ce travail s'est consacré à l'étude de l'impact des oxydes bimétalliques non nobles en tant que matériaux cathodiques sur la réduction bioélectrochimique du CO₂. Cinq combinaisons d'oxydes bimétalliques non nobles (CuFeO, CuSnO, CuMnO, CoMnO et FeSnO) avec trois différents ratios molaires ont fait l'objet d'étude (1 :1, 1 :2, 1 :1). Les effets de ces oxydes bimétalliques ont été évalués par des tests en bouteilles. Les résultats de ces tests ont orienté la recherche sur trois types oxydes bimétalliques notamment CuFeO, CoMnO et FeSnO. Ces derniers ont été testés en tant que catalyseurs électrochimiques dans un milieu non agressif. Dans le but de favoriser la réduction synergique électrochimique et bioélectrochimique, l'analyse de ces résultats a permis de choisir FeSnO (1 :1) comme matériau d'électrode pour la réduction bioélectrochimique du CO₂. Ce chapitre se consacre à discuter l'ensemble de ces résultats obtenus.

8.1 Effet des oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction biochimique du CO₂ par les microorganismes méthanogènes et acétogènes

Il a été beaucoup rapporté que les particules de matériaux particulièrement les matériaux conductifs de carbone et d'oxyde de fer influencent positivement la fermentation de déchets organiques ou le CO₂ en méthane [273], [274], [275], [276], [277], [278]. Afin d'évaluer l'influence des oxydes bimétalliques synthétisés sur la conversion microbienne du CO₂, des tests batch en bouteilles ont constitué un moyen rapide et simple pour aboutir à cette fin dans ce travail. Les tests batch en bouteilles ont été réalisés en introduisant des poudres ou des pièces d'électrodes d'oxydes bimétalliques dans les bouteilles contenant une culture à base de boue anaérobique, source de population microbienne mixte. À cet effet, un mélange gazeux de CO₂ et H₂ (80/20, vol/vol) a servi de source de carbone et d'électrons pour les microorganismes. Pour l'étude de l'activité des méthanogènes acétoclastes l'acétate a servi de source de carbone et d'électrons pour les microorganismes. Les résultats montrent que les oxydes bimétalliques à base de cuivre (CuFeO, CuMnO et CuSnO, ratio molaire 1 :1) ont un effet inhibiteur sur les méthanogènes hydrogénotrophes et acétoclastes (Figure 8.1) et les acétogènes (Tableau 8.1) présents dans la boue anaérobique. Quant aux oxydes bimétalliques CoMnO et FeSnO, leurs influences sont plutôt positives. L'analyse des concentrations des AGVs en fin de tests a montré la formation de butyrate et de valérate en plus de l'acétate en présence de CoMnO et FeSnO (Tableau 8.1). Il faut noter que les concentrations des AGVs étaient inférieures à 20 mg/L en raison de la prédominance des espèces

méthanogènes dans l'inoculum. Pour les oxydes à base de cuivre, CuFeO a montré une influence relativement positive sur la production d'acétate. En ce qui concerne la conversion de l'acétate en méthane, la présence de FeSnO a induit un effet inhibiteur sur les méthanogènes acétoclastes. Ceci présente un intérêt pour la conversion du CO₂ en AGVs par une culture à population mixte dans le sens de l'amélioration de la sélectivité de la réaction.

Au regard de ces premiers résultats, étudier exclusivement l'effet des oxydes bimétalliques plus promettant en particulier CoMnO, FeSnO et CuFeO sur la conversion du CO₂ par les acétogènes a consisté à inhiber les méthanogènes par l'acide 2-bromoéthanesulfonique. Les résultats montrent que l'acétate était le produit majoritaire parmi le propionate, le butyrate et le valérate (Tableau 8.2). La présence de FeSnO a été particulièrement intéressante dans ce sens qu'elle a plus favorisé la réduction du CO₂ en acétate et la chaîne élongation en butyrate et valérate. Malgré l'amélioration globale de la réduction du CO₂ en AGVs, la production des AGVs à valeurs ajoutée tels que le butyrate, le valérate et caproate était inférieure à 60 mg/L. Cela souligne la faible présence des microorganismes élongateurs de chaîne carbonée des AGVs. Néanmoins ces premiers résultats ont permis de porter dorénavant l'intérêt sur les trois types d'oxydes bimétalliques notamment CoMnO, FeSnO et CuFeO et d'enrichir la culture par des microorganismes acétogènes. Des électrodes à base de ces trois oxydes bimétalliques ont par conséquent été préparées et utilisés pour évaluer leurs propriétés électrocatalytiques dans une cellule électrochimique.

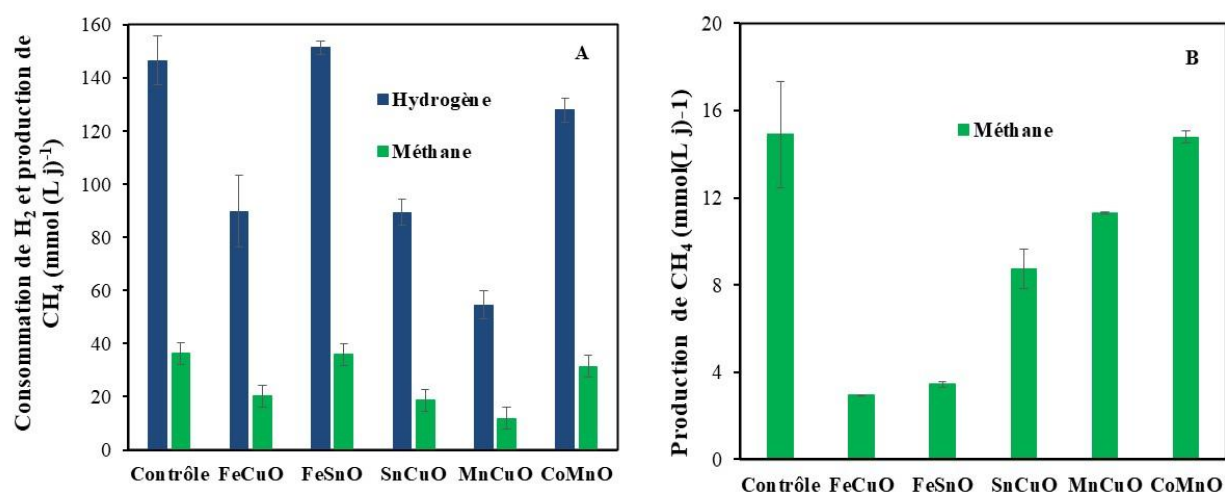


Figure 8.1 Vitesses de A) consommation de H₂ et de production de CH₄ à partir du CO₂ et B) production de CH₄ à partir de l'acétate en utilisant la boue anaérobique. Les barres d'erreur représentent l'écart type.

Tableau 8.1 Production des AGVs par la boue anaérobique à partir du CO₂ et H₂.

AGVs (mg/L)	Acetate	Propionate	Butyrate	Valerate	Caproate
Contrôle	1.0 ± 0.1	0	1.9 ± 0.2	0.6 ± 0.2	1.1 ± 0.0
FeCuO	3 ± 1	0	0	0	1.3 ± 0.2
SnCuO	2.7 ± 0.6	0	1.1 ± 0.1	0	1.1 ± 0.1
MnCuO	1.6 ± 0.2	0	1.1 ± 0.1	0	0.9 ± 0.1
CoMnO	1.6 ± 0.2	0	6.0 ± 0.4	5 ± 1	1.2 ± 0.2
FeSnO	1.3 ± 0.0	0	5.4 ± 0.6	2.8 ± 0.3	1.0 ± 0.1

Tableau 8.2 Production des AGVs à partir du CO₂ et H₂ par la boue anaérobique en présence des oxydes bimétalliques et l'acide 2-bromoéthanesulfonique (inhibiteur de méthanogènes).

AGVs (mg L ⁻¹)	Acetate	Propionate	Butyrate	Valérate	Caproate
Contrôle	54 ± 2	11.0 ± 0.6	17 ± 4	5 ± 1	0
CoMnO	118 ± 8	14 ± 1	9 ± 1	10 ± 1	0
FeSnO	1723 ± 38	15 ± 3	29 ± 1	5 ± 1	0
FeCuO	1544 ± 141	18 ± 2	11 ± 1	7.8 ± 0.2	0

Au regard des premiers résultats, il était donc impératif d'enrichir la culture avec des microorganismes acétogènes afin de favoriser la réduction du CO₂ en AGVs. Ce qui a justifié le mélange à équivolume de la boue anaérobique avec le liquide d'un réacteur traitant les déchets organiques alimentaires beaucoup plus riche en espèces acétogènes. Ce mélange a été traité thermiquement dans le but d'éliminer les méthanogènes. Le mélange obtenu est enrichi sous atmosphère de CO₂/H₂ dans un incubateur à 35°C. Après les tests de performances

électrocatalytiques des différents oxydes bimétalliques de CoMnO, FeSnO et CuFeO, les oxydes bimétalliques CoMnO (2 :1), FeSnO (1 :1) et CuFeO (2 :1) se sont montrés plus stables et actifs pour la réduction électrochimique du CO₂. Plus de détails sont apportés dans le paragraphe ci-après. Les électrodes préparées sur la base de ces derniers oxydes bimétalliques ont été découpées en petites pièces et introduites dans des bouteilles pour d'autres tests avec l'enrichissement acétogène ainsi préparé. Cette fois-ci, la réduction du CO₂ en AGVs a été améliorée dans l'ensemble avec une production plus importante de butyrate, de valérate et de caproate (Tableau 8.3). Cependant, les présences de CoMnO (2 :1) et CuFeO (2 :1) dans les bouteilles ont conduit à la réduction de la consommation du CO₂ par comparaison aux résultats des bouteilles sans oxydes bimétalliques (Figure 8.2). La présence de l'oxyde bimétallique FeSnO (1 :1) a augmenté la consommation de CO₂ par rapport au contrôle négatif et en conséquence amélioré la production des AGVs. De plus, la production de butyrate a été particulièrement améliorée, suggérant une conversion de l'acétate en butyrate par chaîne élongation (Tableau 8.3).

Tableau 8.3 Production des AGVs par l'enrichissement acétogène à partir du CO₂ et H₂ en présence des oxydes bimétalliques non nobles.

AGVs (mg L ⁻¹)	Acetate	Propionate	Butyrate	Valerate	Caproate
Contrôle	1541 ± 46	28 ± 3	858 ± 69	52 ± 1	101 ± 6
FeCuO (1:2)	431 ± 10	19 ± 4	653 ± 8	10 ± 1	68 ± 1
CoMnO (2:1)	1480 ± 63	31 ± 3	672 ± 5	41 ± 1	71.3 ± 0.3
FeSnO (1:1)	2039 ± 83	20 ± 2	1232 ± 72	55 ± 2	100 ± 7

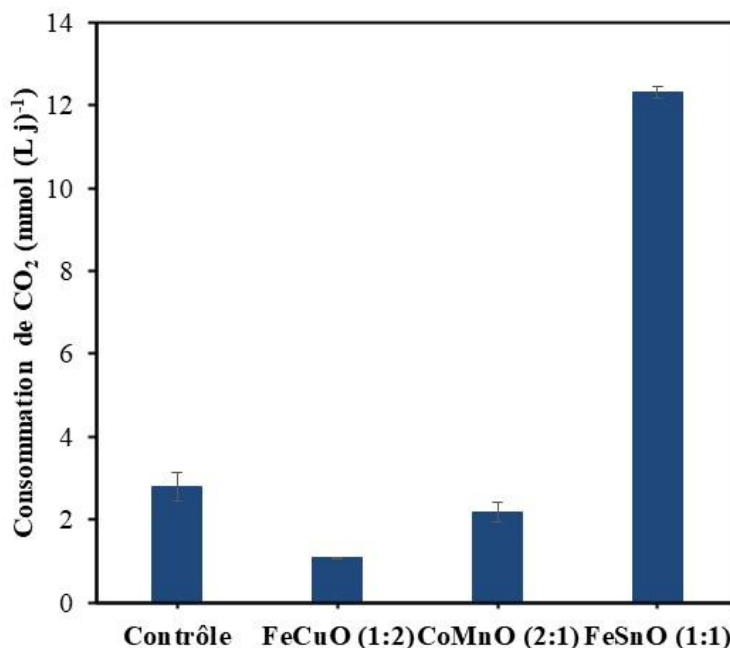


Figure 8.2 Consommation de CO₂ par l'enrichissement acétogène en présence des oxydes bimétalliques non nobles. Les barres d'erreur représentent l'écart type.

8.2 Effet des oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction électrochimique du CO₂

Sur la base des tests en bouteilles avec les oxydes bimétalliques équimolaires (ratio 1 :1), les trois combinaisons CuFeO, CoMnO et FeSnO ont relativement influencé positivement la réduction du CO₂ en acides gras volatils par les microorganismes. Les électrodes ont été préparées en utilisant ces oxydes bimétalliques incluant les trois différents ratios métalliques. En se basant sur les voltamogrammes et la stabilité des courbes de polarisation à 156 A m⁻² enregistrés en solution saturée de CO₂, il a été possible de réduire l'étude des propriétés électrocatalytiques aux oxydes bimétalliques CuFeO (2 :1), CoMnO (2 :1) et FeSnO (1 :1). Ces catalyseurs se sont montrés non efficaces pour réduire le CO₂ à courant imposé compris entre 13 et 156 A m⁻². En effet, l'efficacité coulombique de la réduction du CO₂ est évaluée entre 0 et 15 % sur ces différents catalyseurs avec pour produits de réduction le méthanol et le tertbutanol (Tableau 8.4). La production d'hydrogène a été bien évidemment la réaction favorisée avec une efficacité coulombique supérieure à 75 %. Le catalyseur CuFeO (2 :1) s'est illustré relativement plus efficace pour réduire le CO₂ que les deux autres. L'inefficacité des différents catalyseurs pourrait s'expliquer par la valeur de pH presque

neutre qui ne favoriserait pas la réduction du CO₂. Toutefois, ce choix de pH est basé la stabilité des électrodes et les conditions de prolifération microbienne.

Tableau 8.4 Efficacité coulombique (%) de la réduction électrochimique du CO₂ sur les oxydes bimétalliques non nobles.

Cathode	Current (A m ⁻²)	13	31	50	75	100	156
FeCuO (1:2)	Produits	11,8	14,5	13,4	7,1	4,0	0
	Total	86,9 ± 0,6	98,9 ± 0,9	98,8 ± 2,8	96,3 ± 0,8	92,1 ± 1,0	98
CoMnO (2:1)	Produits	7,3	14,0	4,4	1,1	0,3	0,1
	Total	87,8 ± 2,1	99,6 ± 2,9	99,3 ± 1,1	99,4 ± 1,6	98,2 ± 1,5	99
FeSnO (1:1)	Produits	10,3	5,0	10,6	2,1	0	0,1
	Total	94,4 ± 0,5	92,6 ± 0,7	99,6 ± 2,4	95,2 ± 0,6	96,0 ± 0,4	99

Si ces oxydes bimétalliques sont inefficaces pour catalyser la réduction électrochimique du CO₂, leurs propriétés de surfaces ainsi que la formation de l'hydrogène et le méthanol peuvent néanmoins servir aux microorganismes pour la réduction par la voie bioélectrochimique du CO₂. Dans ce sens, l'oxyde bimétallique FeSnO (1 :1) s'est montré promettant sur la base des tests en bouteilles et des expériences électrochimiques.

8.3 Effet des oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction bioélectrochimique du CO₂ en AGVs

Les résultats des réductions biochimique et électrochimique du CO₂ réalisées respectivement par des tests en bouteilles et électrochimiques ont suggéré que l'oxyde bimétallique FeSnO (1 :1) était le meilleur candidat pour favoriser la réduction synergique du CO₂ par électrocatalyse et bioélectrocatalyse. Des expériences ont été réalisées dans la MES en utilisant une électrode de FeSnO (1 :1) comme cathode (MESs dénommées FeSnO-1 et FeSnO-2). Le CO₂ et le catholyte

ont été apportés de façon continue. Pour servir de contrôle, une cathode de feutre de carbone sans revêtement d'oxyde bimétallique a également été utilisée (MESs dénommées CF-1 et CF-2).

Ces différentes MESs ont été opérées en augmentant progressivement le débit de CO_2 (200 à 300 mL j^{-1}) et la densité de courant appliquée (0 à $8,3 \text{ A m}^{-2}$) avec une première phase d'acclimatation (Tableau 8.5). Cette approche a permis d'assurer une prolifération graduelle des microorganismes adaptée aux conditions opérationnelles des MESs et d'évaluer les performances des MESs dans différentes conditions d'opération. Les taux de conversion du CO_2 ont été faibles ($<60\%$) lors de la phase d'acclimatation (phase 1) à circuit ouvert pour les différentes MESs (Figure 8.3). Ces valeurs ont nettement amélioré avec l'imposition du courant atteignant des valeurs proches de 100 % durant les phases 2 et 3 d'opération. Elles ont légèrement diminué à la densité de courant la plus élevée $8,3 \text{ A m}^{-2}$ mais restent supérieurs à 85 %. Il faut souligner également que les différences des efficacités de conversion du CO_2 des MESs avec la cathode de FeSnO (1 :1) et celles utilisant le feutre de carbone simple ne sont pas importantes. En effet, les valeurs maximales de conversion du CO_2 pour les MESs les plus performantes sont évaluées à $1541 \pm 5 \text{ mL (L}_C \text{ j)}^{-1}$ et $1599 \pm 2 \text{ mL (L}_C \text{ j)}^{-1}$, respectivement pour CF-2 et FeSnO-2. Cela suggère que les MESs ont été limitées par le débit de CO_2 , chose utile pour limiter la réduction du CO_2 en acétate au profit de la chaîne élongation.

Tableau 8.5 Phases et paramètres d'opération des MESs.

Phase	Durée (jours)	Courant			Débit de H_2 (mL j^{-1})	Débit de CO_2 (mL j^{-1})
		mA	mA L^{-1}	mA m^{-2}		
1	14	0	0	0	800	200
2	14	50	278	5,2	0	200
3	14	50	278	5,2	0	300
4	7-10	80	444	8,3	0	300

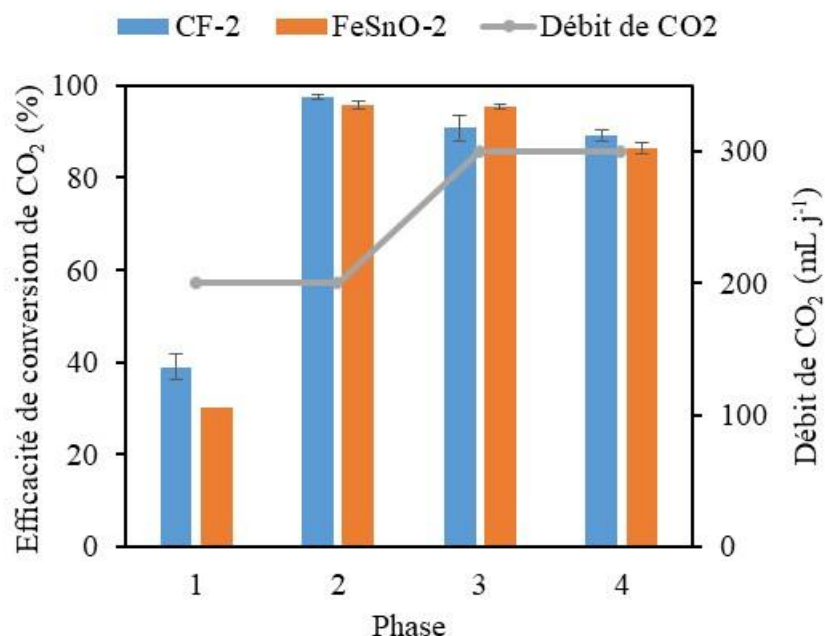


Figure 8.3 Efficacité de conversion du CO₂ dans les cellules CF-2 et FeSnO-2.

En termes d'efficacité coulombique, les valeurs moyennes des différentes MESs sont comprises entre 52 et 96 % et celles correspondantes à la formation des AGVs sont comprises entre 48 et 93 %. Pour la cellule CF-2 ces valeurs vont de 53 à 86 % tandis que celles de la cellule FeSnO-2 sont comprises entre 48 et 93 % (tableau 8.4). Ces résultats sont en accord avec ceux correspondants aux taux de conversion de CO₂ indiquant une légère différence entre les MESs avec cathode de feutre de carbone et celles ayant une cathode à base d'oxyde bimétallique FeSnO. Comme les efficacités de conversion de CO₂, les CEs en AGVs ont diminué à densité de courant égale à 8,3 A m⁻². Simultanément les CEs en H₂ sortant des compartiments ont augmenté (Tableau 8.4). Ce qui suggère une activité microbienne moins importante dans ces conditions et l'implication de H₂ sur le transfert d'électrons aux microorganismes. La CE minimale de réduction de CO₂ en AGVs obtenue avec les MESs à cathode de FeSnO (1 :1) est égale à 48 % (phase 2) tandis que la CE maximale obtenue lors de la réduction par la méthode électrochimique est inférieure à 20% (tableau 4). Cela montre l'importance de mener plus d'investigations sur la réduction du CO₂ par la méthode bioélectrochimique. Ceci est la première fois à notre connaissance qu'une telle comparaison est établie.

L'imposition du courant à la phase 2 conduit à une brusque augmentation de la production d'acétate dans les différentes MESs. En considérant les MESs CF-2 et FeSnO-2, la production d'acétate a été augmentée plus de 9 fois avec l'imposition du courant (Tableau 8.4). Cela s'explique par l'importance du courant comme source d'électrons pour les microorganismes acétogènes. Ces électrons sont transférés aux microorganismes par la voie directe et par la voie indirecte par l'intermédiaire de l'hydrogène et le méthanol. L'hydrogène qui a été le produit majoritaire pendant la réduction électrochimique (CE >75 %, Tableau 8.4) a cependant été libéré à la cathode avec une CE inférieure à 25 % dans toutes les MESs. Ce qui suggère son utilisation par les microorganismes homoacétogènes pour la production d'acétate.

Pendant les expériences des MESs dans les différentes conditions d'opération, l'acétate a été le produit majoritaire. La chaîne élongation a été plus considérable lors des phases d'opération 3 et 4 où la densité de courant était respectivement fixée à 5,2 et 8,3 A m⁻² et le débit de CO₂ égal à 300 mL j⁻¹. Le butyrate et le caproate sont les AGVs à chaîne carbonée longue qui ont été produit considérablement. Leurs productions ont été impactées par l'utilisation de la cathode à base de FeSnO (1 :1) dans les MESs. En effet, les productions maximales de butyrate et caproate dans FeSnO-2 dépassent d'environ 4 fois celles obtenue dans CF-2 (Tableau 8.4). Ce qui corrobore les résultats de tests en bouteilles avec l'enrichissement acétogène montrant un effet positif de FeSnO sur la chaîne élongation. Les utilisations des cathodes de MnO₂/rGO (graphène réduit) [25] et de NiFe₂O₄ [28] dans des MESs ont également augmenté respectivement les productions d'isobutyrate et de butyrate par 2,09 et 1,2. Cependant, la production de caproate n'a été rapportée.

Tableau 8.1 Production des AGVs et les efficacités coulombiques des cellules CF-2 et FeSnO-2.

Phase		1	2	3	4
Acetate (mg (L j) ⁻¹)	CF-2	65 ± 1	832 ± 73	1115 ± 131	1151 ± 130
	FeSnO-2	93 ± 14	865 ± 69	1054 ± 128	754 ± 46
Propionate (mg (L j) ⁻¹)	CF-2	11.8 ± 0.2	5 ± 2	132 ± 12	73 ± 6
	FeSnO-2	26 ± 1	47 ± 3	201 ± 33	566 ± 38
	CF-2	49 ± 1	49 ± 5	132 ± 1	141 ± 2

Butyrate (mg (L j) ⁻¹)	FeSnO-2	26 ± 1	47 ± 3	201 ± 33	566 ± 38
Valerate (mg (L j) ⁻¹)	CF-2	20 ± 1	19 ± 3	15.5 ± 0.3	16.9 ± 0.3
	FeSnO-2	1.23 ± 0.02	5.8 ± 0.3	9.5 ± 0.1	42 ± 7
Caproate (mg (L j) ⁻¹)	CF-2	50 ± 6	38 ± 7	20 ± 2	23 ± 2
	FeSnO-2	3.8 ± 0.5	2.9 ± 0.4	16 ± 1	89 ± 7
CE (AGVs) (%)	CF-2	-	56 ± 6	86 ± 9	53 ± 5
	FeSnO-2	-	53 ± 5	79 ± 10	67 ± 5
CE (H ₂) (%)	CF-2	-	3 ± 0.3	5 ± 1	20 ± 2
	FeSnO-2	-	10 ± 1	2.5 ± 0.1	21 ± 1
CE (Produits) (%)	CF-2		59 ± 6	90 ± 10	72 ± 7
	FeSnO-2		63 ± 6	82 ± 10	88 ± 6

8.4 Effet des oxydes bimétalliques non nobles sur la distribution de la communauté microbienne et la formation de biofilm

Les différences observées sur la sélectivité des produits de réaction dans les MESs à cathode de feutre de carbone simple et celles à cathode à base de FeSnO ne sauraient être dissociées de la composition et distribution des populations microbiennes au sein des biofilms et des catholytes. Dans l'enrichissement acétogène, les espèces homoacétogènes tels que *C. ljungdahlii* et *C. autoethanogenum* sont responsables de la réduction du CO₂ en acétate et sa conversion en éthanol, source d'électrons pour la chaîne élongation (Figure 8.4) [396] [397] [414]. Dans les MESs, ces espèces homoacétogènes n'ont pas été détectées. Le clade BRH-c20a souvent présenté comme un acteur clé de la réduction du CO₂ en acétate ne représente que moins de 5% des communautés microbiennes dans les MESs [183], [291], [416]. Ce qui laisse entrevoir que d'autres espèces non connues comme acétogènes se seraient développées dans les MESs. *M. sueciensis* représente majoritairement la population microbienne dans l'enrichissement acétogène, elle est connue comme élongatrice de chaîne carbonée produisant le butyrate et caproate. Cette espèce s'est

proliférée dans les catholytes ainsi que les biofilms des MESs (Figure 8.4). Sa présence majoritaire dans le catholyte de la cellule FeSnO-2 (88%) pourrait justifier l'augmentation de la production de butyrate et caproate par rapport à la cellule CF-2. De plus, l'enrichissement spécifique de *S. acetigenes* (33%) dans le biofilm de la cathode de FeSnO pourrait jouer un rôle important dans la production de caproate. Elle a déjà été corrélée à l'oxydation d'éthanol [405] et la production de caproate dans des bioréacteurs contenant l'éthanol [35], [419]. *C. galactitolivorans* représentant moins de 1% de la population microbienne de l'enrichissement acétogène s'est enrichie dans les catholytes et biofilms des MESs (Figure 8.4). Cette espèce connue pour fermenter les sucres et alcools en caproate a probablement contribué à la production de caproate dans les différents MESs particulièrement dans la cellule CF-2 où elle est plus représentative [353].

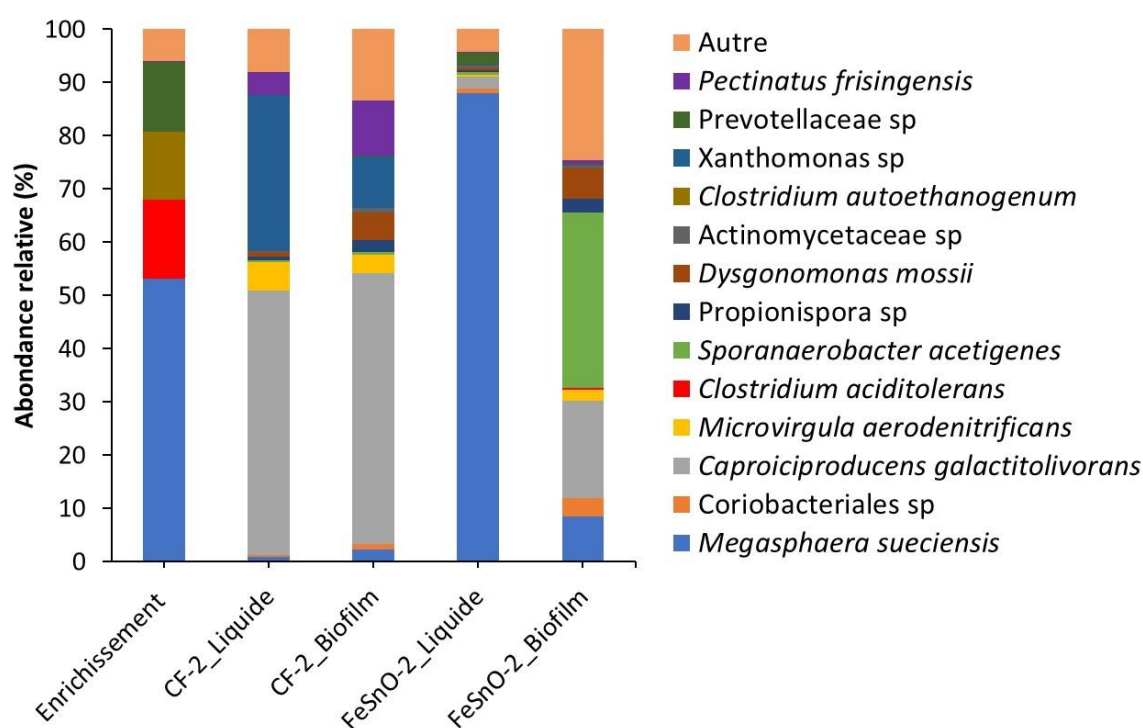


Figure 8.4 Abondances relatives des communautés microbiennes des échantillons de l'enrichissement acétogène, de la cellule à cathode de feutre de carbone (CF-2) et de la cellule à cathode de FeSnO (FeSnO-2).

Au-delà des propriétés catalytiques de l'oxyde bimétallique FeSnO, son utilisation comme matériau cathodique dans la MES a également un effet sur la formation et les propriétés électrochimiques du biofilm. Les résultats des mesures voltamétriques et impédancemétriques en

début et en fin d'expérience montrent une augmentation du courant (Figure 8.4) et une diminution des résistances de transfert de charge (Tableau 8.5) au cours des expériences des MESs. Cela suggère que les biofilms développés sont conductifs en raison de la formation de sites de transfert d'électrons. Le courant enregistré sur la cathode de la cellule FeSnO-2 est plus élevé à celui enregistré sur la cathode de la cellule CF-2 (Figure 8.4). De plus les résultats impédancemétriques montrent également une diminution considérable de la résistance de transfert de charge (R_{CT}) de la cathode de FeSnO-2 en fin d'expérience (Tableau 8.5). Cela suggère une amélioration du transfert d'électrons à l'interface de la cathode de FeSnO par rapport à l'électrode de feutre de carbone simple. Cette amélioration s'explique par la présence de bactéries électroactives au sein du biofilm formé. Les présences relativement faibles dans les biofilms des espèces des genres *Dysgonomonas* [402], [403], [404], *Sporanaerobacter* [274], *Desulfovibrio* [415] et du clade BRH-C20a [183] qui ont déjà été identifiés comme électroactifs sont fortement associables aux propriétés électroconductives des biocathodes. *Sporanaerobacter acetigenes* a relativement été enrichie (33%) sur la biocathode FeSnO. Cette espèce a été suggérée comme électroactive, participant aux transferts directs d'électrons inter espèces et pouvant effectuer des transferts d'électrons extracellulaires aux oxydes de fer (III) [274] [33], [420], [421]. Cela conforte l'hypothèse que son affinité avec la cathode FeSnO est à l'origine de l'augmentation du courant et la diminution significative de la résistance de transfert de charge (R_{CT}) de la biocathode de la cellule FeSnO-2. L'augmentation de la résistance de Warburg (R_W) et la capacitance de la double couche (C_{dl}) formée sur la cathode de la cellule FeSnO-2 au cours du temps suggèrent la formation d'un biofilm dense sur la cathode à base de FeSnO.

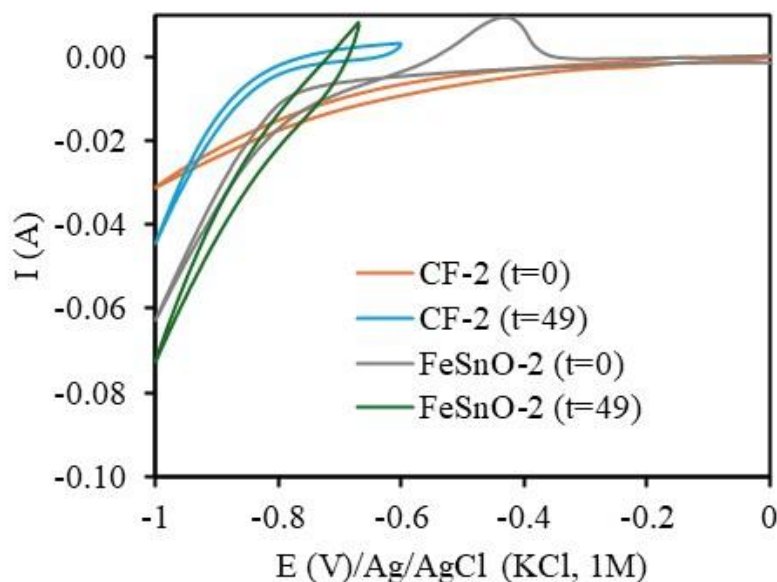


Figure 8.5 Voltamogrammes enregistrés sur les biocathodes des cellules CF-2 et FeSnO-2.

Table 8.6 Les caractéristiques électrochimiques des biocathodes obtenues par simulation des circuits équivalents des courbes de Nyquist (erreurs de simulation inférieures à 9 %).

Temps	Début			Fin		
	$R_w(\Omega)$	$C_{dl}(F)$	$R_{CT}(\Omega)$	$R_w(\Omega)$	$C_{dl}(F)$	$R_{CT}(\Omega)$
CF-2	0.027	0.110	239	0.24	0.097	118.5
FeSnO-2	0.047	0.089	209	0.75	$2.87 \cdot 10^{-5}$	0.87

8.5 Effet de la bioaugmentation de l'enrichissement acétogène par *Clostridium kluyveri* sur la réduction bioélectrochimique du CO_2 en AGVs

Les premières expériences avec les cellules FeSnO-1 et FeSnO-2 ayant une cathode à base de FeSnO (1 :1) ont conduit à une réduction du CO_2 avec une efficacité supérieure à 85 % à densité de courant comprise entre 5,2 et 8,3 A m⁻². Les efficacités coulombiques en AGVs sont comprises entre 48 et 93 %. L'acétate a été produit majoritairement avec une sélectivité minimale de 50%. La

production des AGVs à chaîne carbonée plus longue notamment le butyrate et le caproate a été néanmoins plus importante dans ces MESs par rapport à celle des cellules CF-1 et CF-2. D'autres expériences ont donc été réalisées afin d'améliorer la réduction du CO₂ en AGVs à chaîne carbonée plus longue notamment le butyrate et le caproate. La bioaugmentation de l'inoculum a été l'option choisie à cet effet. *C. kluyveri*, une bactérie connue pour sa capacité à convertir l'acétate successivement en butyrate et caproate en utilisant de l'éthanol comme source d'électrons a été utilisée comme bactérie élongatrice de chaîne carbonée. Deux MESs (MES2 et MES3) ont été inoculées par l'enrichissement acétogène comportant 25 % de culture pure de *C. kluyveri* et comparées avec une MES sans bioaugmentation (MES1). Les résultats des analyses ddPCR confirment la prolifération de cette bactérie dans les deux MESs (Figure 8.4). Comme les expériences précédentes, la méthode d'augmentation progressive de la densité de courant et du débit de CO₂ a été adoptée (Tableau 8.5). L'élongation de la chaîne carbonée des AGVs par *C. kluyveri* requiert de l'éthanol dont la production in situ est insuffisante. L'éthanol a donc été ajouté dans le catholyte des cellules MES2 et MES3. Son impact sur les performances de MES2 et MES3 a été évalué en variant sa concentration de 0 et 900 mg (L_c j)⁻¹.

Tableau 8.2 Phases et paramètres d'opération des MESs.

MES	Phase	Durée (jours)	Courant			CO ₂ (mL j ⁻¹)	H ₂ (mL j ⁻¹)	Ethanol (mg (L _c j) ⁻¹)
			mA	mA L ⁻¹	A m ⁻²			
MES1	1	0-8	0	0	0	200	800	0
	2	8-15	30	167	3.1	200	0	0
	3	15-22	50	278	5.2	200	0	0
	4	22-29	50	278	5.2	300	0	0
	5	29-45	80	444	8.3	300	0	0
MES2 and MES3	1	0-8	0	0	0	200	800	300
	2	8-15	50	278	5.2	300	0	300
	3	15-22	50	278	5.2	300	0	0

	4	22-34	80	444	8.3	300	0	0
	5	34-50	80	444	8.3	300	0	900
	6	50-59	120	667	12.5	400	0	900
	7	59-69	140	778	14.6	500	0	900

Les taux de conversion de CO_2 dans les trois MESs sont supérieurs à 86 % à 200 et 300 mL j^{-1} de CO_2 . Ces taux diminuent légèrement dans les cellules MES2 et MES3 lorsque le débit de CO_2 a été augmenté à 500 mL j^{-1} mais restent supérieurs à 80 %. Le bilan de carbone en AGVs a cependant été évalué à moins de 70 % dans les trois MESs. Cela suggère que d'autres composés différents des AGVs et alcools analysés ont été formés. Les CE moyennes calculées sur la base des AGVs produits sont comprises entre 59 et 79% dans la cellule MES1. Celles obtenues dans les cellules MES2 et MES3 sont comprises entre 59 et 96 % dans les mêmes intervalles de densité de courant (5,2 à 8,3 A m^{-2}). Ces valeurs ont diminué à moins de 50% lorsque les densités de courant ont été successivement augmentées à 12,5 et 14,6 A m^{-2} dans les cellules MES2 et MES3. Cette diminution pourrait s'expliquer par la limitation des activités métaboliques bactériennes et la sensibilité des biofilms formés à des densités de courant plus élevées.

En comparant les productions des AGVs dans les cellules MES2 et MES3 avec celles de la cellule MES1, on remarque une amélioration de la production de butyrate et caproate en raison de la bioaugmentation. En effet, la production de butyrate dans les cellules MES2 et MES3 est similaire à celle de la cellule MES1 à 8,3 A m^{-2} mais celle de caproate a été multipliée par un facteur de 6 (Figure 8.5). De plus, lorsque la densité de courant a été augmentée à 12,5 A m^{-2} dans les cellules MES2 et MES3, la production de caproate s'évalue à plus de 8 fois celle obtenue dans la cellule MES1 à 8,3 A m^{-2} . Il faut cependant souligner que cette amélioration a nécessité un apport d'éthanol dans le catholyte à 900 $\text{mg (L}_C\text{ j)}^{-1}$. En l'absence de l'éthanol, la croissance de *C. kluyveri* baisse dans le catholyte (Figure 8.4) ainsi que la production de butyrate et caproate (Figure 8.5).

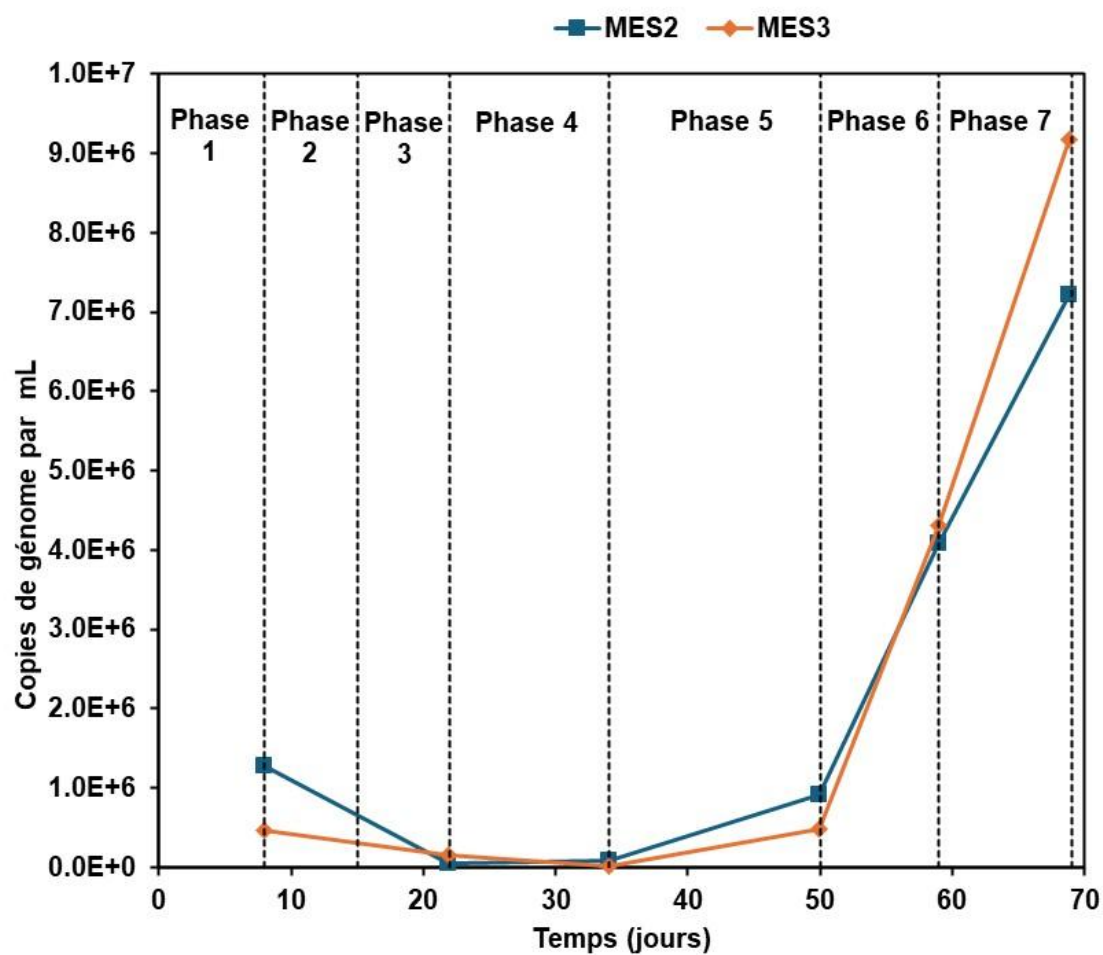


Figure 8.6 Évolution de la concentration du génome de *Clostridium kluyveri* dans les cellules MES2 et MES3.

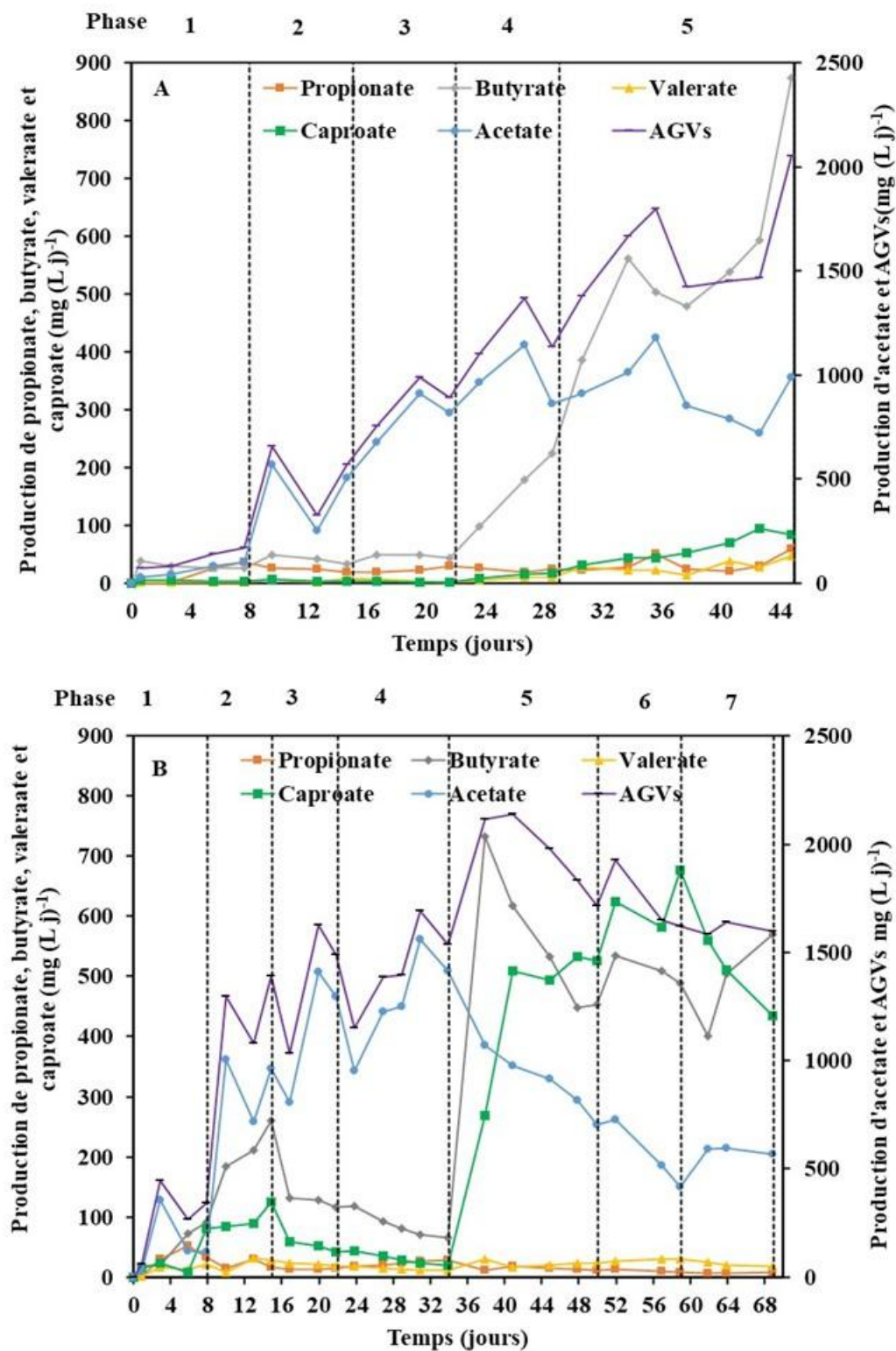


Figure 8.7 Production des AGVs dans les cellules A) MES1 et B) MES2.

CHAPITRE 9 CONCLUSION

9.1 Conclusion

La réduction bioélectrochimique est une méthode prometteuse pour réduire le CO₂ en divers produits. Cette méthode associant le courant électrique et les activités métaboliques des microorganismes connaît cependant de nombreux défis tant au niveau des constituants fondamentaux de la cellule électrochimique qu'au niveau des microorganismes. Une importance est de plus en plus portée sur le développement de matériaux cathodiques offrant une interface compatible à la formation de biofilm conducteur et efficace pour la réduction bioélectrochimique du CO₂. Cette étude portant sur l'évaluation de l'effet de matériaux cathodiques à base d'oxydes bimétalliques non nobles sur la réduction bioélectrochimique du CO₂ s'est inscrit dans ce sens.

Cinq combinaisons d'oxydes bimétalliques non nobles (CuFeO, CuMnO, CuSnO, FeSnO et CoMnO) avec différentes ratios métalliques molaires ont été étudiées. Des tests en mode batch en bouteilles avec les poudres des oxydes bimétalliques non nobles équimolaires ont montré que les oxydes bimétalliques à base de Cu ont un effet inhibiteur sur l'activité métabolique de réduction du CO₂ des microorganismes méthanogènes ainsi que les microorganismes acétogènes. Les oxydes bimétalliques FeSnO et CoMnO ont en revanche un effet positif sur leurs activités métaboliques. L'oxyde bimétallique FeSnO a un effet inhibiteur sur les méthanogènes acétoclastes contrairement aux méthanogènes hydrogénotrophes. L'oxyde bimétallique CoMnO avec un ratio Co : Mn égal à 2 : 1 a cependant montré un effet inhibiteur sur les microorganismes acétogènes suggérant que Co a un effet inhibiteur pour ces microorganismes. Aucun oxyde bimétallique n'a montré un effet inhibiteur total sur les microorganismes dans les conditions de test. L'oxyde bimétallique FeSnO s'est illustré promettant pour la réduction du CO₂ par les microorganismes acétogènes et élongateurs de chaîne carbonée. Ces tests batch ont montré que les microorganismes interagissent différemment avec les oxydes bimétalliques non nobles selon leur composition.

Des expériences électrochimiques ont montré que les oxydes bimétalliques CuFeO, FeSnO et CoMnO catalysent la réduction du CO₂ en méthanol et tertbutanol à des rendements coulombiques faibles (<20%). La formation d'hydrogène a été la réaction la plus favorisée. Les performances catalytiques de l'oxyde bimétallique CuFeO ont relativement été plus élevées que les autres oxydes bimétalliques non nobles.

L'oxyde bimétallique FeSnO a été déposé sur du feutre de carbone et utilisé comme matériau cathodique pour la réduction bioélectrochimique du CO₂ dans une MES. Avec des débits de CO₂ de 200 et 300 mL par jour, l'efficacité de la réduction du CO₂ par un enrichissement acétogène était supérieure à 85% à des densités de courant égales à 5,2 à 8,3 A m⁻². Les rendements coulombiques de réduction du CO₂ obtenus sont compris entre 48% et 93 %. En comparaison aux MESs utilisant une cathode en feutre de carbone simple, les MESs avec la cathode à base de FeSnO ont amélioré la réduction du CO₂ en butyrate et caproate à plus de 4 fois alors que les MESs à cathode en feutre de carbone favorise la production de l'acétate. Les résultats de caractérisation voltamétrique et impédancemétrique ont montré également que la cathode à base de FeSnO favorise le développement de biofilm conducteur ayant une faible résistance de transfert de charge.

La bioaugmentation de l'enrichissement acétogène par une culture pure élongatrice de chaîne carbonée (*C. kluyveri*) a permis d'accroître la réduction du CO₂ en butyrate et caproate et atteindre une sélectivité totale de butyrate et caproate d'environ 80 %. La production de caproate a été multipliée à plus de 8 fois à 12,5 A m⁻² avec un ajout d'éthanol au catholyte. En augmentant la densité de courant à 14,6 A m⁻² et le débit de CO₂ à 500 mL par jour, le taux de conversion du CO₂ a chuté en dessous de 85 % et l'efficacité coulombique en AGVs a diminué à moins de 50%. Le bilan de carbone était inférieur à 80 % suggérant que d'autres produits de réaction n'ont pas été analysés.

Les analyses biomoléculaires de l'enrichissement acétogène, des biofilms et des catholytes des MESs ont permis de représenter les abondances relatives des communautés microbiennes des différents échantillons. Les résultats obtenus suggèrent que les bactéries BRH-c20a, *Dysgonomonas mossii*, *Sporanaerobacter acetigenes* et *Desulfovibrio desulfuricans* sont probablement responsables de l'amélioration des propriétés électrochimiques des biofilms formés et les bactéries *Megasphaera sueciensis*, *Caproiciproducens galactitolivorans* et *C. kluyveri* sont à l'origine de la production de butyrate et caproate. Ces résultats ne donnent pas d'informations suffisantes sur les bactéries réduisant le CO₂ en acétate, le produit majoritaire. Des espèces appartenant au groupe BRH-c20a sont susceptibles de réduire le CO₂ en utilisant l'hydrogène comme donneur d'électrons mais elles ne représentent que moins de 5% des populations microbiennes. L'espèce *Megasphaera sueciensis* dominante dans l'enrichissement acétogène et présente dans toutes les MESs est probablement capable de réduire le CO₂ en AGVs.

9.2 Recommandations

Les résultats de cette étude démontrent que les oxydes bimétalliques non nobles influencent positivement ou négativement l'activité métabolique des microorganismes méthanogènes, acétogènes et élongateurs de chaîne carbonée dépendamment de leur composition. L'oxyde bimétallique FeSnO équimolaire s'est montré promettante pour la réduction bioélectrochimique du CO₂ en butyrate et caproate. Cependant plusieurs aspects méritent d'être étudiés d'avantage. Les recommandations suivantes contribueront à créer plus de connaissances pour l'amélioration des performances des systèmes bioélectrochimiques:

- Étudier l'impact de l'oxyde bimétallique FeSnO sur les voies métaboliques de microorganismes acétogènes et méthanogènes pures permettra de comprendre les interactions entre les particules de cet oxydes bimétalliques et les microorganismes.
- Bioaugmenter l'enrichissement acétogène avec des microorganismes homoacétogènes et électroactifs tels que *Sporomusa ovata* et des microorganismes solventogènes comme *Clostridium autoethanogenum* permettrait d'augmenter la réduction du CO₂ en acétate par voie direct et indirect et par conséquent faciliter la réaction de chaîne élongation des AGVs. Le contrôle de pH légèrement plus acide permettrait d'améliorer le processus solventogène et par conséquent l'élongation de chaîne carbonée.
- Explorer une autre voie d'élaboration de cathode à base de l'oxyde bimétallique FeSnO telles que l'électrodéposition pour augmenter la surface spécifique des électrodes ainsi que leur porosité afin de stimuler le développement de biofilm tridimensionnel plus efficace.
- Explorer les oxydes bimétalliques de CoMnO avec un ratio de Co faible comme support de microorganismes dans un digesteur anaérobique pour la production de méthane.
- Développer d'autres catalyseurs efficaces pour la production d'éthanol in situ dans la MES permettrait d'améliorer la sélectivité de la réduction bioélectrochimique du CO₂ en AGVs à chaîne carbonée moyenne.

RÉFÉRENCES

- [1] D. P. Chatterjee and A. K. Nandi, “A review on the recent advances in hybrid supercapacitors,” Aug. 07, 2021, *Royal Society of Chemistry*. doi: 10.1039/d1ta02505h.
- [2] N. Choudhary *et al.*, “Recent advancements in nanocellulose-based supercapacitors for energy storage devices: A review,” *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, vol. 7, no. 2, p. 100416, Jun. 2024, doi: 10.1016/j.carpta.2023.100416.
- [3] C. Xiang, R. Li, A. Liang, and J. Wang, “Analysis of air pollutants concentration variations and human impact by remote sensing: Implications for sustainable urban air quality management,” *Sustainable Futures*, vol. 10, Dec. 2025, doi: 10.1016/j.sftr.2025.101019.
- [4] O. Gutiérrez-Sánchez, B. Bohlen, N. Daems, M. Bulut, D. Pant, and T. Breugelmans, “A State-of-the-Art Update on Integrated CO₂ Capture and Electrochemical Conversion Systems,” Mar. 11, 2022, *John Wiley and Sons Inc*. doi: 10.1002/celc.202101540.
- [5] M. A. Shah, A. L. Shibiru, V. Kumar, and V. C. Srivastava, “Carbon dioxide conversion to value-added products and fuels: opportunities and challenges: a critical review,” 2025, *Taylor and Francis Ltd*. doi: 10.1080/15435075.2023.2281330.
- [6] O. Awogbemi and D. A. Desai, “Novel technologies for CO₂ conversion to renewable fuels, chemicals, and value-added products,” Dec. 01, 2025, *Springer*. doi: 10.1186/s11671-025-04214-w.
- [7] O. S. Bushuyev *et al.*, “What Should We Make with CO₂ and How Can We Make It?,” May 16, 2018, *Cell Press*. doi: 10.1016/j.joule.2017.09.003.
- [8] S. Srikanth *et al.*, “Electro-biocatalytic conversion of carbon dioxide to alcohols using gas diffusion electrode,” *Bioresour. Technol.*, vol. 265, pp. 45–51, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.biortech.2018.02.058.
- [9] R. Ganigué, P. Sánchez-Paredes, L. Bañeras, and J. Colprim, “Low fermentation pH is a trigger to alcohol production, but a killer to chain elongation,” *Front. Microbiol.*, vol. 7, no. MAY, 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.00702.
- [10] A. Chamizo-Ampudia, R. M. Alonso, L. Ariza-Carmona, Á. Sanchiz, and M. I. San-Martín, “A Review of Bioelectrochemical Strategies for Enhanced Polyhydroxyalkanoate

- Production,” *Bioengineering* 2025, Vol. 12, vol. 12, no. 6, Jun. 2025, doi: 10.3390/bioengineering12060616.
- [11] N. K. Chaitanya, A. Rajpurohit, P. S. Nair, and P. Chatterjee, “Enhanced carbon capture and medium chain fatty acid production using microbial electrosynthesis: Role of electrode surface area,” *Bioresour. Technol.*, vol. 435, Nov. 2025, doi: 10.1016/j.biortech.2025.132916.
- [12] J. Ferretti, R. Minardi, L. Cristiani, M. Villano, and M. Zeppilli, “Production of Short-chain Fatty Acid from CO₂ through Mixed and Pure Culture in a Microbial Electrosynthesis Cell,” *Chem. Eng. Trans.*, vol. 99, pp. 307–312, 2023, doi: 10.3303/CET2399052.
- [13] Z. Zhang *et al.*, “Electro-conversion of carbon dioxide (CO₂) to low-carbon methane by bioelectromethanogenesis process in microbial electrolysis cells: The current status and future perspective,” *Bioresour. Technol.*, vol. 279, no. December 2018, pp. 339–349, 2019, doi: 10.1016/j.biortech.2019.01.145.
- [14] D. Radhika, A. Shivakumar, D. R. Kasai, R. Koutavarapu, and S. G. Peera, “Microbial Electrolysis Cell as a Diverse Technology: Overview of Prospective Applications, Advancements, and Challenges,” Apr. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/en15072611.
- [15] Q. Pan, X. Tian, J. Li, X. Wu, and F. Zhao, “Interfacial electron transfer for carbon dioxide valorization in hybrid inorganic-microbial systems,” *Appl. Energy*, vol. 292, no. March, p. 116885, 2021, doi: 10.1016/j.apenergy.2021.116885.
- [16] J. C. Wood *et al.*, “Strategies to improve viability of a circular carbon bioeconomy-A techno-economic review of microbial electrosynthesis and gas fermentation,” Aug. 01, 2021, *Elsevier Ltd*. doi: 10.1016/j.watres.2021.117306.
- [17] S. Zhang, J. Jiang, H. Wang, F. Li, T. Hua, and W. Wang, “A review of microbial electrosynthesis applied to carbon dioxide capture and conversion: The basic principles, electrode materials, and bioproducts,” *Journal of CO₂ Utilization*, vol. 51, no. June, p. 101640, 2021, doi: 10.1016/j.jcou.2021.101640.
- [18] N. Aryal, F. Ammam, S. A. Patil, and D. Pant, “An overview of cathode materials for microbial electrosynthesis of chemicals from carbon dioxide,” *Green Chemistry*, vol. 19, no. 24, pp. 5748–5760, 2017, doi: 10.1039/c7gc01801k.

- [19] Z. Chen, X. Wang, and L. Liu, “Electrochemical Reduction of Carbon Dioxide to Value-Added Products: The Electrocatalyst and Microbial Electrosynthesis,” *Chemical Record*, vol. 19, no. 7, pp. 1272–1282, 2019, doi: 10.1002/tcr.201800100.
- [20] T. Gao, H. Zhang, X. Xu, and J. Teng, “Integrating microbial electrolysis cell based on electrochemical carbon dioxide reduction into anaerobic osmosis membrane reactor for biogas upgrading,” *Water Res.*, vol. 190, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.watres.2020.116679.
- [21] C. Xiao, Y. Li, X. Lu, and C. Zhao, “Bifunctional Porous NiFe/NiCo₂O₄/Ni Foam Electrodes with Triple Hierarchy and Double Synergies for Efficient Whole Cell Water Splitting,” *Adv. Funct. Mater.*, vol. 26, no. 20, pp. 3515–3523, May 2016, doi: 10.1002/adfm.201505302.
- [22] Y. Hori, K. Kikuchi, and S. Suzuki, “Production of CO and CH₄ in electrochemical reduction of CO₂ at metal electrodes in aqueous hydrogenocarbonate solution,” 1985.
- [23] M. Siegert, M. D. Yates, D. F. Call, X. Zhu, A. Spormann, and B. E. Logan, “Comparison of nonprecious metal cathode materials for methane production by electromethanogenesis,” *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 2, no. 4, pp. 910–917, 2014, doi: 10.1021/sc400520x.
- [24] Y. Jiang *et al.*, “Zinc: A promising material for electrocatalyst-assisted microbial electrosynthesis of carboxylic acids from carbon dioxide,” *Water Res.*, vol. 159, pp. 87–94, 2019, doi: 10.1016/j.watres.2019.04.053.
- [25] D. Thatikayala, D. Pant, and B. Min, “MnO₂/reduced graphene oxide nanohybrids as a cathode catalyst for the microbial reduction of CO₂ to acetate and isobutyric acid,” *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, vol. 45, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.seta.2021.101114.
- [26] J. Yin, K. Zhang, Y. Zhou, X. L. Li, T. Song, and J. Xie, “Co₃O₄/C derived from ZIF-67 cathode enhances the microbial electrosynthesis of acetate from CO₂,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 58, pp. 426–432, Mar. 2024, doi: 10.1016/j.ijhydene.2024.01.210.
- [27] D. Thatikayala and B. Min, “Copper ferrite supported reduced graphene oxide as cathode materials to enhance microbial electrosynthesis of volatile fatty acids from CO₂,” *Science of the Total Environment*, vol. 768, May 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.144477.

- [28] K. Tahir, W. Miran, J. Jang, S. H. Woo, and D. S. Lee, “Enhanced product selectivity in the microbial electrosynthesis of butyrate using a nickel ferrite-coated biocathode,” *Environ. Res.*, vol. 196, May 2021, doi: 10.1016/j.envres.2021.110907.
- [29] S. Ruan, Y. Jiang, A. Wang, X. Zhang, Y. Lin, and S. Liang, “Carbon sequestration pathways in microorganisms: Advances, strategies, and applications,” Jun. 01, 2025, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.engmic.2025.100196.
- [30] A. Kadier *et al.*, “Recent advances and emerging challenges in microbial electrolysis cells (MECs) for microbial production of hydrogen and value-added chemicals,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 61, pp. 501–525, 2016, doi: 10.1016/j.rser.2016.04.017.
- [31] J. N. Hengsbach, B. Sabel-Becker, R. Ulber, and D. Holtmann, “Microbial electrosynthesis of methane and acetate—comparison of pure and mixed cultures,” Jun. 01, 2022, *Springer Science and Business Media Deutschland GmbH*. doi: 10.1007/s00253-022-12031-9.
- [32] L. Jourdin *et al.*, “High Acetic Acid Production Rate Obtained by Microbial Electrosynthesis from Carbon Dioxide,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 49, no. 22, pp. 13566–13574, Oct. 2015, doi: 10.1021/acs.est.5b03821.
- [33] Y. Li *et al.*, “Biochar stimulates growth of novel species capable of direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion via ethanol-type fermentation,” *Environ. Res.*, vol. 189, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.envres.2020.109983.
- [34] D. R. Lovley, “Syntrophy Goes Electric: Direct Interspecies Electron Transfer,” vol. 10, p. 16, 2026, doi: 10.1146/annurev-micro-030117.
- [35] R. Zagrodnik, A. Duber, M. Łężyk, and P. Oleskowicz-Popiel, “Enrichment Versus Bioaugmentation - Microbiological Production of Caproate from Mixed Carbon Sources by Mixed Bacterial Culture and *Clostridium kluyveri*,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 54, no. 9, pp. 5864–5873, May 2020, doi: 10.1021/acs.est.9b07651.
- [36] C. Zhang, H. Liu, P. Wu, J. Li, and J. Zhang, “*Clostridium kluyveri* enhances caproate production by synergistically cooperating with acetogens in mixed microbial community of electro-fermentation system,” *Bioresour. Technol.*, vol. 369, Feb. 2023, doi: 10.1016/j.biortech.2022.128436.

- [37] S. Bajracharya, S. Srikanth, G. Mohanakrishna, R. Zacharia, D. P. Strik, and D. Pant, “Biotransformation of carbon dioxide in bioelectrochemical systems: State of the art and future prospects,” *J. Power Sources*, vol. 356, pp. 256–273, 2017, doi: 10.1016/j.jpowsour.2017.04.024.
- [38] S. Agnihotri *et al.*, “A Glimpse of the World of Volatile Fatty Acids Production and Application: A review,” 2022, *Taylor and Francis Ltd.* doi: 10.1080/21655979.2021.1996044.
- [39] A. Poehlein *et al.*, “Advanced aspects of acetogens,” Jul. 01, 2025, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.biortech.2024.131913.
- [40] F. F.-Biochem. Z and undefined 1932, “Biologische Gasreaktionen. II. Über die Bildung von Essigsäure bei der Biologischen Umsetzung von Kohlenoxyd und Kohlensäure mit Wasserstoff zn,” *cir.nii.ac.jp*, Accessed: Jan. 01, 2026. [Online]. Available: <https://cir.nii.ac.jp/crid/1570009749435952768>
- [41] K. T. Wieringa, “Over het verdwijnen van waterstof en koolzuur onder anaerobe voorwaarden - Voortzetting van een onderzoek van wijlen Prof. Dr. Ir. N. L. Söhnngen,” *Antonie Van Leeuwenhoek*, vol. 3, no. 1, pp. 263–273, 1936, doi: 10.1007/BF02059556/METRICS.
- [42] M. Braun, F. Mayer, and G. Gottschalk, “Clostridium aceticum (Wieringa), a microorganism producing acetic acid from molecular hydrogen and carbon dioxide,” *Arch. Microbiol.*, vol. 128, no. 3, pp. 288–293, Jan. 1981, doi: 10.1007/BF00422532/METRICS.
- [43] H. A. Barker and M. D. Kamen, “Carbon Dioxide Utilization in the Synthesis of Acetic Acid by Clostridium Thermoaceticum,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 31, no. 8, pp. 219–225, Aug. 1945, doi: 10.1073/PNAS.31.8.219.
- [44] H. Wood, S. Ragsdale, E. P.-T. in B. Sciences, and undefined 1986, “The acetyl-CoA pathway: a newly discovered pathway of autotrophic growth,” *cell.comHG Wood, SW Ragsdale, E PezackaTrends in Biochemical Sciences, 1986•cell.com*, Accessed: Jan. 01, 2026. [Online]. Available: [https://www.cell.com/trends/biochemical-sciences/pdf/0968-0004\(86\)90223-9.pdf](https://www.cell.com/trends/biochemical-sciences/pdf/0968-0004(86)90223-9.pdf)

- [45] H. G. Wood, S. W. Ragsdale, and E. Pezacka, “The acetyl-CoA pathway of autotrophic growth,” *FEMS Microbiol. Rev.*, vol. 2, no. 4, pp. 345–362, Oct. 1986, doi: 10.1111/J.1574-6968.1986.TB01865.X.
- [46] S. Karekar, R. Stefanini, and B. Ahring, “Homo-Acetogens: Their Metabolism and Competitive Relationship with Hydrogenotrophic Methanogens,” Feb. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/microorganisms10020397.
- [47] A. Katsyv and V. Müller, “Overcoming Energetic Barriers in Acetogenic C1 Conversion,” Dec. 23, 2020, *Frontiers Media S.A.* doi: 10.3389/fbioe.2020.621166.
- [48] J. Wang and Y. Yin, “Biological production of medium-chain carboxylates through chain elongation: An overview,” Mar. 01, 2022, *Elsevier Inc.* doi: 10.1016/j.biotechadv.2021.107882.
- [49] N. S. Malvankar and D. R. Lovley, “Microbial nanowires: A new paradigm for biological electron transfer and bioelectronics,” *ChemSusChem*, vol. 5, no. 6, pp. 1039–1046, 2012, doi: 10.1002/cssc.201100733.
- [50] T. Uekia, “Cytochromes in Extracellular Electron Transfer in *Geobacter*,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 87, no. 10, pp. 1–16, May 2021, doi: 10.1128/AEM.03109-20.
- [51] C. Sanders, S. Turkarslan, D. W. Lee, and F. Daldal, “Cytochrome c biogenesis: The Ccm system,” 2010, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.tim.2010.03.006.
- [52] J. Zhang *et al.*, “Conductive proteins-based extracellular electron transfer of electroactive microorganisms,” Dec. 01, 2023, *John Wiley and Sons Inc.* doi: 10.1002/qub2.24.
- [53] C. Koch and F. Harnisch, “Is there a Specific Ecological Niche for Electroactive Microorganisms?,” Sep. 01, 2016, *Wiley-VCH Verlag*. doi: 10.1002/celc.201600079.
- [54] D. Patel, S. L. Bapodra, D. Madamwar, and C. Desai, “Electroactive bacterial community augmentation enhances the performance of a pilot scale constructed wetland microbial fuel cell for treatment of textile dye wastewater,” *Bioresour. Technol.*, vol. 332, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.biortech.2021.125088.
- [55] S. V. Raghavulu, J. A. Modestra, K. Amulya, C. N. Reddy, and S. Venkata Mohan, “Relative effect of bioaugmentation with electrochemically active and non-active bacteria on

- bioelectrogenesis in microbial fuel cell,” *Bioresour. Technol.*, vol. 146, pp. 696–703, 2013, doi: 10.1016/j.biortech.2013.07.097.
- [56] J. Feng *et al.*, “Rational design of direct and indirect electron transfer pathways to engineer efficient electroactive *Escherichia coli* for green bioelectrochemical system applications,” *Green Chemistry*, vol. 27, no. 30, pp. 9211–9222, Jul. 2025, doi: 10.1039/d5gc02722e.
- [57] T. Harada, M. Toda, Y. Yamada, K. Tomita, A. Kouzuma, and K. Watanabe, “Bioaugmentation of microbial fuel cells with *Geobacter sulfurreducens* strain 60473 for boosting power outputs from food wastes,” *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol. 89, no. 6, pp. 918–923, May 2025, doi: 10.1093/BBB/ZBAF023.
- [58] K. P. Nevin, T. L. Woodard, A. E. Franks, Z. M. Summers, and D. R. Lovley, “Microbial electrosynthesis: Feeding microbes electricity to convert carbon dioxide and water to multicarbon extracellular organic compounds,” *mBio*, vol. 1, no. 2, 2010, doi: 10.1128/mBio.00103-10.
- [59] J. Zhang, F. Li, D. Liu, Q. Liu, and H. Song, “Engineering extracellular electron transfer pathways of electroactive microorganisms by synthetic biology for energy and chemicals production,” Dec. 20, 2023, *Royal Society of Chemistry*. doi: 10.1039/d3cs00537b.
- [60] M. Cui, H. Nie, T. Zhang, D. Lovley, and T. P. Russell, “Three-dimensional hierarchical metal oxide-carbon electrode materials for highly efficient microbial electrosynthesis,” *Sustain. Energy Fuels*, vol. 1, no. 5, pp. 1171–1176, 2017, doi: 10.1039/c7se00073a.
- [61] S. Das, S. Das, and M. M. Ghangrekar, “Application of TiO₂ and Rh as cathode catalyst to boost the microbial electrosynthesis of organic compounds through CO₂ sequestration,” *Process Biochemistry*, vol. 101, pp. 237–246, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.procbio.2020.11.017.
- [62] L. Yu, Y. Yuan, J. Tang, and S. Zhou, “Thermophilic *Moorella thermoautotrophica*-immobilized cathode enhanced microbial electrosynthesis of acetate and formate from CO₂,” *Bioelectrochemistry*, vol. 117, pp. 23–28, Oct. 2017, doi: 10.1016/j.bioelechem.2017.05.001.
- [63] L. Chen, P. L. Tremblay, S. Mohanty, K. Xu, and T. Zhang, “Electrosynthesis of acetate from CO₂ by a highly structured biofilm assembled with reduced graphene oxide-

- tetraethylene pentamine,” *J. Mater. Chem. A Mater.*, vol. 4, no. 21, pp. 8395–8401, 2016, doi: 10.1039/c6ta02036d.
- [64] A. Gemünde, B. Lai, L. Pause, J. Krömer, and D. Holtmann, “Redox Mediators in Microbial Electrochemical Systems,” Jul. 14, 2022, *John Wiley and Sons Inc.* doi: 10.1002/celc.202200216.
- [65] Y. E. Song *et al.*, “Biofilm matrix and artificial mediator for efficient electron transport in CO₂ microbial electrosynthesis,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 427, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.cej.2021.131885.
- [66] H. Y. Yang *et al.*, “Redox mediator-modified biocathode enables highly efficient microbial electro-synthesis of methane from carbon dioxide,” *Appl. Energy*, vol. 274, no. March, p. 115292, 2020, doi: 10.1016/j.apenergy.2020.115292.
- [67] B. Young Jeon, I. Lae Jung, and D. Hyun Park, “Conversion of Carbon Dioxide to Metabolites by *Clostridium acetobutylicum* KCTC1037 Cultivated with Electrochemical Reducing Power,” *Adv. Microbiol.*, vol. 02, no. 03, pp. 332–339, 2012, doi: 10.4236/aim.2012.23040.
- [68] K. J. J. Steinbusch, H. V. M. Hamelers, J. D. Schaap, C. Kampman, and C. J. N. Buisman, “Bioelectrochemical ethanol production through mediated acetate reduction by mixed cultures,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 44, no. 1, pp. 513–517, 2010, doi: 10.1021/es902371e.
- [69] L. Chistoserdova, M. G. Kalyuzhnaya, and M. E. Lidstrom, “The Expanding World of Methylophilic Metabolism,” *Annu. Rev. Microbiol.*, vol. 63, pp. 477–499, 2009.
- [70] X. Zhu *et al.*, “Syngas mediated microbial electrosynthesis for CO₂ to acetate conversion using *Clostridium ljungdahlii*,” *Resour. Conserv. Recycl.*, vol. 184, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.resconrec.2022.106395.
- [71] Y. X. Huang and Z. Hu, “An integrated electrochemical and biochemical system for sequential reduction of CO₂ to methane,” *Fuel*, vol. 220, no. January, pp. 8–13, 2018, doi: 10.1016/j.fuel.2018.01.141.
- [72] Z. Qiu, K. Zhang, X. L. Li, T. shun Song, and J. Xie, “Sn promotes formate production to enhance microbial electrosynthesis of acetate via indirect electron transport,” *Biochem. Eng. J.*, vol. 192, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.bej.2023.108842.

- [73] Z. Zhang *et al.*, “Clarifying catalytic behaviors and electron transfer routes of electroactive biofilm during bioelectroconversion of CO₂ to CH₄,” *Fuel*, vol. 310, no. PC, p. 122450, 2022, doi: 10.1016/j.fuel.2021.122450.
- [74] E. Blanchet, F. Duquenne, Y. Rafrafi, L. Etcheverry, B. Erable, and A. Bergel, “Importance of the hydrogen route in up-scaling electrosynthesis for microbial CO₂ reduction,” *Energy Environ. Sci.*, vol. 8, no. 12, pp. 3731–3744, 2015, doi: 10.1039/c5ee03088a.
- [75] Y. Bian, A. Leininger, H. D. May, and Z. J. Ren, “H₂ mediated mixed culture microbial electrosynthesis for high titer acetate production from CO₂,” *Environmental Science and Ecotechnology*, vol. 19, May 2024, doi: 10.1016/j.ese.2023.100324.
- [76] H. Yao, J. M. Rinta-Kanto, I. Vassilev, and M. Kokko, “Methanol as a co-substrate with CO₂ enhances butyrate production in microbial electrosynthesis,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 108, no. 1, Dec. 2024, doi: 10.1007/s00253-024-13218-y.
- [77] A. Saravanan, P. S. Kumar, S. Srinivasan, S. Jeevanantham, R. Kamalesh, and S. Karishma, “Sustainable strategy on microbial fuel cell to treat the wastewater for the production of green energy,” *Chemosphere*, vol. 290, no. October 2021, p. 133295, 2022, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.133295.
- [78] H. Wang *et al.*, “Explore the difference between the single-chamber and dual-chamber microbial electrosynthesis for biogas production performance,” *Bioelectrochemistry*, vol. 138, Apr. 2021, doi: 10.1016/j.bioelechem.2020.107726.
- [79] V. Sivalingam, V. Ahmadi, O. Babafemi, and C. Dinamarca, “Integrating syngas fermentation into a single-cell microbial electrosynthesis (MES) reactor,” *Catalysts*, vol. 11, no. 1, pp. 1–10, Jan. 2021, doi: 10.3390/catal11010040.
- [80] A. B. T. Nelabhotla, R. Bakke, and C. Dinamarca, “Performance analysis of biocathode in bioelectrochemical CO₂ reduction,” *Catalysts*, vol. 9, no. 8, Aug. 2019, doi: 10.3390/catal9080683.
- [81] A. Kadier *et al.*, “Recent advances and emerging challenges in microbial electrolysis cells (MECs) for microbial production of hydrogen and value-added chemicals,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 61, pp. 501–525, 2016, doi: 10.1016/j.rser.2016.04.017.

- [82] Z. Liu, X. Xue, W. Cai, K. Cui, S. A. Patil, and K. Guo, "Recent progress on microbial electrosynthesis reactor designs and strategies to enhance the reactor performance," Jan. 01, 2023, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.bej.2022.108745.
- [83] G. S. Jadhav, A. Tripathi, and M. M. Ghangrekar, "An overview of current and emerging design of microbial electrochemical technology," in *Emerging Trends and Advances in Microbial Electrochemical Technologies: Hypothesis, Design, Operation, and Applications*, Elsevier, 2024, pp. 385–424. doi: 10.1016/B978-0-443-15557-4.00027-7.
- [84] T. Krieg *et al.*, "Reactors for Microbial Electrobiotechnology," *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, vol. 167, pp. 231–271, 2018, doi: 10.1007/10_2017_40.
- [85] K. Guo, A. Prévotau, and K. Rabaey, "A novel tubular microbial electrolysis cell for high rate hydrogen production," *J. Power Sources*, vol. 356, pp. 484–490, 2017, doi: 10.1016/j.jpowsour.2017.03.029.
- [86] J. S. Deutzmann, G. Callander, and A. M. Spormann, "Improved reactor design enables productivity of microbial electrosynthesis on par with classical biotechnology," *Bioresour. Technol.*, vol. 416, Jan. 2025, doi: 10.1016/j.biortech.2024.131733.
- [87] J. Ditzig, H. Liu, and B. E. Logan, "Production of hydrogen from domestic wastewater using a bioelectrochemically assisted microbial reactor (BEAMR)," *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 32, no. 13, pp. 2296–2304, Sep. 2007, doi: 10.1016/j.ijhydene.2007.02.035.
- [88] I. Vassilev *et al.*, "Microbial electrosynthesis system with dual biocathode arrangement for simultaneous acetogenesis, solventogenesis and carbon chain elongation," *Chemical Communications*, vol. 55, no. 30, pp. 4351–4354, 2019, doi: 10.1039/c9cc00208a.
- [89] N. Chu *et al.*, "Flow-Electrode Microbial Electrosynthesis for Increasing Production Rates and Lowering Energy Consumption," *Engineering*, vol. 25, pp. 157–167, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.eng.2021.09.015.
- [90] S. Gildemyn, K. Verbeeck, R. Slabbinck, S. J. Andersen, A. Prévotau, and K. Rabaey, "Integrated production, extraction, and concentration of acetic acid from CO₂ through microbial electrosynthesis," *Environ. Sci. Technol. Lett.*, vol. 2, no. 11, pp. 325–328, Nov. 2015, doi: 10.1021/acs.estlett.5b00212.

- [91] P. Izadi, J. M. Fontmorin, S. S. Lim, I. M. Head, and E. H. Yu, “Enhanced bio-production from CO₂ by microbial electrosynthesis (MES) with continuous operational mode,” *Faraday Discuss.*, vol. 230, pp. 344–359, 2021, doi: 10.1039/d0fd00132e.
- [92] L. Jourdin, M. Winkelhorst, B. Rawls, C. J. N. Buisman, and D. P. B. T. B. Strik, “Enhanced selectivity to butyrate and caproate above acetate in continuous bioelectrochemical chain elongation from CO₂: Steering with CO₂ loading rate and hydraulic retention time,” *Bioresour. Technol. Rep.*, vol. 7, Sep. 2019, doi: 10.1016/j.biteb.2019.100284.
- [93] P. Izadi, J. M. Fontmorin, A. Godain, E. H. Yu, and I. M. Head, “Parameters influencing the development of highly conductive and efficient biofilm during microbial electrosynthesis: the importance of applied potential and inorganic carbon source,” *NPJ Biofilms Microbiomes*, vol. 6, no. 1, Dec. 2020, doi: 10.1038/s41522-020-00151-x.
- [94] P. Dessì *et al.*, “Carboxylic acids production and electrosynthetic microbial community evolution under different CO₂ feeding regimens,” *Bioelectrochemistry*, vol. 137, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.bioelechem.2020.107686.
- [95] G. Mohanakrishna, K. Vanbroekhoven, and D. Pant, “Impact of dissolved carbon dioxide concentration on the process parameters during its conversion to acetate through microbial electrosynthesis,” *React. Chem. Eng.*, vol. 3, no. 3, pp. 371–378, Jun. 2018, doi: 10.1039/c7re00220c.
- [96] B. Bian, J. Xu, K. P. Katuri, and P. E. Saikaly, “Resistance assessment of microbial electrosynthesis for biochemical production to changes in delivery methods and CO₂ flow rates,” *Bioresour. Technol.*, vol. 319, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.biortech.2020.124177.
- [97] C. Quintela *et al.*, “Chain elongation in continuous microbial electrosynthesis cells: The effect of pH and precursors supply,” *Journal of CO₂ Utilization*, vol. 83, May 2024, doi: 10.1016/j.jcou.2024.102789.
- [98] H. Kobayashi *et al.*, “High-pressure thermophilic electromethanogenic system producing methane at 5 MPa, 55°C,” *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 124, no. 3, pp. 327–332, 2017, doi: 10.1016/j.jbiosc.2017.04.001.

- [99] M. T. Noori, S. V. Mohan, and B. Min, “Microbial electrosynthesis of multi-carbon volatile fatty acids under the influence of different imposed potentials,” *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, vol. 45, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.seta.2021.101118.
- [100] Y. Jiang, M. Su, Y. Zhang, G. Zhan, Y. Tao, and D. Li, “Bioelectrochemical systems for simultaneously production of methane and acetate from carbon dioxide at relatively high rate,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 38, no. 8, pp. 3497–3502, 2013, doi: 10.1016/j.ijhydene.2012.12.107.
- [101] N. Krishna Chaitanya, P. S. Nair, A. Rajpurohit, and P. Chatterjee, “Impact of cell voltage on synthesis of caproic acid from carbon dioxide and ethanol in direct current powered microbial electrosynthesis cell,” *Bioresour. Technol.*, vol. 412, Nov. 2024, doi: 10.1016/j.biortech.2024.131383.
- [102] S. Bajracharya, A. Krige, L. Matsakas, U. Rova, and P. Christakopoulos, “Advances in cathode designs and reactor configurations of microbial electrosynthesis systems to facilitate gas electro-fermentation,” Jun. 01, 2022, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.biortech.2022.127178.
- [103] E. Ntagia, I. Chatzigiannidou, A. J. Williamson, J. B. A. Arends, and K. Rabaey, “Homoacetogenesis and microbial community composition are shaped by pH and total sulfide concentration,” *Microb. Biotechnol.*, vol. 13, no. 4, pp. 1026–1038, Jul. 2020, doi: 10.1111/1751-7915.13546.
- [104] E. Nwanebu, M. Jezernik, C. Lawson, G. Bruant, and B. Tartakovsky, “Impact of cathodic pH and bioaugmentation on acetate and CH₄ production in a microbial electrosynthesis cell,” *RSC Adv.*, vol. 14, no. 32, pp. 22962–22973, Jul. 2024, doi: 10.1039/d4ra03906h.
- [105] J. Tamis, B. Joosse, K. de Leeuw, and R. Kleerebezem, “High-rate ethanol production at low pH using the anaerobic granular sludge process,” *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 118, no. 5, pp. 1943–1950, May 2021, doi: 10.1002/bit.27708.
- [106] H. A. Barker and S. M. Taha, “Clostridium kluyverii, an organism concerned in the formation of caproic acid from ethyl alcohol,” *J. Bacteriol.*, vol. 43, pp. 347–363, 1942, [Online]. Available: <https://journals.asm.org/journal/jb>

- [107] I. Vassilev *et al.*, “Microbial Electrosynthesis of Isobutyric, Butyric, Caproic Acids, and Corresponding Alcohols from Carbon Dioxide,” *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 6, no. 7, pp. 8485–8493, Jul. 2018, doi: 10.1021/acssuschemeng.8b00739.
- [108] H. Yao *et al.*, “Selective butyrate production from CO₂ and methanol in microbial electrosynthesis - influence of pH,” *Bioelectrochemistry*, vol. 165, Oct. 2025, doi: 10.1016/j.bioelechem.2025.109000.
- [109] A. Soni, S. K. Maurya, and M. Malviya, “Exploring electrocatalysts for oxygen evolution: A comprehensive comparative review in alkaline and acidic medium,” Apr. 30, 2025, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.jpowsour.2025.236571.
- [110] Y. Luo, Z. Zhang, M. Chhowalla, and B. Liu, “Recent Advances in Design of Electrocatalysts for High-Current-Density Water Splitting,” Apr. 01, 2022, *John Wiley and Sons Inc.* doi: 10.1002/adma.202108133.
- [111] G. Su, J. Yang, and J. Yin, “Advancements in Electrocatalysts for Oxygen Evolution Reaction: A Review of Catalysts in Acidic Media,” Apr. 14, 2025, *John Wiley and Sons Inc.* doi: 10.1002/celc.202400559.
- [112] G. A. Gebreslase, M. V. Martínez-Huerta, and M. J. Lázaro, “Recent progress on bimetallic NiCo and CoFe based electrocatalysts for alkaline oxygen evolution reaction: A review,” Apr. 01, 2022, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.jechem.2021.10.009.
- [113] P. Li *et al.*, “Recent Advances in the Development of Water Oxidation Electrocatalysts at Mild pH,” Mar. 27, 2019, *Wiley-VCH Verlag*. doi: 10.1002/sml.201805103.
- [114] J. Li *et al.*, “Progress of Ir/Ru-based catalysts for electrocatalytic oxygen evolution reaction in acidic environments,” Nov. 26, 2024, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.ijhydene.2024.10.277.
- [115] A. J. Lewis and A. P. Borole, “Adapting microbial communities to low anode potentials improves performance of MECs at negative potentials,” *Electrochim. Acta*, vol. 254, pp. 79–88, Nov. 2017, doi: 10.1016/j.electacta.2017.09.085.
- [116] R. Agrahari, B. Bayar, H. N. Abubackar, B. S. Giri, E. R. Rene, and R. Rani, “Advances in the development of electrode materials for improving the reactor kinetics in microbial fuel cells,” *Chemosphere*, vol. 290, Mar. 2022, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.133184.

- [117] A. Kadier *et al.*, “Recent advances and emerging challenges in microbial electrolysis cells (MECs) for microbial production of hydrogen and value-added chemicals,” Aug. 01, 2016, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.rser.2016.04.017.
- [118] A. Banerjee, R. K. Calay, and M. Mustafa, “Review on Material and Design of Anode for Microbial Fuel Cell,” Mar. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/en15062283.
- [119] T. Yamashita *et al.*, “Enhanced electrical power generation using flame-oxidized stainless steel anode in microbial fuel cells and the anodic community structure,” *Biotechnol. Biofuels*, vol. 9, no. 1, Mar. 2016, doi: 10.1186/s13068-016-0480-7.
- [120] X. Wang, S. Cheng, Y. Feng, M. D. Merrill, T. Saito, and B. E. Logan, “Use of carbon mesh anodes and the effect of different pretreatment methods on power production in microbial fuel cells,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 43, no. 17, pp. 6870–6874, Sep. 2009, doi: 10.1021/es900997w.
- [121] Y. Feng, Q. Yang, X. Wang, and B. E. Logan, “Treatment of carbon fiber brush anodes for improving power generation in air-cathode microbial fuel cells,” *J. Power Sources*, vol. 195, no. 7, pp. 1841–1844, Apr. 2010, doi: 10.1016/j.jpowsour.2009.10.030.
- [122] S. Cheng and B. E. Logan, “Ammonia treatment of carbon cloth anodes to enhance power generation of microbial fuel cells,” *Electrochem. commun.*, vol. 9, no. 3, pp. 492–496, Mar. 2007, doi: 10.1016/j.elecom.2006.10.023.
- [123] H. Liang, J. Han, X. Yang, Z. Qiao, and T. Yin, “Performance improvement of microbial fuel cells through assembling anodes modified with nanoscale materials,” Oct. 01, 2022, *SAGE Publications Ltd.* doi: 10.1177/18479804221132965.
- [124] T. Merga *et al.*, “Progress of carbon-based electrodes in microbial fuel cells: A comprehensive review,” Sep. 01, 2025, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.rechem.2025.102627.
- [125] F. U. Rehman, F. Amjad, W. Lee, and M. Chang, “Recent advances in functional energy materials for microbial fuel cells: progress, challenges, and future perspectives,” Sep. 30, 2025, *Royal Society of Chemistry*. doi: 10.1039/d5ta04072h.
- [126] A. K. Tiwari, S. Jain, A. A. Mungray, and A. K. Mungray, “SnO₂:PANI modified cathode for performance enhancement of air-cathode microbial fuel cell,” *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 8, no. 1, Feb. 2020, doi: 10.1016/j.jece.2019.103590.

- [127] M. Wang, Z. Wang, F. Hu, L. Fan, and X. Zhang, “Polyelectrolytes/ α -Fe₂O₃ modification of carbon cloth anode for dealing with food wastewater in microbial fuel cell,” *Carbon Resources Conversion*, vol. 3, pp. 76–81, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.crcon.2020.02.004.
- [128] X. Benetton, ... S. N.-Á.-J. N. M., and undefined 2010, “Electrochemical evaluation of Ti/TiO₂-polyaniline anodes for microbial fuel cells using hypersaline microbial consortia for synthetic-wastewater treatment,” *researchgate.netXD Benetton, SG Navarro-Ávila, C Carrera-FigueirasJ. New Mater. Electrochem. Syst, 2010•researchgate.net*, Accessed: Jan. 14, 2026. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/profile/Xochitl-Dominguez-Benetton/publication/266265749_Electrochemical_Evaluation_of_TiTiO2-polyaniline_Anodes_for_Microbial_Fuel_Cells_using_Hypersaline_Microbial_Consortia_for_Synthetic-wastewater_Treatment/links/543eb7d90cf2eaec07e7f180/Electrochemical-Evaluation-of-Ti-TiO2-polyaniline-Anodes-for-Microbial-Fuel-Cells-using-Hypersaline-Microbial-Consortia-for-Synthetic-wastewater-Treatment.pdf
- [129] E. Chorbadzhiyska, I. Bardarov, Y. Hubenova, and M. Mitov, “Graphite–metal oxide composites as potential anodic catalysts for microbial fuel cells,” *Catalysts*, vol. 10, no. 7, pp. 1–14, Jul. 2020, doi: 10.3390/catal10070796.
- [130] X. Zhao, T. Tian, M. Guo, X. Liu, and X. Liu, “Cauliflower-like polypyrrole@MnO₂ modified carbon cloth as a capacitive anode for high-performance microbial fuel cells,” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 95, no. 1, pp. 163–172, Jan. 2020, doi: 10.1002/jctb.6218.
- [131] S. Yu, M. Zhang, Y. Liu, S. Guo, Y. Zhou, and C. Li, “Enhanced extracellular electron transfer of CoMn₂O₄@CNT as microbial fuel cell anode,” *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 11, no. 6, Dec. 2023, doi: 10.1016/j.jece.2023.111201.
- [132] S. Naina Mohamed *et al.*, “Bioelectricity generation using iron(II) molybdate nanocatalyst coated anode during treatment of sugar wastewater in microbial fuel cell,” *Fuel*, vol. 277, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.fuel.2020.118119.
- [133] E. Ruiz-López, J. Gandara-Loe, F. Baena-Moreno, T. R. Reina, and J. A. Odriozola, “Electrocatalytic CO₂ conversion to C₂ products: Catalysts design, market perspectives and techno-economic aspects,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 161, no. February, 2022, doi: 10.1016/j.rser.2022.112329.

- [134] Y. Hori, A. Murata, R. Takahashi, and S. Suzuki, “Enhanced formation of ethylene and alcohols at ambient temperature and pressure in electrochemical reduction of carbon dioxide at a copper electrode,” *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, no. 1, pp. 17–19, 1988, doi: 10.1039/C39880000017.
- [135] M. Sassenburg *et al.*, “Characterizing CO₂ Reduction Catalysts on Gas Diffusion Electrodes: Comparing Activity, Selectivity, and Stability of Transition Metal Catalysts,” 2022, doi: 10.1021/acsaem.2c00160.
- [136] K. Kerman and H. Bernhard, “Capture and electroreduction of CO₂ using highly efficient bimetallic Pd – Ag aerogels paired with carbon nanotubes †,” pp. 12870–12877, 2021, doi: 10.1039/d1ta01834e.
- [137] G. O. Larrazábal, A. J. Martín, S. Mitchell, R. Hauert, and J. Pérez-ramírez, “Synergistic effects in silver – indium electrocatalysts for carbon dioxide reduction,” vol. 343, pp. 266–277, 2016, doi: 10.1016/j.jcat.2015.12.014.
- [138] J. W. Park *et al.*, “Bimetallic Gold – Silver Nanostructures Drive Low Overpotentials for Electrochemical Carbon Dioxide Reduction,” 2022, doi: 10.1021/acsami.1c20852.
- [139] A. Venugopal and D. Bohra, “Operando EXAFS study reveals presence of oxygen in oxide-derived silver catalysts for electrochemical CO₂ reduction †,” pp. 2597–2607, 2019, doi: 10.1039/c8ta10412c.
- [140] C. G. Morales-Guio *et al.*, “Improved CO₂ reduction activity towards C₂⁺ alcohols on a tandem gold on copper electrocatalyst,” *Nature Catalysis* 2018 1:10, vol. 1, no. 10, pp. 764–771, Oct. 2018, doi: 10.1038/s41929-018-0139-9.
- [141] Y. Feng *et al.*, “Laser-Prepared CuZn Alloy Catalyst for Selective Electrochemical Reduction of CO₂ to Ethylene,” *Langmuir*, vol. 34, no. 45, pp. 13544–13549, 2018, doi: 10.1021/acs.langmuir.8b02837.
- [142] P. Iyengar, M. J. Kolb, J. Pankhurst, F. Calle-Vallejo, and R. Buonsanti, “Theory-guided enhancement of CO₂ reduction to ethanol on Ag- Cu tandem catalysts via particle-size effects,” *ACS Catal.*, vol. 11, no. 21, pp. 13330–13336, 2021, doi: 10.1021/acscatal.1c03717.

- [143] T. T. H. Hoang *et al.*, “Nanoporous Copper-Silver Alloys by Additive-Controlled Electrodeposition for the Selective Electroreduction of CO₂ to Ethylene and Ethanol,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 140, no. 17, pp. 5791–5797, May 2018, doi: 10.1021/jacs.8b01868.
- [144] Y. Chen *et al.*, “In situ construction of thiol-silver interface for selectively electrocatalytic CO₂ reduction,” vol. 15, no. 4, pp. 3283–3289, 2022.
- [145] J. Ding *et al.*, “A tin-based tandem electrocatalyst for CO₂ reduction to ethanol with 80% selectivity,” *Nat. Energy*, vol. 8, no. 12, pp. 1386–1394, Dec. 2023, doi: 10.1038/s41560-023-01389-3.
- [146] Y. Jiang, J. Shan, P. Wang, L. Huang, Y. Zheng, and S. Z. Qiao, “Stabilizing Oxidation State of SnO₂ for Highly Selective CO₂ Electroreduction to Formate at Large Current Densities,” *ACS Catal.*, vol. 13, no. 5, pp. 3101–3108, Mar. 2023, doi: 10.1021/acscatal.3c00123.
- [147] J. Hazarika and M. S. Manna, “Electrochemical reduction of CO₂ to methanol with synthesized Cu₂O nanocatalyst: Study of the selectivity,” *Electrochim. Acta*, vol. 328, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.electacta.2019.135053.
- [148] S. Chu *et al.*, “Stabilization of Cu⁺ by tuning a CuO-CeO₂ interface for selective electrochemical CO₂ reduction to ethylene,” *Green Chemistry*, vol. 22, no. 19, pp. 6540–6546, Oct. 2020, doi: 10.1039/d0gc02279a.
- [149] A. R. Paris and A. B. Bocarsly, “High-Efficiency Conversion of CO₂ to Oxalate in Water Is Possible Using a Cr-Ga Oxide Electrocatalyst,” *ACS Catal.*, vol. 9, no. 3, pp. 2324–2333, Mar. 2019, doi: 10.1021/acscatal.8b04327.
- [150] T. Zhang *et al.*, “Improved cathode materials for microbial electrosynthesis,” *Energy Environ. Sci.*, vol. 6, no. 1, pp. 217–224, 2013, doi: 10.1039/c2ee23350a.
- [151] A. Gomez Vidales, G. Bruant, S. Omanovic, and B. Tartakovsky, “Carbon dioxide conversion to C₁ - C₂ compounds in a microbial electrosynthesis cell with in situ electrodeposition of nickel and iron,” *Electrochim. Acta*, vol. 383, p. 138349, 2021, doi: 10.1016/j.electacta.2021.138349.
- [152] D. Liu, T. Zheng, C. Buisman, and A. Ter Heijne, “Heat-Treated Stainless Steel Felt as a New Cathode Material in a Methane-Producing Bioelectrochemical System,” *ACS Sustain.*

- Chem. Eng.*, vol. 5, no. 12, pp. 11346–11353, Dec. 2017, doi: 10.1021/acssuschemeng.7b02367.
- [153] A. H. Anwer, M. D. Khan, N. Khan, A. S. Nizami, M. Rehan, and M. Z. Khan, “Development of novel MnO₂ coated carbon felt cathode for microbial electroreduction of CO₂ to biofuels,” *J. Environ. Manage.*, vol. 249, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.jenvman.2019.109376.
- [154] J. Du, H. Liang, Y. Zou, B. Li, X. Y. Li, and L. Lin, “Boosting Microbial CO₂ Electroreduction by the Biocompatible and Electroactive Bimetallic Fe-Mn Oxide Cathode for Acetate Production,” *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 12, no. 42, pp. 15659–15670, Oct. 2024, doi: 10.1021/acssuschemeng.4c06214.
- [155] C. Tricella, M. Muhyuddin, R. Nisticò, S. Tosoni, and C. Santoro, “Recent advancements related to silver-based electrocatalysts for carbon dioxide reduction reaction to carbon monoxide,” Jun. 01, 2025, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.coelec.2025.101696.
- [156] E. J. Dufek, T. E. Lister, S. G. Stone, and M. E. McIlwain, “Operation of a Pressurized System for Continuous Reduction of CO₂,” *J. Electrochem. Soc.*, vol. 159, no. 9, pp. F514–F517, 2012, doi: 10.1149/2.011209jes.
- [157] S. Ma, R. Luo, J. I. Gold, A. Z. Yu, B. Kim, and P. J. A. Kenis, “Carbon nanotube containing Ag catalyst layers for efficient and selective reduction of carbon dioxide,” *J. Mater. Chem. A Mater.*, vol. 4, no. 22, pp. 8573–8578, 2016, doi: 10.1039/c6ta00427j.
- [158] M. F. Liu, C. Zhang, J. Wang, X. Han, W. Hu, and Y. Deng, “Recent research progresses of Sn/Bi/In-based electrocatalysts for electroreduction CO₂ to formate,” Mar. 20, 2024, *John Wiley and Sons Inc.* doi: 10.1002/chem.202303711.
- [159] Z. Yang *et al.*, “Rational Strategies for Preparing Highly Efficient Tin-, Bismuth- or Indium-Based Electrocatalysts for Electrochemical CO₂ Reduction to Formic acid/Formate,” Feb. 16, 2025, *John Wiley and Sons Inc.* doi: 10.1002/cssc.202401181.
- [160] T. N. Nguyen *et al.*, “Multi-metallic Layered Catalysts for Stable Electrochemical CO₂ Reduction to Formate and Formic Acid,” *ChemSusChem*, vol. 17, no. 16, Aug. 2024, doi: 10.1002/cssc.202301894.

- [161] Y. Hu *et al.*, “Improving Faradaic Efficiency for Conversion of Bicarbonate to Formate Using Indium–Bismuth Alloy Electrocatalysts,” *ACS Catal.*, vol. 15, no. 15, pp. 13260–13277, Aug. 2025, doi: 10.1021/acscatal.5c00215.
- [162] Y. Zhu, X. Sun, R. Zhang, X. Feng, and Y. Zhu, “Interfacial Electronic Interaction in Amorphous–Crystalline CeOx-Sn Heterostructures for Optimizing CO₂ to Formate Conversion,” *Small*, vol. 20, no. 32, Aug. 2024, doi: 10.1002/smll.202400191.
- [163] Q. Chen, D. H. Si, Q. J. Wu, R. Cao, and Y. B. Huang, “Engineering Copper-Based Covalent Organic Framework Microenvironments to Enable Efficient CO₂ Electroreduction with Tunable Ethylene/Methane Switch,” *Adv. Funct. Mater.*, vol. 34, no. 24, Jun. 2024, doi: 10.1002/adfm.202315368.
- [164] N. Mushtaq, A. Ahmad, X. Wang, U. Khan, and J. Gao, “MOFs/COFs hybrids as next-generation materials for electrocatalytic CO₂ reduction reaction,” Apr. 15, 2024, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.ccej.2024.150098.
- [165] H. Yang *et al.*, “Scalable Production of Efficient Single-Atom Copper Decorated Carbon Membranes for CO₂ Electroreduction to Methanol,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 141, no. 32, pp. 12717–12723, Aug. 2019, doi: 10.1021/jacs.9b04907.
- [166] W. Guo *et al.*, “Highly Efficient CO₂ Electroreduction to Methanol through Atomically Dispersed Sn Coupled with Defective CuO Catalysts,” *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 60, no. 40, pp. 21979–21987, Sep. 2021, doi: 10.1002/anie.202108635.
- [167] R. Daiyan *et al.*, “3D Heterostructured Copper Electrode for Conversion of Carbon Dioxide to Alcohols at Low Overpotentials,” *Adv. Sustain. Syst.*, vol. 3, no. 1, 2019, doi: 10.1002/adsu.201800064.
- [168] Q. Zhu *et al.*, “Carbon dioxide electroreduction to C₂ products over copper-cuprous oxide derived from electrosynthesized copper complex,” *Nat. Commun.*, vol. 10, no. 1, Dec. 2019, doi: 10.1038/s41467-019-11599-7.
- [169] S. Shen *et al.*, “AuCu Alloy Nanoparticle Embedded Cu Submicrocone Arrays for Selective Conversion of CO₂ to Ethanol,” *Small*, vol. 15, no. 37, Sep. 2019, doi: 10.1002/smll.201902229.

- [170] Y. C. Li *et al.*, “Binding Site Diversity Promotes CO₂ Electroreduction to Ethanol,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 141, no. 21, pp. 8584–8591, May 2019, doi: 10.1021/jacs.9b02945.
- [171] C.-T. Dinh *et al.*, “CO₂ electroreduction to ethylene via hydroxide-mediated copper catalysis at an abrupt interface.”
- [172] H. Wang *et al.*, “CO₂ electrolysis toward acetate: A review,” Jun. 01, 2023, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.coelec.2023.101253.
- [173] X. Sun *et al.*, “Design of a Cu(I)/C-doped boron nitride electrocatalyst for efficient conversion of CO₂ into acetic acid,” *Green Chemistry*, vol. 19, no. 9, pp. 2086–2091, 2017, doi: 10.1039/c7gc00503b.
- [174] C. Genovese *et al.*, “Operando spectroscopy study of the carbon dioxide electro-reduction by iron species on nitrogen-doped carbon,” *Nat. Commun.*, vol. 9, no. 1, Dec. 2018, doi: 10.1038/s41467-018-03138-7.
- [175] D. Zang, Q. Li, G. Dai, M. Zeng, Y. Huang, and Y. Wei, “Interface engineering of Mo₈/Cu heterostructures toward highly selective electrochemical reduction of carbon dioxide into acetate,” *Appl. Catal. B*, vol. 281, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.apcatb.2020.119426.
- [176] F. Wang, B. Wang, T. Zhang, and J. Liu, “Electrochemical CO₂ reduction to C₃+ products: a review,” *Green Carbon*, Apr. 2025, doi: 10.1016/j.greenca.2025.02.009.
- [177] K. P. Nevin *et al.*, “Electrosynthesis of organic compounds from carbon dioxide is catalyzed by a diversity of acetogenic microorganisms,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 77, no. 9, pp. 2882–2886, May 2011, doi: 10.1128/AEM.02642-10.
- [178] C. W. Marshall, D. E. Ross, E. B. Fichot, R. S. Norman, and H. D. May, “Long-term operation of microbial electrosynthesis systems improves acetate production by autotrophic microbiomes,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 47, no. 11, pp. 6023–6029, Jun. 2013, doi: 10.1021/es400341b.
- [179] E. V. LaBelle and H. D. May, “Energy efficiency and productivity enhancement of microbial electrosynthesis of acetate,” *Front. Microbiol.*, vol. 8, no. MAY, May 2017, doi: 10.3389/fmicb.2017.00756.

- [180] V. Flexer and L. Jourdin, “Purposely Designed Hierarchical Porous Electrodes for High Rate Microbial Electrosynthesis of Acetate from Carbon Dioxide,” *Acc. Chem. Res.*, vol. 53, no. 2, pp. 311–321, Feb. 2020, doi: 10.1021/acs.accounts.9b00523.
- [181] J. S. Deutzmann and A. M. Spormann, “High acetate titer obtained from CO₂ by thermophilic microbial electrosynthesis with *Thermoanaerobacter kivui*,” *Bioresour. Technol. Rep.*, vol. 25, Feb. 2024, doi: 10.1016/j.biteb.2023.101740.
- [182] P. Izadi, J. M. Fontmorin, S. S. Lim, I. M. Head, and E. H. Yu, “Enhanced bio-production from CO₂ by microbial electrosynthesis (MES) with continuous operational mode,” *Faraday Discuss.*, vol. 230, pp. 344–359, Jan. 2021, doi: 10.1039/d0fd00132e.
- [183] Y. Jiang, N. Chu, D. K. Qian, and R. Jianxiong Zeng, “Microbial electrochemical stimulation of caproate production from ethanol and carbon dioxide,” *Bioresour. Technol.*, vol. 295, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.biortech.2019.122266.
- [184] K. Cui, X. Xue, Z. Pan, J. Yu, W. Cai, and K. Guo, “Selective enrichment of homoacetogens and optimization of the operational conditions for effective acetate production in hydrogen-mediated microbial electrosynthesis reactors,” *Biochem. Eng. J.*, vol. 198, Sep. 2023, doi: 10.1016/j.bej.2023.109035.
- [185] D. A. Jadhav, A. D. Chendake, A. Schievano, and D. Pant, “Suppressing methanogens and enriching electrogens in bioelectrochemical systems,” *Bioresour. Technol.*, vol. 277, no. October 2018, pp. 148–156, 2019, doi: 10.1016/j.biortech.2018.12.098.
- [186] J. Zhao *et al.*, “Conversion of liquor brewing wastewater into medium chain fatty acids by microbial electrosynthesis: Effect of cathode potential and CO₂ supply,” *Fuel*, vol. 332, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.fuel.2022.126046.
- [187] S. Zhang, J. Jiang, H. Wang, F. Li, T. Hua, and W. Wang, “A review of microbial electrosynthesis applied to carbon dioxide capture and conversion: The basic principles, electrode materials, and bioproducts,” Sep. 01, 2021, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.jcou.2021.101640.
- [188] C. C. Viggi, S. Colantoni, F. Falzetti, A. Bacaloni, D. Montecchio, and F. Aulenta, “Conductive Magnetite Nanoparticles Enhance the Microbial Electrosynthesis of Acetate

- from CO₂ while Diverting Electrons away from Methanogenesis,” *Fuel Cells*, vol. 20, no. 1, pp. 98–106, Feb. 2020, doi: 10.1002/fuce.201900152.
- [189] G. S. Lekshmi, K. Bazaka, S. Ramakrishna, and V. Kumaravel, “Microbial electrosynthesis: carbonaceous electrode materials for CO₂ conversion,” Dec. 02, 2022, *Royal Society of Chemistry*. doi: 10.1039/d2mh01178f.
- [190] L. P. Thulluru, M. M. Ghangrekar, and S. Chowdhury, “Progress and perspectives on microbial electrosynthesis for valorisation of CO₂ into value-added products,” Apr. 15, 2023, *Academic Press*. doi: 10.1016/j.jenvman.2023.117323.
- [191] D. Karapinar, C. E. Creissen, J. G. Rivera De La Cruz, M. W. Schreiber, and M. Fontecave, “Electrochemical CO₂ Reduction to Ethanol with Copper-Based Catalysts,” Feb. 12, 2021, *American Chemical Society*. doi: 10.1021/acseenergylett.0c02610.
- [192] M. Aziz, S. Saber Abbas, and W. R. Wan Baharom, “Size-controlled synthesis of SnO₂ nanoparticles by sol-gel method,” *Mater. Lett.*, vol. 91, pp. 31–34, Jan. 2013, doi: 10.1016/j.matlet.2012.09.079.
- [193] M. Gattrell, N. Gupta, and A. Co, “A review of the aqueous electrochemical reduction of CO₂ to hydrocarbons at copper,” Aug. 15, 2006, *Elsevier*. doi: 10.1016/j.jelechem.2006.05.013.
- [194] S. V. Gudkov, D. E. Burmistrov, P. A. Fomina, S. Z. Validov, and V. A. Kozlov, “Antibacterial Properties of Copper Oxide Nanoparticles (Review),” Nov. 01, 2024, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. doi: 10.3390/ijms252111563.
- [195] F. Serna, J. Lagneau, and J.-M. Carpentier, “Diffraction des rayons X et Catalyse La diffraction des rayons X: une technique puissante pour résoudre certains problèmes industriels et technologiques La diffraction des rayons X: une technique puissante pour résoudre certains problèmes industriels et technologiques.”
- [196] E. S. Ameh, “A review of basic crystallography and x-ray diffraction applications,” *International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, vol. 105, no. 7–8, pp. 3289–3302, Dec. 2019, doi: 10.1007/s00170-019-04508-1.

- [197] H. Khan, A. S. Yerramilli, A. D'Oliveira, T. L. Alford, D. C. Boffito, and G. S. Patience, "Experimental methods in chemical engineering: X-ray diffraction spectroscopy—XRD," Jun. 01, 2020, *Wiley-Liss Inc.* doi: 10.1002/cjce.23747.
- [198] P. Vijaya Kumar, A. Jafar Ahamed, and M. Karthikeyan, "Synthesis and characterization of NiO nanoparticles by chemical as well as green routes and their comparisons with respect to cytotoxic effect and toxicity studies in microbial and MCF-7 cancer cell models," *SN Appl. Sci.*, vol. 1, no. 9, Sep. 2019, doi: 10.1007/s42452-019-1113-0.
- [199] S. Khalid, C. Cao, L. Wang, and Y. Zhu, "Microwave Assisted Synthesis of Porous NiCo₂O₄ Microspheres: Application as High Performance Asymmetric and Symmetric Supercapacitors with Large Areal Capacitance," *Sci. Rep.*, vol. 6, Mar. 2016, doi: 10.1038/srep22699.
- [200] V. Stanic, "Techniques used to study the physiochemical properties of recycled nanomaterials," *Nanomaterials Recycling*, vol. 13, no. 7, pp. 291–316, Jan. 2022, doi: 10.1016/B978-0-323-90982-2.00013-5.
- [201] A. Mohammed and A. Abdullah, "SCANNING ELECTRON MICROSCOPY (SEM): A REVIEW."
- [202] W. Zhou, R. Apkarian, Z. L. Wang, and D. Joy, "Fundamentals of Scanning Electron Microscopy (SEM)," *Scanning Microscopy for Nanotechnology: Techniques and Applications*, pp. 1–40, 2006, doi: 10.1007/978-0-387-39620-0_1.
- [203] Y. R. Herrero, K. L. Camas, and A. Ullah, "Characterization of biobased materials," *Advanced Applications of Biobased Materials: Food, Biomedical, and Environmental Applications*, pp. 111–143, Jan. 2023, doi: 10.1016/B978-0-323-91677-6.00005-2.
- [204] W.-W. A. Zemane, *Développement d'une cathode à base de lithium-fer-phosphate (LiFePO₄) supportée par du carbone biosourcé pour la batterie au lithium*. Polytechnique Montreal, 2025.
- [205] M. M. Ghangrekar, R. Y. Surampalli, T. C. Zhang, and N. M. Duteanu, "Microbial electrochemical technologies: Fundamentals and applications," *Microbial Electrochemical Technologies: Fundamentals and Applications*, vol. 1–2, pp. 1–713, Jan. 2024, doi: 10.1002/9783527839001.

- [206] S. Dave *et al.*, “Contribution of Cyclic Voltammetry and Electrochemical Impedance Spectroscopy in Deciphering the Electron Transport System in Biofilm,” pp. 129–152, 2021, doi: 10.1007/978-1-0716-1378-8_6.
- [207] M. McGlennen, M. Dieser, C. M. Foreman, and S. Warnat, “Using electrochemical impedance spectroscopy to study biofilm growth in a 3D-printed flow cell system,” *Biosens. Bioelectron. X*, vol. 14, Sep. 2023, doi: 10.1016/j.biosx.2023.100326.
- [208] A. ter Heijne, O. Schaetzle, S. Gimenez, L. Navarro, B. Hamelers, and F. Fabregat-Santiago, “Analysis of bio-anode performance through electrochemical impedance spectroscopy,” *Bioelectrochemistry*, vol. 106, pp. 64–72, Dec. 2015, doi: 10.1016/j.bioelechem.2015.04.002.
- [209] S. Perme, K. Lau, and M. Duncan, “Characterization of biofilm formation and coating degradation by electrochemical impedance spectroscopy,” *Coatings*, vol. 9, no. 8, Aug. 2019, doi: 10.3390/coatings9080518.
- [210] J. Kretzschmar and F. Harnisch, “Electrochemical impedance spectroscopy on biofilm electrodes – conclusive or euphonious?,” Oct. 01, 2021, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.coelec.2021.100757.
- [211] T. Kim, J. Kang, J. H. Lee, and J. Yoon, “Influence of attached bacteria and biofilm on double-layer capacitance during biofilm monitoring by electrochemical impedance spectroscopy,” *Water Res.*, vol. 45, no. 15, pp. 4615–4622, 2011, doi: 10.1016/j.watres.2011.06.010.
- [212] A. Dheilly, I. Linossier, A. Darchen, D. Hadjiev, C. Corbel, and V. Alonso, “Monitoring of microbial adhesion and biofilm growth using electrochemical impedancemetry,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 79, no. 1, pp. 157–164, May 2008, doi: 10.1007/s00253-008-1404-7.
- [213] A. C. Lazanas and M. I. Prodromidis, “Electrochemical Impedance Spectroscopy—A Tutorial,” Jun. 21, 2023, *American Chemical Society*. doi: 10.1021/acsmeasuresciau.2c00070.

- [214] H. S. Magar, R. Y. A. Hassan, and A. Mulchandani, “Electrochemical impedance spectroscopy (Eis): Principles, construction, and biosensing applications,” Oct. 01, 2021, *MDPI*. doi: 10.3390/s21196578.
- [215] “Electrochemical Methods[1],” in *Materials Characterization*, ASM International, 2019, pp. 266–291. doi: 10.31399/asm.hb.v10.a0006679.
- [216] A. Girimonte, A. Stefani, M. Innocenti, C. Fontanesi, and R. Giovanardi, “Influence of magnetic field on the electrodeposition and capacitive performances of mno₂,” *Magnetochemistry*, vol. 7, no. 2, pp. 1–18, Feb. 2021, doi: 10.3390/magnetochemistry7020019.
- [217] W. Q. Al-Bukhaiti, A. Noman, A. S. Qasim, and A. Al-Farga, “Gas Chromatography: Principles, Advantages and Applications in Food Analysis,” 2017.
- [218] R. Amin *et al.*, “Multidimensional Chromatography and Its Applications in Food Products, Biological Samples and Toxin Products: A Comprehensive Review,” Nov. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/separations9110326.
- [219] P. J. Marriott, “Addressing the Challenges to Identification in Gas Chromatography by Increased Resolution and Enhanced Detection Modalities,” Aug. 06, 2018, *John Wiley and Sons Ltd*. doi: 10.1002/asia.201800556.
- [220] Y. I. Yashin and A. Y. Yashin, “Current trends in gas chromatography methods and instrumentation: A scientometric study,” *Journal of Analytical Chemistry*, vol. 56, no. 3, pp. 200–213, 2001, doi: 10.1023/A:1009494104285.
- [221] E. Stauffer, J. A. Dolan, and R. Newman, “Gas Chromatography and Gas Chromatography—Mass Spectrometry,” *Fire Debris Analysis*, pp. 235–293, 2008, doi: 10.1016/b978-012663971-1.50012-9.
- [222] D. Xu, W. Zhang, H. Li, N. Li, and J. M. Lin, “Advances in droplet digital polymerase chain reaction on microfluidic chips,” Feb. 08, 2023, *Royal Society of Chemistry*. doi: 10.1039/d2lc00814a.
- [223] Y. Du *et al.*, “Development and evaluation of a multiplex droplet digital polymerase chain reaction method for simultaneous detection of five biothreat pathogens,” *Front. Microbiol.*, vol. 13, Jul. 2022, doi: 10.3389/fmicb.2022.970973.

- [224] P. Cremonesi *et al.*, “Development of a droplet digital polymerase chain reaction for rapid and simultaneous identification of common foodborne pathogens in soft cheese,” *Front. Microbiol.*, vol. 7, Oct. 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.01725.
- [225] B. Chen, Y. Jiang, X. Cao, C. Liu, N. Zhang, and D. Shi, “Droplet digital PCR as an emerging tool in detecting pathogens nucleic acids in infectious diseases,” Jun. 01, 2021, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.cca.2021.02.008.
- [226] L. Garibyan and N. Avashia, “Polymerase Chain Reaction,” *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 133, no. 3, pp. 1–4, Mar. 2013, doi: 10.1038/jid.2013.1.
- [227] Y. Du *et al.*, “Development and evaluation of a multiplex droplet digital polymerase chain reaction method for simultaneous detection of five biothreat pathogens,” *Front. Microbiol.*, vol. 13, Jul. 2022, doi: 10.3389/fmicb.2022.970973.
- [228] P. Cremonesi *et al.*, “Development of a droplet digital polymerase chain reaction for rapid and simultaneous identification of common foodborne pathogens in soft cheese,” *Front. Microbiol.*, vol. 7, Oct. 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.01725.
- [229] M. Hamaguchi, H. Shimabukuro, M. Hori, G. Yoshida, T. Terada, and T. Miyajima, “Quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) and droplet digital PCR duplex assays for detecting *Zostera marina* DNA in coastal sediments,” *Limnol. Oceanogr. Methods*, vol. 16, no. 4, pp. 253–264, Apr. 2018, doi: 10.1002/lom3.10242.
- [230] H. Doi, T. Takahara, T. Minamoto, S. Matsushashi, K. Uchii, and H. Yamanaka, “Droplet Digital Polymerase Chain Reaction (PCR) Outperforms Real-Time PCR in the Detection of Environmental DNA from an Invasive Fish Species,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 49, no. 9, pp. 5601–5608, May 2015, doi: 10.1021/acs.est.5b00253.
- [231] T. Leichtfried, H. Reisenzein, S. Steinkellner, and R. A. Gottsberger, “Transmission studies of the newly described apple chlorotic fruit spot viroid using a combined RT-qPCR and droplet digital PCR approach,” *Arch. Virol.*, vol. 165, no. 11, pp. 2665–2671, Nov. 2020, doi: 10.1007/s00705-020-04704-5.
- [232] A. Regueira-Iglesias, C. Balsa-Castro, T. Blanco-Pintos, and I. Tomás, “Critical review of 16S rRNA gene sequencing workflow in microbiome studies: From primer selection to advanced data analysis,” Oct. 01, 2023, *John Wiley and Sons Inc.* doi: 10.1111/omi.12434.

- [233] X. Ye and B. Lei, "The current status and trends of DNA extraction," Aug. 01, 2023, *John Wiley and Sons Inc.* doi: 10.1002/bies.202200242.
- [234] D. L. Church, L. Cerutti, A. Gürtler, T. Griener, A. Zelazny, and S. Emler, "Performance and application of 16S rRNA gene cycle sequencing for routine identification of bacteria in the clinical microbiology laboratory," Oct. 01, 2020, *American Society for Microbiology.* doi: 10.1128/CMR.00053-19.
- [235] A. Hakimzadeh *et al.*, "A pile of pipelines: An overview of the bioinformatics software for metabarcoding data analyses," *Mol. Ecol. Resour.*, vol. 24, no. 5, p. e13847, Jul. 2024, doi: 10.1111/1755-0998.13847.
- [236] Environment and Climate Change Canada (ECCC), "Global greenhouse gas emissions."
- [237] B. Sen Thapa *et al.*, "Overview of electroactive microorganisms and electron transfer mechanisms in microbial electrochemistry," Mar. 01, 2022, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.biortech.2021.126579.
- [238] S. A. Farooqi, A. S. Farooqi, S. Sajjad, C. Yan, and A. B. Victor, "Electrochemical reduction of carbon dioxide into valuable chemicals: a review," Jun. 01, 2023, *Springer Science and Business Media Deutschland GmbH.* doi: 10.1007/s10311-023-01565-7.
- [239] H. Ait Ahsaine and A. BaQais, "Metal and metal oxide electrocatalysts for the electrochemical reduction of CO₂-to-C₁ chemicals: are we there yet?," 2023, *Taylor and Francis Ltd.* doi: 10.1080/17518253.2022.2160215.
- [240] R. Lin, J. Guo, X. Li, P. Patel, and A. Seifitokaldani, "Electrochemical reactors for CO₂ conversion," May 01, 2020, *MDPI.* doi: 10.3390/catal10050473.
- [241] M. G. Kibria *et al.*, "Electrochemical CO₂ Reduction into Chemical Feedstocks: From Mechanistic Electrocatalysis Models to System Design," Aug. 01, 2019, *Wiley-VCH Verlag.* doi: 10.1002/adma.201807166.
- [242] Z. Chen, X. Wang, and L. Liu, "Electrochemical Reduction of Carbon Dioxide to Value-Added Products: The Electrocatalyst and Microbial Electrosynthesis," Jul. 01, 2019, *John Wiley and Sons Inc.* doi: 10.1002/tcr.201800100.

- [243] P. De Luna, C. Hahn, D. Higgins, S. A. Jaffer, T. F. Jaramillo, and E. H. Sargent, “What would it take for renewably powered electrosynthesis to displace petrochemical processes?,” 2019, *American Association for the Advancement of Science*. doi: 10.1126/science.aav3506.
- [244] E. Ruiz-López, J. Gandara-Loe, F. Baena-Moreno, T. R. Reina, and J. A. Odriozola, “Electrocatalytic CO₂ conversion to C₂ products: Catalysts design, market perspectives and techno-economic aspects,” Jun. 01, 2022, *Elsevier Ltd*. doi: 10.1016/j.rser.2022.112329.
- [245] M. Jouny, W. Luc, and F. Jiao, “General Techno-Economic Analysis of CO₂ Electrolysis Systems,” *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 57, no. 6, pp. 2165–2177, Feb. 2018, doi: 10.1021/acs.iecr.7b03514.
- [246] L. Dong *et al.*, “Spinel-Structured, Multi-Component Transition Metal Oxide (Ni,Co,Mn)Fe₂O₄-x as Long-Life Lithium-Ion Battery Anode Material,” *Batteries*, vol. 9, no. 1, Jan. 2023, doi: 10.3390/batteries9010054.
- [247] M. V. Reddy, C. Y. Quan, K. W. Teo, L. J. Ho, and B. V. R. Chowdari, “Mixed oxides, (Ni_{1-x}Zn_x)Fe₂O₄ (x = 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1): Molten salt synthesis, characterization and its lithium-storage performance for lithium ion batteries,” *Journal of Physical Chemistry C*, vol. 119, no. 9, pp. 4709–4718, Mar. 2015, doi: 10.1021/jp5121178.
- [248] Z. Abedi, D. Leistenschneider, W. Chen, and D. G. Ivey, “Spinel Type Mn–Co Oxide Coated Carbon Fibers as Efficient Bifunctional Electrocatalysts for Zinc-Air Batteries,” *Batter. Supercaps*, vol. 5, no. 2, Feb. 2022, doi: 10.1002/batt.202100339.
- [249] M. Zhang, M. Jia, Y. Jin, Q. Wen, and C. Chen, “Reduced graphene oxide/CoFe₂O₄-Co nanocomposite as high performance anode for lithium ion batteries,” *J. Alloys Compd.*, vol. 566, pp. 131–136, Jun. 2013, doi: 10.1016/j.jallcom.2013.03.079.
- [250] N. Sharma, K. M. Shaju, G. V. Subba Rao, and B. V. R. Chowdari, “Mixed oxides Ca₂Fe₂O₅ and Ca₂Co₂O₅ as anode materials for Li-ion batteries,” *Electrochim. Acta*, vol. 49, no. 7, pp. 1035–1043, Mar. 2004, doi: 10.1016/j.electacta.2003.10.014.
- [251] S. Roy Chowdhury *et al.*, “Mixed Spinel Ni-Co Oxides: An Efficient Bifunctional Oxygen Electrocatalyst for Sustainable Energy Application,” *ACS Appl. Energy Mater.*, vol. 5, no. 4, pp. 4421–4430, Apr. 2022, doi: 10.1021/acs.aem.1c04008.

- [252] D. Z. Khater, R. S. Amin, M. Mahmoud, and K. M. El-Khatib, "Evaluation of mixed transition metal (Co, Mn, and Cu) oxide electrocatalysts anchored on different carbon supports for robust oxygen reduction reaction in neutral media," *RSC Adv.*, vol. 12, no. 4, pp. 2207–2218, Jan. 2022, doi: 10.1039/d1ra07721j.
- [253] J. Kim *et al.*, "Structural Insights into Multi-Metal Spinel Oxide Nanoparticles for Boosting Oxygen Reduction Electrocatalysis," *Advanced Materials*, vol. 34, no. 8, Feb. 2022, doi: 10.1002/adma.202107868.
- [254] Y. Liu *et al.*, "Efficient oxygen evolution on spinel MFe_2O_4 ($\text{M} = \text{Zn}$ and Ni) electrocatalysts," *Ionics (Kiel)*, vol. 29, no. 8, pp. 3203–3211, Aug. 2023, doi: 10.1007/s11581-023-05022-x.
- [255] Z. Abedi, D. Leistenschneider, W. Chen, and D. G. Ivey, "Spinel Type Mn–Co Oxide Coated Carbon Fibers as Efficient Bifunctional Electrocatalysts for Zinc-Air Batteries," *Batter. Supercaps*, vol. 5, no. 2, Feb. 2022, doi: 10.1002/batt.202100339.
- [256] Ö. N. Avci, L. Sementa, and A. Fortunelli, "Mechanisms of the Oxygen Evolution Reaction on NiFe_2O_4 and CoFe_2O_4 Inverse-Spinel Oxides," *ACS Catal.*, vol. 12, no. 15, pp. 9058–9073, Aug. 2022, doi: 10.1021/acscatal.2c01534.
- [257] M. S. Matseke, H. Luo, L. Wen, and H. Zheng, "The upgraded performance of the NiFe_2O_4 /C electrocatalyst using Co substitution for the oxygen reduction reaction in an alkaline solution," *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, vol. 165, Jun. 2022, doi: 10.1016/j.jpcs.2022.110644.
- [258] P. Muthukumar, M. Pannipara, A. G. Al-Sehemi, D. Moon, and S. P. Anthony, "Disordered spinel cobalt oxide electrocatalyst for highly enhanced HER activity in an alkaline medium," *New Journal of Chemistry*, vol. 46, no. 26, pp. 12558–12564, May 2022, doi: 10.1039/d2nj01879a.
- [259] A. Y. Faid, A. O. Barnett, F. Seland, and S. Sunde, "Optimized Nickel-Cobalt and Nickel-Iron Oxide Catalysts for the Hydrogen Evolution Reaction in Alkaline Water Electrolysis," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 166, no. 8, pp. F519–F533, 2019, doi: 10.1149/2.0821908jes.

- [260] H. Huang *et al.*, “Coupled spinel manganese–cobalt oxide and MXene electrocatalysts towards efficient hydrogen evolution reaction,” *Fuel*, vol. 328, Nov. 2022, doi: 10.1016/j.fuel.2022.125234.
- [261] A. Ali, M. Qasim, S. Sakhi, G. Maduraiveeran, and A. S. Alnaser, “Electrochemical CO₂ reduction: Advances, insights, challenges, and future directions,” Jun. 01, 2025, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.mtsust.2025.101089.
- [262] X. Zhao *et al.*, “Built-in Electric Field Promotes Interfacial Adsorption and Activation of CO₂ for C1 Products over a Wide Potential Window,” *ACS Nano*, vol. 18, no. 13, pp. 9678–9687, Apr. 2024, doi: 10.1021/acsnano.4c01190.
- [263] Z. Yin *et al.*, “Highly selective palladium-copper bimetallic electrocatalysts for the electrochemical reduction of CO₂ to CO,” *Nano Energy*, vol. 27, pp. 35–43, Sep. 2016, doi: 10.1016/j.nanoen.2016.06.035.
- [264] C. J. Yoo *et al.*, “Compositional and Geometrical Effects of Bimetallic Cu-Sn Catalysts on Selective Electrochemical CO₂ Reduction to CO,” *ACS Appl. Energy Mater.*, vol. 3, no. 5, pp. 4466–4473, May 2020, doi: 10.1021/acsaem.0c00157.
- [265] C. Azenha, C. Mateos-Pedrero, M. Alvarez-Guerra, A. Irabien, and A. Mendes, “Enhancement of the electrochemical reduction of CO₂ to methanol and suppression of H₂ evolution over CuO nanowires,” *Electrochim. Acta*, vol. 363, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.electacta.2020.137207.
- [266] J. J. Lv, M. Jouny, W. Luc, W. Zhu, J. J. Zhu, and F. Jiao, “A Highly Porous Copper Electrocatalyst for Carbon Dioxide Reduction,” *Advanced Materials*, vol. 30, no. 49, Dec. 2018, doi: 10.1002/adma.201803111.
- [267] S. P. Cronin *et al.*, “Direct Synthesis of 1-Butanol with High Faradaic Efficiency from CO₂ Utilizing Cascade Catalysis at a Ni-Enhanced (Cr₂O₃)₃Ga₂O₃ Electrocatalyst,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 145, no. 12, pp. 6762–6772, Mar. 2023, doi: 10.1021/jacs.2c12251.
- [268] J. Chen *et al.*, “Efficient electroreduction of CO₂ to CO by Ag-decorated S-doped g-C₃N₄/CNT nanocomposites at industrial scale current density,” *Materials Today Physics*, vol. 12, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.mtphys.2019.100176.

- [269] S. Y. Zhang, Y. Y. Yang, Y. Q. Zheng, and H. L. Zhu, “Ag-doped Co₃O₄ catalyst derived from heterometallic MOF for syngas production by electrocatalytic reduction of CO₂ in water,” *J. Solid State Chem.*, vol. 263, pp. 44–51, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.jssc.2018.04.007.
- [270] Y. E. Kim *et al.*, “Highly tunable syngas production by electrocatalytic reduction of CO₂ using Ag/TiO₂ catalysts,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 413, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.cej.2020.127448.
- [271] V. H. Nguyen *et al.*, “Ag@ZnO porous nanoparticle wrapped by rGO for the effective CO₂ electrochemical reduction,” *Chem. Eng. Sci.*, vol. 232, Mar. 2021, doi: 10.1016/j.ces.2020.116381.
- [272] K. R. Choi, Y. J. Ahn, and S. Y. Lee, “Bacterial conversion of CO₂ to organic compounds,” *Journal of CO₂ Utilization*, vol. 58, Apr. 2022, doi: 10.1016/j.jcou.2022.101929.
- [273] Y. Dang, D. Sun, T. L. Woodard, L. Y. Wang, K. P. Nevin, and D. E. Holmes, “Stimulation of the anaerobic digestion of the dry organic fraction of municipal solid waste (OFMSW) with carbon-based conductive materials,” *Bioresour. Technol.*, vol. 238, pp. 30–38, 2017, doi: 10.1016/j.biortech.2017.04.021.
- [274] Y. Dang *et al.*, “Enhancing anaerobic digestion of complex organic waste with carbon-based conductive materials,” *Bioresour. Technol.*, vol. 220, pp. 516–522, Nov. 2016, doi: 10.1016/j.biortech.2016.08.114.
- [275] Z. Yang, R. Guo, X. Shi, C. Wang, L. Wang, and M. Dai, “Magnetite nanoparticles enable a rapid conversion of volatile fatty acids to methane,” *RSC Adv.*, vol. 6, no. 31, pp. 25662–25668, 2016, doi: 10.1039/c6ra02280d.
- [276] J. Zhang and Y. Lu, “Conductive Fe₃O₄ nanoparticles accelerate syntrophic methane production from butyrate oxidation in two different lake sediments,” *Front. Microbiol.*, vol. 7, no. AUG, Aug. 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.01316.
- [277] G. Baek, J. Kim, K. Cho, H. Bae, and C. Lee, “The biostimulation of anaerobic digestion with (semi)conductive ferric oxides: their potential for enhanced biomethanation,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 99, no. 23, pp. 10355–10366, Dec. 2015, doi: 10.1007/s00253-015-6900-y.

- [278] G. Martins, A. F. Salvador, L. Pereira, and M. M. Alves, “Methane Production and Conductive Materials: A Critical Review,” Sep. 18, 2018, *American Chemical Society*. doi: 10.1021/acs.est.8b01913.
- [279] A. A. Yaqoob, M. N. M. Ibrahim, M. Rafatullah, Y. S. Chua, A. Ahmad, and K. Umar, “Recent advances in anodes for microbial fuel cells: An overview,” May 01, 2020, *MDPI AG*. doi: 10.3390/ma13092078.
- [280] A. Banerjee, R. K. Calay, and M. Mustafa, “Review on Material and Design of Anode for Microbial Fuel Cell,” Mar. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/en15062283.
- [281] B. Yu, L. Feng, Y. He, L. Yang, and Y. Xun, “Effects of anode materials on the performance and anode microbial community of soil microbial fuel cell,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 401, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123394.
- [282] L. Fu, H. Wang, Q. Huang, T. shun Song, and J. Xie, “Modification of carbon felt anode with graphene/Fe₂O₃ composite for enhancing the performance of microbial fuel cell,” *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol. 43, no. 3, pp. 373–381, Mar. 2020, doi: 10.1007/s00449-019-02233-3.
- [283] O. Prakash, A. Mungray, S. Chongdar, S. K. Kailasa, and A. K. Mungray, “Performance of polypyrrole coated metal oxide composite electrodes for benthic microbial fuel cell (BMFC),” *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 8, no. 2, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.jece.2018.11.002.
- [284] B. S. Zakaria and B. R. Dhar, “Changes in syntrophic microbial communities, EPS matrix, and gene-expression patterns in biofilm anode in response to silver nanoparticles exposure,” *Science of the Total Environment*, vol. 734, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139395.
- [285] E. Chorbazhiyska, I. Bardarov, Y. Hubenova, and M. Mitov, “Graphite–metal oxide composites as potential anodic catalysts for microbial fuel cells,” *Catalysts*, vol. 10, no. 7, pp. 1–14, Jul. 2020, doi: 10.3390/catal10070796.
- [286] L. Yang, A. Wang, Q. Wen, and Y. Chen, “Modified cobalt-manganese oxide-coated carbon felt anodes: an available method to improve the performance of microbial fuel cells,” *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol. 44, no. 12, pp. 2615–2625, Dec. 2021, doi: 10.1007/s00449-021-02631-6.

- [287] M. T. Vu, M. T. Noori, and B. Min, “Conductive magnetite nanoparticles trigger syntrophic methane production in single chamber microbial electrochemical systems,” *Bioresour. Technol.*, vol. 296, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.biortech.2019.122265.
- [288] A. H. Anwer, M. D. Khan, N. Khan, A. S. Nizami, M. Rehan, and M. Z. Khan, “Development of novel MnO₂ coated carbon felt cathode for microbial electroreduction of CO₂ to biofuels,” *J. Environ. Manage.*, vol. 249, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.jenvman.2019.109376.
- [289] M. T. Vu, M. T. Noori, and B. Min, “Magnetite/zeolite nanocomposite-modified cathode for enhancing methane generation in microbial electrochemical systems,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 393, Aug. 2020, doi: 10.1016/j.cej.2020.124613.
- [290] T. Gao, H. Zhang, X. Xu, and J. Teng, “Integrating microbial electrolysis cell based on electrochemical carbon dioxide reduction into anaerobic osmosis membrane reactor for biogas upgrading,” *Water Res.*, vol. 190, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.watres.2020.116679.
- [291] Y. Gao *et al.*, “Metal nanoparticles increased the lag period and shaped the microbial community in slurry-electrode microbial electrosynthesis,” *Science of the Total Environment*, vol. 838, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.156008.
- [292] Z. Qiu, K. Zhang, X. L. Li, T. shun Song, and J. Xie, “Sn promotes formate production to enhance microbial electrosynthesis of acetate via indirect electron transport,” *Biochem. Eng. J.*, vol. 192, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.bej.2023.108842.
- [293] S. Zhang, W. Zhang, and M. Jiang, “Efficient fatty acid synthesis from methanol in methylotrophic yeast,” Dec. 01, 2022, *KeAi Communications Co.* doi: 10.1016/j.synbio.2022.09.003.
- [294] W. S. Chen, S. Huang, D. P. B. T. B. Strik, and C. J. N. Buisman, “Isobutyrate biosynthesis via methanol chain elongation: converting organic wastes to platform chemicals,” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 92, no. 6, pp. 1370–1379, Jun. 2017, doi: 10.1002/jctb.5132.
- [295] F. Kremp and V. Müller, “Methanol and methyl group conversion in acetogenic bacteria: Biochemistry, physiology and application,” *FEMS Microbiol. Rev.*, vol. 45, no. 2, Mar. 2021, doi: 10.1093/femsre/fuaa040.

- [296] M. Lin, L. Feng, Z. Cheng, and K. Wang, “Effect of ethanol or lactic acid on volatile fatty acid profile and microbial community in short-term sequentially transfers by ruminal fermented with wheat straw in vitro,” *Process Biochemistry*, vol. 102, pp. 369–375, Mar. 2021, doi: 10.1016/j.procbio.2020.12.018.
- [297] K. D. De Leeuw, C. J. N. Buisman, and D. P. B. T. B. Strik, “Branched Medium Chain Fatty Acids: Iso-Caproate Formation from Iso-Butyrate Broadens the Product Spectrum for Microbial Chain Elongation,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 53, no. 13, pp. 7704–7713, Jul. 2019, doi: 10.1021/acs.est.8b07256.
- [298] V. Sivalingam, T. Haugen, A. Wentzel, and C. Dinamarca, “Effect of Elevated Hydrogen Partial Pressure on Mixed Culture Homoacetogenesis,” *Chemical Engineering Science: X*, vol. 12, Nov. 2021, doi: 10.1016/j.cesx.2021.100118.
- [299] M. T. Noori *et al.*, “Copper foam supported g-C₃N₄-metal–organic framework bacteria biohybrid cathode catalyst for CO₂ reduction in microbial electrosynthesis,” *Sci. Rep.*, vol. 13, no. 1, Dec. 2023, doi: 10.1038/s41598-023-49246-3.
- [300] S. Yang, D. Yang, W. Shi, C. Deng, C. Chen, and S. Feng, “Global evaluation of carbon neutrality and peak carbon dioxide emissions: current challenges and future outlook,” Jul. 01, 2023, *Springer Science and Business Media Deutschland GmbH*. doi: 10.1007/s11356-022-19764-0.
- [301] B. Dziejarski, R. Krzyżyńska, and K. Andersson, “Current status of carbon capture, utilization, and storage technologies in the global economy: A survey of technical assessment,” Jun. 15, 2023, *Elsevier Ltd*. doi: 10.1016/j.fuel.2023.127776.
- [302] P. Madejski, K. Chmiel, N. Subramanian, and T. Kuś, “Methods and Techniques for CO₂ Capture: Review of Potential Solutions and Applications in Modern Energy Technologies,” Feb. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/en15030887.
- [303] F. A. Rahman *et al.*, “Pollution to solution: Capture and sequestration of carbon dioxide (CO₂) and its utilization as a renewable energy source for a sustainable future,” 2017, *Elsevier Ltd*. doi: 10.1016/j.rser.2017.01.011.
- [304] E. Hanson, C. Nwakile, and V. O. Hammed, “Carbon capture, utilization, and storage (CCUS) technologies: Evaluating the effectiveness of advanced CCUS solutions for

- reducing CO₂ emissions,” *Results in Surfaces and Interfaces*, vol. 18, Jan. 2025, doi: 10.1016/j.rsurfi.2024.100381.
- [305] I. Hussain, H. Alasiri, W. Ullah Khan, and K. Alhooshani, “Advanced electrocatalytic technologies for conversion of carbon dioxide into methanol by electrochemical reduction: Recent progress and future perspectives,” May 01, 2023, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.ccr.2023.215081.
- [306] Y. Zhang, F. Li, J. Dong, K. Jia, T. Sun, and L. Xu, “Recent advances in designing efficient electrocatalysts for electrochemical carbon dioxide reduction to formic acid/formate,” Jan. 01, 2023, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.jelechem.2022.117018.
- [307] S. Ma *et al.*, “Electroreduction of carbon dioxide to hydrocarbons using bimetallic Cu-Pd catalysts with different mixing patterns,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 139, no. 1, pp. 47–50, Jan. 2017, doi: 10.1021/jacs.6b10740.
- [308] M. del Pilar Anzola Rojas, M. Zaiat, E. R. Gonzalez, H. De Wever, and D. Pant, “Effect of the electric supply interruption on a microbial electrosynthesis system converting inorganic carbon into acetate,” *Bioresour. Technol.*, vol. 266, pp. 203–210, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.biortech.2018.06.074.
- [309] O. Cabau-Peinado *et al.*, “Microbial electrosynthesis from CO₂ reaches productivity of syngas and chain elongation fermentations,” *Trends Biotechnol.*, vol. 42, no. 11, pp. 1503–1522, Nov. 2024, doi: 10.1016/j.tibtech.2024.06.005.
- [310] Y. Pu *et al.*, “Tandem Acidic CO₂ Electrolysis Coupled with Syngas Fermentation: A Two-Stage Process for Producing Medium-Chain Fatty Acids,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 58, no. 17, pp. 7445–7456, Apr. 2024, doi: 10.1021/acs.est.3c09291.
- [311] G. Chen, R. Wang, M. Sun, J. Chen, E. Iyobosa, and J. Zhao, “Carbon dioxide reduction to high-value chemicals in microbial electrosynthesis system: Biological conversion and regulation strategies,” Dec. 01, 2023, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.140251.
- [312] M. Roy, N. Aryal, Y. Zhang, S. A. Patil, and D. Pant, “Technological progress and readiness level of microbial electrosynthesis and electrofermentation for carbon dioxide and organic wastes valorization,” Jun. 01, 2022, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.cogsc.2022.100605.

- [313] N. Chu *et al.*, “Electricity-Driven Microbial Metabolism of Carbon and Nitrogen: A Waste-to-Resource Solution,” Mar. 21, 2023, *American Chemical Society*. doi: 10.1021/acs.est.2c07588.
- [314] D. Suri, L. M. Aeshala, and T. Palai, “Microbial electrosynthesis of valuable chemicals from the reduction of CO₂: a review,” May 01, 2024, *Springer*. doi: 10.1007/s11356-024-33678-z.
- [315] G. Baek and B. E. Logan, “A comprehensive analysis of key factors influencing methane production from CO₂ using microbial methanogenesis cells,” *Water Res.*, vol. 245, Oct. 2023, doi: 10.1016/j.watres.2023.120657.
- [316] M. Roy, S. Kumar, and S. A. Patil, “Brewery CO₂ conversion into acetic acid at an optimized set of microbial electrosynthesis process parameters,” *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 12, no. 6, Dec. 2024, doi: 10.1016/j.jece.2024.114436.
- [317] L. Jourdin, S. M. T. Raes, C. J. N. Buisman, and D. P. B. T. B. Strik, “Critical biofilm growth throughout unmodified carbon felts allows continuous bioelectrochemical chain elongation from CO₂ up to caproate at high current density,” *Front. Energy Res.*, vol. 6, no. MAR, Mar. 2018, doi: 10.3389/fenrg.2018.00007.
- [318] Z. Li *et al.*, “Efficient production of medium chain fatty acids in microbial electrosynthesis with simultaneous bio-utilization of carbon dioxide and ethanol,” *Bioresour. Technol.*, vol. 352, May 2022, doi: 10.1016/j.biortech.2022.127101.
- [319] I. Ibrahim *et al.*, “Role of microbial electrosynthesis system in CO₂ capture and conversion: a recent advancement toward cathode development,” 2023, *Frontiers Media SA*. doi: 10.3389/fmicb.2023.1192187.
- [320] A. Escapa, M. F. Manuel, A. Morán, X. Gómez, S. R. Guiot, and B. Tartakovsky, “Hydrogen production from glycerol in a membraneless microbial electrolysis cell,” *Energy and Fuels*, vol. 23, no. 9, pp. 4612–4618, Sep. 2009, doi: 10.1021/ef900357y.
- [321] R. Gharbi, S. Omanovic, S. Hrapovic, E. Nwanebu, and B. Tartakovsky, “The Effect of Bismuth and Tin on Methane and Acetate Production in a Microbial Electrosynthesis Cell Fed with Carbon Dioxide,” *Molecules*, vol. 29, no. 2, Jan. 2024, doi: 10.3390/molecules29020462.

- [322] E. Nwanebu, B. Tartakovsky, F. Tanguay-Rioux, R. Gharbi, and S. Omanovic, “The Impact of Nife-Based Metal Alloy on CO₂ Conversion to CH₄ and Carboxylic Acids in a Microbial Electrosynthesis Cell,” *ECS Meeting Abstracts*, vol. MA2024-01, no. 37, pp. 2199–2199, Aug. 2024, doi: 10.1149/MA2024-01372199mtgabs.
- [323] M. Mann *et al.*, “Impact of different trace elements on metabolic routes during heterotrophic growth of *C. ljungdahlii* investigated through online measurement of the carbon dioxide transfer rate,” *Biotechnol. Prog.*, vol. 38, no. 4, Jul. 2022, doi: 10.1002/btpr.3263.
- [324] M. I. Samanovic, C. Ding, D. J. Thiele, and K. H. Darwin, “Copper in microbial pathogenesis: Meddling with the metal,” Feb. 16, 2012. doi: 10.1016/j.chom.2012.01.009.
- [325] H. Zhu, Z. Dong, Q. Huang, T. S. Song, and J. Xie, “Fe₃O₄/granular activated carbon as an efficient three-dimensional electrode to enhance the microbial electrosynthesis of acetate from CO₂,” *RSC Adv.*, vol. 9, no. 59, pp. 34095–34101, 2019, doi: 10.1039/c9ra06255f.
- [326] M. Reiche, G. Torburg, and K. Küsel, “Competition of Fe(III) reduction and methanogenesis in an acidic fen,” *FEMS Microbiol. Ecol.*, vol. 65, no. 1, pp. 88–101, Jul. 2008, doi: 10.1111/j.1574-6941.2008.00523.x.
- [327] T. M. Webster, A. L. Smith, R. R. Reddy, A. J. Pinto, K. F. Hayes, and L. Raskin, “Anaerobic microbial community response to methanogenic inhibitors 2-bromoethanesulfonate and propynoic acid,” *Microbiologyopen*, vol. 5, no. 4, pp. 537–550, Aug. 2016, doi: 10.1002/mbo3.349.
- [328] M. V. Reddy, A. ElMekawy, and D. Pant, “Bioelectrochemical synthesis of caproate through chain elongation as a complementary technology to anaerobic digestion,” *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, vol. 12, no. 6, pp. 966–977, Nov. 2018, doi: 10.1002/bbb.1924.
- [329] J. Mock *et al.*, “Energy conservation associated with ethanol formation from H₂ and CO₂ in *Clostridium autoethanogenum* involving electron bifurcation,” *J. Bacteriol.*, vol. 197, no. 18, pp. 2965–2980, 2015, doi: 10.1128/jb.00399-15.
- [330] X. Zhu, E. Blanco, M. Bhatti, and A. Borrión, “Impact of metallic nanoparticles on anaerobic digestion: A systematic review,” Feb. 25, 2021, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.143747.

- [331] M. Romans-Casas, E. Perona-Vico, P. Dessì, L. Bañeras, M. D. Balaguer, and S. Puig, “Boosting ethanol production rates from carbon dioxide in MES cells under optimal solventogenic conditions,” *Science of the Total Environment*, vol. 856, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.159124.
- [332] Y. Yin, Y. Zhang, D. B. Karakashev, J. Wang, and I. Angelidaki, “Biological caproate production by *Clostridium kluyveri* from ethanol and acetate as carbon sources,” *Bioresour. Technol.*, vol. 241, pp. 638–644, 2017, doi: 10.1016/j.biortech.2017.05.184.
- [333] S. Bajracharya *et al.*, “Carbon dioxide reduction by mixed and pure cultures in microbial electrosynthesis using an assembly of graphite felt and stainless steel as a cathode,” *Bioresour. Technol.*, vol. 195, pp. 14–24, 2015, doi: 10.1016/j.biortech.2015.05.081.
- [334] Y. Wang *et al.*, “Ferric oxide stimulates medium-chain carboxylic acids synthesis from waste activated sludge via ethanol-driven chain elongation: Mechanisms and implications,” *J. Clean. Prod.*, vol. 389, Feb. 2023, doi: 10.1016/j.jclepro.2023.136044.
- [335] Y. Wang, J. Hou, H. Guo, T. Zhu, Y. Zhang, and Y. Liu, “New insight into mechanisms of ferroferric oxide enhancing medium-chain fatty acids production from waste activated sludge through anaerobic fermentation,” *Bioresour. Technol.*, vol. 360, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.biortech.2022.127629.
- [336] A. H. Anwer, M. D. Khan, N. Khan, A. S. Nizami, M. Rehan, and M. Z. Khan, “Development of novel MnO₂ coated carbon felt cathode for microbial electroreduction of CO₂ to biofuels,” *J. Environ. Manage.*, vol. 249, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.jenvman.2019.109376.
- [337] S. Das, S. Das, and M. M. Ghangrekar, “Application of TiO₂ and Rh as cathode catalyst to boost the microbial electrosynthesis of organic compounds through CO₂ sequestration,” *Process Biochemistry*, vol. 101, pp. 237–246, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.procbio.2020.11.017.
- [338] M. Tabish Noori and B. Min, “Highly Porous Fe_xMnO_y Microsphere as an Efficient Cathode Catalyst for Microbial Electrosynthesis of Volatile Fatty Acids from CO₂,” *ChemElectroChem*, vol. 6, no. 24, pp. 5973–5983, Dec. 2019, doi: 10.1002/celec.201901427.

- [339] L. Li *et al.*, “Stable, active CO₂ reduction to formate via redox-modulated stabilization of active sites,” *Nat. Commun.*, vol. 12, no. 1, Dec. 2021, doi: 10.1038/s41467-021-25573-9.
- [340] Z. Qiu, K. Zhang, X. L. Li, T. shun Song, and J. Xie, “Sn promotes formate production to enhance microbial electrosynthesis of acetate via indirect electron transport,” *Biochem. Eng. J.*, vol. 192, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.bej.2023.108842.
- [341] T. Gao, H. Zhang, X. Xu, and J. Teng, “Integrating microbial electrolysis cell based on electrochemical carbon dioxide reduction into anaerobic osmosis membrane reactor for biogas upgrading,” *Water Res.*, vol. 190, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.watres.2020.116679.
- [342] K.-K. Wu, P.-P. Xu, L. Zhao, N.-Q. Ren, and Y.-F. Zhang, “Microbial conversion of carbon dioxide into premium medium-chain fatty acids: the progress, challenges, and prospects,” *npj Materials Sustainability*, vol. 2, no. 1, Mar. 2024, doi: 10.1038/s44296-024-00008-w.
- [343] P. Iyengar, M. J. Kolb, J. Pankhurst, F. Calle-Vallejo, and R. Buonsanti, “Theory-guided enhancement of CO₂ reduction to ethanol on Ag- Cu tandem catalysts via particle-size effects,” *ACS Catal.*, vol. 11, no. 21, pp. 13330–13336, Nov. 2021, doi: 10.1021/acscatal.1c03717.
- [344] S. Shen *et al.*, “AuCu Alloy Nanoparticle Embedded Cu Submicrocone Arrays for Selective Conversion of CO₂ to Ethanol,” *Small*, vol. 15, no. 37, Sep. 2019, doi: 10.1002/smll.201902229.
- [345] J. Albo, M. Perfecto-Irigaray, G. Beobide, and A. Irabien, “Cu/Bi metal-organic framework-based systems for an enhanced electrochemical transformation of CO₂ to alcohols,” *Journal of CO₂ Utilization*, vol. 33, pp. 157–165, Oct. 2019, doi: 10.1016/j.jcou.2019.05.025.
- [346] J. Ding *et al.*, “A tin-based tandem electrocatalyst for CO₂ reduction to ethanol with 80% selectivity,” *Nat. Energy*, vol. 8, no. 12, pp. 1386–1394, Dec. 2023, doi: 10.1038/s41560-023-01389-3.
- [347] F. Ameen, W. A. Alshehri, and S. Al Nadhari, “Effect of Electroactive Biofilm Formation on Acetic Acid Production in Anaerobic Sludge Driven Microbial Electrosynthesis,” *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 8, no. 1, pp. 311–318, Jan. 2020, doi: 10.1021/acssuschemeng.9b05420.

- [348] R. Mateos, A. Sotres, R. M. Alonso, A. Escapa, and A. Morán, “Impact of the start-up process on the microbial communities in biocathodes for electrosynthesis,” *Bioelectrochemistry*, vol. 121, pp. 27–37, Jun. 2018, doi: 10.1016/j.bioelechem.2018.01.002.
- [349] P. Izadi, J. M. Fontmorin, A. Godain, E. H. Yu, and I. M. Head, “Parameters influencing the development of highly conductive and efficient biofilm during microbial electrosynthesis: the importance of applied potential and inorganic carbon source,” *NPJ Biofilms Microbiomes*, vol. 6, no. 1, Dec. 2020, doi: 10.1038/s41522-020-00151-x.
- [350] X. Sun, Y. Yin, H. Chen, L. Zhao, C. Wang, and J. Wang, “Effect of iron-based oxide-modified electrodes on the selectivity of carbon chain elongation metabolites in electro-fermentation system,” *Bioresour. Technol.*, vol. 431, Sep. 2025, doi: 10.1016/j.biortech.2025.132588.
- [351] F. R. Bengelsdorf, A. Poehlein, R. Daniel, and P. Dürre, “Genome Sequence of the Caproic Acid-Producing Bacterium *Caproiciproducens galactitolivorans* BS-1 T (JCM 30532),” *Microbiol. Resour. Announc.*, vol. 8, no. 31, Aug. 2019, doi: 10.1128/mra.00346-19.
- [352] S. Esquivel-Elizondo *et al.*, “The Isolate *Caproiciproducens* sp. 7D4C2 Produces n-Caproate at Mildly Acidic Conditions From Hexoses: Genome and rBOX Comparison With Related Strains and Chain-Elongating Bacteria,” *Front. Microbiol.*, vol. 11, Jan. 2021, doi: 10.3389/fmicb.2020.594524.
- [353] B. C. Kim, B. S. Jeon, S. Kim, H. Kim, Y. Um, and B. I. Sang, “*Caproiciproducens galactitolivorans* gen. Nov., sp. nov., a bacterium capable of producing caproic acid from galactitol, isolated from a wastewater treatment plant,” *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 65, no. 12, pp. 4902–4908, Dec. 2015, doi: 10.1099/ijsem.0.000665.
- [354] E. Nwanebu, S. Omanovic, S. Hrapovic, A. Gomez Vidales, and B. Tartakovsky, “Carbon dioxide conversion to acetate and methane in a microbial electrosynthesis cell employing an electrically-conductive polymer cathode modified by nickel-based coatings,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 47, no. 1, pp. 203–215, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.ijhydene.2021.10.003.

- [355] J. B. Gerschler, J. Kowal, D. U. Sauer, and M. Sander, “High-spatial impedance-based modeling of electrical and thermal behavior of lithium-ion batteries-A powerful design and analysis tool for battery packs in hybrid electric vehicle High-spatial impedance-based modeling of electrical and thermal behavior of lithium-ion batteries-A powerful design and analysis tool for battery packs in hybrid electric vehicles,” 2007. [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/322478056>
- [356] T. Kim, J. Kang, J. H. Lee, and J. Yoon, “Influence of attached bacteria and biofilm on double-layer capacitance during biofilm monitoring by electrochemical impedance spectroscopy,” *Water Res.*, vol. 45, no. 15, pp. 4615–4622, 2011, doi: 10.1016/j.watres.2011.06.010.
- [357] Z. Yang, R. Guo, X. Shi, C. Wang, L. Wang, and M. Dai, “Magnetite nanoparticles enable a rapid conversion of volatile fatty acids to methane,” *RSC Adv.*, vol. 6, no. 31, pp. 25662–25668, 2016, doi: 10.1039/c6ra02280d.
- [358] G. Baek, J. Kim, and C. Lee, “Influence of ferric oxyhydroxide addition on biomethanation of waste activated sludge in a continuous reactor,” *Bioresour. Technol.*, vol. 166, pp. 596–601, 2014, doi: 10.1016/j.biortech.2014.05.052.
- [359] M. A. Shah, A. L. Shibiru, V. Kumar, and V. C. Srivastava, “Carbon dioxide conversion to value-added products and fuels: opportunities and challenges: a critical review,” 2025, *Taylor and Francis Ltd.* doi: 10.1080/15435075.2023.2281330.
- [360] Y. Zhang, S. Miao, X. Yuan, and J. Zuo, “Enhanced conversion of food waste into n-caproate by integrating long-term and short-term fermentation: Performance and mechanisms,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 507, Mar. 2025, doi: 10.1016/j.cej.2025.160477.
- [361] R. Lin, X. Zheng, H. Zhang, Y. He, M. Liu, and L. Xie, “Cathode catalyst-assisted microbial electrosynthesis of acetate from carbon dioxide: promising material selection,” *Journal of Environmental Sciences*, Feb. 2025, doi: 10.1016/j.jes.2025.04.038.
- [362] A. Gomez Vidales, S. Omanovic, H. Li, S. Hrapovic, and B. Tartakovsky, “Evaluation of biocathode materials for microbial electrosynthesis of methane and acetate,” *Bioelectrochemistry*, vol. 148, Dec. 2022, doi: 10.1016/j.bioelechem.2022.108246.

- [363] S. Tian, Y. J. Jiang, Y. Cao, J. R. Zhang, Y. Zhou, and Y. Wang, “Nanomaterials Facilitating Conversion Efficiency Strategies for Microbial CO₂ Reduction,” Dec. 15, 2022, *John Wiley and Sons Inc.* doi: 10.1002/chem.202202317.
- [364] I. Ibrahim *et al.*, “Role of microbial electrosynthesis system in CO₂ capture and conversion: a recent advancement toward cathode development,” 2023, *Frontiers Media SA.* doi: 10.3389/fmicb.2023.1192187.
- [365] J. Zhang *et al.*, “Defined Electrosynthetic Microbial Consortia Reveal Electron Transfer Modes Governing Acetate Production,” *Advanced Science*, 2025, doi: 10.1002/advs.202513340.
- [366] S. A. Patil *et al.*, “Selective Enrichment Establishes a Stable Performing Community for Microbial Electrosynthesis of Acetate from CO₂,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 49, no. 14, pp. 8833–8843, Jul. 2015, doi: 10.1021/es506149d.
- [367] J. S. Deutzmann and A. M. Spormann, “Enhanced microbial electrosynthesis by using defined co-cultures,” *ISME Journal*, vol. 11, no. 3, pp. 704–714, Mar. 2017, doi: 10.1038/ismej.2016.149.
- [368] J. Du, H. Liang, Y. Zou, B. Li, X. Y. Li, and L. Lin, “Boosting Microbial CO₂ Electroreduction by the Biocompatible and Electroactive Bimetallic Fe-Mn Oxide Cathode for Acetate Production,” *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 12, no. 42, pp. 15659–15670, Oct. 2024, doi: 10.1021/acssuschemeng.4c06214.
- [369] T. shun Song, T. Li, R. Tao, H. F. Huang, and J. Xie, “CuO/g-C₃N₄ heterojunction photocathode enhances the microbial electrosynthesis of acetate through CO₂ reduction,” *Science of the Total Environment*, vol. 818, Apr. 2022, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.151820.
- [370] T. Mihin, O. Savadogo, and B. Tartakovsky, “Impact of non-noble bimetallic oxides on bioelectrochemical reduction of carbon dioxide to volatile fatty acids,” *Process Biochemistry*, vol. 159, pp. 51–63, Dec. 2025, doi: 10.1016/j.procbio.2025.09.009.
- [371] N. Chu *et al.*, “Microbial Electrosynthesis for Producing Medium Chain Fatty Acids,” Sep. 01, 2022, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.eng.2021.03.025.

- [372] M. Wei, X. Zhao, Y. Sun, and H. Chen, “Recent advances in CO₂ fixation via enzymatic catalysis and microbial electrosynthesis systems,” 2025, *Springer Nature*. doi: 10.1007/s43393-025-00387-8.
- [373] K. Cui, X. Xue, Z. Pan, J. Yu, W. Cai, and K. Guo, “Selective enrichment of homoacetogens and optimization of the operational conditions for effective acetate production in hydrogen-mediated microbial electrosynthesis reactors,” *Biochem. Eng. J.*, vol. 198, Sep. 2023, doi: 10.1016/j.bej.2023.109035.
- [374] E. Nwanebu, M. Jezernik, C. Lawson, G. Bruant, and B. Tartakovsky, “Impact of cathodic pH and bioaugmentation on acetate and CH₄ production in a microbial electrosynthesis cell,” *RSC Adv.*, vol. 14, no. 32, pp. 22962–22973, Jul. 2024, doi: 10.1039/d4ra03906h.
- [375] R. K. Thauer, E. Rupprecht, and K. Jungermann, “The synthesis of one-carbon units from CO₂ via a new ferredoxin dependent monocarboxylic acid cycle,” *FEBS Lett.*, vol. 8, no. 5, pp. 304–307, Jun. 1970, doi: 10.1016/0014-5793(70)80293-9.
- [376] M. C. A. A. Van Eerten-Jansen *et al.*, “Bioelectrochemical production of caproate and caprylate from acetate by mixed cultures,” *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 1, no. 5, pp. 513–518, May 2013, doi: 10.1021/sc300168z.
- [377] C. Koch, A. Kuchenbuch, F. Kracke, P. V. Bernhardt, J. Krömer, and F. Harnisch, “Predicting and experimental evaluating bio-electrochemical synthesis — A case study with *Clostridium kluyveri*,” *Bioelectrochemistry*, vol. 118, pp. 114–122, Dec. 2017, doi: 10.1016/j.bioelechem.2017.07.009.
- [378] B. T. Bornstein and H. A. Barker, “The Energy Metabolism Of *Clostridium kluyveri* And The Synthesis Of Fatty Acids,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 172, pp. 659–669, 1948.
- [379] A. Klindworth *et al.*, “Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 41, no. 1, Jan. 2013, doi: 10.1093/nar/gks808.
- [380] S. M. McAllister, R. E. Davis, J. M. McBeth, B. M. Tebo, D. Emerson, and C. L. Moyer, “Biodiversity and emerging biogeography of the neutrophilic iron-oxidizing

- Zetaproteobacteria,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 77, no. 15, pp. 5445–5457, Aug. 2011, doi: 10.1128/AEM.00533-11.
- [381] B. J. Callahan *et al.*, “High-throughput amplicon sequencing of the full-length 16S rRNA gene with single-nucleotide resolution,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 47, no. 18, p. E103, Apr. 2019, doi: 10.1093/NAR/GKZ569.
- [382] Q. Wang, G. M. Garrity, J. M. Tiedje, and J. R. Cole, “Naïve Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 73, no. 16, pp. 5261–5267, Aug. 2007, doi: 10.1128/AEM.00062-07.
- [383] M. Chuvochina *et al.*, “SILVA in 2026: a global core biodata resource for rRNA within the DSMZ digital diversity,” *Nucleic Acids Res.*, Nov. 2025, doi: 10.1093/nar/gkaf1247.
- [384] H. Wickham *et al.*, “Welcome to the Tidyverse,” *J. Open Source Softw.*, vol. 4, no. 43, p. 1686, Nov. 2019, doi: 10.21105/joss.01686.
- [385] M. Morgan, S. Anders, M. Lawrence, P. Aboyoun, H. Pagès, and R. Gentleman, “ShortRead: A bioconductor package for input, quality assessment and exploration of high-throughput sequence data,” *Bioinformatics*, vol. 25, no. 19, pp. 2607–2608, 2009, doi: 10.1093/bioinformatics/btp450.
- [386] P. J. McMurdie and S. Holmes, “Phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data,” *PLoS One*, vol. 8, no. 4, Apr. 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0061217.
- [387] H. Richter, B. Molitor, M. Diender, D. Z. Sousa, and L. T. Angenent, “A narrow pH range supports butanol, hexanol, and octanol production from syngas in a continuous co-culture of *Clostridium ljungdahlii* and *Clostridium kluyveri* with in-line product extraction,” *Front. Microbiol.*, vol. 7, no. NOV, Nov. 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.01773.
- [388] J. Ho Ahn, K. Hwan Jung, E. Seok Lim, S. Min Kim, S. Ok Han, and Y. Um, “Recent advances in microbial production of medium chain fatty acid from renewable carbon resources: A comprehensive review,” Aug. 01, 2023, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.biortech.2023.129147.

- [389] H. Huang, H. Wang, Q. Huang, T. shun Song, and J. Xie, “Mo₂C/N-doped 3D loofah sponge cathode promotes microbial electrosynthesis from carbon dioxide,” Jun. 17, 2021, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.ijhydene.2021.03.165.
- [390] T. Li, K. Zhang, D. Luo, T. shun Song, and J. Xie, “CuO/g-C₃N₄/rGO multifunctional photocathode with simultaneous enhancement of electron transfer and substrate mass transfer facilitates microbial electrosynthesis of acetate,” *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 47, no. 82, pp. 34875–34886, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.ijhydene.2022.08.066.
- [391] G. Wang, Q. Huang, T. S. Song, and J. Xie, “Enhancing Microbial Electrosynthesis of Acetate and Butyrate from CO₂ Reduction Involving Engineered *Clostridium ljungdahlii* with a Nickel-Phosphide-Modified Electrode,” *Energy and Fuels*, vol. 34, no. 7, pp. 8666–8675, Jul. 2020, doi: 10.1021/acs.energyfuels.0c01710.
- [392] M. V. Reddy, S. V. Mohan, and Y. C. Chang, “Medium-Chain Fatty Acids (MCFA) Production Through Anaerobic Fermentation Using *Clostridium kluyveri*: Effect of Ethanol and Acetate,” *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 185, no. 3, pp. 594–605, Jul. 2018, doi: 10.1007/s12010-017-2674-2.
- [393] P. Batlle-Vilanova *et al.*, “Microbial electrosynthesis of butyrate from carbon dioxide: Production and extraction,” *Bioelectrochemistry*, vol. 117, pp. 57–64, Oct. 2017, doi: 10.1016/j.bioelechem.2017.06.004.
- [394] C. Hiebl, D. Pinner, H. Konegger, F. Steger, D. Mohamed, and W. Fuchs, “Enhancing Gas Fermentation Efficiency via Bioaugmentation with *Megasphaera sueciensis* and *Clostridium carboxidivorans*,” *Bioengineering*, vol. 12, no. 5, May 2025, doi: 10.3390/bioengineering12050470.
- [395] Y. J. Lee, C. S. Romanek, and J. Wiegel, “*Clostridium aciditolerans* sp. nov., an acid-tolerant spore-forming anaerobic bacterium from constructed wetland sediment,” *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 57, no. 2, pp. 311–315, Feb. 2007, doi: 10.1099/ijss.0.64583-0.
- [396] J. Abrini, H. Naveau, and E. J. Nyns, “*Clostridium autoethanogenum*, sp. nov., an anaerobic bacterium that produces ethanol from carbon monoxide,” *Arch. Microbiol.*, vol. 161, no. 4, pp. 345–351, Apr. 1994, doi: 10.1007/BF00303591/METRICS.

- [397] R. S. Tanner, L. M. Miller, and A. Decheng, "Clostridium ljungdahlii sp. nov., an Acetogenic Species in Clostridial rRNA Homology Group I," *Int. J. Syst. Bacteriol.*, vol. 43, no. 2, pp. 232–236, 1993.
- [398] F. R. Bengelsdorf *et al.*, "Industrial acetogenic biocatalysts: A comparative metabolic and genomic analysis," *Front. Microbiol.*, vol. 7, no. JUL, Jul. 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.01036.
- [399] E. Cantos-Parra, S. Ramió-Pujol, J. Colprim, S. Puig, and L. Bañeras, "Specific detection of 'Clostridium autoethanogenum', Clostridium ljungdahlii and Clostridium carboxidivorans in complex bioreactor samples," *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 365, no. 18, Sep. 2018, doi: 10.1093/FEMSLE/FNY191.
- [400] T. Makiura, H. C. Tseng, N. Fujimoto, and A. Ohnishi, "Segatella asaccharophila sp. nov., an anaerobic pectinophile isolated from a two-phase methane fermentation system," *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 74, no. 12, Dec. 2024, doi: 10.1099/ijsem.0.006606.
- [401] C. Petrognani, N. Boon, and R. Ganigué, "Production of isobutyric acid from methanol by: Clostridium laticellarii," *Green Chemistry*, vol. 22, no. 23, pp. 8389–8402, Dec. 2020, doi: 10.1039/d0gc02700f.
- [402] Y. Kodama, T. Shimoyama, and K. Watanabe, "Dysgonomonas oryzae sp. nov., isolated from a microbial fuel cell," *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 62, no. 12, pp. 3055–3059, 2012, doi: 10.1099/ijse.0.039040-0.
- [403] N. Montpart, L. Rago, J. A. Baeza, and A. Guisasola, "Hydrogen production in single chamber microbial electrolysis cells with different complex substrates," *Water Res.*, vol. 68, pp. 601–615, Jan. 2015, doi: 10.1016/j.watres.2014.10.026.
- [404] D. M. Hodgson *et al.*, "Segregation of the anodic microbial communities in a microbial fuel cell cascade," *Front. Microbiol.*, vol. 7, no. MAY, 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.00699.
- [405] K. D. de Leeuw, M. J. W. van Willigen, T. Vrauwdeunt, and D. P. P. T. B. Strik, "CO₂ supply is a powerful tool to control homoacetogenesis, chain elongation and solventogenesis in ethanol and carboxylate fed reactor microbiomes," *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 12, 2024, doi: 10.3389/fbioe.2024.1329288.

- [406] T. H. Chung, A. Rahman, A. A. Chakrabarty, B. S. Zakaria, M. A. H. Khondoker, and B. R. Dhar, “3D printed cathodes for microbial electrolysis cell-assisted anaerobic digester: Evaluation of performance, resilience, and fluid dynamics,” *J. Power Sources*, vol. 623, Dec. 2024, doi: 10.1016/j.jpowsour.2024.235461.
- [407] J. B. A. Arends, S. A. Patil, H. Roume, and K. Rabaey, “Continuous long-term electricity-driven bioproduction of carboxylates and isopropanol from CO₂ with a mixed microbial community,” *Journal of CO₂ Utilization*, vol. 20, pp. 141–149, Jul. 2017, doi: 10.1016/j.jcou.2017.04.014.
- [408] M. J. Medina-Pascual, S. Monzón, P. Villalón, I. Cuesta, F. González-Romo, and S. Valdezate, “*Saezia sanguinis* gen. nov., sp. nov., a Betaproteobacteria member of order Burkholderiales, isolated from human blood,” *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 70, no. 3, pp. 2016–2025, 2020, doi: 10.1099/ijsem.0.004010.
- [409] S. Q. An *et al.*, “Mechanistic insights into host adaptation, virulence and epidemiology of the phytopathogen *Xanthomonas*,” Nov. 07, 2019, *Oxford University Press*. doi: 10.1093/femsre/fuz024.
- [410] Y. Sun, J. Wei, P. Liang, and X. Huang, “Electricity generation and microbial community changes in microbial fuel cells packed with different anodic materials,” *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 23, pp. 10886–10891, Dec. 2011, doi: 10.1016/j.biortech.2011.09.038.
- [411] J. Zhang, J. Zhou, Y. Han, and X. Zhang, “Start-up and bacterial communities of single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitrification (SNAP) for treatment of high strength ammonia wastewater,” *Bioresour. Technol.*, vol. 169, pp. 652–657, Oct. 2014, doi: 10.1016/j.biortech.2014.07.042.
- [412] L. Chen, M. Wang, Y. Feng, X. Xu, X. Luo, and Z. Zhang, “Production of bioelectricity may play an important role for the survival of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) under anaerobic conditions,” *Science of the Total Environment*, vol. 768, May 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.144335.
- [413] M. Li, J. C. Bradley, A. R. Badireddy, and H. Lu, “Ultrafiltration membranes functionalized with lipophilic bismuth dimercaptopropanol nanoparticles: Anti-fouling behavior and

- mechanisms,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 313, pp. 293–300, 2017, doi: 10.1016/j.cej.2016.12.036.
- [414] M. Romans-Casas, E. Perona-Vico, P. Dessì, L. Bañeras, M. D. Balaguer, and S. Puig, “Boosting ethanol production rates from carbon dioxide in MES cells under optimal solventogenic conditions,” *Science of the Total Environment*, vol. 856, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.159124.
- [415] E. Perona-Vico, L. Feliu-Paradedá, S. Puig, and L. Bañeras, “Bacteria coated cathodes as an in-situ hydrogen evolving platform for microbial electrosynthesis,” *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, Dec. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-76694-y.
- [416] S. M. de Smit *et al.*, “Integration of biocompatible hydrogen evolution catalyst developed from metal-mix solutions with microbial electrosynthesis,” *Bioelectrochemistry*, vol. 158, Aug. 2024, doi: 10.1016/j.bioelechem.2024.108724.
- [417] F. Zhang *et al.*, “In situ hydrogen utilization for high fraction acetate production in mixed culture hollow-fiber membrane biofilm reactor,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 97, no. 23, pp. 10233–10240, Dec. 2013, doi: 10.1007/s00253-013-5281-3.
- [418] J. Philips, “Extracellular Electron Uptake by Acetogenic Bacteria: Does H₂ Consumption Favor the H₂ Evolution Reaction on a Cathode or Metallic Iron?,” *Front. Microbiol.*, vol. 10, Jan. 2020, doi: 10.3389/fmicb.2019.02997.
- [419] L. Liu, Y. Shen, S. Yang, Z. Chen, X. Ji, and J. Zhu, “Optimizing Caproic Acid Biosynthesis in Anaerobic Fermentation of Ethanol and Butanoic Acid: The Effects of C/N Ratio,” *Fermentation*, vol. 11, no. 6, Jun. 2025, doi: 10.3390/fermentation11060316.
- [420] D. R. Lovley, D. E. Holmes, and K. P. Nevin, “Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) Reduction,” *Adv. Microb. Physiol.*, vol. 49, pp. 219–286, Jan. 2004, doi: 10.1016/S0065-2911(04)49005-5.
- [421] Aisha, B. M., A. H. Kawo, and Yahaya, S., “Identification of Iron Reducing Bacteria from Kaolin of Different Mining Sites in Northern Nigeria for Potential Bioleaching Activity,” *UMYU Journal of Microbiology Research (UJMR)*, vol. 7, no. 2, pp. 70–78, Dec. 2022, doi: 10.47430/ujmr.2272.011.

ANNEXE A INFORMATION SUPPLÉMENTAIRE DE L'ARTICLE 2

A-1 Figures

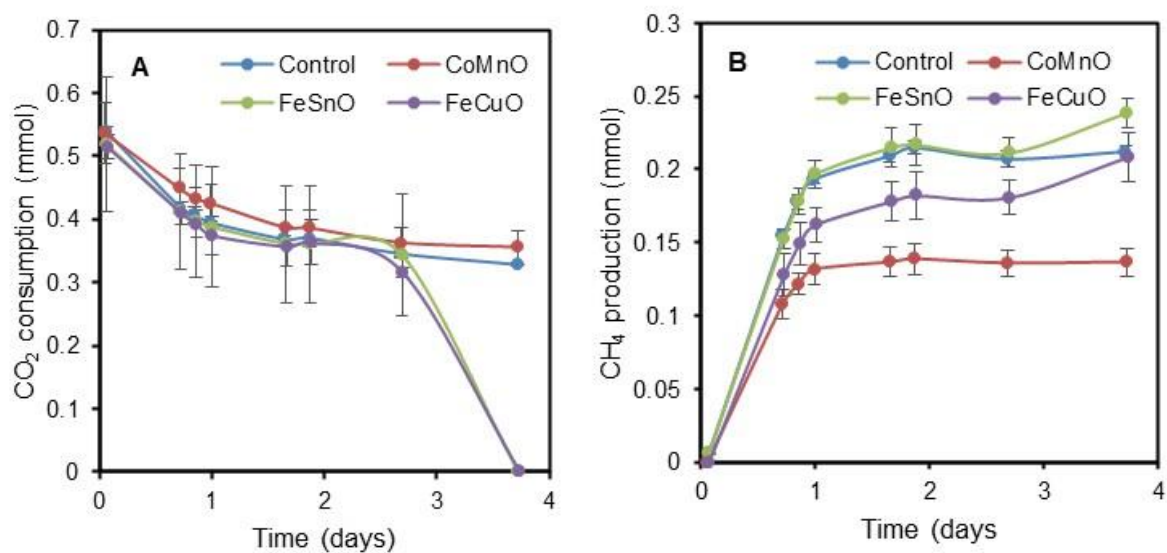


Figure A.6.1 A) Hydrogen consumption and B) methane production by anaerobic sludge using BES as inhibitor, tests carried out in triplicate.

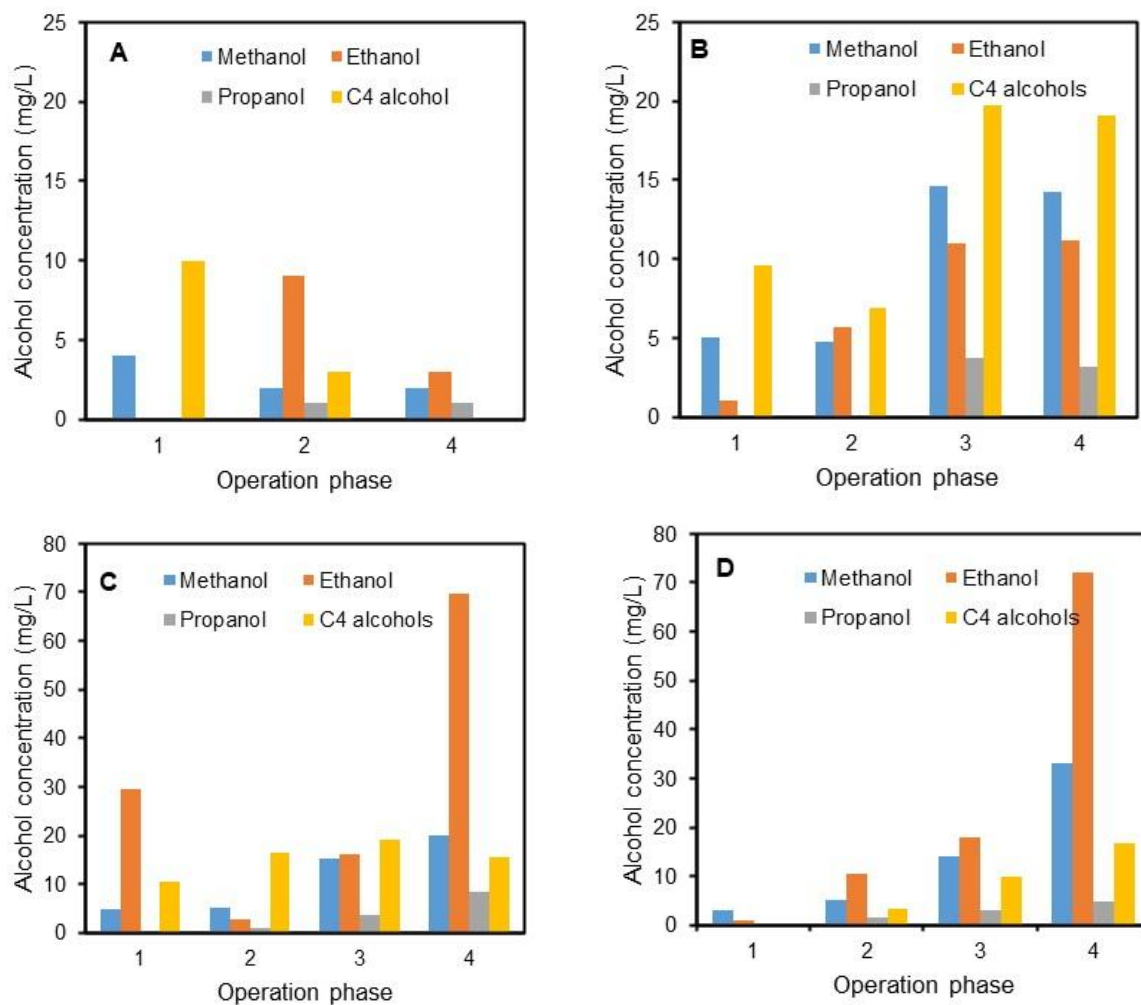


Figure A.6.2 Concentrations of alcohols produced at the cathode of A) CF-1 cell, B) CF-2 cell, C) FeSnO-1 cell and D) FeSnO-2 cell.

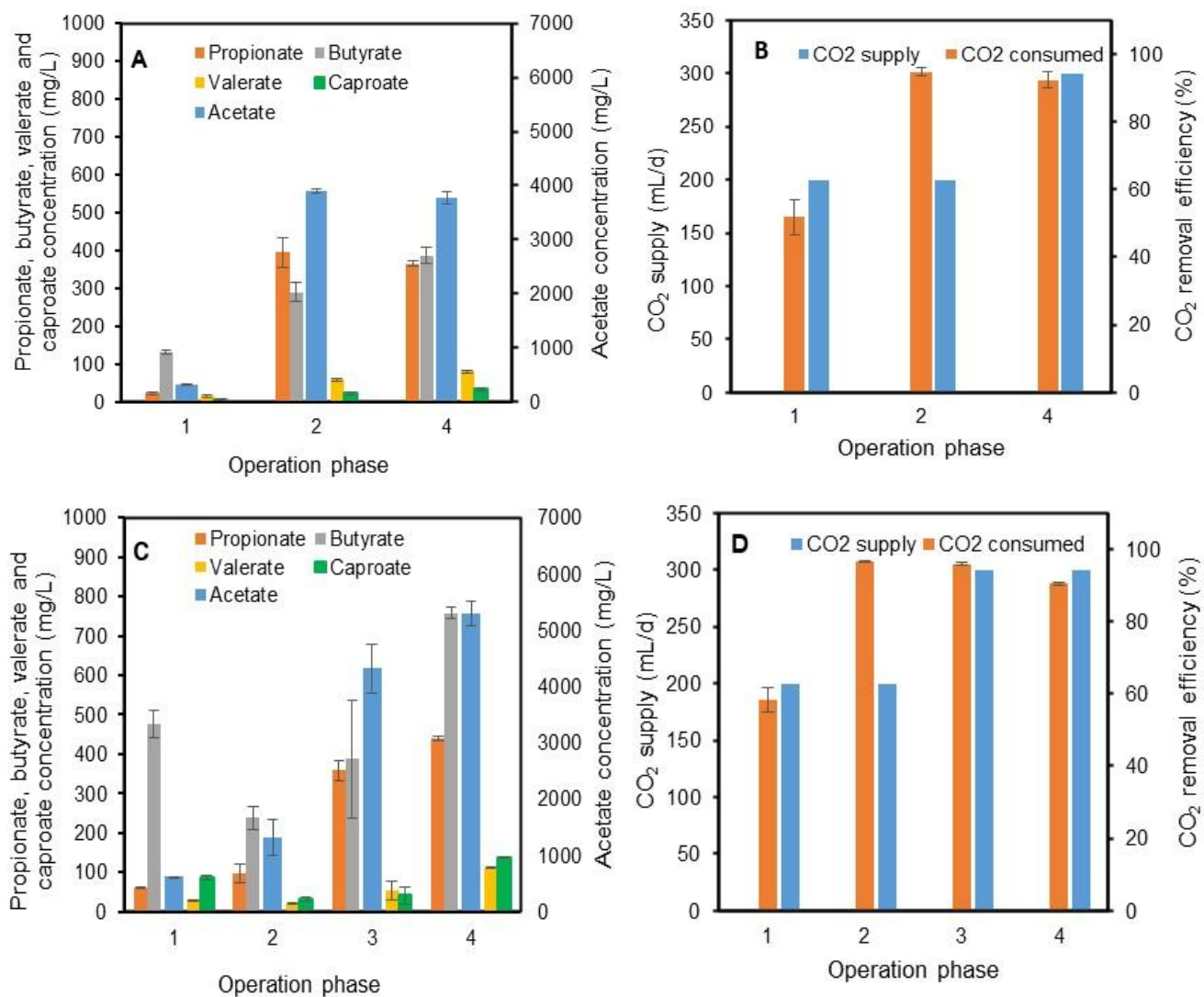


Figure A.6.3 Cathodic concentrations of volatile fatty acids during the different operating phases of A) CF-1 and E) FeSnO-1 and Carbon dioxide conversion efficiency during operation of B) CF-1, D) FeSnO-1. Experimental conditions corresponding to each phase are provided in Table

6. 1.

A-2 Tables

Table A.6.1 Production of volatile fatty acids by anaerobic sludge.

VFA (mg/L)	Acetate	Propionate	Butyrate	Valerate	Caproate
Control	1.0 ± 0.1	0	1.9 ± 0.2	0.6 ± 0.2	1.1 ± 0.0
FeCuO	3 ± 1	0	0	0	1.3 ± 0.2
CuSnO	2.7 ± 0.6	0	1.1 ± 0.1	0	1.1 ± 0.1
CuMnO	1.6 ± 0.2	0	1.1 ± 0.1	0	0.9 ± 0.1
CoMnO	1.6 ± 0.2	0	6.0 ± 0.4	5 ± 1	1.2 ± 0.2
FeSnO	1.3 ± 0.0	0	5.4 ± 0.6	2.8 ± 0.3	1.0 ± 0.1

Table A.6.2 Hydrogen consumption and methane production rates observed in the anaerobic sludge batch tests.

Tests	Control	FeCuO	FeSnO	CuSnO	CuMnO	CoMnO
H ₂ consumption rate (mmol d ⁻¹)	147 ± 9	90 ± 13	152 ± 3	89 ± 5	55 ± 5	128 ± 5
CH ₄ production rate (mmol d ⁻¹)	36 ± 2	20 ± 2	36 ± 0	19 ± 0	12 ± 3	31 ± 0
H ₂ to CH ₄ ratio	4.0	4.4	4.2	4.8	4.6	4.1

Table A.6.3 Alcohol production in the acetogenic mixed culture batch test.

Alcohols (mg L ⁻¹)	Methanol	Ethanol	C3 alcohols	C4 alcohols
T=0	2	6	0	7
Control	8.7 ± 0.2	15.3 ± 1.5	0.8 ± 0.1	23.5 ± 1.2
FeCuO (1:2)	8.5 ± 0.5	10.1 ± 0.5	0.54 ± 0.02	19.4 ± 1.0
CoMnO (2:1)	8.9 ± 0.3	15.4 ± 1.9	0.7 ± 0.1	20.9 ± 1.2
FeSnO (1:1)	8.7 ± 0.5	14.4 ± 1.0	0.8 ± 0.2	21.6 ± 1.6

Table A.6.4 The results of Nyquist curves fitting with equivalent circuits of the of the CF-2 and FeSnO-2 cells.

Time	Initial						Final					
MES	OCP (V)	L (μ H)	R _w (Ω)	C _{dl} (F)	R _s (Ω)	R _{CT} (Ω)	OCP (V)	L (μ H)	R _w (Ω)	C _{dl} (F)	R _s (Ω)	R _{CT} (Ω)
CF-2	0.05	1.77	0.027	0.110	2.50	239	-0.64	1.51	0.24	0.097	1.81	118.5
FeSnO-2	0.24	1.33	0.047	0.089	3.70	209.4	-0.67	2.30	0.75	$2.87 \cdot 10^{-5}$	1.38	0.87

Table A.6.5 VFA production rates and selectivity observed during CF-1 cell operation.

Products / Operation phase		1	2	4
Acetate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	35 ± 5	1088 ± 50	1329 ± 112
	Selectivity (%)	-	75 ± 4	69.2 ± 6
Propionate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	6 ± 3	107 ± 4	105 ± 2
	Selectivity (%)	-	10 ± 2	7.7 ± 0.2
Butyrate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	11 ± 1	48 ± 8	117 ± 22
	Selectivity (%)	-	10 ± 1	11 ± 1
Valérate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	1.3 ± 0.2	19 ± 1	23 ± 3
	Selectivity (%)		2.3 ± 0.1	10.3 ± 0.3
Caproate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	0.8 ± 0.2	8 ± 1	23 ± 2
	Selectivity (%)	-	0.9 ± 0.2	2.5 ± 0.1
All VFAs	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	54 ± 9	1306 ± 64	1597 ± 141
	CE (%)	-	77 ± 6	65 ± 5
H ₂	CE (%)	-	10 ± 1	16 ± 4
All products	CE (%)	-	87 ± 7	81 ± 9

Table A.6.6 VFA production rates and selectivity observed during FeSnO-1 cell operation.

Products / Operation phase		1	2	3	4
Acetate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	33 ± 2	656 ± 87	1348 ± 123	1210 ± 24
	Selectivity (%)		81 ± 10	77 ± 7	68 ± 2
Propionate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	3.3 ± 0.3	60 ± 10	114 ± 14	88 ± 1
	Selectivity (%)		10 ± 1	10 ± 1	8 ± 2
Butyrate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	24 ± 5	34 ± 4	100.3	194 ± 18
	Selectivity (%)		6.5 ± 0.6	9.9	18 ± 2
Valerate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	1.52 ± 0.03	4 ± 1	15.1	25 ± 1
	Selectivity (%)		0.8 ± 0.2	1.6	2.7 ± 0.2
Caproate	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	5 ± 1	4 ± 1	10.7	33 ± 3
	Selectivity (%)		0.8 ± 0.2	1.6	3.8 ± 0.3
All VFAs	Production rate (mg (L d) ⁻¹)	68 ± 2	758 ± 103	1589 ± 69	1550 ± 9
	CE (%)		48 ± 6	93 ± 8	60 ± 3
H ₂	CE (%)		4.4 ± 0.1	2.5 ± 0.3	17 ± 3
All products	CE (%)	CE (%)	52 ± 6	96 ± 8	77 ± 6

Table A.6.7 Relative abundance of predominant amplicon sequence variants (ASVs) merged at the species in the inoculum, catholyte and biofilm samples. Only ASVs of more than 5% relative abundance in at least one sample are shown.

Species	Inoculum	CF-2 Liquid	FeSnO-2 Liquid	CF-2 Biofilm	FeSnO-2 Biofilm
<i>Microvirgula aerodenitrificans</i>	< 0.1	5.6	0.3	3.5	2.3
<i>Anaeroglobus</i> sp900240295	56.1	0.8	82.5	2.1	8.3
<i>Clostridium_B</i> sp902809985	21.9	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Pectinatus frisingensis</i>	0.1	4.3	0.5	10.0	0.6
<i>Anaerosalibacter_A</i> sp900155565	< 0.1	0.3	0.6	0.5	32.3
<i>Caproiciproducens galactitolivorans</i>	< 0.1	49.6	3.1	51.5	26.5
Unclassified	17.1	30.1	5.7	10.6	5.0
Other	4.8	9.2	7.4	21.9	24.9

A-3. Solution composition

Phosphate buffer 0.05 M

Dissolve in 500 mL of water 2 g of K_2HPO_4 , 2.55 g of $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ and 0.55 g of $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$. Add 1 mL of resazurin 0.1% solution (w/v). Boil the solution under flushing and agitation of N_2/CO_2 for 30 minutes. Dispatch 300 mL of buffer in 500 mL serum bottles and cap hermetically with rubber stopper and aluminum seal. Inject through rubber stopper 1 mL of Cystein- Na_2S solution (1.25 %, w/v) of phosphate Buffer. Wait until buffer turns pink, then colorless and store at 4°C.

Acetate solution 300 g/L

Weigh 12.4 g of ammonium acetate, 16.4 g of potassium acetate, 18.3 g of sodium acetate and 6.64 g of glacial acetic acid in a beaker. Complete the weight to 150 g with distilled water. Add 2-5 drops of 0.1% resazurin (w/v) and transfer the solution in several 60 mL serum vials. Flush vial with N_2/CO_2 gas for 2 minutes. Cap the serum bottles and seal. Inject through rubber stopper 0.1 mL Na_2S solution (2.5%, w/v) per 10 mL of substrate and wait until solution turns colorless. Store the solution at 4°C.

Vitamin solution

The vitamin solution is obtained by introducing in 1L of distilled water these chemicals: biotin (2mg), folic acid (2mg), pyridoxine-HCl (10mg), thiamine-HCl.2H₂O (5mg), riboflavin (5mg) nicotinic acid (5mg) and D-ca-pantothenate (5mg).

Mineral solution

The mineral aqueous solution contains NH_4Cl (100 g L⁻¹), $NaCl$ (80 g L⁻¹), KCl (10 g L⁻¹), KH_2PO_4 (10 g L⁻¹), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (20 g L⁻¹), $CaCl_2 \cdot H_2O$ (4 g L⁻¹).

Trace elements solution

Trace elements solution is an aqueous solution of those chemicals: Na-EDTA (0,5 g L⁻¹), $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ (2 g L⁻¹), H_3BO_3 (0,05 g L⁻¹), $ZnCl_2$ (0,05 g L⁻¹), $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ (0,04 g L⁻¹), $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ (0,5 g L⁻¹), $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ (0,05 g L⁻¹), $AlCl_3 \cdot 7H_2O$ (0,054 g L⁻¹), $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (0,15 g L⁻¹), $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ (0,1 g L⁻¹), $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (1 g L⁻¹), $Na_2Se_3O_3$ (0,05 g L⁻¹).

A-4. Microbial community analysis

DNA was extracted from the microbial inoculum, catholyte, and biofilm samples using a DNeasy PowerSoil Pro kit (Qiagen, USA) and following the manufacturer's instructions. DNA quality and quantity assessments were carried out using the Quant-iT PicoGreen assay (Fisher Scientific Ltd). Analysis was performed by 16S rRNA gene amplicon sequencing of nearly full-length 16S rRNA genes, amplified using the primers 27F (5'-AGRGTTYGATYMTGGCTCAG-3' and 1492R (5'-RGYTACCTTGTTACGACTT-3'. Amplicons were sequenced by Circular Consensus Sequencing (CCS) on a PacBio sequencing platform. Amplicon generation and sequencing were carried out at the Integrated Microbiome Resource facility (Dalhousie University, Canada). Amplicon sequences were analyzed following the longread workflow of the DADA2 pipeline (version 1.32; Callahan et al. 2019 [doi:10.1093/nar/gkz569]; <https://github.com/benjjneb/dada2/>). For ease of interpretation, amplicon sequence variants (ASVs) with identical classifications were merged.

ANNEXE B INFORMATION SUPPLÉMENTAIRE DE L'ARTICLE 3

B.1 Solution preparation for MES operation

P7 culture medium

The P7 medium was composed of $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$ (0.2 g), KH_2PO_4 (0.1 g), KCl (0.1 g), NaCl (0.8 g), NH_4Cl (1 g), $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$ (0.02 g), Yeast Extract (1 g), NaHCO_3 (1 g). All medium compounds were dissolved in a total volume of 1 L of deionized water. A volume of 0.5 mL of resazurin (0.1% w/w) was then added as an indicator of redox state. The solution was distributed into 100 mL serological bottles, and these bottles were then heated for 5 minutes in a microwave. Each bottle was then flushed with N_2/CO_2 (80:20 vol/vol) for 5 minutes. Vitamin stock solution (1 mL; for composition see below), cysteine 30 g/L (1 mL), and 2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid (MES) buffer 200 g/L (5 mL), were also added into each bottle.

Clostridium kluyveri culture medium

Clostridium kluyveri culture medium was composed of $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$ (0.2 g), KH_2PO_4 (0.1 g), KCl (0.1 g), NaCl (0.8 g), NH_4Cl (1 g), $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$ (0.02 g), Yeast Extract (1 g), NaHCO_3 (1 g) dissolved in a total volume of 1 L of deionized water. A volume of 0.5 mL of resazurin (0.1% w/w) was added as an indicator of redox state. The solution was distributed into 100 mL serological bottles, and these bottles were then sterilized by heating for 5-10 minutes in a microwave. Each bottle was then flushed with N_2/CO_2 (80:20 vol/vol) for 5 minutes to establish anaerobic conditions. Vitamin stock solution (1 mL; for composition see below), cysteine 30 g/L (1 mL), MES 200 g/L (10 mL), sodium acetate 300 g/L (1 mL), absolute ethanol (0.6 mL) and NaHCO_3 50 g/L (2 mL) were added into each bottle.

Vitamin solution

The vitamin solution was prepared by introducing in 1L of distilled water biotin (2 mg), folic acid (2 mg), pyridoxine-HCl (10 mg), thiamine-HCl $2 \text{ H}_2\text{O}$ (5 mg), riboflavin (5 mg) nicotinic acid (5 mg) and D-ca-pantothenate (5 mg).

Minerals solution

The mineral aqueous solution contains NH_4Cl (100 g L^{-1}), NaCl (80 g L^{-1}), KCl (10 g L^{-1}), KH_2PO_4 (10 g L^{-1}), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (20 g L^{-1}), $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (4 g L^{-1}).

Trace elements solution

Trace elements solution consisted of the following chemicals: Na-EDTA ($0,5 \text{ g L}^{-1}$), $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2 g L^{-1}), H_3BO_3 ($0,05 \text{ g L}^{-1}$), ZnCl_2 ($0,05 \text{ g L}^{-1}$), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($0,04 \text{ g L}^{-1}$), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($0,5 \text{ g L}^{-1}$), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($0,05 \text{ g L}^{-1}$), $\text{AlCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($0,054 \text{ g L}^{-1}$), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($0,15 \text{ g L}^{-1}$), $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($0,1 \text{ g L}^{-1}$), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1 g L^{-1}), $\text{Na}_2\text{Se}_3\text{O}_3$ ($0,05 \text{ g L}^{-1}$).

B.2 Droplet Digital PCR (ddPCR) method

The PCR mixture consisted of 12.5 uL Bio-Rad 2x QX200 ddPCR EvaGreen^R Supermix (SM) (BioRad Laboratories Ltd, Mississauga, ON), primers at a final concentration of $0.1 \text{ }\mu\text{M}$, 0.2 mg/mL BSA and genomic DNA input concentrations 1 ng DNA per $25 \text{ }\mu\text{L}$ ddPCR reaction.

Sample mixtures were gently vortexed avoiding the formation of bubbles, centrifuged for 20 sec, then kept on ice until droplet generation. Samples were packaged into droplets by adding $20 \text{ }\mu\text{L}$ of the PCR mixture to each sample well of the single-use DG8 cartridge followed by addition of $70 \text{ }\mu\text{L}$ of droplet generation oil for EvaGreen^R to each of the corresponding oil wells. The cartridge was then placed into the QX200 droplet generator for droplet production. Forty microliters of generated droplets were transferred from the cartridge to a semi-skirted ddPCR 96-well plate (Bio-Rad). Samples were successively prepared in cartridges in groups of eight, transferred to the PCR plate and subsequently heat sealed with a pierceable foil seal. The plate was transferred to a thermal cycler, and reactions were run under the following standard cycling conditions: 95°C for 5 min followed by 40 cycles of 95°C for 30 sec, 59°C for 60 sec, 72°C for 30 sec. The cooling step was performed at 4°C for 5 min followed by a final extension at 90°C for 5 min then a 4°C hold; ramp rate = 50% (2°C/sec). Upon completion of the PCR phase, plates were loaded onto the QX200 Droplet Digital reader, which automatically reads the droplets from each well of the plate. Data analysis was performed using QuantaSoftTM software (Bio-Rad). Negative droplets, lacking target and/or reference gene DNA, as well as positive droplets containing at least one copy of the target were counted. The concentration of target DNA was determined using Poisson distribution analysis.

B.3 Dissolved CO₂ analysis method

An equimolar aqueous solution of potassium carbonate and sodium carbonate was prepared at 10 g/L . Different solutions (5 g/L ; 2.5 g/L ; 1.25 g/L) were prepared by successive dilution of this stock solution.

For each solution prepared, 0.4 mL was introduced into a 10 mL vial and sealed. A volume of 0.5 mL of 3 M HCl solution was added using a syringe. The carbon dioxide evolved after this acidification of the solution was analyzed using a gas chromatograph. A curve between the chromatographic peak of carbon dioxide and the concentration of carbonate was then plotted. The resulting linear correlation is used to determine the concentration of CO₂ dissolved in the MES cell samples.