



HAL
open science

Conception d'un procédé de biolixiviation pour la valorisation des métaux contenus dans les déchets de cartes électroniques

Agathe Hubau

► **To cite this version:**

Agathe Hubau. Conception d'un procédé de biolixiviation pour la valorisation des métaux contenus dans les déchets de cartes électroniques. Autre. Université Paris sciences et lettres, 2019. Français. NNT : 2019PSLEC001 . tel-02862060

HAL Id: tel-02862060

<https://pastel.hal.science/tel-02862060>

Submitted on 9 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE DE DOCTORAT

DE L'UNIVERSITÉ PSL

Préparée à l'École Nationale Supérieure de Chimie de Paris

Conception d'un procédé de biolixiviation pour la valorisation des métaux contenus dans les déchets de cartes électroniques

Soutenue par

Agathe HUBAU

Le 24 Janvier 2019

Ecole doctorale n° 388

Chimie Physique et Chimie Analytique de Paris Centre

Spécialité

Physico-chimie

Composition du jury :

Patrick PERRÉ Directeur de recherche, Centrale Supélec	<i>Président du jury</i>
Renaud ESCUDIÉ Directeur de recherche, INRA	<i>Rapporteur</i>
Florent BOURGEOIS Professeur, ENSIACET	<i>Rapporteur</i>
Alice BIZOUARD Ingénieur, ESR	<i>Examinatrice</i>
Christine LAFFORGUE-BALDAS Maître de conférences, INSA	<i>Examinatrice</i>
Anne-Gwenaëlle GUEZENNEC Ingénieur, BRGM	<i>Examinatrice</i>
Michel MINIER Professeur, Chimie ParisTech	<i>Directeur de thèse</i>



ParisTech

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier Mr Renaud Escudié et Mr Florent Bourgeois d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse, ainsi que Mr Patrick Perré, Mme Alice Bizouard et Mme Christine Lafforgue-Baldas d'avoir accepté d'être examinateurs.

Merci à Michel Minier, Alexandre Chagnes et Anne-Gwenaëlle Guézennec de m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce sujet passionnant ! Je tiens à remercier Michel Minier et Alexandre Chagnes d'avoir assuré la direction de la thèse. Malgré la distance, les échanges qui ont pu avoir lieu ont permis de faire avancer ces travaux. La réactivité d'Alexandre m'a particulièrement aidée tout au long de la thèse. Je remercie chaleureusement Gwen, pour les conseils et l'intérêt portés à ce travail. Sa porte a été ouverte tout au long de la thèse. Elle a su orienter mes travaux en me laissant une réelle autonomie. Son enthousiasme et sa sympathie m'ont permis de dépasser les nombreux moments de doutes.

Je suis reconnaissante envers la Chaire ParisTech Mines Urbaines, soutenue par ESR, pour avoir financé cette étude. Les réunions de la Chaire ont été l'occasion de prendre du recul et d'apporter un regard toujours neuf sur mes travaux. Je remercie en particulier Alice Bizouard de l'intérêt porté au sujet, ainsi que Vincent Semetey, Gérard Côte et Adeline Collin qui ont contribué au bon déroulement de ce travail.

Je tiens également à remercier Patrick d'Hugues et Philippe Barbox pour leurs accueils dans leurs unités respectives. Je me suis toujours sentie à l'aise dans les équipes, malgré mes passages express (ou à l'inverse un peu étendus) dans les différentes unités.

J'adresse mes remerciements les plus sincères aux collègues des unités DMP et EXP qui ont créé une ambiance chaleureuse à Orléans, ont tous participé à un moment à une discussion autour de la thèse (ou plusieurs !) et ont permis que ce travail aboutisse. Découvrir la biolix (Mohamed, Hafida, Jérôme, Simon), participer aux montages (Mickaël, Pierre), aux suivis quotidiens (Marion, Claire), aux analyses (Dominique), ... Avec vous, tout était un réel plaisir ! Un remerciement particulier à Mickaël, à qui j'ai posé de nombreuses questions et qui a toujours pris le temps d'y répondre, à Solène pour l'accompagnement sur la partie échantillonnage, à Kathy et Yannick pour avoir pris le relais quand Gwen était moins dispo, ainsi qu'à Simon et Jérôme pour les apéros réguliers !

Je tiens à remercier les collègues des autres unités, croisés au détour de sujets qui m'étaient inconnus : la microbiologie avec Catherine et Caroline, l'analyse de cartes électroniques avec Pauline ou le cryo-MEB avec Annie (Univ. Orléans).

Je remercie Cédric et Charline qui ont participé à ce travail de thèse avec beaucoup de sérieux. De vrais échanges ont pu avoir lieu. Ils ont largement contribué à ces travaux.

Je remercie également Jonathan, Kateryna, Mariana, Jacinthe, Caroline, Edouard, Amélie, Anthony, Jonathan, Claire et tous les autres stagiaires, doctorants, post-doctorants, ingénieurs, maîtres de conférences rencontrés durant ces trois années.

Je souhaite finalement remercier tous les gens qui ont, de près ou de loin, participé à ce travail : les copains de Chimie Paris pour l'hébergement parisien avant diverses réunions, Romain et la famille qui m'ont entendu râler de nombreuses fois contre les aléas expérimentaux ... Un grand merci à tous !

Table des matières

Avant propos.....	
Abréviations.....	
Définitions.....	
Introduction générale.....	1
Chapitre I – Contexte.....	4
1. Les Déchets d'Équipements Électriques et Électroniques (DEEE) comme ressource secondaire valorisable	6
1.1. Intérêt de la valorisation des déchets	6
1.1.1. Demande croissante en métaux	6
1.1.2. Déplétion des ressources	7
1.1.3. Gestion actuelle des DEEE et taux de recyclage.....	8
1.2. Cas des cartes électroniques	9
1.2.1. Composition des cartes électroniques	9
1.2.2. Défis pour la valorisation des cartes électroniques	11
2. Les voies de recyclage des circuits imprimés	12
2.1. Généralités	12
2.2. Traitements mécaniques	13
2.2.1. Libération des éléments par déchiquetage et broyage.....	13
2.2.2. Séparations variées	13
2.3. Pyrométallurgie	14
2.3.1. Valorisation actuelle des cartes électroniques par pyrométallurgie	14
2.3.2. Principaux avantages et inconvénients.....	15
2.3.3. Développements actuels en pyrométallurgie.....	15
2.4. Hydrométallurgie.....	16
2.4.1. Dissolution de la matrice et récupération des métaux sous forme solide.....	16
2.4.2. Dissolution des métaux et récupération de produits finis	16
2.4.3. Avantages et limites de l'hydrométallurgie	17
2.4.4. Biohydrométallurgie.....	17
2.5. Combinaison de différentes technologies.....	18
3. Conclusion.....	19
4. Références	20
Chapitre II – État de l'art.....	24
1. Préparation et caractérisation de déchets de cartes électroniques	26
1.1. Préparation de cartes électroniques pour l'hydrométallurgie	26
1.1.1. Déchiquetage et broyage	26
1.1.2. Echantillonnage	26

1.2.	Caractérisation	28
2.	Biolixiviation acidophile	30
2.1.	Biolixiviation de minerais sulfurés à l'aide de micro-organismes acidophiles	30
2.1.1.	Mécanismes mis en jeu	30
2.1.2.	Micro-organismes acidophiles	31
2.1.3.	Facteurs influençant la biolixiviation de minerais sulfurés.....	32
2.2.	Les applications	32
3.	Biolixiviation acidophile des cartes électroniques	34
3.1.	Mécanismes	34
3.1.1.	Réactions de lixiviation.....	34
3.1.2.	Réaction de régénération du fer ferrique par bio-oxydation	35
3.1.3.	Rôle des micro-organismes	35
3.1.4.	Réactions parallèles.....	37
3.2.	Cinétiques de mise en solution	38
3.2.1.	Conditions opératoires.....	38
3.2.2.	Inhibition de la croissance et de l'activité des micro-organismes.....	40
3.2.3.	Cinétiques de biolixiviation ferro-oxydante.....	41
3.2.4.	Comparaison à la lixiviation abiotique par le fer ferrique	45
4.	Bio-oxydation du fer ferreux.....	47
4.1.	Mécanismes	47
4.1.1.	Réactions en jeu	47
4.1.2.	Fonctionnement des bactéries ferro-oxydantes	47
4.2.	Cinétiques	48
4.2.1.	Vitesses d'oxydation en batch.....	48
4.2.2.	Vitesses d'oxydation en continu	48
4.2.3.	Comparaison avec les cinétiques de mise en solution.....	50
5.	Conclusion.....	51
6.	Références	53
Chapitre III – Matériels et méthodes		62
1.	Caractérisation des cartes électroniques.....	64
1.1.	Déchets étudiés	64
1.2.	Protocole de préparation et d'échantillonnage des cartes électroniques	64
1.3.	Détermination de la granulométrie	66
1.4.	Protocole pour l'analyse des teneurs en métaux des cartes électroniques.....	66
1.4.1.	Détermination de la concentration en métaux dans les cartes électroniques	66
1.4.2.	Détermination des teneurs en métaux des fractions granulométriques	67
1.4.3.	Analyse des résidus d'attaque des cartes électroniques	68
2.	Essais de bio-oxydation et biolixiviation	69

2.1.	Consortium bactérien et milieu nutritif	69
2.2.	Supports solides pour les essais de bio-oxydation.....	69
2.3.	Cultures en erlenmeyer	69
2.4.	Cultures batch en réacteur agité mécaniquement (2 L)	70
2.4.1.	Montage expérimental.....	70
2.4.2.	Bio-oxydation en batch	71
2.4.3.	Biolixiviation des cartes électroniques en batch	72
2.5.	Cultures en réacteur continu	73
2.5.1.	Montage général	73
2.5.2.	Bio-oxydation en continu	74
2.5.3.	Biolixiviation des cartes électroniques en continu	74
2.6.	Méthode de suivi des paramètres physico-chimiques	75
2.6.1.	Suivi régulier	75
2.6.2.	Mesures ponctuelles	76
2.6.3.	Analyse des résidus de biolixiviation des cartes électroniques.....	76
2.7.	Méthode de suivi microbiologique	76
2.7.1.	Comptage et décrochage	76
2.7.2.	Microscopie électronique à balayage cryogénique	77
2.7.3.	Extraction d'ADN, électrophorèse capillaire par polymorphisme de conformation des simples brins (CE-SSCP) et réaction en chaîne par polymérase (PCR) spécifique...	77
3.	Références	78
Chapitre IV – Résultats & Discussion		80
1.	Préparation, échantillonnage et caractérisation des cartes électroniques usagées.....	82
1.1.	Préparation et échantillonnage.....	83
1.2.	Teneurs en métaux dans les échantillons de 40 g	85
1.3.	Analyse des résidus solides	87
1.4.	Granulochimie	89
1.5.	Interprétation	92
1.6.	Conclusion	94
2.	Bio-oxydation du Fe(II)	96
2.1.	Bio-oxydation en batch et fed-batch.....	96
2.1.1.	Cinétiques de bio-oxydation en batch	96
2.1.2.	Cinétiques de bio-oxydation en fed-batch.....	97
2.2.	Bio-oxydation en colonne à bulles en continu.....	98
2.2.1.	Influence de la concentration initiale en Fe(II) sur la vitesse et le taux de bio-oxydation.....	99
2.2.2.	Influence de la quantité de charbon actif.....	100
2.2.3.	Influence de la composition du milieu nutritif	101
2.2.4.	Influence du type de support solide.....	103

2.2.5.	Caractéristiques du support solide et de la structure de la population bactérienne durant la bio-oxydation	106
2.3.	Conclusion	111
3.	Biolixiviation acidophile des cartes électroniques	112
3.1.	Toxicité des cartes électroniques sur la culture KCC-BRGM.....	112
3.2.	Biolixiviation en réacteur agité mécaniquement en batch.....	113
3.2.1.	Biolixiviation de cartes électroniques en présence de 1% et 5% de solide.....	113
3.2.2.	Cinétiques de mise en solution de Cu métallique seul.....	117
3.2.3.	Conclusion.....	118
3.3.	Biolixiviation en réacteur double étage en continu en présence de 1% de solide ...	118
3.3.1.	Biolixiviation des métaux.....	119
3.3.2.	Phénomènes de précipitation.....	121
3.3.3.	Développement des populations bactériennes lors de la biolixiviation	123
3.3.4.	Vitesse de régénération du Fe(III).....	126
3.4.	Biolixiviation en réacteur double étage en continu avec une concentration en solide plus élevée	127
3.5.	Biolixiviation en réacteur agité mécaniquement en continu avec une concentration en solide de 1,8%	131
3.6.	Conclusion	132
4.	Conclusion générale	134
5.	Références	136
	Conclusion et perspectives	140
	Références bibliographiques	148

Abréviations

OCm et OKm	Milieux nutritifs utilisés pour la culture bactérienne
Ademe	Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ARN	Acide RiboNucléique
BET	Mesure de la surface spécifique selon la théorie de Brunauer, Emmett et Teller
BRGM-KCC	Consortium bactérien isolé par le BRGM sur le site minier de Kasese (Ouganda)
CE-SSCP	Électrophorèse capillaire par polymorphisme de conformation des simples brins
Cryo-MEB	Microscopie Électronique à Balayage Cryogénique
CSTR	Réacteur continu agité mécaniquement
DEEE	Déchets d'Équipements Électriques et Électroniques
DMSO	Diméthylsulfoxyde
Eh vs ENH	Potentiel d'oxydo-réduction par rapport à l'Electrode Normale à Hydrogène
EPS	Substances Polymériques Extracellulaires
ICP-AES	Spectroscopie d'Émission Atomique à Plasma à Couplage Inductif
ICP-MS	Spectroscopie de Masse à Plasma à Couplage Inductif
MEB-EDS	Microscopie Électronique à Balayage avec Spectroscopie par Énergie Dispersive des rayons X
MET	Microscopie Électronique à Transmission
OCDE	Organisation de Coopération et Développement Économiques
PAM	Petits Appareils en Mélange
PCR	Réaction en chaîne par polymérase
PET	PolyEthylène Téréphtalate
PVC	PolyChlorure de Vinyle
REP	Responsabilité Élargie du Producteur
RSD	Coefficient de variation (en anglais « Relative Standard Deviation »)
SAA(F)	Spectroscopie d'Absorption Atomique (Flamme)
TSH	Temps de Séjour Hydraulique
UNEP	Programme des Nations Unies pour l'Environnement
UNU	Université des Nations Unies
vvm	Unité d'aération - Volume de gaz par volume de milieu et par minute
XRF	Spectrométrie de fluorescence des rayons X

Définitions

Abiotique	En l'absence de micro-organismes
Acidophile	Qui peut ou doit vivre dans des conditions de forte acidité
Aérobie	Milieu contenant du dioxygène
Anaérobie	Milieu en l'absence de dioxygène
Anglésite	Précipité de sulfate de plomb (PbSO ₄)
Archées	Micro-organismes unicellulaires procaryotes, différenciés des bactéries par l'arbre phylogénétique
Autotrophe	Utilisant la matière inorganique (CO ₂) comme source de carbone
Biogénique	Qui est produit par des organismes vivants
Bio-oxydation	Oxydation catalysée par des micro-organismes
Biotique	En présence de micro-organismes
Cellule de Thoma	Lame qui permet de compter le nombre de cellules en suspension dans une solution
Cémentation	Réaction d'oxydo-réduction qui réduit un sel par un métal
Chimiolithotrophe	Qui utilise une molécule chimique comme source d'énergie et un composé minéral oxydant comme source d'électrons
Chimiotaxie	Phénomène par lequel des cellules se dirigent ou dirigent leur mouvement en fonction des espèces chimiques présentes dans l'environnement
Consortium	Communauté bactérienne composée de différentes souches
Diviseur à carrousel	Instrument permettant de diviser un échantillon initial en plusieurs sous-échantillons représentatifs ; la matière est alimentée en continu sur le carrousel qui tourne et répartit celle-ci en 4 sous-échantillons
Diviseur à riffles	Instrument permettant de diviser par gravité un échantillon initial en deux sous-échantillons représentatifs
Échantillonnage	Prélèvement d'échantillons selon une procédure spécifiée
Écotoxicologie microbienne	Étude des effets de contaminants chimiques ou biologiques sur des micro-organismes et du rôle des organismes sur ces polluants
Effet pépite	Particule très chargée en un élément d'intérêt et qui est mal répartie parmi les autres, créant des soudaines variations de composition entre différents échantillons
Élément critique	Élément indispensable pour des filières industrielles spécifiques, concentré géographiquement dans une région à haut risque géopolitique et faisant l'objet de phénomène de rareté
Élément stratégique	Élément indispensable à la politique économique, énergétique et à la défense d'un Etat
Granulochimie	Analyse des compositions élémentaires des différentes fractions granulométriques qui constituent un échantillon

Granulométrie	Mesure de la forme, de la dimension et de la répartition en différentes classes de grains
Hétérotrophe	Utilisant uniquement du carbone organique comme source de carbone
Jarosite	Précipité de Fe^{3+} ($\text{AFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$ avec A^+ un cation monovalent)
Mésophile	Se dit d'un micro-organisme qui se développe dans des conditions de température modérée
Minerai réfractaire	Minerai qui a une forte résistance aux facteurs susceptibles de le dégrader
Minéralisation	Dissolution par attaque avec différents réactifs chimiques
Mixotrophe	Utilisant du carbone organique et inorganique comme source de carbone
Passivation	Phénomène de création d'une couche protectrice (film passif) à la surface d'un matériau, qui limite sa corrosion
Planctonique	Libre dans la phase liquide, non attachée
Quartage	Opération qui consiste à échantillonner un matériau en le fractionnant en sous-échantillons homogènes et représentatifs
Repiquage	Prélèvement d'une partie d'une culture pour l'implanter dans un milieu neuf où elle continue à croître
Thermophile	Se dit d'un micro-organisme qui se développe dans des conditions de température élevée (60 °C au moins)
Trémie	Entonnoir en forme de pyramide renversée qui permet de déverser une substance à traiter

Introduction générale

Au vu de la croissance de la demande mondiale en métaux, leur extraction à partir des matières premières primaires et secondaires est devenue un véritable défi. Ainsi, l'appauvrissement des minerais stimule la recherche de technologies d'extraction et de séparation plus performantes tandis que les pressions économique et environnementale poussent au développement de procédés moins coûteux, moins énergivores et davantage respectueux de l'environnement. Par ailleurs, la sécurisation des ressources et la prise de conscience que l'impact environnemental de l'activité humaine doit être réduit favorisent l'économie circulaire et, plus précisément, l'exploitation des ressources secondaires.

Ainsi, les cartes électroniques, qui concentrent la plupart des métaux non ferreux contenus dans les Déchets d'Équipements Électriques et Électroniques (DEEE), représentent une ressource non négligeable. Cependant, la valorisation de ces déchets est aujourd'hui limitée, notamment pour les raisons suivantes :

- La collecte des équipements usagés pour leur recyclage n'est pas suffisamment efficace puisque moins de 50% des équipements en fin de vie sont récupérés en France par des organismes agréés en 2016,
- Seule la pyrométallurgie est actuellement utilisée à l'échelle industrielle pour recycler les cartes électroniques alors que cette technologie consomme beaucoup d'énergie et ne permet pas de récupérer la totalité des métaux (une partie est perdue dans les scories).

Pour améliorer le bilan économique et environnemental du procédé actuel, d'autres techniques doivent être développées. Elles peuvent reposer sur les méthodes de séparation physiques, sur l'hydrométallurgie ou sur une combinaison de ces méthodes. Les procédés doivent être flexibles, peu coûteux en énergie et sélectifs vis-à-vis des métaux d'intérêt. La mise en solution des métaux à valoriser est la première étape d'un procédé hydrométallurgique quelle que soit la nature de la ressource à exploiter. Elle peut se faire à l'aide de réactifs chimiques ou bien à l'aide de micro-organismes. Dans le premier cas, on parle de procédés de lixiviation et dans le second cas, de procédés de biolixiviation. La biolixiviation est actuellement utilisée à l'échelle industrielle pour la récupération du cuivre, du nickel ou de l'or dans différents minerais sulfurés. Cette technologie représente une alternative intéressante tant d'un point de vue économique qu'environnemental. Depuis quelques années, elle est donc étudiée à l'échelle du laboratoire pour le traitement des batteries et de cendres d'incinération, mais aussi appliquée à l'échelle industrielle pour le traitement de boues industrielles.

Notre étude vise à la conception d'un procédé de biolixiviation pour la valorisation des métaux contenus dans les déchets de cartes électroniques. Les objectifs sont les suivants :

1. La mise au point d'un protocole de broyage, d'échantillonnage et de caractérisation robuste pour les cartes électroniques usagées utilisées au cours des essais de biolixiviation ;
2. La conception d'un dispositif expérimental permettant d'étudier la biolixiviation des cartes électroniques avec les objectifs suivants :
 - a. L'identification et l'étude des mécanismes contrôlant la cinétique de mise en solution des métaux lors de la biolixiviation des déchets de cartes électroniques ;
 - b. La détermination des conditions physico-chimiques et biologiques optimales permettant d'atteindre des taux de mise en solution et des cinétiques maximales ;
 - c. L'étude de la capacité d'adaptation des bactéries acidophiles vis-à-vis de la composition des solutions de lixiviation et des teneurs en métaux pour améliorer l'efficacité du traitement.

Les études sur la biolixiviation de déchets de cartes électroniques ont débuté dans les années 2000, lorsque la production de ces déchets a commencé à s'intensifier. Les premiers travaux ont permis de mettre en avant des taux élevés de mise en solution pour des métaux tels que le

civre. Ils ont également démontré que certains éléments chimiques présents dans ces cartes ont une incidence sur l'activité et la croissance de la culture. Cependant, les paramètres opératoires des différentes études sont trop variables pour pouvoir en déduire les conditions optimales de biolixiviation. Dans ce travail de thèse, nous nous sommes donc efforcés de mener une étude rigoureuse des paramètres influençant la biolixiviation des cartes électroniques usagées.

La première étape de notre travail a consisté en la constitution d'échantillons reproductibles à partir de cartes électroniques usagées provenant de déchets réels (en opposition aux déchets « modèles » qui pourraient être reconstitués), puis en la caractérisation rigoureuse de leur composition en métaux.

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés aux cinétiques de biolixiviation des déchets de cartes électroniques broyés. Un réacteur à double étage, impliquant une étape de production d'une solution lixiviante biogénique suivie d'une étape de biolixiviation des cartes électroniques broyées, a été conçu pour réduire l'effet de la toxicité des déchets sur les bactéries. Le premier étage repose sur la bio-oxydation d'une solution de Fe(II) par la culture acidophile. Différentes configurations de réacteurs ont été étudiées : réacteur agité mécaniquement en batch et en fed-batch, puis colonne à bulles en continu. C'est finalement ce design de réacteur qui a été retenu. Cette partie a permis de mieux cerner les effets de la concentration initiale en Fe(II), de la composition du milieu nutritif ou encore du type et de la quantité de support solide sur la cinétique de bio-oxydation par le consortium bactérien. Une fois que la culture bactérienne a été établie dans le premier étage, les cinétiques de biolixiviation des cartes électroniques ont été déterminées en batch et en continu dans un réacteur agité mécaniquement. Nous nous sommes intéressés à un large éventail d'espèces métalliques considérées comme d'intérêt d'un point de vue économique et/ou critique. Les mécanismes contrôlant la cinétique de mise en solution ont été étudiés, tout comme l'adaptation des bactéries aux échantillons de cartes électroniques à différentes concentrations en solide. Ce travail est novateur puisqu'il n'y a, à notre connaissance, aucun autre résultat publié sur l'étude en continu de la biolixiviation de cartes électroniques.

Ce manuscrit est divisé en quatre chapitres. Tout d'abord, le premier chapitre présente le contexte actuel dans lequel s'inscrit ce travail en faisant un état des lieux sur les besoins croissants en métaux, sur la production des Déchets d'Équipements Électriques et Électroniques et sur les principales voies de recyclage existantes. Le deuxième chapitre expose ensuite l'état de l'art sur la biolixiviation des cartes électroniques. Ce chapitre reprend les mécanismes connus de la biolixiviation acidophile et de la bio-oxydation du Fe(II) et les principaux résultats obtenus à ce jour sur la biolixiviation des cartes. Celui-ci introduit également le concept expérimental qui a été utilisé dans notre étude. Le troisième chapitre décrit le matériel et les méthodes qui ont été utilisés pour réaliser ces travaux. Enfin, le dernier chapitre présente les résultats obtenus au cours des différentes étapes de ce travail de thèse (production et caractérisation des échantillons ; bio-oxydation du Fe(II) ; biolixiviation des cartes électroniques). En conclusion, les perspectives à l'issue de ce travail sont évoquées.

Cette étude a été financée par la Chaire Mines Urbaines de la Fondation ParisTech, soutenue par ESR. Elle a été menée en partenariat entre l'Institut de Recherche de Chimie ParisTech, le BRGM (Bureau de Recherches Géologiques et Minières) et le laboratoire GéoRessources de l'Université de Lorraine.

Chapitre I – Contexte

1. Les Déchets d'Équipements Électriques et Électroniques (DEEE) comme ressource secondaire valorisable

1.1. Intérêt de la valorisation des déchets

1.1.1. Demande croissante en métaux

Depuis les années 1970, nous assistons à une transition économique et sociétale majeure avec l'émergence des technologies de l'information et de la communication « numériques », de la mobilité « durable », des énergies « alternatives », *etc.* Cette transformation contribue à un accroissement de la consommation en métaux à l'échelle mondiale. On estime ainsi que si les pays émergents adoptaient des technologies et des modes de vies similaires à ceux des pays de l'Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE), la demande mondiale en métaux serait 3 à 9 fois plus importante que la quantité de métaux actuellement utilisée (UNEP, 2013). Le taux de croissance n'est évidemment pas équivalent selon le métal. Par exemple, la croissance de la demande en terres rares, nickel, cobalt et lithium est aujourd'hui rapide et continue (UNEP, 2013). À l'inverse, la croissance de la demande en cuivre et zinc reste stable depuis quelques décennies (site mineralinfo, 2017).

La Commission Européenne met régulièrement à jour une liste de matières premières critiques (Commission Européenne, 2017). Cette définition repose sur deux principes : leur importance pour l'économie de l'Union Européenne et les risques liés à leur approvisionnement (dépendance à l'importation, accords commerciaux défavorables, peu de substitution possible...). La prise en compte de l'approvisionnement dans cette définition des métaux critiques marque la différence avec les métaux stratégiques, qui sont définis ainsi : métaux indispensables à la politique économique, énergétique et à la défense d'un Etat (site mineralinfo, 2017). En 2017, 27 matières premières sur 61 ont été classées comme critiques parmi celles examinées. Celles-ci sont rapportées dans le Tableau 1.

Tableau 1: Matières premières classées comme critiques par l'Union Européenne (Commission Européenne, 2017).

Antimoine	Cobalt	Indium	Silicium
Baryte	Fluorine	Magnésium	Tantale
Béryllium	Gallium	Niobium	Terres rares légères
Bismuth	Germanium	Phosphate naturel	Terres rares lourdes
Borate	Graphite naturel	Phosphore	Tungstène
Caoutchouc	Hafnium	Platinoïdes	Vanadium
Charbon à coke	Hélium	Scandium	

Dans ce contexte, il est nécessaire d'augmenter la production de certaines de ces matières premières en se basant à la fois sur les ressources primaires et secondaires. La sécurisation des approvisionnements est également un enjeu majeur : la proximité géographique entre la production des métaux et leurs secteurs d'utilisation est nécessaire pour limiter la criticité des métaux ; le recyclage permet généralement cette proximité.

1.1.2. Déplétion des ressources

Les problématiques associées à la croissance de la demande en métaux sont aujourd'hui largement accentuées par les phénomènes de déclin de la qualité des minerais, appelé également déplétion des ressources. Par exemple, l'évolution de la concentration en or au cours du temps dans les minerais issus de différents pays est représentée sur la Figure 1 (UNEP, 2013). Il faut ainsi extraire aujourd'hui plus de minerais qu'il y a un siècle pour récupérer la même quantité de métal. Bien que les procédés d'extraction soient moins énergivores et que la demande en énergie par tonne de matières premières extraites ait baissé ces dernières années, la demande croissante en matières premières a pour conséquence une augmentation des besoins en énergie pour les produire. Cette production intensive de matières premières peut également générer davantage de pollution et nécessite une gestion raisonnée de l'eau dans les procédés d'extraction.

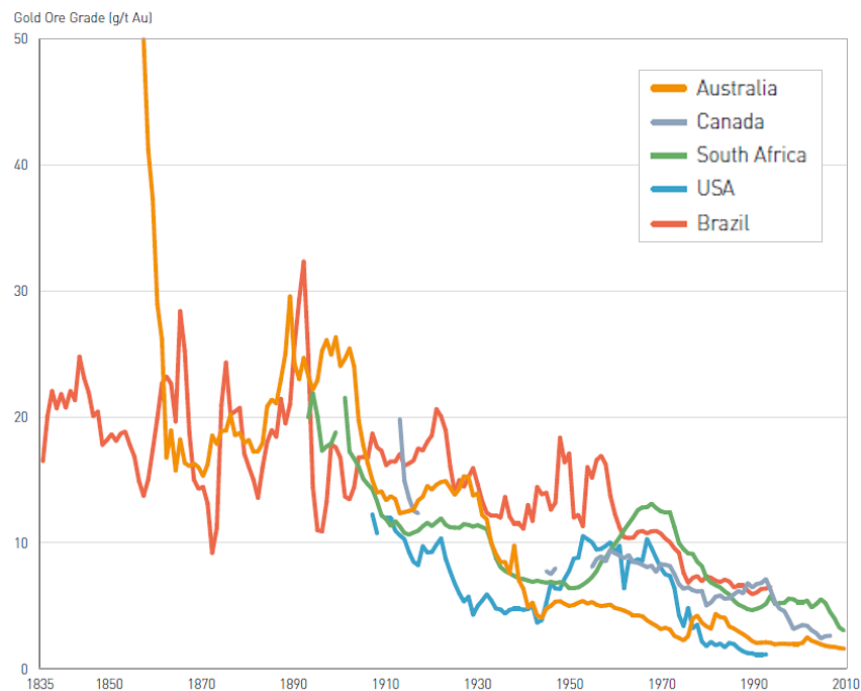


Figure 1: Concentration en or dans les minerais localisés en Australie, au Canada, en Afrique du Sud, aux Etats-Unis et au Brésil depuis 1835 (UNEP, 2013).

Dans ce contexte, le recyclage des métaux pourrait être un moyen de réduire l'impact environnemental de leur production tout en sécurisant une partie de nos ressources. Par exemple, nos déchets de la « mine urbaine » (Déchets d'Équipements Électriques et Électroniques, voitures en fin de vie, batteries...) apparaissent comme une ressource majeure en métaux à condition de développer des procédés de recyclage performants, économiquement viables et respectueux de l'environnement. En effet, les DEEE, définis comme des déchets d'équipements qui fonctionnent par passage d'un courant électrique ou en présence d'un champ électromagnétique, sont généralement riches en métaux (Figure 2 ; UNEP, 2013) : une large partie de la matière correspond à la ferraille et aux aciers ; une quantité importante de cuivre (sous forme de câbles) et d'aluminium est également présente ; enfin, des métaux non ferreux à forte valeur ajoutée, comme le cobalt et nickel, se trouvent en quantités non négligeables dans les cartes électroniques des DEEE.

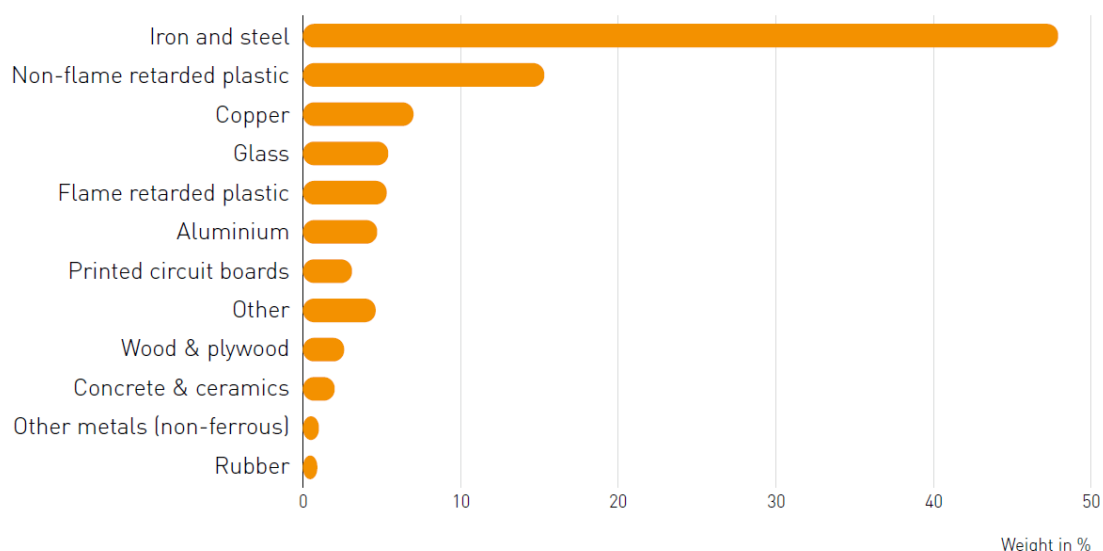


Figure 2: Composition typique des DEEE en 2009 (UNEP, 2013).

1.1.3. Gestion actuelle des DEEE et taux de recyclage

La production mondiale de DEEE a été estimée pour l'année 2016 à 65,4 millions de tonnes (Wang et al., 2017). La gestion de ces produits en fin de vie comporte trois objectifs : (i) la réduction des quantités de déchets en modifiant nos modes de consommation et en travaillant sur la réparation des DEEE ; (ii) la réutilisation d'une partie des composants pour les insérer dans de nouveaux objets ; (iii) le recyclage des matières premières. Pour cette dernière voie, la collecte efficace des déchets ainsi que le développement de nouveaux procédés de recyclage doivent être établis.

Les taux de collecte des DEEE sont très variables selon les pays. Au sein de l'Union Européenne, de fortes variations sont observées : 15% des DEEE sont collectés en Roumanie, alors que la collecte atteint 88% en Suède (Huisman et al., 2017). En France, elle était estimée à 45,2% en 2016, ce qui correspond à la moyenne européenne (Deloitte Développement Durable et Ademe, 2017). De nombreuses réglementations ont vu le jour, comme la directive 2012/19/EU qui fixe un objectif à atteindre en 2020 de 85% de collecte des DEEE séparément des déchets ménagers (Union Européenne, 2012). La mise en place de filières de « Responsabilité Élargie du Producteur » (REP) en France a fortement participé à une amélioration de la collecte (Deloitte Développement Durable et Ademe, 2017). Ainsi, 4,22 millions de tonnes de DEEE ont été collectées entre 2006 et 2016 dont 0,73 millions de tonnes pour la seule année 2016. Les politiques locales et globales ont également un rôle à jouer dans l'incitation au recyclage. En Union Européenne, une partie des DEEE qui ne sont pas collectés serait mélangée aux déchets ménagers, qui sont pour la plupart incinérés ou enfouis. Dans les pays en développement, on estime qu'environ 40% des DEEE sont également enfouis (İşildar et al., 2017).

Lorsque les DEEE sont collectés, ceux-ci subissent différents traitements. L'Ademe, l'agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie, estime qu'en France, 99% des DEEE collectés sont traités, ce qui permet un recyclage à 80% (en masse). Le reste est éliminé (10%) ou valorisé énergétiquement (Deloitte Développement Durable et Ademe, 2017). Ces taux de traitements ne seraient pas aussi élevés dans tous les pays : Ohajinwa et al. (2018) estiment qu'entre 16 et 38% des DEEE collectés en Europe et 80% de ceux collectés aux Etats-Unis seraient envoyés dans des pays en voie de développement. L'impact environnemental de ces exportations de DEEE serait élevé, car les filières de recyclage dans ces pays sont moins développées (Ohajinwa et al., 2018).

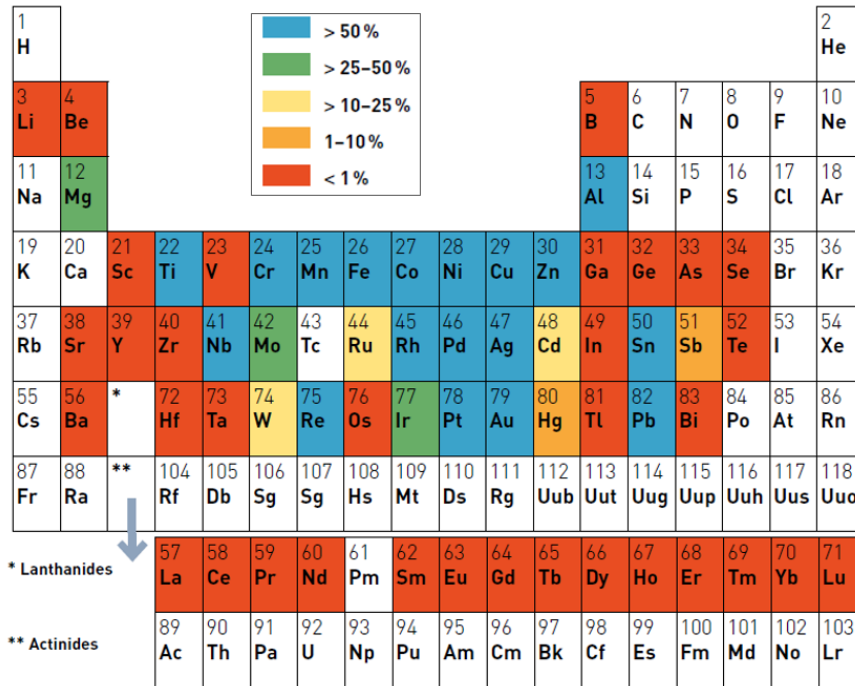


Figure 3: Tableau périodique présentant les taux de recyclage fonctionnels moyens de déchets post-consommation pour 60 métaux au niveau mondial (UNEP, 2011).

Les pertes de matière lors de la collecte et du recyclage diminuent fortement les taux de recyclage. Les taux de recyclage fonctionnels moyens en 2011 pour 60 éléments à l'échelle mondiale sont présentés sur la Figure 3 (UNEP, 2011). Le recyclage fonctionnel correspond au recyclage durant lequel les propriétés physiques et chimiques qui rendaient le matériau intéressant lors de son premier usage sont conservées pour une utilisation ultérieure. Ils sont inférieurs à 1% pour une grande partie des métaux et métalloïdes (lanthanides, Ga, Ge, In, Sc, V, Li, *etc.*). Ils sont supérieurs à 50% pour les métaux de base (Cu, Ni, Zn, Al) car, sur la globalité des déchets post-consommation, certains produits sont très bien recyclés (ferraille, fils de cuivre, ...). Cependant, sur d'autres produits, des études sont encore à mener pour atteindre des taux de recyclage supérieurs.

1.2. Cas des cartes électroniques

1.2.1. Composition des cartes électroniques

Comme tous nos déchets de la « mine urbaine », les DEEE sont très complexes et variés : leur composition varie selon le type de déchets étudié et l'année de production. Malgré cela, la majeure partie des métaux non-ferreux des DEEE provient des cartes électroniques, qui sont les éléments permettant d'assurer les connexions électriques entre les composants électroniques tout en leur servant de support (Tuncuk et al., 2012). Par la suite, les deux termes « cartes électroniques » et « circuits imprimés » seront utilisés sans distinction pour désigner ces objets.

Les déchets de cartes électroniques représentent environ 3% des DEEE générés chaque année dans le monde (Ghosh et al., 2015). La croissance annuelle de cette production est importante puisqu'elle est estimée à 3%, voire 5% par an (Canal Marques et al., 2013).

Ces cartes électroniques sont constituées d'un support non conducteur, d'un substrat conducteur et de composants électroniques. Le substrat conducteur, une fine couche de cuivre, peut se trouver sur une face, les deux faces ou à l'intérieur du support qui est majoritairement constitué par un polymère renforcé par des fibres de verre ou des céramiques. Les résines utilisées sont

variées : résines phénoliques pour les cartes simples, résines cyanate et époxy pour les cartes multicouches, avec retardateurs de flamme et durcisseurs. Les céramiques et fibres silicatées sont, elles aussi, variées : alumines, alcalins, alcalino-terreux et autres oxydes (comme BaTiO₃ ou BeO) sont présents (Ghosh et al., 2015). Les composants électroniques changent selon l'utilité de l'objet : il peut y avoir des composants d'alimentation électrique (transformateur, capteur, condensateur), des filtres (passe haut, passe bas...), mais aussi des transistors, des amplificateurs opérationnels, des résistances, des diodes, des bobines, *etc.* Différentes techniques permettent de fixer ces composants sur la carte (Canal Marques et al., 2013).

De par leurs compositions, les cartes électroniques sont parmi les constituants des DEEE ayant le plus de valeur et le plus d'impact sur notre environnement (Ning et al., 2017). Il existe dans la littérature une grande disparité concernant la composition élémentaire des circuits imprimés (nature des éléments chimiques et concentrations) car celle-ci dépend de leur date de fabrication, de leur provenance et des équipements électriques et électroniques desquels ils proviennent. De manière générale, il y a environ 30% de plastiques, 30% de céramiques et verres et 40% de métaux (Sum, 1991). Le Tableau 2 rassemble des compositions en métaux typiques dans les cartes électroniques (Bizzo et al., 2014 ; UNEP, 2013 ; UNU, 2008).

Tableau 2: Composition en métaux typique dans les cartes électroniques.

	UNEP, 2013	Bizzo et al., 2014	UNU, 2008	
Concentrations en métaux de base (en % massique)	Cu	20,00%	14,20%	11,00%
	Fe	10,00%	3,08%	12,00%
	Al	5,70%	-	8,60%
	Zn	0,70%	0,18%	1,40%
	Sn	2,10%	4,79%	2,70%
	Pb	1,50%	2,50%	3%
Concentrations en métaux précieux (en mg.kg⁻¹)	Ag	2500	317	220
	Au	400	142	20
	Pd	600	-	12
	Pt	22	-	-
Concentrations d'autres métaux (en mg.kg⁻¹)	Cr	1400	-	210
	Sb	3000	500	600
	Ni	7000	4100	1100
	Co	60	-	-
	Mn	5500	81	-
	Mo	280	-	-
	Mg	2800	-	-
Ta	180	-	-	

1.2.2. Défis pour la valorisation des cartes électroniques

Les concentrations en métaux dans les cartes électroniques sont généralement plus élevées que celles des gisements primaires de matières premières, ce qui en fait une ressource intéressante à valoriser. En effet, les cartes peuvent contenir 20 à 40 fois plus de cuivre et 20 à 250 fois plus d'or que les minerais (Tuncuk et al., 2012). Par ailleurs, de nombreux métaux ou métalloïdes contenus dans les circuits imprimés, tels que l'antimoine, le tungstène, le cobalt, le germanium, le gallium, l'indium ou encore le tantale, sont classés comme substances critiques par l'Union Européenne.

Cependant, la valorisation des déchets de circuits imprimés fait face à plusieurs difficultés :

- la diversité de ces déchets, en termes de taille, forme, constituants et composition, comme expliqué précédemment ;
- la présence d'environ 50 éléments différents, ce qui implique des difficultés lors de la purification des métaux par comparaison avec les concentrés de minerais primaires, qui contiennent souvent moins de 20 éléments dans des proportions habituellement plus faibles (UNEP, 2013) ;
- la forte imbrication de ces différents éléments, sous forme d'alliage par exemple ; ceci permet notamment d'obtenir des propriétés physico-chimiques particulièrement utiles dans les nouvelles technologies ;
- leur dispersion à travers les déchets.

La valeur économique actuelle des cartes électroniques repose majoritairement sur leurs contenus en métaux précieux. Ceux-ci participent à 70% voire 90% de la valeur des circuits imprimés, bien que leurs concentrations soient inférieures à 1% en poids (Cui et Zhang, 2008 ; Goosey et Kellner, 2003 ; Park et Fray, 2009). Ainsi, les cartes électroniques sont classées en catégories selon leur teneur en or (Tableau 3).

Tableau 3: Classification des cartes électroniques et valeur marchande estimée en 2012 (Hagelüken, 2006; UNEP, 2013).

Pureté	Teneur en or	Valeur estimée à la pièce en 2012
Haut	> 200 ppm	4,03 €
Moyen	> 100 ppm	-
Bas	< 100 ppm	1,39 €

2. Les voies de recyclage des circuits imprimés

Au vu des intérêts à recycler les DEEE, de nombreuses recherches ont été menées dans le domaine ces dernières années. Chagnes et al. (2016) présentent les principales techniques qui ont été mises au point. Les cartes électroniques sont récupérées de manière relativement aisée à partir des DEEE : les progrès sur l'étape de démantèlement ont essentiellement eu lieu dans les années 1990 et les méthodes sont aujourd'hui développées à l'échelle industrielle (Goosey et Kellner, 2003). Ce paragraphe va se focaliser sur les principales voies de recyclage des éléments métalliques contenus dans les déchets de circuits imprimés.

2.1. Généralités

Il existe deux voies principales pour valoriser les matériaux métalliques issus aussi bien d'une ressource primaire que secondaire. Celles-ci sont reprises dans la Figure 4. Il s'agit de la voie pyrométallurgique, reposant sur des traitements thermiques, et de la voie hydrométallurgique, reposant sur une étape de solubilisation du métal. Une combinaison de ces méthodes est souvent utilisée. Ces étapes peuvent être précédées par des traitements mécaniques pour permettre de concentrer les éléments à valoriser dans une fraction particulière.

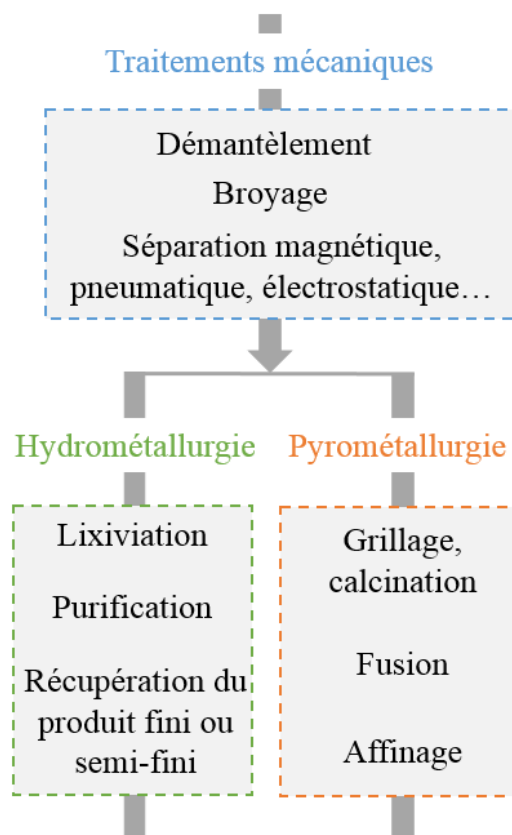


Figure 4: Voies classiques de métallurgie extractive.

De nombreuses recherches ont actuellement lieu. Elles s'intéressent parfois à l'intégralité de la chaîne de recyclage, ou, le plus souvent, à une étape spécifique de cette chaîne. Ce paragraphe ne se veut pas exhaustif de toutes les techniques existantes, seules celles qui sont les plus couramment utilisées sont présentées.

2.2. Traitements mécaniques

Comme évoqué précédemment, il est parfois nécessaire de préparer la matière, en séparant la partie valorisable du reste du gisement. Les traitements mécaniques peuvent avoir deux objectifs : rendre accessibles les éléments à valoriser en fragmentant le matériau de départ et séparer les fractions d'intérêts de la partie non-valorisable du matériau. Les traitements mécaniques peuvent aussi constituer une méthode de recyclage en tant que telle, ou peuvent permettre de séparer les composants électroniques du reste de la carte (Ghosh et al., 2015 ; Goosey et Kellner, 2003 ; Yokoyama et Iji, 1997).

2.2.1. Libération des éléments par déchiquetage et broyage

Dans la minéralurgie appliquée aux ressources primaires, la fragmentation du matériau correspond au concassage et broyage des minerais. Le but est d'obtenir l'accessibilité des éléments recherchés, c'est-à-dire que chaque particule ne soit constituée idéalement que d'une seule espèce minérale. Dans le cadre des circuits imprimés, cela consiste à récupérer le circuit imprimé du DEEE, puis à le déchiqueter et le broyer pour séparer les différents constituants.

Pour le déchiquetage (qui correspond à une réduction granulométrique supérieure à 1 cm environ) et le broyage (inférieure à 1 cm) des circuits imprimés, les outils couramment utilisés sont du type déchiqueteuse à découpe rotative, déchiqueteuse à lames en inox, broyeur rotatif, broyeur à marteau, *etc.* Ces outils reposent essentiellement sur un cisaillement du matériau, plus efficace qu'un écrasement ou qu'un impact (Wang et al., 2005).

La taille de particule à atteindre dépend du procédé aval : le diamètre moyen désiré est généralement de 1 ou 2 cm dans les procédés industriels utilisant la voie pyrométallurgique (Yuan et al., 2007). A l'inverse, il atteint 100 – 300 μm pour une récupération du cuivre à 97% par traitement mécanique seul (Li et al., 2004). Pour la voie hydrométallurgique, une large gamme de tailles de particules allant de 40 μm à 6 cm est étudiée (Adhapure et al., 2014 ; Hong et Valix, 2014). Il est nécessaire de trouver la taille optimale qui permettra de ne pas dépenser trop d'énergie tout en favorisant l'accessibilité des éléments à recycler.

Le broyage présente quelques inconvénients : il provoque des pertes de matière à hauteur de 25% et la perte de certains éléments volatils à cause de la chaleur générée (Yamane et al., 2011). Par ailleurs, il est difficile à réaliser et impose souvent le retrait de composants impossibles à broyer (Wang et al., 2005).

2.2.2. Séparations variées

La séparation différencie les éléments à valoriser des éléments dits « stériles » afin de produire un concentré qui peut être plus facilement traité et qui peut réduire les coûts des opérations en aval. Ces traitements reposent sur différentes propriétés physico-chimiques des matériaux. Plusieurs méthodes peuvent être appliquées : la séparation granulométrique (différenciation des particules selon leurs tailles), la séparation densimétrique (selon la densité), la séparation magnétique, la flottation (différenciation selon l'hydrophobie de chaque particule), le tri optique (utilisation de caméra optique pour différencier selon la couleur, *etc.*).

Dans le cadre des cartes électroniques, la séparation va avoir pour but de différencier les métaux ferreux, les métaux non ferreux et la fraction non métallique. L'intérêt de ces séparations est de limiter les risques environnementaux potentiels lors de l'enfouissement de la fraction non métallique. De nouvelles techniques ont été développées pour valoriser cette fraction, notamment en triant les plastiques pour les utiliser dans d'autres applications ou en l'utilisant pour la solidification des bétons (Goosey et Kellner, 2003 ; Ning et al., 2017). Les autres fractions récupérées, contenant les métaux, seront traitées en métallurgie. Les méthodes de tri physique ont été largement étudiées et le Tableau 4 présente quelques études.

Tableau 4: Études portant sur les techniques de séparation physique appliquées aux cartes électroniques.

Type de séparation	Commentaires	Études
Granulométrie	Majorité de métaux précieux dans les particules fines (<75 µm)	Ogunniyi et al., 2009
Densimétrie	Méthode simple et peu consommatrice d'énergie mais puretés peu élevées et pertes	Sarvar et al., 2015 Eswaraiah et al., 2008
Magnétique	Retrait des métaux ferreux (83% du fer à 700 Gauss par exemple)	Yoo et al., 2009 Veit et al., 2005
Courants de Foucault	Technologie mature, séparation de 90% d'Al mais implique une perte des précieux	Li et al., 2004 Zhang et al., 1998
Electrostatique	Séparation des métaux des autres matériaux	Ning et al., 2017

De manière générale, ces techniques présentent des inconvénients liés à la consommation énergétique mise en jeu, à la génération de fluides contaminés lors d'utilisation de procédés humides et à la génération de poussières lors d'utilisation de procédés secs. Par ailleurs, la perte de métaux peut varier entre 10 et 35% (Tuncuk et al., 2012).

2.3. Pyrométallurgie

Les traitements pyrométallurgiques utilisent l'énergie thermique pour récupérer des éléments dans des minerais ou des déchets. Ces méthodes reposent sur plusieurs techniques : la pyrolyse, l'incinération, la fusion, qui peuvent elles-mêmes reposer sur plusieurs opérations de séparation de phases : la calcination, le grillage, la fusion, *etc.* Actuellement, la pyrométallurgie est le traitement privilégié pour la valorisation des cartes électroniques.

2.3.1. Valorisation actuelle des cartes électroniques par pyrométallurgie

Le procédé utilisé est un traitement par fusion, associant des minerais primaires et des cartes électroniques (Cui et Zhang, 2008). Le procédé de Knudsen, pour la récupération du cuivre, est à la base du traitement et est actuellement mis en œuvre sur quelques sites dans le monde (Tableau 5, liste non exhaustive).

Tableau 5: Usines de traitements pyrométallurgiques dans le monde et leurs capacités (Cui et Zhang, 2008 ; Aurubis, 2013).

Entreprises	Localisation	Quantités de cartes électroniques traitées	% massique de déchets dans la charge entrante
Noranda	Québec, Canada	100 000 t / an	14%
Boliden Ltd	Rönnskår, Suède	> 100 000 t / an	-
Umicore	Hoboken, Belgique	2 500 000 t / an de déchets en général	10%
Aurubis A.G.	Lünen, Germany	650 000 t / an de déchets en général	-

Quatre étapes principales ont lieu : grillage, pour éliminer certains éléments indésirables comme les plastiques ; fusion, pour atteindre l'état liquide des éléments à récupérer (température d'environ 1200 °C) ; transformation de la matte, obtenue dans l'étape précédente,

en cuivre métallique par oxydation des éléments sulfurés restants dans un convertisseur ; raffinage pour purifier les différents éléments. D'autres étapes peuvent s'ajouter en fonction des métaux ciblés.

2.3.2. Principaux avantages et inconvénients

Selon Goosey et Kellner (2003), les opérations commerciales de pyrométallurgie récupèrent entre 92 et 98% des métaux précieux contenus dans les déchets traités. Par ailleurs, les coûts opératoires peuvent être réduits en utilisant les plastiques comme agents réducteurs en substitut du coke, ainsi que comme source d'énergie (Hagelüken, 2006). Enfin, les cartes électroniques n'ont pas besoin de subir de lourds traitements mécaniques en amont pour rendre accessibles les métaux.

Cependant de nombreux inconvénients sont associés à ces traitements pyrométallurgiques (Cui et Zhang, 2008 ; Hagelüken, 2006 ; Li et al., 2004):

- Les circuits imprimés ne peuvent représenter que 10 à 15% environ de la charge entrante, comme le montre le Tableau 5, afin d'éviter le dégagement de gaz toxiques résultant de la décomposition thermique des composés organiques. Par conséquent, au vu des capacités des unités de traitement actuellement en activité, seule une faible partie des cartes électroniques peut être traitée. Il s'agit uniquement des cartes riches.
- La demande en énergie est importante ;
- L'aluminium et le fer, tout comme certains métaux stratégiques, sont perdus dans les scories ;
- Les plastiques ne peuvent pas être recyclés sous forme de matériaux ;
- Des gaz et poussières toxiques sont générés et engendrent des coûts supplémentaires.

2.3.3. Développements actuels en pyrométallurgie

Les traitements par fusion ne sont pas les seuls traitements pyrométallurgiques utilisés. Diverses techniques de pyrolyse sont développées pour le prétraitement des déchets en amont des procédés hydrométallurgiques (Bidini et al., 2015; Hall et Williams, 2007; Kumari et al., 2016; Wang et al., 2017). La pyrolyse permet notamment de décomposer la partie organique en produits liquides ou gazeux, réutilisables en tant que combustibles. Cela permet de limiter la quantité de plastiques présents et de rendre accessibles les métaux pour pouvoir ensuite les solubiliser. Une autre variante de ce prétraitement est l'incinération qui dégrade les matières organiques en CO₂ et H₂O et libère les métaux sous forme d'oxydes (Li et al., 2004).

L'utilisation de traitement par plasmas est en cours de développement. La matière organique est décomposée sous forme de gaz et les verres en fusion deviennent vitreux. Il est alors aisé de séparer les métaux du reste. Le coût énergétique de cette technique limite son utilisation aux cartes enrichies en métaux précieux (Cui et Zhang, 2008; Wang et al., 2017). L'utilisation de sels fondus, tels que KOH-NaOH ou LiCl-KCl permet également de séparer les produits métalliques du reste de la matrice qui est fondue, en évitant l'oxydation des métaux d'intérêt (Flandinet et al., 2012; Wang et al., 2017). Une quantité importante d'H₂ peut être récupérée. Enfin, de nouvelles méthodes de métallurgie sous vide sont également en cours de développement (Zhang et Xu, 2016 ; Zhou et al., 2011).

2.4. Hydrométallurgie

Outre les traitements thermiques, d'autres techniques ciblent la récupération des métaux en passant par une étape de dissolution de la matrice solide ou du métal. Ainsi, le traitement des déchets est réalisé en plusieurs étapes : dissolution partielle ou complète des matériaux en solution aqueuse, généralement suivie par une séquence de purification et de récupération du produit fini ou semi-fini.

2.4.1. Dissolution de la matrice et récupération des métaux sous forme solide

Dans le cas des circuits imprimés, cette technique doit permettre l'élimination des résines plastiques et/ou des céramiques et fibres de verre. Des solvants organiques tels que le diméthylsulfoxyde (DMSO, Zhu et al., 2013), des liquides ioniques (Zhu et al., 2012) et des fluides supercritiques (Ghosh et al., 2015 ; Xiu et al., 2013) peuvent être utilisés. Ces méthodes ont été récemment développées. Elles semblent donner de bons résultats et ne nécessitent pas toujours de prétraitements mécaniques mais ces solutions sont coûteuses et peuvent s'accompagner de rejets toxiques. Leur mise en œuvre actuelle en est au stade du laboratoire.

2.4.2. Dissolution des métaux et récupération de produits finis

Cette technique a été plus largement étudiée pour la récupération des métaux d'intérêt des cartes électroniques. Elle nécessite des prétraitements mécaniques pour rendre accessibles les métaux. Elle repose sur la lixiviation par réaction acide-base, par réaction d'oxydo-réduction ou par réaction d'oxydo-réduction couplée à des réactions de complexation ainsi que sur des étapes de purification plus ou moins complexes pour que le produit, ensuite mis en forme dans une dernière étape, trouve sa place dans un marché spécifique.

2.4.2.1. La lixiviation

La lixiviation de cartes électroniques a été largement étudiée depuis plusieurs années, dans le but de récupérer les métaux (Goosey et Kellner, 2003). Divers milieux de lixiviation ont été étudiés comme l'acide nitrique, l'acide chlorhydrique, la thiourée, le cyanure, *etc.* (Cui et Zhang, 2008; Tuncuk et al., 2012). C'est une étape clé pour les procédés hydrométallurgiques : elle doit être rapide, idéalement sélective pour minimiser les étapes de purification en aval et minimiser la consommation de réactifs, agressive vis-à-vis du matériau à lixivier sans être trop corrosive pour les équipements et générer un minimum d'effluents liquide, solide ou gazeux. Toutes ces conditions doivent permettre d'intégrer aisément l'opération de lixiviation dans le procédé hydrométallurgique global de façon efficace et à moindre coût. Les opérations de lixiviation douces doivent être favorisées par rapport à des procédés de lixiviation sous haute température et haute pression en autoclave qui sont coûteuses en énergie et en maintenance.

La biolixiviation, c'est-à-dire la lixiviation assistée par des micro-organismes, est une alternative crédible à la lixiviation chimique aussi bien pour le traitement des ressources primaires que pour les ressources secondaires. De nombreuses études portant sur la biolixiviation de cartes électroniques ont été publiées ces dernières années. Les principaux résultats sont présentés dans le Chapitre II.

2.4.2.2. Extraction sélective des espèces métalliques contenues dans les lixiviats

Après la mise en solution des espèces métalliques contenues dans les minerais ou les déchets, il est souvent nécessaire de réaliser une étape de filtration afin d'éliminer la partie réfractaire qui ne s'est pas solubilisée. Le solide est un résidu qui peut être à son tour valorisé dans d'autres applications ou stocké comme déchet ultime. La solution contenant les métaux doit ensuite subir une étape de purification qui consiste à extraire sélectivement les métaux d'intérêt. Cette étape de purification fait intervenir différentes technologies telles que l'extraction liquide-

liquide, l'extraction solide-liquide (avec des résines échangeuses d'ions ou des matériaux inorganiques à haute surface spécifique), ou encore des étapes de précipitations sélectives. Le flux en sortie de l'étape de purification subit alors d'autres étapes pour produire un produit semi-fini ou fini sous forme de sel (cristallisation ou précipitation) ou de métal (électrolyse).

L'extraction du cuivre, du cobalt, du nickel et du zinc contenus dans une solution de lixiviation préparée à partir de circuits imprimés peut atteindre jusqu'à 99,99% lorsque la lixiviation a été opérée préalablement en milieu nitrique ou sulfurique (Choubey et al., 2015; Kumari et al., 2016).

2.4.3. Avantages et limites de l'hydrométallurgie

L'hydrométallurgie présente des avantages qui en font une technologie de choix pour les prochaines décennies (Brierley, 2010; Tuncuk et al., 2012):

- Les coûts de production sont réduits par rapport à ceux des procédés pyrométallurgiques (principalement liés aux dépenses énergétiques) ;
- Du fait de coûts réduits, l'hydrométallurgie permet d'exploiter des minerais pauvres ou réfractaires, comme les minerais d'or réfractaires. Elle pourrait ainsi permettre de valoriser les cartes électroniques pauvres ;
- L'hydrométallurgie est adaptée au développement de petites installations de traitement car les coûts d'investissement sont faibles en comparaison des procédés pyrométallurgiques. Ainsi, un maillage complet du territoire peut être envisagé, permettant de limiter le transport des déchets vers les unités de recyclage ;
- En pyrométallurgie, certains métaux tels que le lithium, l'aluminium et le fer, sont perdus dans les scories (Cui et Zhang, 2008) ;
- L'hydrométallurgie apparaît comme une méthode plus flexible en termes de produits traités : le procédé est adaptable à des flux de composition variable ;
- L'hydrométallurgie est plus sélective que la pyrométallurgie. Elle permet donc de produire des métaux de plus haute pureté. C'est pourquoi ces procédés sont parfois utilisés en aval des procédés pyrométallurgiques (Cui et Zhang, 2008).

Malgré cela, il est nécessaire d'utiliser des traitements mécaniques pour préparer la matière. De plus, de grandes quantités d'effluents doivent être traitées et les solvants utilisés en hydrométallurgie sont parfois toxiques et peuvent présenter des risques pour l'environnement.

2.4.4. Biohydrométallurgie

La biohydrométallurgie, c'est-à-dire l'utilisation de biotechnologies dans la métallurgie extractive, peut se décliner de différentes manières en termes d'opérations unitaires : biolixiviation, bioextraction ou encore biodégradation de réactifs organiques (Morin, 2013). La biohydrométallurgie présente elle-même des avantages vis-à-vis de l'hydrométallurgie (Mrážiková et al., 2016):

- ✓ L'environnement est généralement moins corrosif ;
- ✓ Les besoins en réactifs sont moindres, car ils sont produits *in situ*, ce qui réduit les coûts et permet d'être indépendant de la volatilité des prix des réactifs ;
- ✓ Les températures sont moins élevées donc la demande en énergie est réduite ;
- ✓ Le traitement des minerais et des effluents peut parfois se faire simultanément.

La biohydroméallurgie présente néanmoins des inconvénients :

- Une toxicité de certains éléments vis-à-vis des micro-organismes, qui nécessite une période d'adaptation à l'environnement dans lequel ils sont utilisés. Ce processus est parfois long et les rend donc spécifiques au procédé. Sur des ressources complexes et variées comme les cartes électroniques, il peut être compliqué de stabiliser la composition du flux de solide entrant pour limiter l'effet sur les micro-organismes.
- Les temps de séjour sont généralement plus longs.
- La biolixiviation acidophile (sujet de notre étude) nécessite des quantités de fer importantes, qui peuvent gêner les étapes aval de récupération des métaux. Notamment, la précipitation du Fe(III) lors des étapes de purification qui suivent la lixiviation entraîne des problématiques de co-précipitation de certains métaux et l'extraction liquide-liquide est souvent peu sélective vis-à-vis du fer (Turgis et al., 2014 ; Willner et Fornalczyk, 2014).

Par ailleurs, les procédés pyroméallurgiques sont validés et intégrés, contrairement à la biohydroméallurgie : le développement de ces nouvelles technologies représente un risque et un investissement financier important, bien que réduit vis-à-vis des procédés pyroméallurgiques. Cela représente un défi économique, qui s'ajoute aux défis techniques de compréhension des phénomènes.

2.5. Combinaison de différentes technologies

Les techniques de récupération des éléments métalliques dans les cartes électroniques sont donc variées. Elles peuvent être combinées de différentes manières pour valoriser l'intégralité des éléments de la carte électronique. La Figure 5 présente certaines combinaisons de techniques utilisées pour valoriser les cartes électroniques, et en particulier la partie métallique contenue dans celle-ci.

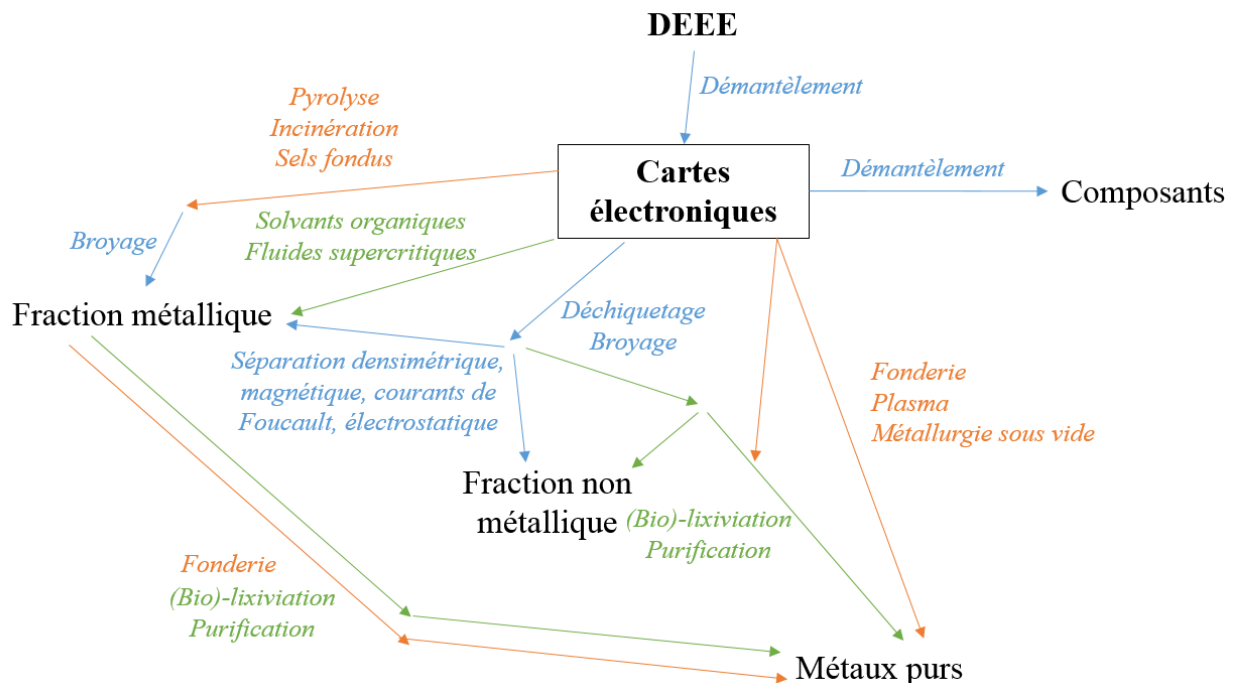


Figure 5: Exemples de voies de recyclage des cartes électroniques (bleu: traitements mécaniques; vert: hydroméallurgie; orange: pyroméallurgie).

Les voies de recyclage obtenues sont complexes et reposent sur un grand nombre de technologies. Il faut concevoir chaque technique comme une brique qui s'insérera dans une chaîne globale. Par exemple, les traitements mécaniques vont être essentiels lors de l'utilisation de la voie hydrométallurgique pour augmenter l'accessibilité des éléments d'intérêt mais, au vu des pertes de matière engendrées, seront peu utilisés en pyrométallurgie, qui cible les cartes électroniques riches.

3. Conclusion

Au vu de la croissance de la demande mondiale en métaux, il est nécessaire de mettre au point de nouveaux procédés pour permettre de valoriser des ressources primaires, dont la qualité décline, et des ressources secondaires dont la production ne cesse d'augmenter. Outre la contribution à l'approvisionnement en métaux, le recyclage des déchets permet également de limiter leurs impacts environnementaux, liés à leur enfouissement ou leur incinération. Les taux de recyclage évalués il y a quelques années étaient encore très bas. Les cartes électroniques sont la partie des DEEE qui contient la majeure partie des métaux non ferreux. Ainsi, il y a un fort intérêt à les valoriser. Cependant, de par leurs compositions et la quantité de métaux présents dans ces circuits imprimés, les techniques de recyclage à développer sont complexes. Actuellement, les cartes électroniques sont facilement récupérées depuis les DEEE. Il existe ensuite une grande variété de technologies reposant sur des traitements mécaniques, pyrométallurgiques et hydrométallurgiques pour valoriser au mieux les métaux contenus dans ces déchets. A l'échelle industrielle, la pyrométallurgie est la seule technique utilisée. Malgré des bons taux de récupération des métaux précieux et du cuivre, cette technologie présente de nombreux inconvénients environnementaux et techniques. De plus, elle ne permet aujourd'hui de traiter qu'une faible part des déchets de circuits imprimés produits à l'échelle de la planète. Les taux de recyclage évalués il y a quelques années étaient ainsi encore très bas. Il semble donc nécessaire de développer des alternatives. De manière générale, ces alternatives peuvent reposer sur des combinaisons de techniques variées. L'hydrométallurgie peut présenter des avantages liés à des coûts d'investissements et énergétiques moindres. La biohydrométallurgie, qui repose sur l'utilisation de micro-organismes en métallurgie extractive, permet la formation *in situ* des réactifs à des coûts limités et son développement pour le traitement des cartes électroniques est en cours. Cette méthode représente une technologie possible pour la valorisation des déchets, qu'il faut insérer dans une chaîne de recyclage, avec notamment une chaîne de traitements physiques amont à mettre en œuvre.

4. Références

- Adhapure, N.N., Dhakephalkar, P.K., Dhakephalkar, A.P., Tembhurkar, V.R., Rajgure, A.V., Deshmukh, A.M., 2014. Use of large pieces of printed circuit boards for bioleaching to avoid 'precipitate contamination problem' and to simplify overall metal recovery, *MethodsX*, **1**, 181-186.
- Aurubis, A.G., 2013. Recycling brochure, <http://www.aurubis.com>.
- Bidini, G., Fantozzi, F., Bartocci, P., D'Alessandro, B., D'Amico, M., Laranci, P., Scozza, E., Zagaroli, M., 2015. Recovery of precious metals from scrap printed circuit boards through pyrolysis, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, **111**, 140-147.
- Bizzo, W.A., Figueiredo, R.A., de Andrade, V.F., 2014. Characterization of Printed Circuit Boards for Metal and Energy Recovery after Milling and Mechanical Separation, *Materials*, **7**, 4555-4566.
- Brierley, C.L., 2010. Biohydrometallurgical prospects, *Hydrometallurgy*, **104**, 324-328.
- Canal Marques A., Cabrera, J.M., de Fraga Malfatti, C., 2013. Printed circuit boards: A review on the perspective of sustainability, *Journal of Environmental Management*, **131**, 298-306.
- Chagnes, A., Cote, G., Ekberg, C., Nilsson, M., Retegan, T., 2016. WEEE Recycling, Research, Development and Policies, in Elsevier.
- Choubey, P.K., Panda, R., Jha, M.K., Lee, J.C., Pathak, D.D., 2015. Recovery of copper and recycling of acid from the leach liquor of discarded Printed Circuit Boards (PCBs), *Separation and purification technology*, **156**, 269-275.
- Commission Européenne, 2017. Study on the review of the list of Critical Raw Materials, Final Report.
- Cui, J., Zhang, L., 2008. Metallurgical recovery of metals from electronic waste: A review, *Journal of Hazardous Materials*, **158**, 228-256.
- Deloitte Développement Durable et Ademe, Deprouw, A., Jover, M., Chouvenc, S., Fangeat, E., 2017. *Synthèse annuelle du registre des déchets d'équipements électriques et électroniques*, 11 pages.
- Eswaraiah, C., Kavitha, T., Vidyasagar, S., Narayanan, S.S., 2008. Classification of metals and plastics from printed circuit boards (PCB) using air classifier, *Chem Eng Process Process Intensif*, **47**, 565-576.
- Flandinet, L., Tedjar, F., Ghetta, V., Fouletier, J., 2012. Metals recovering from waste printed circuit boards (WPCBs) using molten salts, *Journal of Hazardous Materials*, **213-214**, 485-490.
- Ghosh, B., Ghosh, M.K., Parhi, P., Mukherjee, P.S., Mishra, B.K., 2015. Waste Printed Circuit Boards recycling: an extensive assessment of current status, *Journal of Cleaner Production*, **94**, 5-19.
- Goosey, M., Kellner, R., 2003. Recycling technologies for the treatment of end of life printed circuit boards (PCBs), *Circuit World*, **29**(3), 33-37.
- Hagelüken, C., 2006. Recycling of Electronic Scrap at Umicore's Integrated Metals Smelter and Refinery, *World of Metallurgy – Erzmetall*, **59**(3), 152-161.

- Hall, W.J., Williams, P.T., 2007. Separation and recovery of materials from scrap printed circuit boards, *Resources, Conservation and Recycling*, **51**, 691-709.
- Hong, Y., Valix, M., 2014. Bioleaching of electronic waste using acidophilic sulfur oxidizing bacteria, *Journal of Cleaner Production*, **65**, 465-472.
- Huisman, J., Leroy, P., Tertre, F., Ljunggren Söderman, M., Chancerel, P., Cassard, D., Løvik, A.N., Wäger, P., Kushnir, D., Rotter, V.S., Mährlitz, P., Herreras, L., Emmerich, J., Hallberg, A., Habib, H., Wagner, M., Downes, S., 2017. *Prospecting Secondary Raw Materials in the Urban Mine and mining wastes (ProSUM) - Final Report*, 48 pages.
- Işildar, A., Rene, E.R., van Hullebutsch, E.D., Lens, P.N.L., 2017. Electronic waste as a secondary source of critical metals: Management and recovery technologies, *Resources, Conservation & Recycling*, In Press.
- Kumari, A., Jha, M.K., Lee, J.C., Singh, R.P., 2016. Clean process for recovery of metals and recycling of acid from the leach liquor of PCBs, *Journal of Cleaner Production*, **112**, 4826-4834.
- Li, J., Shrivastava, P., Gao, Z., Zhang, H.C., 2004. Printed Circuit Board Recycling: A State-of-the-Art Survey, *IEEE transactions on electronics packaging manufacturing*, **27**(1), 33-42.
- Morin D., 2013. Biotechnologies dans la métallurgie extractive - Microbiologie et extraction des métaux, *Techniques de l'Ingénieur*, M2238 v3.
- Mrážiková, A., Kaduková, J., Marcinčáková, R., Velgosová, O., Willner, J., Fornalczyk, A., Saternus, M., 2016. The effect of specific conditions on Cu, Ni, Zn and Al recovery from PCBs waste using acidophilic bacterial strains, *Arch. Metall. Mater.*, **61**(1), 261-264.
- Ning, C., Lin, C.S.K., Hui, D., McKay, G., 2017. Waste Printed Circuit Board (PCB) Recycling Techniques, *Top. Curr. Chem (Z)*, 375:43.
- Ogunniyi, I.O., Vermaak, M.K.G., Groot, D.R., 2009. Chemical composition and liberation characterization of printed circuit board comminution fines for beneficiation investigations, *Waste Management*, **29**, 2140-2146.
- Ohajinwa, C.M., van Bodegom, P.M., Vijver, M.G., Peijnenburg, W.J.G.M., 2018. Impact of informal electronic waste recycling on metal concentrations in soils and dusts, *Environ Res.*, **164**, 385-394.
- Park, Y.J., Fray, D.J., 2009. Recovery of high purity precious metals from printed circuit boards, *Journal of Hazardous Materials*, **164**, 1152–1158.
- Sarvar, M., Salarirad, M.M., Shabani, M.A., 2015. Characterization and mechanical separation of metals from computer Printed Circuit Boards (PCBs) based on mineral processing methods, *Waste Management*, **45**, 246-257.
- Site mineralinfo, 2017. <http://www.mineralinfo.fr/>
- Sum, E., 1991. The recovery of metals from electronic scrap, *Review of Extractive Metallurgy, JOM*, 53-61.
- Tuncuk, A., Stazi, V., Akcil, A., Yazici, E.Y., Deveci, H., 2012. Aqueous metal recovery techniques from e-scrap: Hydrometallurgy in recycling, *Minerals Engineering*, **25**, 28-37.
- Turgis, R., Leydier, A., Arrachart, G., Burdet, F., Dourdain, S., Bernier, G., Miguiditchian, M., Pellet-Rostaing, S., 2014. Uranium extraction from phosphoric acid using bifunctional amido-phosphonic acid ligands, *Solvent Extraction and Ion Exchange*, **32**, 5, 478-491.

- UNEP, 2011. Recycling Rates of Metals – A status report, A report of the Working Group on the Global Metal Flows to the International Resource Panel, Graedel, T.E., Alwood, J., Birat, J.-P., Reck, B.K., Sibley, S.F., Sonnemann, G., Buchert, M., Hagelüken, C.
- UNEP, 2013. Metal Recycling: Opportunities, Limits, Infrastructure, A Report of the Working Group on the Global Metal Flows to the International Resource Panel, Reuter, M. A.; Hudson, C.; van Schaik, A.; Heiskanen, K.; Meskers, C.; Hagelüken, C.
- Union Européenne, 2012. Directive 2012/19/UE du parlement européen et du conseil du 4 juillet 2012 relative aux déchets d'équipements électriques et électroniques (DEEE).
- UNU United Nations University, 2008. Final Report on the Review of Directive 2002/96 on Waste Electrical and Electronic Equipment (WEEE) – Study No. 07010401/2006/442493/ETU/G4.
- Veit, H.M., Diehl, T.R., Salami, A.P., Rodrigues, J.S., Bernardes, A.M., Tenório, J.A.S., 2005. Utilization of magnetic and electrostatic separation in the recycling of printed circuit boards scrap, *Waste Management*, **25**, 67-74.
- Wang, H., Gu, G., Qi, Y., 2005. Crushing performance and resource characteristic of printed circuit board scrap, *J. Cent. South Univ. Technol.*, **12**(5), 552-555.
- Wang, H., Zhang, S., Li, B., Pan, D., Wu, Y., Zuo, T., 2017. Recovery of waste printed circuit boards through pyrometallurgical processing: A review, *Resources, Conservation & Recycling*, **126**, 209–218.
- Willner, J., Fornalczyk, A., 2014. Extraction of copper from solution after bioleaching of Printed Circuit Boards (PCBs), *Metallurgija*, **53**, 2, 228-230.
- Xiu, F.R., Qi, Y., Zhang, F.S., 2013. Recovery of metals from waste printed circuit boards by supercritical water pre-treatment combined with acid leaching process, *Waste Management*, **33**(5), 1251-1257.
- Yamane, L.H., Tavares de Moraes, V., Espinosa, D.C.R., Tenório, J.A.S., 2011. Recycling of WEEE: Characterization of spent printed circuit boards from mobile phones and computers, *Waste Management*, **31**, 2553-2558.
- Yokoyama, S., Iji, M., 1997. Recycling of Printed Wiring Boards with Mounted Electronic Parts, *Proceedings of the 1997 IEEE International Symposium on Electronics and the Environment*, ISEE, 109-114.
- Yoo, J.M., Jeong, J., Yoo, K., Lee, J.C., Kim, W., 2009. Enrichment of the metallic components from waste printed circuit boards by a mechanical separation process using a stamp mill, *Waste Management*, **29**, 1132–1137.
- Yuan, C. Y., Zhang, H. C., McKenna, G., Korzeniewski, C., Li, J., 2007. Experimental studies on cryogenic recycling of printed circuit board, *Int. J. Adv. Manuf. Technol.*, **34**, 657–666.
- Zhang, L., Xu, Z., 2016. A review of current progress of recycling technologies for metals from waste electrical and electronic equipment, *Journal of Cleaner Production*, **127**, 19-36.
- Zhang, S., Forsberg, E., Arvidson, B., Moss, W., 1998. Aluminum recovery from electronic scrap by high-force eddy-current separators, *Resour Conserv Recycl*, **23**, 225–241.
- Zhou, Y.H., Wu, W.B., Qiu, K.Q., 2011. Recycling of organic materials and solder from waste printed circuit boards by vacuum pyrolysis-centrifugation coupling technology, *Waste Manag.*, **31**, 2569-2576.

Zhu, P., Chen, Y., Wang, L.Y., Qian, G.Y., Zhou, M., Zhou, J., 2012. A new technology for separation and recovery of materials from waste printed circuit boards by dissolving bromine epoxy resins using ionic liquid, *Journal of Hazardous Materials*, **239-240**, 270-278.

Zhu, P., Chen, Y., Wang, L.Y., Zhou, M., Zhou, J., 2013. The separation of waste printed circuit board by dissolving bromine epoxy resin using organic solvent, *Waste Management*, **33**, 484-488.

Chapitre II – État de l'art

1. Préparation et caractérisation de déchets de cartes électroniques

La préparation et la caractérisation de déchets de cartes électroniques est une étape préliminaire cruciale pour le développement de nouveaux procédés de valorisation. Pour le calcul de bilans matières et de taux de récupération, il est nécessaire d'avoir des lots représentatifs du lot initial, reproductibles et caractérisés de manière fiable. Les paragraphes suivants présentent les travaux d'échantillonnage appliqués aux cartes électroniques disponibles dans la littérature. A notre connaissance, il existe à ce jour très peu de données sur la mise en place d'une méthodologie complète de préparation et de caractérisation, excepté les données sur un ancien procédé industriel utilisé par Umicore (Hagelüken, 2006).

1.1. Préparation de cartes électroniques pour l'hydrométallurgie

Dans le cadre de la mise au point d'un procédé hydrométallurgique, il est nécessaire de broyer les déchets de circuits imprimés pour rendre accessibles les métaux. Cela permet aussi de réduire l'hétérogénéité des échantillons. Comme présenté précédemment, de nombreux travaux sur les traitements mécaniques des cartes électroniques ont été réalisés ces dernières années, à la fois sur la fragmentation et la concentration. Dans notre étude, seule l'étape de fragmentation sera détaillée, ainsi que les protocoles existants d'échantillonnage.

1.1.1. Déchiquetage et broyage

L'accessibilité des éléments d'intérêt des cartes électroniques repose sur la mise en place d'une méthode efficace pour réduire la taille des particules. Selon Zhang et Forssberg (1999), la libération des matériaux composites des cartes électroniques serait facile à obtenir puisque les matériaux sont insérés, fixés, reliés, *etc.* donc l'énergie à fournir est peu élevée. Cela reste à nuancer selon le type de carte étudiée: les cartes électroniques multicouches renferment du Cu qui est difficile à libérer, même à des faibles tailles de broyage. Certains auteurs suspectent que la libération des métaux contenus dans les céramiques et recouverts par les résines n'est pas complète pour les particules grossières, c'est-à-dire avec une taille supérieure à 1 mm environ (Yamane et al., 2011).

Par ailleurs, la présence de métaux ductiles, tels que l'Al, le Fe ou le Cu rend le broyage compliqué. Wang et al. (2005) recommandent d'utiliser un broyeur à impact ou à couteaux pour améliorer le broyage. La majorité des études utilisent donc des déchiqueteurs. Pour rendre le broyage plus efficace encore, l'utilisation de liquides cryogéniques a été testée pour induire un stress interne et causer des cassures dans la matrice polymère renforcée. Cette méthode a aussi été pensée pour réduire la résistance des alliages d'Al, de Cu, de Fe, de Ni et de Be et pour éviter la possible oxydation des plastiques qui engendrerait la formation de dioxines ou de furanes. Cependant, les résultats de cette méthode n'ont pas été remarquables et la faisabilité à grande échelle est limitée (Li et al., 2004 ; Yuan et al., 2007).

1.1.2. Echantillonnage

La théorie de l'échantillonnage de Gy a été développée pour assurer une bonne reproductibilité et représentativité des échantillons issus de ressources primaires à différentes échelles (Deverly, 1984 ; Gerlach et al., 2003). Cette théorie permet d'estimer l'erreur générée par la division d'un échantillon en échantillons plus petits. Cette erreur, appelée erreur d'échantillonnage, est créée lors d'une étape de division de la matière après réduction granulométrique. Trois paramètres entrent en jeu : la taille des particules, la masse des sous-lots et la concentration des éléments ciblés. Quelques principes sont repris dans la Figure 6.

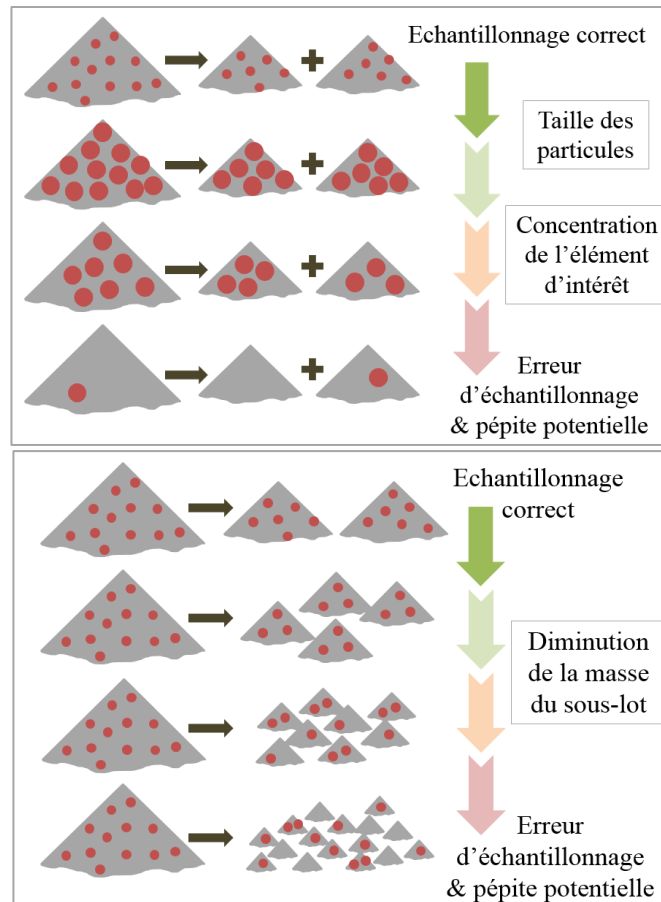


Figure 6: Trois paramètres qui influencent l'erreur d'échantillonnage lors des étapes de réduction granulométrique et de division de la matière.

Des études similaires, adaptées à partir de l'étude de Gy, ont été menées pour prédire l'erreur d'échantillonnage pour des déchets municipaux, des plastiques, des poudres métallurgiques ou encore des sols. Il en résulte des normes internationales, qui décrivent également une méthode analytique adaptée pour de tels matériaux (ISO 23909:2008, XP CEN/TS 16010, ISO 3954:2008, ISO 11648-2:2001 (AFNOR, 2001 ; AFNOR, 2008 ; AFNOR, 2008 ; AFNOR, 2013)). Il n'existe cependant pas de théorie similaire pour l'échantillonnage des DEEE et en particulier des cartes électroniques. La théorie de Gy est difficilement adaptable aux cartes électroniques broyées à cause de la dispersion des éléments à travers ces cartes, qui induit un « effet pépité » (variations soudaines de la composition entre une particule et une autre).

Dans la littérature, peu d'exemples de la mise en place d'un tel échantillonnage sur des échantillons de cartes électroniques à l'échelle du laboratoire ou à l'échelle industrielle sont donnés. Hagelüken (2006) a décrit l'ancienne procédure d'échantillonnage développée par Umicore qui est présentée sur la Figure 7. Aucun détail n'est donné quant à la fiabilité de cette procédure pour l'obtention d'échantillons reproductibles et représentatifs. Pour les travaux de laboratoire, quelques études ont été menées sur la reproductibilité et la représentativité des échantillons de cartes électroniques. Ernst et al. (2003) déterminent qu'avec des particules de 250 μm , 16 g d'échantillons doivent être étudiés pour s'assurer d'une bonne reproductibilité. Sun et al. (2015) considèrent des échantillons de 50 g et obtiennent malgré cela des variations de teneurs en Cu importantes (teneurs entre 23% et 46% massique). Cela est probablement lié à la taille des particules, car la granulométrie (distribution de la taille des particules) de leur échantillon est inférieure ou égale à 8 mm. Ainsi, à l'échelle laboratoire, la mise en place d'un échantillonnage reproductible et représentatif pour les cartes électroniques reste un défi au vu de leur hétérogénéité.

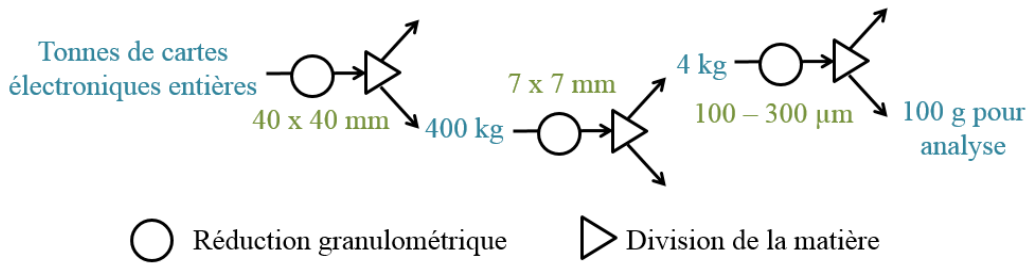


Figure 7: Procédure d'échantillonnage de cartes électroniques mise en place par Umicore sur leur site d'Hoboken (Belgique) d'après Hagelüken (2006).

1.2. Caractérisation

Une fois les échantillons préparés pour être homogènes, il faut évaluer le contenu des déchets de cartes électroniques. Des techniques sèches ou humides peuvent être utilisées. Il est important de combiner plusieurs méthodes pour obtenir une caractérisation complète des déchets (concentrations métalliques, spéciation élémentaire, composition des résines, *etc.*). Les analyses élémentaires peuvent par exemple se baser sur des minéralisations avec un réactif adéquat suivi d'analyses par émission ou absorption atomique, sur la spectrométrie de fluorescence des rayons X (XRF pour « X-ray fluorescence ») ou encore sur la microscopie électronique à balayage (MEB) éventuellement combinée à la spectroscopie par énergie dispersive des rayons X (MEB-EDS). Le Tableau 6 rapporte quelques techniques régulièrement utilisées dans la littérature lors de la caractérisation des compositions métalliques.

Du fait des hautes températures, les méthodes telles que la calcination et la fusion sont peu compatibles avec la caractérisation des éléments volatils. Une autre problématique est liée à la quantité limitée d'échantillons qui peut être analysée lors de l'utilisation de XRF ou pour la minéralisation assistée par micro-ondes (masse < 500 mg ou 1 g généralement). La petite taille des échantillons induit une grande variabilité sur les teneurs obtenues à cause de l'hétérogénéité du matériau. La minéralisation à l'eau régale suivie d'analyse élémentaire est une des méthodes les plus fréquemment utilisées car elle est facilement mise en œuvre et permet de traiter des échantillons de masse importante. Cependant, cette minéralisation n'est pas totale car seuls les métaux sont solubles dans l'eau régale, les autres éléments ne sont pas dissous. Cette minéralisation est généralement suivie d'une analyse par spectroscopie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES), par spectroscopie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) ou par spectroscopie d'absorption atomique (SAA). Cette méthode est recommandée par la norme NF EN 62321-5:2014 : il est conseillé d'attaquer 2 g de produits électroniques à l'eau régale après réduction de la taille des particules à 250 µm (AFNOR, 2014).

Il n'existe pas, à ce jour, de méthode simple et facile d'accès pour connaître la spéciation des éléments dans les cartes électroniques. Il faut se baser sur les données des constructeurs, obtenues difficilement, pour connaître le rôle des éléments, métalliques notamment, dans les cartes et ainsi leurs spéciations. Il semblerait que la majorité des métaux de base soit présents sous forme métallique (M^0) ou sous forme d'alliage (par exemple pour le Pb, le Sn et l'Al) (Sun et al., 2015).

Tableau 6: Méthodes usuelles pour la caractérisation des teneurs en métaux de déchets de cartes électroniques.

Méthodes de préparation	Méthodes analytiques	Avantages	Inconvénients	Etude	Elément cible
Techniques sèches					
Calcination	Spectroscopie de fluorescence des rayons X (XRF)	Destruction des plastiques, qui sinon interfèrent pendant l'analyse	Ne convient pas aux éléments volatils (Hg, As, Pb, Sn, Zn...)	Birloaga et al., 2013	Cu, Al, Fe, Sn, Ni, Zn, Pb, Au, Ag
Aucune préparation	XRF	- 10-20% de plus de Cu détecté en comparaison aux méthodes humides - Facilité de mise en œuvre	- Peu précis - Calibration nécessaire avec particule de taille et composition similaires ; or pas de matériau de référence existant	Ernst et al., 2003	Ag, Br, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Pd, Sb
				Wienold et al., 2011	Pb, Cd, Hg
				Morf et al., 2007	Al, Sb, Pb, Cd, Cr, Fe, Cu, Ni, Hg, Zn, Sn, Cl, P
				Martin et al., 2010	Cd, Cr, Pb
Sun et al., 2015	Cu, Sn, Fe, Al, Pb, Zn, Ni, Nd, Ag, SiO ₂				
Techniques humides					
Eau régale	Spectroscopie d'Émission Atomique à Plasma à Couplage Inductif (ICP-AES)	- Échantillons de grande taille - Peu de broyage - Facilité de mise en œuvre	- Minéralisation incomplète (40-50% résidus) - Pas compatible avec Ta, Sn - Doute pour le Cu	Ernst et al., 2003 Wienold et al., 2011 Ogunniyi et al., 2009	Ag, Au, Be, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Pd, Sb Pb, Cd, Hg 44 éléments
Eau régale sous micro-ondes	ICP-AES	Meilleure dissolution (du Cr et Sb) que sans micro-ondes	- Minéralisation incomplète (10% résidus) - Masse <1 g	Wienold et al., 2011	Pb, Cd, Hg
Eau régale suivie de calcination et fusion LiBO ₂	Spectroscopie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS)	Attaque presque totale (<10% résidus)	- Consommateur de temps - Difficile à mettre en œuvre	Holgerson et al., 2017	38 éléments
Calcination suivie d'une digestion acide (eau régale + HF) sous micro-ondes	Spectroscopie d'absorption atomique (SAA)	Destruction des plastiques, qui sinon interfèrent pendant l'analyse	Ne convient pas aux éléments volatils (Hg, As, Pb, Sn, Zn...)	Birloaga et al., 2013	Cu, Al, Fe, Sn, Ni, Zn, Pb, Au, Ag
Fusion avec du peroxyde de sodium suivie par digestion avec HCl	ICP-AES et ICP-MS	Attaque totale	Difficile à mettre en œuvre	Ogunniyi et al., 2009	44 éléments
Digestion sous micro-ondes avec HNO ₃ /HBF ₄ /H ₂ O ₂ /H ₂ O	ICP-AES	Attaque presque totale (2,5% résidus)	- Masse d'échantillon <1 g - Difficile à mettre en œuvre	Ernst et al., 2003	Ag, Au, Be, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Pd, Sb
Digestion sous micro-ondes avec HNO ₃ /HCl/HF/H ₂ O ₂	ICP-AES	Attaque presque totale	- Masse d'échantillon <1 g - Difficile à mettre en œuvre	Xiang et al., 2010	Cu, Pb, Al, Sn, Zn, Fe, Ni, Mg, Sb, Ag, Au, Mn, Co, Pd

2. Biolixiviation acidophile

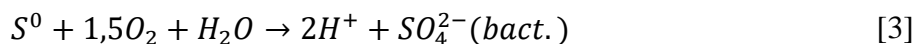
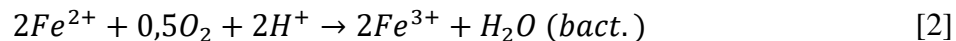
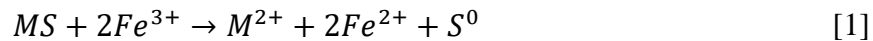
Au cours du chapitre précédent, les intérêts de la biolixiviation, c'est-à-dire la mise en solution assistée par des micro-organismes, ont été explicités : formation *in situ* des réactifs, coût énergétique réduit, *etc.* La biolixiviation repose sur différents mécanismes qui dépendent des micro-organismes utilisés. Leurs activités sont variées, entre l'oxydation du fer et/ou du soufre et la production d'acides organiques ou de cyanure pour complexer les métaux. Si la bio-oxydation du fer et du soufre est aujourd'hui appliquée à l'échelle industrielle pour la lixiviation de minerais sulfurés, la biolixiviation par bio-complexation via les acides organiques ou le cyanure reste quant à elle limitée à l'échelle du laboratoire en raison notamment de cinétiques lentes, de bas rendements de lixiviation, du coût des substrats et de la contamination facile par d'autres micro-organismes (Jain et Sharma, 2004). Dans cette étude, seuls les micro-organismes acidophiles, oxydant le fer et/ou le soufre, vont être étudiés.

2.1. Biolixiviation de minerais sulfurés à l'aide de micro-organismes acidophiles

L'action de micro-organismes sur les ressources minérales a été mise en avant dans les années 1920 lors de recherches sur la formation de drainages miniers acides (Rudolfs, 1922) ; cette étude a mis en évidence l'existence de micro-organismes catalysant la dissolution de minerais sulfurés, entraînant le rejet d'acide sulfurique et de métaux dans l'environnement. Aujourd'hui, la biolixiviation de ressources primaires par des bactéries chimiolithotrophes acidophiles s'applique à différents minerais sulfurés, tels que la pyrite (FeS_2), la chalcopirite (CuFeS_2), la sphalérite (ZnS) ou la galène (PbS). Différents métaux sont associés, tels que Au, U, Ag ou des métaux de base comme le Cu, le Ni, le Zn, ou encore le Co. Dans certains cas, le métal est dissous avec le minerai (comme pour le Cu et le Co). Dans d'autres cas, le métal est libéré du minerai sous forme solide (comme pour l'Au). Il existe différents types de micro-organismes impliqués : des bactéries (telles que *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, *etc.*) et des archées (comme *Metallosphaera sp.*, *Sulfolobus sp.* et *Ferroplasma sp.*). Ces micro-organismes se développent dans des milieux acides, à pH compris entre 0,8 et 3.

2.1.1. Mécanismes mis en jeu

Lors de la biolixiviation acidophile de minerais sulfurés, trois principales réactions ont lieu : la dissolution du minerai sulfuré avec mise en solution du métal associé M, l'oxydation du fer Fe(II) et l'oxydation des composés réduits du soufre (sulfure S^{2-} , thiosulfate $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ou soufre S^0). Celles-ci sont simultanées :



Les micro-organismes jouent un rôle de catalyseur des réactions [2] et/ou [3] selon qu'ils sont ferro-oxydants, sulfo-oxydants ou les deux. La mise en solution se fait à la fois par contact direct des micro-organismes, par action indirecte du Fe(III) et par corrosion galvanique. Un schéma repris de Mahmoud et al. (2017) est présenté sur la Figure 8.

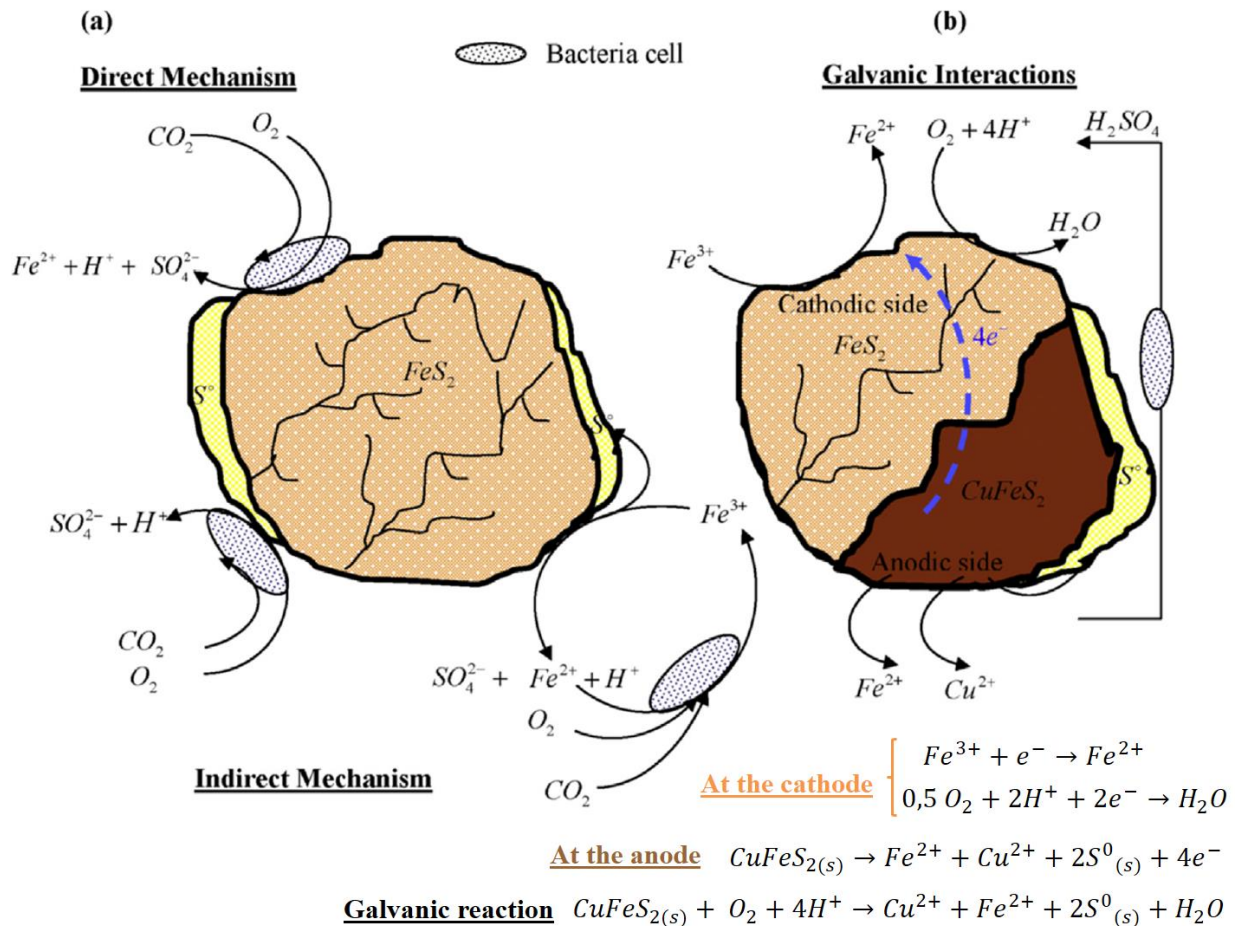


Figure 8: Mécanismes de biolixiviation acidophile dans les minerais sulfurés (a) de pyrite FeS_2 et (b) interactions galvaniques pyrite/chalcocypite, issu de Mahmoud et al. (2017).

Beaucoup d'études ont mis en avant l'attachement des micro-organismes à la surface des minerais (Mahmoud et al., 2017). La production de substances polymériques extracellulaires (EPS, pour « extracellular polymeric substances ») par les micro-organismes serait un facteur déterminant pour la cinétique de biolixiviation (Sand et Gehrke, 2006) : ces substances, principalement formées de sucres, d'acides uroniques et de lipides, permettraient aux cellules de s'attacher à la surface sulfurée et de concentrer les ions $Fe(III)$ à proximité de la surface, pour faciliter l'oxydation. Michel et al. (2009) ont montré que les EPS ne sont pas seulement utiles à l'attachement des bactéries, mais semblent aussi les protéger du stress lié aux conditions de biolixiviation. Les mécanismes d'attachement des bactéries, ainsi que la nature des substances synthétisées et la sélectivité des cellules vis-à-vis de certaines zones de la surface, sont encore peu compris.

2.1.2. Micro-organismes acidophiles

Il existe une grande variété de micro-organismes acidophiles. Le Tableau 7 reprend les principaux micro-organismes étudiés et leurs caractéristiques. La plupart des souches se développent à des pH compris entre 1 et 3 et sont autotrophes, c'est-à-dire qu'elles utilisent le carbone inorganique (CO_2) comme source de carbone mais peuvent aussi être hétérotrophes (utilisation de carbone organique tel que du glucose) ou mixotrophe (utilisation de carbones organiques et inorganiques). Les micro-organismes sont aérobies, et parfois anaérobies facultatifs. Certains sont mésophiles ($< 45\text{ }^{\circ}C$), d'autres modérément thermophiles ($45 - 60\text{ }^{\circ}C$) voire thermophiles ($> 60\text{ }^{\circ}C$). Enfin, comme dit précédemment, ces micro-organismes peuvent avoir une action oxydante sur le fer (ferro-oxydants), sur le soufre (sulfo-oxydants) ou sur les deux éléments.

Tableau 7: Micro-organismes acidophiles les plus largement étudiés et leurs caractéristiques (« + » signifie que le micro-organisme est capable d'oxyder l'élément, « - » non) d'après Mahmoud et al. (2017) et Johnson et al. (2008).

Micro-organismes	Température optimale (°C)	pH optimal	Source de carbone	Oxydation de Fe(II)	Oxydation des sulfures
BACTÉRIES					
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	30 – 35	1,8 – 2,5	Autotrophe	+	+
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	28 – 30	2 – 3	Autotrophe	-	+
<i>Acidithiobacillus caldus</i>	45	2 – 2,5	Mixotrophe	-	+
<i>Leptospirillum ferriphilum</i>	30 – 37	1,3 – 1,8	Autotrophe	+	-
<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	28 – 30	1,5 – 3	Autotrophe	+	-
<i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i>	45 – 48	2	Mixotrophe	+	+
<i>Sulfobacillus benefaciens</i>	38,5	1,5	Mixotrophe	+	+
ARCHÉES					
<i>Ferroplasma acidophilum</i>	35	1,7	Mixotrophe	+	-
<i>Sulfolobus metallicus</i>	65	2 – 3	Autotrophe	+	+

Dans la majorité des études, les cultures contiennent plusieurs types de micro-organismes (consortia bactériens), car il a régulièrement été noté des synergies entre ces micro-organismes (Mahmoud et al., 2017). Un exemple de consortium utilisé est celui appelé BRGM-KCC, composé par *Leptospirillum ferriphilum*, *Acidithiobacillus caldus*, *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* et *Sulfobacillus benefaciens* (D'Hugues et al., 2003 ; Guezennec et al., 2017). La présence d'un mélange de micro-organismes ferro-oxydants et sulfo-oxydants est nécessaire pour permettre la réalisation des réactions [2] et [3] simultanément.

2.1.3. Facteurs influençant la biolixiviation de minerais sulfurés

Les cinétiques de biolixiviation sont très dépendantes des micro-organismes utilisés, des minerais étudiés et des paramètres opératoires. La température, le pH, le potentiel d'oxydoréduction, la concentration et la disponibilité de l'O₂ et du CO₂, les transferts de matière, les concentrations en nutriments, en fer ferreux Fe(II), en fer ferrique Fe(III), en solide ainsi que l'agitation et l'aération sont autant de facteurs influençant les cinétiques. Par ailleurs, des facteurs minéralogiques, tels que la taille des particules, l'accessibilité des métaux et la présence de différentes phases minérales vont eux aussi avoir un effet sur la biolixiviation. Tous ces facteurs sont étroitement liés.

2.2. Les applications

Les applications de la biolixiviation acidophile à l'échelle industrielle sont désormais nombreuses. Ainsi, 15 à 25% de la production mondiale de Cu, 5% de la production d'Au et des petites proportions de la production de Co, Ni, U et Zn sont réalisées par biolixiviation acidophile (Mahmoud et al., 2017). Deux types de configuration sont généralement mises en œuvre : la biolixiviation en tas et en réacteur agité. En raison des coûts associés à l'utilisation de réacteurs agités, celle-ci s'applique principalement aux minerais sulfurés contenant des métaux à haute valeur ajoutée comme l'Au, alors que les autres métaux sont extraits en tas. La biolixiviation en tas est la plus utilisée car la plus facile à mettre en œuvre et la moins coûteuse. Aujourd'hui, la biolixiviation se doit de relever le défi de l'exploitation de concentrés polymétalliques complexes, de minerais peu concentrés et d'oxydes métalliques.

Par ailleurs, à l'échelle du laboratoire, de plus en plus de projets portent sur les ressources secondaires telles que les déchets issus de la mine urbaine, les batteries Li-ion ou Ni-Cd, les boues rouges ou issues des eaux usées, les catalyseurs usés ou encore les déchets industriels (Amiri et al., 2011 ; Asghari et al., 2013 ; Blais et al., 1993 ; Brandl et al., 2001 ; Cerruti et al., 1998 ; Franz et al., 1991 ; Mishra et al., 2008 ; Mishra et Rhee, 2014 ; Nguyen et al., 2015 ; Pathak et al., 2009 ; Qu et Lian, 2013 ; Veeken et Hamelers, 1999 ; Vestola et al., 2010 ; Xin et al., 2016).

La biolixiviation peut être appliquée de manière directe en mettant dans un seul réacteur le composé à lixivier et les bactéries ; mais elle peut aussi être réalisée de manière indirecte. Cerruti et al. (1998) ont étudié l'efficacité d'*Acidithiobacillus ferrooxidans* attachée sur du soufre élémentaire à produire de l'acide. L'acide biogénique ainsi produit permet la dissolution indirecte de batteries Ni-Cd avec des taux de mise en solution de 100% pour le Cd, de 96,5% pour le Ni et de 95% pour le Fe après 93 jours.

Pour les Déchets d'Équipements Électriques et Électroniques (DEEE) et en particulier les circuits imprimés, le développement de la biolixiviation est en cours. Cette méthode semble particulièrement adaptée aux déchets qui contiennent peu de métaux précieux mais qui restent une ressource concentrée en métaux de base ou critiques et qui ne sont pas traités par la voie classique que constitue la pyrométallurgie. Ces métaux devront néanmoins avoir une haute valeur ajoutée pour compenser les coûts associés dans le cas de l'utilisation de réacteurs.

3. Biolixiviation acidophile des cartes électroniques

La biolixiviation acidophile de cartes électroniques a été étudiée à partir des années 2000 : à notre connaissance, la première étude date de 2001, par Brandl et al. (2001). Ces études portent sur la biolixiviation dans des erlenmeyers ou des réacteurs. Il existe également quelques études en colonne, préfigurant une application de la biolixiviation en tas (Ilyas et al., 2010).

3.1. Mécanismes

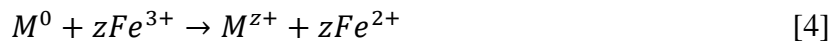
Comme pour les minerais sulfurés, la biolixiviation acidophile des cartes électroniques repose sur différentes réactions chimiques et biologiques simultanées. La différence majeure vis-à-vis du traitement de minerais sulfurés provient du fait qu'il n'y a pas de source de soufre élémentaire. De l'acide sulfurique synthétique et/ou du soufre avec des micro-organismes sulfo-oxydants doivent donc être ajoutés au système pour maintenir un pH bas favorable aux micro-organismes et à la lixiviation.

3.1.1. Réactions de lixiviation

La biolixiviation peut mettre en jeu deux types de réactions de mise en solution : avec le fer ferrique Fe(III) ou avec les protons. Ces deux réactions peuvent avoir lieu simultanément.

➤ Mise en solution des métaux en présence de fer ferrique Fe(III)

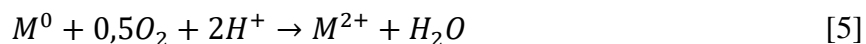
Il faut noter que les éléments métalliques dans les cartes électroniques sont souvent présents à l'état d'oxydation 0, comme indiqué précédemment. La mise en solution des métaux suit alors la réaction [4] :



Les principaux cations métalliques sont le Cu(II), le Zn(II), le Pb(II), le Ni(II), le Co(II) et l'Al(III), mais il pourrait aussi s'agir de l'In(III) ou du Ga(II).

➤ Mise en solution des métaux en présence de protons

Il s'agit d'une lixiviation chimique de dissolution des métaux en présence de dioxygène et de protons.



Cette réaction peut également avoir lieu pour régénérer le fer ferrique à partir de fer ferreux. Ces réactions sont favorables thermodynamiquement au moins pour le Fe(II) et le Cu mais sont très lentes d'un point de vue cinétique.

➤ Comparaison des mises en solution par ces deux mécanismes

Mrážíková et al. (2015) ont comparé la biolixiviation réalisée en présence de fer ferrique et de micro-organismes ferro-oxydants (*A. ferrooxidans*) avec la biolixiviation réalisée en présence d'acide (H₂SO₄) issu de l'oxydation du soufre par des micro-organismes sulfo-oxydants (*A. thiooxidans*). La Figure 9 présente les taux de mise en solution des métaux obtenus dans cette étude après 28 jours de culture.

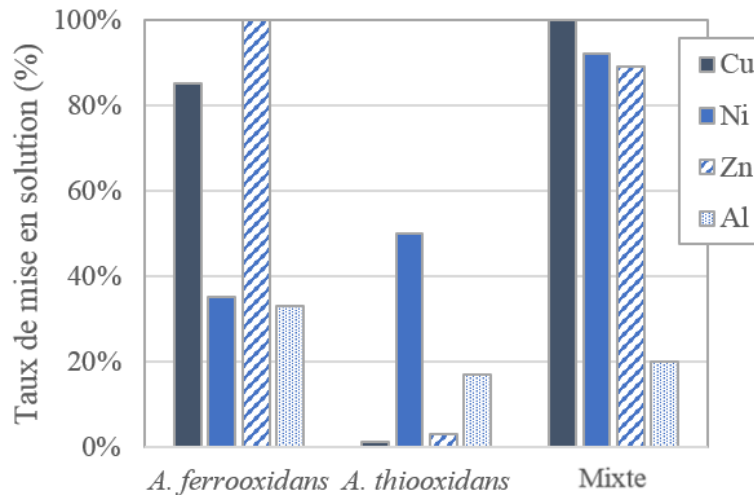
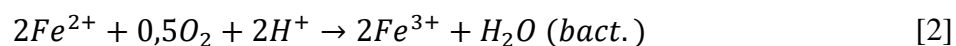


Figure 9: Taux de mise en solution du Cu, Ni, Zn et Al avec des micro-organismes ferro-oxydants, sulfo-oxydants ou une culture mixte d'après Mrážíková et al. (2015) (pH = 1,5, 10 g.L⁻¹ de cartes électroniques, 5% inoculum, 28 jours de culture).

Les réactions de mise en solution en présence de fer ferrique sont plus efficaces que celles en présence d'acide seul. L'effet synergétique des deux micro-organismes est démontré, avec des résultats de mise en solution supérieurs en présence d'une culture mixte. L'étude de Liang et al. (2010) confirme ce résultat : la présence de fer permet d'augmenter les taux de mise en solution. Certaines études se contentent cependant de réaliser une lixiviation acide en utilisant des micro-organismes sulfo-oxydants qui génèrent l'acide *in situ* à partir de soufre élémentaire. Karwowska et al. (2014), Hong et Valix (2014) et Demirel et al. (2014) ont utilisé cette méthode pour lixivier des déchets de cartes électroniques. Les taux de mise en solution du Cu atteignent respectivement 53% et 60% pour les deux premières études, ce qui est largement inférieur aux taux obtenus en présence de fer, présentés un peu plus loin dans ce rapport.

3.1.2. Réaction de régénération du fer ferrique par bio-oxydation

La régénération du fer ferrique à partir de fer ferreux catalysée en présence de micro-organismes ferro-oxydants est décrite par la réaction [2] :



Les mécanismes de la bio-oxydation sont détaillés ci-dessous. Plus la cinétique de cette régénération est rapide, plus la biolixiviation peut être efficace. Il faut noter que la vitesse de transfert de l'oxygène est un paramètre majeur dans la régénération du fer ferrique et donc dans la mise en solution des métaux. Par ailleurs, cette régénération implique une consommation de protons, qui aura un effet important sur le pH du milieu. En augmentant, celui-ci peut provoquer des phénomènes de précipitation, décrits ci-dessous (*cf.* paragraphe 3.1.4.3), et donc limiter la biolixiviation.

3.1.3. Rôle des micro-organismes

Une étude de Nie et al. (2014) a été menée pour comprendre le rôle des micro-organismes ferro-oxydants, en comparant biolixiviation directe et indirecte. A l'aide de membranes perméables aux ions mais imperméables vis-à-vis des cellules d'*Acidithiobacillus ferrooxidans*, ils ont conclu que les mécanismes de contact direct et indirect sont tous deux mis en jeu dans la mise en solution du Cu : la proximité des bactéries avec le métal permet d'accélérer les cinétiques et de récupérer plus de Cu, mais la biolixiviation indirecte conduit tout de même à des taux de mise en solution significatifs (Figure 10).

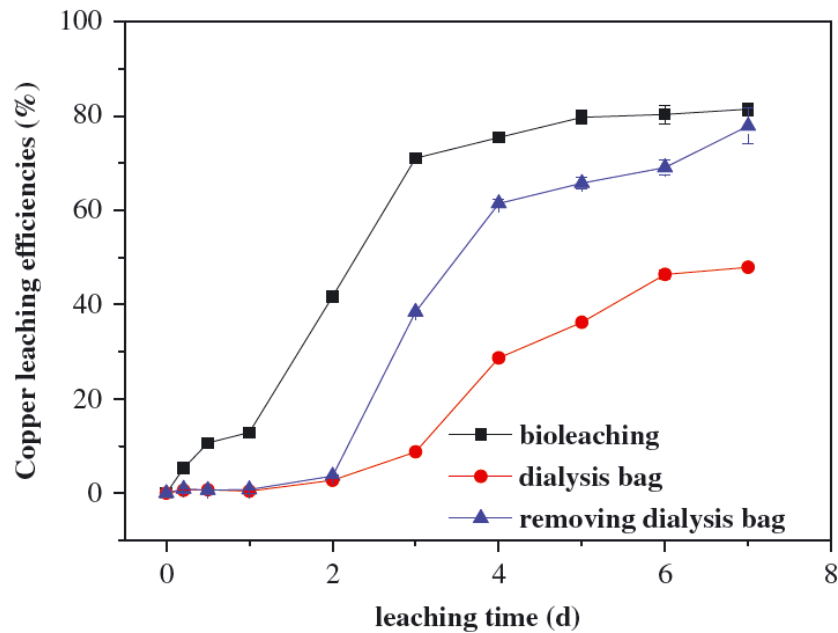


Figure 10: Efficacité de biolixiviation du Cu à partir de cartes électroniques mises en contact direct avec les bactéries *Acidithiobacillus ferrooxidans* (bioleaching), en contact indirect (dialysis bag) ou semi-direct (les 2 premiers jours, le contact est indirect, puis le sac de dialyse est retiré (removing dialysis bag), ce qui permet un contact direct) en fonction du temps – pH initial 2,0 ; inoculation 10% ; 9 g.L⁻¹ Fe(II) initialement ; 12 g.L⁻¹ de concentré métallique ; 30 °C – repris de Nie et al. (2014).

Cette théorie a été validée par Silva et al. (2015) : leur étude montre une diminution de 25% du taux de mise en solution du Cu quand il n'y a pas de contact entre les cellules et les particules de cartes électroniques. Ils estiment que 23% des cellules sont attachées aux particules après 1 heure de contact. Cela permettrait aux cellules de se « protéger » du milieu, et cela accélérerait les cinétiques de mise en solution. Ce phénomène d'attachement des cellules semble être préférentiel vis-à-vis de certains métaux, tels que le Cu et le Mn. L'attachement résulterait de la somme des interactions attractives de Van der Waals et des interactions électrostatiques répulsives, d'après la théorie de Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (Silva et al., 2015). Par ailleurs, un mécanisme de chimiotaxie (phénomène de mouvement de cellules en fonction d'espèces chimiques présentes dans l'environnement) expliquerait cet attachement préférentiel sur certaines zones de la surface du solide.

L'étude de Wu et al. (2018) remet en cause l'importance du contact entre les micro-organismes et les particules à lixivier. Dans leur étude, 15 g.L⁻¹ de Fe(II) sont totalement bio-oxydés par une culture acidophile, puis filtrés à 0,22 µm pour retirer les micro-organismes. Des cartes électroniques broyées sont alors ajoutées au filtrat (5 g.L⁻¹ de cartes électroniques) et ils obtiennent 100% de lixiviation du Cu en 2 heures. Leur étude est probablement faussée par la concentration élevée en fer ferrique dans le milieu (15 g.L⁻¹ Fe(III) biogénique) : d'un point de vue stœchiométrique, la régénération du fer ferrique par les micro-organismes n'est pas requise dans de telles conditions. Lorsque la concentration en fer ferrique n'est pas suffisante pour lixivier tout le Cu (en présence de 15 g.L⁻¹ de cartes électroniques), l'étude n'est pas menée sur d'assez longues périodes pour dépasser un probable délai de latence des bactéries et aucune différence n'est donc obtenue entre les études abiotique (sans micro-organismes) et biotique.

3.1.4. Réactions parallèles

3.1.4.1. Phénomènes de cémentation

Des phénomènes de cémentation ont été rapportés (Adhapure et al., 2013 ; Hong et Valix, 2014). La cémentation est une réaction d'oxydoréduction entre des métaux : les métaux ayant le potentiel le plus électropositif vont être réduits alors que ceux ayant le potentiel le plus bas seront oxydés et préférentiellement dissous. Ainsi, le Cu réagit en présence de Fe, de Zn ou encore d'Al. Dans le cas de la présence de Fe, la réaction qui a lieu est la suivante :



La dissolution préférentielle des métaux est affectée par la température, le pH, la concentration en solide, la pression partielle en dioxygène, *etc.* Par exemple, à des pH supérieurs à 1,4, Hong et Valix (2014) valident que la dissolution préférentielle des métaux est reliée au potentiel d'oxydo-réduction : $Cu(I)/Cu$ (520 mV) > $Cu(II)/Cu$ (340 mV) > $Zn(II)/Zn$ (-760 mV) > $Al(III)/Al$ (-1670 mV) > $Mg(II)/Mg$ (-2350 mV). A bas pH, le Cu est dissous préférentiellement par rapport au Mg et Al bien que cela ne puisse plus être expliqué par les couples d'oxydoréduction. De manière générale, dans le cas des cartes électroniques, la mise en solution ne suit pas forcément l'échelle des potentiels d'oxydoréduction, probablement à cause de la grande variété d'éléments présents, de leurs spéciations et du milieu de lixiviation.

Lorsqu'un métal n'est pas solubilisé, il n'est pas toujours aisé de différencier une réaction de lixiviation incomplète d'une réaction de cémentation. Certaines études n'évoquent pas la cémentation du Cu mais plutôt des phénomènes de précipitations (Choi et al., 2004). Ainsi, Choi et al. (2004) étudient l'ajout d'acide citrique (1 g.L^{-1}) pour complexer le Cu et limiter sa précipitation. Dans ces conditions, la proportion du Cu lixivié qui a précipité est réduite de 63% à 18,4%.

3.1.4.2. Phénomènes de passivation

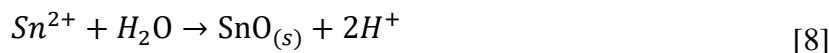
La biolixiviation du Cu à partir de chalcopirite ($CuFeS_2$) a été largement étudiée car cette mise en solution est limitée par des phénomènes de passivation : une couche d'oxyde se forme à la surface du Cu et limite la mise en solution en limitant les transferts de matière (Mahmoud et al., 2017). Ce même phénomène a été mis en avant par Hong et Valix (2014) pour la récupération du Cu issu de cartes électroniques par des micro-organismes sulfo-oxydants. Ils observent la formation de Cu_2O à partir d'ions $Cu(I)$ et la formation de $CuSO_4$, qui est moins passivant, à partir d'ions $Cu(II)$. Ces observations leur permettent d'ailleurs de conclure sur le chemin réactionnel de mise en solution du Cu par les protons, qui serait une oxydation en ions cupreux $Cu(I)$ puis en ions cupriques $Cu(II)$.

3.1.4.3. Phénomènes de précipitations

Différents phénomènes de précipitation peuvent avoir lieu au cours des processus de biolixiviation des cartes électroniques. Deux principaux phénomènes sont rapportés : la précipitation de Pb et Sn, ainsi que celle du fer ferrique $Fe(III)$. Ces espèces sont très sensibles au pH dans les milieux de biolixiviation. La précipitation a un fort effet sur les cinétiques et taux de mise en solution. En effet, elle entraîne une diminution du fer ferrique disponible pour l'oxydation des espèces métalliques impliquées dans la biolixiviation. Cela peut également créer une barrière cinétique à cause d'une diffusion lente des réactifs et des produits à travers la zone de précipitation (Daoud et Karamanev, 2006).

➤ *Précipitation du Pb et de Sn*

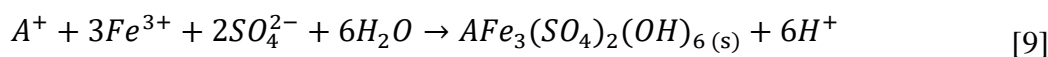
La présence d'un précipité marron-rouge, contenant du Pb et du Sn, est souvent rapporté dans la littérature (Adhapure et al., 2013 ; Ilyas et al., 2010). Il s'agirait d'un mélange de PbSO₄ et de SnO. Les réactions mises en jeu seraient les suivantes :



➤ *Précipitation du Fe(III)*

La précipitation du fer ferrique a été largement étudiée car elle intervient également lors de la biolixiviation de minerais primaires. Elle peut mener à la formation de plusieurs précipités : la jarosite, qui est le précipité le plus souvent identifié, et la schwertmannite, plutôt formée à pH 2 – 4, de formule Fe₈O₈(OH)₆SO₄. Ce précipité, peu stable, a tendance à se transformer, notamment en jarosite, en se décomposant (Wang et al., 2006).

La formation de jarosite implique l'incorporation d'un cation monovalent, noté A⁺, tel que l'ammonium NH₄⁺, le potassium K⁺, le sodium Na⁺ ou l'hydronium H₃O⁺ selon la réaction :



Ces cations monovalents proviennent généralement du milieu nutritif (*cf.* paragraphe 4.1.2). La précipitation du fer ferrique augmente avec le pH. Il faut noter que la formation de jarosite libère des protons dans le milieu. La stabilité de la jarosite suit les enthalpies libres de formation : dans les conditions standards, la jarosite de potassium serait plus stable que la jarosite de sodium et d'hydronium, elles-mêmes plus stables que la jarosite d'ammonium (Gaboreau et Vieillard, 2004). Ceci a été démontré expérimentalement par l'étude de Kaksonen et al. (2014b), qui ont également observé l'influence du pH sur la formation de la jarosite lorsque le milieu contient uniquement du fer. La quantité d'ions K⁺ libres en solution, et donc accessible par les micro-organismes pour leur croissance, décroît rapidement avec l'augmentation du pH et est même nulle pour un pH supérieur à 1,9. La morphologie de la jarosite dépend du cation monovalent inséré, mais aussi des processus impliqués dans la formation de Fe(III) et de la vitesse de précipitation (Sasaki et Konno, 2000). Par exemple, la jarosite de potassium apparaît généralement ronde et granulaire, en chou-fleur, alors que la jarosite d'ammonium est pseudocubique, en demi-prismes à bords tranchants (Kaksonen et al., 2014b).

3.2. Cinétiques de mise en solution

Depuis le début des années 2000, de nombreuses études ont été menées sur la cinétique et les taux de mise en solution des métaux contenus dans les cartes électroniques par biolixiviation acidophile. Ainsi, plus de 60 études en présence d'au moins un micro-organisme ferro-oxydant ont été recensées. Les résultats présentés ici proviennent des 50 études les plus citées et facilement accessibles. Dans la bibliographie, elles sont distinguées par des * au début de la référence. Celles-ci se divisent en deux catégories : celles en erlenmeyer et les autres (réacteurs agités mécaniquement, colonnes à lit fixe, *etc.*). La plupart de ces études ont pour but d'optimiser les cinétiques de dissolution des métaux en modifiant les paramètres opératoires.

3.2.1. Conditions opératoires

Les conditions opératoires utilisées dans les 50 études recensées sont présentées sur la Figure 11.

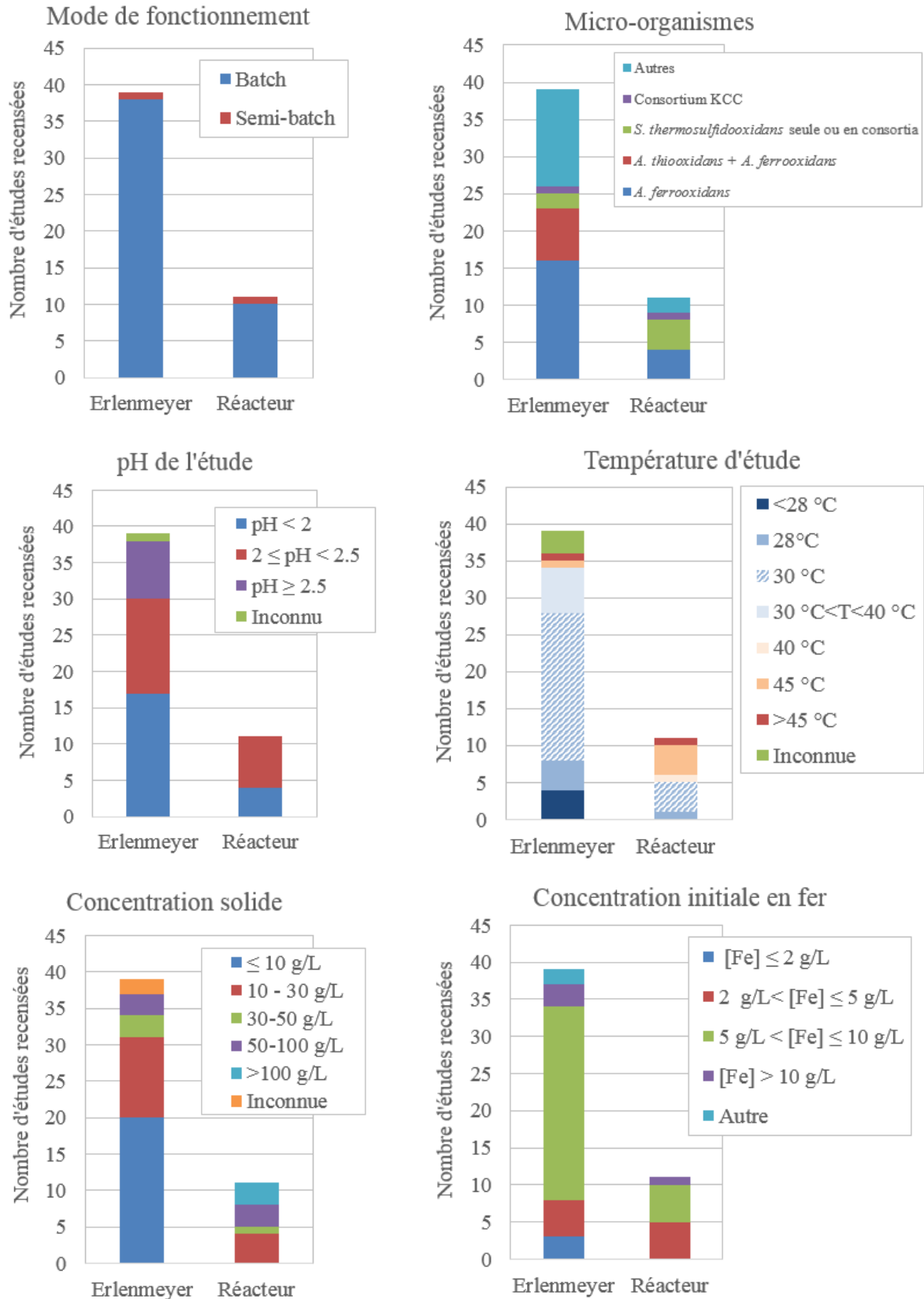


Figure 11: Paramètres opératoires principalement utilisés dans les 50 études recensées (distinguées par * dans la bibliographie) portant sur la biolixiviation acidophile de cartes électroniques en présence de micro-organismes ferro-oxydants.

Aucune étude n'a été menée en continu. Cependant, les études en colonnes ont été effectuées avec des boucles de recirculation. De plus, Nie et al. (2015) et Wu et al. (2018) ont réalisé des

répétitions de batchs successifs. Concernant les micro-organismes étudiés, une grande diversité d'espèces a été testée. *Acidithiobacillus ferrooxidans* est la bactérie qui a été la plus utilisée dans ces études. Cela est probablement lié à la connaissance approfondie de son métabolisme, bien qu'elle ne soit pas majoritairement utilisée dans les réacteurs à l'échelle industrielle (Mahmoud et al., 2017). Dans la biolixiviation de cartes électroniques, elle est parfois étudiée en consortium avec *Acidithiobacillus thiooxidans* car cette dernière permet de produire de l'acide sulfurique à partir de soufre.

Concernant le pH, certaines études en erlenmeyer ont été réalisées à des pH élevés (pH 2,5 ou supérieur). On remarque néanmoins qu'en réacteur, le pH testé est généralement inférieur, probablement pour limiter les phénomènes de précipitation. La température de 30 °C est la plus fréquemment opérée en erlenmeyer. En réacteur, les températures d'étude sont légèrement supérieures. La granulométrie des échantillons, qui n'est pas rapportée ici, a également un effet sur la surface accessible pour la réaction de mise en solution, et donc sur la cinétique.

Enfin, de larges gammes de concentrations de fer dans le milieu de culture et de concentration en solide ont été testées. On remarque que la concentration en solide dans les réacteurs est généralement plus élevée que celle utilisée dans les essais en erlenmeyer, principalement du fait de l'utilisation de colonnes garnies à recirculation (Ilyas et al., 2010 ; Ilyas et al., 2013). Il faut noter que pour certains essais, il n'est pas possible d'évaluer la cinétique de régénération du fer ferrique par les bactéries car la quantité de fer ferrique utilisée dans les essais est en excès stœchiométrique.

3.2.2. Inhibition de la croissance et de l'activité des micro-organismes

Pour la biolixiviation de ressources primaires ou secondaires, la concentration en solide est un paramètre opératoire qui a une forte incidence sur la cinétique de lixiviation. Cette influence est liée à la limitation des transferts de matière en présence d'une concentration en solide élevée (notamment des transferts de gaz à l'interface gaz-liquide), mais aussi à la toxicité que peut avoir le solide et/ou les éléments mis en solution vis-à-vis des micro-organismes. Concernant les cartes électroniques, environ 50 éléments sont présents dans ces déchets et certains d'entre eux provoquent vraisemblablement une inhibition de la croissance et de l'activité des micro-organismes (Ojumu et al., 2008).

La toxicité des cations métalliques issus des cartes électroniques a été largement étudiée à l'aide de solutions synthétiques contenant divers éléments, purs ou en mélange, à des concentrations variables. Les principaux éléments étudiés ont été le Cu, le Ni, le Zn et l'Al, car ce sont les métaux présents à hautes concentrations. La cinétique d'oxydation du Fe(II) en présence de Zn(II) et Ni(II) a été décrite par Nurmi et al. (2009). Les mécanismes de résistance au Cu sur les cultures acidophiles ont été largement étudiés (Mi et al., 2011) mais la cinétique d'oxydation du Fe(II) en présence de Cu(II), Al(III), Ni(II) et Zn(II) a seulement été évaluée récemment par Edward et al. (2018) sur une culture non-adaptée et une culture adaptée à 1 g.L⁻¹ de Cu(II). L'adaptation des bactéries signifie que celles-ci ont été mises au contact d'un élément toxique de manière progressive pour qu'elles développent une résistance vis-à-vis de cet élément (ici le Cu(II)). Suite à cette étude, le Cu(II) serait l'élément qui aurait le plus d'influence sur la cinétique d'oxydation du fer, alors que le mélange des autres éléments aurait peu d'effet inhibiteur. La présence simultanée de Cu(II) et des autres éléments provoque une forte inhibition (plus importante qu'en présence de Cu(II) seul).

Pour évaluer la toxicité des cations métalliques mineurs présents dans les cartes électroniques (Mo, Co, Cd...), l'étude de Choi et al. (2004) porte sur des lixiviats de cartes électroniques ajoutés en proportions variables dans le milieu de culture. Ces lixiviats, obtenus par mise en contact de 50 g.L⁻¹ de cartes électroniques avec de l'acide sulfurique à pH 2 pendant 2 jours, étaient finalement peu concentrés en métaux lourds, ce qui n'a pas permis de démontrer de

fortes incidences sur les cinétiques de bio-oxydation du Fe(II). Cette étude pourrait être effectuée avec des lixiviats plus concentrés pour évaluer l'effet de ces lixiviats. De la même manière, Wu et al. (2018) ont étudié la toxicité des cartes électroniques réelles (charge solide et cations métalliques) en mesurant la vitesse de bio-oxydation du Fe(II) en présence de 0 à 15 g.L⁻¹ de cartes électroniques. Celle-ci est divisée par trois en présence de 15 g.L⁻¹ de cartes électroniques, en comparaison à la cinétique sans déchets.

A cause de ces inhibitions sur la croissance et l'activité des micro-organismes, il pourrait être intéressant d'adapter les bactéries aux déchets de cartes électroniques afin d'atteindre une meilleure résistance des bactéries et une cinétique élevée. Cependant, la composition des déchets étant tellement variable, l'adaptation des cultures serait chronophage et rapidement inutile. Pour éviter l'adaptation tout en ayant des cinétiques rapides, il a été noté dans les études recensées qu'un paramètre d'importance est le délai laissé à la culture pour s'établir avant l'ajout de cartes électroniques. Dès la première étude, Brandl et al. (2001) propose d'opérer en deux étapes pour séparer la croissance des micro-organismes de la lixiviation des cartes électroniques. Sur les 50 études réalisées en biolixiviation des cartes électroniques, 19 ont été réalisées en différenciant le temps d'inoculation du temps d'ajout des cartes électroniques (études notées « 2 étapes ») comme l'illustre la Figure 12.

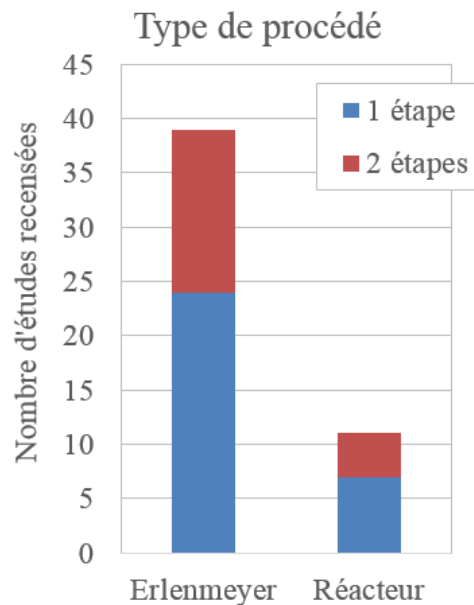
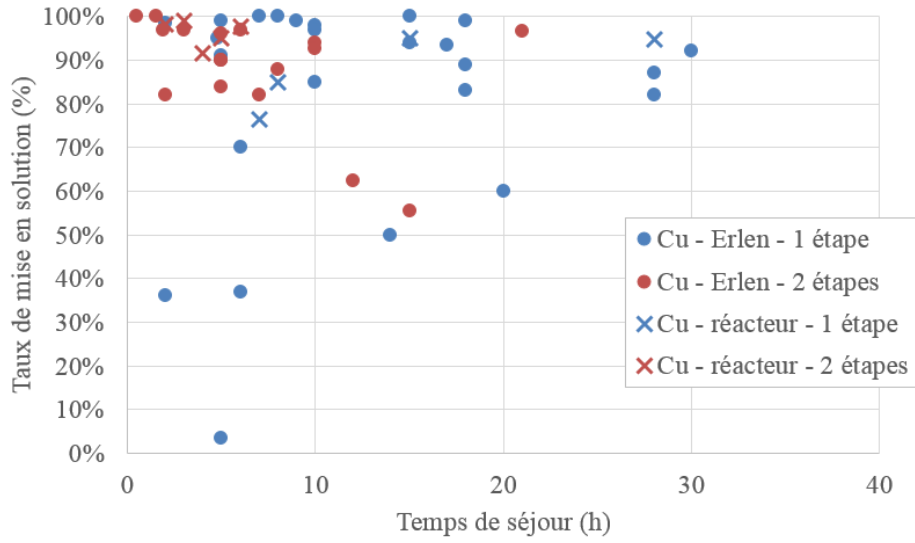


Figure 12: Répartition des études entre celles réalisées en une seule étape (ajout simultané de l'inoculum et des cartes électroniques) et celles réalisées en 2 étapes (addition différée).

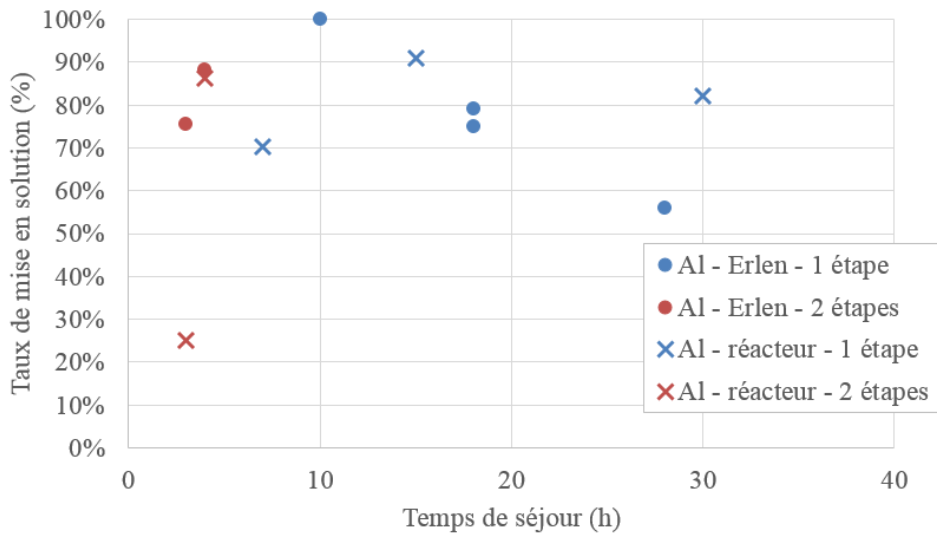
3.2.3. Cinétiques de biolixiviation ferro-oxydante

Le nombre élevé de paramètres opératoires testés a inmanquablement une influence sur la diversité des cinétiques de mise en solution obtenues. Les taux de mises en solution en fonction du temps de séjour sont présentés pour le Cu, l'Al, le Zn, le Ni et le Pb sur la Figure 13. Ces courbes illustrent la diversité des études mais ne peuvent pas être comparées telles quelles puisque les paramètres opératoires des essais varient, et notamment la concentration en solide initiale.

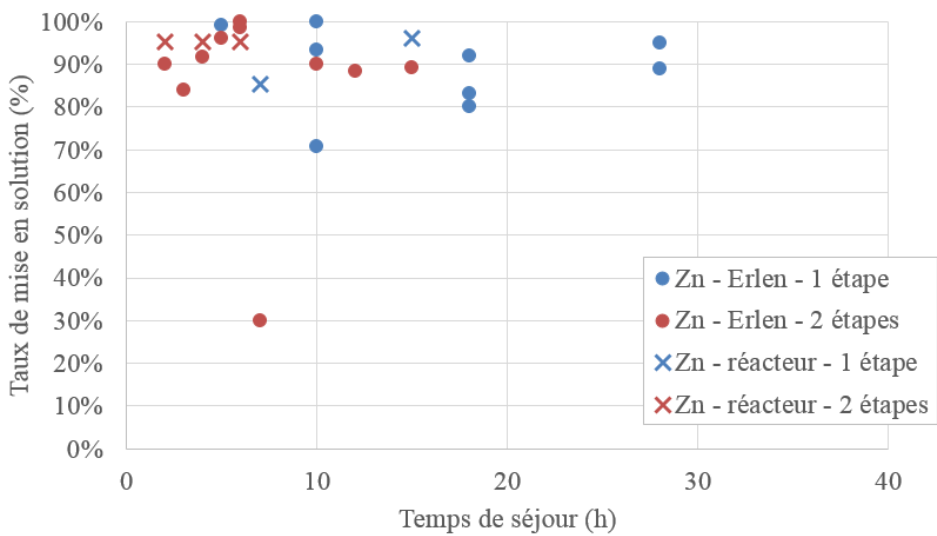
Cuivre



Aluminium



Zinc



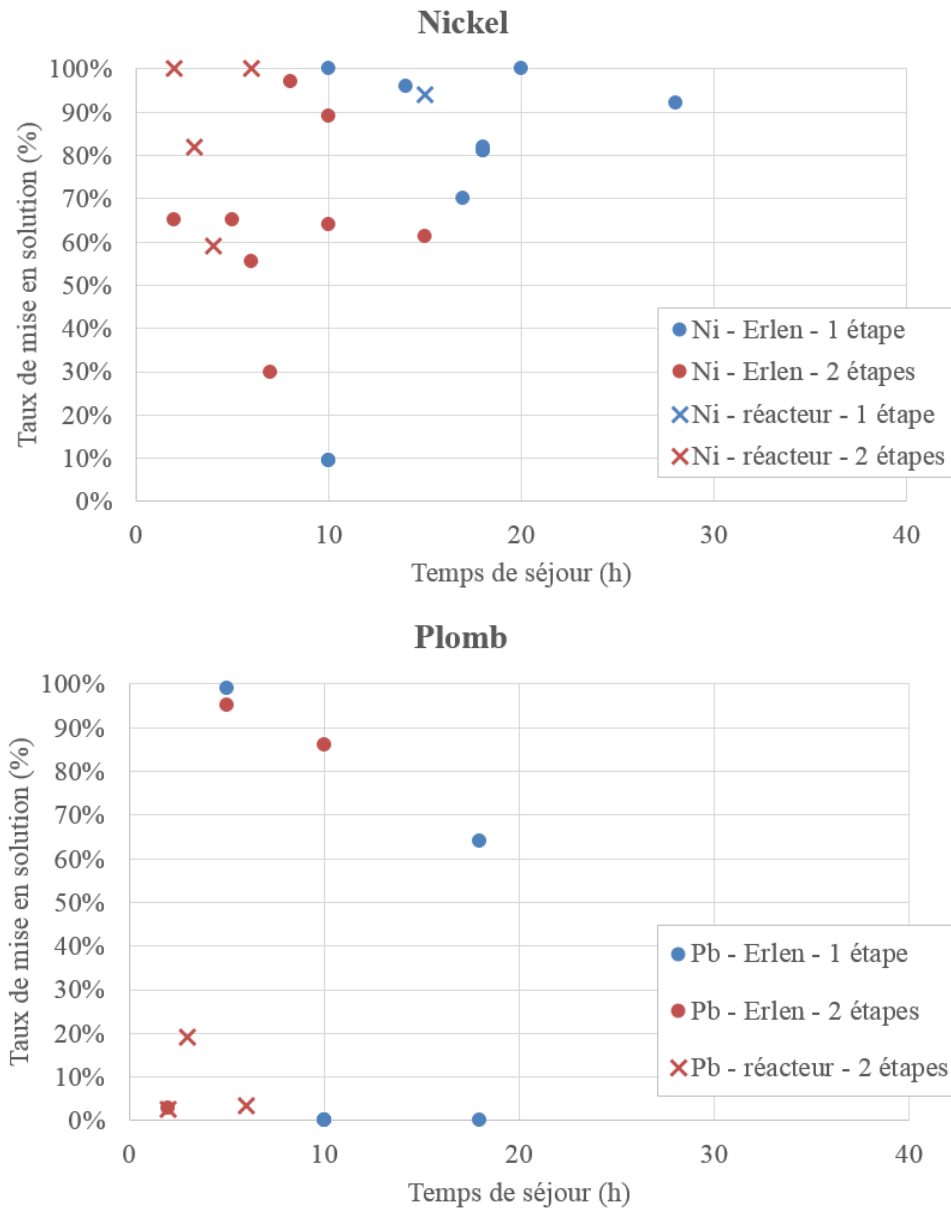


Figure 13: Taux de mise en solution du Cu, Al, Zn, Ni et Pb en fonction du temps de séjour dans les différentes études de la littérature.

Les résultats sont très disparates pour tous les métaux. On peut cependant noter que les taux de mise en solution obtenus restent très élevés pour le Cu, le Zn et le Ni. La différence entre les études avec addition simultanée ou différée des cartes électroniques et de l'inoculum est notable : bien que les taux de mises en solution soient équivalents, les temps de séjour pour les atteindre sont sensiblement réduits dans les essais en 2 étapes.

Les vitesses de mise en solution varient également beaucoup comme le montre la Figure 14 et la Figure 15 : le taux et la vitesse de mise en solution du Cu, de l'Al, du Zn et du Ni sont donnés en fonction de la concentration en solide. Un facteur 100 est obtenu entre certaines cinétiques. Bien que variés, les résultats sont très prometteurs. Cette variabilité des vitesses de mise en solution est probablement liée à la diversité des méthodes utilisées : certaines études exposent des vitesses instantanées maximales, alors que d'autres expriment des vitesses moyennes entre le début de la mise en solution et l'atteinte du taux maximal de mise en solution.

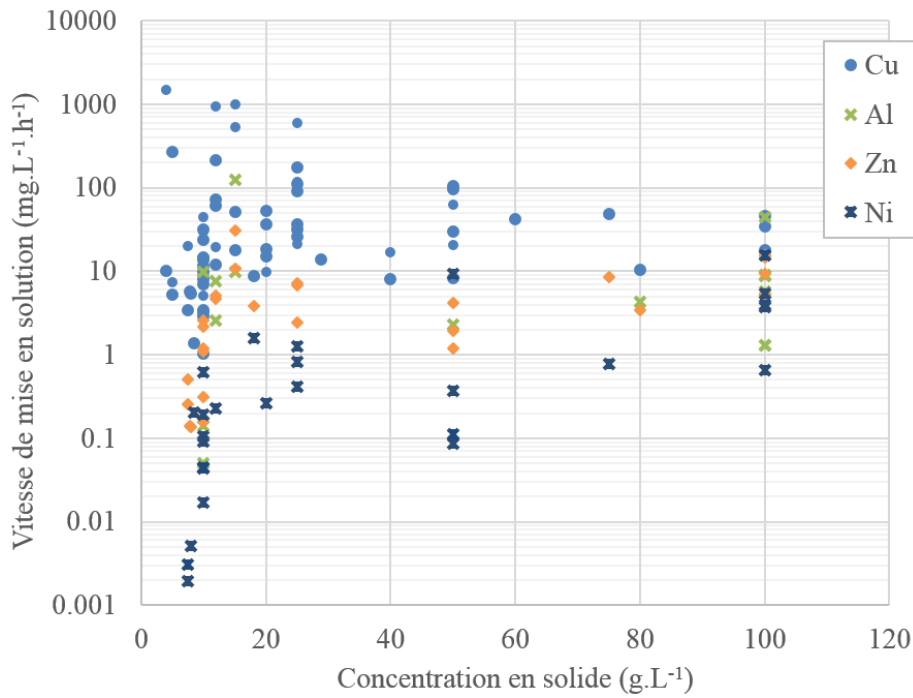


Figure 14: Vitesse de mise en solution du Cu, de l'Al, du Zn et du Ni en fonction de la concentration en solide dans les différentes études.

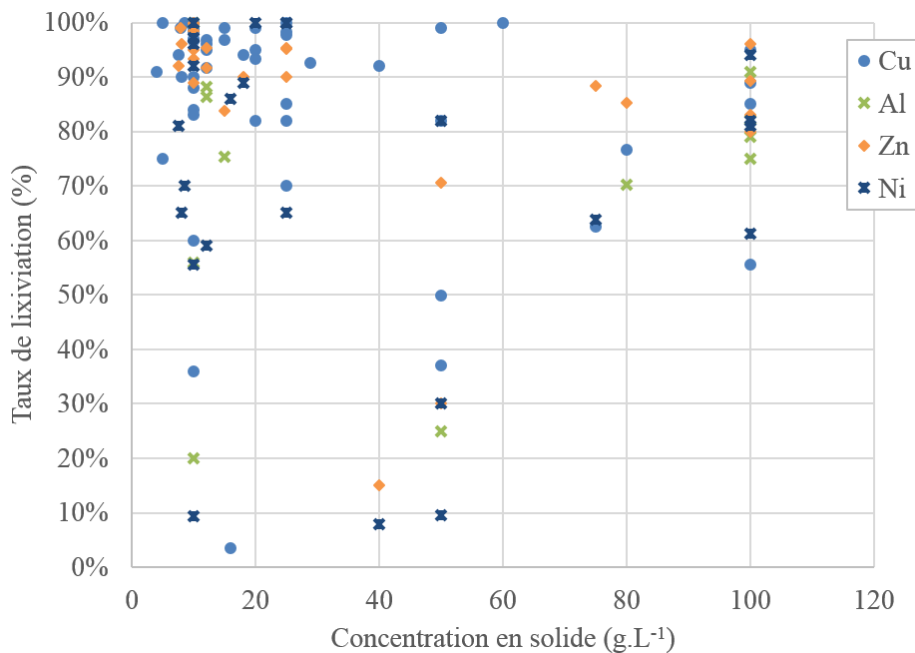


Figure 15: Taux de mise en solution du Cu, de l'Al, du Zn et du Ni en fonction de la concentration en solide dans les différentes études.

La variation du pH lors de la biolixiviation acidophile est elle aussi différente d'une étude à l'autre. Plusieurs phénomènes entrent en jeu : la lixiviation des métaux et la régénération du Fe(III) qui consomment des protons, la précipitation de jarosite selon la réaction [9] qui en libère et parfois l'oxydation du soufre en acide sulfurique par des micro-organismes sulfuroxydants qui en produit. Selon les conditions opératoires, la vitesse de consommation des protons est donc très variable. Il est souvent rapporté que les cartes électroniques ont un caractère alcalin, qui se traduit par une augmentation rapide du pH lors de l'ajout des cartes (Brandl et al., 2001).

Outre les différences de conditions opératoires et de méthodologies, la disparité de tous ces résultats peut provenir de plusieurs phénomènes :

- Elle peut reposer sur des différences de spéciation des métaux dans l'échantillon initial. Si le métal est présent sous forme d'alliage ou d'oxyde, il sera parfois impossible de le lixivier par réaction d'oxydo-réduction avec du fer ferrique. Or, cela ne sera pas visible lors de la caractérisation initiale qui indique généralement une concentration élémentaire totale. Par ailleurs, la spéciation influence des phénomènes tels que la cémentation, comme présenté précédemment, ou l'attachement des bactéries.
- Ces variations peuvent également provenir d'une faible reproductibilité des expérimentations liée à de fortes variations sur les teneurs métalliques entre échantillons. Comme nous l'avons vu précédemment, il n'existe pas de procédure simple pour obtenir des échantillons reproductibles et représentatifs ; par ailleurs, il est difficile de broyer les cartes électroniques à des tailles de particules inférieures à 500 μm . Or, dans les études en erlenmeyer, les masses d'échantillons de cartes électroniques destinées à être lixiviées sont de l'ordre de 0,5 à 3 g. Des tailles de particules très réduites sont nécessaires pour limiter l'hétérogénéité dans des échantillons de faibles masses. Ainsi, il est difficile de conclure sur la fiabilité des résultats obtenus dans certaines expériences. Dans l'étude de Willscher et al. (2007), les taux de mise en solution de Cu obtenus pour un quadruplicat sont 4%, 12%, 41%, 100% alors même que la concentration en solide est de 40 g.L^{-1} . Les morceaux de cartes électroniques lixiviés ont cependant une taille d'environ 1 cm^2 , provoquant une hétérogénéité importante d'un échantillon à un autre, ce qui empêche de tirer des conclusions de ces expériences.
- Les compositions des déchets de cartes électroniques traités évoluent par ailleurs rapidement du fait de la modification des technologies. Ainsi, les éléments mineurs présents dans les cartes lors de la première étude réalisée par Brandl et al. (2001) ne sont plus nécessairement identiques, et cela peut avoir une incidence sur la toxicité des déchets sur les micro-organismes.
- La disparité des résultats peut aussi reposer sur des différences de transfert de matière, notamment du dioxygène. Cette molécule est indispensable à la biolixiviation car elle entre en compte dans les réactions de régénération du fer ferrique. Les études en erlenmeyer ne permettent pas de contrôler sa concentration dans la phase liquide. Les études en réacteur ne précisent pas les vitesses de transfert de la phase gaz à la phase liquide.

Cette technologie n'est donc pour l'instant pas mature, mais elle semble prometteuse. Les études réalisées en batch nous donnent des indications sur l'évolution des systèmes au cours du temps, pour différents procédés, mais il n'y a pas d'étude sur les résultats qui pourraient être obtenus en réacteur continu à l'état stationnaire.

L'étude qui s'approche le plus de l'état stationnaire est l'étude de Nie et al. (2015), en batchs successifs, qui est réalisée en bioréacteur en deux étapes. Un premier bioréacteur permet la croissance bactérienne et la production d'une solution biolixivante contenant du Fe(III), qui est ensuite injectée dans un second réacteur, au contact de 12 g.L^{-1} de cartes électroniques. La répétition de batchs successifs permet la lixiviation de 91% du Cu lors de chaque répétition. Le nombre de répétitions n'est toutefois pas précisé dans cette étude.

3.2.4. Comparaison à la lixiviation abiotique par le fer ferrique

Comme nous l'avons mentionné précédemment, la biolixiviation se fait à la fois par contact direct et indirect des bactéries avec les particules de cartes. Ainsi, la comparaison des cinétiques de mise en solution abiotique et biotique devrait mettre en évidence de meilleurs résultats en présence des bactéries.

Une étude de lixiviation abiotique de cartes électroniques en présence de fer ferrique en milieu sulfurique a été menée par Yazici et Deveci (2014). Ils ont déterminé l'ordre d'influence des paramètres sur la cinétique de lixiviation du Cu : la température serait le facteur qui a le plus d'effet sur la cinétique, suivi par la concentration de fer et enfin la concentration en acide sulfurique. Dans les conditions les plus proches de celles de la biolixiviation (pH 0,8, Fe(III) à $15,6 \text{ g.L}^{-1}$, $50 \text{ }^\circ\text{C}$, 10 g.L^{-1} de cartes électroniques), les résultats obtenus pour la lixiviation du Cu sont 53,9% et 97,8% en 5 minutes et 2 heures respectivement, ce qui correspond à une cinétique maximale de mise en solution du Cu (vitesse moyenne entre 0 et 5 minutes) de $12,0 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Les vitesses de dissolution du Ni, de l'Ag et du Pd sont de 7,8, 0,74 et $0,25 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ respectivement, correspondant à des taux de dissolution de 36,4%, 21,4% et 51,3%. Ces taux sont supérieurs à ceux présentés sur la Figure 14. Il faut cependant noter que la concentration en fer ferrique dans ces conditions est en excès : le besoin stœchiométrique en Fe(III) est estimé à $5,2 \text{ g.L}^{-1}$ par rapport aux concentrations métalliques données. Par ailleurs, l'augmentation de la concentration en solide a des effets dévastateurs sur les taux de mise en solution obtenus à cause d'un manque de Fe(III) dans ces conditions. La régénération du fer ferrique par les micro-organismes est donc un atout essentiel pour maintenir des cinétiques rapides de lixiviation des métaux en présence de hautes concentrations en solide tout en évitant l'ajout de grandes quantités de fer ferrique, qui gêneront les étapes aval d'affinage (purification des cations métalliques et mise en forme des produits finis ou semi-finis).

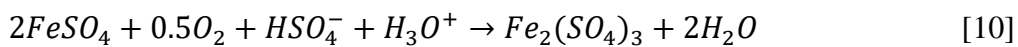
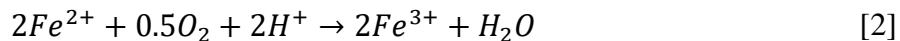
4. Bio-oxydation du fer ferreux

Cette partie aborde plus spécifiquement la bio-oxydation du fer ferreux en fer ferrique, l'un des mécanismes-clés mis en jeu dans la biolixiviation des métaux contenus dans les cartes électroniques.

4.1. Mécanismes

4.1.1. Réactions en jeu

La bio-oxydation est un processus qui implique des oxydations chimiques et biologiques simultanées, en présence de sulfates. Les réactions mises en jeu sont les suivantes :



4.1.2. Fonctionnement des bactéries ferro-oxydantes

L'oxydation du fer ferreux par les bactéries ferro-oxydantes est leur unique source d'énergie. Cette énergie est utilisée pour :

- Leur maintenance dans un environnement acide : pour maintenir leur pH interne, qui est plus élevé que le pH du milieu, il leur faut une source d'électrons, comme présenté sur la Figure 16.

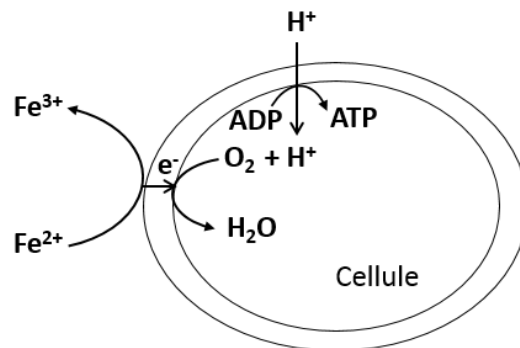
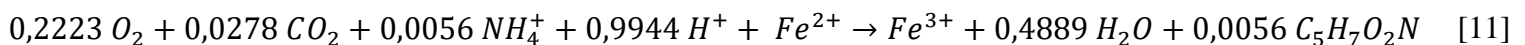


Figure 16: Maintenance des bactéries ferro-oxydantes par transfert d'électrons, d'après Nemati et al. (1998).

- Leur croissance : pour une mole de Fe(II) oxydée, il y aurait 0,0056 mole de biomasse créée selon la réaction (Hatzikioseyan et Tsezos, 2006):



Cette réaction illustre également le besoin en nutriments pour créer de la biomasse. La croissance des micro-organismes requiert la présence d'éléments tels que NH_4^+ , Mg^{2+} , K^+ , Ca^{2+} et PO_4^{3-} dans le milieu. Il existe une grande diversité de milieux nutritifs, qui contiennent ces éléments à des teneurs variables. Parfois, des éléments traces, tels que Mn^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , H_3BO_3 et Na_2MoO_4 (Kaksonen et al., 2014a) ou une source de carbone organique (telle que le glucose lorsque des micro-organismes hétérotrophes sont cultivés) sont ajoutés à ces éléments.

4.2. Cinétiques

4.2.1. Vitesses d'oxydation en batch

Les cinétiques de bio-oxydation par des micro-organismes ferro-oxydants ont été largement étudiées. Quelques exemples de vitesse maximale d'oxydation et de bio-oxydation du fer ferreux en batch sont rassemblés dans le Tableau 8. Une différence notable est obtenue entre les études en présence et en l'absence de micro-organismes.

Tableau 8: Taux d'oxydation du fer ferreux maximaux obtenus en batch par différents auteurs.

	pH	Température (°C)	[Fe(II)] (g.L ⁻¹)	Vitesse d'oxydation (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	Etude
Abiotique	1	30	0,056	1,7.10 ⁻²	Huffman et Davidson, 1956
Abiotique	0	30	1,4	7,4.10 ⁻²	Huffman et Davidson, 1956
Abiotique	0	30	11,1	6,8	Lamb et Elder, 1931
Abiotique	1	30	0,5 – 55	38,2	Mathews et Robins, 1972
<i>L. ferriphilum</i>	1,5	40	5 – 10	240	Penev et Karamanev, 2010
<i>L. ferriphilum</i>	1,3	42	12	286	Ojumu et al., 2009
<i>L. ferriphilum</i>	1,7	37	5,5	221	Bryan et al., 2012
<i>A. ferrooxidans</i>	2,0	20	1,1	240	Lacey et Lawson, 1970
<i>A. ferrooxidans</i>	1,5	35	20	470	Nemati et Harrison, 2000
<i>A. brierley</i>	1,8	68	7,5	133	Nemati et Harrison, 2000
<i>S. thermosulfidooxidans</i>	1,5	50	10	697	Pina et al., 2010

Une forte disparité entre les résultats est visible. Cela est dû à des conditions opératoires très hétérogènes et à certains paramètres clés peu contrôlés, tels que la vitesse de transfert gaz/liquide de l'oxygène et la concentration en oxygène dissous dans le milieu. Pour un même micro-organisme étudié, cela peut également s'expliquer par des différences d'état physiologique des cultures. Les articles de revue sur la bio-oxydation du fer ferreux soulignent ces incohérences entre les différentes études (Nemati et al., 1998).

4.2.2. Vitesses d'oxydation en continu

Les études portant sur la bio-oxydation du fer ferreux, basées sur des dispositifs expérimentaux en continu, développées pour un vaste nombre d'applications, sont là encore nombreuses. Une partie de ces études et des vitesses d'oxydation obtenues est rassemblée dans le Tableau 9.

Comme en batch, on observe une forte disparité des résultats qui peut s'expliquer par des différences majeures de paramètres opératoires. Les premiers paramètres qui influencent significativement les cinétiques sont les caractéristiques du flux d'alimentation, c'est-à-dire son pH (Kaksonen et al., 2014a; Kinnunen et Puhakka, 2005) et sa concentration en fer ferreux (Gómez et Cantero, 2003). La composition du flux gazeux est un second paramètre qui permet d'éviter les limitations en CO₂ (nécessaire pour la croissance bactérienne comme seule source de carbone), et/ou en O₂ (nécessaire pour la bio-oxydation du fer ferreux, cf. réaction [2]). Bastías et Gentina (2010) ont amélioré les performances de leur bioréacteur en enrichissant l'air avec 4% de CO₂. Kinnunen et Puhakka (2004) ont détecté une limitation en oxygène lorsqu'ils

utilisaient de l'air et ont utilisé un mélange à 99,5% O₂/0,5% CO₂ pour obtenir une vitesse de bio-oxydation maximale de 26,4 g.L⁻¹.h⁻¹.

Ce paramètre est étroitement lié à la présence et au type de support solide, qui va influencer les transferts de matière gaz-liquide en modifiant l'agitation dans le réacteur. Ce support est utilisé pour maintenir la biomasse dans le réacteur continu et ainsi éviter qu'elle soit lessivée lorsque les temps de séjour sont inférieurs à leur temps de doublement. D'après Karamanev et Nikolov (1988), il semble que les bactéries attachées soient beaucoup moins sensibles aux conditions extérieures que les bactéries planctoniques. Dans les premières études portant sur ce sujet, aucun support solide n'était utilisé, ce qui limitait les performances, surtout pour de faibles temps de séjour (Halfmeier et al., 1993a).

Tableau 9: Vitesses et taux d'oxydation du fer ferreux maximaux obtenus en continu par différents auteurs (« CSTR » renvoie à « Continuous Stirred Tank Reactor »).

Espèce	Type de réacteurs	Temps de séjour (h)	[Fe(II)] (g.L ⁻¹)	Vitesse d'oxydation (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	Taux de conversion (%)	Etude
<i>A. ferrooxidans</i>	CSTR 4 L	6 – 12,5	0,2 - 3	420	-	MacDonald et Clark, 1970
<i>A. ferrooxidans</i>	CSTR 10 L	6 – 100	5 – 9	530	77%	Guay et Silver, 1977
<i>A. ferrooxidans</i>	Airlift 3 L	8 – 50	9	770	90%	Halfmeier et al., 1993a
<i>A. ferrooxidans</i>	Airlift 3 L avec support	8 – 50	9	3600	90%	Halfmeier et al., 1993b
<i>A. ferrooxidans</i>	CSTR 5L	16 – 100	1 – 8,5	450	82%	Gómez et Cantero, 2003
<i>A. ferrooxidans</i>	Colonne à lit fixe 1,35 L	4 – 12,5	1 – 8,5	1100	93%	Gómez et Cantero, 2003
<i>L. ferrooxidans</i>	CSTR 1,25 L	10 – 33	9 – 28	40 g/g _{prot} /h	-	Bastías et Gentina, 2010
Culture mixte avec <i>L. ferrooxidans</i>	Lit fluidisé 0,9 L et charbon actif	0,2 – 0,6	6,9	6900 – 26400	99%	Kinnunen et Puhakka, 2004
Culture mixte avec <i>L. ferrooxidans</i>	Lit fluidisé 0,9 L et charbon actif	3,4 – 4,8	7 – 21	600 – 10000	99%	Kinnunen et Puhakka, 2005
Culture mixte avec <i>L. ferrooxidans</i>	Lit fluidisé 0,4 L et charbon actif	1,9 – 3,4	7 – 21	600 – 10000	99%	Kinnunen et Puhakka, 2005
Culture mixte avec <i>L. ferrooxidans</i>	Airlift 3 L	0,25 – 4	5,6	5500 – 8100	68% - 98%	Ebrahimi et al., 2005
Culture mixte avec <i>L. ferrooxidans</i>	Colonne à lit fixe 0,105 L	2,5 – 5	2,8 – 11,2	3900	100%	Looms, 2014
Culture mixte avec <i>L. ferrooxidans</i>	CSTR 2 étages	6 – 45	15	1800	99%	Kaksonen et al., 2014a
Culture mixte avec <i>L. ferrooxidans</i>	Airlift 2 étages	8 – 45 10 – 50	15	810	99%	Kaksonen et al., 2014c
<i>L. ferriphilum</i>	CSTR 1 L	7.8 – 6.7	5	600	-	Ojumu et al., 2008
<i>L. ferriphilum</i>	CSTR 1 L	7.8 – 6.7	12	900	99,5%	Ojumu et al., 2009
<i>L. ferriphilum</i>	CSTR 1 L	10 – 66	12	950	-	Ojumu et Petersen, 2011

De nombreux supports solides ont été développés et testés (Grishin et Tuovinen, 1988), tels que le polystyrène (Karamanev et Nikolov, 1988), le sable de quartz (Halfmeier et al., 1993b), des fibres en alliage Ni (Gómez et Cantero, 2003) ou encore du charbon actif (Kinnunen et Puhakka, 2004). Le but était d'obtenir de grandes surfaces spécifiques pour permettre l'attachement d'un grand nombre de cellules sans ralentir les transferts de matières. Le charbon actif a été remarqué comme l'un des meilleurs supports solides en termes de performances de bio-oxydation grâce à sa haute porosité qui permet la rétention de grandes quantités de biomasse (Jensen et Webb, 1995). Grishin et Tuovinen (1988) observent un taux d'oxydation maximal de $52,6 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ dans leur bioréacteur en présence de charbon actif.

Cependant, du fait de la présence de grandes quantités de fer ferrique dans les bioréacteurs, Ebrahimi et al. (2005) suggèrent que la formation de précipités, principalement de jarosite comme expliqué précédemment (*cf* paragraphe 3.1.4.3), modifie les cinétiques de bio-oxydation sur de longues périodes de temps en affectant les transferts de matières à proximité des supports solides. Pendant 6 mois, Halfmeier et al. (1993b) ont fait fonctionner un réacteur à lit fixe en continu et ont mis en lumière des limitations de transfert et des problématiques de stabilité des résultats à long terme. Kinnunen et Puhakka (2004) ont eux aussi montré que l'accumulation de jarosite dans leur réacteur à lit fluidisé posait un problème de stabilité lors du retrait de ces précipités, car les cellules étaient attachées sur ces précipités. Ils ont aussi mis en avant des difficultés pour maintenir un taux constant de formation de jarosite dans le temps, empêchant de maintenir la stabilité des performances globales du réacteur (Kinnunen et Puhakka, 2005). L'utilisation d'un décanteur par Kaksonen et al. (2014a, 2014c) pour retirer l'excès de précipités a permis de résoudre ce problème en contrôlant le taux de précipités dans le réacteur. Ainsi, le design du bioréacteur utilisé a un rôle sur la cinétique de bio-oxydation. Un support adapté à l'attachement des bactéries et l'élimination de la jarosite sont essentiels pour contrôler les performances du bioréacteur sur de longues périodes de temps.

4.2.3. Comparaison avec les cinétiques de mise en solution

En comparant les études portant sur la bio-oxydation du fer ferreux et celles portant sur la biolixiviation des cartes électroniques, on observe que les cinétiques de bio-oxydation, qui correspondent à la cinétique maximale de régénération du fer ferrique dans le réacteur, sont du même ordre de grandeur que les cinétiques de mise en solution des métaux, bien que la toxicité des éléments des cartes électroniques doive être prise en compte. Néanmoins, au vu des cinétiques rapides de lixiviation en présence d'un excès de fer ferrique, on peut supposer que les cinétiques de biolixiviation sont limitées par la vitesse de régénération du fer ferrique par les bactéries. Cela peut expliquer la grande variété de résultats obtenus en biolixiviation, en fonction de l'état physiologique de la culture. Cette hypothèse d'une limitation cinétique par la régénération du fer ferrique a également été formulée par Wu et al. (2018).

5. Conclusion

En hydrométallurgie, il est nécessaire de déchiqeter les cartes électroniques pour rendre les métaux accessibles aux réactifs de lixiviation. Les difficultés rencontrées lors de ce broyage sont nombreuses et sont principalement liées à la présence de métaux ductiles. Il semble qu'il soit nécessaire de réduire la taille des particules en dessous de 1 mm environ pour s'assurer d'une bonne accessibilité. Plus la granulométrie sera réduite, plus la surface réactionnelle pour la biolixiviation sera importante.

Cependant, il n'existe pas de protocole précis pour contrôler la reproductibilité et la représentativité des échantillons obtenus suite au broyage et à la division de l'échantillon en sous-échantillons. Quelques données ont été obtenues à l'échelle industrielle et à l'échelle du laboratoire sur ces questions mais il existe peu d'évaluation de ces protocoles. Une multitude de méthodes de caractérisation des échantillons obtenus a été rapportée dans la littérature. Aucune méthode ne permet de caractériser entièrement et de façon fiable les échantillons et une combinaison de plusieurs méthodes semble nécessaire. L'utilisation d'une minéralisation à l'eau régale suivie d'une analyse élémentaire de la solution obtenue semble être la méthode la plus facile à mettre en œuvre tout en permettant d'analyser des masses importantes d'échantillon (> 20 g) compatibles avec un échantillonnage représentatif. Par ailleurs, il existe très peu de méthodes permettant d'acquérir facilement des informations sur la spéciation des métaux dans les cartes électroniques.

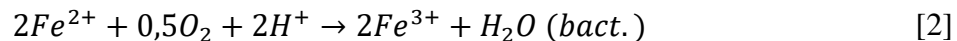
Le Chapitre I nous a montré que la biolixiviation est une opération qui peut présenter des avantages dans la chaîne de recyclage des cartes électroniques, et en particulier la biolixiviation acidophile, qui est aujourd'hui développée à l'échelle industrielle pour le traitement de minerais contenant du Cu, du Ni, de l'Au, *etc.* Les processus qui entrent en jeu sont complexes et impliquent plusieurs réactions chimiques et biologiques simultanées. Suite à de nombreuses années de recherche, la biolixiviation acidophile de minerais primaires est bien comprise et maîtrisée. Le développement de cette biolixiviation pour le traitement des cartes électroniques a démarré en 2001, ce qui n'en fait pas, à l'heure actuelle, une technologie mature. Cependant, les nombreuses études déjà réalisées sont prometteuses.

Deux réactions majeures entrent en jeu dans la biolixiviation acidophile des cartes électroniques :

- La lixiviation des métaux (à l'état d'oxydation 0, M^0) par le fer ferrique Fe(III)



- La régénération du fer ferrique par action des bactéries ferro-oxydantes



D'autres réactions parallèles ont lieu au cours du procédé de biolixiviation telles que la lixiviation des métaux par les protons, la céméntation, des réactions de passivation et différents phénomènes de précipitation. Le contact des micro-organismes avec les métaux est nécessaire pour obtenir des cinétiques élevées. Cependant, en raison de la toxicité des cartes électroniques sur les micro-organismes, un réacteur à deux étages qui permet d'abord l'établissement d'une culture robuste avant l'ajout des cartes électroniques semble nécessaire.

Une grande variété de cinétiques de bio-oxydation et de biolixiviation ont été obtenues dans la littérature. Il semble que la cinétique de biolixiviation soit limitée par l'étape de bio-oxydation

(régénération du fer ferrique). Ces différences peuvent s'expliquer par des différences de micro-organismes et conditions opératoires, des différences de transferts de matières, ou encore des différences au niveau de l'échantillonnage des cartes électroniques (composition élémentaire et spéciation). Pour aller plus loin, il est donc indispensable de mettre en place une méthodologie permettant de réduire cette variabilité de résultats :

- ✓ Lors de l'étape de préparation et de caractérisation des échantillons de cartes électroniques qui seront utilisés lors de la biolixiviation, en définissant un protocole clair et en évaluant la variabilité des échantillons.
- ✓ Lors de la biolixiviation, en développant un réacteur à 2 étages qui permette d'obtenir des résultats reproductibles en contrôlant finement les paramètres opératoires.

Le premier étage de ce réacteur aura pour but la production de biomasse et d'une solution lixiviante de fer ferrique, alors que le deuxième étage servira à mettre en contact cette solution avec les cartes électroniques. Le contact bactéries – métal étant de première importance, il est nécessaire de mettre au point un premier étage qui favorisera le maintien de la culture au cours du temps, tout en permettant le transfert d'une partie des bactéries vers le second étage. Le schéma du procédé est présenté sur la Figure 17. S'adapter à l'évolution de la composition des déchets dans le temps est rendu possible grâce à ce type de réacteur.

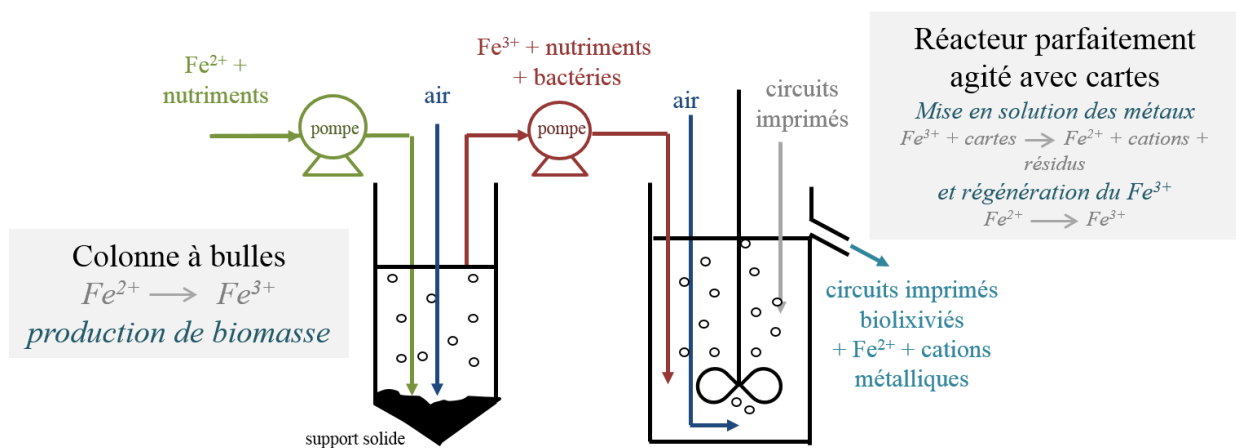


Figure 17: Schéma du procédé double étage développé dans cette étude.

Chaque partie du procédé sera évaluée indépendamment, en batch et en continu. Les métaux cibles de l'étude seront les métaux suivants : Cu – Ni – Zn – Pb – Sn – Co, pour leur intérêt économique et/ou leurs fortes teneurs et /ou leur criticité.

6. Références

* Adhapure, N.N., Waghmare, S.S., Hamde, V.S., Deshmukh, A.M., 2013. Metal Solubilization from Powdered Printed Circuit Boards by Microbial Consortium from Bauxite and Pyrite Ores, *Applied Biochemistry and Microbiology*, **49**, 3, 256–262.

* Adhapure, N.N., Dhakephalkar, P.K., Dhakephalkar, A.P., Tembhurkar, V.R., Rajgure, A.V., Deshmukh, A.M., 2014. Use of large pieces of printed circuit boards for bioleaching to avoid 'precipitate contamination problem' and to simplify overall metal recovery, *MethodsX*, **1**, 181-186.

AFNOR, 2001. Aspects statistiques de l'échantillonnage des matériaux en vrac - Echantillonnage des matériaux particuliers, norme ISO 11648-2:2001, 107p.

AFNOR, 2008. Poudres pour emploi en métallurgie des poudres – Échantillonnage, norme ISO 3954:2008, 8p.

AFNOR, 2008. Préparation des échantillons de laboratoire à partir d'échantillons de grande taille, norme ISO 23909:2008, 18p.

AFNOR, 2013. Plastiques — Plastiques recyclés — Procédures d'échantillonnage pour l'essai des déchets de plastiques et des recyclats, norme XP CEN/TS 16010, 24 p.

AFNOR, 2014. Détermination de certaines substances dans les produits électrotechniques. Du cadmium, du plomb et du chrome dans les polymères et les produits électroniques, du cadmium et du plomb dans les métaux par AAS, AFS, ICP-OES et ICP-MS, Norme française EN 62321-5, 121 p.

Amiri, F., Mousavi, S. M., Yaghmaei, S., 2011. Enhancement of bioleaching of a spent Ni/Mo hydroprocessing catalyst by *Penicillium simplicissimum*, *Sep. Purif. Technol.*, **80**, 566–576.

* Arshadi, M., Mousavi, S.M., 2014. Simultaneous recovery of Ni and Cu from computer printed circuit boards using bioleaching: Statistical evaluation and optimization, *Bioresource Technology*, **174**, 233–242.

* Arshadi, M., Mousavi, S.M., 2015. Multi-objective optimization of heavy metals bioleaching from discarded mobile phone PCBs: Simultaneous Cu and Ni recovery using *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Separation and Purification Technology*, **147**, 210–219.

Asghari, I., Mousavi, S. M., Amiri, F., Tavassoli, S., 2013. Bioleaching of spent refinery catalysts: A review, *J. Ind. Eng. Chem.*, **19**, 1069–1081.

* Bai, J., Wang, J., Xu, J., Zhou, M., Guan, J., Zhang, C., 2009. Microbiological recovering of metals from printed circuit boards by *Acidithiobacillus ferrooxidans*, Proceedings for the IEEE International Symposium on Sustainable Systems and Technology.

* Bai, J., Gu, W., Dai, J., Zhang, C., Yuan, W., Deng, M., Luo, X., Wang, J., 2016. The catalytic role of nitrogen-doped carbon nanotubes in bioleaching copper from waste printed circuit boards, *Pol. J. Environ. Stud.*, **25** (3), 951-957.

* Bas, A.D., Deveci, H., Yazici, E.Y., 2013. Bioleaching of copper from low grade scrap TV circuit boards using mesophilic bacteria, *Hydrometallurgy*, **138**, 65–70.

Bastías, M., Gentina, J. C., 2010. Variables affecting the growth and ferrous oxidation capacity of *L. ferrooxidans* in continuous culture, *Hydrometallurgy*, **104**, 351–355.

Birloaga, I., De Michelis, I., Ferella, F., Buzatu, M., Vegliò, F., 2013. Study on the influence of various factors in the hydrometallurgical processing of waste printed circuit boards for copper and gold recovery, *Waste Management*, **33**, 935–941.

Blais, J. F., Tyagi, R. D., Auclair, J. C., 1993. Bioleaching of metals from sewage sludge: Microorganisms and growth kinetics, *Water Res.*, **27**, 101–110.

* Brandl, H., Bosshard, R., Wegmann, M., 2001. Computer-munching microbes: metal leaching from electronic scrap by bacteria and fungi, *Hydrometallurgy*, **59**, 319–326.

Bryan, C.G., Davis-Belmar, C.S., Van Wyk, N., Fraser, M.K., Dew, D., Rautenbach, G.F., Harrison, S.T.L., 2012. The effect of CO₂ availability on the growth, iron oxidation and CO₂ fixation rates of pure cultures of *Leptospirillum ferriphilum* and *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Biotechnology and bioengineering*, **109**, 7, 1693-1703.

* Bryan, C.G., Watkin, E.L., McCredden, T.J., Wong, Z.R., Harrison, S.T.L., Kaksonen, A.H., 2015. The use of pyrite as a source of lixiviant in the bioleaching of electronic waste. *Hydrometallurgy*, **152**, 33–43.

Cerruti, C., Curutchet, G., Donati, E., 1998. Bio-dissolution of spent nickel–cadmium batteries using *Thiobacillus ferrooxidans*, *J. Biotechnol.*, **62**, 209–219.

* Choi, M.S., Cho, K.S., Kim, D.S., Kim, D.J., 2004. Microbial recovery of copper from printed circuit boards of waste computer by *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *J. Environ. Sci. Health Part A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.*, **39**, 2973–2982.

* Chen, S., Yang, Y., Liu, C., Dong, F., Liu, B., 2015. Column bioleaching copper and its kinetics of waste printed circuit boards (WPCBs) by *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Chemosphere*, **141**, 162-168.

Daoud, J., Karamanev, D., 2006. Formation of jarosite during Fe²⁺ oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Minerals Engineering*, **19**, 9, 960-967.

Demirel, C., Menekşe, M., Balci, N., Seref Sonmez, M., 2014. Bioleaching of metals from printed circuit boards by *Acidithiobacillus thiooxidans*, Conference Paper for IMMC.

Deverly, F., 1984. « Echantillonnage et Géostatistique », Thèse de doctorat en Sciences et Techniques Minières à l'École Nationale Supérieure des Mines de Paris, 129p.

D'Hugues, P., Battaglia-Brunet, F., Clarens, M., Morin, D., 2003. Microbial diversity of various metal-sulphides bioleaching cultures grown under different operating conditions using 16SrDNA analysis, Conference Paper for IBS 2003, 1313-1323.

Ebrahimi, S., Fernandez Morales, F.J., Kleerebezem, R., Heijnen, J.J., Van Loosdrecht, M.C.M., 2005. High-Rate Acidophilic Ferrous Iron Oxidation in a Biofilm Airlift Reactor and the Role of the Carrier Material, *Biotechnology and Bioengineering*, **90**(4), 462-472.

Edward, C.J., Pather, T., Govender, R., Ngoma, E., Govender-Opitz, E., Kotsiopoulos, A., Harrison, S.T.L., 2018. Determination of Ferrous Oxidation Kinetics in the Presence of Metals Associated with Printed Circuit Boards to Determine the Potential for Bioleaching of e-Waste, Conference Paper for Biohydrometallurgy'18.

Ernst, T., Popp, R., Wolf, M., Van Eldik, R., 2003. Analysis of eco-relevant elements and noble metals in printed wiring boards using AAS, ICP–AES and EDXRF, *Anal. Bioanal. Chem.*, **375**, 805–814.

- Franz, A., Burgstaller, W., Schinner, F., 1991. Leaching with *Penicillium simplicissimum*: Influence of Metals and Buffers on Proton Extrusion and Citric Acid Production, *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 769–774.
- * Fu, K., Wang, B., Chen, H., Chen, M., Chen, S., 2016. Bioleaching of Al from coarse-grained waste printed circuit boards in a stirred tank reactor, *Procedia Environmental Sciences*, **31**, 897-902.
- Gaboreau, S., Vieillard, P., 2004. Prediction of Gibbs free energies of formation of minerals of the alunite supergroup, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **68**(16), 3307–3316.
- Gerlach, R.W., Nocerino, J.M., Ramsey, C.A., Venner, B.C., 2003. Gy sampling theory in environmental studies 2. Subsampling error estimates, *Analytica Chimica Acta*, **490**, 159–168.
- Gómez J.M., Cantero D., 2003. Kinetic study of biological ferrous sulphate oxidation by iron-oxidising bacteria in continuous stirred tank and packed bed bioreactors, *Process Biochemistry*, **38**, 867-87.
- Grishin, S.I., Tuovinen, O.H., 1988. Fast kinetics of Fe²⁺ oxidation in packed-bed reactors, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **54**, 12, 3092-100.
- * Gu, W., Bai, J., Dai, J., Zhang, C., Yuan, W., Wang, J., Wang, P., Zhao, X., 2014. Characterization of extreme acidophile bacteria (*Acidithiobacillus ferrooxidans*) bioleaching copper from flexible PCB by ICP-AES, *Journal of Spectroscopy*, 269351.
- * Gu, W., Bai, J., Dong, B., Zhuang, X., Zhao, J., Zhang, C., Wang, J., Shih, K., 2017. Catalytic effect of graphene in bioleaching copper from waste printed circuit boards by *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Hydrometallurgy*, **171**, 172-178.
- * Gu, W., Bai, J., Dong, B., Zhuang, X., Zhao, J., Zhang, C., Wang, J., Shih, K., 2017. Enhanced bioleaching efficiency of copper from waste printed circuit board driven by nitrogen-doped carbon nanotubes modified electrode, *Chemical Engineering Journal*, **324**, 122-129.
- Guay, R., Silver, M., Torma, A.E., 1977. Ferrous iron oxidation and uranium extraction by *Thiobacillus ferrooxidans*, *Biotech. Bioeng.*, **19**, 727-740.
- * Guezennec, A.G., Bru, K., Jacob, J., d’Hugues, P., 2015. Co-processing of sulfidic mining wastes and metal-rich post-consumer wastes by biohydrometallurgy, *Minerals Engineering*, **75**, 45–53.
- Guezennec, A.G., Jouliau, C., Jacob, J., Archane, A., Ibarra, D., de Buyer, R., Bodéan, F., d’Hugues, P., 2017. Influence of dissolved oxygen on the bioleaching efficiency under oxygen-enriched atmosphere, *Minerals Engineering*, **106**, 64–70.
- Hagelüken, C., 2006. Recycling of electronic scrap at Umicore's integrated metals smelter and refinery, *World of Metallurgy, Erzmetall*, **59**, 3, 152-161.
- Halfmeier, H., Schafer-Treffendorf, W., Ressus, M., 1993a. Potential of *Thiobacillus ferrooxidans* for waste gas purification: Part 1. Kinetics of continuous ferrous iron oxidation, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **40**, 416-420.
- Halfmeier, H., Schafer-Treffendorf, W. & Ressus, M., 1993b. Potential of *Thiobacillus ferrooxidans* for waste gas purification: Part 2. Increase in continuous ferrous iron oxidation kinetics using immobilized cells, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **40**, 582-587.
- Hatzikioseyan, A., Tsezos, M., 2006. Modelling of microbial metabolism stoichiometry: Application in bioleaching processes, *Hydrometallurgy*, **83**, 29–34.

Holgersson, S., Steenari, B.M., Björkman, M., Cullbrand, K., 2017. Analysis of the metal content of small-size Waste Electric and Electronic Equipment (WEEE) printed circuit boards—part 1: Internet routers, mobile phones and smartphones, *Resources, Conservation and Recycling*, In Press.

Hong, Y., Valix, M., 2014. Bioleaching of electronic waste using acidophilic sulfur oxidising bacteria, *Journal of Cleaner Production*, **65**, 465–472.

* Hudec, M.A.R., Sodhi, M., Goglia-Arora, D., 2009. Biorecovery of Metals from Electronic Waste, Proceedings for the 7th Latin American and Caribbean Conference for Engineering and Technology.

Huffman, R.E., Davidson, N., 1956. Kinetics of the Ferrous Iron-Oxygen Reaction in Sulfuric Acid Solution, *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 4836.

* Ilyas, S., Anwar, M.A., Niazi, S.B., Ghauri, M.A., 2007. Bioleaching of metals from electronic scrap by moderately thermophilic acidophilic bacteria, *Hydrometallurgy*, **88**, 180–188.

* Ilyas, S., Lee, J.C., 2014. Bioleaching of metals from electronic scrap in a stirred tank reactor, *Hydrometallurgy*, **149**, 50–62.

* Ilyas, S., Lee, J.C., Chi, R.A., 2013. Bioleaching of metals from electronic scrap and its potential for commercial exploitation, *Hydrometallurgy*, **131-132**, 138–143.

* Ilyas, S., Ruan, C., Bhatti, H. N., Ghauri, M. A., Anwar, M. A., 2010. Column bioleaching of metals from electronic scrap, *Hydrometallurgy*, **101**, 135–140.

* Işildar, A., van de Vossenberg, J., Rene, E.R., van Hullebusch, E.D., Lens, P.N.I., 2015. Two-step bioleaching of copper and gold from discarded printed circuit boards (PCB), *Waste Management*, **57**, 149-157.

Jain, N., Sharma, D.K., 2004. Biohydrometallurgy for Nonsulfidic Minerals – A Review, *Geomicrobiology Journal*, **21**, 135–144.

Jensen, A.B., Webb, C., 1995. Ferrous sulphate oxidation using *Thiobacillus ferrooxidans*: a review, *Process Biochemistry*, **30**, 3, 225-236.

Johnson, D. B., Joulain, C., d’Hugues, P., Hallberg, K. B., 2008. *Sulfobacillus benefaciens* sp. nov., an acidophilic facultative anaerobic Firmicute isolated from mineral bioleaching operations, *Extremophiles*, **12**, 789–798.

Kaksonen, A.H., Morris, C., Rea, S., Li, J., Wylie, J., Usher, K.M., Ginige, M.P., Cheng, K.Y., Hilario, F. & du Plessis, C.A., 2014a. Biohydrometallurgical iron oxidation and precipitation: Part I — Effect of pH on process performance, *Hydrometallurgy*, **147-148**, 255–263.

Kaksonen, A.H., Morris, C., Rea, S., Li, J., Usher, K.M., McDonald, R.G., Hilario, F., Hosken, T., Jackson, M. & du Plessis, C.A., 2014b. Biohydrometallurgical iron oxidation and precipitation: Part II — Jarosite precipitate characterization and acid recovery by conversion to hematite, *Hydrometallurgy*, **147-148**, 264–272.

Kaksonen, A.H., Morris, C., Hilario, F., Rea, S. M., Li, J., Usher, K.M., Wylie, J., Ginige, M.P., Cheng, K.Y. & du Plessis, C., 2014c. Iron oxidation and jarosite precipitation in a two-stage airlift bioreactor, *Hydrometallurgy*, **150**, 227–235.

Karamanev, D.G., Nikolov, L.N., 1988. Influence of Some Physicochemical Parameters on Bacterial Activity of Biofilm: Ferrous Iron Oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*, *Biotechnology and Bioengineering*, **31**, 295-299.

Karwowska, E., Andrzejewska-Morzuch, D., Łebkowska, M., Tabernacka, A., Wojtkowska, M., Telepko, A., Konarzewska, A., 2014. Bioleaching of metals from printed circuit boards supported with surfactant-producing bacteria, *Journal of Hazardous Materials*, **264**, 203-210.

Kinnunen, P.H.M., Puhakka, J.A., 2004. High-Rate Ferric Sulfate Generation by a *Leptospirillum ferriphilum*-Dominated Biofilm and the Role of Jarosite in Biomass Retainment in a Fluidized-Bed Reactor, *Biotechnology and Bioengineering*, **85**(7), 697-705.

Kinnunen, P.H.M. & Puhakka, J.A., 2005. High-rate iron oxidation at below pH 1 and at elevated iron and copper concentrations by a *Leptospirillum ferriphilum* dominated biofilm, *Process Biochemistry*, **40**, 3536–3541.

Lacey, D.T., Lawson, F., 1970. Kinetics of the Liquid-Phase oxidation of acid ferrous sulfate by the bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*, *Biotechnology and Bioengineering*, **12**, 29-50.

Lamb, A.B., Elder, L.W., 1931. The electromotive activation of oxygen, *J. Am. Chem. Soc.*, **53**, 1, 137-163.

Li, J., Shrivastava, P., Gao, Z., Zhang, H.-C., 2004. Printed circuit board recycling: a state-of-the-art survey, *IEEE Trans. Electron. Packag. Manuf.*, **27**, 33–42.

* Liang, G., Mo, Y., Zhou, Q., 2010. Novel strategies of bioleaching metals from printed circuit boards (PCBs) in mixed cultivation of two acidophiles, *Enzyme and Microbial Technology*, **47**, 322–326.

* Liang, G., Tang, J., Liu, W., Zhou, Q., 2013. Optimizing mixed culture of two acidophiles to improve copper recovery from printed circuit boards (PCBs), *Journal of Hazardous Materials*, **250-251**, 238–245.

* Liang, G., Ti, P., Liu, W., Wang, B., 2016. Enhanced bioleaching efficiency of copper from waste printed circuit boards (PCBs) by dissolved oxygen-shifted strategy in *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *J Mater Cycles Waste Manag*, **18**, 742-751.

Looms, J., 2014. The study of a mixed culture biofilm reactor and the effect of high dissolved metal content and low pH on the rate of ferric iron regeneration for application in printed circuit board bioleaching, rapport de stage pour master de science en géologie minière, Université d'Exeter.

MacDonald, D.G., Clark, R.H., 1970. The oxidation of aqueous ferrous sulphate by *Thiobacillus ferrooxidans*, *Can. J. Chem. Eng.*, **48**, 669-676.

Mahmoud, A., Cézac, P., Hoadley, A.F.A., Contamine, F., D'Hugues, P., 2017. A review of sulfide minerals microbially assisted leaching in stirred tank reactors, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **119**, 118-146.

* Mäkinen, J., Bachér, J., Kaartinen, T., Wahlström, M., Salminen, J., 2015. The effect of flotation and parameters for bioleaching of printed circuit boards, *Minerals Engineering*, **75**, 26–31.

Martin, J.E., Smith, L.L.A., Adjei-Bekoe, G. & Thomas, R., 2010. Comparison of Different Sample Preparation Procedures for the Determination of RoHS/WEEE-Regulated Elements in Printed Circuit Boards and Electrical Components by EDXRF, *Spectroscopy*, **25**(4), 40–45.

Mathews, C.T., Robins, R.G., 1972. The oxidation of iron disulphide by ferric sulphate, *Australian Chemical Engineering*, 21–25.

- Mi, S., Song, J., Lin, J., Che, Y., Zheng, H., Lin, J., 2011. Complete genome of *Leptospirillum ferriphilum* ML-04 provides insight into its physiology and environmental adaptation, *The Journal of Microbiology*, **49**, 890–901.
- Michel, C., Bény, C., Delorme, F., Poirier, L., Spolaore, P., Morin, D., D'Hugues, P., 2009. New protocol for the rapid quantification of exopolysaccharides in continuous culture systems of acidophilic bioleaching bacteria, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **82**, 371–378.
- Mishra, D., Kim, D.J., Ralph, D.E., Ahn, J.G., Rhee, Y.H., 2008. Bioleaching of metals from spent lithium ion secondary batteries using *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Waste Management*, **28**, 333–338.
- Mishra, D., Rhee, Y.H., 2014. Microbial leaching of metals from solid industrial wastes, *J. Microbiol.*, **52**, 1–7.
- Morf, L.S., Tremp, J., Gloor, R., Schuppisser, F., Stengele, M., Taverna, R., 2007. Metals, non-metals and PCB in electrical and electronic waste – Actual levels in Switzerland, *Waste Management*, **27**, 1306–1316.
- * Mrážíková, A., Marcinčáková, R., Kaduková, J., Velgosová, O., 2013. Influence of bacterial culture to copper bioleaching from printed circuit boards, *J. Polish Mineral Engineering Society*, 59–62.
- * Mrážíková, A., Marcinčáková, R., Kaduková, J., Velgosová, O., Balintova, M., 2015. Influence of used bacterial culture on zinc and aluminium bioleaching from printed circuit boards, *Nova Biotechnologica et Chimica*, **14-1**, 45–51.
- * Mrážíková, A., Kaduková, J., Marcinčáková, R., Velgosová, O., Willner, J., Fornalczyk, A., Saternus, M., 2016. The effect of specific conditions on Cu, Ni, Zn and Al recovery from PCBs waste using acidophilic bacterial strains, *Arch. Metall. Mater.*, **61** (1), 261–264.
- Nemati, M., Harrison, S. T. L., Hansford, G. S., Webb, C., 1998. Biological oxidation of ferrous sulphate by *Thiobacillus ferrooxidans*: a review on the kinetic aspects, *Biochem. Eng. J.*, **1**, 171–190.
- Nemati, M., Harrison, S.T.L., 2000. Comparative study on thermophilic and mesophilic biooxidation of ferrous iron, *Minerals Engineering*, **13**, 1, 19–24.
- Nguyen, V.K., Tran, T., Han, H.J., Lee, S.H., Lee, J.U., 2015. Possibility of bacterial leaching of antimony, chromium, copper, manganese, nickel, and zinc from contaminated sediment, *J. Geochem. Explor.*, **156**, 153–161.
- * Nie, H., Yang, C., Zhu, N., Wu, P., Zhang, T., Zhang, Y., Xing, Y., 2014. Isolation of *Acidithiobacillus ferrooxidans* strain Z1 and its mechanism of bioleaching copper from waste printed circuit boards, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **90**, 714–721.
- * Nie, H., Zhu, N., Cao, Y., Xu, Z., Wu, P., 2015. Immobilization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* on Cotton Gauze for the Bioleaching of Waste Printed Circuit Boards, *Appl Biochem Biotechnol*, **177**, 675–688
- Nurmi, P., Özkaya, B., Kaksonen, A. H., Tuovinen, O. H., Puhakka, J. A., 2009. Inhibition kinetics of iron oxidation by *Leptospirillum ferriphilum* in the presence of ferric, nickel and zinc ions, *Hydrometallurgy*, **97**, 137–145.
- Ogunniyi, I.O., Vermaak, M.K.G., Groot, D.R., 2009. Chemical composition and liberation characterization of printed circuit board communiton fines for beneficiation investigations, *Waste Management*, **29**, 2140–2146.

Ojumu, T. V., Hansford, G. S., Petersen, J., 2009. The kinetics of ferrous-iron oxidation by *Leptospirillum ferriphilum* in continuous culture: The effect of temperature, *Biochemical Engineering Journal*, **46**, 161–168.

Ojumu, T. V., Petersen, J., 2011. The kinetics of ferrous ion oxidation by *Leptospirillum ferriphilum* in continuous culture: The effect of pH, *Hydrometallurgy*, **106**, 5–11.

Ojumu, T. V., Petersen, J., Hansford, G. S., 2008. The effect of dissolved cations on microbial ferrous-iron oxidation by *Leptospirillum ferriphilum* in continuous culture, *Hydrometallurgy*, **94**, 69–76.

Pathak, A., Dastidar, M. G., Sreekrishnan, T. R., 2009. Bioleaching of heavy metals from sewage sludge: A review, *J. Environ. Manage.*, **90**, 2343–2353.

Penev, K., Karamanev, D., 2010. Batch kinetics of ferrous iron oxidation by *Leptospirillum ferriphilum* at moderate to high total iron concentration, *Biochemical Engineering Journal*, **50**, 54–62.

Pina P.S., Oliveira V.A., Cruz F.L.S., Leão V.A., 2010. Kinetics of ferrous iron oxidation by *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, *Biochemical Engineering Journal*, **51**, 194–197.

* Priya, A., Hait, S., 2018. Extraction of metals from high grade waste printed circuit board by conventional and hybrid bioleaching using *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Hydrometallurgy*, **177**, 132-139.

Qu, Y., Lian, B., 2013. Bioleaching of rare earth and radioactive elements from red mud using *Penicillium tricolor* RM-10, *Bioresource Technology*, **136**, 16–23.

* Rodrigues, M.L.M., Leão, V.A., Gomes, O., Lambert, F., Bastin, D., Gaydardzhiev, S., 2015. Copper extraction from coarsely ground printed circuit boards using moderate thermophilic bacteria in a rotating-drum reactor, *Waste Management*, **41**, 148-158.

Rudolfs, W., 1922. Oxidation of iron pyrites by sulfur-oxidizing organisms and their use for making mineral phosphates available, *Soil Sci.*, **14**, 135-148.

Sand, W., Gehrke, T., 2006. Extracellular polymeric substances mediate bioleaching/biocorrosion via interfacial processes involving iron(III) ions and acidophilic bacteria, *Res. Microbiol.*, **157**, 49-56.

Sasaki, K., Konno, H., 2000. Morphology of jarosite-group compounds precipitated from biologically and chemically oxidized Fe ions, *Can. Mineral.*, **38**, 45–56.

* Shah, M.B., Tipre, D.R., Dave, S.R., 2014. Chemical and biological processes for multi-metal extraction from waste printed circuit boards of computers and mobile phones, *Waste Management & Research*, **32**(11), 1134-1141.

* Shah, M.B., Tipre, D.R., Purohit, M.S., Dave, S.R., 2015. Development of two-step process for enhanced biorecovery of Cu-Zn-Ni from computer printed circuit boards, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **120**(2), 167-173.

* Silva, R.A., Park, J., Lee, E., Park, J., Choi, S.Q., Kim, H., 2015. Influence of bacterial adhesion on copper extraction from printed circuit boards, *Separation and Purification Technology*, **143**, 169–176.

* Sinha, R., Chauhan, G., Singh, A., Kumar, A., Acharya, S., 2018. A novel eco-friendly hybrid approach for recovery and reuse of copper from electronic waste, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **6**(1), 1053-1061.

- * Sodha, A.B., Qureshi, S.A., Khatri, B.R., Tipre, D.R., Dave, S.R., 2017. Enhancement in Iron Oxidation and Multi-metal Extraction from Waste Television Printed Circuit Boards by Iron Oxidizing *Leptospirillum ferriphilum* Isolated from Coal Sample, *Waste Biomass Valor*, 1-10.
- Sun, Z.H.I., Xiao, Y., Sietsma, J., Agterhuis, H., Visser, G., Yang, Y., 2015. Characterisation of metals in the electronic waste of complex mixtures of end-of-life ICT products for development of cleaner recovery technology, *Waste Management*, **35**, 227-235.
- Veeken, A. H. M., Hamelers, H. V. M., 1999. Removal of heavy metals from sewage sludge by extraction with organic acids, *Water Sci. Technol.*, **40**, 129–136.
- Vestola, E. A., Kuusenaho, M.K., Närhi, H.M., Tuovinen, O.H., Puhakka, J.A., Plumb, J.J., Kaksonen, A.H., 2010. Acid bioleaching of solid waste materials from copper, steel and recycling industries, *Hydrometallurgy*, **103**, 74–79.
- Wang, H., Bigham, J.M., Tuovinen, O.H., 2006. Formation of schwertmannite and its transformation to jarosite in the presence of acidophilic iron-oxidizing microorganisms, *Materials Science and Engineering*, **26**, 588 – 592.
- Wang, H., Gu, G., Qi, Y., 2005. Crushing performance and resource characteristic of printed circuit board scrap, *J Cent South Univ Technol*, **12**, 5, 552–555.
- * Wang, J., Bai, J., Liang, B., 2009. Bioleaching of metals from printed wire boards by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* and their mixture, *Journal of Hazardous Materials*, **172**, 1100-1105.
- * Wang, L., Li, Q., Li, Y., Sun, X., Li, J., Shen, J., Han, W., Wang, L. 2018. A novel approach for recovery of metals from waste printed circuit boards and simultaneous removal of iron from steel pickling waste liquor by two-step hydrometallurgical method, *Waste Management*, **71**, 411-419.
- * Wang, S., Zheng, Y., Yan, W., Chen, L., Mahadevan, G.D., Zhao, F., 2016. Enhanced bioleaching efficiency of metals from E-wastes driven by biochar, *Journal of Hazardous Materials*, **320**, 393-400.
- Wienold, J., Recknagel, S., Scharf, H., Hoppe, M., Michaelis, M., 2011. Elemental analysis of PCB considering the ROHS regulation, *Waste Management*, **31**, 530–535.
- * Willner, J., 2013. Influence of physical and chemical factors on biological leaching process of copper from printed circuit boards, *Metabk*, **52**(2), 189-192.
- * Willscher, S., Katzschner, M., Jentsch, K., Matys, S., Pöllmann, H., 2007. Microbial leaching of metals from printed circuit boards, *Advanced Materials Research*, **20-21**, 99-102.
- * Wu, W., Liu, X., Zhang, X., Zhu, M., Tan, W., 2018. Bioleaching of copper from waste printed circuit boards by bacteria-free cultural supernatant of iron–sulfur-oxidizing bacteria, *Bioresources and Bioprocessing*, 5:10.
- * Xia, M.C., Wang, Y.P., Peng, T.J., Shen, L., Yu, R.L., Liu, Y.D., Chen, M., Li, J.K., Wu, X.L., Zeng, W.M., 2017. Recycling of metals from pretreated waste printed circuit boards effectively in stirred tank reactor by a moderately thermophilic culture, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **123**(6), 714-721.
- * Xiang, Y., Wu, P., Zhu, N., Zhang, T., Liu, W., Wu, J., Li, P., 2010. Bioleaching of copper from waste printed circuit boards by bacterial consortium enriched from acid mine drainage, *Journal of Hazardous Materials*, **184**, 812–818.

- Xin, Y., Guo, X., Chen, S., Wang, J., Wu, F., Xin, B., 2016. Bioleaching of valuable metals Li, Co, Ni and Mn from spent electric vehicle Li-ion batteries for the purpose of recovery, *J. Clean. Prod.*, **116**, 249–258.
- Yamane, L. H., de Moraes, V. T., Espinosa, D. C. R., Tenório, J. A. S., 2011. Recycling of WEEE: Characterization of spent printed circuit boards from mobile phones and computers, *Waste Management*, **31**, 2553–2558.
- * Yamane, L.H., Moraes, V.T., Tenório, J.A.S., Espinosa, D.C.R., 2018. Influence of Bacterial Adaptation on Copper Bioleaching from Printed Circuit Boards, *Adv Biotech & Micro*, **9**(3), 555761.
- * Yang, T., Xu, Z., Wen, J., Yang, L., 2009. Factors influencing bioleaching copper from waste printed circuit boards by *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Hydrometallurgy*, **97**, 29-32.
- * Yang, Y., Chen, S., Li, S., Chen, M., Chen, H., Liu, B., 2014. Bioleaching waste printed circuit boards by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and its kinetics aspect, *Journal of Biotechnology*, **173**, 24–30.
- Yazici, E. Y., Deveci, H., 2014. Ferric sulphate leaching of metals from waste printed circuit boards, *Int. J. Miner. Process.*, **133**, 39–45.
- Yuan, C. Y., Zhang, H. C., McKenna, G., Korzeniewski, C., Li, J., 2007. Experimental studies on cryogenic recycling of printed circuit board, *Int. J. Adv. Manuf. Technol.*, **34**, 657–666.
- Zhang, S., Forssberg, E., 1999. Intelligent Liberation and classification of electronic scrap, *Powder Technology*, **105**, 295–301.
- * Zhu, N., Xiang, Y., Zhang, T., Wu, P., Dang, Z., Li, P., Wu, J., 2011. Bioleaching of metal concentrates of waste printed circuit boards by mixed culture of acidophilic bacteria, *Journal of Hazardous Materials*, **192**, 2, 614-619.

Chapitre III – Matériels et méthodes

1. Caractérisation des cartes électroniques

Pour disposer d'un échantillon unique de déchets à partir duquel tous les essais expérimentaux sont réalisés, un protocole d'échantillonnage et de caractérisation de la composition en métaux a dû être mis en place. L'objectif était d'être en mesure de comparer les résultats obtenus (vitesses, taux de mise en solution, *etc.*) au cours de différentes expériences et de pouvoir calculer des rendements. Des échantillons modèles auraient pu être utilisés, mais ceux-ci n'auraient pas présenté la même toxicité vis-à-vis des bactéries que des échantillons réels de cartes électroniques, sur lesquels il a donc été décidé de travailler. Les questions relatives à la préparation et à l'utilisation de ces échantillons étaient :

- Quelle méthode permet de préparer des sous-échantillons représentatifs de l'échantillon de départ compte tenu de la complexité de la matière ?
- Comment les caractériser et calculer la variabilité des échantillons obtenus ?

1.1. Déchets étudiés

Un échantillon de 526 kg de déchets de cartes électroniques de qualité intermédiaire (teneur en Au comprise entre 100 et 200 mg.kg⁻¹, cf. Chapitre I) provenant de la catégorie des Petits Appareils en Mélange a été acheté pour les besoins de l'étude au centre de tri de DEEE « Envie 2E Midi-Pyrénées » (France) au prix HT de 1700 €/tonne. Ces cartes électroniques usagées (Figure 18) ont été collectées à partir de petits équipements informatiques, d'électroménager, d'outillage électrique, de jouets électriques, *etc.* La qualité de l'échantillon n'est pas déterminée après mesure de la teneur en Au mais est estimée par le centre de tri à partir du type d'équipements d'où proviennent les cartes électroniques.

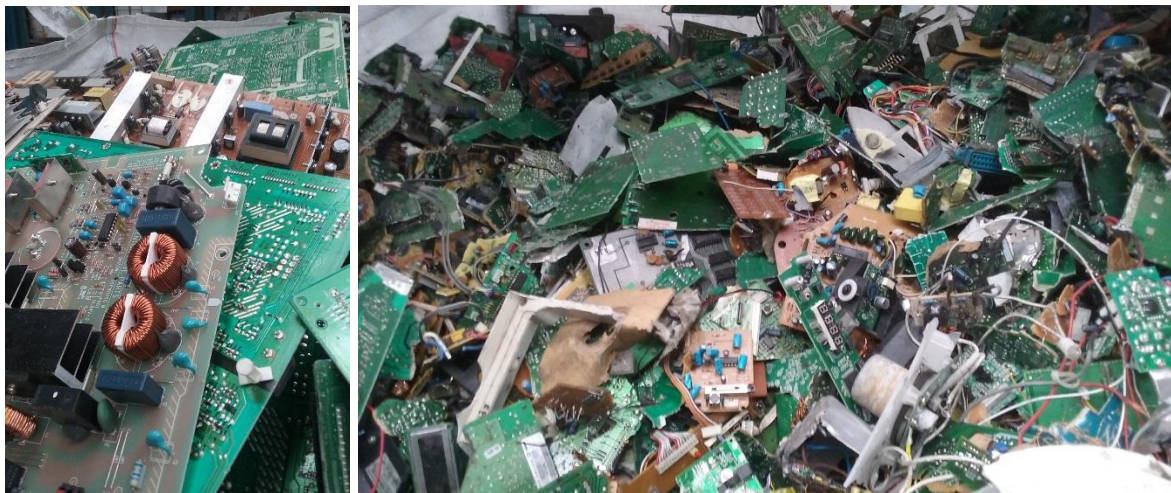


Figure 18: Cartes électroniques intermédiaires utilisées lors de l'étude.

1.2. Protocole de préparation et d'échantillonnage des cartes électroniques

Pour réduire l'hétérogénéité des cartes électroniques et pour rendre les métaux accessibles pour la biolixiviation, les cartes électroniques ont été déchiquetées. La réduction de la taille des pièces de cartes électroniques s'est accompagnée d'une division de la matière en sous-échantillons. Le protocole de préparation et d'échantillonnage mis en œuvre est présenté Figure 19. La méthode d'échantillonnage adoptée comporte les étapes suivantes :

- Étape 1 : Les cartes électroniques ont été déchiquetées pour réduire les particules à une taille inférieure à 30 mm avec un déchiqueteur à couteaux de la marque Bohmier Maschinen GmbH sans grille (couteaux en ferrochrome) ;
- Étape 2 : Les pièces obtenues à l'issue de l'étape 1 ont ensuite été déchiquetées à une taille inférieure à 10 mm avec le même équipement ;
- Étape 3 : La taille des particules obtenues à l'issue de l'étape 2 a ensuite été réduite à l'aide d'un broyeur à couteaux de laboratoire (Retsch SM-2000) équipé d'une grille de 750 µm (couteaux en carbure de tungstène). Des grilles intermédiaires de 10 mm, 4 mm, 2 mm, 1 mm et 750 µm ont été utilisées successivement lors de cette étape.
- Étape 4 : une dernière étape de réduction de la taille des particules a été testée en utilisant deux types d'équipements : le broyeur à couteaux de laboratoire (Retsch SM-2000) avec une grille de 500 µm et un broyeur à meule (Bico Inc). Les tests ont été réalisés sur des échantillons de 500 g.

Lors de chaque étape de broyage, des particules restent dans le broyeur, sans passer la grille, car celles-ci ne peuvent pas être broyées en raison du manque de matière ou de problèmes de ductilité. Pour assurer la représentativité de l'échantillon broyé obtenu, il a été décidé de toujours ajouter ces particules résiduelles aux échantillons broyés, même si la granulométrie ainsi obtenue est légèrement supérieure à celle désirée.

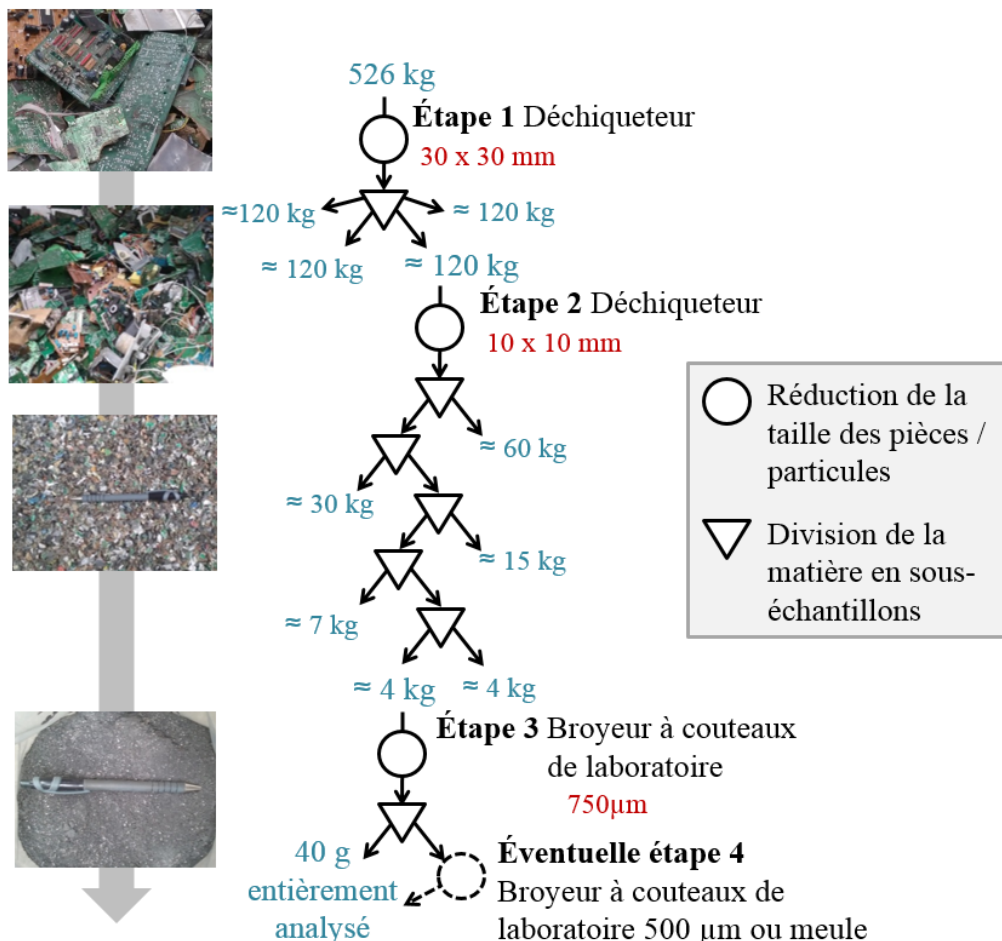


Figure 19: Protocole d'échantillonnage des cartes électroniques.

L'échantillon obtenu à l'issue de l'étape 1 a été divisé en 4 sous-échantillons de 120 kg à l'aide d'un diviseur à carrousel. Les échantillons obtenus à l'issue des étapes 2 et 3 ont été divisés en sous-échantillons à l'aide de diviseurs à riffles en assurant une ouverture des riffles supérieure à trois fois la taille des particules. L'utilisation de ce type d'équipements (Figure 20) permet d'obtenir des sous-échantillons représentatifs de l'échantillon initial (en termes de composition

chimique, de spéciation des éléments et de distribution granulométrique). Il faut noter que les enchaînements entre réduction granulométrique et division de la matière en différents échantillons influencent la reproductibilité des échantillons. Dans notre protocole, l'enchaînement entre les réductions granulométriques et les divisions de la matière a été choisi pour s'approcher de la procédure utilisée par Umicore sur les cartes électroniques (Hagelüken, 2006).



Figure 20: Diviseur à carrousel (gauche) et diviseur à riffles (droite) avec ouvertures de 30 mm utilisés dans cette étude pour les divisions de matière.

1.3. Détermination de la granulométrie

La distribution granulométrique a été déterminée pour trois échantillons : un échantillon broyé avec le Retsch SM-2000 et la grille de 750 μm (étape 3) ; un échantillon broyé avec le Retsch SM-2000 et la grille de 500 μm (étape 4) et un échantillon broyé avec un broyeur à meule (étape 4 alternative). Les distributions ont été obtenues par tamisage en voie humide d'échantillons de 290 g avec des tamis de 1,25 mm, 1 mm, 800 μm , 400 μm , 200 μm , 100 μm et 63 μm . Chaque fraction granulométrique a été séchée à 40 °C avant d'être pesée et analysée (par attaque à l'eau régale inversée suivie de SAAF, ICP-AES et ICP-MS, cf. paragraphe 1.4.2).

1.4. Protocole pour l'analyse des teneurs en métaux des cartes électroniques

Pour connaître les teneurs en métaux des échantillons solides produits au cours de l'étude, une méthodologie comprenant une première étape de dissolution suivie de l'analyse des solutions obtenues a été mise au point. Cette technique a été comparée à une autre technique similaire pour comparer les efficacités de dissolution. Par ailleurs, cette méthodologie ne permettant pas une dissolution totale des échantillons, les résidus solides obtenus à l'issue de la première étape ont également été traités afin de déterminer leurs teneurs en métaux et donc un éventuel biais dans nos analyses.

1.4.1. Détermination de la concentration en métaux dans les cartes électroniques

Pour déterminer la concentration des métaux dans les échantillons de cartes électroniques broyées, il a été décidé de travailler avec de l'eau régale car cette méthode est largement utilisée dans la littérature et est facile à mettre en œuvre. Pour des raisons de sécurité liées à la manipulation de grandes quantités d'eau régale (dégagement de vapeur corrosive, emballement de la réaction), les attaques ont été réalisées sur des échantillons de 5 g environ. Chaque attaque est menée avec 56 mL d'eau régale ($\text{HNO}_3:\text{HCl}$ 1:3 (v/v)) ou 56 mL d'eau régale inversée ($\text{HNO}_3:\text{HCl}$ 3:1(v/v)). Ces solutions ont été préparées en mélangeant respectivement 42 mL

d'HCl 32% massique avec 14 mL d'HNO₃ 67-69% massique ou 14 mL d'HCl 32% massique avec 42 mL d'HNO₃ 67-69% massique. L'acide nitrique (67-69% massique, trace metal grade) et l'acide chlorhydrique (32% massique, certifié pour analyse) ont été fournis par Fisher Chemical. Le mélange solide/acides est chauffé à 200 °C pendant 2 heures au moyen d'un système de digestion Kjeldatherm-Gerhardt. Après refroidissement, l'échantillon traité est filtré à l'aide de filtres à membrane en nitrate de cellulose (Sartorius Stedim Biotech, diamètre de pore 0,45 µm) pour séparer la solution obtenue des résidus solides n'ayant pas été dissous. Ces résidus sont rincés avec de l'eau puis séchés à 40 °C. Les concentrations des métaux dans le filtrat ont été déterminées par analyses élémentaires après dilution de l'échantillon dans de l'acide nitrique 0,5 mol.L⁻¹ préparé en diluant de l'acide nitrique concentré dans de l'eau milliQ (résistance = 18,2 MΩ.cm). Un spectromètre d'absorption atomique flamme (SAAF) de la marque Varian SpectrAA-300 a été utilisé pour déterminer les concentrations en Fe, Cu, Zn, Pb, Co et Ni dans les échantillons. Un spectromètre d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES) Horiba Jobin Yvon Ultima 2 et un spectromètre de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) Thermo Scientific X Series ont été utilisés pour déterminer les concentrations des autres métaux (Ag, Al, Au, Cr, Ga, Ge, In, Mg, Mn, Mo, Pd, Sb, Sn, Ta, V et W).

Pour limiter la variabilité entre les échantillons, il a été décidé de déterminer les teneurs en métaux sur des échantillons de 40 g, ce qui représente une masse importante, dans l'espoir de réduire l'hétérogénéité. Les échantillons de 40 g ont donc été divisés, à l'aide de diviseurs à riffle, en 8 échantillons de 5 g pour réaliser les attaques. Après la caractérisation de chacun de ces 8 échantillons par la méthodologie décrite ci-dessus, les concentrations des métaux dans les échantillons de 40 g ont été calculées en utilisant l'équation suivante :

$$m_{40g}x_{40g} = \sum_{i=1}^8 m_{i5g}x_{i5g} \quad [12]$$

Où m_{40g} , x_{40g} , m_{i5g} et x_{i5g} représentent respectivement la masse de l'échantillon de 40 g, la concentration en métaux de l'échantillon de 40 g, la masse précise du sous-échantillon i d'environ 5 g et la concentration en métaux du sous-échantillon i d'environ 5 g.

1.4.2. Détermination des teneurs en métaux des fractions granulométriques

Pour caractériser les concentrations des métaux dans les fractions granulométriques, la méthodologie d'attaque à l'eau régale inversée suivi d'analyses par SAAF, ICP-AES et ICP-MS ont été mises en œuvre. Le Tableau 10 présente les masses des échantillons analysés pour chaque fraction granulométrique. Dans certains cas, ces masses ont été limitées par la faible quantité obtenue à l'issue du tamisage par voie humide (par exemple la fraction supérieure à 1 mm). Dans d'autres cas, la quantité analysée a volontairement été limitée car, d'après la théorie de Gy, la réduction de la taille des particules limite l'hétérogénéité et permet donc de déterminer les teneurs sur des échantillons de masse réduite (Deverly, 1984). La masse attaquée à l'eau régale inversée ne pouvant dépasser 5 g, les échantillons de masse supérieure ont été divisés avant d'être attaqués et analysés, puis leurs concentrations en métaux ont été calculées en utilisant l'équation [12]. La quantité d'acide a été adaptée à la masse réelle des sous-échantillons, pour conserver un ratio solide – liquide constant dans toutes les attaques.

Tableau 10: Masses des échantillons analysés pour chaque fraction granulométrique.

Fraction granulométrique	Masse de l'échantillon analysé
+ 1 mm	1,6 g (1 sous-échantillon)
- 1 mm + 800 μm	47 g (8 sous-échantillons)
- 800 μm + 400 μm	32 g (8 sous-échantillons)
- 400 μm + 200 μm	14 g (4 sous-échantillons)
- 200 μm + 100 μm	7,5 g (2 sous-échantillons)
- 100 μm + 63 μm	3,5 g (1 sous-échantillon)
- 63 μm	4,6 g (1 sous-échantillon)

1.4.3. Analyse des résidus d'attaque des cartes électroniques

L'eau régale ne permettant pas une dissolution totale des cartes électroniques, il a été nécessaire de s'assurer que les résidus d'attaque à l'eau régale ne contenaient plus de métaux. Pour cela, les résidus d'attaque à l'eau régale ont tout d'abord été broyés pendant 20 min à 710 rpm avec un broyeur planétaire à bol en ferrocrome (Siebtechnik). Après broyage, une partie des résidus solides a été attaquée une seconde fois en mettant en œuvre deux techniques différentes : (i) 5 g de résidus ont été attaqués à l'eau régale en triplicat dans les mêmes conditions que lors de la première attaque ; (ii) 200 mg de résidus ont été attaqués par un mélange contenant 1 mL d'acide fluorhydrique (Merck, 40% massique pour analyse), 1 mL d'acide chlorhydrique (Fisher, 32% massique, certifié pour analyse) et 3 mL d'acide nitrique (Fisher, 67-69% massique, trace metal grade) en duplicat à 150 °C sous 125 bar pendant 20 min puis 260 °C sous 125 bar pendant 2 heures. Les solutions obtenues ont été analysées par ICP-MS. Certains échantillons de ces résidus ont également été observés à l'aide d'un microscope électronique à balayage équipé d'une sonde EDS (HIROX-SH 3000 avec Bruker Nano EDS intégré).

2. Essais de bio-oxydation et biolixiviation

2.1. Consortium bactérien et milieu nutritif

L'inoculum utilisé pour les cultures a été obtenu à partir du consortium BRGM-KCC cultivé sur des résidus miniers de pyrite (Guezennec et al., 2017). Les micro-organismes prédominants dans cette culture ont été affiliés aux genres acidophiles *Leptospirillum*, *Acidithiobacillus* et *Sulfobacillus*. Deux solutions nutritives ont été utilisées : la solution nutritive 0Km qui contient $3,70 \text{ g.L}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $0,81 \text{ g.L}^{-1}$ H_3PO_4 85% (massique), $0,48 \text{ g.L}^{-1}$ KOH, $0,52 \text{ g.L}^{-1}$ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, et la solution nutritive 0Cm avec la même composition mais uniquement $0,4 \text{ g.L}^{-1}$ de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ à la place de $3,70 \text{ g.L}^{-1}$. Cette diminution de la quantité d'ammonium dans la solution nutritive a été mise en œuvre pour limiter la formation de précipités de jarosite d'ammonium. Le fer ferreux a été ajouté sous forme $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ pour obtenir des concentrations en fer ferreux variant de 1 à 18 g.L^{-1} . Le pH des milieux de culture a été ajusté à 1,2 en utilisant de l'acide sulfurique H_2SO_4 concentré.

2.2. Supports solides pour les essais de bio-oxydation

Pour maintenir la biomasse dans le bioréacteur, il est parfois utile d'ajouter un support solide pour permettre aux bactéries de s'y attacher. Différents supports solides ont été utilisés dans notre étude de bio-oxydation du Fe(II) :

- Du charbon actif (Organosorb11® de la marque Desotec) qui a été lavé avec 5 mL.g^{-1} d'eau milliQ et 1 mL.g^{-1} d'acide sulfurique dilué (pH 1,3), séché à $40 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 20 heures et tamisé pour retirer les particules de taille inférieure à 1 mm.
- Des billes de polychlorure de vinyle (Tefanyl® VR VRGR 366 de Mitsubishi Chemical Performance Polymers) de diamètre 4 mm environ.
- Des billes de polyéthylène téréphtalate (RamaPET® N1S d'Indorama Ventures PCL) de diamètre de 2,5 mm environ.
- Du nylon tissé ayant une maille de $400 \times 800 \text{ }\mu\text{m}$ (toile utilisée pour les tamis) qui a été coupé en bandelettes de $1 \times 10 \text{ cm}$ environ.

2.3. Cultures en erlenmeyer

Pour comparer différentes conditions et limiter les études qui seront ensuite effectuées à l'échelle des bioréacteurs, des cultures en erlenmeyer ont été menées. Dans notre étude, ces essais ont permis de comparer les conditions biotiques et abiotiques pour l'oxydation du fer en présence de charbon actif. Cela a aussi permis de cibler différents supports solides pour la culture de cellules pour la bio-oxydation. Enfin, ces cultures ont été utilisées pour des tests d'écotoxicologie microbienne en présence d'un lixiviat de cartes électroniques.

Les cultures ont toutes été mises en œuvre en erlenmeyer à col rond de 250 mL. Les essais biotiques ont été réalisés en utilisant 90 mL de milieu de culture frais avec 10 mL d'inoculum, alors que les essais abiotiques ont été accomplis avec 100 mL de milieu frais. Les erlenmeyers ont été placés dans un incubateur à 107 rpm et $40 \text{ }^\circ\text{C}$.

Lors des essais sur la cinétique de bio-oxydation en présence de charbon actif, des tests abiotiques ont été effectués en autoclavant les erlenmeyers ainsi que le charbon actif et en filtrant le milieu de culture contenant le fer à l'aide d'un filtre seringue à $0,2 \text{ }\mu\text{m}$ en acétate de cellulose de la marque ClearLine. Les manipulations lors de ces essais ont été menées sous une hotte à flux laminaire.

Lors des essais sur les cinétiques de bio-oxydation en présence de différents supports solides (présentés dans le paragraphe ci-dessus), une quantité définie du support a été ajoutée au milieu de culture frais puis le pH a été ajusté avant inoculation.

Enfin, lors des essais de toxicité d'un lixiviat de cartes électroniques sur la culture BRGM-KCC, une quantité variable de lixiviat a été ajoutée au milieu de culture frais avant inoculation (0%, 10%, 30% et 60%(v/v)). Ce lixiviat, provenant de la lixiviation abiotique de cartes électroniques (5% solide) par du Fe(III) synthétique (9 g.L⁻¹) à 36 °C, avait été filtré à deux reprises. Tout d'abord, il a été filtré à 2,7 µm avec un filtre Whatman en fibres de coton pour retirer les résidus de cartes électroniques, puis à 0,45 µm à l'aide de filtres à membrane en nitrate de cellulose (Sartorius Stedim Biotech) dans un flacon stérilisé, pour s'assurer de l'absence de bactéries. La concentration du lixiviat est présentée dans le Tableau 11.

Tableau 11: Concentrations en métaux dans le lixiviat de cartes électroniques utilisé lors des essais d'écotoxicologie microbienne.

Métal	Concentration dans le lixiviat (mg.L ⁻¹)
Cu	16 840
Fe	9 416
Zn	934
Pb	16,8
Ni	18,7
Co	17,9

Le lixiviat ne contenant pas de nutriments, ceux-ci ont été ajoutés dans les erlenmeyers dans des quantités correspondantes à la solution nutritive 0Cm. La quantité de fer a été ajustée à l'aide de FeSO₄.7H₂O pour que la concentration finale en Fe(II) soit supérieure à 6 g.L⁻¹ dans tous les erlenmeyers. L'inoculum utilisé pour l'essai (10% v/v) provenait de la colonne à bulles fonctionnant avec une alimentation à 1 g.L⁻¹ de Fe(II) en milieu 0Cm. Il contenait 9,6.10⁶ cellules.mL⁻¹.

2.4. Cultures batch en réacteur agité mécaniquement (2 L)

Deux types d'essais en batch ont été menés à l'aide de bioréacteurs agités mécaniquement : (i) des essais de bio-oxydation dont l'objectif était de déterminer la cinétique de bio-oxydation du Fe(II), en présence ou non de bactéries ; (ii) des essais de biolixiviation de cartes électroniques, pour déterminer les cinétiques de mise en solution des métaux en présence de 1% ou 5%(m/v) de cartes électroniques broyées, et en présence ou non de bactéries.

2.4.1. Montage expérimental

Les essais en culture batch ont été menés à l'aide de bioréacteurs en verre d'un volume utile compris entre 2 L et 2,25 L. Ces bioréacteurs comportent une double enveloppe permettant la circulation d'eau thermostatée et le maintien de la température à une valeur de consigne, ainsi qu'un réfrigérant pour limiter les pertes d'eau par évaporation. Ils sont également munis d'une agitation mécanique constituée d'une turbine de type Rushton et d'une hélice de pompage située sur un axe vertical, ainsi que d'une canne en inox permettant l'injection des gaz. La turbine permet la dispersion du gaz, alors que l'hélice permet une bonne dispersion des particules solides. La vitesse d'agitation varie en fonction des essais, entre 400 et 700 rpm. L'air comprimé

est injecté dans le réacteur à un débit compris entre 18 et 100 L.h⁻¹ et peut être enrichi à 1% CO₂. Le pH des cultures en réacteur batch est ajusté quotidiennement par l'opérateur à l'aide d'acide sulfurique lorsqu'il dépasse une valeur seuil comprise entre 1,8 et 2 selon les essais. Par ailleurs, le niveau dans le réacteur est ajusté à l'aide d'eau milliQ pour compenser les éventuelles pertes par évaporation. Le schéma du réacteur est donné sur la Figure 21.

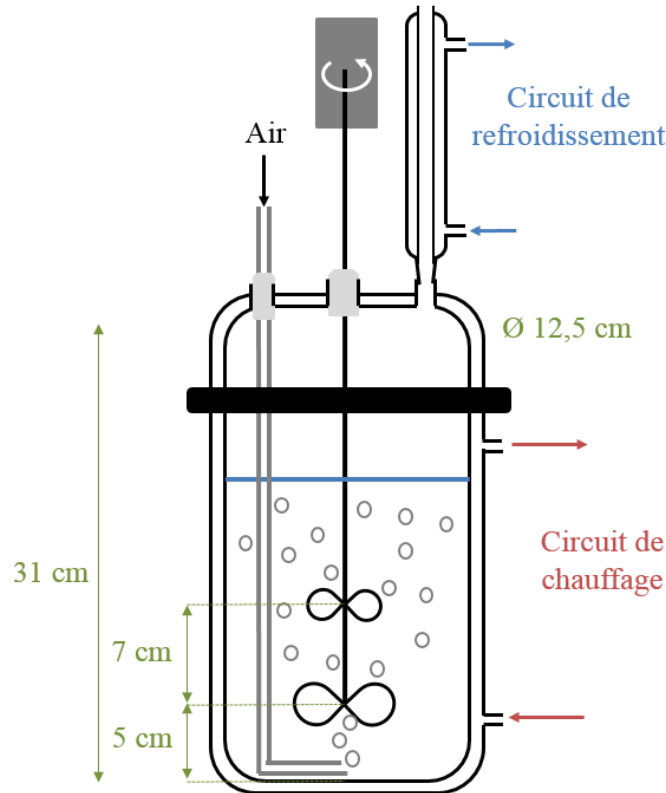


Figure 21: Schéma du bioréacteur de 2 L utilisé dans notre étude.

2.4.2. Bio-oxydation en batch

Les essais de bio-oxydation en batch ont été réalisés avec un volume utile de 2 L à l'aide de repiquage successifs à 10% (v/v) (200 mL), comme présenté sur la Figure 22. Pour chaque essai, l'inoculum utilisé provenait du bioréacteur précédent en fin de batch, mais certaines cultures ont été inoculées à partir d'une culture conservée au frais (+4 °C). Les cultures ont été effectuées avec la solution nutritive 0Km, avec 9 ou 18 g.L⁻¹ de Fe(II), à 40 et 42 °C. L'air a été injecté à un débit de 100 L.h⁻¹ avec 1% de CO₂ et le réacteur a été agité à 400 rpm.

Un essai abiotique a également été mené à 40 °C en milieu 0Km avec 9 g.L⁻¹ de Fe(II). Les débits d'air enrichi en CO₂ étaient les mêmes que lors des essais biotiques. Enfin, un essai en fed-batch noté « R10ter » sur la Figure 22 a été réalisé à 42 °C en milieu 0Km avec 9 g.L⁻¹ de Fe(II). Lorsque la totalité du Fe(II) introduit initialement a été oxydée, 9 g.L⁻¹ de Fe(II) sous forme FeSO₄.7H₂O ont été ajoutés dans le réacteur. Quatre ajouts successifs ont ainsi été effectués, jusqu'à l'obtention d'une solution contenant 45 g.L⁻¹ de fer.

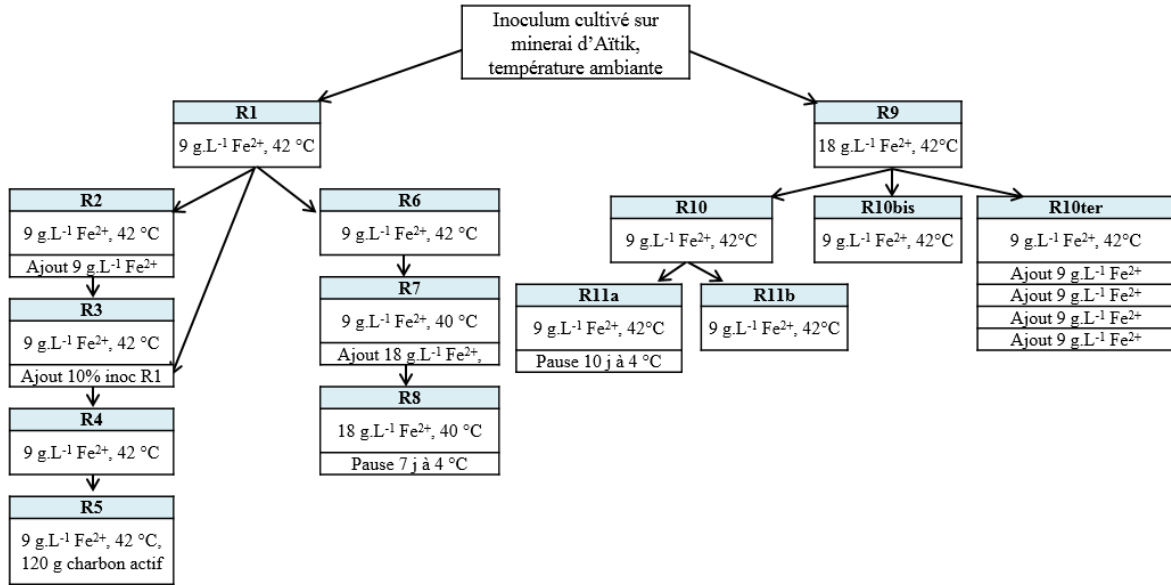


Figure 22: Cultures successives pour l'étude de bio-oxydation réalisées en réacteur 2 L en batch (les numéros des réacteurs sont liés à la chronologie des essais).

2.4.3. Biolixiviation des cartes électroniques en batch

Les essais de biolixiviation de cartes électroniques en batch ont été menés entre 35 et 40 °C avec une agitation à 600 rpm. L'air comprimé a été injecté avec un débit de 18 à 60 L.h⁻¹, parfois enrichi à 1% en CO₂. Le volume utile était de 2,25 L et la solution nutritive était le 0Km. Deux concentrations en solide ont été testées : 1% et 5% (m/v) de solide, correspondant à des ajouts de cartes électroniques broyées à 750 µm d'environ 20 g et 100 g. Le Tableau 12 reprend les conditions opératoires lors de ces essais. Les essais ont été effectués en présence ou non de bactéries, avec des concentrations en fer dans le milieu variant de 1 à 8 g.L⁻¹. Un essai en présence uniquement d'acide H₂SO₄ a également été réalisé. Le matériel pour les essais abiotiques n'a pas été stérilisé mais des comptages réguliers ont été accomplis pour vérifier l'absence de bactéries.

Les essais abiotiques ont été menés à l'aide de Fe(III) synthétique ajouté sous forme Fe₂(SO₄)₃.xH₂O. Lors des essais biotiques, le réacteur contenait une solution de Fe(III) biogénique qui provenait de la bio-oxydation du Fe(II) par la culture acidophile. Lorsque plus de 90% du Fe(II) était sous forme Fe(III), les cartes électroniques étaient ajoutées.

Tableau 12: Conditions opératoires lors de la biolixiviation de cartes électroniques en réacteur 2,25 L batch.

Concentration en solide	[Fe(III)] (g.L ⁻¹)	Biotique	Débit gaz (L.h ⁻¹)	Taux de CO ₂ injecté	Température (°C)
1% (m/v)	8	Non	18	0%	40
		Oui	60	1%	35
	1	Non	60	1%	35
		Oui	60	1%	35
		Oui	60	1%	35
5% (m/v)	8	Non	60	1%	35
		Oui	60	1%	35
	0	Non	18	0%	40
		Oui	60	1%	35

Des essais de biolixiviation de Cu commercial ont également été effectués dans les mêmes conditions. Le Cu utilisé était pur à 99,5% (Alfa Aesar) avec une granulométrie comprise entre 149 μm et 420 μm . La quantité de Cu commercial qui était ajoutée correspond à celle contenue dans les cartes électroniques lorsque la concentration en solide de cartes électroniques est égale à 1%. Le Tableau 13 reprend les conditions opératoires lors de ces essais batch. Le débit de gaz a été de 60 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ enrichi à 1% CO_2 pour tous ces essais. La température a été fixée à 35 °C. Pour l'essai en acide sulfurique seul, l'agitation a été augmentée à 700 rpm pour améliorer la mise en suspension des particules de Cu.

Tableau 13: Conditions opératoires lors de la biolixiviation de Cu commercial en réacteur 2,25 L en batch.

% Cu (m/v)	[Fe(III)] ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Biotique	Agitation (rpm)
0,147%	9	Non	600
	1	Non	600
		Oui	600
	0	Non	700

2.5. Cultures en réacteur continu

2.5.1. Montage général

Le bioréacteur utilisé pour la biolixiviation en continu était constitué de deux compartiments. Le premier compartiment, qui comprend une colonne à bulles, correspond à l'étape d'oxydation du Fe(II) en Fe(III) et à la production de la solution lixivante utilisée dans le second compartiment. Celui-ci est constitué d'un réacteur de 2 L similaire à ceux utilisés lors des essais en batch, alimenté en continu par les cartes électroniques broyées et par la solution produite dans le premier compartiment. Le schéma général du montage est donné sur la Figure 23.

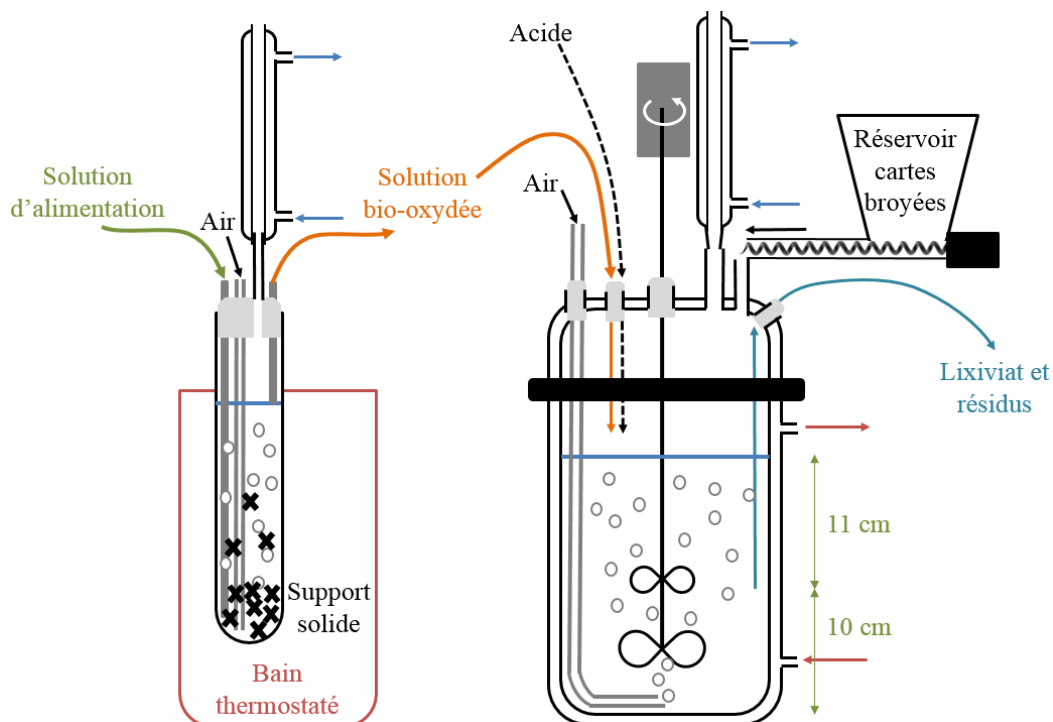


Figure 23: Schéma du montage utilisé pour la biolixiviation de cartes électroniques broyées. Le réacteur est constitué de 2 étages et fonctionne en continu.

2.5.2. Bio-oxydation en continu

La colonne à bulles utilisée pour la bio-oxydation en continu a un volume utile d'environ 150 mL ; elle mesure 4,5 cm de diamètre et 30 cm de haut (Figure 23). Elle est plongée dans un bain thermostaté dont la température est maintenue à 36 °C. A l'aide de pompes péristaltiques à vitesse variable, le milieu de culture est continuellement injecté vers le bas de la colonne à bulles tandis que la solution produite par la réaction est soutirée.

La bio-oxydation du Fe(II) a d'abord été étudiée en mode continu indépendamment de la 2^{ème} étape pour déterminer les paramètres opératoires optimaux. Les deux solutions nutritives (0Cm et 0Km) ont été testées avec une concentration en Fe(II) variable (entre 1 et 9 g.L⁻¹) et un pH dans l'alimentation fixé à 1,1. La solution était aérée à un débit compris entre 20 et 30 L.h⁻¹ (2,2 à 3,3 vvm), avec un enrichissement en CO₂ de 1%. Les cinétiques de bio-oxydation du fer ferreux ont été déterminées pour différents temps de séjour variant entre 1 et 18 h. Pour éviter le lessivage des cellules hors du réacteur, un support solide a été introduit dans la colonne à bulles, avec un volume apparent variant entre 33 et 100 mL. Des tests sans support solide et avec différents supports solides (présentés dans le paragraphe 2.2) ont été réalisés. Lors de ces essais, le volume de liquide dans le réacteur a été maintenu à 150 mL, quelle que soit la quantité de support introduit. Lors du démarrage du bioréacteur, celui-ci a été inoculé avec la culture BRGM-KCC à 10% (v/v). Après remplissage de la colonne, une première période de fonctionnement en mode batch est mise en place afin de permettre l'établissement de la biomasse. Lorsque le potentiel d'oxydoréduction atteint 800 mV vs ENH (Electrode Normale à Hydrogène), ce qui correspond à plus de 90% de Fe(II) oxydé (d'après la formule de Yue et al., 2014 ; cf. paragraphe 2.6.1), la colonne est alors alimentée en continu. Tous les essais ont été réalisés dans des conditions non stériles. Celles-ci ne sont pas requises car le milieu est très sélectif (pH très acide, concentration en Fe élevée) et les risques de contamination sont quasiment inexistantes.

2.5.3. Biolixiviation des cartes électroniques en continu

Les essais de biolixiviation en continu ont été effectués en mettant en série la colonne à bulles de bio-oxydation et un réacteur agité mécaniquement similaire à ceux décrits au paragraphe 2.4.1. Pour ces essais, la colonne à bulles a fonctionné dans les conditions décrites dans le paragraphe précédent, avec 15 g de charbon actif comme support solide et le milieu d'alimentation 0Cm avec 1 g.L⁻¹ de Fe(II). Le réacteur agité de 2,25 L était alimenté en continu avec la solution produite par la colonne à bulles à l'aide d'une pompe péristaltique. Le temps de séjour dans le deuxième réacteur a été fixé à 48 h, soit un débit d'alimentation de 47 mL.h⁻¹ (3,2 h de temps de séjour dans la colonne à bulles). Le réacteur a été alimenté en cartes électroniques broyées à 750 µm au moyen d'une vis sans fin. Celle-ci était contrôlée par un automate programmable (Siemens LOGO!). Le flux de solide a été compris entre 0,5 g.h⁻¹ et 0.9 g.h⁻¹, ce qui correspond à une concentration en solide entre 1% et 1,8% (m/v). L'agitation a été fixée à 600 rpm, la température a été maintenue à 36 °C et le débit d'air à 60 L.h⁻¹ avec un enrichissement de 1% CO₂. Pour maintenir un pH inférieur à 2 dans le réacteur agité, une pompe d'ajout d'acide a été installée. Celle-ci a également été contrôlée par l'automate et permis l'ajout d'acide sulfurique de concentration 1,8 mol.L⁻¹ ou 3,5 mol.L⁻¹ à un débit compris entre 2 et 5 mL.h⁻¹. Enfin, le soutirage de la pulpe a été réalisée à l'aide d'une pompe péristaltique, elle aussi contrôlée par l'automate, pour permettre de maintenir un niveau constant dans le réacteur.

Après quelques semaines de fonctionnement à une concentration en solide de 1,8% (m/v), le système a été modifié afin d'étudier la capacité des bactéries présentes dans le réacteur de biolixiviation des cartes électroniques (second étage) à poursuivre leur croissance et leur activité et ainsi assurer la biolixiviation des circuits imprimés, sans apport supplémentaire de fer et de biomasse. Pour cela, la connexion entre le réacteur primaire et le réacteur secondaire

a été coupée et l'alimentation du réacteur secondaire a été remplacée par une simple alimentation en solution nutritive acidifiée (OCm sans fer).

2.6. Méthode de suivi des paramètres physico-chimiques

2.6.1. Suivi régulier

Ce paragraphe décrit la mesure des paramètres physico-chimiques effectuées quotidiennement pour le suivi des essais en bioréacteur. Exceptionnellement, lors des essais pour déterminer les cinétiques de biolixiviation des cartes électroniques en batch, un suivi plus régulier a été mis en place lors de l'ajout des cartes : les mesures étaient réalisées toutes les 5 ou 10 minutes pendant 1 h puis toutes les heures pendant 6 h. Pour les essais en erlenmeyer, le même suivi avait lieu quotidiennement sauf pour les essais de cinétiques abiotiques, qui étaient plus longues et pour lesquelles le suivi était accompli tous les 2 jours environ.

Le suivi quotidien comprend une mesure du pH et du potentiel d'oxydoréduction dans le réacteur (lors des essais batch) ou dans le flux de sortie (lors des essais en continu). Le potentiel d'oxydoréduction est mesuré à l'aide d'une électrode de platine et d'une électrode de référence Ag/AgCl/KCl(3 mol.L⁻¹). La mesure est ensuite rapportée vis-à-vis de l'électrode normale à hydrogène (ENH), en tenant compte de la température.

Par ailleurs, lors de chaque suivi, un échantillon liquide est prélevé pour déterminer les concentrations en Fe, Cu, Ni, Zn, Pb et Co par SAAF avec un Varian SpectrAA-300. Le Tableau 14 présente les limites de détection de cette méthode d'analyse.

Tableau 14: Limites de détection pour les mesures de concentrations en métaux par SAAF.

SAAF	Fe	Cu	Ni	Pb	Co	Zn
Limite (mg.L ⁻¹)	0.01	0.01	0.01	0.1	0.01	0.01

Enfin le suivi intègre également la détermination du ratio Fe(II)/Fe(III) en solution. Une étude a été menée au préalable pour comparer différentes méthodes permettant d'obtenir cette information :

- Utilisation de la corrélation proposée par Yue et al. (2014) qui relie le ratio Fe(II)/Fe(III) au potentiel d'oxydo-réduction et à la concentration totale en Fe ;
- Titration du Fe(II) par du Ce(IV) ;
- Détermination de la concentration en Fe(III) par UV-visible après complexation avec des chlorures (Govender et al., 2012).

D'autres techniques sont rapportées dans la littérature, telles que le titrage par K₂Cr₂O₇ ou KMnO₄, la spectrophotométrie UV-visible avec de la 1,10-phénanthroline, *etc.* Bien que régulièrement utilisée dans différentes études, cette dernière a rapidement été écartée en raison des interférences liées à la présence de certains ions métalliques, comme le Cu (Govender et al., 2012). Pour déterminer la méthode la plus adaptée et la plus facilement réalisable dans le cadre d'un suivi régulier de bioréacteur, une étude préliminaire a été menée sur différentes solutions modèles et sur des solutions de bio-oxydation. La spectrophotométrie en présence d'ions chlorures a été testée. Elle repose sur la détection du complexe FeCl₂⁺ mais la concentration de ce complexe dépend largement des conditions opératoires. La matrice a des effets trop importants pour pouvoir utiliser cette méthode de manière répétitive et fiable. Concernant le titrage du Fe(II) par du Ce(IV), cette méthode est facilement mise en œuvre mais des imprécisions liées à l'électrode utilisée (titrode) ont parfois été détectées. Il a finalement

été choisi d'utiliser la formule empirique de Yue et al. (2014), basée sur une mesure du potentiel d'oxydo-réduction et une mesure de la concentration en Fe totale. La corrélation est la suivante :

$$E (mV) = -10^{-3} \times [T(K)]^2 + 0,91T(K) + \frac{2,303RT(K). 10^3}{nF} \log \frac{[Fe(III)]}{[Fe(II)]} + 492 \quad [13]$$

Avec T(K) la température en °K et E le potentiel d'oxydo-réduction vis-à-vis de l'électrode normale à hydrogène (ENH) en mV. Cette méthode a été validée par le BRGM en présence de cartes électroniques (Yue et al., 2016). La détermination du ratio [Fe(II)]/[Fe(III)] par cette méthode a été occasionnellement complétée par le titrage au Ce(IV) avec une titrode Metrohm (Pt-pH) en milieu acide sulfurique (Yue et al., 2016).

2.6.2. Mesures ponctuelles

Ponctuellement, des mesures de concentrations en dioxygène et dioxyde de carbone dans le gaz sortant du bioréacteur ont été effectuées à l'aide d'un analyseur ADC MGA 3000 (Multi-Gas Analyzer, Analytical Development Company Ltd). Par ailleurs, pour les essais de biolixiviation de cartes électroniques, les analyses des métaux dissous ont été complétées ponctuellement par des analyses en ICP-AES (protocole ME-ICP02, société ALS, Loughrea, Irlande) afin d'élargir la gamme des métaux analysés (Ag, Al, Cr, Ga, Mn, Mo, Sb, Sn, Ta, V, W et Zn). Les limites de détection des différents métaux analysés par ICP-AES sont données dans le Tableau 15. Les concentrations en nutriments ou autres éléments majeurs non métalliques (NH₄⁺, SO₄²⁻, PO₄³⁻, Mg, Na, Ca, K) ont également été mesurées : pour NH₄⁺, une analyse colorimétrique suivant la norme NF ISO 15923-1 a été utilisée (AFNOR, 2014) ; pour les autres éléments, le protocole ME-ICP02 a été employé par ALS.

Tableau 15: Limites de détection pour les mesures de concentrations en métaux par ICP-AES.

ICP-AES	Ag	Al	Cr	Ga	Mn	Mo	Sb	Sn	Ta	V	W	Zn
Limite (mg.L ⁻¹)	0.004	0.01	0.01	0.05	0.01	0.01	0.04	0.1	0.1	0.01	0.5	0.01

En fin de batch ainsi que pendant les essais en continu, des campagnes d'échantillonnage sont réalisées, avec pour objectif de calculer des bilans matières. Ces campagnes ont lieu lorsque les paramètres physico-chimiques des réacteurs sont stabilisés, après une période équivalente à 5 temps de séjour en régime permanent. Elle consiste en la récupération d'un volume précis de pulpe (mélange solide-liquide), qui est filtré sur des filtres Whatman 2,7 µm en fibres de coton. Le volume du lixiviat, ainsi que les masses des résidus solides et des lixiviats sont alors mesurés.

2.6.3. Analyse des résidus de biolixiviation des cartes électroniques

Certains échantillons de résidus de biolixiviation ont été analysés par diffraction des rayons X (diffractomètre Bruker D8 Advance, 4-75 °2θ, 0,03 °2θ/s, 288 s par pas, tube au Cu). Les diffractogrammes obtenus ont été traités par le logiciel Diffrac Suite.

2.7. Méthode de suivi microbiologique

2.7.1. Comptage et décrochage

Le nombre de micro-organismes dans le surnageant est suivi quotidiennement par comptage sur cellule de Thoma. Pour cela, un microscope optique de la marque Zeiss est utilisé, avec un grossissement 400. Des dilutions sont parfois réalisées avec de l'eau acide (H₂SO₄ à pH 1,6), lorsque le nombre de cellules est trop important. La même méthodologie est utilisée pour compter les particules attachées sur le support solide, après qu'elles aient été décrochées. Le protocole de décrochage est le suivant : un échantillon de 500 mg de support solide est mis en

contact avec 1,5 mL de milieu acide frais (OKm acidifié à un pH < 2) contenant 0,25% (v/v) de Tween 20 (Sigma Aldrich) pendant 1 h, dans un mélangeur Heidolph Reax 2 à vitesse minimale (24 rpm).

2.7.2. Microscopie électronique à balayage cryogénique

Cette méthode a été utilisée pour observer l'attachement des cellules sur le support solide sans aucune étape de préparation des échantillons. Après avoir été prélevé dans le bioréacteur, l'échantillon est déposé sur un support en cuivre recouvert d'une pâte de carbone. Les échantillons sont immergés dans de l'azote liquide à -176 °C et une dépression est appliquée pour abaisser la température à -210 °C et obtenir de l'azote pâteux. Ensuite, les échantillons sont mis sous vide et transférés dans le microscope électronique à balayage (MEB, Hitachi S-4500 à émission de champ opéré à 1kV en cryogénie). Au préalable, certains échantillons peuvent être cassés à l'aide d'une petite lame, ce qui permet d'observer l'intérieur des particules (échantillon dit « cryofracturé »). Une fois dans le microscope, les échantillons sont réchauffés jusqu'à -70 °C pour retirer la glace qui se dépose à la surface de l'échantillon par condensation de l'humidité de l'air, puis refroidis à -105 °C avant observations. La détection des électrons secondaires a permis l'observation des échantillons en surface et à l'intérieur lorsque ceux-ci avaient été cryo-fracturés. La spectrométrie par analyse dispersive en énergie (EDS) a été utilisée pour caractériser la composition de l'échantillon. La tension utilisée est alors de 5 ou 15 kV, selon les éléments à analyser.

Lors des observations sur les particules de cartes électroniques, une étape de métallisation par un mélange Au/Pd a été ajoutée car certains fragments n'étaient pas conducteurs. Les échantillons sont d'abord immergés dans l'azote pâteux, puis mis sous vide et lentement réchauffés jusqu'à température ambiante pendant une nuit avant de procéder à la métallisation. Les observations sont alors réalisées avec le MEB à température ambiante (mode classique).

2.7.3. Extraction d'ADN, électrophorèse capillaire par polymorphisme de conformation des simples brins (CE-SSCP) et réaction en chaîne par polymérase (PCR) spécifique

La PCR est une méthode qui permet de dupliquer une séquence d'ADN ou d'ARN à partir d'une faible quantité : cette méthode peut cibler un gène universel ou un gène spécifique d'une souche. Dans le deuxième cas, cela permet alors, par une simple électrophorèse sur gel, de détecter la présence de souches recherchées. La CE-SSCP est une technique utilisée sur le produit de PCR du gène ARN-16S qui permet d'obtenir un profil de diversité et de déterminer les abondances relatives des souches bactériennes détectées.

Ces méthodes ont été mises en œuvre pour connaître les populations bactériennes dans les bioréacteurs en continu : lors des essais sur la colonne à bulles, des échantillons contenant 0,5 mL de support solide et 2 mL de phase liquide ont été récupérés ; lors des essais sur le réacteur contenant les cartes électroniques, des échantillons de pulpe de 5 mL ont été récupérés. Les échantillons solides, les pulpes et les culots provenant de la centrifugation des phases liquides pendant 10 minutes à 14000 g ont été lavés par re-suspension dans le tampon Tris (100 mM, pH 8) jusqu'à ce que le pH atteigne la valeur de 7. L'ADN génomique a alors été extrait par le FastDNA Spin Kit for Soil en utilisant le protocole du fabricant (MP Biomedicals) avec un FastPrep®-24 à une vitesse de 5 m.s⁻¹ pendant 30 s. Pour l'extraction d'ADN à partir de charbon actif lors des essais de biolixiviation en deux étapes en continu, l'étape de lyse avec le FastPrep®-24 a été répétée.

L'amplification du gène d'ARN 16S à partir de l'extrait d'ADN a été réalisée avec un thermocycleur C-1000 (Biorad) avec les amorces W49 et W34 liées au fluorochrome FAM, comme dans l'étude de Hedrich et al. (2016). Pour l'analyse par CE-SSCP, un microlitre de produit de PCR dilué entre 5 et 500 fois, 0,4 µL de standard interne Genescan-600 LIZ (Applied

Biosystems) et 18,6 μL de formamide déionisé HiDi (Applied Biosystems) ont été chauffés pendant 5 minutes à 95 °C pour dénaturation et immédiatement refroidi avec de la glace pendant 10 minutes. Les analyses des fragments ont été réalisées avec un ABI Prism 310 (Applied Biosystems). Le logiciel GeneScan (Applied Biosystems) a été utilisé pour aligner les profils des pics sur la migration du standard interne, pour assigner la position des pics et pour calculer les abondances relatives à partir de l'aire des pics.

La même méthode d'amplification par PCR a parfois été utilisée pour détecter la présence d'une souche dans les échantillons. La PCR spécifique permet de détecter des souches présentes à l'état de traces, en comparaison à la CE-SSCP qui détermine les espèces majoritaires. Le protocole suivi a été le même que pour la PCR de l'ARN 16S ci-dessus, mais des amorces spécifiques à *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* (St fwd et St rev), à *Sulfobacillus benefaciens* (Sb 96F et Sb 355R), à *Leptospirillum ferriphilum* (Lfp 392F et Lfp 556R) et à *Acidithiobacillus caldus* (A caldus P1 et NR R2) ont été utilisées. Une fois que les gènes ont été amplifiés, 5 μL d'échantillon (ainsi que 5 μL de marqueur) ont été déposés sur gel d'agarose et une migration à 100 mV a été réalisée durant 30 minutes. Les gels ont été révélés au bromure d'éthidium, ce qui permet de détecter la présence ou l'absence des souches recherchées.

3. Références

- AFNOR, 2014. Qualité de l'eau - Détermination de paramètres sélectionnés par des systèmes d'analyse discrète - Partie 1 : ammonium, nitrate, nitrite, chlorure, orthophosphate, sulfate et silicate par détection photométrique, norme française NF 15923-1:2014, 25 p.
- Deverly, F., 1984. « Echantillonnage et Géostatistique », Thèse de doctorat en Sciences et Techniques Minières à l'École Nationale Supérieure des Mines de Paris, 129p.
- Govender, E., Harrison, S.T.L., Bryan, C.G., 2012. Modification of the ferric chloride assay for the spectrophotometric determination of ferric and total iron in acidic solutions containing high concentrations of copper, *Minerals Engineering*, **35**, 46–48.
- Guezennec, A.G., Jouliau, C., Jacob, J., Archane, A., Ibarra, D., de Buyer, R., Bodéan, F., d'Hugues, P., 2017. Influence of dissolved oxygen on the bioleaching efficiency under oxygen enriched atmosphere, *Minerals Engineering*, **106**, 64–70.
- Hagelüken, C., 2006. Recycling of electronic scrap at Umicore's integrated metals smelter and refinery, World of Metallurgy, *Erzmetall*, **59**, 3, 152-161.
- Hedrich, S., Guezennec, A.-G., Charron, M., Schippers, A., Jouliau, C., 2016. Quantitative Monitoring of Microbial Species during Bioleaching of a Copper Concentrate, *Frontiers in Microbiology*, **07**, 2044.
- Yue, G., Guezennec, A.G., Asselin, E., 2016. Extended validation of an expression to predict ORP and iron chemistry: Application to complex solutions generated during the acidic leaching or bioleaching of printed circuit boards, *Hydrometallurgy*, **164**, 334-342.
- Yue, G., Zhao, L., Olvera, O.G., Asselin, E., 2014. Speciation of the $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-Fe}_2(\text{SO}_4)_3\text{-FeSO}_4\text{-H}_2\text{O}$ system and development of an expression to predict the redox potential of the $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ couple up to 150 °C, *Hydrometallurgy*, **147-148**, 196–209.

Chapitre IV – Résultats & Discussion

L'étude de la biolixiviation des cartes électroniques implique la mise au point d'une méthodologie de caractérisation et d'échantillonnage fiable et robuste. L'obtention d'échantillons de cartes électroniques reproductibles, représentatifs et finement caractérisés, est nécessaire pour être en mesure de calculer des taux de mise en solution et comparer les résultats dans différentes conditions opératoires lors de la biolixiviation. Malgré une littérature scientifique abondante sur le traitement des cartes électroniques, la reproductibilité des échantillons et la caractérisation de lots conséquents sont très rarement traitées (par exemple Yamane et al. (2011) travaillent sur 10 kg d'échantillons, Holgersson et al. (2018) récupèrent 2,2 kg de cartes électroniques). Afin de pouvoir satisfaire nos exigences sur cette partie, nous avons dû développer notre propre méthodologie. Ceci a donc été une étape préliminaire à notre travail. Ainsi, la première partie de ce chapitre présente les différents résultats obtenus sur l'échantillonnage de cartes électroniques et la détermination des concentrations en métaux dans les échantillons produits. Le caractère novateur de ce travail est qu'il a été réalisé sur la totalité d'un lot de plus d'une demi tonne de cartes électroniques entières (526 kg).

Par ailleurs, dans notre étude, la biolixiviation de cartes électroniques est réalisée en deux étapes, pour permettre de limiter la toxicité des cartes électroniques vis-à-vis des bactéries et ainsi améliorer les cinétiques de mise en solution des métaux. La première étape de ce procédé consiste à produire une solution biolixivante, par bio-oxydation du Fe(II) en Fe(III). L'étude approfondie de cette étape, en batch et en continu, a été primordiale pour l'obtention d'une solution présentant des caractéristiques stables dans le temps (pH, concentration en Fe(III), concentration de biomasse). Les principaux résultats relatifs à cette étape et aux différents paramètres opératoires qui influencent les performances sont présentés dans la deuxième partie de ce chapitre.

Enfin, les résultats de cinétiques de mise en solution des métaux contenus dans les cartes électroniques, en batch et en continu, sont présentés dans la troisième partie de ce chapitre. Différentes concentrations en solide ont été testées. Les phénomènes qui entrent en jeu dans la biolixiviation, tels que la précipitation et la bio-oxydation du Fe(II), sont détaillés. La structure de la culture microbienne est également présentée.

1. Préparation, échantillonnage et caractérisation des cartes électroniques usagées

La production d'échantillons de cartes électroniques représentatifs et reproductibles, ainsi que la caractérisation de ces échantillons, sont essentielles pour pouvoir évaluer les performances du procédé de biolixiviation développé dans ce travail de thèse. A cause de la complexité de la matrice et de la faible broyabilité de la matière, la production des échantillons n'est pas aisée, tout comme leur caractérisation. Dans la littérature, peu d'études présentent un protocole complet pour les cartes électroniques (*cf.* Chapitre II). Dans notre étude, nous nous sommes donc attachés à développer une stratégie d'échantillonnage et de caractérisation en adaptant des protocoles existants.

Dans un premier temps, les déchets ont été préparés en mettant en œuvre plusieurs étapes successives de broyage pour réduire leur taille et rendre accessibles les métaux. Dans le même temps, une méthode d'échantillonnage a été développée pour permettre de limiter la variabilité de la composition en métaux d'un lot à un autre. La nature et la concentration des métaux contenus dans ces lots ont ensuite été déterminées dans le but d'obtenir une caractérisation fiable des échantillons produits. Les résultats obtenus ont permis d'évaluer la variabilité des échantillons. La méthode d'analyse développée a été utilisée pour effectuer la granulochimie des échantillons, c'est-à-dire la détermination des compositions en métaux des différentes

fractions granulométriques qui composent le déchet après broyage. Cette granulochimie permet d'une part de mieux comprendre la répartition des éléments métalliques dans nos échantillons, ainsi que leur accessibilité, et d'autre part d'inclure d'éventuelles étapes d'enrichissement dans le traitement des échantillons.

1.1. Préparation et échantillonnage

La préparation et l'échantillonnage des cartes électroniques répondent à deux objectifs, qui présentent des contraintes différentes : (i) la production d'échantillons pour la caractérisation (les échantillons doivent être représentatifs, contenir des métaux accessibles pour la minéralisation et des particules de la taille la plus fine possible pour réduire la masse d'échantillon à analyser, *cf.* Chapitre II) ; (ii) la production d'échantillons utilisés lors des essais de biolixiviation (les contraintes de représentativité et d'accessibilité sont les mêmes mais le choix de la taille des particules est un compromis pour limiter l'énergie dépensée lors du broyage tout en assurant une mise en suspension correcte des particules dans les bioréacteurs). Le protocole qui a été développé dans cette étude tient compte de ces différentes contraintes.

Dans une première étape, l'échantillon initial (526 kg) a été broyé et réduit en des particules d'une taille inférieure à 30 mm à l'aide d'un déchiqueteur à couteaux de la marque Bohmier Maschinen GmbH. Cette étape a été réalisée en 2,5 jours (2 opérateurs). Au cours de cette étape, 41 kg de grosses pièces correspondant aux dissipateurs thermiques et bobines ont été retirées car il était impossible de les déchiqueter avec cet appareil (manque de puissance). L'échantillon broyé a ensuite été divisé par quartage (au moyen d'un diviseur à carrousel alimenté par une trémie suivie d'une bande transporteuse) en quatre sous-échantillons pesant respectivement 110 kg, 142 kg, 108 kg et 122 kg. Les différences de masse obtenues entre ces échantillons s'expliquent par la formation d'amas de matière liés à la présence de fils de cuivre qui ont modifié le débit de matière entrant dans le diviseur à carrousel. Lors de cette première étape de réduction granulométrique, 3 kg de matière ont été perdus, ce qui correspond à 0,6% (mass.) de pertes.

Lors de la deuxième étape, l'échantillon de 122 kg a été entièrement déchiqueté avec le même déchiqueteur à couteaux que celui de l'étape précédente, pour atteindre une taille de particules inférieure à 10 mm. Cette étape a également duré 2,5 jours (2 opérateurs). Les pertes ont été inférieures à la précision de la balance (1 kg) lors de cette étape. L'échantillon a ensuite été divisé avec un diviseur à riffle pour obtenir des sous-échantillons de 4 kg. Contrairement à la première étape, tous les sous-échantillons obtenus ont un poids similaire. Par ailleurs, les amas de matière ne sont plus observés. En effet, contrairement à la première étape, les fils de cuivre ont été coupés, ce qui permet une meilleure répartition de la matière lors de l'utilisation des diviseurs à raffles. Ceci explique la bonne répétabilité de la masse des sous-échantillons obtenus.

Lors de la troisième étape, une partie des échantillons de 4 kg a été broyée à l'aide d'un broyeur à couteaux de laboratoire (Retsch SM-2000) équipé d'une grille de 750 μm et de couteaux en carbure de tungstène (WC). Cette étape a duré 2 jours (1 opérateur). Lors de cette étape, 7,9% de la masse des particules n'a pas traversé la grille de 750 μm mais ces particules ont été ajoutées à l'échantillon broyé. Par ailleurs, moins de 0,6% de la masse initiale a été perdue lors du passage de 10 mm à 750 μm . C'est un résultat satisfaisant. L'étude de Wienold et al. (2011) rapporte 0,05% (mass.) de pertes de matière pendant le broyage de 4 kg de cartes électroniques de 1,5 mm à 500 μm avec un broyeur ultra-centrifuge refroidi par un flux continu d'azote liquide.

Enfin, durant la quatrième étape, quelques échantillons déjà broyés à 750 μm ont été broyés avec un broyeur à meule ou un broyeur à couteaux de laboratoire avec une grille plus fine (500

μm) pour réduire encore la taille des particules. La granulométrie (distribution de taille des particules) a alors été évaluée.

La distribution granulométrique est présentée sur la Figure 24. Le d_{80} (80% de la masse des particules a une taille inférieure à ce diamètre) atteint $750 \mu\text{m}$ avec le broyeur Retsch SM-2000 équipé d'une grille de $750 \mu\text{m}$, $700 \mu\text{m}$ avec le même broyeur équipé d'une grille de $500 \mu\text{m}$ et $850 \mu\text{m}$ avec le broyeur à meule. L'utilisation du Retsch SM-2000 avec la grille de $500 \mu\text{m}$ n'a pas permis de réduire significativement la taille des particules en dessous de $750 \mu\text{m}$. En effet, même en augmentant le temps de broyage jusqu'à 2 heures, un grand nombre de particules n'a pas traversé la grille de $500 \mu\text{m}$. Il faut rappeler (*cf.* Chapitre III) que les particules qui restent sur la grille sont ajoutées à l'échantillon broyé pour conserver sa masse, ce qui permet de préserver la représentativité. Quant au broyeur à meule, son utilisation a eu l'effet inverse de celui désiré puisque le d_{80} de l'échantillon broyé a augmenté. Lors de l'utilisation du broyeur à meule, la formation d'agglomérats est observée, probablement due à la dissipation de chaleur. La réduction granulométrique par le broyeur à meule repose sur des phénomènes d'écrasement, contrairement aux cisaillements, imposés par le broyeur Retsch. Ainsi, les résultats de ces différents essais de broyage semblent indiquer que les particules supérieures à $500 \mu\text{m}$ contiennent principalement des métaux ductiles qui ne sont pas réduits par ces techniques. Pour la suite de l'étude, les échantillons utilisés seront ceux obtenus par le broyeur Retsch équipé d'une grille de $750 \mu\text{m}$.

Dans ces échantillons, il est à noter la présence d'une fraction non négligeable (17% massique) de particules fines (taille $< 63 \mu\text{m}$). Celles-ci sont facilement perdues et peuvent potentiellement être dangereuses : Zhang et Forssberg (1999) rapportent dans leur fraction fine des teneurs élevées en Br, élément qui peut s'avérer toxique.

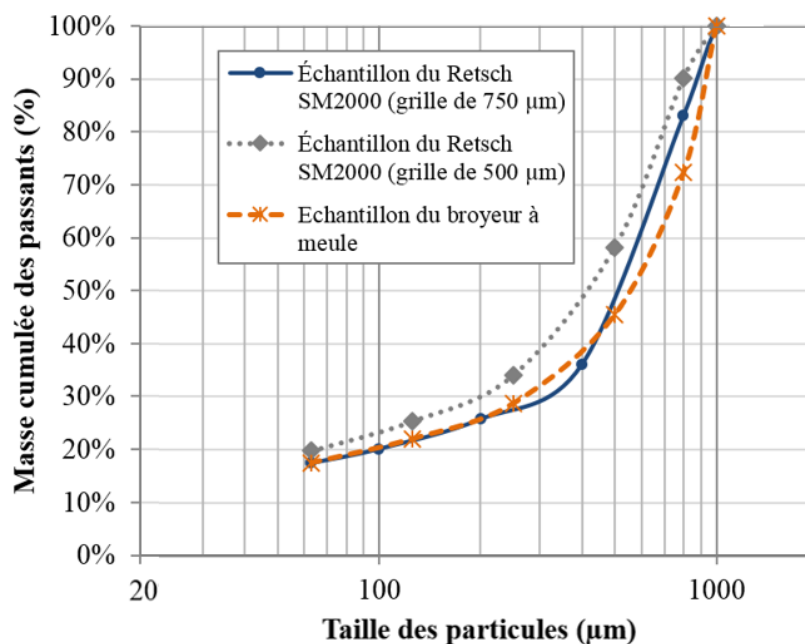


Figure 24: Distribution granulométrique des 3 échantillons de 290 g obtenus après l'étape de broyage n°3 (Retsch SM-2000 équipé d'une grille de $750 \mu\text{m}$) ou l'étape n°4 (Retsch SM-2000 équipé d'une grille de $500 \mu\text{m}$ ou broyeur à meule).

1.2. Teneurs en métaux dans les échantillons de 40 g

D'après Yamane et al. (2011) qui situent à 1 mm la limite à partir de laquelle les métaux ne sont pas suffisamment accessibles, le broyage à 750 μm doit pouvoir permettre d'atteindre une accessibilité complète des métaux. Malgré les difficultés rencontrées, le broyage à 750 μm limite l'hétérogénéité de composition de l'échantillon, ce qui permet de réduire significativement la masse d'échantillon à analyser lors de l'étape de caractérisation. Cette masse d'échantillon à analyser est difficile à prédire dans le cas des cartes électroniques, qui ont des compositions extrêmement variables. Comme évoqué dans le Chapitre II, il existe différents modèles liant la taille des particules et la masse minimale d'échantillon qui doit être analysée pour différents types de matériaux, mais un tel modèle n'existe pas, à notre connaissance, pour les circuits imprimés. Dans le cadre de cette étude, une loi empirique utilisée par le BRGM sur différents types d'échantillons (déchets plastiques, sols, minerais...) a servi de base pour déterminer la masse d'échantillon de cartes électroniques à analyser. Cette loi est la suivante :

$$\text{masse à analyser}(g) = 0,06 \times d_{80} (\mu\text{m}) \quad [14]$$

Ainsi, la réduction de la taille des particules de 1 mm à 750 μm permet par exemple de réduire la masse à analyser de 60 g à 45 g. Dans la norme NF EN 62321-5:2014, il est recommandé d'analyser 2 g d'échantillons à 250 μm (AFNOR, 2014) ; le modèle empirique du BRGM est plus exigeant, en imposant 15 g pour une granulométrie de 250 μm . Dans notre étude, avec un d_{80} à 750 μm et au vu des moyens expérimentaux disponibles, il a été décidé de travailler sur des échantillons de 40 g pour la caractérisation.

Ainsi, une fois les échantillons constitués, leurs teneurs en métaux ont été déterminées après une attaque à l'eau régale. En effet, l'emploi d'eau régale pour la minéralisation des métaux est une méthode recommandée dans les normes (*cf.* Chapitre II et NF EN 62321-5:2014). Trois échantillons de 40 g provenant de deux lots de 4 kg différents ont été ainsi attaqués, l'objectif étant de déterminer la variabilité des teneurs en métaux et la reproductibilité des échantillons. Les solutions obtenues à partir des échantillons n°1 et n°2 ont été analysées (Tableau 16) par spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES), spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) et spectrométrie d'absorption atomique flamme (SAAF). La solution issue de l'échantillon n°3 a été analysée uniquement par SAAF.

Tableau 16: Teneurs en métaux dans trois échantillons broyés à 750 μm (masse = 40 g). Les échantillons ont été attaqués à l'eau régale à 200 °C avec un ratio liquide/solide de 11 mL.g⁻¹ (« N.A. » signifie « Non Analysé »).

Echantillons	Concentrations en % massique							Concentrations en mg.kg ⁻¹					
	Cu	Fe	Al	Zn	Sn	Pb	Ni	Co	Ag	Au	Pd	Ga	Ta
N°1	14,60%	12,20%	6,24%	1,81%	1,89%	1,23%	0,32%	334	198	42,2	22,9	10,6	0,034
N°2	14,32%	12,34%	5,84%	1,51%	1,44%	1,08%	0,32%	374	166	62,0	26,8	10,7	0,038
N°3	14,82%	12,15%	N.A.	1,68%	N.A.	1,21%	0,37%	366	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
Moyenne	14,58%	12,23%	6,04%	1,67%	1,67%	1,17%	0,34%	358	182	52,1	24,9	11	0,036
RSD	1,7%	0,8%	-	8,9%	-	7,2%	7,2%	5,9%	-	-	-	-	-

Le coefficient de variation (RSD pour « relative standard deviation ») est défini comme le rapport entre l'écart-type et la moyenne. Il est inférieur à 2% pour le Cu et le Fe et compris entre 5% et 10% pour le Zn, le Pb, le Ni et le Co (Tableau 16). Lorsque l'analyse a été réalisée en duplicat et non en triplicat, les RSD ne sont pas calculés mais l'écart relatif entre les 2 valeurs obtenues est évalué. Il est de 6,8% pour l'Al, 31,3% pour le Sn, 19,3% pour l'Ag, 46,9% pour l'Au, 17% pour le Pd, 0,9% pour le Ga et 11,8% pour le Ta. Pour l'Al, le Ga et le Ta, l'écart relatif est limité, alors que d'importantes divergences ont été obtenues pour le Sn et l'Au.

Outre le faible nombre de réplicats, deux phénomènes peuvent expliquer la grande variation des valeurs de RSD ou d'écart relatif obtenue pour certains métaux : (i) l'attaque à l'eau régale a une efficacité qui dépend de la spéciation et de l'accessibilité du métal dans l'échantillon solide ; (ii) la répartition des métaux entre les échantillons est hétérogène.

Les teneurs en métaux calculées par l'attaque à l'eau régale ont été comparées à celles obtenues en utilisant de l'eau régale inversée qui est supposée être plus oxydante que l'eau régale (Figure 25). Les mêmes concentrations en métaux ont été obtenues avec l'eau régale inversée, sauf pour l'Ag et le Pd dont les concentrations sont respectivement 60 fois et 15 fois inférieures à celles obtenues en présence d'eau régale. Des études supplémentaires seraient nécessaires pour mieux comprendre l'origine de cette différence. Au vu de ces résultats, la minéralisation à l'eau régale est la méthode qui sera utilisée pour la suite de l'étude.

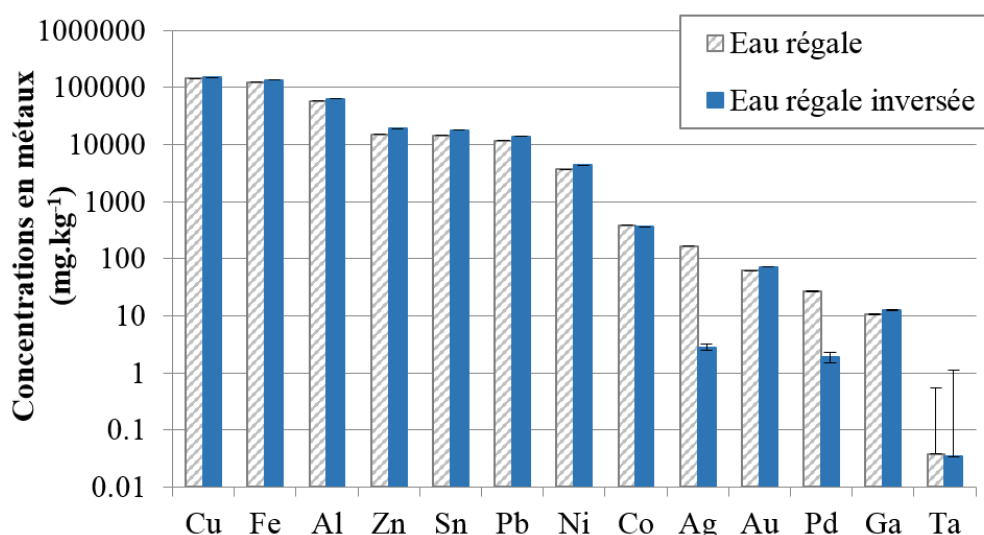


Figure 25: Teneurs en métaux dans deux échantillons de 40 g après attaque des échantillons à l'eau régale et à l'eau régale inversée (température = 200 °C, ratio liquide-solide = 11 mL.g⁻¹, analyse par SAAF pour Cu, Fe, Zn, Ni, Co et Pb et par ICP-AES et ICP-MS pour les autres).

Beaucoup de données sur les teneurs en métaux dans des échantillons de cartes électroniques usagées existent dans la littérature. Cependant, les procédures d'échantillonnage et les procédures analytiques sont peu décrites (Kumar et al., 2015 ; UNEP, 2013). Par ailleurs, les résultats dépendent largement du type de Déchets d'Equipements Electriques et Electroniques (DEEE) et de leur origine. La Figure 26 compare les données obtenues dans cette étude à celles rapportées dans l'étude de l'UNEP en 2013, celle de l'UNU en 2018 et celle de Bizzo et al. en 2014 (Bizzo et al., 2014 ; UNEP, 2013 ; UNU, 2008). L'étude de l'UNEP ne donne pas d'information sur le type de DEEE à l'origine des cartes électroniques étudiées, ni sur la méthodologie utilisée pour leur caractérisation. Le rapport publié par l'UNU indique que les cartes électroniques proviennent de la même catégorie que celle de notre étude, c'est-à-dire des Petits Appareils en Mélange (PAM). L'étude de Bizzo et al. (2014) a été menée sur des cartes électroniques provenant d'ordinateurs par attaque à l'eau régale. La Figure 26 compare les concentrations en métaux trouvées dans chacune de ces études et dans notre étude.

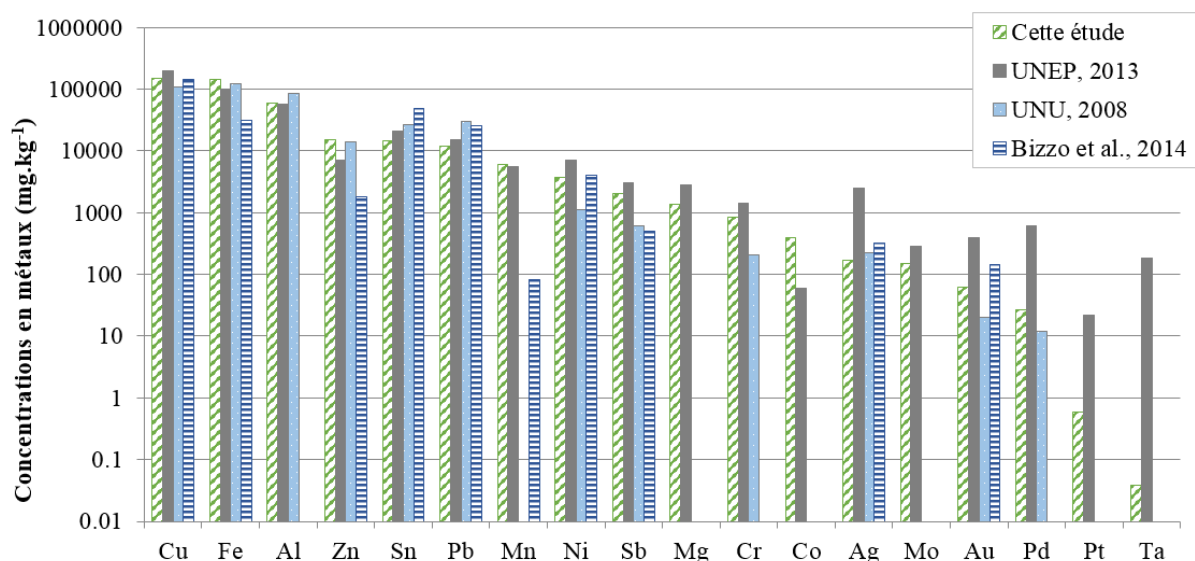


Figure 26: Comparaison des concentrations en métaux dans des déchets de cartes électroniques pour notre étude, celles de l'UNEP (UNEP, 2013), de l'UNU (UNU, 2008) et de Bizzo et al. (2014).

Les compositions des cartes électroniques déterminées dans les différentes études sont cohérentes entre elles et avec nos données. Il y a de grandes quantités de Fe et Cu (>10% massique) et d'Al (6-8% massique) qui proviennent de différentes parties des cartes comme les dissipateurs thermiques, les bobines, *etc.* Le Sn, le Zn et le Pb, qui sont principalement utilisés pour les soudures, représentent environ 1% du poids des cartes électroniques.

Une différence significative a été obtenue pour le Ta, dont la teneur est 5000 fois plus faible dans notre étude. Ceci s'explique probablement par une dissolution partielle du Ta à l'eau régale car le Ta présent sous forme métallique ou d'oxyde (Ta_2O_5) dans les condensateurs est très faiblement soluble dans l'eau régale (Theron et al. (2011) rapportent une dissolution de 3,9% du Ta_2O_5 et Ta dans l'eau régale lors d'une attaque assistée par micro-ondes). La concentration en Ta dans nos échantillons sera donc réévaluée par une autre méthode.

1.3. Analyse des résidus solides

Après attaque à l'eau régale, on obtient des résidus solides correspondant aux éléments non métalliques des cartes électroniques, qui ne sont pas dissous lors de l'attaque. Leur masse (après rinçage et séchage) représente environ 40% (m/m) du poids initial des échantillons de cartes électroniques qui ont été minéralisés, soit 16 g sur les 40 g analysés. Ces résidus ont été à nouveau minéralisés et caractérisés afin de déterminer la présence de métaux résiduels et ainsi vérifier la fiabilité du protocole utilisé. Les métaux ductiles, qui rendaient le broyage à 750 μm fastidieux, ont été dissous par la première attaque à l'eau régale, ce qui permet de broyer finement les résidus solides avant leur caractérisation (taille des particules < 100 μm). Cela permet d'assurer l'accessibilité des éléments métalliques potentiellement restants. La Figure 27 présente un cliché de résidus broyés obtenu au microscope électronique à balayage avec spectroscopie de rayons X par analyse dispersive en énergie (MEB-EDS). L'analyse par MEB-EDS des résidus a montré, de manière qualitative, l'absence de métaux et la présence de Si, Cl et Ca qui proviennent des plastiques, céramiques et verres.

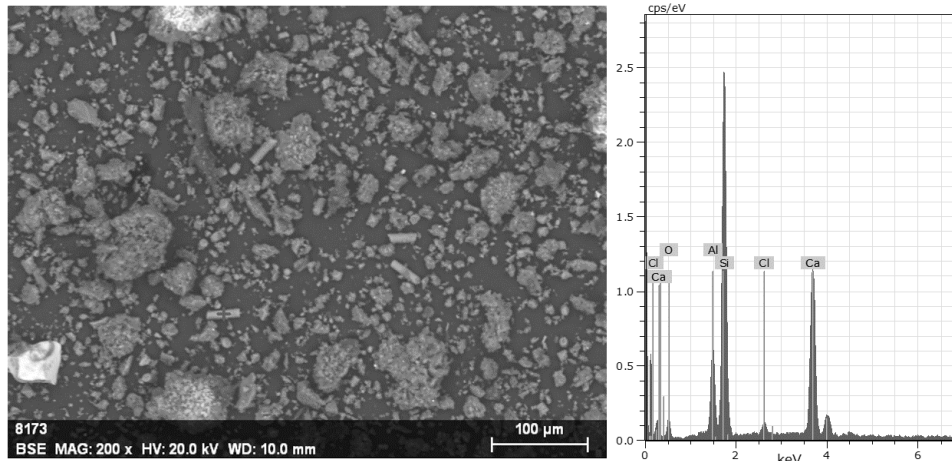


Figure 27: Cliché MEB-EDS de résidus broyés suite à l'attaque des cartes électroniques à l'eau régale (le porte-échantillons est en Al, ce qui explique le pic d'Al observé).

Pour évaluer la concentration en métaux dans les résidus, ceux provenant de l'attaque de l'échantillon n°2 ont été attaqués à l'eau régale après broyage, et ceux provenant de l'attaque de l'échantillon n°1 ont été attaqués à l'aide d'un mélange HF/HCl/HNO₃. Le Tableau 17 rassemble (i) les concentrations en métaux dans les cartes électroniques calculées après une ou deux attaques et (ii) les pourcentages de métaux dissous pendant la première attaque par rapport à la masse totale déterminée après deux attaques, calculés par l'équation suivante :

$$\% \text{ massique de métal dissous pendant la 1}^{\text{ère}} \text{ attaque} = \frac{m_1}{m_1 + m_2} \times 100 \quad [15]$$

Avec m_1 la masse de métal dans l'échantillon de cartes électroniques déterminée après la première attaque et m_2 la masse de métal dans le résidu de la première attaque, déterminée par la seconde.

Lors de l'attaque du résidu à l'eau régale, seul 10% de la masse de l'échantillon attaqué a été dissous. A l'inverse, l'attaque avec le mélange d'acide fluorhydrique a permis de dissoudre 100% des résidus. Par ailleurs, les concentrations en métaux dans les solutions étaient très faibles par rapport à celles obtenues à l'issue de la première attaque.

La minéralisation des résidus montre que plus de 90% (m/m) des métaux contenus dans les cartes électroniques ont été correctement attaqués par la première minéralisation à l'eau régale. Pour le Cu, le Zn, le Sn, le Pb, le Co et le Pd, la minéralisation est très efficace puisqu'elle permet d'atteindre des taux de dissolution de l'ordre de 99% (m/m). Pour ces métaux, l'attaque des résidus avec le mélange HF/HCl/HNO₃ a permis de dissoudre de faibles quantités de Cu (0,1% (m/m)), de Zn (2,1% (m/m)), de Sn (0,3% (m/m)), de Pb (0,7% (m/m)), de Co (1,1% (m/m)) et de Pd (1,2% (m/m)). Les échantillons ont été suffisamment broyés pour rendre accessible la plupart des métaux à 750 µm, qui a ensuite été aisément attaquée à l'eau régale. L'attaque par l'eau régale est correcte pour le Ni, l'Ag, l'Au et le Ga, avec au moins 93% (m/m) du métal qui a été minéralisé. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer qu'une partie des métaux n'ait pas été minéralisée, telles qu'une accessibilité partielle à 750 µm qui limite l'efficacité de la première attaque, une durée de minéralisation trop courte relativement à la taille des particules ou encore une spéciation du métal qui limite la minéralisation. Le manque de répliqués et la variabilité des échantillons ne permettent pas, à ce stade, de confirmer ou infirmer l'une ou l'autre de ces hypothèses. Concernant le Ta, l'attaque à l'eau régale n'est pas du tout appropriée puisque seulement 0,5% de la masse est minéralisée par la première attaque à l'eau régale. Cela confirme les résultats précédents (*cf.* paragraphe 1.2).

Tableau 17 : Concentrations en métaux dans les échantillons n°1 et n°2 après une première attaque à l'eau régale ou après deux attaques et le pourcentage massique de métal dissous pendant la première attaque (les concentrations sont données en % massique et en mg.kg⁻¹).

		Echantillon n°1			Echantillon n°2		
Attaque n°1	Méthode	Eau régale			Eau régale		
	% mass. résidus	40%			47,5%		
Attaque n°2 sur résidus d'attaque 1	Méthode	HF/HCl/HNO ₃			Eau régale		
	% mass. résidus	0%			90%		
Métal	Unité	Teneurs après attaque n°1	Teneurs après 2 attaques	% récupéré après attaque 1	Teneurs après attaque n°1	Teneurs après 2 attaques	% récupéré après attaque 1
Cu	% mass.	14,60%	14,61%	99,9%	14,32%	14,34%	99,9%
Fe	% mass.	-	-	-	12,34%	12,52%	98,5%
Al	% mass.	-	-	-	5,84%	5,96%	98,0%
Zn	% mass.	1,81%	1,85%	97,9%	1,52%	1,53%	98,5%
Sn	% mass.	1,89%	1,90%	99,7%	1,44%	1,45%	99,3%
Pb	% mass.	1,23%	1,24%	99,3%	1,08%	1,09%	98,8%
Ni	% mass.	0,32%	0,34%	94,5%	0,32%	0,33%	97,3%
Co	mg.kg ⁻¹	334	338	98,9%	374	376	99,5%
Ag	mg.kg ⁻¹	198	209	94,6%	166	179	92,6%
Au	mg.kg ⁻¹	42,2	44,4	95,2%	62,0	65,9	94,1%
Pd	mg.kg ⁻¹	22,9	23,2	98,8%	26,8	27,3	98,4%
Ga	mg.kg ⁻¹	10,6	11,4	93,0%	10,7	11,5	93,1%
Ta	mg.kg ⁻¹	0,034	7,5	0,5%	0,038	0,045	83,6%

Ainsi, cette étude permet de conclure que la méthodologie de minéralisation à l'eau régale est adaptée à la détermination des concentrations en métaux dans les cartes électroniques. Pour le Ni, l'Ag, l'Au et le Ga, une sous-estimation systématique des concentrations est obtenue mais celle-ci est acceptable. Il ne semble pas nécessaire d'utiliser un mélange contenant de l'acide fluorhydrique pour obtenir des résultats fiables, ce qui permet une mise en œuvre facilitée. Seul le Ta nécessite une autre méthode de minéralisation.

1.4. Granulochimie

La distribution des métaux, ainsi que la taille initiale des différents éléments dans les cartes électroniques, sont très variables. Par ailleurs, quand les nombreux composants des cartes électroniques sont soumis à des contraintes mécaniques, ils vont y répondre de manière très variée : cela va provoquer des déformations plastiques dans certains cas, alors que d'autres composants vont plutôt casser. Dès lors, certains matériaux peuvent être facilement déchetés avec une réduction granulométrique homogène alors que d'autres matériaux vont être

partiellement réduits. On obtient alors un broyage hétérogène qui peut entraîner une différence de distribution des métaux dans les fractions granulométriques et ainsi affecter l'attaque à l'eau régale et la représentativité du protocole d'échantillonnage. Ces phénomènes peuvent être évalués en déterminant la granulochimie de l'échantillon, c'est-à-dire l'analyse des fractions granulométriques pour connaître leur concentration en métaux. Cette méthode permet également d'identifier des fractions granulométriques dans lesquelles un ou plusieurs métaux d'intérêt peuvent être concentrés, pour ensuite les extraire plus facilement.

Par conséquent, l'analyse chimique de chaque fraction granulométrique par une attaque à l'eau régale inversée a été réalisée. Il faut noter que les concentrations en Ag et en Pd sont sous-estimées en utilisant cette méthode de caractérisation, comme nous avons pu le démontrer précédemment (*cf.* paragraphe 1.2). Les concentrations en métaux dans chaque fraction granulométrique sont données dans le Tableau 18, ainsi que les teneurs dans l'échantillon de départ appelé « échantillon reconstitué » qui ont été calculées en utilisant l'équation suivante :

$$x_{\text{échantillon}} = \sum_{i=1}^7 w_{\text{fraction } i} x_{\text{fraction } i} \quad [16]$$

Où $x_{\text{échantillon}}$ correspond à la concentration en métaux de l'échantillon reconstitué, $w_{\text{fraction } i}$ à la fraction massique de la fraction granulométrique i et $x_{\text{fraction } i}$ à la concentration en métaux de la fraction granulométrique i .

Pour estimer l'hétérogénéité de broyage, il est intéressant de calculer le ratio entre la teneur en métaux d'une fraction et celle des autres, ainsi que le ratio entre la teneur d'une fraction et celle de l'échantillon total. Pour la plupart des métaux (Al, Cu, Pb, Sn, Zn, Ni, Ga et Ta), ces ratios ne sont pas suffisamment élevés (<5) pour avoir un enrichissement notable d'une fraction.

Cependant, pour les métaux précieux (Au, Ag et Pd) et pour le Fe et le Co, une fraction granulométrique a été particulièrement enrichie. Celle-ci correspond à la fraction la plus grossière (>1000 μm) pour l'Ag et le Fe, à la fraction granulométrique fine (<100 μm) pour l'Au et aux fractions intermédiaires (100 μm - 400 μm) pour le Pd et le Co. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce phénomène : (i) la réduction granulométrique a été hétérogène pour ces métaux ; (ii) ils sont associés à d'autres éléments pour lesquels le broyage est hétérogène ; (iii) il existe des objets de différentes tailles sur la carte électronique avant le broyage et cela a une incidence sur la granulochimie finale de l'échantillon broyé.

La première hypothèse pourrait expliquer la répartition de l'Ag et du Fe dans l'échantillon broyé : ces métaux sont hautement ductiles et sont donc difficilement broyés (Brandes et Brook, 1992). La répartition du Fe dans la fraction la plus grossière, qui pourrait s'expliquer par sa forte ductilité, n'influence pas le RSD (0,8%) car la teneur en Fe dans l'échantillon global est très importante (12,23% massique) et la fraction grossière représente une masse très faible (1% de la masse totale). La répartition de l'Ag dans les particules grossières peut être liée à son association à d'autres éléments ductiles : il est de plus en plus utilisé dans les soudures sous forme d'alliage Sn-Ag pour remplacer le Pb interdit par la norme européenne RoHS (Petter et al., 2014). Ce phénomène pourrait être à l'origine des variations observées entre les teneurs en Ag des répliqués (écart relatif de 19,3% entre les concentrations du duplicat). En ce qui concerne le Co et le Pd, la fraction intermédiaire en est enrichie, mais aucune des hypothèses précitées n'est privilégiée pour expliquer ce phénomène. Par ailleurs, la dernière hypothèse sur l'incidence de la taille initiale des objets contenant les métaux pourrait expliquer la présence de l'Au dans la fraction fine : l'Au se trouve sous forme de fines couches dans la carte électronique (Goodman, 2002) ; bien que ce métal soit ductile, il y a une forte probabilité pour qu'il soit principalement présent dans la fraction fine de l'échantillon broyé.

Tableau 18: Teneurs en métaux (en % massique et mg.kg⁻¹) dans chaque fraction granulométrique et dans l'échantillon reconstitué.

Fraction granulométrique (en µm)		+1000	-1000 +800	-800 +400	-400 +200	-200 +100	-100 +63	-63	Echantillon reconstitué
% massique		1%	16%	47%	10%	6%	3%	17%	-
Métal	Unité								
Cu	% mass.	19,26%	15,74%	20,85%	19,19%	9,80%	6,17%	5,71%	16,18%
Fe	% mass.	47,75%	20,62%	12,42%	13,52%	13,78%	15,75%	8,15%	13,50%
Al	% mass.	5,22%	6,47%	6,27%	6,91%	5,55%	4,64%	5,30%	6,11%
Zn	% mass.	3,20%	2,17%	1,81%	1,91%	1,64%	1,38%	1,29%	1,77%
Sn	% mass.	0,99%	1,12%	1,80%	2,48%	1,97%	1,55%	1,32%	1,68%
Pb	% mass.	0,50%	0,79%	1,45%	2,04%	1,76%	1,38%	1,10%	1,35%
Ni	% mass.	0,64%	0,46%	0,46%	0,33%	0,30%	0,29%	0,29%	0,40%
Co	mg.kg ⁻¹	318	157	253	798	609	299	118	292
Au	mg.kg ⁻¹	18,6	28,6	59,7	59,7	86,8	178,0	105,5	67,1
Ga	mg.kg ⁻¹	11,3	10,6	9,4	15,2	12,9	14,2	15,1	11,5
Ag	mg.kg ⁻¹	35	1	2	4	3	3	4	3
Pd	mg.kg ⁻¹	1,9	1,4	1,3	9,9	1,2	2,9	1,2	2,2

Dans le Tableau 19, la valeur absolue de la différence de teneurs en métaux entre l'échantillon de 40 g attaqué à l'eau régale inversée et l'échantillon reconstitué est présentée. Pour une grande partie des métaux (Ag, Al, Au, Co, Cu, Sn, Zn), cette différence est inférieure à la variabilité intrinsèque entre les réplicats ou du même ordre de grandeur (RSD donnés dans le Tableau 16). Les différences relatives majeures sont obtenues pour le Ni, le Pb et le Pd. Cependant, l'échantillon reconstitué est peut-être moins sensible à l'« effet pépité » car sa teneur en métaux est calculée sur un échantillon de 110 g (*cf.* Chapitre III).

Tableau 19: Différences relatives (%R) des teneurs en métaux entre l'échantillon reconstitué (à partir des données du Tableau 18) et l'échantillon de 40 g attaqué à l'eau régale inversée (données de la Figure 25).

Élément	%R	Élément	%R
Ag	2%	Ga	9%
Al	3%	Ni	11%
Au	6%	Pb	14%
Co	9%	Pd	16%
Cu	6%	Sn	7%
Fe	9%	Zn	1%

Enfin, la Figure 28 montre la distribution en métaux en fonction de la granulométrie. Certains métaux sont spécifiquement répartis dans une ou plusieurs fractions (*cf.* Tableau 18) : dans la fraction fine ($< 63 \mu\text{m}$), les métaux précieux tels que l'Ag et l'Au ainsi que le Ga, qui est un métal stratégique, sont particulièrement concentrés car elle contient respectivement 24%, 27% et 23% de la masse totale de ces métaux. Le Pd et le Co sont principalement dans la fraction $-400 \mu\text{m} +200 \mu\text{m}$ (47% et 28% (m/m) respectivement). Malgré cet enrichissement spécifique, tous les métaux sont présents en quantité significative dans la fraction intermédiaire ($400 \mu\text{m} - 800 \mu\text{m}$) car la masse de cette fraction représente 47% du poids total de l'échantillon. En particulier, plus de 40% (m/m) de l'Au et de l'Ag sont présents dans cette fraction. Une distribution similaire est observée pour le Ga et le Cu, avec respectivement 38% (m/m) et 59% (m/m) du métal. Ainsi, l'utilisation du tamisage pour récupérer les fractions enrichies en un élément métallique spécifique induirait la perte d'une large partie du métal dans les fractions qui ne seraient pas conservées.

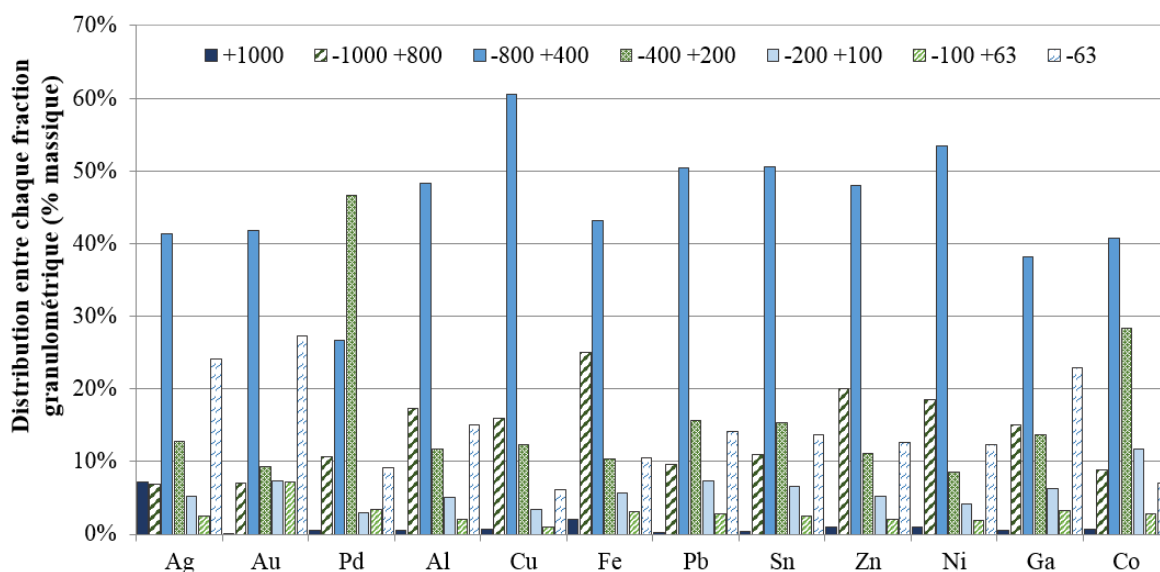


Figure 28: Distribution des éléments métalliques dans les fractions granulométriques.

La granulochimie permet de mieux comprendre la répartition des éléments métalliques dans nos échantillons et d'inclure d'éventuelles étapes de concentration dans le traitement des échantillons. Dans notre cas, les enrichissements observés ne sont pas suffisants pour pouvoir en tirer des bénéfices. Par ailleurs, la distribution n'est pas suffisamment homogène pour utiliser la fraction fine pour les études suivantes, comme cela est parfois réalisé dans certaines études (Ogunniyi et al., 2009) car l'échantillon ne serait plus représentatif du lot initial.

1.5. Interprétation

Dans cette partie, un protocole d'échantillonnage et de caractérisation des cartes électroniques a été développé préalablement aux essais de biolixiviation, avec pour objectifs :

- Assurer une bonne reproductibilité des échantillons (avec des variations de teneurs en métaux $< 10\%$)
- Libérer les métaux contenus dans les cartes afin d'assurer une dissolution quasi-totale de ces métaux ($>98\%$) lors des étapes de minéralisation,
- Déterminer de manière fiable les concentrations en métaux contenus dans le lot initial de cartes électroniques.

A la suite des différents essais effectués, les métaux ont été classés en trois catégories : ceux qui répondent à ces objectifs, ceux qui y répondent partiellement et ceux pour lesquels ces objectifs ne sont pas remplis.

➤ **Métaux pour lesquels les objectifs sont atteints**

Pour le Cu, le Fe, l'Al, le Zn, le Pb et le Co, les RSD ou écarts relatifs sont inférieurs à 10% pour des échantillons de 40 g (*cf.* Tableau 16). Par ailleurs, 0,1% à 2% (m/m) de ces métaux sont encore présents dans les résidus obtenus après la minéralisation. On peut donc en conclure que pour ces métaux, la procédure d'échantillonnage et de caractérisation utilisée permet d'obtenir des échantillons reproductibles et dans lesquels moins de 2% de la masse initiale de ces métaux est toujours présente dans les résidus obtenus à l'issue de l'étape de minéralisation.

➤ **Métaux pour lesquels les objectifs sont partiellement atteints**

Pour certains métaux, la procédure d'échantillonnage et de caractérisation ne permet pas d'atteindre une reproductibilité et/ou une dissolution totale aussi satisfaisantes que pour les métaux cités précédemment. Cependant, celles-ci restent acceptables dans le cadre de notre étude sur la biolixiviation.

Ainsi, pour le Ni et le Ga, la variation de la teneur dans les différents échantillons est limitée (RSD de 7,2% et écart relatif de 0,9% respectivement) ce qui permet de conclure à une bonne reproductibilité des échantillons. En revanche, le taux de dissolution atteint seulement 94,5% (m/m) pour le Ni et 93,0% (m/m) pour le Ga lors de la minéralisation des échantillons à l'eau régale. Leur concentration est donc systématiquement sous-estimée. La caractérisation des échantillons est néanmoins considérée comme acceptable pour la suite de notre étude.

A l'inverse, le Pd est bien minéralisé à l'eau régale mais la reproductibilité entre les échantillons n'atteint pas les objectifs fixés : l'écart relatif est de 17% entre les valeurs d'un duplicat.

Enfin, en ce qui concerne l'Ag, l'objectif de dissolution totale n'est pas totalement atteint, tout comme celui de reproductibilité : le taux de dissolution atteint seulement 92,6% (m/m) lors de l'attaque à l'eau régale et l'écart relatif entre les valeurs de concentration du duplicat atteint 19,3%.

➤ **Métaux pour lesquels la méthodologie ne permet pas d'atteindre les objectifs**

Pour l'Au, l'échantillonnage ne peut être considéré comme satisfaisant : l'écart relatif entre les concentrations en Au du duplicat s'élève à 46,9%. Cette variation de concentration peut s'expliquer par une encapsulation de fines particules d'Au dans des particules plus grossières, qui implique une mauvaise accessibilité. Ainsi, lorsque les résidus obtenus après la première étape de minéralisation sont analysés à nouveau, on constate que près de 5% de l'Au n'est pas dissous lors de l'attaque à l'eau régale de l'échantillon initial. Seul le broyage fin du résidu permet de dissoudre la totalité de l'Au contenu dans l'échantillon, ce qui semble confirmer l'hypothèse exposée précédemment.

Pour le Sn, la procédure d'échantillonnage et de caractérisation ne peut également pas être considérée comme satisfaisante puisque l'écart relatif des concentrations du duplicat s'élève à 31,3%. Il pourrait s'agir d'une problématique de caractérisation: il est recommandé dans la norme NF EN 62321-5:2014 d'utiliser un acide bromhydrique pour faire réagir la totalité de Sn et ainsi caractériser le Pb et le Cd qui pourraient être contenus dans les alliages contenant le Sn (AFNOR, 2014). Des différences d'efficacité de l'attaque à l'eau régale selon la spéciation du Sn dans la carte électronique initiale pourraient peut-être expliquer la grande différence relative obtenue.

Enfin, l'attaque à l'eau régale n'est absolument pas appropriée pour la détermination de la concentration en Ta : 99,5% (m/m) du Ta reste dans les résidus après attaque. Pour la suite de l'étude, les résultats de l'attaque des résidus par le mélange contenant l'acide fluorhydrique seront utilisés comme estimation de la valeur en Ta dans nos échantillons.

➤ Intérêt global de la méthodologie

Le Tableau 20 résume l'intérêt global, selon les métaux ciblés, des méthodes développées pour la détermination des teneurs en métaux des échantillons de cartes électroniques en prenant en compte la variation des teneurs entre différents échantillons et l'efficacité de l'attaque à l'eau régale. Ces méthodes sont bien adaptées pour le Cu, le Fe, l'Al, le Zn, le Pb et le Co. Elles sont légèrement moins adaptées pour le Ni, l'Ag, le Ga et le Pd, mais peuvent néanmoins être utilisées dans le cadre de cette étude. Pour l'Au et le Sn, la pertinence de notre procédure d'échantillonnage et de caractérisation n'est pas démontrée. Pour le Ta, la minéralisation à l'eau régale ne peut pas être utilisée.

Tableau 20: Intérêt global de la méthodologie développée pour la caractérisation des échantillons de cartes électroniques usagées selon le métal ciblé. Le symbole « + » traduit une méthodologie adaptée pour le métal. Le symbole « / » traduit une procédure qui n'est pas complètement adaptée mais qui peut être utilisée selon les besoins de l'étude et la précision requise. Le symbole « - » signifie que la méthode n'est pas adéquate pour le métal. « n.d. » indique que la méthode n'a pas été appliquée au métal considéré (« non déterminé »).

	Cu	Fe	Al	Zn	Pb	Sn	Ni	Co	Ag	Au	Ga	Pd	Ta
Reproductibilité des échantillons de 40 g (RSD<10%)	+	+	+	+	+	-	+	+	/	-	+	/	/
Caractérisation à l'eau régale (prise en compte des teneurs en métaux des résidus d'attaque)	+	n.d.	n.d.	+	+	+	/	+	/	/	/	+	-

1.6. Conclusion

Dans le but d'avoir des échantillons de cartes électroniques usagées reproductibles, représentatifs et finement caractérisés pour la suite de notre étude, une méthodologie d'échantillonnage et de caractérisation d'échantillons de grande taille a été développée. Notre stratégie contient deux procédures principales : (i) d'abord, une méthodologie pour réduire la taille des particules afin de rendre accessibles les éléments qui constituent les cartes électroniques, en utilisant dans un premier temps un déchiqueteur pour réduire la taille à 10 mm, puis dans un second temps, un broyeur à couteaux de laboratoire permettant d'atteindre une taille de particule de 750 μm , et la production d'échantillons d'une masse minimale de 40 g ; (ii) ensuite, une caractérisation des teneurs en métaux de ces échantillons par ICP-AES, ICP-MS et SAAF après minéralisation à l'eau régale.

Concernant la procédure d'échantillonnage développée, les pertes de matières sont négligeables et le déchiquetage est efficace puisque les échantillons obtenus ont un d_{80} de 750 μm . L'agglomération de particules métalliques limite l'intérêt d'un broyage plus fin qui nécessiterait plus de temps et d'énergie. On remarque cependant que l'utilisation du déchiqueteur n'est pas aussi efficace pour les métaux ductiles, puisqu'il entraîne des différences de distribution de ces métaux en fonction de la granulométrie. Cela peut avoir un effet important sur la reproductibilité des teneurs entre échantillons. Notre méthode de broyage semble néanmoins adaptée pour une large gamme d'éléments contenus dans les déchets des cartes électroniques.

Concernant l'attaque à l'eau régale, cette méthodologie est adaptée pour déterminer les concentrations pour une large gamme de métaux contenus dans les cartes électroniques, puisqu'elle permet d'atteindre des taux de dissolution supérieurs à 98%. Cependant, pour quelques métaux comme le Ni et le Ga, cette méthode sous-estime leur concentration jusqu'à 7%. Enfin, celle-ci ne permet pas de solubiliser le Ta. L'utilisation de l'eau régale inversée ne permet pas une amélioration significative des teneurs obtenues.

En conséquence, la combinaison du broyage par déchiquetage et de la minéralisation à l'eau régale est adéquate pour le Cu, le Fe, l'Al, le Zn, le Pb et le Co. Pour le Ni, l'Ag, le Ga et le Pd, elle peut être utilisée dans le cadre de notre étude mais ne permettra pas d'obtenir des résultats aussi précis que pour les métaux précédents. Pour l'Au et le Sn, des grandes variations de teneurs sont obtenues d'un échantillon à l'autre. Enfin, l'eau régale ne peut pas être utilisée pour minéraliser le Ta.

Par ailleurs, l'étude de la granulochimie d'un échantillon a permis de conclure qu'une étape d'enrichissement basée sur la granulométrie ne serait pas adéquate pour le traitement de nos échantillons. En particulier, l'utilisation de la seule fraction fine, qui est une méthode souvent mise en avant dans la littérature consacrée au développement de la biolixiviation pour le traitement des cartes électroniques, ne peut être mise en œuvre pour la suite de l'étude au risque de perdre la représentativité de l'échantillon et de négliger l'influence de la taille des particules sur les cinétiques de biolixiviation ainsi que sur la croissance et l'activité des micro-organismes.

En conclusion, les concentrations en métaux considérées dans les cartes électroniques usagées utilisées dans la suite de l'étude sont celles rapportées dans le Tableau 21. Il s'agit de la moyenne des résultats obtenus lors des différentes minéralisations pour le Cu, le Fe, l'Al, le Zn, le Sn, le Pb, le Ni, le Co, l'Ag, l'Au, le Pd et le Ga pour lesquels l'étape d'attaque à l'eau régale a été efficace. Pour le Ta, la concentration est celle qui a été calculée après attaque des résidus avec le mélange contenant l'acide fluorhydrique, de façon à prendre en compte ce qui n'a pas été attaqué à l'eau régale. La précision est par contre limitée pour le Mn, Sb, Mg, Cr, Mo, In, V, W, Ge et Pt puisque les concentrations de ces éléments ont été mesurées sur un unique échantillon de 40 g.

Tableau 21: Concentrations en métaux dans les échantillons de cartes électroniques broyées à 750 μm utilisées pour la suite de l'étude (concentrations données en % massique et mg.kg^{-1}).

Métal	Concentration (% mass.)	Métal	Concentration (mg.kg^{-1})
Cu	14,58%	Cr	842
Fe	12,23%	Co	358
Al	6,04%	Ag	209
Zn	1,67%	Mo	152
Sn	1,67%	In	100
Pb	1,17%	Au	44
Mn	0,61%	Pd	25
Ni	0,34%	V	22
Sb	0,20%	W	15
Mg	0,14%	Ga	12
		Ta	7,5
		Ge	0,75
		Pt	0,59

2. Bio-oxydation du Fe(II)

La biolixiviation des cartes électroniques en deux étapes comprend la bio-oxydation du Fe(II) en Fe(III) puis la lixiviation des cartes électroniques par le Fe(III). Dans cette partie sont exposés les travaux relatifs à l'étude et au développement de la première étape. Cette étude avait pour objectifs de déterminer les cinétiques de bio-oxydation par la culture acidophile BRGM-KCC et d'étudier les paramètres qui influencent cette cinétique afin de sélectionner des conditions opératoires permettant de produire une solution lixivante présentant des caractéristiques stables dans le temps (concentration de biomasse et concentrations de Fe(II) et Fe(III)). En effet, cette solution doit alimenter en continu la deuxième étape de traitement et sa composition ne doit pas varier au cours du temps si l'on veut pouvoir atteindre un régime permanent. Les essais de bio-oxydation ont été effectués en réacteur agité mécaniquement, en batch et fed-batch, puis en colonne à bulles en mode continu.

2.1. Bio-oxydation en batch et fed-batch

2.1.1. Cinétiques de bio-oxydation en batch

Les cinétiques de bio-oxydation du Fe(II) ont d'abord été déterminées en réacteur agité mécaniquement (2 L) en batch. Les essais ont été menés avec le milieu nutritif 0Km et une concentration initiale de Fe(II) de 9 et 18 g.L⁻¹. La cinétique présente deux périodes distinctes : d'abord un temps de latence durant lequel la réaction a lieu de manière lente, puis un changement rapide du ratio des concentrations de Fe(II) et Fe(III). Un exemple de cinétique de bio-oxydation est donné sur la Figure 29.

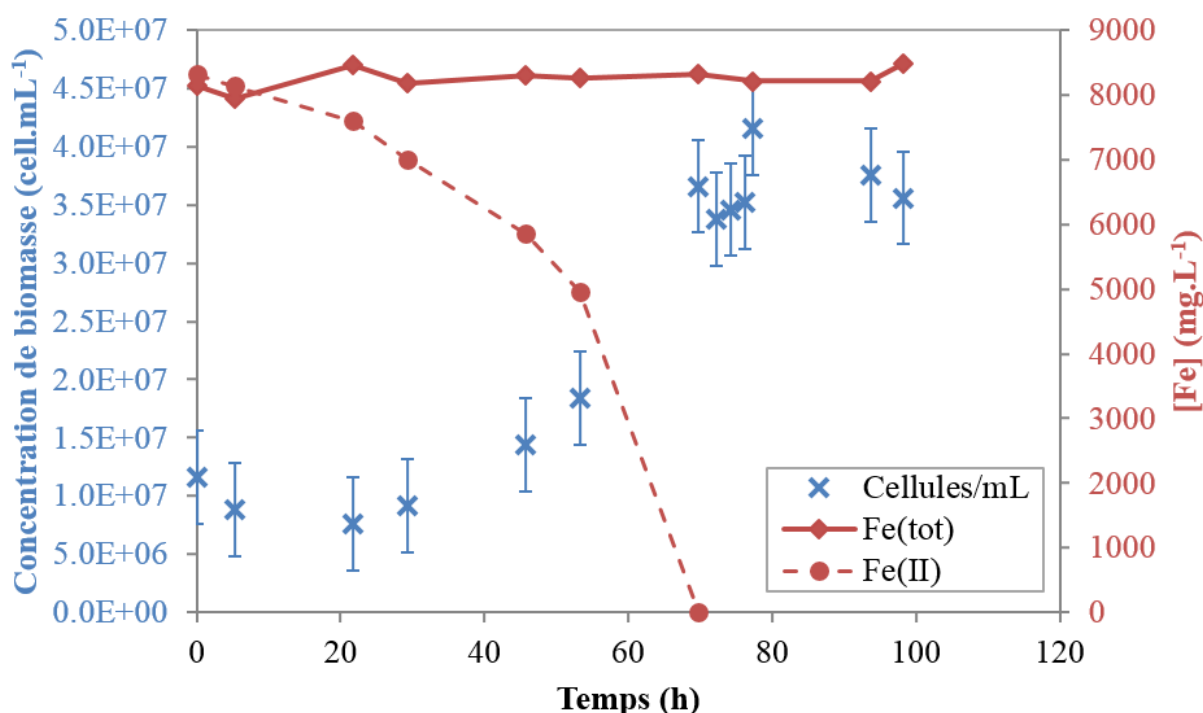


Figure 29: Cinétique de bio-oxydation de Fe(II) en milieu 0Km avec 9 g.L⁻¹ de Fe(II) en fonction du temps (concentrations en Fe totale et Fe(II) en mg.L⁻¹ et concentration en bactéries libres dans le liquide en mL⁻¹).

Le Tableau 22 présente les cinétiques obtenues durant les différents essais, ainsi que la cinétique abiotique qui a été réalisée dans les mêmes conditions. Les temps de latence sont variables, ce qui pose des difficultés pour mesurer les vitesses d'oxydation maximales. Cette vitesse est définie comme étant la pente maximale d'oxydation obtenue durant un essai en batch.

Par ailleurs, il faut noter la difficulté des cellules à se multiplier : le ratio entre le nombre de cellules présentes à la fin du batch et le nombre de cellules présentes initialement est le plus souvent inférieur à 10. Or les repiquages successifs ont été réalisés avec des inoculum à 10%(v/v). Les cellules sont donc diluées dans les bioréacteurs au cours des repiquages, ce qui influence fortement la durée de la période de latence, et plus globalement les cinétiques de bio-oxydation. Celles-ci sont très variables en fonctionnement batch. Malgré cela, une nette différence est observée entre les cinétiques obtenues en présence et en l'absence de bactéries : la vitesse d'oxydation maximale est de l'ordre de 60 mg.L⁻¹.h⁻¹ en conditions abiotiques alors qu'elle peut atteindre jusqu'à près de 3000 mg.L⁻¹.h⁻¹ avec les bactéries, soit environ 50 fois plus.

Tableau 22: Vitesses maximales de bio-oxydation mesurées lors des différents essais en batch, avec le milieu 0Km (« N.D. » pour « non déterminé ») – ordre chronologique.

Concentration en Fe(II) (g.L ⁻¹)	Température	Nombre de cellules initial (cell.mL ⁻¹)	Vitesse d'oxydation maximale (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)
9	42 °C	2,5.10 ⁸	N.D.
9	42 °C	2,8.10 ⁷	303
9	42 °C	2,5.10 ⁸	380
9	42 °C	2,4.10 ⁷	N.D.
9 *	42 °C	1,1.10 ⁷	N.D.
9	42 °C	2,5.10 ⁸	1651
9	40 °C	2,8.10 ⁷	1464
18	40 °C	1,4.10 ⁷	2453
18	42 °C	N.D.	2996
9	42 °C	8,4.10 ⁷	1566
9	42 °C	2,3.10 ⁸	N.D.
9	42 °C	1,3.10 ⁷	1391
9	42 °C	1,2.10 ⁷	1413
9	40 °C	Abiotique	61

* essai réalisé en présence de charbon actif

2.1.2. Cinétiques de bio-oxydation en fed-batch

Pour limiter les problèmes liés aux temps de latence et à la dilution du nombre de cellules au cours des repiquages, une cinétique de bio-oxydation en fed-batch a été déterminée. Le fed-batch consiste en l'ajout de quantités supplémentaires de substrat dans le milieu lorsque celui-ci a été presque entièrement consommé, sans que la culture ne soit repiquée dans un nouveau milieu frais. Dans notre étude, à la fin de chaque oxydation, une quantité supplémentaire de Fe(II) sous forme FeSO₄ a été ajoutée, le Fe(II) étant la source d'énergie de la biomasse. La Figure 30 présente le suivi de la concentration en Fe(II) et en Fe total dans le bioréacteur, ainsi que la concentration de biomasse au cours du temps. Le Tableau 23 présente les vitesses maximales de bio-oxydation relevées lors de cet essai.

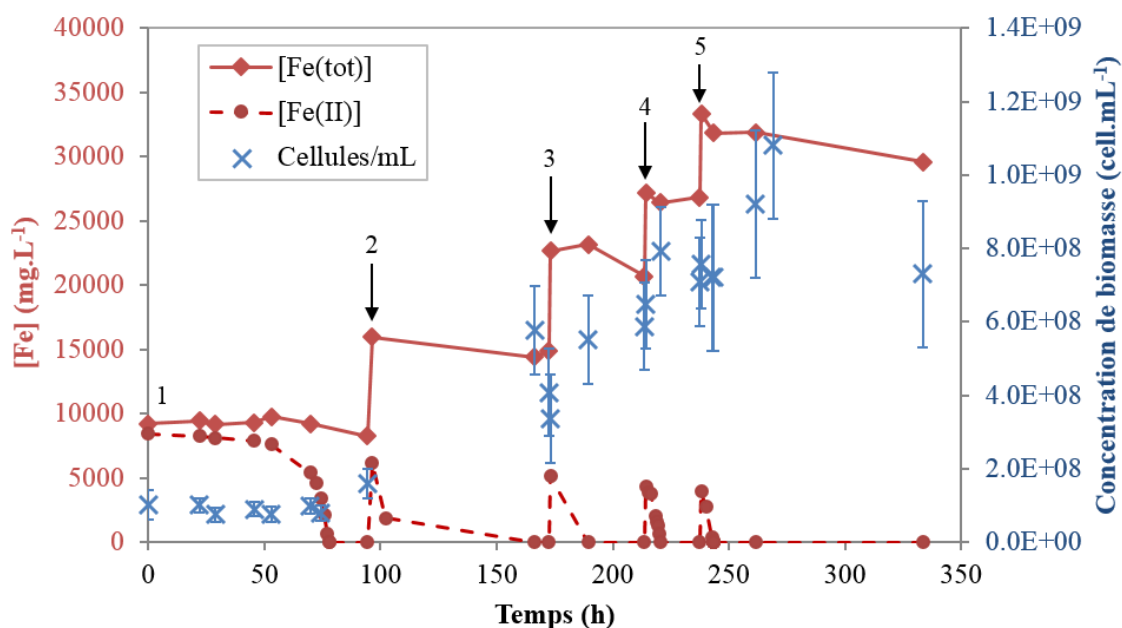


Figure 30: Cinétique de bio-oxydation en fed-batch et suivi de la concentration en biomasse au cours du temps (les flèches montrent les ajouts de 9 g.L⁻¹ de Fe(II) supplémentaires sous forme de FeSO₄).

Tableau 23: Vitesses maximales mesurées lors de la bio-oxydation de Fe(II) après ajouts successifs de FeSO₄.

Ajout de FeSO ₄	Vitesse maximale de bio-oxydation (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)
1 (t = 0h)	1232
2 (t = 96,25 h)	708
3 (t = 173,25 h)	316*
4 (t = 214,25 h)	1174
5 (t = 238,25 h)	937

*Cette vitesse est probablement minimisée par manque de données.

Là encore, les vitesses maximales de bio-oxydation sont variables. La concentration en fer total diminue au cours du temps après chaque ajout, mettant en évidence des phénomènes de précipitation. Par ailleurs, la consommation en dioxygène dissous est notable : sans activité ni croissance bactérienne, la concentration en oxygène dissous dans le bioréacteur est d'environ 7,8 mg.L⁻¹ (valeur de concentration en O₂ à saturation dans nos conditions expérimentales) alors que celle-ci chute à 3,8 mg.L⁻¹ quelques heures après l'ajout de FeSO₄.

2.2. Bio-oxydation en colonne à bulles en continu

Face aux difficultés observées lors des essais en batch, notamment concernant la reproductibilité des cinétiques, il a été décidé de poursuivre l'étude des cinétiques en passant du mode batch au mode continu. Cependant, les temps de séjour hydraulique (TSH, qui est le temps de passage d'un élément de fluide dans le réacteur) testés, qui doivent être compatibles avec la mise en place d'un deuxième étage, sont inférieurs au temps de croissance de certaines bactéries (Coram et Rawlings (2002) rapportent un temps de doublement de 12 à 15 h pour *Leptospirillum ferriphilum* ; Johnson et al. (2008) l'ont mesuré à 3,1 h pour *Sulfobacillus benefaciens*). Un support solide a donc été ajouté, afin de permettre aux cellules de rester dans le réacteur et d'éviter leur lessivage. Du charbon actif commercial, produit à partir de charbon noir granulaire, a été initialement choisi pour servir de support solide car la surface spécifique élevée (950 m².g⁻¹ dans notre étude) de ce support permet d'atteindre des vitesses de bio-

oxydation élevées (Jensen et Webb, 1995). Un premier essai avec du charbon actif dans un réacteur agité mécaniquement a conduit à une forte attrition des grains de charbon, limitant l'intérêt de ce type de support. Afin de limiter l'attrition, le dispositif expérimental a donc été modifié : le réacteur agité mécaniquement a été remplacé par une colonne à bulles. Les essais de bio-oxydation menés en colonne à bulles en continu avaient pour objectifs de déterminer les cinétiques de bio-oxydation obtenues en mode continu et d'étudier l'influence de différents paramètres, tels que la concentration initiale en Fe(II), la quantité et le type de support solide et la composition du milieu nutritif.

2.2.1. Influence de la concentration initiale en Fe(II) sur la vitesse et le taux de bio-oxydation

Préalablement à l'utilisation de la colonne à bulles, des essais préliminaires comparatifs ont été menés en erlenmeyers, en présence de charbon actif propre, en conditions biotiques et abiotiques, afin de vérifier l'influence du charbon actif sur la cinétique d'oxydation du Fe(II). En l'absence de bactéries, la vitesse d'oxydation est de $65 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$, ce qui correspond à la vitesse abiotique obtenue en l'absence de charbon actif lors des essais en batch en réacteur agité mécaniquement (voir Tableau 22). Lorsque les erlenmeyers sont inoculés avec le consortium bactérien, la vitesse d'oxydation atteint $240 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Ces résultats confirment que le charbon actif agit principalement comme support solide pour les bactéries et que sa capacité à oxyder le Fe(II) est négligeable par rapport à la catalyse biologique. Ils sont également en accord avec les études de Kuznetsova et al. (1995) et Ahumada et al. (2002) qui ont démontré que l'oxydation du Fe(II) en présence de charbon actif est très lente dans des conditions opératoires proches de celles utilisées dans cette étude. Pour observer une oxydation significative du Fe(II), ces auteurs montrent notamment qu'il faut soumettre le charbon actif à un traitement préalable relativement agressif (par exemple par flux gazeux de Cl_2 à $450 \text{ }^\circ\text{C}$ ou NH_3 à $900 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 4 h) et remplacer l'aération par un flux d'oxygène (1 atm) lors de la réaction d'oxydation. On peut noter également que la bio-oxydation du Fe(II) est un peu plus lente en erlenmeyer qu'en réacteur agité mécaniquement. Ce résultat s'explique probablement par des problèmes de transferts de matière et confirme l'intérêt d'utiliser un réacteur de type colonne à bulles qui limite l'attrition tout en favorisant la mise en suspension de la phase solide et le transfert massique de l'oxygène et du CO_2 de la phase gaz vers la phase liquide.

Pour étudier l'influence de la concentration initiale en Fe(II) sur les cinétiques de bio-oxydation en colonne à bulles, 15 g de charbon actif ont été introduits dans la colonne à bulles et le temps de séjour hydraulique a été fixé à 12 h. Cette masse de charbon actif correspond à un volume apparent de 33 mL. Le Tableau 24 expose le rendement et la vitesse de bio-oxydation obtenus dans ces conditions avec des concentrations en Fe(II) dans le flux entrant qui varient entre 1 et 9 g.L^{-1} .

Tableau 24: Performances de bio-oxydation obtenues en fonction de la concentration en Fe(II) (TSH = 12 h ; masse de charbon actif = 15 g).

$[\text{Fe(II)}]_{\text{entrée}}$ (g.L^{-1})	Rendement de bio-oxydation (%)	Vitesse de bio-oxydation ($\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	Durée de l'expérience
1	100%	83	12 TSH
4,5	100%	375	18 TSH
6	21% - 70%	105 - 350	27 TSH
9	7% - 44%	60 - 330	44 TSH

La vitesse de bio-oxydation maximale obtenue est de $375 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ avec une concentration en Fe(II) dans l'alimentation de $4,5 \text{ g.L}^{-1}$. Cette vitesse est largement inférieure à celles rapportées dans la littérature. Pour des concentrations en Fe(II) supérieures, le rendement et la vitesse de bio-oxydation diminuent. Par ailleurs, des variations considérables de ces résultats ont été observées alors même que les conditions opératoires étaient fixes.

Les performances de bio-oxydation (vitesse et rendement d'oxydation) en fonction du temps de séjour sont présentées sur la Figure 31 pour des bioréacteurs avec 1 et 9 g.L^{-1} de Fe(II) en alimentation. À paramètres opératoires fixés, les performances ne sont pas stables : il n'a pas été possible d'atteindre un régime permanent même après une durée équivalente à 10 temps de séjour hydraulique. Par conséquent, chaque point de la figure, qui représente la vitesse ou le rendement de bio-oxydation pour un temps de séjour fixé, illustre la valeur obtenue sur la plus longue période. Les barres d'erreur représentent la gamme des valeurs obtenues dans ces conditions. La Figure 31 montre de grandes divergences dans les résultats de bio-oxydation quand l'alimentation contient 9 g.L^{-1} de Fe(II) quel que soit le temps de séjour. Comme nous le montrerons dans les paragraphes suivants, ces fluctuations des performances du réacteur sont principalement dues à des phénomènes de précipitation sur le support solide. Lorsque la concentration en Fe(II) est de 1 g.L^{-1} , un rendement compris entre 80% et 100% est obtenu lorsque le temps de séjour est supérieur à 4 h. Cependant, lorsque celui-ci est réduit en dessous de 4 h, le rendement de bio-oxydation diminue rapidement. La vitesse maximale de bio-oxydation obtenue est de $450 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ pour une concentration de 1 g.L^{-1} et un temps de séjour de 2 h.

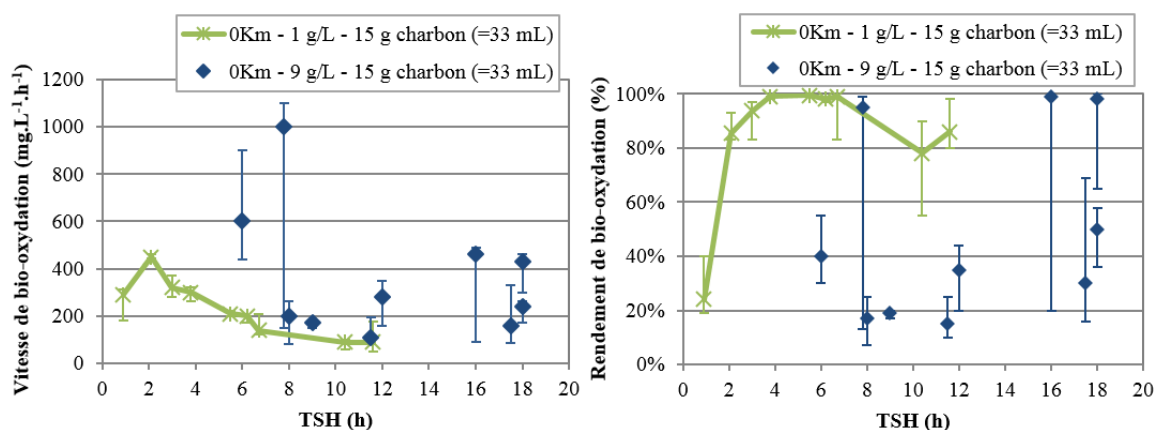


Figure 31: Bio-oxydation du Fe(II) à différents temps de séjour hydraulique compris entre 1 et 18 h en milieu 0Km, avec 1 et 9 g.L^{-1} de Fe(II), en présence de 15 g de charbon actif. Les barres d'erreur représentent les valeurs maximales et minimales obtenues à conditions opératoires fixées.

2.2.2. Influence de la quantité de charbon actif

Pour minimiser les instabilités observées pour les plus fortes concentrations en Fe(II), l'influence de la quantité de support solide a été étudiée. La Figure 32 montre les performances de bio-oxydation en milieu 0Km en présence de 9 g.L^{-1} de Fe(II) avec 15 et 30 g de charbon actif. L'augmentation de la quantité de charbon dans le bioréacteur permet d'améliorer la répétabilité des mesures de cinétique de bio-oxydation dans le bioréacteur alimenté à 9 g.L^{-1} Fe(II). Avec 30 g de charbon, le rendement de bio-oxydation décroît graduellement avec le temps de séjour et la vitesse de bio-oxydation varie entre 400 et $700 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

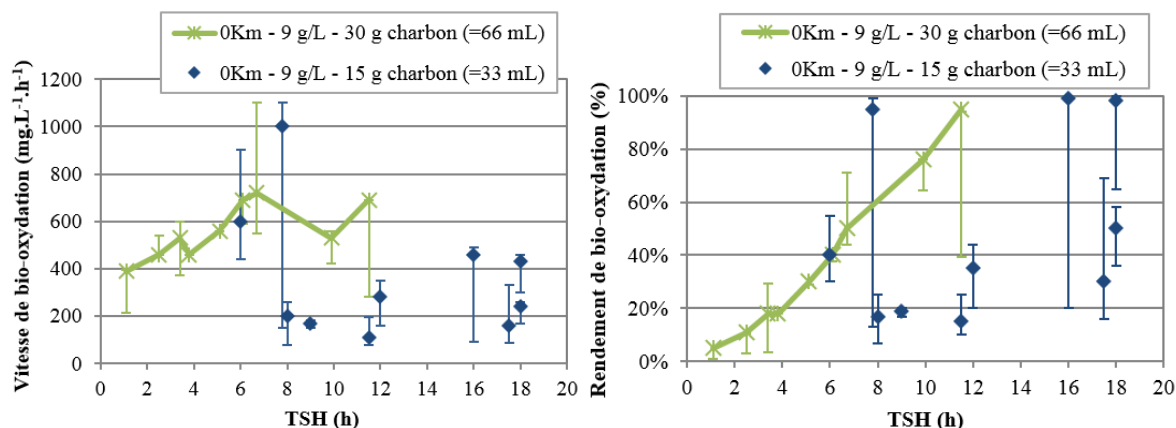


Figure 32: Bio-oxydation du Fe(II) pour différents temps de séjour hydraulique dans le milieu 0Km avec 9 g.L^{-1} de Fe(II) en présence de 15 g et 30 g de charbon actif. Les barres d'erreur représentent les valeurs maximales et minimales obtenues à conditions opératoires fixées.

Le Tableau 25 expose la vitesse et le rendement de bio-oxydation obtenus pour les deux concentrations en Fe(II) dans l'alimentation (1 g.L^{-1} et 9 g.L^{-1}) à 6 h de temps de séjour. Un rendement de 100% est obtenu quel que soit la quantité de charbon actif à 1 g.L^{-1} , ce qui résulte en une estimation des vitesses de bio-oxydation constantes. Pour l'alimentation à 9 g.L^{-1} , des vitesses de bio-oxydation supérieures ont été obtenues lorsque des quantités supérieures de charbon actif sont présentes dans le bioréacteur. La quantité de charbon actif influence la quantité de biomasse attachée, et par conséquent, les performances globales du bioréacteur.

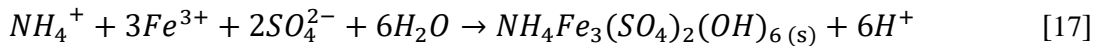
Tableau 25: Vitesses de bio-oxydation (r_b ; $\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$) et rendements de bio-oxydation (y_b ; %) en fonction de la masse de charbon actif à 6 h de temps de séjour hydraulique pour deux concentrations de Fe(II) différentes dans l'alimentation.

Charbon actif (g)	[Fe(II)] à 1 g.L^{-1}		[Fe(II)] à 9 g.L^{-1}	
	r_b ($\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	y_b (%)	r_b ($\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	y_b (%)
15	165	100%	80 – 780	6% - 55%
30	165	100%	650 – 1000	40% - 70%
45	-	-	500 - 1500	35% - 100%

Il faut noter que l'ajout d'une quantité supplémentaire de charbon actif dans le réacteur s'est traduit par une augmentation quasi-immédiate du rendement et de la vitesse de bio-oxydation, suivie par une diminution progressive (les données ne sont pas rapportées ici). De façon générale, l'augmentation de la quantité de charbon actif dans la colonne à bulles a permis d'obtenir de meilleures cinétiques de bio-oxydation et a permis de légèrement réduire les instabilités, sans pour autant atteindre le régime permanent et la production d'une solution avec des caractéristiques stables dans le temps.

2.2.3. Influence de la composition du milieu nutritif

Silverman et Lundgren (1959) ont détaillé la composition d'un milieu nutritif (9K) adapté à la croissance des micro-organismes acidophiles tels qu'*Acidithiobacillus ferrooxidans*. Collinet-Latil (1989) a modifié ce milieu pour obtenir des performances de biolixiviation optimales avec le consortium BRGM-KCC. Dans notre étude, ce milieu (0Km) a été comparé avec un milieu nutritif contenant les mêmes quantités de KOH, H_3PO_4 et $\text{MgSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$ mais dix fois moins de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Ce milieu nutritif est appelé milieu « 0Cm ». La réduction de la concentration en ammonium dans le milieu nutritif avait pour objectif de limiter la précipitation de jarosite d'ammonium, selon la réaction :



La comparaison des milieux nutritifs a été réalisée en présence de 15 g de charbon actif et une concentration initiale en Fe(II) de 1 g.L⁻¹ ou 30 g de charbon et une concentration initiale en Fe(II) de 9 g.L⁻¹ (Figure 33 et Figure 34).

Les résultats obtenus avec ces deux milieux sont similaires quand l'alimentation est concentrée à 1 g.L⁻¹ Fe(II), mais des meilleures performances ont été obtenues avec le milieu 0Cm pour de faibles temps de séjour (1,1 h) : la vitesse de bio-oxydation maximale augmente de 450 à 900 mg.L⁻¹.h⁻¹ quand le milieu nutritif passe de 0Km à 0Cm. On note une concentration de biomasse dans la phase liquide bien supérieure dans le milieu 0Cm comparé au milieu 0Km à 1,1 h.

Lorsque la teneur en Fe(II) dans l'alimentation est de 9 g.L⁻¹, réduire la quantité d'ions ammonium permet d'obtenir des performances plus stables pour les temps de séjour les plus longs et d'atteindre des rendements et vitesses de bio-oxydation plus élevés. Il est probable que la précipitation de jarosite soit limitée par des concentrations inférieures en ammonium. La biomasse dans la phase liquide est plus concentrée en milieu 0Cm qu'en milieu 0Km, ce qui peut également expliquer les meilleurs résultats. Dans le milieu 0Cm, la vitesse d'oxydation maximale atteint 1 400 mg.L⁻¹.h⁻¹ à 6,3 h de temps de séjour. Dans ces conditions, les performances de bio-oxydation sont dans la gamme des résultats présentés par la littérature (cf. Chapitre II).

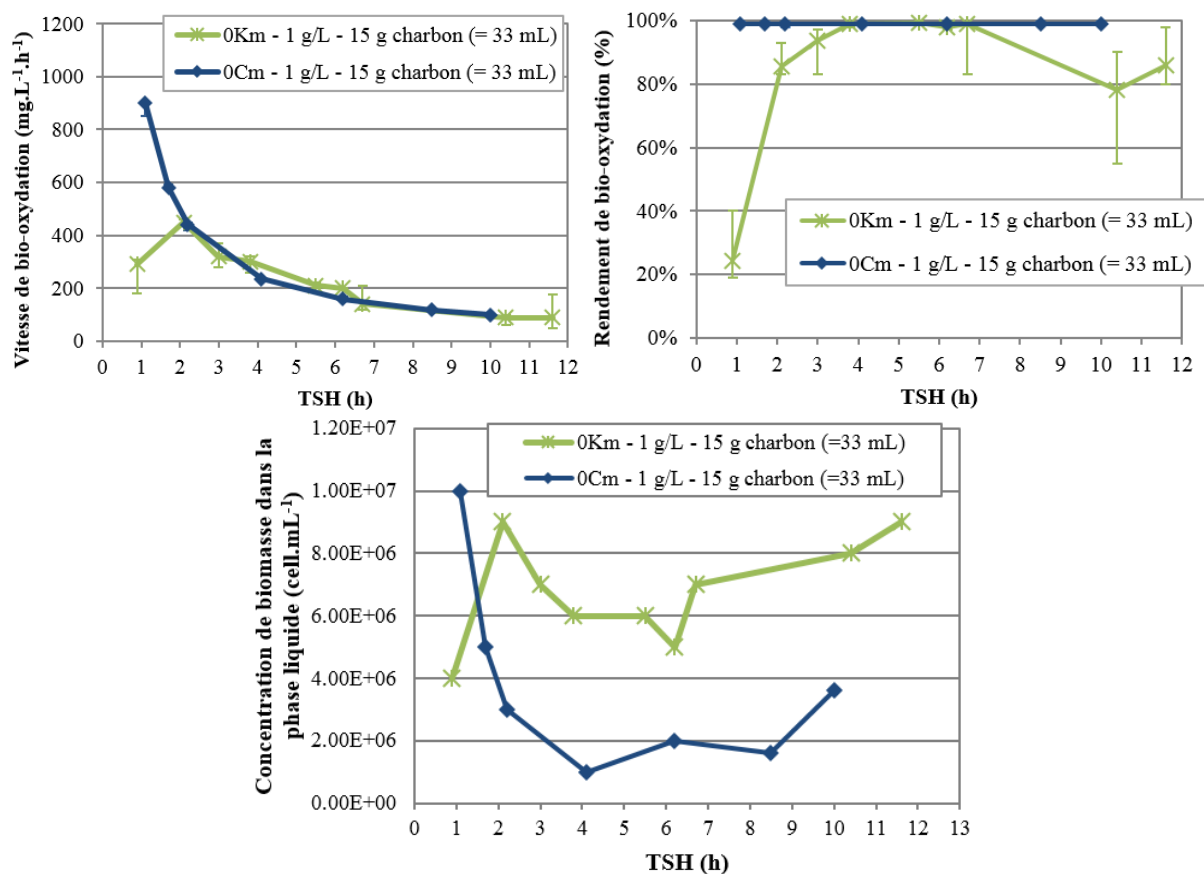


Figure 33: Bio-oxydation du Fe(II) et concentration de cellules libres dans la phase liquide pour différents temps de séjour hydraulique dans les milieux 0Km et 0Cm en présence de 15 g de charbon actif et de 1 g.L⁻¹ de Fe(II). Les barres d'erreur représentent les valeurs maximales et minimales obtenues à conditions opératoires fixées.

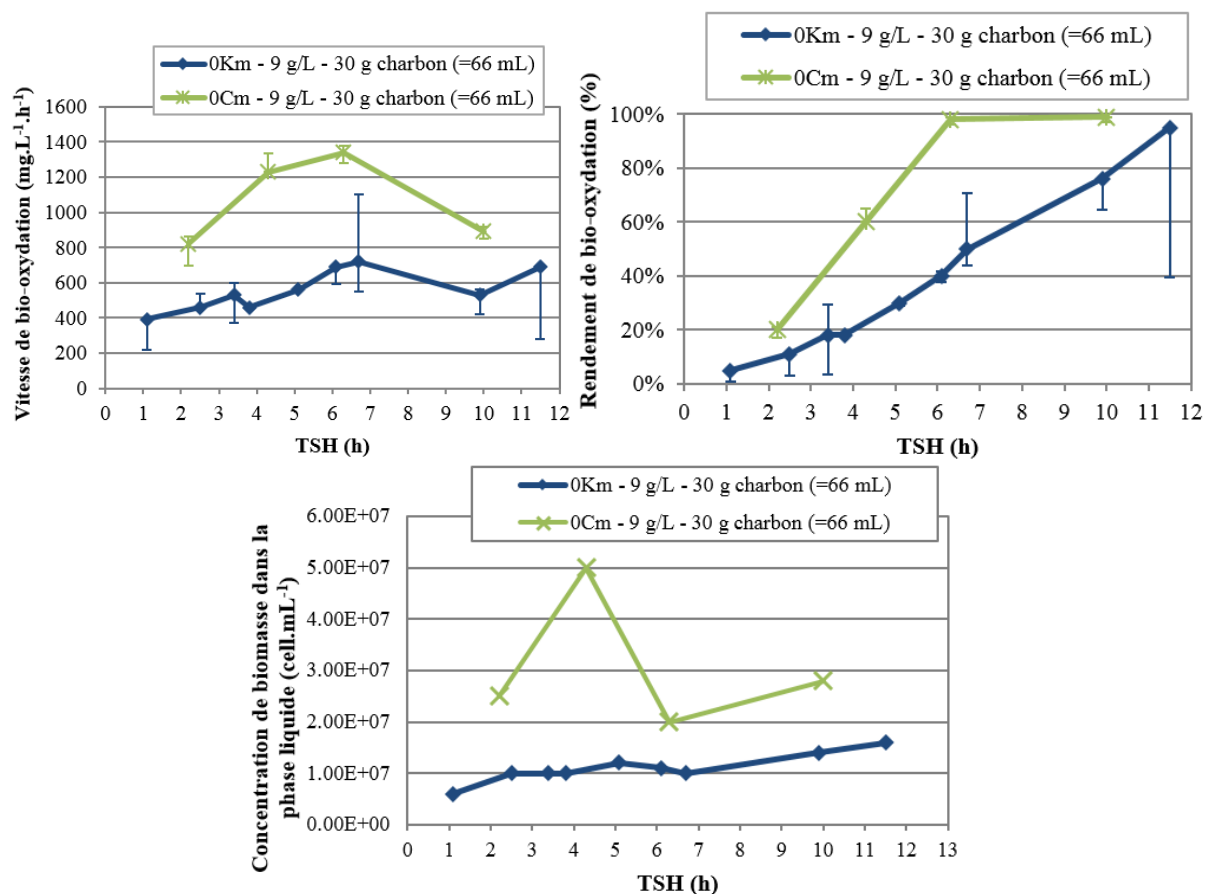


Figure 34: Bio-oxydation du Fe(II) et concentration de cellules libres dans la phase liquide pour différents temps de séjour hydraulique dans les milieux 0Km et 0Cm en présence de 30 g de charbon actif et 9 g.L⁻¹ de Fe(II). Les barres d'erreur représentent les valeurs maximales et minimales obtenues à conditions opératoires fixées.

2.2.4. Influence du type de support solide

La quantité de support solide a un effet sur les performances du bioréacteur puisque cela se répercute sur la quantité de biomasse retenue (*cf.* paragraphe 2.2.2). Pour compléter cette étude, l'influence du type de support solide sur les performances de bio-oxydation a été déterminée. En effet, il est probable que la forme, la surface spécifique et le matériau utilisé affectent les mécanismes d'attachement de la biomasse. Pour cette étude, les performances de bio-oxydation en présence de billes de polymères (PET et PVC) ayant de faibles surfaces spécifiques, ainsi que des bandelettes de nylon tissé, sont comparées à celles obtenues en présence de charbon actif.

Des essais préliminaires en erlenmeyer ont été réalisés pour comparer l'utilisation des billes de PET et de PVC. Les résultats, qui étaient très similaires, ne sont pas présentés ici. Le PVC a été retenu pour poursuivre les essais en colonne à bulles. La vitesse et le rendement de bio-oxydation obtenus en présence de 33 mL de charbon actif ou de billes de PVC sont présentés sur la Figure 35. Le même volume apparent est utilisé pour comparer les supports. De plus, lors du démarrage, un fonctionnement en batch durant 45 h a été imposé dans les deux cas pour favoriser l'attachement de la biomasse avant de passer en continu. Des performances similaires sont obtenues avec les deux supports pour des temps de séjour élevés (TSH >2 h). Cependant, la vitesse de bio-oxydation est affectée par le type de support solide pour des faibles temps de séjour (TSH =1 h) : elle décroît de 900 mg.L⁻¹.h⁻¹ à 500 mg.L⁻¹.h⁻¹ avec l'usage des billes de PVC.

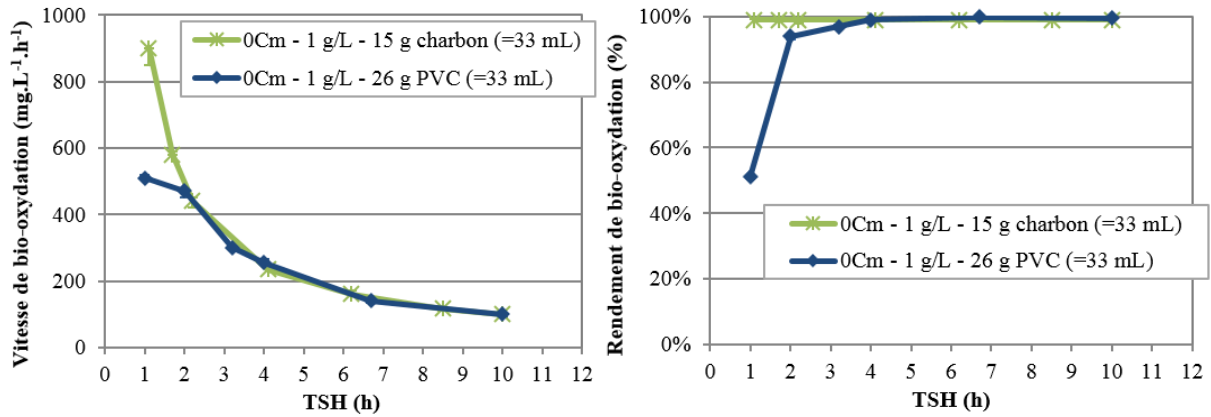


Figure 35: Bio-oxydation du Fe(II) pour différents temps de séjour hydraulique dans le milieu 0Cm avec 1 g.L⁻¹ de Fe(II) en présence de 15 g de charbon actif ou 26 g de PVC (équivalent dans les deux cas à 33 mL de support solide). Les barres d'erreur représentent les valeurs maximales et minimales obtenues à conditions opératoires fixées.

Une étude plus approfondie a été menée en milieu 0Cm avec 9 g.L⁻¹ de Fe(II). Les performances du bioréacteur en l'absence d'un support ou en présence de 66 mL de support solide (30 g de charbon actif, 52 g de billes de PVC ou 85 bandelettes de 1 x 10 cm de nylon tissé de maille 400 x 800 µm) sont présentées sur la Figure 36.

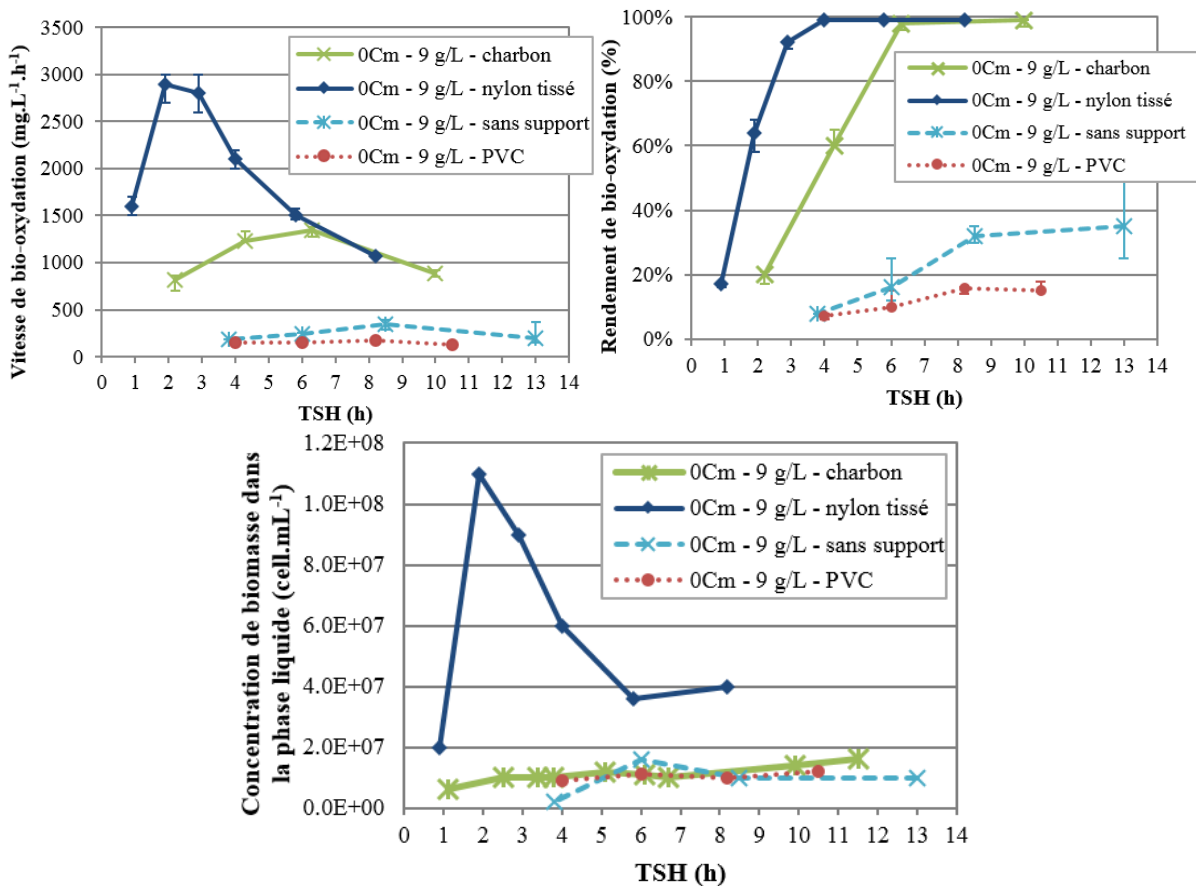


Figure 36: Bio-oxydation du Fe(II) pour différents temps de séjour hydraulique dans le milieu 0Cm avec 9 g.L⁻¹ de Fe(II) sans support solide ou en présence de 30 g de charbon actif, 52 g de PVC ou 85 bandelettes de nylon tissé (équivalent dans tous les cas à 66 mL de support solide). Les barres d'erreur représentent les valeurs maximales et minimales obtenues à conditions opératoires fixées.

Les performances obtenues avec les bandelettes de nylon tissé sont similaires à celles du charbon actif à des temps de séjour élevés, avec 100% de bio-oxydation. Pour des temps de séjour inférieurs à 6 h, le rendement de bio-oxydation diminue avec le charbon actif alors qu'il reste stable dans le cas de l'utilisation de nylon tissé, ce qui permet d'atteindre des vitesses de bio-oxydation de $2\,900\text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$. A 1 h de temps de séjour en présence de nylon tissé, les performances diminuent fortement, probablement à cause d'un lessivage des bactéries. Les performances élevées du nylon tissé par rapport au charbon actif ne sont pas liées à la surface spécifique du nylon, qui est réduite vis-à-vis du charbon (environ $29\,040\text{ m}^2$ avec 66 mL de charbon et $0,023\text{ m}^2$ avec 85 bandelettes de nylon tissé), mais peuvent s'expliquer par des meilleurs transferts de matière dans le bioréacteur, et donc une meilleure disponibilité du dioxygène, du dioxyde de carbone, du fer ferreux, *etc.* pour les bactéries. La concentration de la biomasse dans la phase liquide est largement supérieure en présence de nylon tissé, par rapport à celle obtenue en présence de charbon.

Les performances du bioréacteur sans support solide sont faibles : moins de 20% du Fe(II) entrant est oxydé quel que soit le temps de séjour testé, ce qui représente une vitesse de bio-oxydation maximale de $350\text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

En présence de PVC, les rendements de bio-oxydation sont très faibles et la vitesse maximale de bio-oxydation atteint $170\text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Cette vitesse est plus faible que celle obtenue en l'absence de support solide, ce qui pourrait s'expliquer par une toxicité du PVC sur les bactéries. Pour évaluer la toxicité du PVC, une quantité intermédiaire (26 g) a été testée (Figure 37) : on observe alors une augmentation des vitesses de bio-oxydation par rapport à celles obtenues avec 52 g de PVC.

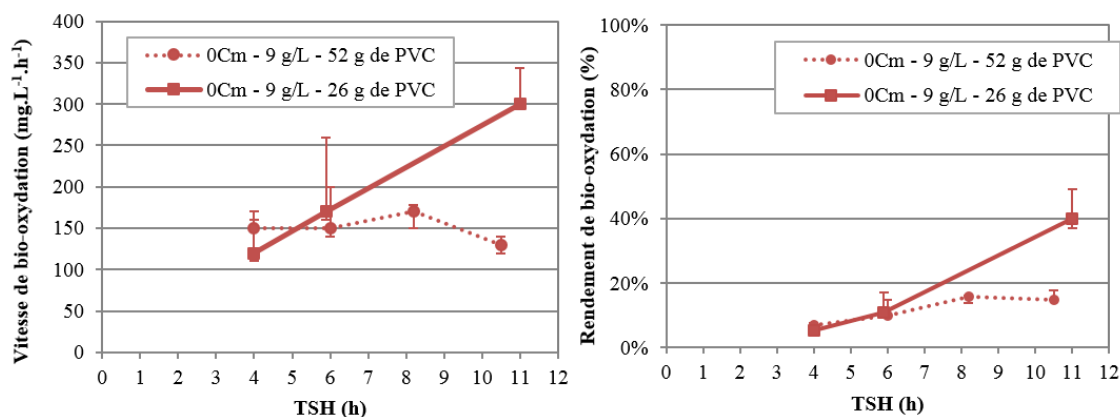


Figure 37: Bio-oxydation du Fe(II) pour différents temps de séjour hydraulique dans le milieu 0Cm avec 9 g.L^{-1} de Fe(II) en présence de 26 et 52 g de PVC. Les barres d'erreur représentent les valeurs maximales et minimales obtenues à conditions opératoires fixées.

Outre la possible toxicité du PVC, les mauvaises performances peuvent également s'expliquer par la faible surface d'attache disponible pour les bactéries par rapport au charbon, puisqu'elle passe de $14\,520\text{ m}^2$ avec 33 mL de charbon à $0,048\text{ m}^2$ avec les billes de PVC.

Dans ces conditions, en présence de PVC, il semble que la biomasse qui parvient à se fixer est suffisante pour oxyder 1 g.L^{-1} de Fe(II) mais pas 9 g.L^{-1} . Il faut noter que la vitesse maximale d'oxydation mesurée lorsque la concentration de l'alimentation est de 1 g.L^{-1} de Fe(II) ($500\text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$) est supérieure à celle atteinte lorsque la concentration de l'alimentation atteint 9 g.L^{-1} de Fe(II) ($170\text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Des études supplémentaires sont encore nécessaires pour mieux comprendre ce résultat.

2.2.5. Caractéristiques du support solide et de la structure de la population bactérienne durant la bio-oxydation

2.2.5.1. Influence des conditions opératoires sur le support solide

Le microscope électronique à balayage cryogénique (cryo-MEB) a été utilisé pour observer la colonisation des particules de charbon actif par les bactéries. Une telle technique est particulièrement adaptée à notre étude car elle permet l'observation de matériel biologique frais sans qu'aucune étape de déshydratation ne soit nécessaire à la préparation de l'échantillon. Par ailleurs, il est possible d'obtenir une haute résolution à faible tension. La préparation peut également inclure une étape de fracturation qui permet de « casser » une particule de charbon sans endommager le biofilm ni créer de poussière, et ainsi d'observer l'intérieur du matériel poreux. Un exemple d'une telle fracturation a été décrit par Kelly et Burgio (1983) sur une particule de minerai.

La Figure 38, la Figure 39 et la Figure 40 montrent des clichés obtenus au cryo-MEB à l'intérieur et à l'extérieur de particules de charbon actif dans des conditions biotiques en milieu 0Km avec 1 et 9 g.L⁻¹ de Fe(II) et dans des conditions abiotiques en milieu 0Km avec 9 g.L⁻¹ de Fe(III) synthétique. La Figure 38A montre la présence de nombreuses bactéries à l'intérieur des particules de charbon actif en milieu 0Km à 1 g.L⁻¹ de Fe(II). Ces cellules semblent attachées à la surface dans les pores du support solide. Une substance organique a été observée autour de ces cellules mais sa dégradation immédiate sous le faisceau d'électrons empêche d'acquérir des images. On suppose qu'il s'agit de substances polymériques extracellulaires (EPS). Le nombre de cellules présentes dans les particules issues du milieu 0Km avec 9 g.L⁻¹ de Fe(II) est très faible, et aucune n'est visible sur la Figure 38B. Sur les deux images des particules provenant de milieux à 9 g.L⁻¹ de Fe, on observe la présence d'un réseau organique qui semble différent de celui observé sur la Figure 38A. En effet, il ne disparaît pas sous le faisceau d'électrons. Il pourrait s'agir de substances bitumineuses provenant de la fabrication du charbon actif.

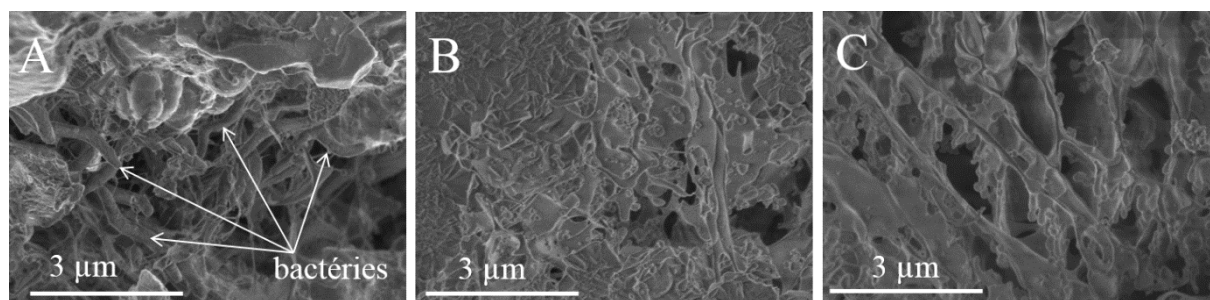


Figure 38: Clichés obtenus au cryo-MEB à l'intérieur de particules de charbon actif après colonisation par des bactéries acidophiles en milieu 0Km en présence de 1 g.L⁻¹ de Fe(II) (A) et 9 g.L⁻¹ de Fe(II) (B). Concernant (C), les expériences ont été menées en erlenmeyer en conditions abiotiques en présence de 9 g.L⁻¹ de Fe(III) synthétique.

La Figure 39 montre la présence de précipités sur la surface des particules dans chaque échantillon. Ces précipités forment une couche sur le support solide, qui est plus étendue sur les échantillons provenant des milieux contenant 9 g.L⁻¹ Fe (Fe(II) en présence de bactéries ou Fe(III) synthétique) en comparaison de l'échantillon provenant du milieu à 1 g.L⁻¹ de Fe(II). Il faut noter que la surface du charbon actif semble être entièrement couverte sur la Figure 39B et partiellement couverte sur la Figure 39A puisque la porosité du support peut être observée dans ce dernier cas.

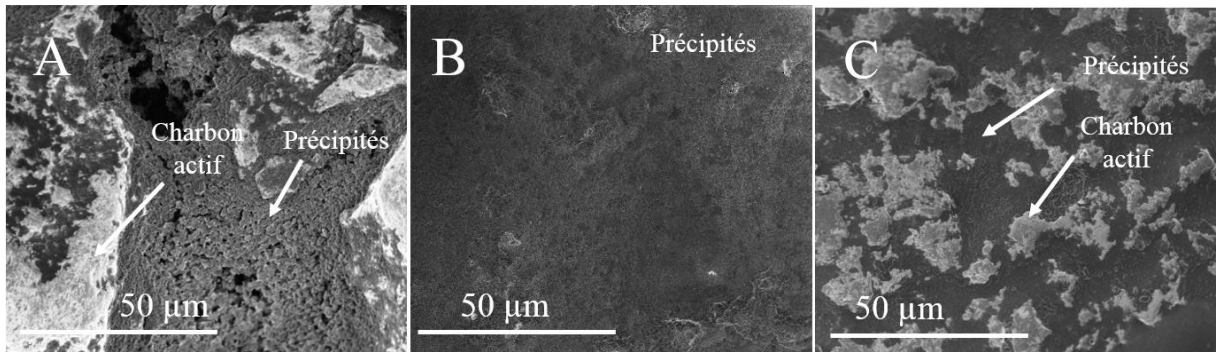


Figure 39: Clichés obtenus au cryo-MEB à la surface de particules de charbon actif après colonisation par des bactéries acidophiles en milieu 0Km en présence de 1 g.L^{-1} de Fe(II) (A) et 9 g.L^{-1} de Fe(II) (B). Concernant (C), les expériences ont été menées en erlenmeyer en conditions abiotiques en présence de 9 g.L^{-1} de Fe(III) synthétique.

Le bord d'une particule de charbon après colonisation dans le milieu 0Km avec 9 g.L^{-1} de Fe(II) est exposé sur la Figure 40. Des structures pseudocubiques (qui sont habituellement attribuées à la précipitation de jarosite d'ammonium d'après Kaksonen et al., 2014) ont été observées dans les pores des particules. Les analyses EDS (Figure 41) laissent penser que ces précipités sont formés de jarosite de potassium (présence de potassium et de sulfate dans la couche externe de la particule de charbon). Cependant, la littérature rapporte une précipitation de la jarosite de potassium en forme ronde et granulaire semblable à du chou-fleur (Kaksonen et al., 2014). Les précipités obtenus semblent donc être à la fois de la jarosite de potassium et de la jarosite d'ammonium.

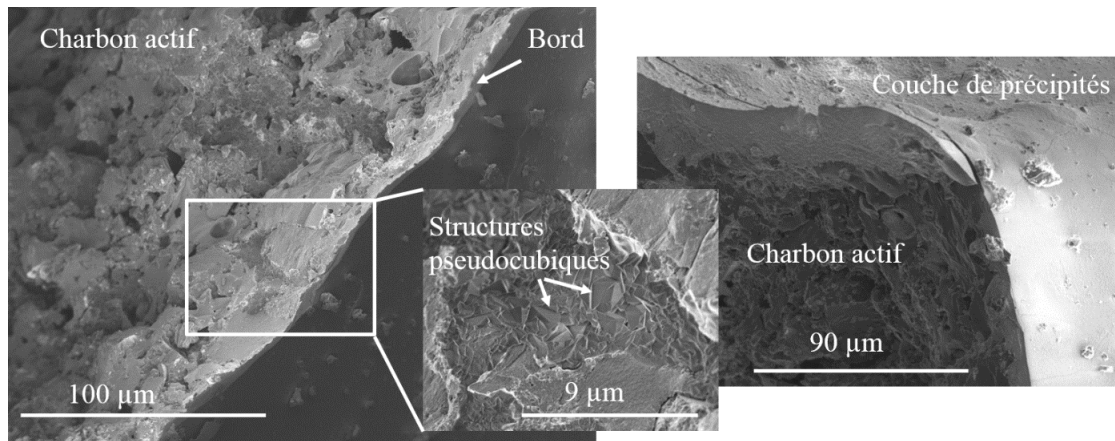


Figure 40 : Clichés obtenus au cryo-MEB du bord d'une particule de charbon actif cryo-fracturée après colonisation par des bactéries acidophiles en milieu 0Km contenant 9 g.L^{-1} de Fe(II).

Ainsi, on observe que les particules provenant de la colonne à bulles en milieu 0Km à 1 g.L^{-1} de Fe(II) sont partiellement obstruées alors que celles en milieu 0Km contenant 9 g.L^{-1} de Fe(II) le sont entièrement. Par conséquent, on peut supposer que les instabilités observées pour les performances de bio-oxydation du réacteur en milieu 0Km contenant 9 g.L^{-1} de Fe(II) résultent de la présence de ces précipités, qui recouvrent la surface du charbon actif et entraînent des problèmes d'attachement des bactéries. Avec des conditions opératoires fixes, le phénomène de bouchage semble se produire selon le cycle suivant : (i) Des vitesses et des rendements de bio-oxydation élevés sont observés, le Fe(II) est intensément oxydé en Fe(III) par les bactéries qui colonisent les pores du charbon actif ; (ii) l'activité bactérienne décroît suite à une diffusion ralentie des nutriments, du CO_2 , de O_2 et de Fe(II) liée à l'accumulation d'un mélange de jarosite de potassium et d'ammonium qui recouvrent la surface externe du charbon ; (iii)

l'attrition des particules entre elles est responsable de la destruction de la couche de précipités, ce qui entraîne une augmentation de l'activité bactérienne, et donc une augmentation de la vitesse et du rendement de bio-oxydation jusqu'à l'apparition de nouveaux phénomènes de précipitation de jarosite. Ainsi l'âge du support solide affecte largement les performances de bio-oxydation lorsque la concentration initiale en Fe(II) est élevée.

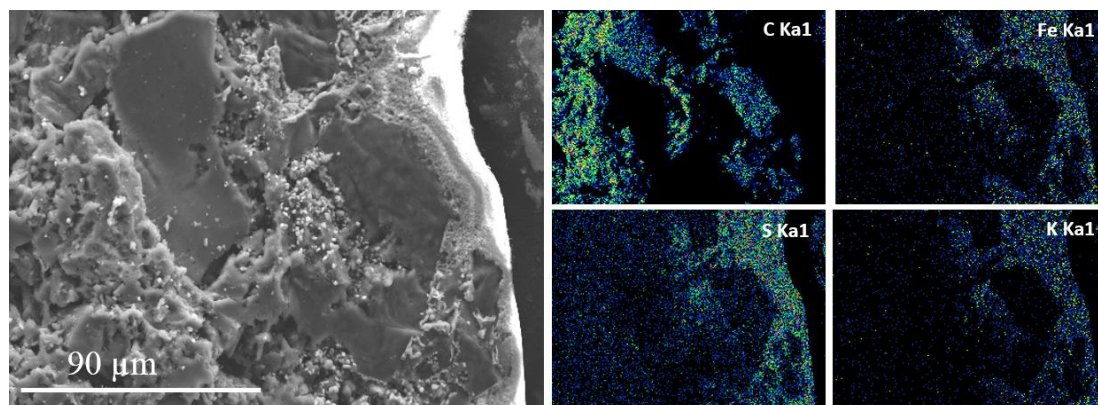


Figure 41: Clichés obtenus au cryo-MEB à 15 kV et cartographie EDS sur le bord d'une particule de charbon actif cryo-fracturée après la colonisation par une culture acidophile en milieu 0Km contenant 9 g.L⁻¹ de Fe(II).

Cela explique les performances améliorées dans le milieu 0Cm : la diminution de la concentration en ammonium permet de réduire la précipitation de jarosite, limitant ainsi le bouchage des supports solides. Dès lors, les performances de bio-oxydation sont plus stables. Dans la littérature, il est rapporté que la jarosite de potassium est plus stable que la jarosite de sodium et hydronium, elles-mêmes plus stables que la jarosite d'ammonium (Gaboreau et Vieillard, 2004). Modifier la concentration en potassium dans le milieu pourrait encore améliorer l'attachement des bactéries dans les pores en évitant la précipitation, ce qui pourrait améliorer les performances globales.

2.2.5.2. Attachement des cellules sur le solide

La distribution des cellules entre la phase liquide et la phase solide a été déterminée dans les bioréacteurs contenant 15 g de charbon actif et une alimentation 0Km avec 1 g.L⁻¹ de Fe(II) et contenant 30 g de charbon actif et une alimentation avec 9 g.L⁻¹ de Fe(II) pour des temps de séjour compris entre 1 et 10 h (Figure 42). Quand la concentration en Fe(II) de l'alimentation est faible (1 g.L⁻¹), le nombre total de cellules reste stable pour un temps de séjour variant entre 1 et 3 h ; les cellules restent attachées dans les mêmes proportions. Quand le temps de séjour est fixé à 6,4 h, le nombre total de cellules augmente significativement (au moins 5 fois) et une grande proportion de cellules est attachée sur le charbon actif. En présence d'une alimentation à 9 g.L⁻¹ Fe(II), il y a moins de cellules qu'en présence de 1 g.L⁻¹ à 6 h de temps de séjour. Lorsque le temps de séjour diminue, le nombre de cellules devient similaire dans les deux conditions. Les cellules sont plus ou moins distribuées de la même manière entre la phase liquide et la phase solide.

Il faut noter que ces données sont une estimation du nombre de cellules dans le bioréacteur, étant donné la faible précision du comptage sur cellule de Thoma. Par ailleurs, les phénomènes de bouchage du support et la haute porosité du charbon limite probablement la récupération des cellules lors du décrochage (protocole détaillé au paragraphe 2.7.1 du Chapitre III).

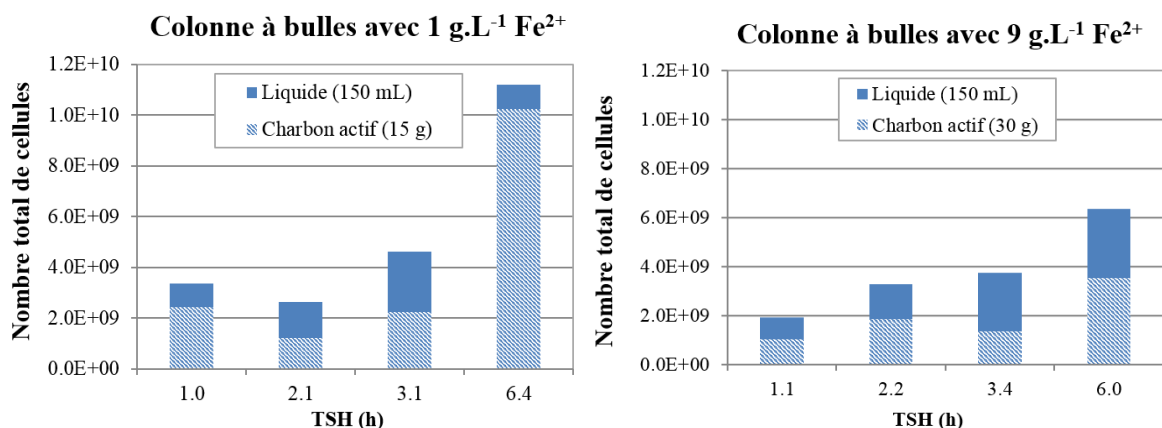


Figure 42: Nombre total de cellules dans les phases liquide (150 mL) et solide (15 g ou 30 g) des colonnes à bulles avec des alimentations à 1 g.L⁻¹ et 9 g.L⁻¹ Fe(II) en milieu 0Km.

2.2.5.3. Structure de la communauté bactérienne

Les profils de diversité microbienne ont été déterminés dans les bioréacteurs par électrophorèse capillaire avec polymorphisme de conformation des ADN simples brins (CE-SSCP) du gène ARNr 16S (gène commun à toutes les bactéries). Une comparaison a été réalisée entre la phase liquide et la phase solide dans les bioréacteurs dans les mêmes conditions que celles choisies dans le paragraphe précédent (1 g.L⁻¹ de Fe(II), 15 g de charbon et 9 g.L⁻¹ de Fe(II), 30 g de charbon). Les résultats de la Figure 43 montrent que les conditions opératoires ne sont pas compatibles avec la croissance d'*Acidithiobacillus caldus* qui reste non détectée malgré le fait qu'elle soit un membre du consortium BRGM-KCC initialement utilisé pour inoculer le réacteur. Cela s'explique par l'absence de composés sulfurés dans le bioréacteur, *Acidithiobacillus caldus* étant une bactérie sulfo-oxydante. De la même manière, *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* n'est pas détectée, probablement parce que la température maintenue à 36 °C dans le bioréacteur est trop faible : la température optimale de croissance de cette bactérie est de 51 °C (Watling et al., 2008). A l'inverse, *Leptospirillum ferriphilum* et *Sulfobacillus benefaciens*, initialement présentes dans le consortium BRGM-KCC, sont présentes dans les phases liquide et solide des bioréacteurs. Cependant, leur abondance relative, qui est évaluée par détermination de la proportion d'ADN de cette espèce relativement à l'ADN extrait, varie quand les conditions opératoires changent. En particulier, une concentration élevée en Fe(II) (9 g.L⁻¹) favorise la croissance de *Sulfobacillus benefaciens*, puisque la proportion relative de cette bactérie atteint 60%. Au contraire, 1 g.L⁻¹ en Fe(II) favorise la croissance de *Leptospirillum ferriphilum* puisque cette bactérie est présente dans le consortium à hauteur de 80%. Les proportions relatives de ces deux micro-organismes sont similaires dans les phases liquide et solide. Deux micro-organismes inconnus ont également été détectés dans le bioréacteur à 9 g.L⁻¹ de Fe(II) à TSH= 3,5 h et 5,1 h. Un des deux micro-organismes a aussi été détecté dans le bioréacteur à 1 g.L⁻¹ de Fe(II).

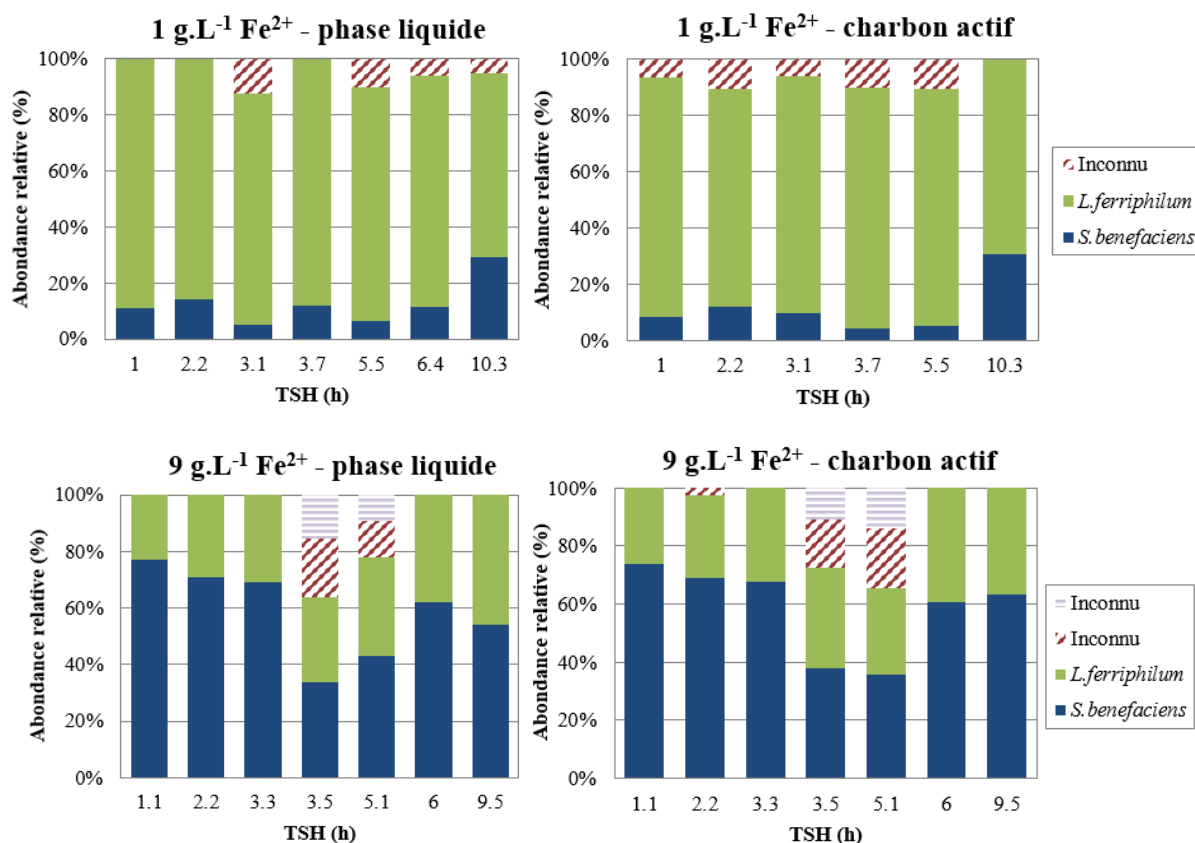


Figure 43: Comparaison des profils de diversité bactérienne pour différents temps de séjour hydraulique dans la phase liquide et dans la phase solide en milieu 0Km, avec 1 et 9 g.L⁻¹ de Fe(II).

Les résultats sur les abondances relatives sont cohérents avec les observations réalisées sur les particules de charbon actif : *Sulfobacillus benefaciens* est capable de diversifier ses sources de carbone et d'énergie, en tant qu'espèce mixotrophe (Johnson et al., 2008). Si le dioxyde de carbone et le Fe(II) ne sont pas disponibles suite à un bouchage du support solide, qui a principalement lieu en milieu 0Km avec 9 g.L⁻¹ de Fe(II), cette espèce peut utiliser les débris cellulaires pour survivre, à l'inverse de *Leptospirillum ferriphilum* qui est strictement autotrophe (Mi et al., 2011).

Après dix mois de fonctionnement de la colonne à bulles, les abondances relatives ont été comparées à celles précédemment déterminées (Tableau 26). La structure de la communauté bactérienne est stable sur de longues périodes de temps et la concentration en ammonium dans le milieu nutritif ne semble pas l'influencer. Les résultats de bio-oxydation associés sont également stables. La contamination semble légèrement s'adapter à l'environnement.

Tableau 26: Abondances relatives sur le charbon actif de la colonne à bulles alimentée à 1 g.L⁻¹ Fe(II) et 3 h de temps de séjour, entre Juin 2017 et Avril 2018.

Date	Conditions	Abondances relatives (%)		
		<i>L. ferriphilum</i>	<i>S. benefaciens</i>	Inconnu
Juin 2017	0Km – 1 g.L ⁻¹ Fe(II) – 3,2 h	83%	9,9%	6,2%
Avril 2018	0Cm – 1 g.L ⁻¹ Fe(II) – 3 h	70,9%	19,3%	9,8%

Enfin, la caractérisation de la structure bactérienne lors des essais avec le nylon tissé a également été réalisée en milieu 0Cm avec 9 g.L⁻¹ de Fe(II) à l'aide de CE-SSCP et PCR spécifique. A 4 h de temps de séjour, 99,96% de l'ADN extrait provient de la phase solide. Il

révèle la présence de *Leptospirillum ferriphilum* en large majorité et de *Sulfobacillus benefaciens* à l'état de traces (visible uniquement par PCR spécifique). Seule *Leptospirillum ferriphilum* est détectée dans la phase liquide, qui contient 0,04% de l'ADN extrait. Cette abondance relative peut s'expliquer par une affinité plus élevée pour le substrat Fe(II) et une plus haute tolérance pour le fer ferrique Fe(III) de *Leptospirillum ferriphilum* en comparaison à *Sulfobacillus spp.* (Norris, 2007) : ainsi, les conditions favoriseraient la croissance de *Leptospirillum ferriphilum*.

2.3. Conclusion

Les résultats obtenus en réacteur agité mécaniquement en batch ou en fed-batch sont très aléatoires en fonction de l'état physiologique de la culture et du nombre de bactéries dans l'inoculum. Des vitesses de bio-oxydation de 3 000 mg.L⁻¹.h⁻¹ sont néanmoins obtenues dans ces conditions. Le passage en fonctionnement continu nécessite l'utilisation d'un support solide pour maintenir les bactéries dans le bioréacteur. La mise en place d'une culture en colonne à bulles est alors nécessaire pour limiter l'attrition des particules de support solide.

Pour notre étude, le procédé de production d'une solution lixiviante doit être contrôlé et stable sur une longue période de temps. Les résultats obtenus en milieu 0Km en présence de 9 g.L⁻¹ de Fe(II) et de charbon actif, reconnu comme un bon support solide, ne sont pas reproductibles et les cinétiques sont nettement inférieures à celles de la littérature. L'augmentation de la quantité de charbon actif améliore légèrement les cinétiques et la stabilité. L'utilisation de billes de PVC et l'essai sans support ne permettent pas d'obtenir des cinétiques plus rapides, probablement à cause de la faible quantité de cellules qui parviennent à s'attacher. Au contraire, le nylon tissé apparaît comme une solution pour améliorer les cinétiques et les rendre stables sur de longues périodes. Par ailleurs, la modification du milieu de culture, avec une diminution par 10 de la quantité d'ammonium améliore également significativement les cinétiques. Les vitesses de bio-oxydation dans ce nouveau milieu, noté 0Cm, atteignent 900 mg.L⁻¹.h⁻¹ à 1 g.L⁻¹ Fe(II) en présence de 15 g de charbon, 1400 mg.L⁻¹.h⁻¹ à 9 g.L⁻¹ Fe(II) en présence de 30 g de charbon et 2 900 mg.L⁻¹.h⁻¹ à 1 g.L⁻¹ Fe(II) en présence de bandelettes de nylon tissé pour des temps de séjour respectivement de 1,1 h, 6,3 h et 1,9 h. Ces résultats sont satisfaisants puisqu'ils ont été obtenus sur de longues périodes d'observation et qu'ils correspondent aux valeurs trouvées dans la littérature, obtenues généralement sur des périodes plus courtes.

L'observation des particules de charbon actif au cryo-MEB a démontré la présence de précipités sur la surface externe des particules (jarosites d'ammonium et de potassium). Le bouchage des pores explique vraisemblablement la diminution des performances de la colonne à bulles en milieu 0Km avec 9 g.L⁻¹ de Fe(II), en piégeant les cellules à l'intérieur. Par conséquent, en fonction de l'âge du support solide, les transferts de matière (Fe(II), nutriments, O₂ et CO₂) de la phase liquide jusqu'aux bactéries sont parfois réduits, ce qui affecte les cinétiques de bio-oxydation. Lors de l'utilisation du nylon tissé, il y a probablement de meilleurs transferts de matière dans le réacteur entre la phase liquide, la phase gaz et les bactéries attachées sur le support solide.

Les profils de diversité microbienne sont différents selon que l'alimentation contient 1 g.L⁻¹ ou 9 g.L⁻¹ de Fe(II) : les cellules mixotrophes sont en proportions majoritaires dans la colonne à bulles fonctionnant avec le milieu à 9 g.L⁻¹, car les transferts de matière sont limités, alors que les cellules autotrophes (particulièrement *Leptospirillum ferriphilum*) sont en proportions majoritaires dans le milieu 0Km contenant 1 g.L⁻¹ de Fe(II). Avec ces connaissances, les conditions opératoires dans ce bioréacteur pourront être adaptées pour réaliser dans le second étage du réacteur la biolixiviation des cartes électroniques broyées.

3. Biolixiviation acidophile des cartes électroniques

Les cartes électroniques ayant été finement caractérisées et la cinétique de bio-oxydation étant maîtrisée pour permettre une production stable de solution lixiviante, la biolixiviation acidophile des cartes électroniques peut donc être examinée.

Pour cette étude, il faut différencier le terme « lixiviation », désignant la mise en solution chimique des métaux, et « biolixiviation », correspondant à la mise en solution assistée par les bactéries. Le terme « mise en solution » désigne les deux approches sans distinction. Par ailleurs, les concentrations en solide qui seront exposées dans ce paragraphe sont des rapports masse – volume.

Cette étude avait en partie pour objectif de déterminer l'effet des cations métalliques issus des déchets de cartes électroniques sur la croissance et l'activité des micro-organismes acidophiles. Elle avait également pour but la détermination des cinétiques de biolixiviation, l'optimisation des paramètres opératoires et la compréhension des phénomènes. Pour cela, des essais de biolixiviation en mode batch ont été réalisés en deux étapes (production de la solution lixiviante contenant le Fe(III) puis ajout des cartes électroniques) pour mesurer les taux et vitesses de mise en solution des principaux métaux (Fe, Cu, Ni, Zn, Pb et Co). Ces résultats ont été comparés aux cinétiques abiotiques avec du Fe(III) synthétique pour déterminer l'influence de la présence de bactéries. Cette étude a été poursuivie par un passage en mode continu, pour déterminer les vitesses et taux de mise en solution d'une large gamme de métaux à partir de 1% de cartes électroniques. Les mécanismes en jeu ont été déterminés grâce au suivi de la population bactérienne et des concentrations en métaux et nutriments. L'influence d'une augmentation de la concentration en solide sur les cinétiques de mise en solution a ensuite été étudiée, pour connaître les limites du système. Enfin, des essais sans le premier étage et sans ajout de fer ont été réalisés pour déterminer la robustesse du procédé et la possibilité d'utiliser le fer contenu dans les cartes comme seule source de fer.

3.1. Toxicité des cartes électroniques sur la culture KCC-BRGM

Pour débiter l'étude de la biolixiviation acidophile des cartes électroniques, une évaluation de la toxicité des cartes électroniques sur la culture microbienne a été menée en erlenmeyer. Il a été décidé de travailler à l'aide de lixiviats de cartes électroniques pour deux raisons. Tout d'abord, pour travailler en erlenmeyer, la quantité de cartes électroniques est limitée à quelques grammes pour correspondre à des concentrations en solide inférieures à 10% (le volume d'un erlenmeyer étant de 100 mL environ). Cette concentration en solide est la valeur maximale utilisée dans la littérature dans le cas de la biolixiviation des cartes électroniques. Or, des échantillons de si petite taille ne sont plus représentatifs du lot initial et présentent de grandes variations de composition ; les résultats obtenus sont alors difficilement comparables. L'utilisation d'un lixiviat obtenu à partir d'une grande quantité de cartes électroniques permet de travailler sur cette échelle réduite de manière répétable et représentative. Ensuite, cela permet d'évaluer la toxicité des cations métalliques en solution, en prenant en compte l'effet des métaux majeurs contenus dans les cartes électroniques sur la culture, mais également tous les éléments à l'état de trace qui peuvent être mis en solution.

Ainsi, cet essai d'écotoxicologie microbienne a consisté en l'ajout de quantités variables de lixiviat dans un milieu de culture frais avant inoculation, l'objectif étant d'étudier l'influence d'une concentration croissante en métaux sur la croissance et l'activité des bactéries. Les teneurs en métaux majeurs dans le lixiviat, obtenu en condition abiotique avec 9 g.L⁻¹ de Fe(III) synthétique à une concentration en solide de 5%, sont présentés dans le Chapitre III (*cf.* paragraphe 2.3). Les résultats présentés sur la Figure 44 montrent que la croissance de la

biomasse et la bio-oxydation du Fe(II) sont retardées quand l'ajout de lixiviat dans le milieu de culture augmente. Une période de latence est observée, dont la durée augmente avec l'ajout de lixiviat. Cependant, malgré ce retard, les vitesses maximales de bio-oxydation et la concentration finale en cellules sont du même ordre de grandeur qu'en l'absence de lixiviat. Ainsi, quel que soit la quantité de lixiviat ajoutée, les bactéries s'adaptent au milieu.

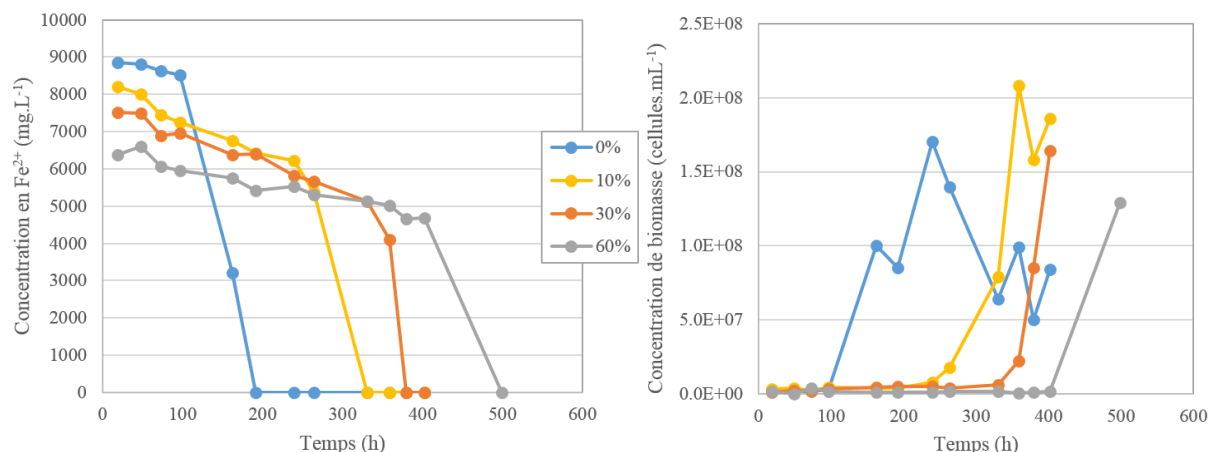


Figure 44: Evolution de la concentration en Fe(II) et en biomasse au cours du temps dans les erlenmeyers en présence de 0 à 60%(v/v) de lixiviat de cartes électroniques - moyenne de duplicat.

Ces résultats sont prometteurs quant à la possibilité des bactéries acidophiles de participer à la biolixiviation des cartes électroniques, notamment en régime permanent. Ils confirment également l'intérêt de découpler la croissance des bactéries et la biolixiviation pour limiter la latence liée à la toxicité des cations métalliques.

3.2. Biolixiviation en réacteur agité mécaniquement en batch

Différents essais ont été réalisés en mode batch pour obtenir des cinétiques de mise en solution et les comparer aux résultats de la littérature. Lors de ces essais, le réacteur double étage n'est pas utilisé. Seul un réacteur agité mécaniquement de 2 L est utilisé : le Fe(II) est d'abord bio-oxydé, puis les cartes sont ajoutées. Ainsi, la croissance des bactéries et l'ajout des cartes électroniques sont dissociées.

3.2.1. Biolixiviation de cartes électroniques en présence de 1% et 5% de solide

3.2.1.1. Essais en présence de 1% de solide

Des essais en présence de 1% de solide ont d'abord été réalisés et les cinétiques de mise en solution du Cu, du Fe, du Ni, du Zn, du Pb et du Co sont données sur la Figure 45. Le taux de mise en solution du Fe est calculé en négligeant les phénomènes de précipitation et en soustrayant le Fe initialement ajouté. Les cinétiques ont été obtenues en présence d'acide sulfurique seul, de 1 g.L⁻¹ ou 8 g.L⁻¹ de Fe(II). La présence de Fe(II) à 8 g.L⁻¹ conduit à des cinétiques très rapides par rapport à celles obtenues en présence de 1 g.L⁻¹ ou avec de l'acide sulfurique seul. Cependant, des phénomènes importants de précipitation sont observés pour le Fe ou le Pb à 8 g.L⁻¹. Une concentration résiduelle de Fe(III) (d'environ 1 g.L⁻¹) est mesurée à la fin de la mise en solution à 8 g.L⁻¹, démontrant que 8 g.L⁻¹ de Fe(III) correspond à un excès. Dans ces conditions, l'action des bactéries n'est pas nécessaire.

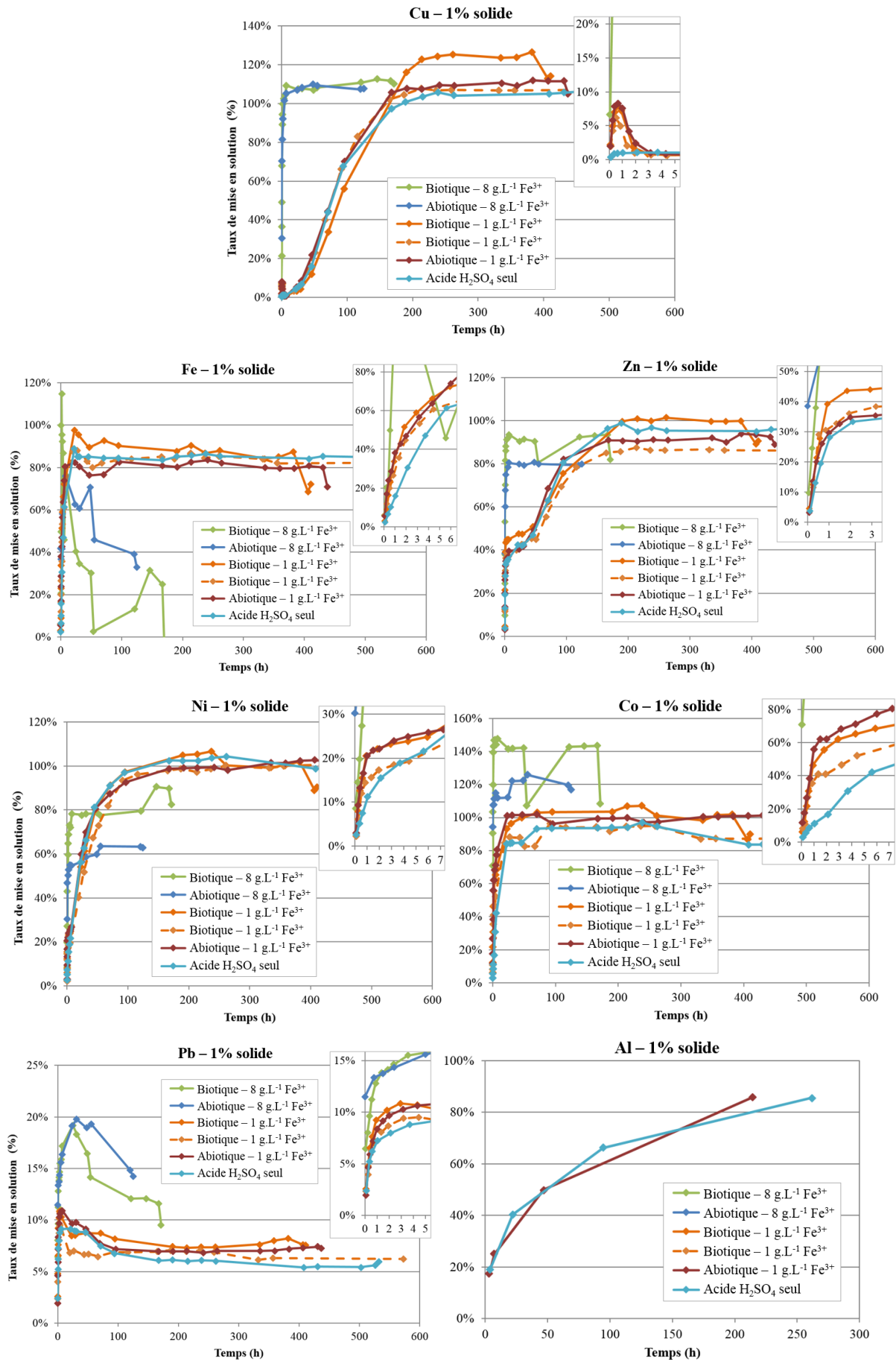


Figure 45: Taux de mise en solution (en %) du Cu, du Fe, du Zn, du Ni, du Co, du Pb et de l'Al en fonction du temps lors de la biolixiviation des cartes électroniques en batch en présence de 1% de solide.

La cinétique obtenue à 1 g.L^{-1} de Fe(II) est similaire à celle sans Fe(II). Dans les premières heures de mise en solution (zooms à droite dans les graphes de la Figure 45), il semblerait que le Fe(III) accélère toutes les cinétiques pour les métaux majeurs mais est très vite consommé. Ensuite, les protons servent à lixivier les métaux encore présents dans le solide. Leur consommation est d'environ $0,4 \text{ mmol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ à la fin de la mise en solution (fin du batch). Il faut par ailleurs noter que les conditions biotiques (Fe(II) bio-oxydé) et abiotiques (Fe(III) synthétique) conduisent à des cinétiques de mise en solution similaires. Cependant, la régénération du Fe(III) est observée dans les batchs biotiques, après des délais variables (Figure 46). Ces délais sont plus longs que le temps nécessaire à la mise en solution des métaux. Ils sont cohérents avec les temps de latence observés lors des essais d'écotoxicologie microbienne (cf. paragraphe 3.1). La régénération du Fe(III) dans l'essai en batch abiotique à 1 g.L^{-1} Fe(III) a également été observée, probablement à cause d'une contamination.

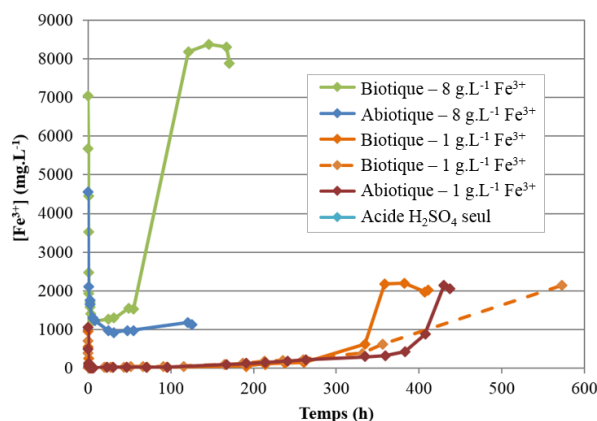


Figure 46: Suivi de la concentration en Fe(III) au cours du temps dans les différents essais de biolixiviation de cartes électroniques à 1% solide en réacteur agité mécaniquement en mode batch.

Une bonne reproductibilité est obtenue entre les différentes cinétiques. Les vitesses de biolixiviation des métaux sont données dans le Tableau 27. Elles sont estimées à partir des « pentes à l'origine » des courbes de mise en solution.

Tableau 27: Vitesses maximales de mise en solution du Fe, du Cu, du Zn, du Ni, du Pb et du Co à partir des cartes électroniques en fonction du réactif utilisé (Fe(III) en excès ou acide sulfurique seul, avec pH 1,3 environ dans les deux cas) en présence de 1% de solide en batch.

Métal contenu dans les cartes	Vitesse de mise en solution par Fe(III) ($\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	Vitesse de mise en solution par acide H_2SO_4 ($\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)
Fe	1800	500 - 650
Cu	600	200 - 250
Zn	115	80
Ni	12	9,3
Pb	10	14
Co	2,7	1,2

3.2.1.2. Essais en présence de 5% de solide

Des essais biotiques et abiotiques ont été réalisés en présence de 5% de solide et de 8 g.L^{-1} de Fe(III). Le Tableau 28 rapporte les vitesses maximales (pentes à l'origine) et les taux de mise en solution lors de ces essais. On observe souvent une première mise en solution très rapide liée à l'oxydation par le Fe(III), puis une mise en solution plus lente qui correspond probablement à l'hydrolyse acide, comme pour le Zn (Figure 47). Ainsi, le Fe(III) n'est pas en excès. Par ailleurs, il n'est pas régénéré par les bactéries même après 20 jours et la faible régénération observée (2 g.L^{-1}) est la même en conditions biotique et abiotique et pourrait donc correspondre

à la réaction chimique d'oxydation du Fe(II) en présence d'oxygène. Sur la Figure 47, l'hydrolyse acide dans le réacteur biotique est plus lente que celle du réacteur abiotique à cause d'une légère différence de régulation de pH entre les deux essais.

Tableau 28: Taux et vitesses de mise en solution des métaux à partir des cartes électroniques à 5% solide et 8 g.L⁻¹ de Fe(III) en batch (les conditions biotiques et abiotiques donnent des résultats similaires).

Métal contenu dans les cartes	Taux de mise en solution (%)	Vitesse de mise en solution maximale (mg.L⁻¹.h⁻¹)
Fe	93% - 107%	3000 - 3400
Cu	101% - 108%	2000 - 3000
Zn	93%	410 - 490
Ni	80% - 110%	40 - 100
Pb	2,5% - 3%	16 - 50
Co	92%	12 - 14

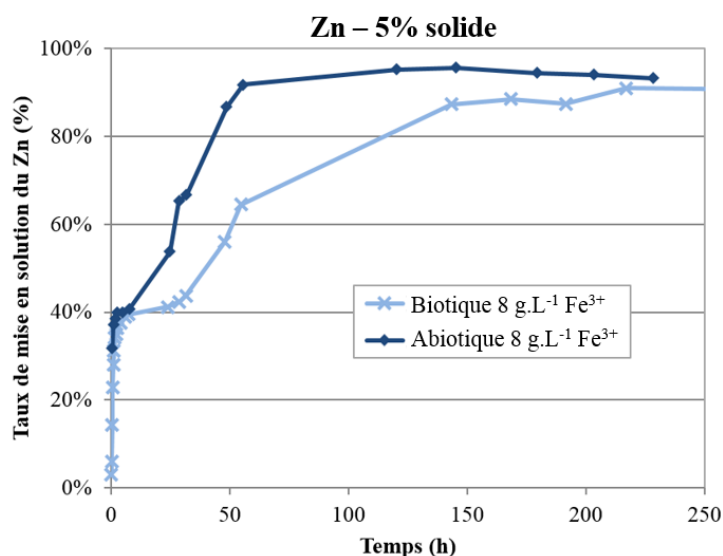


Figure 47: Taux de mise en solution du Zn en réacteur agité de 2 L en batch en présence de 5% de solide.

Nous avons comparé les cinétiques obtenues au cours de cette étude pour le Cu, l'Al, le Zn et le Ni avec celles rapportées dans la littérature pour la biolixiviation de cartes électroniques (Figure 48). Les conditions opératoires des études dont les résultats sont présentés ici sont celles rapportées dans le Chapitre II : certaines conditions diffèrent parfois, mais la majeure partie des paramètres sont similaires aux nôtres. A 5% solide, les vitesses maximales de mise en solution dans notre étude sont supérieures aux vitesses rapportées dans la littérature. Il en est de même pour le Ni et le Zn à 1% solide. Enfin, pour le Cu et l'Al à 1% solide, les cinétiques de mise en solution sont similaires.

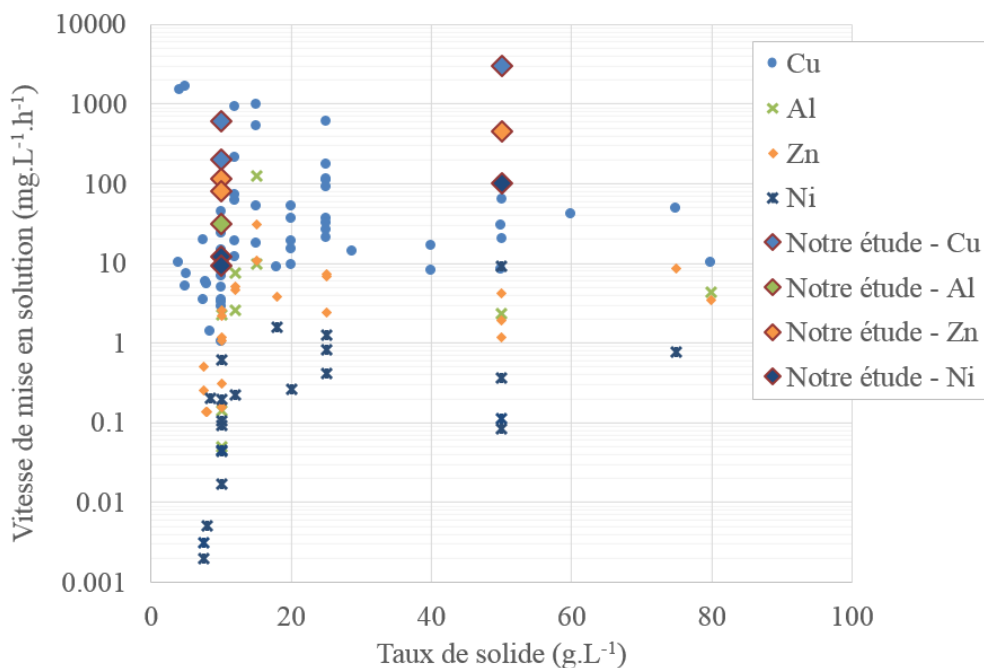


Figure 48: Vitesses de mise en solution du Cu, de l'Al, du Zn et du Ni obtenues dans notre étude et dans la littérature en fonction de la concentration de solide.

3.2.2. Cinétiques de mise en solution de Cu métallique seul

Pour s'affranchir des éventuelles interactions entre l'acide sulfurique, le Fe(III) et les particules non métalliques des cartes électroniques et pour étudier la cinétique de mise en solution du cuivre seul, des essais de mise en solution de Cu commercial ont été réalisés. La taille des particules de Cu, d'une pureté de 99,5%, est comprise entre 149 et 420 μm . La Figure 49 présente les cinétiques de mise en solution du Cu seul dans quatre conditions : en présence de 9 g.L^{-1} Fe(III) (excès), en présence de 1 g.L^{-1} Fe(III) (limitant) avec ou sans micro-organismes et en présence d'acide H_2SO_4 seul à pH 1,3. La quantité de Cu introduit dans le réacteur correspond à la quantité de Cu dans 10 g.L^{-1} de cartes électroniques (1% solide). Cela équivaut à une concentration en Cu métal de 0,147% (m/v).

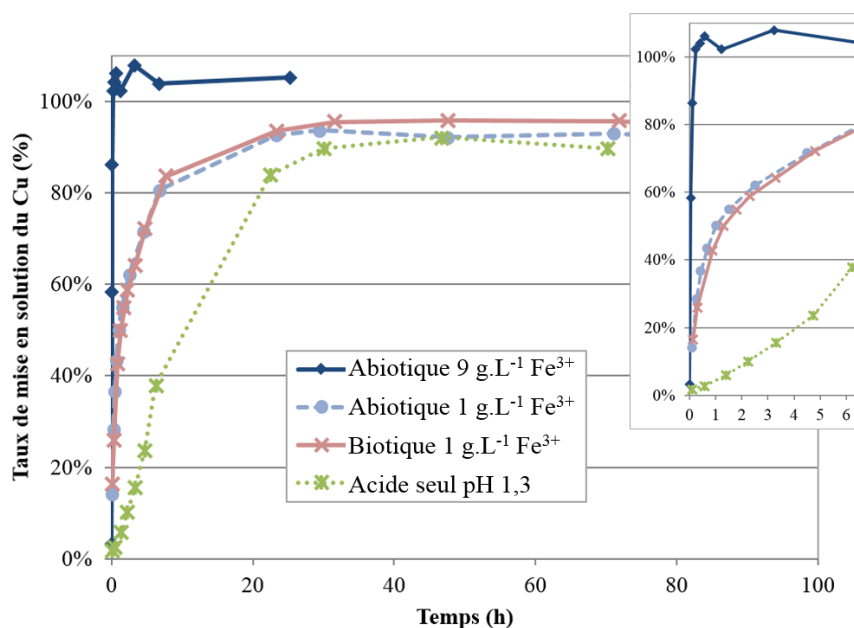


Figure 49: Cinétiques de mise en solution du Cu seul en réacteur agité de 2 L opéré en batch.

Une cinétique de mise en solution très rapide est obtenue en présence d'un excès de Fe(III). La concentration en Fe(III) restant correspond à $5,9 \text{ g.L}^{-1}$, c'est-à-dire que 65 mmol.L^{-1} de Fe(III) ont été consommées, alors que 23 mmol.L^{-1} de Cu ont été mises en solution. En présence de 1 g.L^{-1} de Fe(III), la cinétique est d'abord rapide puis ralentit, jusqu'à être similaire à celle de la mise en solution en présence d'acide seul (pH 1,3). La vitesse maximale de mise en solution du Cu en présence d'un excès de Fe(III) est de $6\,470 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ alors qu'elle s'élève à $70 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ en présence d'acide sulfurique seul. Cette vitesse maximale est très élevée par rapport à celle obtenue avec des cartes électroniques, mais la granulométrie et l'accessibilité ne sont pas comparables. Concernant l'essai en présence de bactéries, le Fe(II) est oxydé en Fe(III) par action des bactéries acidophiles après un délai de 300 heures environ. Ce délai, du même ordre de grandeur que celui observé lors de la biolixiviation de cartes électroniques broyées et lors des tests d'écotoxicologie microbienne, est là encore trop long pour observer l'effet de la présence des bactéries sur la cinétique de mise en solution.

3.2.3. Conclusion

Bien que ces résultats soient encourageants, l'intérêt de la biolixiviation n'est pas entièrement démontré : l'activité biologique est quasiment indétectable lors de la mise en solution des métaux lors de ces essais en batch. Il faut donc de grandes concentrations initiales de Fe(III) pour observer des cinétiques rapides : 7 g.L^{-1} de Fe(III) sont nécessaires en présence de 1% de solide et 35 g.L^{-1} de Fe(III) seraient nécessaires en présence de 5% de solide. Ces concentrations élevées en Fe sont difficiles à gérer lors des opérations d'hydrométallurgie en aval. La régénération du Fe(III) est néanmoins détectée après un long temps de latence, également mis en lumière pendant les essais d'écotoxicologie microbienne. Le passage en mode continu doit permettre de supprimer les phénomènes de latence en se plaçant en régime permanent, et ainsi de pouvoir observer simultanément la mise en solution des métaux et la régénération du Fe(III) si le temps de séjour est adapté. Pour ce passage en mode continu, il est nécessaire de coupler un réacteur agité mécaniquement contenant les cartes électroniques avec un réacteur en amont qui permet d'établir une culture microbienne. Celui-ci correspond à la colonne à bulles étudiée dans le paragraphe 2.2.

3.3. Biolixiviation en réacteur double étage en continu en présence de 1% de solide

Les essais en réacteur double étage en continu sont réalisés en présence de 1% de solide initialement, car une régénération du Fe(III) a été observée en batch dans ces conditions. La concentration en Fe(II) en alimentation est fixée à 1 g.L^{-1} dans le milieu nutritif 0Cm, pour minimiser la consommation de réactifs. Cette approche permet également de s'assurer que le Fe(III) n'est pas en excès et que les bactéries devront régénérer ce Fe pour permettre une mise en solution efficace des métaux. De plus, l'utilisation de faibles quantités de Fe doit également faciliter à long terme la mise en place de procédés de purification par voie hydrométallurgique en aval de l'étape de biolixiviation.

Pour réaliser les premiers essais en continu, le temps de séjour a été fixé à 48 h dans le second étage. Ce temps de séjour pourrait permettre aux bactéries de s'y développer. Par ailleurs, cela correspond à un temps de séjour de 3,2 h dans le premier étage, ce qui permet de s'assurer que la bio-oxydation du Fe(II) sera stable et que la concentration de la biomasse sera constante au cours du temps. Dans ces conditions, la solution lixivante produite par le premier étage contient 1 g.L^{-1} de Fe(III) (100% de bio-oxydation) et $2.10^7 \text{ cell.mL}^{-1}$ (cf. paragraphe 2.2.3).

3.3.1. Biolixiviation des métaux

Lors du démarrage du réacteur en présence de 1% de solide, trois périodes caractérisées par des valeurs de potentiel d'oxydo-réduction différentes (Figure 50) et/ou par des valeurs de pH différentes (Tableau 29) sont observées dans le 2nd étage. Par ailleurs, on observe que les taux de mise en solution sont très variables d'une période à une autre (Figure 51).

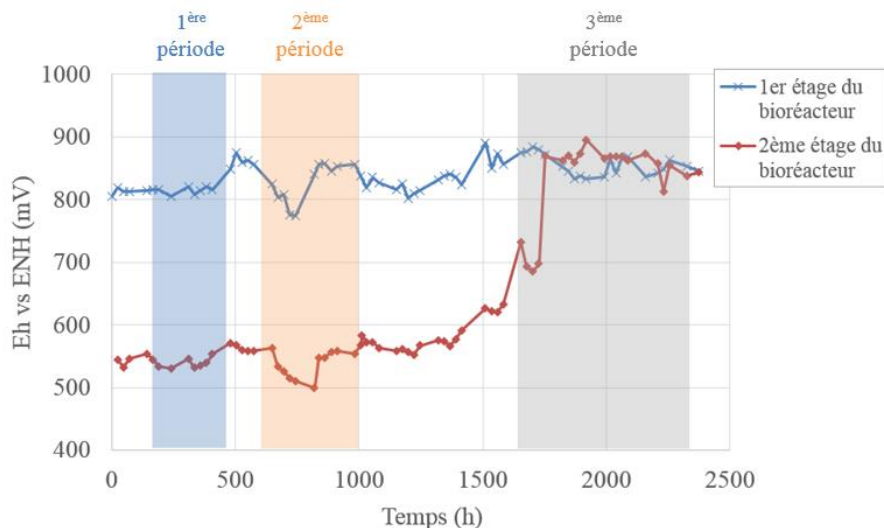


Figure 50: Evolution des potentiels d'oxydo-réduction dans les deux étages du réacteur de biolixiviation au cours du temps.

Tableau 29: pH des différentes solutions et consommation de protons dans le 2nd étage ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}$) en fonction de la période étudiée.

Solution	pH	Consommation de H^+ dans le second réacteur ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}$)
Alimentation générale	1,1	-
Sortie du réacteur de bio-oxydation	1,2	-
Réacteur de biolixiviation en présence de 1% de solide – Période 1	1,5	1,7
Réacteur de biolixiviation en présence de 1% de solide – Période 2	1,8	2,3
Réacteur de biolixiviation en présence de 1% de solide – Période 3	> 2,0 donc ajout acide	4,8

- Période 1** : tout le Fe(III) est réduit sous forme Fe(II) dans le 2nd étage ($E_h = 530 \text{ mV}$ vs ENH). Le pH, qui est fixé à 1,1 dans la solution d'alimentation et qui vaut 1,2 en sortie du 1^{er} étage, atteint 1,5 dans le réacteur contenant les cartes électroniques. Le Cu n'est pas mis en solution ($<1\%$), alors que de bons résultats sont obtenus pour le Fe et le Co (respectivement 76% et 73% de mise en solution). Des résultats mitigés sont obtenus pour le Zn et le Ni (respectivement 33% et 55%).
- Période 2** : le Fe est encore sous forme Fe(II) mais le potentiel d'oxydo-réduction est légèrement supérieur ($E_h = 560 \text{ mV}$ vs ENH). Cependant, la consommation d'acide est plus importante avec $2,3 \text{ mmol}\cdot\text{h}^{-1}$ de protons consommés. Le pH atteint 1,8 et les concentrations des métaux dans le lixiviat augmentent notablement. Les taux de mise

en solution sont respectivement 81%, 72%, 91%, 83% et 86% pour le Cu, le Fe, le Zn, le Ni et le Co.

- **Période 3** : le Fe(III) est entièrement régénéré, le potentiel d'oxydo-réduction atteint 880 mV vs ENH. La consommation d'acide est encore plus importante, avec une valeur de pH qui dépasse 2 et qui impose un ajout d'acide sulfurique pour fixer la valeur de pH à 1,5. La consommation d'acide atteint 4,8 mmol.h⁻¹. Les taux de mise en solution augmentent encore: 96% Cu, 59% Fe, 85% Zn, 73% Ni, 93% Co. Le Fe constitue un cas particulier car il précipite en partie, comme nous le montrerons dans le paragraphe suivant.

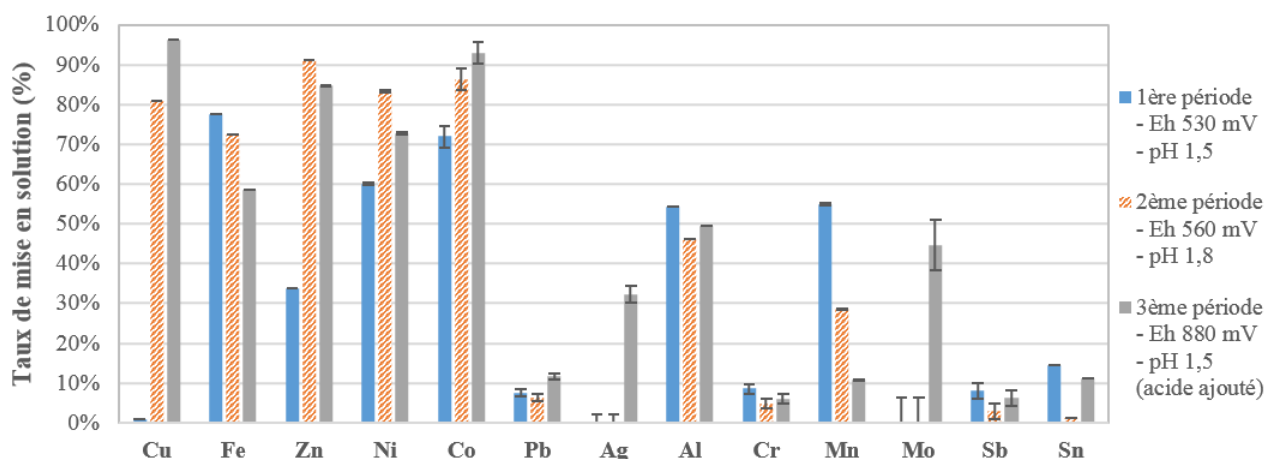


Figure 51: Taux de mise en solution des différents métaux contenus dans les cartes électroniques dans le bioréacteur double étage en continu en fonction de la période étudiée en présence de 1% de solide. Les barres d'erreur traduisent les incertitudes résultant de l'analyse des lixiviats.

Quelle que soit la période, des résultats similaires sont obtenus pour l'Al, avec entre 46% et 54% de biolixiviation. Pour certains métaux présents en plus faibles quantités, comme l'Ag et le Mo, une nette augmentation du rendement de biolixiviation est obtenue durant la 3^{ème} période. Par ailleurs, une diminution de la concentration du Mn dans le lixiviat est observée au fur et à mesure du temps, alors que le taux de mise en solution atteint 55% durant la première période. Pour le Cr, le Sb, le Sn et le Pb, les concentrations dans le lixiviat restent faibles quelle que soit la période (taux de mise en solution <10%). Enfin, concernant le Ta, le V, le W et le Ga, les limites de détection sont plus élevées que la concentration maximale qui serait atteinte s'ils étaient complètement mis en solution, ce qui ne permet pas de conclure sur la capacité à les biolixivier à cette concentration en solide dans le réacteur.

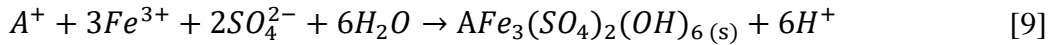
Tableau 30: Vitesses de mise en solution (mg.L⁻¹.h⁻¹) pendant la biolixiviation en continu des cartes électroniques en présence de 1% de solide.

	Vitesse de biolixiviation (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)						
	Cu	Fe	Zn	Ni	Co	Pb	Ag
1^{ère} période	0,26	19,19	1,14	0,41	0,052	0,18	-
2^{ème} période	23,81	17,90	3,07	0,57	0,063	0,15	-
3^{ème} période	28,33	12,17	2,71	0,45	0,067	0,28	0,012
	Al	Cr	Mn	Mo	Sb	Sn	
1^{ère} période	6,63	0,015	0,72	-	0,035	0,52	
2^{ème} période	5,65	0,008	0,37	-	0,013	0,04	
3^{ème} période	6,04	0,010	0,14	0,01	0,027	0,40	

Les vitesses de mise en solution (Tableau 30) obtenues en mode continu sont largement inférieures aux vitesses maximales obtenues en mode batch (Tableau 27) en présence d'un excès de Fe(III) (facteur 21 pour le Cu et le Ni, 45 pour le Fe, 57 pour le Zn, 36 pour le Pb et 40 pour le Co).

3.3.2. Phénomènes de précipitation

Dans ces milieux complexes, les phénomènes de précipitation sont régulièrement rapportés (cf. Chapitre II). Notamment la précipitation de jarosite est courante lors de la biolixiviation. Les sulfates sont des marqueurs de cette précipitation, selon la réaction :



Ainsi, la concentration en soufre (uniquement présent en solution sous forme de sulfates) dans les flux de sortie durant les différentes périodes est comparée à la concentration du flux d'alimentation (Figure 52). Au cours des deux premières périodes, la précipitation n'est pas ou peu marquée, avec des concentrations en sulfate similaires à celles de l'alimentation. Au cours de la troisième période, la concentration en sulfate dans l'alimentation est plus élevée car un ajout d'acide sulfurique est réalisé pour maintenir le pH à une valeur de 1,5 environ. La précipitation est marquée lors de cette 3^{ème} période avec 0,16 mmol.h⁻¹ de sulfate consommés.

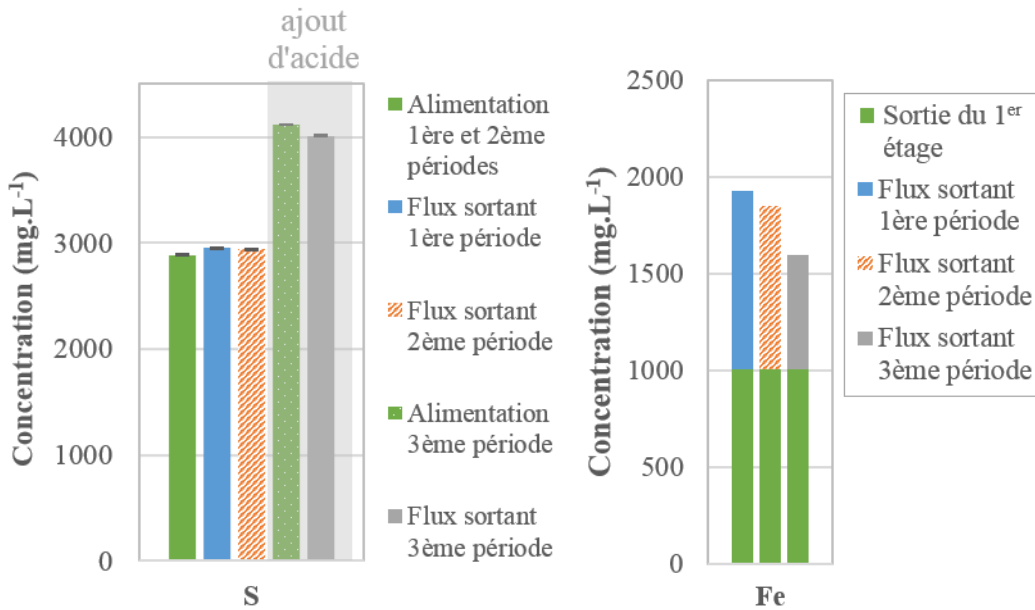


Figure 52: Concentrations en S (à gauche) et Fe (à droite) (en mg.L⁻¹) en solution dans l'alimentation, en sortie du 1^{er} étage et du 2nd étage en fonction de la période d'étude (la zone grisée correspond à l'ajout d'acide sulfurique dans l'alimentation durant la 3^{ème} période).

Cette consommation de sulfate permet d'estimer la quantité de Fe(III) qui a précipité sous forme de jarosite : d'un point de vue stœchiométrique, deux moles de sulfate sont impliquées dans la formation de la jarosite pour 3 moles de Fe(III). Sur la 3^{ème} période, 6,0 mg.L⁻¹.h⁻¹ de Fe(III) seraient impliqués dans la précipitation.

Cette estimation de la quantité de Fe précipité permet de calculer la quantité de Fe qui a été mis en solution en tenant compte de la précipitation, selon l'équation :

$$Fe_{mis\ en\ solution} = Fe_{précipité}^{3+} + Fe_{mesuré\ par\ analyse\ du\ lixiviat} - Fe_{alimentation} \quad [18]$$

Ainsi, en prenant en compte la précipitation et les concentrations en Fe mesurées dans le flux de sortie (Figure 52), l'estimation de la quantité de Fe qui a été réellement mis en solution est donnée dans le Tableau 31.

Tableau 31: Taux (en %) et vitesse (en $\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$) de mise en solution du Fe en présence de 1% de solide estimés en tenant compte du Fe impliqué dans la formation des précipités.

	Taux estimé de mise en solution du Fe (%)	Vitesse estimée de mise en solution du Fe ($\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)
1 ^{ère} période	76%	18,7
2 ^{ème} période	62%	17,2
3 ^{ème} période	93%	18,5

Un diffractogramme des rayons X des résidus de biolixiviation a été enregistré pour connaître la spéciation des résidus solides. Le diffractogramme (Figure 53) révèle la présence d'une grande quantité de matériau amorphe (large première bosse). Par ailleurs, une quantité importante d'anglésite (PbSO_4) est observée. Ceci explique les faibles taux de mise en solution du plomb obtenus dans nos essais (entre 6% et 12%), ce qui est cohérent avec les résultats de la littérature (Adhapure et al., 2013 ; Ilyas et al., 2010). D'autres éléments, tels que l'Al et le Sn, sont également observés : ces éléments sont partiellement mis en solution (entre 46% et 54% de l'Al a été mis en solution et entre 1% et 15% du Sn).

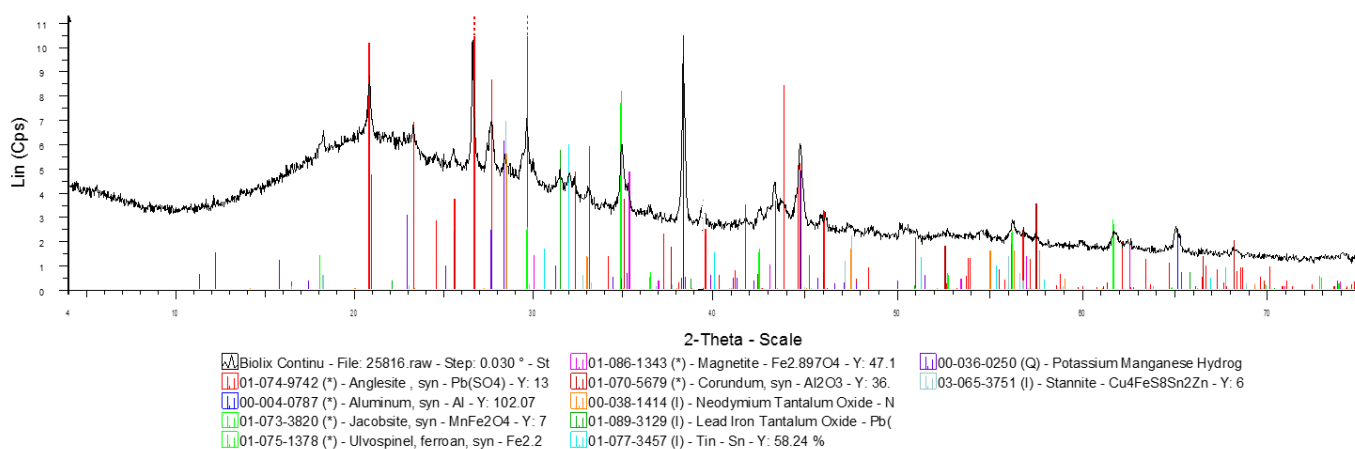


Figure 53: Diffractogramme des rayons X des résidus de biolixiviation d'un échantillon prélevé durant la période 3.

Des clichés au cryo-MEB des résidus de cartes électroniques biolixiviées montre une cristallisation sur certaines particules (Figure 54). Il s'agit probablement de jarosite de potassium $\text{KFe}_3(\text{OH})_6(\text{SO}_4)_2$ cristallisée sur une particule d'alumine Al_2O_3 . Des traces de Cu sont également détectées, qui peuvent provenir du lixiviat ayant été lyophilisé.

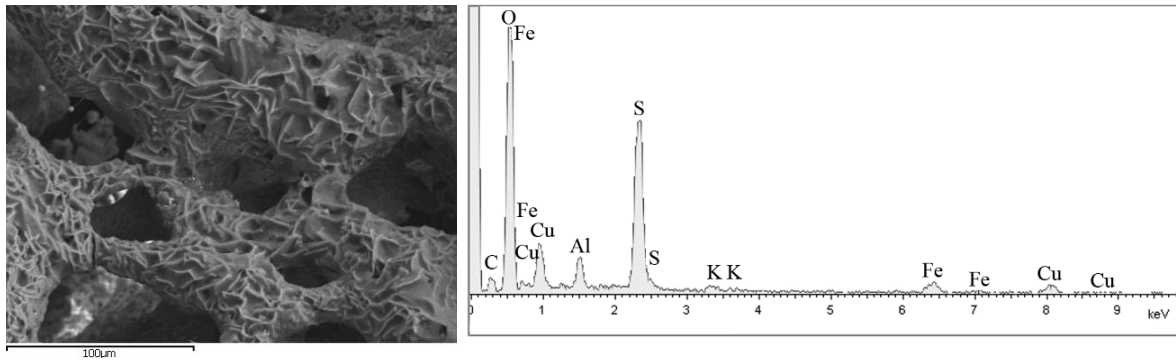


Figure 54: Cliché au cryo-MEB et analyse EDS d'une particule de cartes électroniques broyées recouverte d'une couche de précipité cristallisé.

3.3.3. Développement des populations bactériennes lors de la biolixiviation

Pour comprendre la structure de la culture acidophile et son rôle sur les différents phénomènes précédemment exposés, différents outils de caractérisation des populations bactériennes ont été utilisés.

3.3.3.1. Concentration de biomasse dans la phase liquide

En premier lieu, des comptages sur cellules de Thoma ont permis de suivre le nombre de cellules dans la phase liquide. La Figure 55 présente l'évolution de la concentration de biomasse dans la phase liquide des flux de sortie des étages 1 et 2 du réacteur au cours du temps.

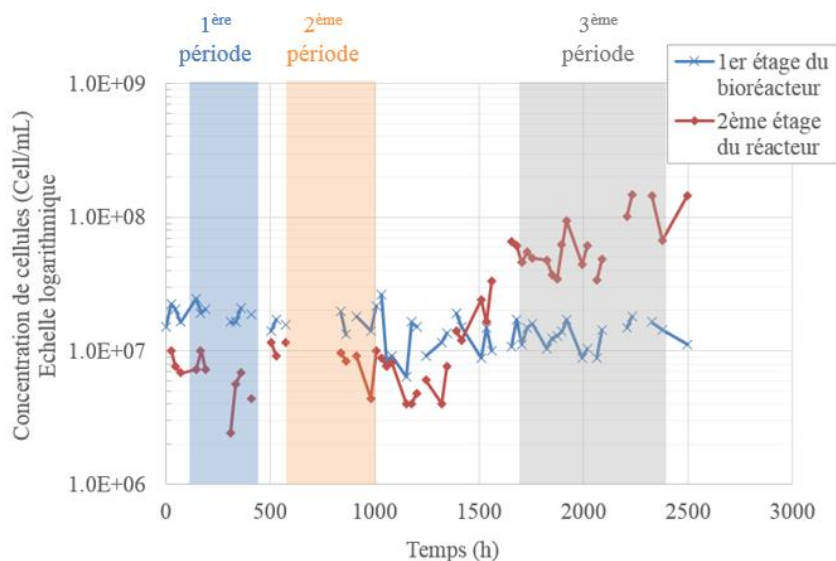
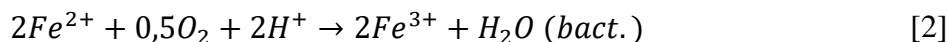


Figure 55: Concentrations de la biomasse dans la phase liquide en sortie du premier et du second étage du réacteur de biolixiviation en fonction du temps.

Cette évolution est cohérente avec les résultats de mise en solution et de précipitation :

- **Période 1** : Des bactéries sont transférées vers le second étage mais elles ne semblent pas réussir à se développer. Leur concentration est inférieure à la concentration de la phase liquide en sortie du 1^{er} étage. La mise en solution serait principalement liée à une lixiviation chimique par le Fe(III) (1 g.L^{-1}) et l'acide. Ainsi, une consommation de $1,7 \text{ mmol.h}^{-1}$ de H^+ est observée dans le second étage.
- **Période 2** : Les bactéries sont plus actives et légèrement plus nombreuses mais seul le Fe(II) est détecté. Il est probable que la cinétique de régénération du Fe(III) soit plus lente que la cinétique de mise en solution, et donc que la consommation du Fe(III). Les

taux de mise en solution augmentent grâce à la régénération, tout comme la consommation de protons, ce qui est cohérent avec la réaction qui a lieu :



Par ailleurs, une très faible précipitation de jarosite est observée.

- **Période 3** : Le nombre de cellules croît exponentiellement dans la phase liquide. La culture régénère le Fe(III) en quantités importantes. Les concentrations en SO_4^{2-} et Fe(III) sont plus importantes donc il y a plus de précipitation.

Ainsi, le temps d'adaptation des bactéries est relativement long, mais la culture finit par se développer dans le second étage dans des délais raisonnables. Le délai pour parvenir à la période 2, qui marque le début de l'activité bactérienne, est plus long que celui qui a été observé dans les essais en erlenmeyer pour l'écotoxicologie microbienne (300 heures environ) ainsi que dans les essais en réacteur agité en batch (300 heures également) : il est d'environ 600 heures. Il faut cependant noter que des problèmes expérimentaux de gestion du réacteur en continu (tels que des coupures d'arrivée d'air) ont pu ralentir le processus d'adaptation.

Ce résultat est cohérent avec la consommation de nutriments observée dans le réacteur de biolixiviation des cartes électroniques (Figure 56). Pour le K^+ , le Mg^+ et le NH_4^+ , cette consommation ne varie pas considérablement au cours des différentes périodes, mais une augmentation majeure de la consommation de phosphate est observée. Celle-ci est probablement liée à l'augmentation de l'activité et de la croissance de la biomasse.

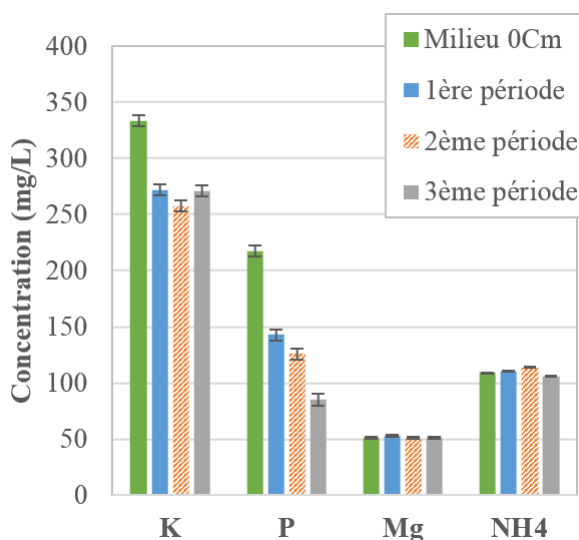


Figure 56: Consommation des principaux nutriments (K^+ , PO_4^{2-} , Mg^+ et NH_4^+) dans le 2nd étage du réacteur continu contenant les cartes électroniques en présence de 1% de solide.

3.3.3.2. Caractérisation de la population bactérienne

Pour compléter les résultats relatifs aux cinétiques de dissolution et aux consommations de réactifs, la structure de la population bactérienne qui se développe dans le bioréacteur a été caractérisée à l'aide de différentes techniques de biologie moléculaire. L'objectif était de connaître la répartition des bactéries entre la phase liquide et la phase solide et d'évaluer les abondances relatives des populations.

L'extraction d'ADN sur la phase solide (charbon actif de la colonne à bulles pour le 1^{er} étage ; cartes électroniques résiduelles dans le 2nd étage) et sur la phase liquide après séparation des deux phases permet de déterminer la distribution entre les deux compartiments (Figure 57). Dans le 1^{er} étage, une majorité de l'ADN extrait se situe sur le charbon actif (99,83%). Dans le 2nd étage, 17% de l'ADN extrait est situé dans la phase liquide alors que 83% se situe sur les

cartes électroniques broyées. Il semblerait que les bactéries s'attachent majoritairement. Cela peut être lié à leur fonctionnement habituel : par exemple, *Leptospirillum ferriphilum* est le plus souvent présent en quantité plus élevée sur les fractions solides plutôt que sous forme planctonique (Guezennec et al., 2017). L'étude de Silva et al. (2015) a mis en avant un important taux d'attachement des cellules lors de la biolixiviation des cartes électroniques, ce qui est cohérent avec nos résultats.

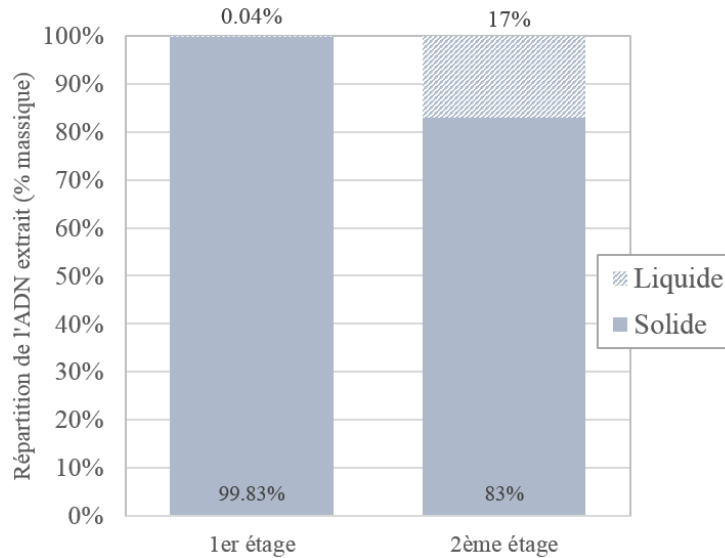


Figure 57: Répartition de l'ADN extrait entre la phase liquide et la phase solide dans les deux étages du bioréacteur de biolixiviation des cartes électroniques (charbon actif et particules de cartes électroniques broyées).

Les abondances relatives des cellules ont été déterminées par CE-SSCP à partir de ces ADN extraits. Dans le premier étage, sur le solide, une proportion majoritaire de *Leptospirillum ferriphilum* est détectée (70,9%), ainsi que *Sulfobacillus benefaciens* (19%) et une souche inconnue (9,8%). Dans la phase liquide du premier étage, *Leptospirillum ferriphilum* est la seule souche détectée par CE-SSCP mais *Sulfobacillus benefaciens* est détecté en faibles quantités par utilisation de la PCR spécifique. Dans le réacteur contenant les cartes électroniques, des proportions similaires à celles du solide du 1^{er} étage sont observées sur le mélange solide-liquide (82% de *Leptospirillum ferriphilum*, 8% de *Sulfobacillus benefaciens* et 8% d'une souche inconnue).

La majorité des cellules étant attachée sur les fragments de cartes électroniques, le MEB est utilisé pour relier la présence de biomasse à la composition du fragment (Figure 58). Pour ces observations, il est nécessaire de métalliser les fragments puisque certains sont peu conducteurs. Les échantillons sont donc lyophilisés après cryogénéisation, puis métallisés par un mélange Au/Pd. Après analyse d'une dizaine de fragments de cartes électroniques biolixiviés, on n'observe pas de lien entre la répartition des cellules sur les morceaux de cartes électroniques et la composition de ceux-ci. Sur certains fragments, qui sont probablement des fibres de verre ou de céramiques composées d'Al, Si et Ca (Figure 58A), il y a peu ou pas de bactéries. Des particules rondes et organiques sont attachées entre certaines fibres (Figure 58B). Le fil qui relie la particule au fragment de cartes est peu résistant car il se casse sous le faisceau d'électrons. Il pourrait s'agir de cellules qui sporulent pour se protéger de leur environnement, comme peuvent le faire certaines souches du genre *Sulfobacillus* (Johnson et al., 2008 ; Watling et al., 2008). Sur d'autres fragments, contenant du Br, Si, O, Cu, P, S et Fe (Figure 58C), qui sont peut-être des céramiques recouvertes de précipités de jarosite, il y a sur certaines zones beaucoup de cellules. Celles-ci sont petites et souvent repliées sur elles-mêmes. Des cellules ont aussi été détectées sur des fragments plastiques (essentiellement composées des éléments

C et O). Aucun cliché n'est montré ici car malgré la métallisation, ces grains chargent, ce qui empêche l'acquisition d'images. Enfin, des films sont détectés sur d'autres fragments (Figure 58D), mais il n'est pas possible de déterminer s'ils sont issus de l'activité bactérienne ou de la lyophilisation de la solution ionique. Ces observations ne permettent pas de démontrer l'attachement préférentiel des bactéries sur certains fragments, comme affirmé par Silva et al. (2015).

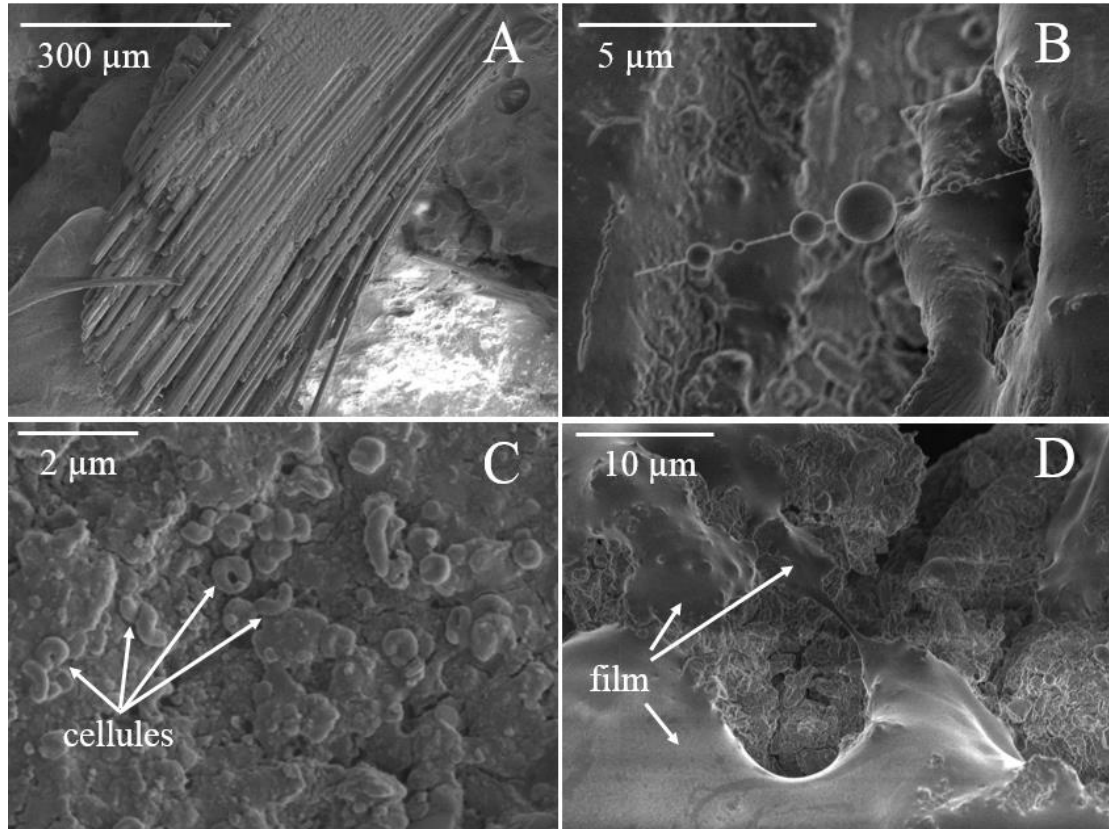


Figure 58: Clichés obtenus au MEB de différents fragments de cartes électroniques lyophilisées (A : fibres de verre ou céramique ; B : particules rondes et organiques ; C : cellules attachées à la surface ; D : film observé sur certains fragments).

3.3.4. Vitesse de régénération du Fe(III)

La vitesse de régénération du Fe(III) par les bactéries en régime permanent est estimée grâce au bilan suivant :

$$Fe^{3+}_{régénéré} = Fe^{3+}_{consommé\ lix} + Fe^{3+}_{précipité} + Fe^{3+}_{sortant} - Fe^{3+}_{entrant} \quad [19]$$

Les flux de Fe(III) entrant et sortant sont obtenus à partir des concentrations mesurées quotidiennement par SAAF, couplées à la mesure du potentiel d'oxydo-réduction. Le flux de Fe(III) consommé par la mise en solution est estimé à partir des vitesses de mise en solution des différents métaux et des besoins stœchiométriques associés à chacun de ces métaux (2 moles de Fe(III) nécessaires pour la mise en solution d'une mole de Cu, 3 moles de Fe(III) pour une mole d'Al, etc. selon la réaction [4] du Chapitre II, paragraphe 3.1.1). Ce flux est estimé

pour chaque période et varie entre $3,63 \text{ mmol.h}^{-1}$ (période 1) et $4,96 \text{ mmol.h}^{-1}$ (période 3). Un tel bilan ne permet pas de prendre en compte la lixiviation acide ni la précipitation de certains métaux (plomb, aluminium, étain notamment). Il repose sur l'hypothèse que la mise en solution des métaux est liée uniquement à l'oxydation par le Fe(III). Enfin, le $\text{Fe(III)}_{\text{précipité}}$ est estimé à partir de la consommation de sulfates comme nous l'avons expliqué dans le paragraphe 3.3.2.

Le Tableau 32 donne ainsi les vitesses de régénération du Fe(III) estimées pour chaque période. La vitesse de régénération du Fe(III) est très faible par rapport aux cinétiques de bio-oxydation obtenues dans la colonne à bulles en présence de Fe(II) seul. Pendant la première période, bien que la vitesse de régénération du Fe(III) déterminée à partir de la méthode ci-dessus ne soit pas nulle, aucune activité bactérienne n'est détectée. Le biais provient du fait que sur cette période, une partie de la lixiviation est liée à des réactions d'hydrolyse par l'acide sulfurique. Ce phénomène accroît de manière artificielle la demande en Fe(III) liée à la mise en solution des métaux, ce qui fausse le bilan matière et l'évaluation de la vitesse de régénération.

Tableau 32: Estimation de la vitesse de régénération du Fe(III) en fonction de la période dans le réacteur de biolixiviation des cartes électroniques en présence de 1% de solide et 48h de temps de séjour.

	Vitesse de régénération du Fe(III) ($\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)
Période 1	69
Période 2	105
Période 3	142

3.4. Biolixiviation en réacteur double étage en continu avec une concentration en solide plus élevée

Des essais ont été réalisés avec une concentration en solide plus élevée, c'est-à-dire en présence de 1,8%(m/v) de solide. Les vitesses de mise en solution (Figure 59) et les taux de mise en solution (Figure 60) ont été mesurés pour différents métaux.

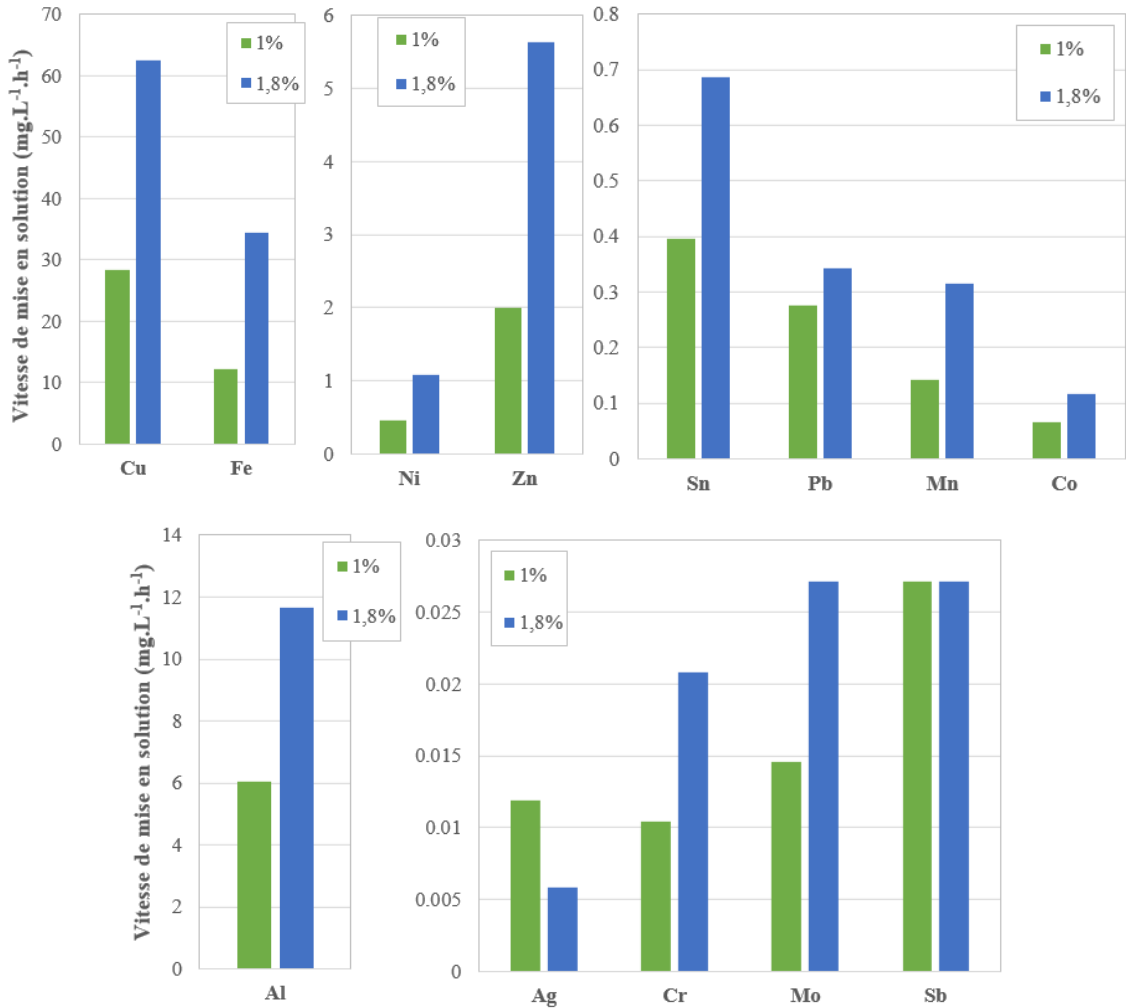


Figure 59: Vitesses de mise en solution du Cu, du Fe, du Ni, du Zn, du Sn, du Pb, du Mn, du Co, de l'Al, de l'Ag, du Cr, du Mo et du Sb issus de cartes électroniques dans le réacteur de biolixiviation en continu pour deux concentrations en solide différentes.

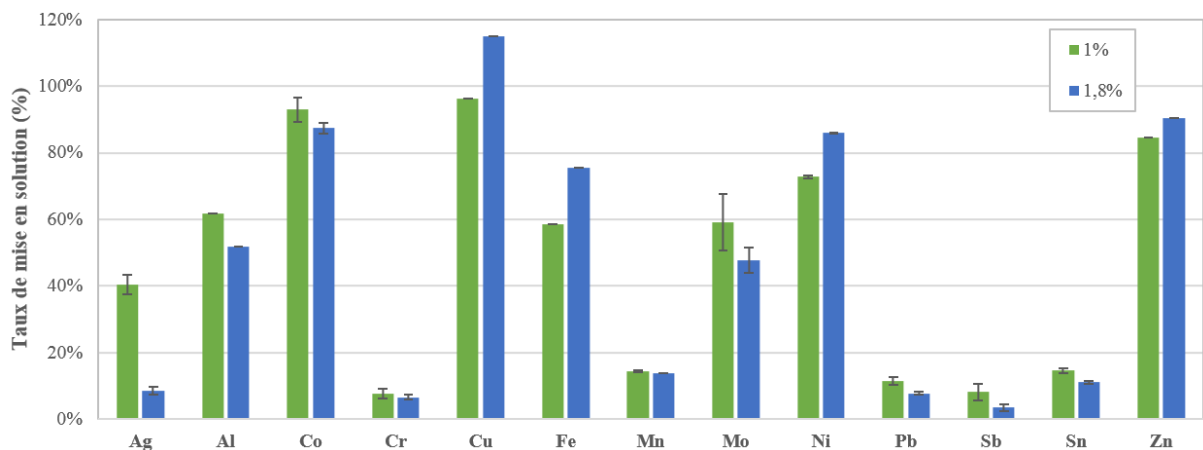


Figure 60: Taux de mise en solution de métaux issus de cartes électroniques dans le réacteur de biolixiviation en continu à deux concentrations en solide différentes. Les barres d'erreur représentent les erreurs sur l'analyse des lixiviats.

Les vitesses de mise en solution sont en augmentation avec la concentration en solide pour presque tous les métaux (Cu, Fe, Ni, Zn, Sn, Pb, Mn, Co, Al, Cr et Mo). La vitesse de mise en solution de l'Ag est en nette diminution lorsque la concentration en solide atteint 1,8%. Aucune hypothèse ne peut aujourd'hui expliquer ce résultat, pour lequel des répliquats et/ou recherches

approfondies devraient être réalisés. Enfin, concernant le Sb, la vitesse de mise en solution varie peu avec la concentration en solide.

Concernant les taux de mise en solution lorsque la concentration en cartes électroniques est de 1,8%, ils sont du même ordre de grandeur que ceux à 1%. Concernant le Cu, le taux de mise en solution dépasse 100%, ce qui pourrait refléter un problème de caractérisation de la concentration en Cu. Pour le Ta, le W et le Ga, la concentration maximale qui serait atteinte s'ils étaient complètement mis en solution est inférieure à la limite de détection (*cf.* Chapitre III paragraphe 2.6.2). Concernant le V, moins de 25% est mis en solution, ce qui correspond à la limite de détection. Le potentiel d'oxydo-réduction est supérieur à 880 mV vs ENH dans les deux conditions opératoires, ce qui montre que le Fe en solution est présent uniquement sous forme Fe(III) (Figure 61). Les bactéries se sont bien adaptées à la hausse de la concentration en solide.

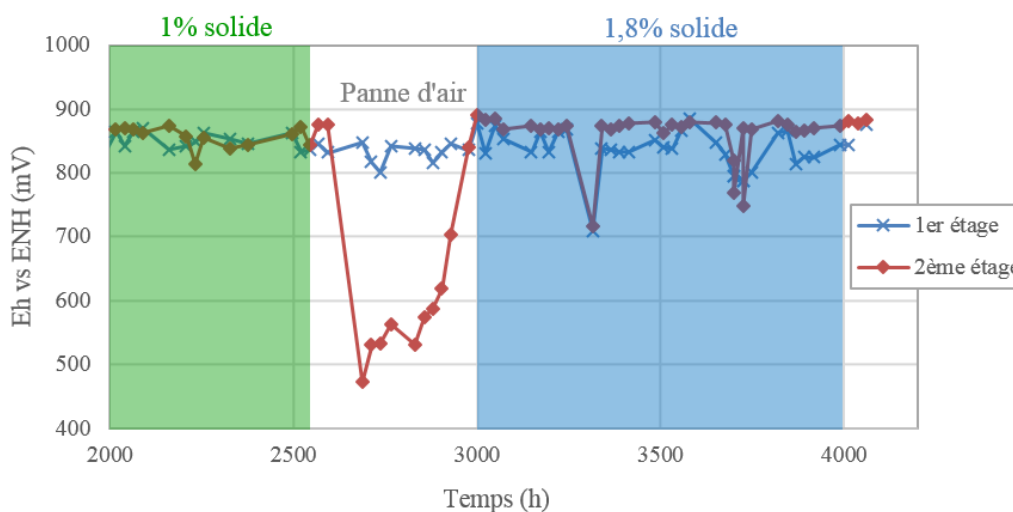


Figure 61: Evolution du potentiel d'oxydo-réduction dans le 1^{er} et 2nd étage au cours du temps en fonction de la concentration en solide.

En utilisant les mêmes équations bilans que dans le paragraphe 3.3.2, il est possible d'estimer la vitesse de précipitation de la jarosite à partir de la concentration en sulfate. Par ailleurs, l'estimation de la vitesse de bio-oxydation du Fe(II) est réalisée (*cf.* paragraphe 3.3.4), ainsi que l'estimation du taux et de la vitesse de mise en solution du Fe. Toutes ces estimations sont rassemblées dans le Tableau 33. A 1,8% de solide, la vitesse de bio-oxydation estimée reste très inférieure à celle obtenue dans la colonne à bulles (*cf.* paragraphe 2.3). Le taux de mise en solution atteint 136%, probablement à cause d'une surestimation de la précipitation de jarosite. En effet, il a été montré dans le paragraphe 3.3.2 que les sulfates sont impliqués dans la précipitation de la jarosite mais également de l'anglésite (PbSO_4), qui n'est pas considérée dans notre bilan matière.

Tableau 33: Vitesse et taux de mise en solution du Fe en tenant compte de la précipitation et vitesse de bio-oxydation du Fe(II) en fonction de la concentration en cartes électroniques.

Concentration en solide (m/v)	Vitesse de mise en solution du Fe ($\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	Taux de mise en solution du Fe	Vitesse de bio-oxydation du Fe(II) ($\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)
1%	18,2	93%	142
1,8%	61,9	136%	328

La Figure 62 rassemble la consommation de protons et la différence de concentration de biomasse entre le 1^{er} et le 2nd étage pour les différentes concentrations en solide testées. Ces données suivent les vitesses de mise en solution : elles augmentent avec la concentration en solide. Concernant la concentration de biomasse libre dans le 2nd étage, les cartes électroniques n'inhibent pas la croissance des bactéries. Les cellules semblent totalement adaptées à leur environnement.

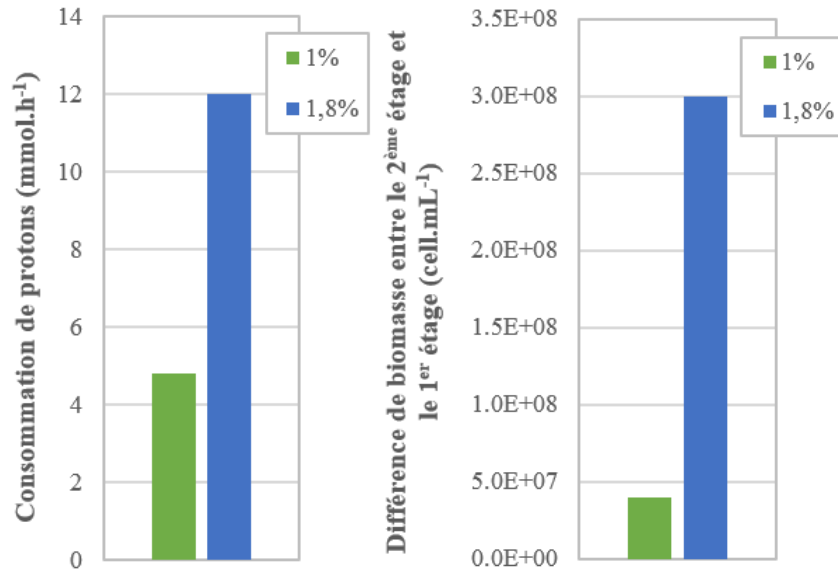


Figure 62: Consommation des protons (en mmol.h⁻¹) et suivi de la croissance de la biomasse libre dans le 2nd étage à deux concentrations de solide différentes.

Ces résultats sont comparés aux résultats obtenus en mode batch dans la littérature, avec des conditions opératoires décrites dans le Chapitre II et similaires aux nôtres (Figure 63). Nos résultats suivent les tendances obtenues en mode batch.

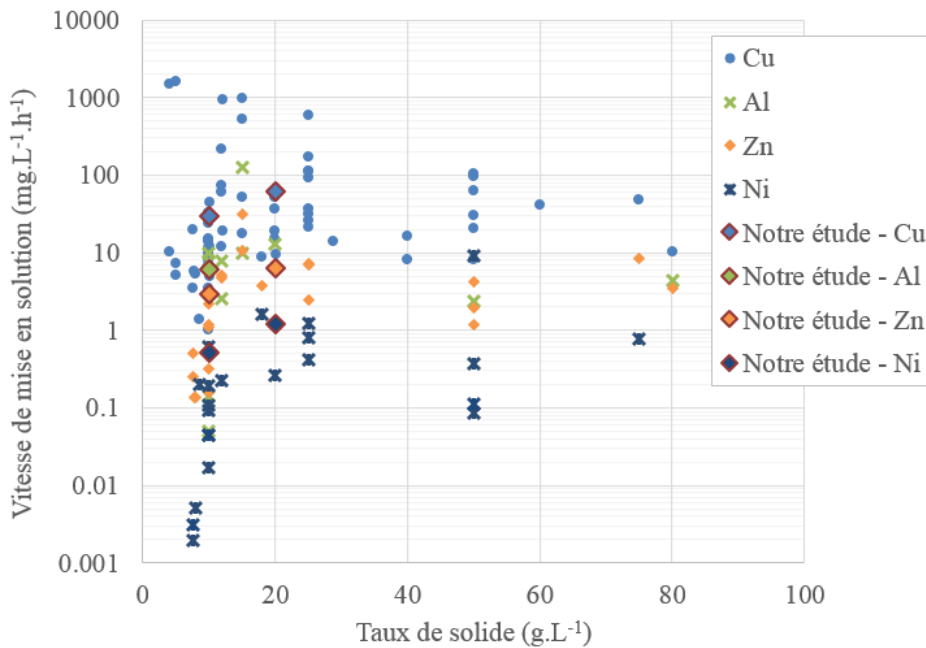


Figure 63: Vitesses de mise en solution de Cu, Al, Zn et Ni en fonction de la concentration en solide dans notre étude et rapportées dans la littérature.

3.5. Biolixiviation en réacteur agité mécaniquement en continu avec une concentration en solide de 1,8%

A la suite des essais en présence de 1,8% de solide dans le réacteur double étage en continu, il semble que la concentration de biomasse dans le 2nd étage soit suffisante pour envisager d'éliminer le 1^{er} étage et ainsi simplifier la conduite du procédé. Par ailleurs, il a été choisi d'alimenter le réacteur en solution nutritive acidifiée uniquement (0Cm à pH 1,2) car le Fe est présent en grandes quantités dans les cartes électroniques et la réaction de mise en solution a démarré dans le réacteur. De cette manière, le seul Fe utile à la réaction provient des cartes électroniques. De plus, les teneurs en Fe dans les lixiviats seront plus faibles et les solutions pourront donc être plus aisément traitées par des procédés hydrométallurgiques en aval.

Les vitesses de mise en solution en un étage unique comparées à l'essai à 2 étages sont données dans la Figure 64. La consommation des protons et la concentration de biomasse libre sont également rapportées sur la Figure 65.

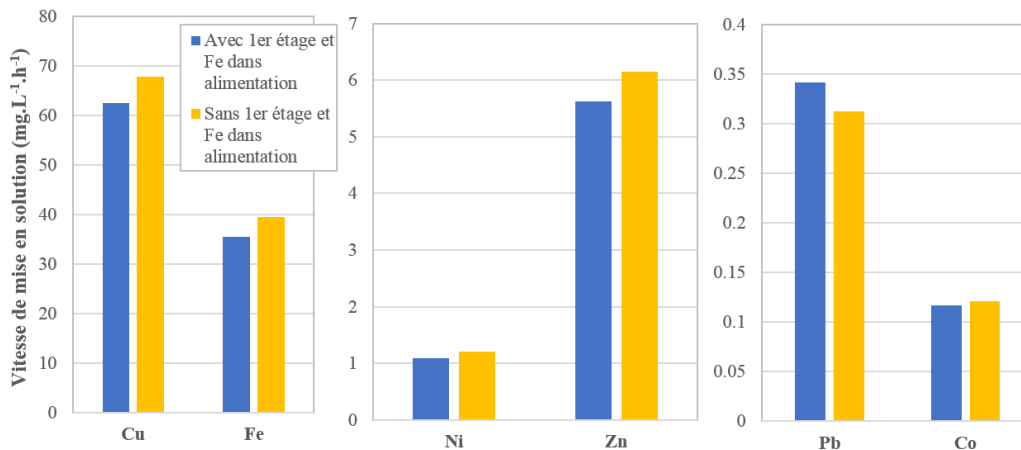


Figure 64: Vitesses de mise en solution du Cu, du Fe, du Zn, du Ni, du Pb et du Co en présence de 1,8% de solide dans le bioréacteur double étage avec 1 g.L⁻¹ de Fe(II) en alimentation ou dans le réacteur agité mécaniquement seul sans Fe dans l'alimentation.

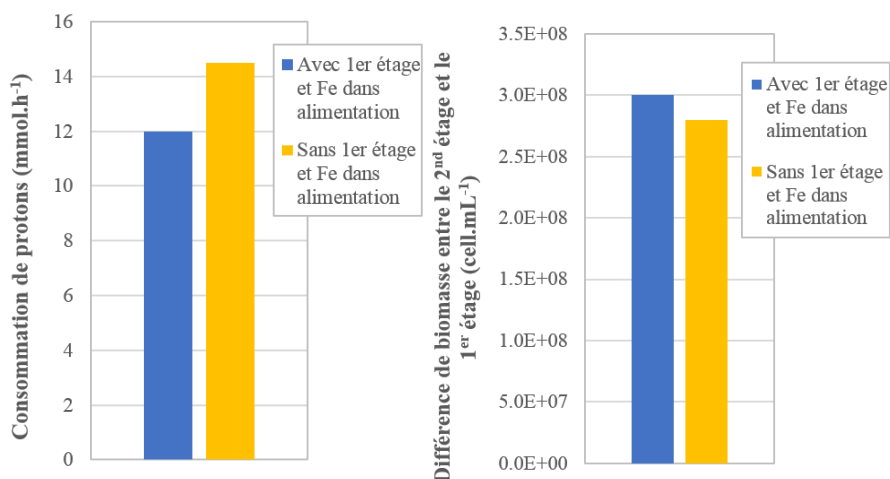


Figure 65: Consommation de protons et différence de concentration de biomasse libre entre le 1^{er} et le 2^{ème} étage en présence de 1,8% de solide dans le bioréacteur double étage avec 1 g.L⁻¹ de Fe(II) en alimentation ou dans le réacteur agité mécaniquement seul sans Fe dans l'alimentation.

Les figures précédentes montrent clairement qu'il n'y a pas de différence majeure entre les deux modes de fonctionnement. Une légère amélioration est même observée sur les taux de mise en solution du Cu, du Fe, du Zn, du Ni et du Co, qui pourrait être liée à une adaptation des bactéries

à cette concentration en solide. Ainsi, une fois la réaction de biolixiviation établie dans le réacteur, le 1^{er} étage n'est plus nécessaire, tout comme l'ajout de Fe(II) sous forme FeSO₄ dans l'alimentation puisque le Fe contenu dans les cartes électroniques constitue un apport suffisant. Cependant, il semble que la culture soit moins robuste à d'éventuels changements de conditions opératoires (par exemple panne d'arrivée d'air comprimé). Enfin, la consommation des protons est légèrement supérieure lorsque le 1^{er} étage n'est plus opéré (l'ajout d'acide est toujours en fonctionnement). Ceci peut expliquer que le taux de mise en solution du Pb n'augmente pas : celui-ci précipite.

3.6. Conclusion

La biolixiviation acidophile de cartes électroniques en réacteur agité en mode batch donne des résultats prometteurs en présence de 1%(m/v) ou 5%(m/v) de solide. L'étude a été menée en 2 étapes, avec d'abord la croissance des bactéries en présence de Fe(II) pour l'oxyder en Fe(III) puis l'ajout des cartes électroniques. En présence d'un excès de Fe(III), les métaux sont rapidement mis en solution et les cinétiques obtenues sont plus rapides que celles trouvées dans la littérature. Cependant, en mode batch, notre étude ne permet pas d'observer l'effet de la régénération du Fe(III) sur la cinétique de biolixiviation, car le délai de latence des bactéries est supérieur au délai nécessaire à la mise en solution. Par ailleurs, en mode batch, les bactéries sont capables d'oxyder le Fe(II) en présence de 1% de cartes électroniques mais pas de 5%.

La mise en place d'un réacteur à deux étages en continu permet de régénérer le Fe(III) dans le réacteur contenant les cartes électroniques. Ainsi, bien que le flux de Fe(III) entrant soit largement inférieur à la quantité stœchiométrique requise pour oxyder les métaux contenus dans les cartes, les principaux métaux suivis (Cu, Fe, Zn, Ni, Co) sont mis en solution en 48 h avec des rendements élevés. La mise en solution du Pb n'est pas observée : celui-ci précipite sous forme d'anglésite PbSO₄. Pour obtenir des taux de biolixiviation élevés, il faut néanmoins une adaptation des bactéries dans le 2nd étage : au démarrage, leur activité est nulle dans le réacteur contenant les cartes électroniques, alors qu'après quelques semaines, une croissance bactérienne significative est observée dans le 2nd réacteur et leur concentration dépasse largement la concentration de bactéries dans le flux entrant. L'augmentation de la concentration de solide jusqu'à 1,8% permet d'obtenir des vitesses de mise en solution plus élevées. Il serait intéressant d'étudier l'effet d'une concentration en solide plus élevée ou d'un temps de séjour réduit sur la mise en solution des métaux contenus dans les cartes, pour connaître les limites du système. Les vitesses de bio-oxydation du Fe(II) déterminées par le bilan matière dans le 2nd réacteur sont largement inférieures aux vitesses maximales obtenues dans le 1^{er} réacteur, ce qui laisse supposer qu'une augmentation substantielle de la concentration en solide pourrait être opérée sans altération des performances. Cette hypothèse s'appuie également sur les résultats des tests d'écotoxicologie qui montrent que l'augmentation de la concentration en métaux (qu'induirait une augmentation de la concentration en solide) affecte le temps de latence mais pas la croissance ni l'activité bactérienne.

En continu, les bactéries sont capables d'oxyder le Fe(II) en présence de 1,8% de solide après ce temps d'adaptation. Leur nombre est même plus important quand la concentration de solide augmente, probablement grâce à une plus grande quantité de substrat disponible. Ce développement de la culture dans le 2nd étage permet de retirer le 1^{er} étage après plusieurs mois de fonctionnement sans que cela ne se répercute sur les cinétiques de biolixiviation. Il n'est alors plus nécessaire de fournir de Fe(II) à la culture qui utilise le Fe issu des cartes électroniques uniquement. Ceci est particulièrement intéressant pour réaliser des économies de réactifs et faciliter les traitements hydrométallurgiques en aval. Cependant, la culture semble plus sensible aux variations de conditions opératoires lorsque le 1^{er} étage n'est plus en fonctionnement.

L'observation de la culture bactérienne permet de conclure à un attachement des bactéries sur les particules solides, peut-être pour mieux résister au stress imposé par leur environnement contenant de fortes concentrations en cations métalliques. Cet attachement ne semble pas spécifique à la composition de la particule de cartes électroniques (plastiques, céramiques, ...). *Leptospirillum ferriphilum* semble être la bactérie qui s'adapte et résiste le mieux dans de telles conditions.

4. Conclusion générale

Notre étude avait trois objectifs principaux : (i) définir et valider un protocole d'échantillonnage et de caractérisation des compositions en métaux pour obtenir des échantillons de cartes électroniques caractérisés, reproductibles et représentatifs ; (ii) étudier le phénomène de bio-oxydation du Fe(II) par une culture acidophile en batch et en continu et réussir à stabiliser la production d'une solution oxydante sur une longue période de temps ; (iii) étudier la biolixiviation des cartes électroniques en batch et en continu, avec des protocoles dissociant la croissance de la culture et la biolixiviation des cartes.

Concernant l'échantillonnage et la caractérisation d'échantillons de grande taille de cartes électroniques, deux procédures ont été établies : (i) la réduction de la taille des particules à 750 μm pour rendre accessibles les éléments qui constituent les cartes électroniques et (ii) la caractérisation des échantillons avec une attaque à l'eau régale et une analyse de la solution d'attaque par ICP-AES, ICP-MS et SAAF (la masse minimale d'échantillons pour la caractérisation est 40 g). La fiabilité de ces deux méthodes a été évaluée par une large gamme de métaux contenus dans les cartes électroniques. Si les résultats obtenus pour le Cu, le Fe, l'Al, le Pb et le Zn sont très satisfaisants et répondent aux objectifs fixés initialement, la procédure développée est moins adaptée pour le Co, le Ni, l'Ag et le Ga, mais peut néanmoins être utilisée dans la suite de notre étude car les erreurs obtenues sont inférieures à 10%. Pour l'Au, le Pd et le Sn, la pertinence n'est pas démontrée. Pour le Ta, la méthode ne permet pas sa solubilisation et l'évaluation de sa concentration.

Pour ce qui est de la bio-oxydation, l'étude en réacteur agité mécaniquement en batch a rapidement montré ses limites car les cinétiques obtenues varient beaucoup d'un essai à l'autre. Si l'état de la culture et une croissance bactérienne insuffisante influencent les résultats obtenus, ceux-ci ne peuvent suffire à expliquer la variabilité des vitesses de bio-oxydation. Celle-ci peut néanmoins atteindre près de 3 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, ce qui correspond aux valeurs hautes des ordres de grandeurs relevés dans la littérature. Le passage en fonctionnement continu nécessite l'utilisation d'un support solide pour maintenir les bactéries dans le bioréacteur. La mise en place d'une culture en colonne à bulles est alors nécessaire pour limiter l'attrition des particules qui constituent ce solide. Lors des essais menés avec le milieu OKm en présence de 9 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Fe(II) et de charbon actif, reconnu comme un bon support solide, le régime permanent n'a pas pu être atteint malgré une longue période de fonctionnement (plusieurs semaines) et les cinétiques sont nettement inférieures à celles de la littérature. L'augmentation de la quantité de charbon actif améliore légèrement les cinétiques mais les vitesses de bio-oxydation restent très variables. Au contraire, l'utilisation de nylon tissé à la place du charbon actif améliore nettement les cinétiques et permet d'obtenir des vitesses de bio-oxydation stables sur de longues périodes. L'explication réside probablement dans de meilleurs transferts de matière dans le réacteur entre la phase liquide, la phase gaz et les bactéries attachées sur le support solide. La modification du milieu de culture, avec une diminution par 10 de la quantité d'ammonium augmente également largement les cinétiques obtenues. Les vitesses maximales de bio-oxydation obtenues dans ce nouveau milieu, noté 0Cm, atteignent 900 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ à 1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Fe(II) en présence de 15 g de charbon, 1400 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ à 9 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Fe(II) en présence de 30 g de charbon et 2 900 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ à 1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Fe(II) en présence de bandelettes de nylon tissé pour des temps de séjour respectifs de 1,1 h, 6,3 h et 1,9 h. Ces résultats sont satisfaisants puisqu'ils ont été obtenus sur de longues périodes d'observation et qu'ils correspondent aux valeurs trouvées dans la littérature, obtenues généralement sur des périodes d'observation plus courtes. Les observations au cryo-MEB des particules de charbon actif ont montré la présence de précipités sur la surface externe des particules (jarosite d'ammonium et de potassium). Le bouchage des pores explique vraisemblablement la diminution des performances de la colonne à bulles en milieu OKm en présence de 9 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Fe(II). Ce phénomène piège les cellules à l'intérieur des particules. Par

conséquent, en fonction de l'âge du support solide, les transferts de substrats (Fe(II), nutriments, O₂ et CO₂) de la phase liquide jusqu'aux bactéries sont parfois réduits, ce qui ralentit les cinétiques de bio-oxydation. Avec ces connaissances, les conditions opératoires dans ce bioréacteur ont été adaptées pour être en adéquation avec la biolixiviation des cartes électroniques broyées.

La biolixiviation acidophile de cartes électroniques en batch donne des résultats prometteurs, à 1% comme à 5% solide. L'étude a été menée en 2 étapes, avec d'abord la croissance des bactéries en présence de Fe(II) pour l'oxyder en Fe(III) puis l'ajout des cartes électroniques. En présence d'un excès de Fe(III), les métaux sont rapidement mis en solution et les cinétiques obtenues sont plus rapides que celles données dans la littérature. Cependant, l'effet de la régénération du Fe(III) sur la cinétique de biolixiviation en mode batch n'a pas pu être observé car la période de latence des bactéries est supérieure au temps caractéristique de la lixiviation. Par ailleurs, en mode batch, les bactéries sont capables d'oxyder le Fe(II) en présence d'une concentration de cartes électroniques de 1% mais pas de 5%.

La régénération du Fe(III) a pu être observée grâce à la mise en place d'un réacteur à deux étages fonctionnant en continu (concentration de cartes électroniques broyées de 1% dans le 2nd réacteur où a lieu la biolixiviation des cartes électroniques). Ainsi, bien que le Fe(III) entrant ne soit pas en excès, les principaux métaux suivis sont mis en solution en 48 h avec des rendements élevés : 96% Cu, 85% Zn, 73% Ni, 93% Co et une estimation à 93% pour le Fe. La culture s'adapte à la présence de cartes électroniques et est alors capable d'être active et de croître dans le réacteur contenant les cartes. L'augmentation de la concentration de solide jusqu'à 1,8% permet d'obtenir des vitesses de mise en solution plus élevées. La concentration de biomasse dans le bioréacteur est alors plus importante. Cela permet de tester la robustesse de la culture en retirant le 1^{er} étage. L'alimentation est alors directement injectée dans le réacteur contenant les cartes électroniques. Les taux et vitesses de mise en solution restent constants après le retrait de la colonne à bulles, alors même que la seule source de Fe provient des cartes électroniques. Cependant la culture semble plus affectée par les éventuels changements de conditions opératoires. L'extraction d'ADN des phases liquide et solide montre que la plupart des bactéries sont attachées sur les particules solides (83%). *Leptospirillum ferriphilum* semble être la bactérie qui s'adapte et résiste le mieux dans de telles conditions. Enfin, les observations au cryo-MEB semblent indiquer que l'attachement n'est pas spécifique à la composition des particules de cartes électroniques.

5. Références

Adhapure, N.N., Waghmare, S.S., Hamde, V.S., Deshmukh, A.M., 2013. Metal solubilization from powdered printed circuit boards by microbial consortium from bauxite and pyrite ores, *Applied Biochemistry and Microbiology*, **49**(3), 256–262.

AFNOR, 2014. Détermination de certaines substances dans les produits électrotechniques - Partie 5 : Du cadmium, du plomb et du chrome dans les polymères et les produits électroniques, du cadmium et du plomb dans les métaux par AAS, AFS, ICP-OES et ICP-MS, norme française NF EN 62321-5:2014, 40 p.

Ahumada, E., Lizama, H., Orellana, F., Suárez, C., Huidobro, A., Sepúlveda-Escribano, A., Rodríguez-Reinoso, F., 2002. Catalytic oxidation of Fe(II) by activated carbon in the presence of oxygen. Effect of the surface oxidation degree on the catalytic activity, *Carbon*, **40**, 2827-2834.

Bizzo, W.A., Figueiredo, R.A., de Andrade, V.F., 2014. Characterization of Printed Circuit Boards for Metal and Energy Recovery after Milling and Mechanical Separation, *Materials*, **7**, 4555-4566.

Brandes, E.A., Brook, G.B., 1992. Smithells Metals Reference Book, 7th ed. (Butterworth-Heinemann, Oxford, United Kingdom), Ch. 22.

Collinet-Latil, M.N., 1989, « Lixiviation bactérienne par *Thiobacillus ferrooxidans* et *Thiobacillus thiooxidans* d'un concentré de flottation arsénopyriteux aurifère (réfractaire à la cyanuration directe) », Thèse de doctorat en biologie cellulaire et microbiologie à l'Université d'Aix-Marseille.

Coram, N.J., Rawlings, D.E., 2002. Molecular relationship between two groups of the genus *Leptospirillum* and the finding that *Leptospirillum ferriphilum* sp. nov. dominates South African commercial biooxidation tanks that operate at 40°C, *Applied and environmental microbiology*, 838-845.

Gaboreau, S., Vieillard, P., 2004. Prediction of Gibbs free energies of formation of minerals of the alunite supergroup, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **68**(16), 3307–3316.

Goodman, P., 2002. Current and Future Uses of Gold in Electronics, *Gold Bulletin 2002*, **35**:1, 21-26.

Guezennec, A.G., Jouliau, C., Jacob, J., Archane, A., Ibarra, D., de Buyer, R., Bodéan, F., d'Hugues, P., 2017. Influence of dissolved oxygen on the bioleaching efficiency under oxygen enriched atmosphere, *Minerals Engineering*, **106**, 64-70.

Holgersson, S., Steenari, B.M., Björkman, M., Cullbrand, K., 2018. Analysis of the metal content of small-size Waste Electric and Electronic Equipment (WEEE) printed circuit boards – part 1: Internet routers, mobile phones and smartphones, *Resources, Conservation and Recycling*, **133**, 300-308.

Ilyas, S., Ruan, C., Bhatti, H. N., Ghauri, M. A., Anwar, M. A., 2010. Column bioleaching of metals from electronic scrap, *Hydrometallurgy*, **101**, 135–140.

Jensen, A.B., Webb, C., 1995. Ferrous sulphate oxidation using *Thiobacillus ferrooxidans*: a review, *Process Biochemistry*, **30**, 3, 225-236.

- Johnson, D. B., Joulain, C., d'Hugues, P., Hallberg, K. B., 2008. *Sulfobacillus benefaciens* sp. nov., an acidophilic facultative anaerobic Firmicute isolated from mineral bioleaching operations, *Extremophiles*, **12**, 789–798.
- Kaksonen, A.H., Morris, C., Rea, S., Li, J., Usher, K.M., McDonald, R.G., Hilario, F., Hosken, T., Jackson, M., du Plessis, C.A., 2014. Biohydrometallurgical iron oxidation and precipitation: Part II — Jarosite precipitate characterization and acid recovery by conversion to hematite, *Hydrometallurgy*, **147-148**, 264–272.
- Kelly, W.C., Burgio, P.A., 1983. Cryogenic scanning electron microscopy of fluid inclusions in ore and gangue minerals, *Economic Geology*, **78**, 1262-1267.
- Kumar, V., Lee, J.C., Jeong, J., Jha, M.K., Kim, B., Singh, R., 2015. Recycling of printed circuit boards (PCBs) to generate enriched rare metal concentrate, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, **21**, 805–813.
- Kuznetsova, N.I., Likholobov, V.A., Gurrath, M., Boehm, H.P., 1995. Promotion effect of carbon on the oxidation of ferrous ions by oxygen in the presence of sodium nitrite, *Applied Catalysis A/General*, **128**, 41-52.
- Mi, S., Song, J., Lin, J., Che, Y., Zheng, H., Lin, J., (2011). Complete genome of *Leptospirillum ferriphilum* ML-04 provides insight into its physiology and environmental adaptation, *The Journal of Microbiology*, **49**, 890–901.
- Norris, P.R., 2007. Acidophile Diversity in Mineral Sulfide Oxidation. In: Rawlings D.E., Johnson D.B. (eds) *Biomining*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Ogunniyi, I.O., Vermaak, M.K.G., Groot, D.R., 2009. Chemical composition and liberation characterization of printed circuit board communiton fines for beneficiation investigations, *Waste Management*, **29**, 2140–2146.
- Petter, P.M.H., Veit, H.M., Bernardes, A.M., 2014. Evaluation of gold and silver leaching from printed circuit board of cellphones, *Waste Management*, **34:2**, 475-482.
- Silva, R.A., Park, J., Lee, E., Park, J., Choi, S.Q., Kim, H., 2015. Influence of bacterial adhesion on copper extraction from printed circuit boards, *Separation and Purification Technology*, **143**, 169–176.
- Silverman, M.P., Lundgren, D.G., 1959. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans* I. An improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields, *J.Bacteriol*, **77**, 642-7.
- Theron, T.A., Nete, M., Venter, J.A., Purcell, W., Nel, J.T., 2011. Dissolution and Quantification of Tantalum-Containing Compounds: Comparison with Niobium, *S. Afr. J. Chem.*, **64**, 173–178.
- UNEP, 2013. *Metal Recycling: Opportunities, Limits, Infrastructure*, A Report of the Working Group on the Global Metal Flows to the International Resource Panel. Reuter, M. A.; Hudson, C.; van Schaik, A.; Heiskanen, K.; Meskers, C.; Hagelüken, C.
- UNU, United Nations University, 2008. Final Report on the Review of Directive 2002/96 on Waste Electrical and Electronic Equipment (WEEE) – Study No. 07010401/2006/442493/ETU/G4.
- Watling, H. R., Perrot, F. A., Shiers, D. W., 2008. Comparison of selected characteristics of *Sulfobacillus* species and review of their occurrence in acidic and bioleaching environments. *Hydrometallurgy*, **93**, 57–65.

Wienold, J., Recknagel, S., Scharf, H., Hoppe, M., Michaelis, M., 2011. Elemental analysis of PCB considering the ROHS regulation, *Waste Management*, **31**, 530–535.

Yamane, L. H., de Moraes, V. T., Espinosa, D. C. R., Tenório, J. A. S., 2011. Recycling of WEEE: Characterization of spent printed circuit boards from mobile phones and computers, *Waste Management*, **31**, 2553–2558.

Zhang, S., Forssberg, E., 1999. Intelligent Liberation and classification of electronic scrap, *Powder Technology*, **105**, 295–301.

Conclusion et perspectives

Notre étude avait pour objectif la biolixiviation de cartes électroniques pour récupérer certains métaux contenus dans celles-ci. Pour mener à bien cette étude, le travail s'est déroulé en trois parties. Tout d'abord, l'échantillonnage d'un lot de 500 kg de cartes électroniques usagées a été mené et les teneurs en métaux des échantillons produits ont été déterminées. Ensuite, la bio-oxydation du Fe(II) en Fe(III) par une culture acidophile a été étudiée en batch et fed-batch dans un réacteur agité, puis en continu dans une colonne à bulles. Enfin, la biolixiviation des cartes électroniques a été réalisée en réacteur agité mécaniquement en batch et en continu. Au vu de l'état de l'art concernant la biolixiviation des cartes électroniques, la bio-oxydation du Fe(II) et la biolixiviation ont été découplées dans notre étude pour obtenir de meilleures cinétiques de mise en solution des métaux (Brandl et al., 2001).

La première étape avait pour objectif principal la production d'échantillons de cartes électroniques usagées reproductibles, représentatifs et bien caractérisés à partir du lot initial de 500 kg. Par ailleurs, cette étape de préparation des échantillons devait permettre également de rendre accessibles les métaux pour la biolixiviation. La préparation des échantillons a été menée à l'aide d'un déchiqueteur à couteaux et d'un déchiqueteur de laboratoire. Le d_{80} des échantillons a été déterminé à 750 μm . Un protocole de caractérisation basé sur la minéralisation à l'eau régale d'échantillons de 40 g a été mis au point. Ce protocole a permis d'évaluer la reproductibilité des échantillons en mesurant la variabilité des teneurs en métaux. La combinaison de ces protocoles d'échantillonnage et de caractérisation a été validée pour le Cu, le Fe, l'Al, le Pb et le Zn. Pour le Co, le Ni, l'Ag et le Ga, des variations entre échantillons ou des sous-estimations des teneurs ont été observées mais celles-ci étaient limitées, ce qui a permis de valider l'utilisation de ces méthodes pour la suite de notre étude. Pour l'Au, le Pd et le Sn, le protocole n'a pu être validé par manque de reproductibilité ou de justesse de la méthode. Pour le Ta, la méthode de minéralisation n'était nettement pas adaptée. Concernant l'étude des concentrations en métaux dans les fractions granulométriques (granulochimie), il a été conclu que le tamisage ne permettait pas de concentrer un métal de manière suffisante afin de faciliter sa récupération dans certaines fractions. Par ailleurs, l'option consistant à n'utiliser que les particules fines pour la suite de notre étude (pour simplifier les études de biolixiviation en améliorant la reproductibilité des échantillons et pour augmenter l'accessibilité des métaux) n'a pas été retenue car elle se traduirait par la perte de la représentativité de l'échantillon.

Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives. Tout d'abord, concernant l'échantillonnage, des méthodes de pré-concentration des métaux basées sur le tri physique pourraient être développées en amont de la biolixiviation pour limiter la quantité de plastiques, céramiques et verres dans le bioréacteur. Des études sont déjà en cours dans différents laboratoires (Ning et al., 2017). Par ailleurs, il semble nécessaire de développer d'autres broyeurs ou microniseurs (par exemple avec refroidissement simultané à l'aide d'azote liquide) pour réduire encore la taille des particules et obtenir des granulométries plus fines (Yuan et al., 2007). Cela permettrait d'une part d'améliorer la libération des métaux et d'autre part de réduire la masse d'échantillon à considérer pour l'analyse. Il serait d'ailleurs nécessaire d'étudier l'influence de la masse d'échantillon et de la granulométrie sur la variabilité des teneurs entre les différents échantillons pour faciliter la production et la caractérisation d'échantillons de cartes électroniques et pour valider les études précédemment réalisées sur les procédés alternatifs de valorisation des cartes électroniques. D'un point de vue analytique, il semble important de développer des méthodes d'analyse alternatives pour compléter celles développées dans nos travaux. Ces méthodes doivent pouvoir être adaptées à des échantillons de masses supérieures à celles généralement considérées dans la littérature (de l'ordre du gramme). Il semble également nécessaire de travailler sur la spéciation initiale des métaux car celle-ci influence grandement le type d'approche à adopter. Des méthodes multi-techniques ont été établies pour évaluer la spéciation de différents métaux présents sur des sites et sols pollués (Legros et al., 2011). Celles-ci pourraient être adaptées à la caractérisation des cartes électroniques. Enfin, la cartographie par

fluorescence des rayons X pourrait permettre de mieux comprendre la composition de la matière initiale et d'étudier l'accessibilité des métaux.

Une fois que les échantillons de cartes électroniques ont été produits et caractérisés, la bio-oxydation du Fe(II) en Fe(III) a été étudiée. La bio-oxydation en batch a mené à des cinétiques peu reproductibles car la croissance de la biomasse était limitée, ce qui a induit une dilution des cellules au fur et à mesure des repiquages successifs. L'étude des cinétiques en fed-batch a permis d'obtenir des vitesses de bio-oxydation élevées et une croissance importante de la biomasse, mais les cinétiques étaient de nouveau peu reproductibles. La bio-oxydation réalisée en mode continu a permis d'obtenir des résultats constants sur des périodes de travail de quelques semaines. La cinétique de cette réaction a été optimisée, en testant différents paramètres. Grâce à l'utilisation du nylon tissé comme support solide, une vitesse de $3 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ a été obtenue pour un temps de séjour de 3 h dans un milieu nutritif peu concentré en NH_4^+ . Des phénomènes de précipitation de jarosite expliquent les résultats peu satisfaisants obtenus en présence de charbon actif (instabilités des caractéristiques de la solution lixivante produite).

Pour compléter cette étude, d'autres conditions opératoires pourraient être optimisées pour améliorer la cinétique de bio-oxydation, tels que les débits gazeux et l'enrichissement de l'air en CO_2 , la température ou encore le milieu nutritif (par exemple, l'utilisation d'urée à la place d'ammonium pourrait être étudiée pour limiter la précipitation de jarosite ; Lepidi et al., 1988). Pour mieux comprendre les phénomènes d'instabilités observés en présence de charbon actif, la mesure de la surface spécifique (par l'utilisation du BET) et de la porosité (par pycnométrie à l'hélium) pourrait permettre de quantifier le bouchage des pores du charbon actif par les précipités de jarosite.

Cette étude de bio-oxydation du Fe(II) pourrait être utilisée dans d'autres domaines que la seule biolixiviation de cartes électroniques. Ainsi, elle pourrait servir à la mise en place de traitements par biolixiviation en deux étapes de LED, batteries, *etc.* ou à d'autres procédés chimiques nécessitant la présence de Fe(III) en milieu acide sulfurique. Ainsi, Halfmeier et al. (1993) utilisent ce type de réacteur pour dépolluer un flux gazeux contenant du H_2S .

Pour valoriser simultanément deux types de déchets, des études de co-processing voient le jour (Bryan et al., 2015 ; Guezennec et al., 2015 ; projet CEReS). Généralement, elles sont réalisées en deux étapes. Dans un premier temps, des déchets miniers contenant de la pyrite sont biolixiviés pour limiter leurs impacts environnementaux, récupérer d'éventuels métaux présents et produire une solution biolixivante riche en acide sulfurique et en Fe(III). Celle-ci est utilisée dans un second temps pour biolixivier des déchets tels que des cartes électroniques. Le réacteur de bio-oxydation développé dans notre étude peut être intéressant pour réaliser une étape préliminaire pour l'étude du co-processing. En effet, le premier réacteur de co-processing est alors « modélisé » par la colonne à bulles et cela simplifie l'étude de la deuxième étape.

L'intérêt de l'utilisation d'un réacteur en deux étages a été validé par les tests d'écotoxicologie microbienne qui confirment l'effet des cartes électroniques usagées sur la croissance et l'activité des bactéries. Les essais de biolixiviation en batch ont par ailleurs confirmé l'intérêt de ce type de montage, puisque le délai de latence de l'activité bactérienne liée à la présence des cartes électroniques était supérieur au temps nécessaire à la mise en solution chimique des métaux. Dans un tel environnement, l'adaptation des bactéries est nécessaire. Les mécanismes de l'adaptation observée dans le bioréacteur fonctionnant en continu n'ont pas été investigués dans ces travaux et pourraient faire l'objet de travaux spécifiques. Par ailleurs, des problématiques de conservation de la souche adaptée ont été soulevées, ainsi que de robustesse de la culture lors d'éventuels changements incontrôlés de conditions opératoires (panne d'air par exemple). Des essais avec des échantillons provenant d'autres cartes électroniques usagées pourraient permettre d'évaluer cette robustesse et de mesurer la vitesse d'adaptation des bactéries vis-à-vis de ces autres échantillons. L'utilisation plus systématique du MEB après

lyophilisation ou du cryo-MEB pourrait également permettre de mieux comprendre les phénomènes d'attachement des bactéries. Enfin, de manière plus anecdotique, le microscope électronique à transmission (MET) pourrait être utilisé pour observer les bactéries et rechercher d'éventuelles accumulations de cations métalliques à la surface des bactéries, comme cela a pu être mis en avant avec les lanthanides (Bayer et Bayer, 1991).

Concernant les cinétiques de mise en solution des métaux lors de la biolixiviation des cartes électroniques en continu, les taux obtenus étaient très élevés pour le Cu (96%), le Zn (85%), le Ni (73%) et le Co (93%) à 1% et 1,8% (m/v) de cartes électroniques. Les vitesses de mise en solution sont inférieures aux vitesses maximales observées en batch. Pour le Fe, le taux de mise en solution est estimé supérieur à 92% mais une partie du Fe précipite. Par ailleurs, tout le Fe est obtenu sous forme Fe(III). Il faut noter que la régénération du Fe(III) qui est estimée dans notre étude est une estimation basse de la vitesse réelle de bio-oxydation. Ces résultats sont donc très prometteurs. Dès lors, l'optimisation des paramètres opératoires pourrait être réalisée, en diminuant le temps de séjour ou en augmentant la concentration en solide. Les débits gazeux et la température pourraient également être modifiés.

Dans notre étude, le premier étage du réacteur n'est plus nécessaire après un certain temps de fonctionnement puisque les bactéries s'adaptent et présentent une croissance et une activité suffisantes dans le second étage. Cependant, une autre approche pourrait être développée : celle de travailler avec des concentrations en Fe(II) élevées en alimentation, mais avec une recirculation de la solution après avoir récupéré les métaux. Cela permettrait de travailler sur des cinétiques rapides de mise en solution grâce à des concentrations en Fe(III) plus élevées sans adaptation des bactéries. Pour cela, il faut pouvoir développer des étapes hydrométallurgiques aval qui permettraient de récupérer les métaux lixiviés. Dans cette optique, les métaux (et notamment les traces), qui peuvent être inhibiteurs de la croissance bactérienne et qui se concentreront dans la solution au fur et à mesure des cycles de recirculation, devront pouvoir être éliminés. Cela nécessite donc de mettre en place des étapes aval hydrométallurgiques qui permettent également de retirer les traces.

Quelle que soit l'approche choisie, la gestion des lixiviats reste à développer. Plusieurs techniques, telles que l'extraction liquide-liquide, la précipitation, l'adsorption, l'électrodéposition, *etc.* peuvent être évaluées (Willner et al., 2015). De la même manière, des voies de valorisation des résidus des cartes électroniques restent encore à trouver. Ces résidus contiennent les métaux précieux qui n'ont pas été mis en solution. Leurs concentrations sont supérieures à celles présentes dans les échantillons initiaux puisqu'une partie des métaux a été mis en solution. Des études se sont intéressées à la mise en place d'un bioréacteur pour la lixiviation des métaux précieux contenus dans des déchets de cartes électroniques à partir de cyanure biogénique (Işildar et al., 2015). Ce traitement intervient après une première étape de biolixiviation acidophile qui permet de mettre en solution et d'éliminer les métaux de base tels que le Cu et le Fe, grands consommateurs de cyanure.

Lors des essais de biolixiviation de cartes électroniques en continu, des phénomènes de précipitation de jarosite et d'anglésite ont été mis en lumière. Des essais de dissolution séquentielle de ces précipités à partir des résidus obtenus pourraient permettre de localiser ces phénomènes (d'un point de vue spatial). Par ailleurs, des études sur les phénomènes de passivation et de cémentation pourraient être menées pour mieux comprendre les cinétiques de mise en solution obtenues. Dans la biolixiviation classique de minerais sulfurés, de nombreuses études se sont portées sur la biolixiviation de la chalcoppyrite et sur les phénomènes de passivation qui limitent la mise en solution du Cu (Mahmoud et al., 2017). Les méthodologies appliquées dans ces études pourraient être utilisées dans le cadre des cartes électroniques usagées.

Pour limiter la précipitation, de l'acide sulfurique est ajouté dans le bioréacteur de biolixiviation des cartes électroniques. Pour limiter le coût de cet ajout, un bioréacteur de production d'acide sulfurique à partir de soufre par des bactéries sulfo-oxydantes, tels qu'*Acidithiobacillus caldus*, pourrait être mis en place. Cela permettrait une production *in situ* du réactif.

Enfin, d'un point de vue global, une étude économique du procédé serait pertinente, pour valider l'intérêt de ce type de solution pour la valorisation des cartes électroniques. Cependant, un flowsheet complet doit être établi au préalable pour pouvoir réaliser cette étape. Dans le cas où le coût de cette opération serait trop important, la biolixiviation des cartes électroniques en tas serait à approfondir. Cela permettrait de réduire considérablement les coûts d'installation, mais cela poserait des questions liées à l'accessibilité des métaux dans les déchets (granulométrie des déchets avant dépôt en tas et précipitations). Par ailleurs, des problématiques de gestion et de contrôle de la température seraient à considérer : dans le cas des minerais sulfurés, la biolixiviation est exothermique, ce qui permet de maintenir une température favorable à la croissance et à l'activité microbienne ; ce n'est pas le cas dans le cadre de la biolixiviation de déchets de cartes électroniques usagées. Les phénomènes étant peu contrôlés dans cette situation, les études de biolixiviation des cartes électroniques en réacteur doivent se prolonger simultanément.

Références

- Bayer, M.E., Bayer, M.H., 1991. Lanthanide accumulation in the periplasmic space of *Escherichia coli* B, *Journal of Bacteriology*, **173**:1, 141-149.
- Brandl, H., Bosshard, R., Wegmann, M., 2001. Computer-munching microbes: metal leaching from electronic scrap by bacteria and fungi, *Hydrometallurgy*, **59**, 319–326.
- Bryan, C.G., Watkin, E.L., McCredden, T.J., Wong, Z.R., Harrison, S.T.L., Kaksonen, A.H., 2015. The use of pyrite as a source of lixiviant in the bioleaching of electronic waste. *Hydrometallurgy*, **152**, 33–43.
- CEReS, projet européen financé par le RFCS (Research Fund for Coal and Steel) <http://ceres.biohydromet.net/>
- Guezennec, A.G., Bru, K., Jacob, J., d'Hugues, P., 2015. Co-processing of sulfidic mining wastes and metal-rich post-consumer wastes by biohydrometallurgy, *Minerals Engineering*, **75**, 45–53.
- Halfmeier, H., Schäfer-Treffenfeldt, W., Reuss, M., 1993. Potential of *Thiobacillus ferrooxidans* for waste gas purification. Part 1. Kinetics of continuous ferrous iron oxidation, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **40**, 416-420.
- Işildar, A., van de Vossenberg, J., Rene, E.R., van Hullebusch, E.D., Lens, P.N.I., 2015. Two-step bioleaching of copper and gold from discarded printed circuit boards (PCB), *Waste Management*, **57**, 149-157.
- Legros, S., Doelsch, E., Chaurand, P., Rose, J., Masion, A., Borschneck, D., Proux, O., Hazemann, J.L., Briois, V., Ferrasse, J.H., Saint Macary, H., Bottero, J.Y., 2011. Investigation of copper and zinc speciation in pig slurry by a multitechnique approach, In : 21st Annual V. M. Goldschmidt Conference, Prague, Czech Republic.
- Lepidi, R., Toro, L., Paponetti, B., Di Cesare, S., 1988. Urease of *Thiobacillus ferrooxidans* and urea influence on chalcopyrite bioleaching, In: Proceedings of the International Biohydrometallurgy Symposium, Warwick, UK, 319-325.
- Mahmoud, A., Cézac, P., Hoadley, A.F.A., Contamine, F., D'Hugues, P., 2017. A review of sulfide minerals microbially assisted leaching in stirred tank reactors, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **119**, 118-146.
- Ning, C., Lin, C.S.K., Hui, D., McKay, G., 2017. Waste Printed Circuit Board (PCB) Recycling Techniques, *Top. Curr. Chem (Z)*, **375**:43.
- Willner, J., Fornalczyk, A., Saternus, M., 2015. Selective recovery of copper from solutions after bioleaching electronic waste, *Nova Biotechnologica et Chimica*, **14-1**, 32–37.
- Yuan, C. Y., Zhang, H. C., McKenna, G., Korzeniewski, C., Li, J., 2007. Experimental studies on cryogenic recycling of printed circuit board, *Int. J. Adv. Manuf. Technol.*, **34**, 657–666.

Références bibliographiques

- * Adhasure, N.N., Waghmare, S.S., Hamde, V.S., Deshmukh, A.M., 2013. Metal Solubilization from Powdered Printed Circuit Boards by Microbial Consortium from Bauxite and Pyrite Ores, *Applied Biochemistry and Microbiology*, **49**, 3, 256–262.
- * Adhasure, N.N., Dhakephalkar, P.K., Dhakephalkar, A.P., Tembhurkar, V.R., Rajgure, A.V., Deshmukh, A.M., 2014. Use of large pieces of printed circuit boards for bioleaching to avoid 'precipitate contamination problem' and to simplify overall metal recovery, *MethodsX*, **1**, 181–186.
- AFNOR, 2001. Aspects statistiques de l'échantillonnage des matériaux en vrac - Echantillonnage des matériaux particuliers, norme ISO 11648-2:2001, 107p.
- AFNOR, 2008. Poudres pour emploi en métallurgie des poudres – Échantillonnage, norme ISO 3954:2008, 8p.
- AFNOR, 2008. Préparation des échantillons de laboratoire à partir d'échantillons de grande taille, norme ISO 23909:2008, 18p.
- AFNOR, 2013. Plastiques — Plastiques recyclés — Procédures d'échantillonnage pour l'essai des déchets de plastiques et des recyclats, norme XP CEN/TS 16010, 24 p.
- AFNOR, 2014. Qualité de l'eau - Détermination de paramètres sélectionnés par des systèmes d'analyse discrète - Partie 1 : ammonium, nitrate, nitrite, chlorure, orthophosphate, sulfate et silicate par détection photométrique, norme française NF 15923-1:2014, 25 p.
- AFNOR, 2014. Détermination de certaines substances dans les produits électrotechniques - Partie 5 : Du cadmium, du plomb et du chrome dans les polymères et les produits électroniques, du cadmium et du plomb dans les métaux par AAS, AFS, ICP-OES et ICP-MS, norme française NF EN 62321-5:2014, 40 p.
- Ahumada, E., Lizama, H., Orellana, F., Suárez, C., Huidobro, A., Sepúlveda-Escribano, A., Rodríguez-Reinoso, F., 2002. Catalytic oxidation of Fe(II) by activated carbon in the presence of oxygen. Effect of the surface oxidation degree on the catalytic activity, *Carbon*, **40**, 2827–2834.
- Amiri, F., Mousavi, S. M., Yaghmaei, S., 2011. Enhancement of bioleaching of a spent Ni/Mo hydroprocessing catalyst by *Penicillium simplicissimum*, *Sep. Purif. Technol.*, **80**, 566–576.
- * Arshadi, M., Mousavi, S.M., 2014. Simultaneous recovery of Ni and Cu from computer printed circuit boards using bioleaching: Statistical evaluation and optimization, *Bioresource Technology*, **174**, 233–242.
- * Arshadi, M., Mousavi, S.M., 2015. Multi-objective optimization of heavy metals bioleaching from discarded mobile phone PCBs: Simultaneous Cu and Ni recovery using *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Separation and Purification Technology*, **147**, 210–219.
- Asghari, I., Mousavi, S. M., Amiri, F., Tavassoli, S., 2013. Bioleaching of spent refinery catalysts: A review, *J. Ind. Eng. Chem.*, **19**, 1069–1081.
- Aurubis, A.G., 2013. Recycling brochure, <http://www.aurubis.com>.
- * Bai, J., Wang, J., Xu, J., Zhou, M., Guan, J., Zhang, C., 2009. Microbiological recovering of metals from printed circuit boards by *Acidithiobacillus ferrooxidans*, Proceedings for the IEEE International Symposium on Sustainable Systems and Technology.
- * Bai, J., Gu, W., Dai, J., Zhang, C., Yuan, W., Deng, M., Luo, X., Wang, J., 2016. The catalytic role of nitrogen-doped carbon nanotubes in bioleaching copper from waste printed circuit boards, *Pol. J. Environ. Stud.*, **25** (3), 951–957.

- * Bas, A.D., Deveci, H., Yazici, E.Y., 2013. Bioleaching of copper from low grade scrap TV circuit boards using mesophilic bacteria, *Hydrometallurgy*, **138**, 65–70.
- Bastías, M., Gentina, J. C., 2010. Variables affecting the growth and ferrous oxidation capacity of *L. ferrooxidans* in continuous culture, *Hydrometallurgy*, **104**, 351–355.
- Bayer, M.E., Bayer, M.H., 1991. Lanthanide accumulation in the periplasmic space of *Escherichia coli* B, *Journal of Bacteriology*, 173:1, 141-149.
- Bidini, G., Fantozzi, F., Bartocci, P., D'Alessandro, B., D'Amico, M., Laranci, P., Scozza, E., Zagaroli, M., 2015. Recovery of precious metals from scrap printed circuit boards through pyrolysis, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, **111**, 140-147.
- Birloaga, I., De Michelis, I., Ferella, F., Buzatu, M., Vegliò, F., 2013. Study on the influence of various factors in the hydrometallurgical processing of waste printed circuit boards for copper and gold recovery, *Waste Management*, **33**, 935–941.
- Bizzo, W.A., Figueiredo, R.A., de Andrade, V.F., 2014. Characterization of Printed Circuit Boards for Metal and Energy Recovery after Milling and Mechanical Separation, *Materials*, **7**, 4555-4566.
- Blais, J. F., Tyagi, R. D., Auclair, J. C., 1993. Bioleaching of metals from sewage sludge: Microorganisms and growth kinetics, *Water Res.*, **27**, 101–110.
- Brandes, E.A., Brook, G.B., 1992. *Smithells Metals Reference Book*, 7th ed. (Butterworth-Heinemann, Oxford, United Kingdom), Ch. 22.
- * Brandl, H., Bosshard, R., Wegmann, M., 2001. Computer-munching microbes: metal leaching from electronic scrap by bacteria and fungi, *Hydrometallurgy*, **59**, 319–326.
- Brierley, C.L., 2010. Biohydrometallurgical prospects, *Hydrometallurgy*, **104**, 324-328.
- Bryan, C.G., Davis-Belmar, C.S., Van Wyk, N., Fraser, M.K., Dew, D., Rautenbach, G.F., Harrison, S.T.L., 2012. The effect of CO₂ availability on the growth, iron oxidation and CO₂ fixation rates of pure cultures of *Leptospirillum ferriphilum* and *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Biotechnology and bioengineering*, **109**, 7, 1693-1703.
- * Bryan, C.G., Watkin, E.L., McCredden, T.J., Wong, Z.R., Harrison, S.T.L., Kaksonen, A.H., 2015. The use of pyrite as a source of lixiviant in the bioleaching of electronic waste. *Hydrometallurgy*, **152**, 33–43.
- Canal Marques A., Cabrera, J.M., de Fraga Malfatti, C., 2013. Printed circuit boards: A review on the perspective of sustainability, *Journal of Environmental Management*, **131**, 298-306.
- CEReS, projet européen financé par le RFCS (Research Fund for Coal and Steel) <http://ceres.biohydromet.net/>
- Cerruti, C., Curutchet, G., Donati, E., 1998. Bio-dissolution of spent nickel–cadmium batteries using *Thiobacillus ferrooxidans*, *J. Biotechnol.*, **62**, 209–219.
- Chagnes, A., Cote, G., Ekberg, C., Nilsson, M., Retegan, T., 2016. *WEEE Recycling, Research, Development and Policies*, in Elsevier.
- * Choi, M.S., Cho, K.S., Kim, D.S., Kim, D.J., 2004. Microbial recovery of copper from printed circuit boards of waste computer by *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *J. Environ. Sci. Health Part A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.*, **39**, 2973–2982.

- * Chen, S., Yang, Y., Liu, C., Dong, F., Liu, B., 2015. Column bioleaching copper and its kinetics of waste printed circuit boards (WPCBs) by *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Chemosphere*, **141**, 162-168.
- Choubey, P.K., Panda, R., Jha, M.K., Lee, J.C., Pathak, D.D., 2015. Recovery of copper and recycling of acid from the leach liquor of discarded Printed Circuit Boards (PCBs), *Separation and purification technology*, **156**, 269-275.
- Collinet-Latit, M.N., 1989, « Lixiviation bactérienne par *Thiobacillus ferrooxidans* et *Thiobacillus thiooxidans* d'un concentré de flottation arsénopyriteux aurifère (réfractaire à la cyanuration directe) », Thèse de doctorat en biologie cellulaire et microbiologie à l'Université d'Aix-Marseille.
- Commission Européenne, 2017. Study on the review of the list of Critical Raw Materials, Final Report.
- Coram, N.J., Rawlings, D.E., 2002. Molecular relationship between two groups of the genus *Leptospirillum* and the finding that *Leptospirillum ferriphilum* sp. nov. dominates South African commercial biooxidation tanks that operate at 40°C, *Applied and environmental microbiology*, 838-845.
- Cui, J., Zhang, L., 2008. Metallurgical recovery of metals from electronic waste: A review, *Journal of Hazardous Materials*, **158**, 228–256.
- Daoud, J., Karamanev, D., 2006. Formation of jarosite during Fe²⁺ oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Minerals Engineering*, **19**, 9, 960-967.
- Deloitte Développement Durable et Ademe, Deprouw, A., Jover, M., Chouvenc, S., Fangeat, E., 2017. *Synthèse annuelle du registre des déchets d'équipements électriques et électroniques*, 11 pages.
- Demirel, C., Menekşe, M., Balci, N., Seref Sonmez, M., 2014. Bioleaching of metals from printed circuit boards by *Acidithiobacillus thiooxidans*, Conference Paper for IMMC.
- Deverly, F., 1984. « Echantillonnage et Géostatistique », Thèse de doctorat en Sciences et Techniques Minières à l'École Nationale Supérieure des Mines de Paris, 129p.
- D'Hugues, P., Battaglia-Brunet, F., Clarens, M., Morin, D., 2003. Microbial diversity of various metal-sulphides bioleaching cultures grown under different operating conditions using 16SrDNA analysis, Conference Paper for IBS 2003, 1313-1323.
- Ebrahimi, S., Fernandez Morales, F.J., Kleerebezem, R., Heijnen, J.J., Van Loosdrecht, M.C.M., 2005. High-Rate Acidophilic Ferrous Iron Oxidation in a Biofilm Airlift Reactor and the Role of the Carrier Material, *Biotechnology and Bioengineering*, **90**(4), 462-472.
- Edward, C.J., Pather, T., Govender, R., Ngoma, E., Govender-Opitz, E., Kotsiopoulos, A., Harrison, S.T.L., 2018. Determination of Ferrous Oxidation Kinetics in the Presence of Metals Associated with Printed Circuit Boards to Determine the Potential for Bioleaching of e-Waste, Conference Paper for Biohydrometallurgy'18.
- Ernst, T., Popp, R., Wolf, M., Van Eldik, R., 2003. Analysis of eco-relevant elements and noble metals in printed wiring boards using AAS, ICP–AES and EDXRF, *Anal. Bioanal. Chem.*, **375**, 805–814.
- Eswaraiah, C., Kavitha, T., Vidyasagar, S., Narayanan, S.S., 2008. Classification of metals and plastics from printed circuit boards (PCB) using air classifier, *Chem Eng Process Process Intensif*, **47**, 565–576.

- Flandinet, L., Tedjar, F., Ghetta, V., Fouletier, J., 2012. Metals recovering from waste printed circuit boards (WPCBs) using molten salts, *Journal of Hazardous Materials*, **213-214**, 485-490.
- Franz, A., Burgstaller, W., Schinner, F., 1991. Leaching with *Penicillium simplicissimum*: Influence of Metals and Buffers on Proton Extrusion and Citric Acid Production, *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 769–774.
- * Fu, K., Wang, B., Chen, H., Chen, M., Chen, S., 2016. Bioleaching of Al from coarse-grained waste printed circuit boards in a stirred tank reactor, *Procedia Environmental Sciences*, **31**, 897-902.
- Gaboreau, S., Vieillard, P., 2004. Prediction of Gibbs free energies of formation of minerals of the alunite supergroup, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **68**(16), 3307–3316.
- Gerlach, R.W., Nocerino, J.M., Ramsey, C.A., Venner, B.C., 2003. Gy sampling theory in environmental studies 2. Subsampling error estimates, *Analytica Chimica Acta*, **490**, 159–168.
- Ghosh, B., Ghosh, M.K., Parhi, P., Mukherjee, P.S., Mishra, B.K., 2015. Waste Printed Circuit Boards recycling: an extensive assessment of current status, *Journal of Cleaner Production*, **94**, 5-19.
- Gómez J.M., Cantero D., 2003. Kinetic study of biological ferrous sulphate oxidation by iron-oxidising bacteria in continuous stirred tank and packed bed bioreactors, *Process Biochemistry*, **38**, 867-87.
- Goodman, P., 2002. Current and Future Uses of Gold in Electronics, *Gold Bulletin 2002*, **35**:1, 21-26.
- Goosey, M., Kellner, R., 2003. Recycling technologies for the treatment of end of life printed circuit boards (PCBs), *Circuit World*, **29**(3), 33-37.
- Govender, E., Harrison, S.T.L., Bryan, C.G., 2012. Modification of the ferric chloride assay for the spectrophotometric determination of ferric and total iron in acidic solutions containing high concentrations of copper, *Minerals Engineering*, **35**, 46–48.
- Grishin, S.I., Tuovinen, O.H., 1988. Fast kinetics of Fe²⁺ oxidation in packed-bed reactors, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **54**, 12, 3092-100.
- * Gu, W., Bai, J., Dai, J., Zhang, C., Yuan, W., Wang, J., Wang, P., Zhao, X., 2014. Characterization of extreme acidophile bacteria (*Acidithiobacillus ferrooxidans*) bioleaching copper from flexible PCB by ICP-AES, *Journal of Spectroscopy*, 269351.
- * Gu, W., Bai, J., Dong, B., Zhuang, X., Zhao, J., Zhang, C., Wang, J., Shih, K., 2017. Catalytic effect of graphene in bioleaching copper from waste printed circuit boards by *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Hydrometallurgy*, **171**, 172-178.
- * Gu, W., Bai, J., Dong, B., Zhuang, X., Zhao, J., Zhang, C., Wang, J., Shih, K., 2017. Enhanced bioleaching efficiency of copper from waste printed circuit board driven by nitrogen-doped carbon nanotubes modified electrode, *Chemical Engineering Journal*, **324**, 122-129.
- Guay, R., Silver, M., Torma, A.E., 1977. Ferrous iron oxidation and uranium extraction by *Thiobacillus ferrooxidans*, *Biotech. Bioeng.*, **19**, 727-740.
- * Guezennec, A.G., Bru, K., Jacob, J., d'Hugues, P., 2015. Co-processing of sulfidic mining wastes and metal-rich post-consumer wastes by biohydrometallurgy, *Minerals Engineering*, **75**, 45–53.

- Guezennec, A.G., Jouliau, C., Jacob, J., Archane, A., Ibarra, D., de Buyer, R., Bodéan, F., d'Hugues, P., 2017. Influence of dissolved oxygen on the bioleaching efficiency under oxygen-enriched atmosphere, *Minerals Engineering*, **106**, 64–70.
- Hagelüken, C., 2006. Recycling of electronic scrap at Umicore's integrated metals smelter and refinery, *World of Metallurgy*, *Erzmetall*, **59**, 3, 152-161.
- Halfmeier, H., Schafer-Treffenfeldt, W., Ressus, M., 1993a. Potential of *Thiobacillus ferrooxidans* for waste gas purification: Part 1. Kinetics of continuous ferrous iron oxidation, *Appl. Microbial. Biotechnol.*, **40**, 416-420.
- Halfmeier, H., Schafer-Treffenfeldt, W. & Ressus, M., 1993b. Potential of *Thiobacillus ferrooxidans* for waste gas purification: Part 2. Increase in continuous ferrous iron oxidation kinetics using immobilized cells, *Appl. Microbial. Biotechnol.*, **40**, 582-587.
- Hall, W.J., Williams, P.T., 2007. Separation and recovery of materials from scrap printed circuit boards, *Resources, Conservation and Recycling*, **51**, 691-709.
- Hatzikioseyan, A., Tsezos, M., 2006. Modelling of microbial metabolism stoichiometry: Application in bioleaching processes, *Hydrometallurgy*, **83**, 29–34.
- Hedrich, S., Guezennec, A.-G., Charron, M., Schippers, A., Jouliau, C., 2016. Quantitative Monitoring of Microbial Species during Bioleaching of a Copper Concentrate, *Frontiers in Microbiology*, **07**, 2044.
- Holgerson, S., Steenari, B.M., Björkman, M., Cullbrand, K., 2017. Analysis of the metal content of small-size Waste Electric and Electronic Equipment (WEEE) printed circuit boards—part 1: Internet routers, mobile phones and smartphones, *Resources, Conservation and Recycling*, In Press.
- Hong, Y., Valix, M., 2014. Bioleaching of electronic waste using acidophilic sulfur oxidizing bacteria, *Journal of Cleaner Production*, **65**, 465-472.
- * Hudec, M.A.R., Sodhi, M., Goglia-Arora, D., 2009. Biorecovery of Metals from Electronic Waste, Proceedings for the 7th Latin American and Caribbean Conference for Engineering and Technology.
- Huffman, R.E., Davidson, N., 1956. Kinetics of the Ferrous Iron-Oxygen Reaction in Sulfuric Acid Solution, *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 4836.
- Huisman, J., Leroy, P., Tertre, F., Ljunggren Söderman, M., Chancerel, P., Cassard, D., Løvik, A.N., Wäger, P., Kushnir, D., Rotter, V.S., Mähltitz, P., Herreras, L., Emmerich, J., Hallberg, A., Habib, H., Wagner, M., Downes, S., 2017. *Prospecting Secondary Raw Materials in the Urban Mine and mining wastes (ProSUM) - Final Report*, 48 pages.
- * Ilyas, S., Anwar, M.A., Niazi, S.B., Ghauri, M.A., 2007. Bioleaching of metals from electronic scrap by moderately thermophilic acidophilic bacteria, *Hydrometallurgy*, **88**, 180–188.
- * Ilyas, S., Lee, J.C., 2014. Bioleaching of metals from electronic scrap in a stirred tank reactor, *Hydrometallurgy*, **149**, 50–62.
- * Ilyas, S., Lee, J.C., Chi, R.A., 2013. Bioleaching of metals from electronic scrap and its potential for commercial exploitation, *Hydrometallurgy*, **131-132**, 138–143.
- * Ilyas, S., Ruan, C., Bhatti, H. N., Ghauri, M. A., Anwar, M. A., 2010. Column bioleaching of metals from electronic scrap, *Hydrometallurgy*, **101**, 135–140.

- Işildar, A., Rene, E.R., van Hullebutsch, E.D., Lens, P.N.L., 2017. Electronic waste as a secondary source of critical metals: Management and recovery technologies, *Resources, Conservation & Recycling*, In Press.
- * Işildar, A., van de Vossenberg, J., Rene, E.R., van Hullebusch, E.D., Lens, P.N.L., 2015. Two-step bioleaching of copper and gold from discarded printed circuit boards (PCB), *Waste Management*, **57**, 149-157.
- Jain, N., Sharma, D.K., 2004. Biohydrometallurgy for Nonsulfidic Minerals – A Review, *Geomicrobiology Journal*, **21**, 135–144.
- Jensen, A.B., Webb, C., 1995. Ferrous sulphate oxidation using *Thiobacillus ferrooxidans*: a review, *Process Biochemistry*, **30**, 3, 225-236.
- Johnson, D. B., Joulain, C., d'Hugues, P., Hallberg, K. B., 2008. *Sulfobacillus benefaciens* sp. nov., an acidophilic facultative anaerobic Firmicute isolated from mineral bioleaching operations, *Extremophiles*, **12**, 789–798.
- Kaksonen, A.H., Morris, C., Rea, S., Li, J., Wylie, J., Usher, K.M., Ginige, M.P., Cheng, K.Y., Hilario, F. & du Plessis, C.A., 2014a. Biohydrometallurgical iron oxidation and precipitation: Part I — Effect of pH on process performance, *Hydrometallurgy*, **147-148**, 255–263.
- Kaksonen, A.H., Morris, C., Rea, S., Li, J., Usher, K.M., McDonald, R.G., Hilario, F., Hosken, T., Jackson, M. & du Plessis, C.A., 2014b. Biohydrometallurgical iron oxidation and precipitation: Part II — Jarosite precipitate characterization and acid recovery by conversion to hematite, *Hydrometallurgy*, **147-148**, 264–272.
- Kaksonen, A.H., Morris, C., Hilario, F., Rea, S. M., Li, J., Usher, K.M., Wylie, J., Ginige, M.P., Cheng, K.Y. & du Plessis, C., 2014c. Iron oxidation and jarosite precipitation in a two-stage airlift bioreactor, *Hydrometallurgy*, **150**, 227–235.
- Karamanev, D.G., Nikolov, L.N., 1988. Influence of Some Physicochemical Parameters on Bacterial Activity of Biofilm: Ferrous Iron Oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*, *Biotechnology and Bioengineering*, **31**, 295-299.
- Karwowska, E., Andrzejewska-Morzuch, D., Łebkowska, M., Tabernacka, A., Wojtkowska, M., Telepko, A., Konarzewska, A., 2014. Bioleaching of metals from printed circuit boards supported with surfactant-producing bacteria, *Journal of Hazardous Materials*, **264**, 203-210.
- Kelly, W.C., Burgio, P.A., 1983. Cryogenic scanning electron microscopy of fluid inclusions in ore and gangue minerals, *Economic Geology*, **78**, 1262-1267.
- Kinnunen, P.H.M., Puhakka, J.A., 2004. High-Rate Ferric Sulfate Generation by a *Leptospirillum ferriphilum*-Dominated Biofilm and the Role of Jarosite in Biomass Retainment in a Fluidized-Bed Reactor, *Biotechnology and Bioengineering*, **85**(7), 697-705.
- Kinnunen, P.H.M. & Puhakka, J.A., 2005. High-rate iron oxidation at below pH 1 and at elevated iron and copper concentrations by a *Leptospirillum ferriphilum* dominated biofilm, *Process Biochemistry*, **40**, 3536–3541.
- Kumar, V., Lee, J.C., Jeong, J., Jha, M.K., Kim, B., Singh, R., 2015. Recycling of printed circuit boards (PCBs) to generate enriched rare metal concentrate, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, **21**, 805–813.
- Kumari, A., Jha, M.K., Lee, J.C., Singh, R.P., 2016. Clean process for recovery of metals and recycling of acid from the leach liquor of PCBs, *Journal of Cleaner Production*, **112**, 4826-4834.

- Kuznetsova, N.I., Likholobov, V.A., Gurrath, M., Boehm, H.P., 1995. Promotion effect of carbon on the oxidation of ferrous ions by oxygen in the presence of sodium nitrite, *Applied Catalysis A/General*, **128**, 41-52.
- Lacey, D.T., Lawson, F., 1970. Kinetics of the Liquid-Phase oxidation of acid ferrous sulfate by the bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*, *Biotechnology and Bioengineering*, **12**, 29-50.
- Lamb, A.B., Elder, L.W., 1931. The electromotive activation of oxygen, *J. Am. Chem. Soc.*, **53**, 1, 137-163.
- Legros, S., Doelsch, E., Chaurand, P., Rose, J., Masion, A., Borschneck, D., Proux, O., Hazemann, J.L., Briois, V., Ferrasse, J.H., Saint Macary, H., Bottero, J.Y., 2011. Investigation of copper and zinc speciation in pig slurry by a multitechnique approach, In : 21st Annual V. M. Goldschmidt Conference, Prague, Czech Republic.
- Lepidi, R., Toro, L., Paponetti, B., Di Cesare, S., 1988. Urease of *Thiobacillus ferrooxidans* and urea influence on chalcopyrite bioleaching, In: Proceedings of the International Biohydrometallurgy Symposium, Warwick, UK, 319-325.
- Li, J., Shrivastava, P., Gao, Z., Zhang, H.-C., 2004. Printed circuit board recycling: a state-of-the-art survey, *IEEE Trans. Electron. Packag. Manuf.*, **27**, 33-42.
- * Liang, G., Mo, Y., Zhou, Q., 2010. Novel strategies of bioleaching metals from printed circuit boards (PCBs) in mixed cultivation of two acidophiles, *Enzyme and Microbial Technology*, **47**, 322-326.
- * Liang, G., Tang, J., Liu, W., Zhou, Q., 2013. Optimizing mixed culture of two acidophiles to improve copper recovery from printed circuit boards (PCBs), *Journal of Hazardous Materials*, **250-251**, 238-245.
- * Liang, G., Ti, P., Liu, W., Wang, B., 2016. Enhanced bioleaching efficiency of copper from waste printed circuit boards (PCBs) by dissolved oxygen-shifted strategy in *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *J Mater Cycles Waste Manag*, **18**, 742-751.
- Looms, J., 2014. The study of a mixed culture biofilm reactor and the effect of high dissolved metal content and low pH on the rate of ferric iron regeneration for application in printed circuit board bioleaching, rapport de stage pour master de science en géologie minière, Université d'Exeter.
- MacDonald, D.G., Clark, R.H., 1970. The oxidation of aqueous ferrous sulphate by *Thiobacillus ferrooxidans*, *Can. J. Chem. Eng.*, **48**, 669-676.
- Mahmoud, A., Cézac, P., Hoadley, A.F.A., Contamine, F., D'Hugues, P., 2017. A review of sulfide minerals microbially assisted leaching in stirred tank reactors, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **119**, 118-146.
- * Mäkinen, J., Bachér, J., Kaartinen, T., Wahlström, M., Salminen, J., 2015. The effect of flotation and parameters for bioleaching of printed circuit boards, *Minerals Engineering*, **75**, 26-31.
- Martin, J.E., Smith, L.L.A., Adjei-Bekoe, G. & Thomas, R., 2010. Comparison of Different Sample Preparation Procedures for the Determination of RoHS/WEEE-Regulated Elements in Printed Circuit Boards and Electrical Components by EDXRF, *Spectroscopy*, **25**(4), 40-45.
- Mathews, C.T., Robins, R.G., 1972. The oxidation of iron disulphide by ferric sulphate, *Australian Chemical Engineering*, 21-25.

- Mi, S., Song, J., Lin, J., Che, Y., Zheng, H., Lin, J., 2011. Complete genome of *Leptospirillum ferriphilum* ML-04 provides insight into its physiology and environmental adaptation, *The Journal of Microbiology*, **49**, 890–901.
- Michel, C., Bény, C., Delorme, F., Poirier, L., Spolaore, P., Morin, D., D'Hugues, P., 2009. New protocol for the rapid quantification of exopolysaccharides in continuous culture systems of acidophilic bioleaching bacteria, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **82**, 371–378.
- Mishra, D., Kim, D.J., Ralph, D.E., Ahn, J.G., Rhee, Y.H., 2008. Bioleaching of metals from spent lithium ion secondary batteries using *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Waste Management*, **28**, 333–338.
- Mishra, D., Rhee, Y.H., 2014. Microbial leaching of metals from solid industrial wastes, *J. Microbiol.*, **52**, 1–7.
- Morf, L.S., Tremp, J., Gloor, R., Schuppisser, F., Stengele, M., Taverna, R., 2007. Metals, non-metals and PCB in electrical and electronic waste – Actual levels in Switzerland, *Waste Management*, **27**, 1306–1316.
- Morin D., 2013. Biotechnologies dans la métallurgie extractive - Microbiologie et extraction des métaux, Techniques de l'Ingénieur, M2238 v3.
- * Mrážíková, A., Marcinčáková, R., Kaduková, J., Velgosová, O., 2013. Influence of bacterial culture to copper bioleaching from printed circuit boards, *J. Polish Mineral Engineering Society*, 59-62.
- * Mrážíková, A., Marcinčáková, R., Kaduková, J., Velgosová, O., Balintova, M., 2015. Influence of used bacterial culture on zinc and aluminium bioleaching from printed circuit boards, *Nova Biotechnologica et Chimica*, **14-1**, 45-51.
- * Mrážíková, A., Kaduková, J., Marcinčáková, R., Velgosová, O., Willner, J., Fornalczyk, A., Saternus, M., 2016. The effect of specific conditions on Cu, Ni, Zn and Al recovery from PCBs waste using acidophilic bacterial strains, *Arch. Metall. Mater.*, **61** (1), 261–264.
- Nemati, M., Harrison, S. T. L., Hansford, G. S., Webb, C., 1998. Biological oxidation of ferrous sulphate by *Thiobacillus ferrooxidans*: a review on the kinetic aspects, *Biochem. Eng. J.*, **1**, 171–190.
- Nemati, M., Harrison, S.T.L., 2000. Comparative study on thermophilic and mesophilic biooxidation of ferrous iron, *Minerals Engineering*, **13**, 1, 19–24.
- Nguyen, V.K., Tran, T., Han, H.J., Lee, S.H., Lee, J.U., 2015. Possibility of bacterial leaching of antimony, chromium, copper, manganese, nickel, and zinc from contaminated sediment, *J. Geochem. Explor.*, **156**, 153–161.
- * Nie, H., Yang, C., Zhu, N., Wu, P., Zhang, T., Zhang, Y., Xing, Y., 2014. Isolation of *Acidithiobacillus ferrooxidans* strain Z1 and its mechanism of bioleaching copper from waste printed circuit boards, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **90**, 714-721.
- * Nie, H., Zhu, N., Cao, Y., Xu, Z., Wu, P., 2015. Immobilization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* on Cotton Gauze for the Bioleaching of Waste Printed Circuit Boards, *Appl Biochem Biotechnol*, **177**, 675–688
- Ning, C., Lin, C.S.K., Hui, D., McKay, G., 2017. Waste Printed Circuit Board (PCB) Recycling Techniques, *Top. Curr. Chem (Z)*, 375:43.
- Norris, P.R., 2007. Acidophile Diversity in Mineral Sulfide Oxidation. In: Rawlings D.E., Johnson D.B. (eds) Biomining. Springer, Berlin, Heidelberg.

- Nurmi, P., Özkaya, B., Kaksonen, A. H., Tuovinen, O. H., Puhakka, J. A., 2009. Inhibition kinetics of iron oxidation by *Leptospirillum ferriphilum* in the presence of ferric, nickel and zinc ions, *Hydrometallurgy*, **97**, 137–145.
- Ogunniyi, I.O., Vermaak, M.K.G., Groot, D.R., 2009. Chemical composition and liberation characterization of printed circuit board communiton fines for beneficiation investigations, *Waste Management*, **29**, 2140–2146.
- Ohajinwa, C.M., van Bodegom, P.M., Vijver, M.G., Peijnenburg, W.J.G.M., 2018. Impact of informal electronic waste recycling on metal concentrations in soils and dusts, *Environ Res.*, **164**, 385-394.
- Ojumu, T. V., Hansford, G. S., Petersen, J., 2009. The kinetics of ferrous-iron oxidation by *Leptospirillum ferriphilum* in continuous culture: The effect of temperature, *Biochemical Engineering Journal*, **46**, 161–168.
- Ojumu, T. V., Petersen, J., 2011. The kinetics of ferrous ion oxidation by *Leptospirillum ferriphilum* in continuous culture: The effect of pH, *Hydrometallurgy*, **106**, 5–11.
- Ojumu, T. V., Petersen, J., Hansford, G. S., 2008. The effect of dissolved cations on microbial ferrous-iron oxidation by *Leptospirillum ferriphilum* in continuous culture, *Hydrometallurgy*, **94**, 69–76.
- Park, Y.J., Fray, D.J., 2009. Recovery of high purity precious metals from printed circuit boards, *Journal of Hazardous Materials*, **164**, 1152–1158.
- Pathak, A., Dastidar, M. G., Sreekrishnan, T. R., 2009. Bioleaching of heavy metals from sewage sludge: A review, *J. Environ. Manage.*, **90**, 2343–2353.
- Penev, K., Karamanev, D., 2010. Batch kinetics of ferrous iron oxidation by *Leptospirillum ferriphilum* at moderate to high total iron concentration, *Biochemical Engineering Journal*, **50**, 54–62.
- Petter, P.M.H., Veit, H.M., Bernardes, A.M., 2014. Evaluation of gold and silver leaching from printed circuit board of cellphones, *Waste Management*, **34**:2, 475-482.
- Pina P.S., Oliveira V.A., Cruz F.L.S., Leão V.A., 2010. Kinetics of ferrous iron oxidation by *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, *Biochemical Engineering Journal*, **51**, 194–197.
- * Priya, A., Hait, S., 2018. Extraction of metals from high grade waste printed circuit board by conventional and hybrid bioleaching using *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Hydrometallurgy*, **177**, 132-139.
- Qu, Y., Lian, B., 2013. Bioleaching of rare earth and radioactive elements from red mud using *Penicillium tricolor* RM-10, *Bioresource Technology*, **136**, 16–23.
- * Rodrigues, M.L.M., Leão, V.A., Gomes, O., Lambert, F., Bastin, D., Gaydardzhiev, S., 2015. Copper extraction from coarsely ground printed circuit boards using moderate thermophilic bacteria in a rotating-drum reactor, *Waste Management*, **41**, 148-158.
- Rudolfs, W., 1922. Oxidation of iron pyrites by sulfur-oxidizing organisms and their use for making mineral phosphates available, *Soil Sci.*, **14**, 135-148.
- Sand, W., Gehrke, T., 2006. Extracellular polymeric substances mediate bioleaching/biocorrosion via interfacial processes involving iron(III) ions and acidophilic bacteria, *Res. Microbiol.*, **157**, 49-56.

- Sarvar, M., Salarirad, M.M., Shabani, M.A., 2015. Characterization and mechanical separation of metals from computer Printed Circuit Boards (PCBs) based on mineral processing methods, *Waste Management*, **45**, 246-257.
- Sasaki, K., Konno, H., 2000. Morphology of jarosite-group compounds precipitated from biologically and chemically oxidized Fe ions, *Can. Mineral.*, **38**, 45–56.
- * Shah, M.B., Tipre, D.R., Dave, S.R., 2014. Chemical and biological processes for multi-metal extraction from waste printed circuit boards of computers and mobile phones, *Waste Management & Research*, **32**(11), 1134-1141.
- * Shah, M.B., Tipre, D.R., Purohit, M.S., Dave, S.R., 2015. Development of two-step process for enhanced biorecovery of Cu-Zn-Ni from computer printed circuit boards, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **120**(2), 167-173.
- * Silva, R.A., Park, J., Lee, E., Park, J., Choi, S.Q., Kim, H., 2015. Influence of bacterial adhesion on copper extraction from printed circuit boards, *Separation and Purification Technology*, **143**, 169–176.
- Silverman, M.P., Lundgren, D.G., 1959. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans* I. An improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields, *J.Bacteriol.*, **77**, 642-7.
- * Sinha, R., Chauhan, G., Singh, A., Kumar, A., Acharya, S., 2018. A novel eco-friendly hybrid approach for recovery and reuse of copper from electronic waste, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **6**(1), 1053-1061.
- Site mineralinfo, 2017. <http://www.mineralinfo.fr/>
- * Sodha, A.B., Qureshi, S.A., Khatri, B.R., Tipre, D.R., Dave, S.R., 2017. Enhancement in Iron Oxidation and Multi-metal Extraction from Waste Television Printed Circuit Boards by Iron Oxidizing *Leptospirillum ferriphilum* Isolated from Coal Sample, *Waste Biomass Valor*, 1-10.
- Sum, E., 1991. The recovery of metals from electronic scrap, *Review of Extractive Metallurgy, JOM*, 53-61.
- Sun, Z.H.I., Xiao, Y., Sietsma, J., Agterhuis, H., Visser, G., Yang, Y., 2015. Characterisation of metals in the electronic waste of complex mixtures of end-of-life ICT products for development of cleaner recovery technology, *Waste Management*, **35**, 227-235.
- Theron, T.A., Nete, M., Venter, J.A., Purcell, W., Nel, J.T., 2011. Dissolution and Quantification of Tantalum-Containing Compounds: Comparison with Niobium, *S. Afr. J. Chem.*, **64**, 173–178.
- Tuncuk, A., Stazi, V., Akcil, A., Yazici, E.Y., Deveci, H., 2012. Aqueous metal recovery techniques from e-scrap: Hydrometallurgy in recycling, *Minerals Engineering*, **25**, 28-37.
- Turgis, R., Leydier, A., Arrachart, G., Burdet, F., Dourdain, S., Bernier, G., Miguiditchian, M., Pellet-Rostaing, S., 2014. Uranium extraction from phosphoric acid using bifunctional amido-phosphonic acid ligands, *Solvent Extraction and Ion Exchange*, **32**, 5, 478-491.
- UNEP, 2011. Recycling Rates of Metals – A status report, A report of the Working Group on the Global Metal Flows to the International Resource Panel, Graedel, T.E., Alwood, J., Birat, J.-P., Reck, B.K., Sibley, S.F., Sonnemann, G., Buchert, M., Hagelüken, C.
- UNEP, 2013. Metal Recycling: Opportunities, Limits, Infrastructure, A Report of the Working Group on the Global Metal Flows to the International Resource Panel, Reuter, M. A.; Hudson, C.; van Schaik, A.; Heiskanen, K.; Meskers, C.; Hagelüken, C.

Union Européenne, 2012. Directive 2012/19/UE du parlement européen et du conseil du 4 juillet 2012 relative aux déchets d'équipements électriques et électroniques (DEEE).

UNU United Nations University, 2008. Final Report on the Review of Directive 2002/96 on Waste Electrical and Electronic Equipment (WEEE) – Study No. 07010401/2006/442493/ETU/G4.

Veeken, A. H. M., Hamelers, H. V. M., 1999. Removal of heavy metals from sewage sludge by extraction with organic acids, *Water Sci. Technol.*, **40**, 129–136.

Veit, H.M., Diehl, T.R., Salami, A.P., Rodrigues, J.S., Bernardes, A.M., Tenório, J.A.S., 2005. Utilization of magnetic and electrostatic separation in the recycling of printed circuit boards scrap, *Waste Management*, **25**, 67-74.

Vestola, E. A., Kuusenaho, M.K., Närhi, H.M., Tuovinen, O.H., Puhakka, J.A., Plumb, J.J., Kaksonen, A.H., 2010. Acid bioleaching of solid waste materials from copper, steel and recycling industries, *Hydrometallurgy*, **103**, 74–79.

Wang, H., Bigham, J.M., Tuovinen, O.H., 2006. Formation of schwertmannite and its transformation to jarosite in the presence of acidophilic iron-oxidizing microorganisms, *Materials Science and Engineering*, **26**, 588 – 592.

Wang, H., Gu, G., Qi, Y., 2005. Crushing performance and resource characteristic of printed circuit board scrap, *J Cent South Univ Technol*, **12**, 5, 552–555.

Wang, H., Zhang, S., Li, B., Pan, D., Wu, Y., Zuo, T., 2017. Recovery of waste printed circuit boards through pyrometallurgical processing: A review, *Resources, Conservation & Recycling*, **126**, 209–218.

* Wang, J., Bai, J., Liang, B., 2009. Bioleaching of metals from printed wire boards by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* and their mixture, *Journal of Hazardous Materials*, **172**, 1100-1105.

* Wang, L., Li, Q., Li, Y., Sun, X., Li, J., Shen, J., Han, W., Wang, L. 2018. A novel approach for recovery of metals from waste printed circuit boards and simultaneous removal of iron from steel pickling waste liquor by two-step hydrometallurgical method, *Waste Management*, **71**, 411-419.

* Wang, S., Zheng, Y., Yan, W., Chen, L., Mahadevan, G.D., Zhao, F., 2016. Enhanced bioleaching efficiency of metals from E-wastes driven by biochar, *Journal of Hazardous Materials*, **320**, 393-400.

Watling, H. R., Perrot, F. A., Shiers, D. W., 2008. Comparison of selected characteristics of *Sulfobacillus* species and review of their occurrence in acidic and bioleaching environments. *Hydrometallurgy*, **93**, 57–65.

Wienold, J., Recknagel, S., Scharf, H., Hoppe, M., Michaelis, M., 2011. Elemental analysis of PCB considering the ROHS regulation, *Waste Management*, **31**, 530–535.

* Willner, J., 2013. Influence of physical and chemical factors on biological leaching process of copper from printed circuit boards, *Metabk*, **52**(2), 189-192.

Willner, J., Fornalczyk, A., 2014. Extraction of copper from solution after bioleaching of Printed Circuit Boards (PCBs), *Metalurgija*, **53**, 2, 228-230.

* Willscher, S., Katzschner, M., Jentsch, K., Matys, S., Pöllmann, H., 2007. Microbial leaching of metals from printed circuit boards, *Advanced Materials Research*, **20-21**, 99-102.

- * Wu, W., Liu, X., Zhang, X., Zhu, M., Tan, W., 2018. Bioleaching of copper from waste printed circuit boards by bacteria-free cultural supernatant of iron–sulfur-oxidizing bacteria, *Bioresources and Bioprocessing*, 5:10.
- * Xia, M.C., Wang, Y.P., Peng, T.J., Shen, L., Yu, R.L., Liu, Y.D., Chen, M., Li, J.K., Wu, X.L., Zeng, W.M., 2017. Recycling of metals from pretreated waste printed circuit boards effectively in stirred tank reactor by a moderately thermophilic culture, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **123**(6), 714-721.
- * Xiang, Y., Wu, P., Zhu, N., Zhang, T., Liu, W., Wu, J., Li, P., 2010. Bioleaching of copper from waste printed circuit boards by bacterial consortium enriched from acid mine drainage, *Journal of Hazardous Materials*, **184**, 812–818.
- Xin, Y., Guo, X., Chen, S., Wang, J., Wu, F., Xin, B., 2016. Bioleaching of valuable metals Li, Co, Ni and Mn from spent electric vehicle Li-ion batteries for the purpose of recovery, *J. Clean. Prod.*, **116**, 249–258.
- Xiu, F.R., Qi, Y., Zhang, F.S., 2013. Recovery of metals from waste printed circuit boards by supercritical water pre-treatment combined with acid leaching process, *Waste Management*, **33**(5), 1251-1257.
- Yamane, L. H., de Moraes, V. T., Espinosa, D. C. R., Tenório, J. A. S., 2011. Recycling of WEEE: Characterization of spent printed circuit boards from mobile phones and computers, *Waste Management*, **31**, 2553–2558.
- * Yamane, L.H., Moraes, V.T., Tenório, J.A.S., Espinosa, D.C.R., 2018. Influence of Bacterial Adaptation on Copper Bioleaching from Printed Circuit Boards, *Adv Biotech & Micro*, **9**(3), 555761.
- * Yang, T., Xu, Z., Wen, J., Yang, L., 2009. Factors influencing bioleaching copper from waste printed circuit boards by *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Hydrometallurgy*, **97**, 29-32.
- * Yang, Y., Chen, S., Li, S., Chen, M., Chen, H., Liu, B., 2014. Bioleaching waste printed circuit boards by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and its kinetics aspect, *Journal of Biotechnology*, **173**, 24–30.
- Yazici, E. Y., Devenci, H., 2014. Ferric sulphate leaching of metals from waste printed circuit boards, *Int. J. Miner. Process.*, **133**, 39–45.
- Yokoyama, S., Iji, M., 1997. Recycling of Printed Wiring Boards with Mounted Electronic Parts, *Proceedings of the 1997 IEEE International Symposium on Electronics and the Environment*, ISEE, 109-114.
- Yoo, J.M., Jeong, J., Yoo, K., Lee, J.C., Kim, W., 2009. Enrichment of the metallic components from waste printed circuit boards by a mechanical separation process using a stamp mill, *Waste Management*, **29**, 1132–1137.
- Yuan, C. Y., Zhang, H. C., McKenna, G., Korzeniewski, C., Li, J., 2007. Experimental studies on cryogenic recycling of printed circuit board, *Int. J. Adv. Manuf. Technol.*, **34**, 657–666.
- Yue, G., Guezennec, A.G., Asselin, E., 2016. Extended validation of an expression to predict ORP and iron chemistry: Application to complex solutions generated during the acidic leaching or bioleaching of printed circuit boards, *Hydrometallurgy*, **164**, 334-342.
- Yue, G., Zhao, L., Olvera, O.G., Asselin, E., 2014. Speciation of the $\text{H}_2\text{SO}_4\text{--Fe}_2(\text{SO}_4)_3\text{--FeSO}_4\text{--H}_2\text{O}$ system and development of an expression to predict the redox potential of the $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ couple up to 150 °C, *Hydrometallurgy*, **147-148**, 196–209.

- Zhang, L., Xu, Z., 2016. A review of current progress of recycling technologies for metals from waste electrical and electronic equipment, *Journal of Cleaner Production*, **127**, 19-36.
- Zhang, S., Forssberg, E., 1999. Intelligent Liberation and classification of electronic scrap, *Powder Technology*, **105**, 295–301.
- Zhang, S., Forssberg, E., Arvidson, B., Moss, W., 1998. Aluminum recovery from electronic scrap by high-force eddy-current separators, *Resour Conserv Recycl*, **23**, 225–241.
- Zhou, Y.H., Wu, W.B., Qiu, K.Q., 2011. Recycling of organic materials and solder from waste printed circuit boards by vacuum pyrolysis-centrifugation coupling technology, *Waste Manag.*, **31**, 2569-2576.
- * Zhu, N., Xiang, Y., Zhang, T., Wu, P., Dang, Z., Li, P., Wu, J., 2011. Bioleaching of metal concentrates of waste printed circuit boards by mixed culture of acidophilic bacteria, *Journal of Hazardous Materials*, **192**, 2, 614-619.
- Zhu, P., Chen, Y., Wang, L.Y., Qian, G.Y., Zhou, M., Zhou, J., 2012. A new technology for separation and recovery of materials from waste printed circuit boards by dissolving bromine epoxy resins using ionic liquid, *Journal of Hazardous Materials*, **239-240**, 270-278.
- Zhu, P., Chen, Y., Wang, L.Y., Zhou, M., Zhou, J., 2013. The separation of waste printed circuit board by dissolving bromine epoxy resin using organic solvent, *Waste Management*, **33**, 484-488.

RÉSUMÉ

De par leurs compositions et les flux qu'ils représentent, les Déchets d'Équipements Électriques et Électroniques sont une ressource qu'il devient indispensable de valoriser. En particulier, les cartes électroniques contiennent de nombreux métaux de base, stratégiques et précieux. La technique actuelle de recyclage, la pyrométallurgie, souffre de plusieurs inconvénients (forte consommation d'énergie, rejets gazeux toxiques, etc.). Il est donc nécessaire de développer de nouveaux procédés. Parmi les technologies alternatives, la biolixiviation, c'est-à-dire la mise en solution assistée par des micro-organismes, pourrait être combinée à d'autres techniques hydrométallurgiques dans le but de récupérer les métaux. L'objectif de notre étude a été de déterminer les taux et vitesses de mise en solution de différents métaux issus de déchets de cartes électroniques à l'aide d'une culture acidophile de bactéries ferro-oxydantes.

La variabilité des déchets rend complexe la constitution d'échantillons reproductibles et représentatifs à partir d'un large lot initial. Un protocole de préparation, d'échantillonnage et de caractérisation a été développé pour obtenir des échantillons utilisés dans la suite de l'étude. La variabilité des teneurs en métaux entre les échantillons a été déterminée et ce protocole a été validé.

Dans le but de pouvoir réduire l'impact de la toxicité des métaux contenus dans les cartes électroniques vis-à-vis des bactéries, un réacteur à double étage a été mis au point. Ce dernier permet de découpler la croissance des micro-organismes, résultant de la bio-oxydation de Fe(II), de la biolixiviation des échantillons de cartes électroniques broyées. Ce réacteur a été étudié en batch et en continu. Dans le premier étage, la mise en lumière de phénomènes de précipitation du Fe(III) a permis de déterminer des conditions opératoires permettant une production de solution lixivante avec des caractéristiques stables dans le temps. Dans le second étage, les résultats ont montré une adaptation de la culture bactérienne au cours du temps, ce qui a permis d'atteindre des vitesses élevées de mise en solution à différentes concentrations en cartes électroniques. A 1%(m/v) de cartes électroniques, les rendements maximaux de mise en solution atteignent 96% du Cu, 85% du Zn, 73% du Ni et 93% du Co. A partir de ces résultats, de nouvelles perspectives s'ouvrent sur l'utilisation de la biolixiviation pour la récupération de certains métaux dans nos déchets. Diminuer le temps de séjour ou augmenter la concentration en solide sont des pistes à étudier pour optimiser le processus.

MOTS CLÉS

Biolixiviation, Déchets d'Équipements Électriques et Électroniques, cartes électroniques, acidophile, biohydrométallurgie

ABSTRACT

Given its compositions and the huge amounts produced every year, Waste Electrical and Electronic Equipment is a valuable resource. Printed Circuit Boards (PCBs) contain many base metals, as well as strategic and precious ones. Today, the recovery of such metals is based on pyrometallurgy. However, this method presents several disadvantages (including high-energy consumption, toxic gas emissions, etc.). It is therefore necessary to develop new processes to overcome these limitations. Among the alternative technologies, bioleaching, i.e. microorganisms-assisted dissolution, could be combined with other hydrometallurgical techniques to recover metals. Our study aimed at determining and optimizing the dissolution rates of different metals from spent PCBs using an iron-oxidizing acidophilic culture.

The variability of spent PCBs makes it difficult to have reproducible and representative samples from a large initial batch. A methodology of preparation, sampling and characterization was developed to obtain representative samples. The variability of the metal concentration between samples was determined and this protocol was validated.

To reduce the toxicity of metals contained in PCBs towards bacteria, a double-stage reactor has been established. Such bioreactor enables to separate the growth of microorganisms, resulting from the bio-oxidation of Fe(II), from the bioleaching of the samples of ground PCBs, previously characterized. These two steps were studied in batch and continuous mode under different operating conditions. In the first stage, Fe(III) precipitation phenomena were highlighted, which enabled to determine operating conditions that allows the production of leaching solution with stable characteristics over time. In the second stage, the results showed an adaptation of the bacterial culture over time, which enables to reach high dissolution rates for different PCBs concentrations. With 1%(w/v) of solid concentration, the dissolution yields reach 96% for Cu, 85% for Zn, 73% for Ni and 93% for Co. From these results, new perspectives open up on the use of bioleaching for the recovery of some metals in e-wastes.

KEYWORDS

Bioleaching, Waste Electrical and Electronic Equipment, Printed Circuit Boards, acidophilic, biohydrometallurgy