

PROCEDES BIOLOGIQUES DE PRODUCTION DE L'HYDROGENE : APERÇU ET PERSPECTIVES

Chader Samira¹, Belhamel Maiouf¹ et Spyros Agathos²

¹ Centre de Développement des Energies Renouvelables Bouzaréah, Alger, Algérie

² Unité Génie Biologique, Université Catholique Louvain La Neuve, Belgique

Email : Samira.chader@gmail.com

RESUME

En raison de sa haute efficacité de conversion et son recyclage naturellement non polluant, l'hydrogène est aujourd'hui considéré, le carburant du futur. Les procédés de production biologique d'hydrogène s'avèrent moins consommateurs d'énergie et plus favorables à l'environnement par rapport aux processus thermochimiques et électrochimiques. Les procédés biologiques reposent essentiellement sur les organismes photosynthétiques ou fermentatifs. A l'heure actuelle, l'accent est mis sur l'activité des nitrogénase et hydrogénase qui jouent un rôle très important. La communication proposée présente un aperçu des procédés de production biologique d'hydrogène. Les micro-organismes et les voies biochimiques impliqués dans ces procédés sont également présentés de manière assez détaillée. Plusieurs travaux de développement et d'optimisation sont discutés. Le système immobilisé étant le plus approprié pour une production continue d'hydrogène.

MOTS CLES : *hydrogène, production, photosynthèse, fermentation, bioréaction hybride*

1. Introduction

Pas moins de 80% de la demande énergétique mondiale est assurée par les énergies fossiles. Ces dernières épuisables, sont aussi génératrices de graves problèmes environnementaux liés aux changements climatiques et aux dégagements dans l'atmosphère de polluants organiques et des gaz à effet de serre. L'hydrogène est aujourd'hui proposé comme le vecteur énergétique de demain.

En effet, selon un rapport de l'AIE (Agence Internationale de l'Energie), l'hydrogène est l'une des rares options pour remplacer le pétrole et réduire les émissions du secteur des transports. D'autres rapportent que les applications stationnaires de l'hydrogène auront un meilleur bilan énergétique et environnemental global à travers son utilisation dans les PAC (Pile A Combustible). L'association Fuel Cell Europe a démontré que les PAC alimentées par de l'hydrogène produit à partir du gaz naturel "quoique n'offrant pas une source d'énergie durable en tant que telle, représentent une voie efficace pour économiser l'apport inévitable d'énergie fossile pendant une transition vers un système énergétique durable". L'analyse du cycle de vie de la filière indique que chaque kWh d'électricité produite par PAC réduira les émissions de CO₂ associées d'au moins 40% par rapport à la production fossile existante.

L'hydrogène n'est pas lui-même une source d'énergie primaire, il est plutôt produit à partir d'autres sources. Il est d'autant plus intéressant lorsque sa production est de source énergétique propre et renouvelable. Plusieurs procédés de production sont préconisés, certains maîtrisés, demeurent coûteux et nuisibles, d'autres plus rentables et plus propres mais encore, en cours d'expérimentation. L'hydrogène est principalement produit à partir d'énergies fossiles, de biomasse ou d'eau. Les méthodes de production à partir des énergies fossiles sont :

- Le vaporeformage du gaz naturel.
- Le craquage du gaz naturel.
- L'oxydation partielle des hydrocarbures.
- La gazeification du charbon.

A partir de la biomasse sous toutes ses formes (résidus forestiers, agroalimentaires ou déchets organiques,...), la production d'hydrogène se fait soit par pyrolyse ou gazéification en donnant un mélange gazeux (H₂, CH₄, CO₂, CO et N₂).

Les méthodes de production de l'hydrogène à partir de l'eau se font par :

- a) Electrolyse.
- b) Photolyse.
- c) Procédés thermochimiques.
- d) Thermolyse (décomposition thermique directe).
- e) Production biologique.

Excepté la production biologique, les procédés cités ci-dessus sont consommatrices d'une grande quantité d'énergie fossile, électrique ou thermique en plus d'être très nocifs à l'environnement [1,2]. En effet, la production biologique s'opère dans les conditions ambiantes de température et de pression et ne nécessite aucun apport énergétique, de plus elle est sans danger à l'environnement, tout au contraire elle permet la mise en valeur de certaines ressources naturelles trop souvent négligées.

Dans ce qui suit, une revue bibliographique des principaux travaux effectués cette dernière décennie est présentée. Il sera aussi question de détailler le mécanisme réactionnel de la production biologique de l'hydrogène.

2. Procédés de la production biologiques de l'hydrogène

La production biologique de l'hydrogène est définie comme le résultat du métabolisme d'un organisme vivant qui libère, dans des conditions données, de l'hydrogène gazeux comme métabolite secondaire. Le tableau 1 donne les principales espèces ayant été déterminées comme étant des souches productrices d'hydrogène.

Les procédés biologiques de production de l'hydrogène sont classés en 4 catégories, à savoir :

- 1) La bio photolyse de l'eau par les algues et les cyanobactéries.
- 2) La photo décomposition des composés organiques par les bactéries photosynthétiques.
- 3) La fermentation des composés organiques par les bactéries.
- 4) Le système hybride utilisant des bactéries photosynthétiques et des bactéries anaérobiques.

Tableau 1 : Microorganismes utilisés pour la production de l'hydrogène

<i>Taxons</i>	<i>Nom de l'organisme</i>	<i>Références</i>
Microalgues vertes (Chlorophyceae)	<i>Scenedesmus obliquus</i>	[3]
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	[4]
Cyanobactérie	<i>Chlamydomonas moewusii</i>	[4]
Avec hétérocyste	<i>Anabaena azollae</i>	[5,6]
	<i>Anabaena CA</i>	[7]
	<i>Anabaena variabilis</i>	[8,9]
	<i>Anabaena cylindrica</i>	[10,11]
	<i>Nostoc muscorum</i>	[12]
	<i>N. spongiaeforme</i>	[9]
Sans hétérocyste	<i>Westiellopsis prolifica</i>	[9]
	<i>Plectonema boryanum</i>	[13]
	<i>Oscillatoria Miami BG7</i>	[14]
	<i>Synechococcus sp.</i>	[15]
	<i>Aphanothece halophytico</i>	[16]
	<i>Mastidocladus laminosus</i>	[17]

Bactéries Photosynthétiques	<i>Phormidium valderianum</i>	[18]
	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	[19,20]
	<i>Rhodopseudomonas sphaeroides</i>	[21]
	<i>Rhodospirillum rubrum</i>	[22]
	<i>Chromatium sp. Miami PSB 1071</i>	[23]
	<i>Halobacterium halobium</i>	[24]
Bactéries Fermentatives		[25]
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	[26]
	<i>Clostridium butyricum</i>	[17]
	<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	[17]
	<i>Magashaera elsdenii</i>	[27]
	<i>Citrobacter intermedius</i>	[26]
	<i>Escherichia coli</i>	

Il est aussi important de signaler que chaque espèce présente des spécificités quand aux conditions de culture et de production (composition du milieu, temps de dédoublement,...). Ainsi les taux de production et la nature des métabolites seront différents à l'intérieur d'un même genre et d'une espèce à une autre (tableau 2).

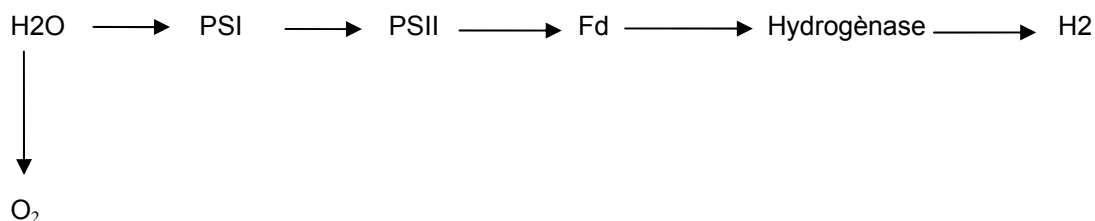
Tableau 2 : Comparaison des différents procédés de production biologique de l'hydrogène

<i>Organisme utilisé</i>	<i>Matière première utilisée</i>	<i>Temps de dédoublement (h)</i>	<i>Taux Maximum d' H2 produit (mmol H2 / gms h)</i>	<i>Métabolites majeurs produits</i>	<i>Réf</i>
Bactéries Photosynthétique <u>Photosystèmes Double</u> (PSI et PSII)		7 - 25			
<i>Oscillatoria sp. Miami BG7</i>	Milieu A sans NH4Cl	25	0.3	H2/CO2/O2= 6:3:1, biomasse	[14, 28]
<i>Anabaena cylindrical</i>	Milieu avec azotes	2.2 - 9	1.3	H2, O2, biomasse	[29]
<u>Un seul photosystème</u> <i>Rhodopseudomonas capsulata</i>	Lactate avec d'autre source d'azote		5.3	H2, CO2, O2. Une quantité de lipide	[30, 31]
<i>Rhodopseudomonas Capsulate</i>	Bouse de vaches		0.3	biomasse H2, CO2, O2. Une quantité de lipide	[32]
<i>Rhodopseudomonas sp</i>	Amidon		1.3	biomasse H2, CO2, O2. Une quantité de lipide	[33]
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>			5.9	biomasse	
	Acide lactique Déchets			H2, CO2, O2. Une quantité de lipide, biomasse	[34]

<i>Rhodobacter sphaeroide</i>	Eaux usées	0.46	H2, CO2, O2. Une quantité de lipide, biomasse	[35]
Mélange de microorganismes contenant <i>Phormidium valderianum</i> , <i>Halobacterium halobium</i> , <i>Escherichia coli</i> 1:1:1	ASNIII combiné avec TES et azote	19	H2, CO2, O2. Une quantité de lipide, biomasse	[36]
Bactéries Fermentatives <u>Anaérobie Stricte</u> <i>Clostridium butyricum</i>	Milieu contenant du glucose	7.3	H2, CO2, Une importante quantité de lipide, biomasse	[37]
<u>Anaérobie Facultative</u> <i>Citrobacter intermedius</i>	Cellulose, Amidon, glucose	9.5	H2, CO2 Une importante quantité de lipide, biomasse	[27]
<i>Enterobacter cloacae</i> IIT	Saccharose	29.63	H2, CO2, Une importante quantité de lipide, Biomasse	[38]
			H2/CO2 = 9	

2.1. Bio photolyse de l'eau par les algues et les cyanobactéries :

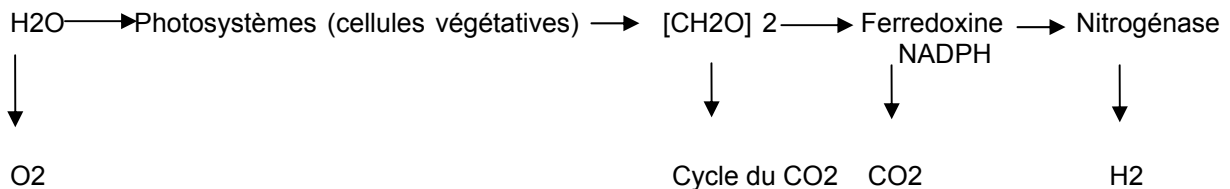
La production de l'hydrogène par bio photolyse repose sur le principe de la photosynthèse connue chez toutes les plantes. Le métabolisme des organismes utilisés est réorienté vers la production d'hydrogène au lieu de la synthèse des hydrates de carbone et la formation de la biomasse. La photosynthèse implique l'absorption de la lumière par deux photosystèmes (photosystème I : PSI et photosystème II : PSII) distincts opérant en série pour la dissociation de deux molécules d'eau et libérant de l'oxygène. Ainsi des électrons sont libérés et seront utilisés soit pour réduire le CO2 (Cycle de Calvin) soit sont eux même réduit en hydrogène gazeux par une enzyme appelée hydrogénase. Cette dernière absente chez les plantes supérieures et spécifiques aux microalgues, quelques macroalgues vertes et les cyanobactéries, peut réduire les protons en hydrogène gazeux sous certaines conditions. Ce phénomène a été rapporté pour la première fois par Gaffron et Rubin [39] puis repris par plusieurs chercheurs [40,41]. Ces derniers expliquent que la bio décomposition directe de la molécule d'eau par l'énergie des PSI et PSII libèrent des électrons qui sont transportés via des porteurs (Ferredoxine : Fd) jusqu'à une hydrogénase qui va les réduire en gaz selon la réaction simplifiée suivante :



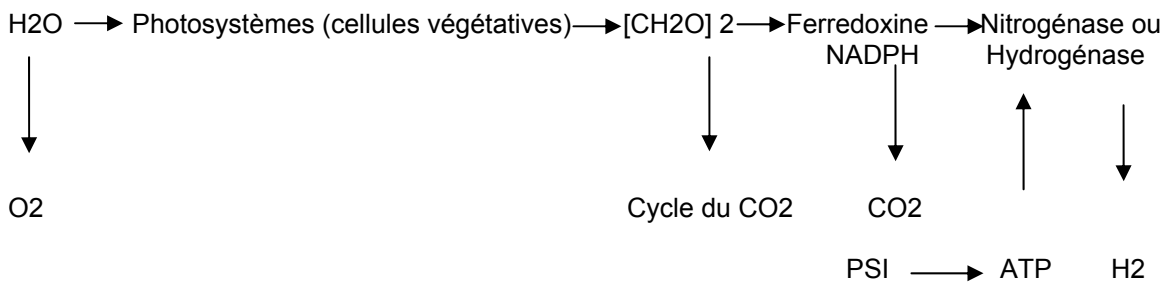
Cependant, le rendement de cette production est tributaire du taux d'oxygène dans le milieu. Des niveaux d'oxygène $\geq 2\%$ inhibe l'activité de l'hydrogénase ce qui diminue la production de l'hydrogène [42]. Des conditions d'anaérobiose suivies d'une période d'éclairement suffisant, sont déterminantes pour une production soutenues.

Les cyanobactéries appelés aussi bactéries fixatrices d'azote, sont capables de produire de l'hydrogène via la photosynthèse en impliquant un complexe enzymatique faisant intervenir en plus de l'hydrogénase, une nitrogénase en fonction du type de cyanobactérie (avec ou sans hétérocyste) [43].

Bactéries fixatrices d'azote avec hétérocyste :



Bactéries fixatrices d'azote sans hétérocyste :



2.1.1. Photo décomposition des composés organiques par les bactéries photosynthétiques

Les bactéries phototrophiques peuvent dégrader les composés organiques issus de nombreux substrats dérivés de déchets, en utilisant un large spectre visible en garantissant un haut rendement de production de l'hydrogène [44,45]. Cette méthode de production est intéressante, puisque l'oxygène n'est pas un facteur limitant. Le monoxyde de carbone est aussi utilisé comme substrat pour produire de l'hydrogène.

2.1.2. Fermentation des composés organiques par les bactéries

Cette méthode de production d'hydrogène se fait par des bactéries fermentatives qui dégradent à l'obscurité, les composés organiques issus de l'hydrolyse des déchets de la biomasse riche en glucose.

2.1.3. Système hybride utilisant des bactéries photosynthétiques et des bactéries anaérobiques

Dans les systèmes hybrides, les deux types de microorganismes (photosynthétiques et non photosynthétiques) sont impliqués dans le processus de production de l'hydrogène [46]. En effet, certaines bactéries, telle que *Clostridium* peuvent digérer à l'obscurité et en anaérobiose, les carbohydrates produits par des microalgues (en présence de lumière) en acides organiques (Fig .1)

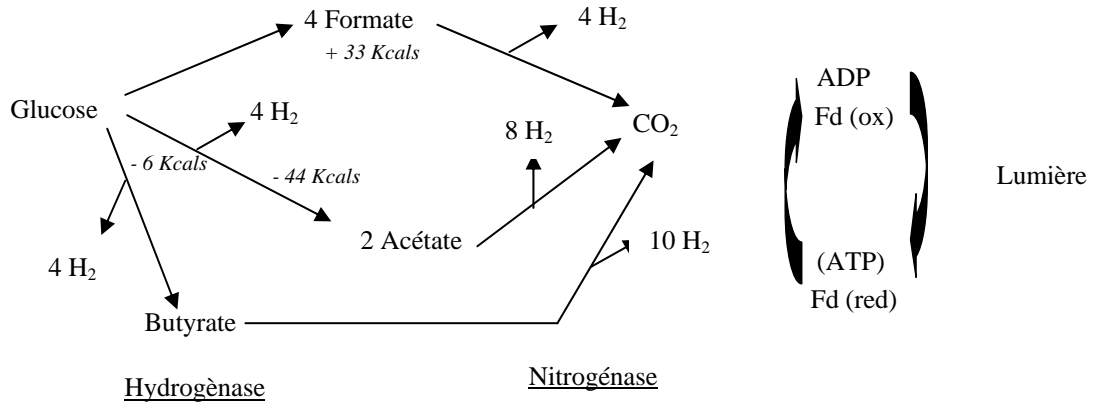


Figure 1 : Mécanisme biochimique de la décomposition du glucose par des microorganismes photosynthétiques et des bactéries anaérobiques pour la production hybride de l'hydrogène.

3. Production biologique de l'hydrogène en Algérie

La production biologique de l'hydrogène a débuté il y a quatre ans au Centre de Développement des Energies Renouvelables. Elle préconise la biophotolyse directe de l'eau, utilisant des microalgues photosynthétiques locales, isolées notamment des eaux continentales du sud algérien. Les travaux ont tout d'abord porté sur l'isolement et l'identification des espèces. Des essais de réalisation de photobioréacteurs adaptés à la fois à la croissance et la production ont été tentés [47, 48]. Une expérience en cours de réalisation a permis à partir d'une culture de 500 ml de *Chlorella* sp isolée de la région de Tmilaine de produire jusqu'à 210 ml de gaz constitué à 55% d'hydrogène pour un taux correspondant à 88mM H₂ par heure et par litre de milieu (Fig.2). Des essais de production à partir d'une collection de souche sont amorcés ainsi que des cultures hybrides sont entamées, permettant de comparer les rendements de production des différents procédés en prenant en compte les paramètres physicochimiques intervenants (pH, intensité lumineuse, composition du milieu,...).

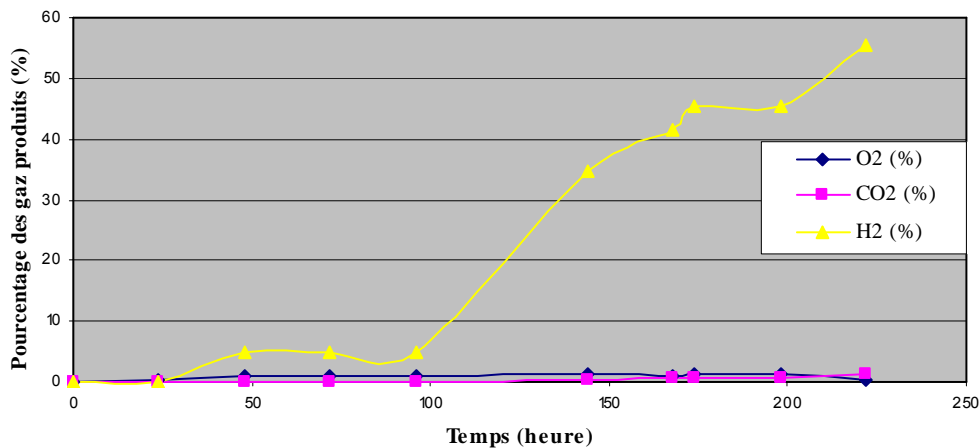


Fig.2. Cinétique de production des gaz dans une culture de *Chlorella* sp isolée de la région de Tmilaine (Adrar)

De ce qui précède, on peut conclure que l'hydrogène biologique est une voie prometteuse, elle peut avoir plusieurs origines adaptée à des espèces particulières.

En effet, il est important de réaliser une étude en amont pour sélectionner et étudier les exigences de chaque espèce. Ce qu'il faut retenir en particulier c'est le fait que les procédés énumérés s'opèrent tous à des températures et pressions ambiantes.

Aussi on note que la vitesse de la production fermentative d'hydrogène est toujours plus rapide que celle de la production photosynthétique. De plus, une quantité de sous produits est obtenue tel que les acides gras (l'acide lactique, l'acide acétique, l'acide butyrique, etc.) qui peuvent à l'heure être valorisés.

4. Références

- [1] Rosen MA, Scott DS. Comparative efficiency assessments for a range of hydrogen production processes. *Int J Hydrogen Energy* 23:653-659, (1998)
- [2] Casper MS. Hydrogen manufacture by electrolysis, thermal decomposition and unusual techniques. Park Ridge, NJ: Naves Data Corp, (1978.)
- [3] Schnackenberg J, Schulz R, Senger H. Characterization and purification of a hydrogenase from eukaryotic green alga *Scenedesmus obliquus* FFB Lett. 327; 21-24, (1993)
- [4] Greenbaum E. Hydrogen production by photosynthetic water splitting. In: Veziroglu TN, Takashashi PK, editors. Hydrogen energy progress VIII. Proceedings 8th WHEC, Hawaii. New York: Pergamon Press,. p. 743-754, (1990)
- [5] Banerjee M, Kumar A, Kumar HD. Factors regulating nitrogenase activity and hydrogen evolution in *Azolla - Anabaena* symbiosis. *Int J Hydrogen Energy*;12: 871- 879, (1989)
- [6] Shi DJ, Brouers M, Hall DO, Rubin RJ. The effects of immobilization on the biochemical, physiological and morphological features of *Anabaena azollae* Planta; 172:298-308, (1987)
- [7] Kumar D, Kumar HD. Effect of monochromatic lights on nitrogen fixation and hydrogen evolution in the isolated heterocysts of *Anabaena* sp. strain CA. *Int J Hydrogen Energy* ;16:397- 401, (1991.)
- [8] Tsygankov AS, Serebryakova LT, Sueshnikov DA, Rao KK, Gogotov IN, Hall DO. Hydrogen photoproduction by three different nitrogenases in whole cells of *Anabaena variabilis* and dependence on pH. *Int J Hydrogen Energy*; 22: 859- 867, (1997).
- [9] Vyas D, Kumar HD. Nitrogen fixation and hydrogen uptake in four cyanobacteria. *Int J Hydrogen Energy*; 22:163- 168, (1995)
- [10] Smith GD, Ewart GD, Tucker W. Hydrogen production by cyanobacteria. *Int J Hydrogen Energy*; 17:695-698,(1992)
- [11] Stewart WDP, Rowell P. Effects of L-methionine D,L- sulfoximine on the newly fixed NH₃, acetylene reduction and heterocyst production in *Anabaena cylindrica*. *Biochem Biophys Res Commun*; 65:846-856, (1975)
- [12] Spiller H, Ernst E, Kerkin W, Boyer P. Increase and stabilization of photoproduction of hydrogen in *Nostoc micorum* by photosynthetic electron transport inhibitors. *Z Naturforsch*;33:541-547, (1978)
- [13] Sarker S, Pandey KD, Kashyap AK. Hydrogen photoproduction by filamentous non-heterocystous cyanobacterium *Plectononema boryana* and simultaneous release of ammonia. *Int J Hydrogen Energy*;17: 689-694, (1992)
- [14] Kumazawa S, Mitsui A. Characterization and optimization of hydrogen photoproduction by saltwater blue-green algae, *Oscillatoria* Sp. Miami BG7: I. Enhancement through limiting cyanobacteria. *Int J Hydrogen Energy*;17: 695-698, (1992)
- [15] Reddy KJ, Mitsui A. Simultaneous production of hydrogen and oxygen as affected by light intensity in unicellular aerobic nitrogen fixing blue-green alga *Synchococcus* sp. Miami BG 043511. In: Sybesma C, editors. Advances in photosynthetic research vol. II. Hague : Martinus Nijhoff, p. 785-788, (1984)
- [16] Belkin S, Padan E. Hydrogen metabolism in the facultative anoxygenic cyanobacterial blue-green algae, *Oscillatoria limnetica* and *Aphanothece halophytica* *Arch Microbiol* ; 116:109-111, (1978).
- [17] Bothe H, Kentemij T. Potentialities of H₂-production by cyanobacteria for solar energy conversion program In: Veziroglu TN, Takashashi PK. Hydrogen energy progress VIII. Proceedings of the Eighth WHEC, Hawaii. New York: Pergamon Press,. p. 729-734, (1990)

- [18] Bagai R, Madamwar D. Prolonged evolution of photohydrogen by intermittent supply of nitrogen using a combined system of *Phormidium valderianum*, *Halobacterium halobium* and *Escherichia coli*. *Int J Hydrogen Energy*;23: 545-550, (1998)
- [19] Fascetti E, D'addario E, Todini O, Robertiello A. Photosynthetic hydrogen evolution with volatile organic acids derived from the fermentation of source selected municipal solid wastes. *Int J Hydrogen Energy*; 23:753-760, (1998).
- [20] Sasikala CH, Ramana ChV, Rao PR. Regulation of simultaneous hydrogen photoproduction during growth by pH and glutamate in *Rhodobacter sphaeroides* O.U.001. *Int J Hydrogen Energy*;20:123-126, (1995).
- [21] Singh SP, Srivastava SC. Isolation of non-sulfur photosynthetic bacteria strains efficient in hydrogen production at elevated temperatures. *Int J Hydrogen Energy*;16: 404-405, (1991)
- [22] Zurrer H, Bachofen R. Aspects of growth and hydrogen production of the photosynthetic bacterium *Rhodospirillum rubrum* in continuous cultures. *Biomass*;2: 165, (1982).
- [23] Ohta Y, Frank J, Mitsui A. Hydrogen production by marine photosynthetic bacteria: effect of environmental factors and substrate specificity of the growth of hydrogen-producing marine photosynthetic bacterium sp. Miami PBS 1071. *Int J Hydrogen Energy* ;6:451-460, (1981).
- [24] Khan MMT, Bhatt J. Polyethylene glycol mediated fusion of *Halobacterium halobium* MMT22 and *Escherichia coli* for enhancement of hydrogen production. *J Hydrogen Energy*;16:683-685, (1991)
- [25] Tanisho S, Wakao N, Kokako Y. Biological hydrogen production by *Enterobacter aerogenes*. *J Chem Eng Jpn*;16:529-530, (1983)
- [26] Tanisho S, Suzuki Y, Wakoo N. Fermentative hydrogen evolution by *Enterobacter aerogenes* strain E.82005. *Int J Hydrogen Energy*; 12:623-627, (1987).
- [27] Brosseau JD, Zajic JE. Continuous microbial production of hydrogen gas. *Int J Hydrogen Energy*; 7:623-688, (1982).
- [28] Philips EJ, Mitsui A. Role of light intensity and temperature in the regulation of hydrogen photoproduction by the marine cyanobacterium *Oscillatoria* sp. Miami BG7. *Appl. Environ Microbiol*; 45:1212-1220, (1983).
- [29] Weissmen JC, Bonemann JR. Hydrogen production by nitrogen starved culture of *Anabaena cylindrica*. *Appl Environ Microbiol*; 33:123-129, (1977).
- [30] Hillmer P, Gest H. H₂ metabolism in photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas capsulata*: H₂ production by growing culture. *J Bacteriol*; 129:724-728, (1977).
- [31] Tanisho S. Feasibility study of biological hydrogen production from sugar cane by fermentation. In: *Veziro_glu TN, Winter C-J, Basselt JP, Kreysa G, editors. Hydrogen energy progress XI. Proceedings of 11th WHEC, Stuttgart,*; 3:2601-2606, (1996).
- [32] Fascetti E, D'addario E, Todini O, Robertiello A. Photosynthetic hydrogen evolution with volatile organic acids derived from the fermentation of source selected municipal solid wastes. *Int J Hydrogen Energy*; 23:753-7560, (1998).
- [33] Vrati S, Verma J. Production of molecular hydrogen and single cell protein by *Pseudomonas capsulata* from cow dung. *J Ferment Technol*;61:157- 162, (1983).
- [34] Sasikala K, Ramana Ch V, Subrahmanyam M. Photo-production of hydrogen from wastewater of a lactic acid fermentation plant by a purple non-sulfur photosynthetic bacterium *Rhodobacter sphaeroides* O.U. 001 *Indian J Exp Biol*;29:745, (1991).
- [35] Sasikala K, Ramana Ch V, Raghuvver PR. Photoproduction of hydrogen from the waste water of a distillery by *Rhodobacter sphaeroides* O.U.001. *Int J Hydrogen Energy* ;17:23-27, (1992)
- [36] Bagai R, Madamwar D. Long-term photo-evolution of hydrogen in a packed bed reactor containing a combination of *Phormidium valderianum*, *Halobacterium halobium* and *Escherichia coli* immobilized in polyvinyl alcohol. *Int J Hydrogen Energy*; 24:311-317, (1999)
- [37] Karube I, Matsunaga, Tsuni S, Suzuki S. Continuous hydrogen production by immobilized whole cell of *Clostridium butyricum*. *Biochem Biophys Acta*; 44: 338-345, (1976)
- [38] Kumar N, Das D. Enhancement of hydrogen production by *Enterobacter cloacae* IIT-BT 08. *Process Biochem*; 35:589-594, (1999)
- [39] Gaffron H, Rubin J. Fermentative and photochemical production of hydrogen by algae. *J Gen Physiol*; 26:219-240, (1992).
- [40] Benemann JR, Miyamoto K, Hallenbeck PC. Bioengineering aspects of biophotolysis.

- Enzyme Microbial Technol; 2:103-111, (1980).
- [41] Healey FP. Hydrogen evolution by several algae. *Planta*; 91: 220, (1970).
- [42] Benemann JR, Berenson JA, Kaplan NO, Kauren MD. Hydrogen evolution by a chloroplast-ferredoxin-hydrogenase system. *Proc Natl Acad Sci USA*; 70: 2317-2320, (1973)
- [43] Smith GD, Ewart GD, Tucker W. Hydrogen production by cyanobacteria. *Int J Hydrogen Energy*;17: 695-698, (1992)
- [44] Kim JS, Ito K, Takahashi H. Production of molecular hydrogen by *Rhodospseudomonas* sp. *J Ferment Technol*;59: 185-190, (1981).
- [45] Vincezini M, Materassi R, Tredici MR, Florenzano G. Hydrogen production by immobilized cell-I. light dependent dissimilation of organic substances by *Rhodospseudomonas palustris*. *Int J Hydrogen Energy*; 7:231-236, (1982).
- [46] Miyake J. Application of photosynthetic systems for energy conversion. In: Veziroglu TN, Takashashi PK, editors. *Hydrogen energy progress VIII. Proceedings 8th WHEC, Hawaii*. New York: Pergamon Press, , p. 755-764, (1990).
- [47] Chader S, Belhamel M, Hacene H, Rihani R et Kaidi, F Hydrogen Gas Production by Microalgae Strains Locally Isolated. 2nd World conference and Tecnnology Exhibition on Biomass for Energy, Industry and Climate Protection. 10 - 14 mai (2004) Rome Italie.
- [48] Chader S, Belhamel M, Hacene H, Rihani R et Kaidi, F Caractérisation physiologique et biochimique d'une souche de *Chlamydomonas* sp. productrice d'hydrogène. 1er workshop International sur l'hydrogène : vecteur énergétique d'origine renouvelable. 21 – 23 juin (2005). Alger. Algérie.