



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : ميكروبيولوجيا.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des Microorganismes

Intitulé :

Élaboration d'une pile à combustible microbienne en utilisant les souches *Shewanella oneidensis* MR1 et *Exiguobacterium* sp.

Présenté et soutenu par : *HALIMI HADJER*

Le : 21/06/2018

KHALDI SARA

Encadrant : *ARABET DALLEL* (MCB - UFM Constantine).

Co-Encadrant : *SEDIRA SOFIANE* (MCB - UFM Constantine).

Jury d'évaluation :

Président du jury : *M. DEHIMAT LAID* (Professeur- UFM Constantine).

Rapporteur : Mme. *BENKAHOUL MALIKA* (MCB - UFM Constantine).

Année universitaire
2017 - 2018

Remerciements

*... Merci a Monsieur Abdelhamid Djekoun
Pour l'idée de ce travail*

Remerciements

En tout premier lieu, nous remercions DIEU, le tout Puissant, qui nous a éclairé le bon chemin et nous a aidées à réaliser ce travail dans les meilleures conditions.

Nous tenons à remercier nos encadrants, Dr. ARABET DALLEL et Mr. SEDIRA SOFIANE pour nous avoir donné l'opportunité de travailler sur ce projet, pour leur grand soutien scientifique et moral, pour les conseils, les suggestions et les encouragements qu'ils nous ont apportés tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons à remercier également Mlle. FERGANI MOUNIA Ingénieur du laboratoire 14 de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, pour sa disponibilité et pour toute sa gentillesse et sa serviabilité.

Nous voudrions également remercier les membres du jury qui nous ont fait l'honneur d'évaluer notre travail.

Nous voudrions aussi exprimer notre vive reconnaissance envers tous les enseignants du département de Microbiologie ainsi que tous ceux qui ont participé à notre formation.

Enfin, à tous ceux et celles qui, de près ou de loin, ont contribué à la réussite de ce travail, nous disons Merci.

*À nos chers parents
À nos familles
À tous ceux qui nous sont chers ...*

Dédicaces

Avec l'aide d'ALLAH le tout puissant on a pu achever ce mémoire qui est le fruit de plusieurs années d'étude et que Je dédie à :

Tous ceux qui se sont donné toutes les peines et les sacrifices pour me voir réussir dans la vie.

*Les deux personnes les plus chères à mon cœur, ma mère et mon père
Qui m'ont donné de l'amour, du soutien et du confort tout au long de mes études.*

Mon cher frère LOTFI pour son encouragement indéfectible.

Ma cousine, ma confidente ABIR

Toute ma famille

Ma chère copine et binôme « SARA » et toute sa famille

Merci ma chérie pour l'amitié et tous les moments agréables que nous avons passés ensemble.

*Tous mes amis : Chahinaz, Mehdiya, Rayane, Chaima, Meriem, Rayane,
Roumaïssa, ...et tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer*

A toute la promotion BMM 2018.

Et sans oublier mes enseignants qui m'ont soutenu durant toutes mes années d'études.

HADJER

Dédicaces

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail qui je dédie :

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

A mon père, l'homme d'exception, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir

*A ma petite sœur NARIMEN, Le secret de la joie dans ma vie
A mon frère MONCEF, que dieu le protège.*

*A mon très cher fiancé MOKDAD,
Son soutien moral, sa gentillesse sans égal, son profond attachement
m'ont permis de réussir mes études.*

*Je cite en particulier : Ma chère copine et binôme
HADJER, pour sa patience envers mes crises, sa gentillesse et sa
compréhension, merci pour cette belle amitié*

A mes amis : WAFI, YOUSRA et INES.

*A toute la promotion BMM 2018.
Une dédicace supplémentaire à OUSSAMA, le garçon unique dans
notre promotion.*

Je vous aime trop.

SARA....

Liste des Abréviations

Liste des abréviations

Cym : cytochrome.

e- : électron.

J.C : Jésus-Christ.

LB : Luria Betrani.

PCM : Pile à Combustible Microbienne.

V : volt .

Liste des tableaux

Listes des Tableaux

Tableau 1 : Composition du milieu de culture LB (les quantités pour 1L).....	27
Tableau 2 : Mesures du courant électrique en volt produit par une pile à combustible semi microbienne en micro-aérobiose.....	38
Tableau 3 : Mesures du courant électrique en volt produit par une pile à combustible semi microbienne en aérobiose	40
Tableau 4 : Mesures du courant électrique en volt produit par une pile à combustible complètement microbienne en aérobiose.....	42

Listes des figurés

Listes des figures

Figure 1 : la consommation mondiale totale d'énergie en 2010 (Wikimédia Commons, 2012).....	12
Figure 2 : Panneaux solaire (Rytfort et <i>al.</i> , 2015).....	13
Figure 3 : Principe d'un chauffe-eau électro solaire (Marien, 2016).....	14
Figure 4 : les aérogénérateurs à axe vertical du la région Alsace-Champagne-Ardenne-Lorraines France. (Vincent, 2017).....	15
Figure 5 : Hydroélectricité produite grâce à la capacité de stockage (Bal <i>et al.</i> , 2012).....	16
Figure 6 : le principe de fonctionnement d'une petite centrale d'hydroélectricité (André <i>et al.</i> , 2012).....	17
Figure 7 : Géothermie en puisant l'énergie du sous-sol (Bal <i>et al.</i> , 2012).....	18
Figure 8 : Les cinq étapes de maturation d'un biofilm (Davis, 2008).....	19
Figure 9 : Respiration de Fe(III) par <i>Shewanellaspp</i> (Pinck, 2014).....	20
Figure 10 : Schéma expliquant le principe de la pile à combustible à hydrogène (Bedu <i>et al.</i> , 2014).....	21
Figure 11 : Schémas de piles à combustible. A : totalement microbienne, B : semi-Microbienne (Ketep, 2012).....	22
Figure 12 : Schéma de fonctionnement d'une pile à combustible microbienne (Pierre <i>et al.</i> , 2015).....	23
Figure 13 : Evolution du nombre d'articles scientifiques sur les piles à combustible microbiennes (Pocaznoi, 2012).....	24
Figure 14 : Représentation des mécanismes de transfert d'électrons direct via les cytochromes chez <i>G. sulfurreducens</i> vers l'anode (Bergel, 2012).	25
Figure 15 : les différents modèles de flux d'électrons le long de nanofils microbiens : (a) chez <i>S. oneidensis</i> et (b) chez <i>G. sulfurreducens</i> (Malvankar et Lovley., 2014).....	26
Figure 16 : Transfert d'électrons via les pilis chez <i>Geobacter sulfurreducens</i> (Pocaznoi, 2012).....	27
Figure 17 : Représentation schématique du mécanisme de transfert d'électrons entre une bactérie et une électrode via des médiateurs endogènes (De Almeida Cournet, 2010).....	28
Figure 18 : Représentation schématique du mécanisme de transfert d'électrons indirect entre une bactérie et une électrode via des médiateurs exogènes (De Almeida Cournet, 2010).....	29
Figure 19 : Schéma du mécanisme indirect de transfert d'électrons par l'oxydation d'un produit du métabolisme bactérien (Pocaznoi, 2012).....	30

Figure20 : Pile à combustible microbienne tubulaire utilisant l'eau usée de la brasserie Foster à Yatala en Australie (Hourizadeh, 2015).....	31
Figure 21 : mesure de PH du milieu : (A) avant l'ajustement ; (B) après l'ajustement...	32
Figure22 : Planisphère associant les différentes souches du genre leur lieu de découverte. «MR-1»correspond à la souche <i>Shewanella oneidensis</i> que nous avons utilisé pour notre étude (Honore ,2017).....	33
Figure 23 : Cellule de <i>Shewanella oneidensis</i> observée par microscopie électronique (Honore ,2017).....	34
Figure 24 : les cellules d' <i>Exigoubactérium</i> observé par le microscope électronique (Morgan ,2017).....	36
Figure 25 : Culture des souches dans le bouillon LB (A), dans un incubateur agitateur (B).....	35
Figure 26 : les deux électrodes utilisées dans le montage (A) l'anode et (B) la cathode.	36
Figure 27 : le montage général des électrodes de la pile microbienne.....	37
Figure 28 : montage final de la pile à combustible semi microbienne : (a) En aérobie, (b) En micro-aérobie	38
Figure 29 : montage final de la pile a combustible complètement microbienne	39
Figure 30: mesure de courant en volt produit par une PAC semi microbienne en micro-érobiose	40
Figure 31: mesure de courant en volt produit par une PAC semi microbienne en aérobiose	41
Figure 32: mesure de courant en volt produit par une PAC totalement microbienne en micro-aérobiose	42

Tables de matière

SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUES

Introduction	01
Chapitre 1 : les énergies dans le monde	02
1. historique	03
2. les énergies non renouvelables	04
a) Energies fossile	04
b) Energie nucléaire	04
3. les énergies renouvelables	06
a) Energie solaire	06
b) Energie éolienne	07
c) énergie hydrique	08
d) énergie géothermique	09
e) les bioénergies	10
Chapitre 2 : les biofilms	
1. définition	11
2. la formation des biofilms	11
2.1 Attachement initial	12
2.2 Attachement irréversible	12
2.3 La colonisation	12
2.4 La maturation	12
2.5 La dispersion du biofilms	12
3. Les biofilms électroactifs	13
3.1 Le transfert intracellulaire	13
3.2 Les transferts extracellulaires d'électrons	13
Chapitre 3 : la pile à combustible microbienne	
1. historique	15
2. Notion de pile à combustible	15
3. Notion de pile à combustible microbienne	17
4. Principe de fonctionnement de Pile à combustible microbienne	17
5. Les mécanismes de Transfer des électrons	18
5.1 Le transfert direct	19
5.2 Le transfert indirect des électrons	22
a) Transfert indirect d'électrons par les médiateurs endogène	22
b) Transfert indirect d'électrons par les médiateurs exogène	23
5.3 Transfert d'électrons par l'oxydation d'un produit issu du métabolisme bactérienne ...	24
6. Domaine d'application	25
7. Les avantages de la pile à combustible microbienne	26

METHODES ET MATERIEL

1. Choix des matériaux, milieu et souches	
1.1 Le milieu de culture	27
1.2 Les souches	27
1.3 Les électrodes	30
➤ L'anode	30
➤ La cathode	31
2. Méthodes de travail	31
2.1 Isolement des souches bactériennes et culture en anaérobiose	31
2.2 Préparation des bocaux	32
2.3 préparation des électrodes	32
a) L'anode	32
b) La cathode	32
3. L'architecture de la pile microbienne	33

RESULTAT ET DISCUSSION

Introduction	37
1. Résultats obtenus en micro- aérobiose	39
2. Résultats obtenus en aérobiose	41
3. Résultats obtenus de la pile complètement microbienne	42
Conclusion générale.....	44
Références bibliographiques	45
Resume	

Introduction générale

L'énergie est le moteur fondamental de l'économie mondiale. Elle joue un rôle essentiel dans le développement du monde et est devenue un indicateur de progrès à l'échelle des nations (Mohan *et al.*, 2008).

Pendant de très longues décennies, le monde entier a compté sur les sources d'énergie traditionnelles. Ainsi, la révolution industrielle a été entièrement bâtie sur l'exploitation du charbon à la fin du dix huitième siècle, puis du pétrole au milieu du vingtième siècle. Après le premier choc pétrolier de 1973, certains pays ont choisis le passage à l'exploitation d'une nouvelle énergie, il s'agit de l'énergie nucléaire. Certains d'autres ont continué à utiliser les ressources fossiles en priorité. Celles-ci nous dit-on, demeurent des sources d'énergie épuisables et leurs menaces sur le climat sont d'un danger extrême, notamment avec le taux de production et de consommation qui ne cesse d'augmenter.

Pour remédier à ce problème aussi bien économique qu'écologique, l'utilisation des énergies renouvelables apparaissent dans ce contexte comme une alternative intéressante pour préserver à la fois le confort des êtres humains et la qualité de l'environnement.

Parmi les sources d'énergie renouvelables aux quelles les scientifiques se sont intéressés récemment, la génération d'électricité par des microorganismes due à l'oxydation de toutes sortes de matières organiques par des biofilms électro active. Cette nouvelle technologie a pour objectif le développement de réacteurs biologiques générant de l'électricité. Ces réacteurs sont souvent appelés "Piles à Combustible Microbiennes" (PCM).

Ce qui est intéressant, c'est que souvent, ce système électrochimique et biologique permet de coupler le traitement des eaux usées riches en matière organique et inorganique à la production d'électricité. En effet, ces eaux usées sont également riches en microorganismes, notamment des bactéries, qui, en dégradant la matière organique ou inorganique, produisent des électrons via leurs différentes réactions biochimiques. L'électricité est ainsi produite en captant ces électrons.

Les PCM représente donc une solution pour deux grandes problématiques :

- La production d'une énergie verte et renouvelable.
- Traitement d'eau usée.

Cependant, cette technologie demeure freinée par sa dépendance en grande partie de la filière hydrogène, depuis sa production et jusqu'à son utilisation finale et du coût du platine qui est généralement utilisé comme catalyseur aux électrodes (ketep, 2012).

Le fonctionnement de la pile à combustible microbiennes est basé sur les réactions bioélectrochimiques siégeant entre les trois principaux composants : l'anode, le catalyseur qui sont les microorganismes électro actives organisés en biofilms et la cathode. Plusieurs facteurs agissent sur ces réactions anodiques et cathodiques : l'électro activité bactérienne, la nature des matières cathodiques et anodiques, le mécanisme de transfert des électrons.

Dans notre projet de master, nous nous sommes intéressés à la construction d'une pile à combustible microbienne en utilisant deux bactéries différentes ;

Shewanella oneidensis souche *MRI* et *Exigobacterium sp.* Pour expliquer les différentes étapes de notre travail, ce manuscrit préparé selon les étapes suivant :

- Le premier chapitre représente une synthèse bibliographique sur la production de l'énergie dans le monde et ses différents types.
- Le deuxième chapitre explique les étapes de la formation du biofilm et la propriété électro-active des bactéries.
- Le troisième chapitre se penche sur la technologie de la pile à combustible microbienne ainsi que se s'avantages et ses domaines d'application.
- Dans le quatrième chapitre, nous présentons la partie pratique : la préparation du matériels bio-électrochimique et la mise en œuvre et le montage générale de la pile.

- Le cinquième chapitre est réservé pour les résultats obtenus suite à notre travail et leur interprétation scientifique.

- Enfin, nous terminons par une conclusion.

Chapitre 1 : L'énergie

1. Historique :

De manière générale, l'énergie est la capacité de la matière à donner des forces capables d'accomplir un travail particulier et la capacité d'un système à produire une activité interne ou une activité externe : un mouvement, de la chaleur ou de la lumière.

L'évolution du monde est en relation étroite à la découverte de l'énergie. À l'aube de l'humanité, la seule énergie libre disponible pour l'homme était sa propre énergie. Cette énergie musculaire était alors l'unique moyen de survivre (se déplacer, chasser, construire ses abris,...). Ensuite, environ 400.000 années avant JC, l'homme maîtrisait le feu pour se réchauffer, cuire, s'éclairer ou manier les métaux.

Cependant, l'homme a sans cesse cherché à améliorer son bien-être. Trois mille ans avant JC il a alors appris à utiliser l'énergie animale en se servant des animaux domestiqués puis, il a commencé à s'intéresser aux forces du vent et de l'eau. Il s'en servait alors de tout ce qui l'entourait pour améliorer son mode de vie.

L'homme poursuit sa quête des sources de l'énergie tout au fil des siècles. Avec la révolution industrielle, le monde entier s'est orienté vers une économie productive et a délaissé l'agriculture. L'orientation vers une telle économie a donc imposé comme première démarche le remplacement du bois, qui était la principale source d'énergie à l'époque, par le carbone.

Au milieu du XIX^{ème} siècle, le système économique connaît une énorme découverte, celle de l'utilisation du Pétrole ou « l'or noir » comme source d'énergie. Et qui devient de plus en plus importante (pour ne pas dire massive) à l'arrivée du XX^{ème} siècle. Ce passage révolutionnaire se suit par l'exploitation du gaz naturel.

Ce type d'énergie, connu sous le nom d'énergie fossile, est jusqu'à présent la principale source d'énergie pour répondre aux besoins énergétique mondiaux et pour accompagner le développement technologique. Cependant, ces sources d'énergie exploitées depuis de très longues années jusque-là, deviennent de plus en plus rares. En effet, le pétrole et le gaz naturel sont des sources non-renouvelables d'une part et d'autre part, qui s'avèrent très polluantes en terme écologique. Le monde se trouve alors sur le bord de l'épuisement de ces principaux moteurs énergétiques et surtout avec un fardeau d'une facture écologique très lourde (Jean *et al* ,2013 ; Stern, 2006).

2.L'énergie non-renouvelable :

Les énergies non-renouvelables sont des sources d'énergie qui sont présentes dans la nature en quantités limitées. Une fois utilisé, ce type de matière n'est plus restitué. Actuellement, les sources d'énergie non-renouvelable couvrent 83% des besoins énergétiques globales dans le monde (Figuer1).

Les ressources principales d'énergies non-renouvelables sont les hydrocarbures tels que le pétrole, le gaz naturel, et le charbon (Corbière, 2009 ; Legrand *et al.*, 2012 ; ketep, 2012).

On peut classer cette énergie en deux familles principales :

a) Énergie fossile :

Le charbon, le gaz naturel et le pétrole sont des éléments contenus dans le sous-terrain. C'est le résultat de la décomposition des matières végétales et animales durant plusieurs millions d'années. Leur composition fournit une énergie thermique qui est utilisée dans les centrales thermiques à flamme (Latrache, 2012 ; Wikipedia, 2018).

b) Énergie nucléaire :

Cette énergie est libérée principalement grâce à l'une des deux interactions nucléaire : soit la « fission » dans le cas des atomes lourds tels que l'uranium et le plutonium ou bien la « fusion » pour les atomes légers comme l'hydrogène et l'hélium (Guillet et Guérin, 2008).

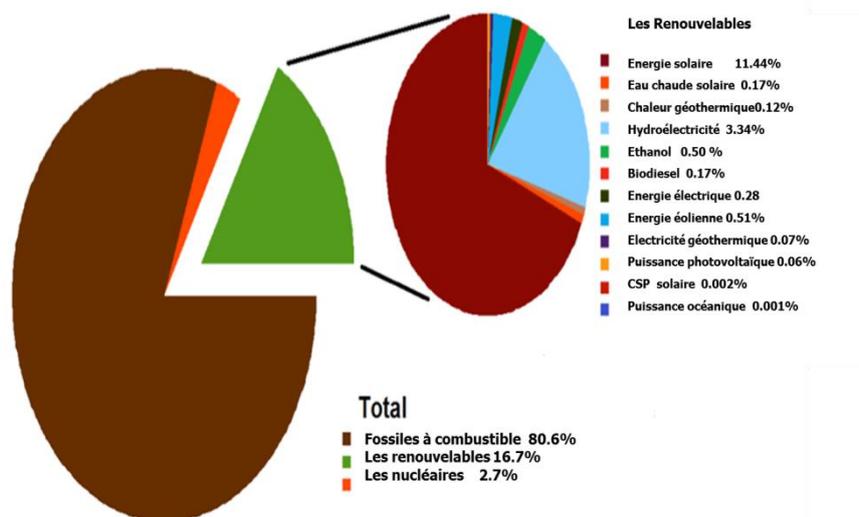


Figure1: la consommation mondiale totale d'énergie en 2010 (Wikimédia Commons, 2012).

La consommation des énergies non-renouvelables a connu une augmentation exponentielle en synergie avec la croissance démographique et l'évolution technologique ce qui a entraîné une utilisation 'agressive' de ces énergies, les conséquences sur la nature étaient alors de la même nature :

- Réchauffement de la planète.
- Pollution de toute nature et de tous les niveaux (les pluies acides, augmentation du taux de CO₂, diminution de la couche d'ozone, contamination du sol et de l'eau des nappes phréatiques par les métaux lourds et les déchets toxique).
- Instabilité politique mondiale étant donné que de nombreux pays sont dépendants aux autres nations de part ces ressources énergétiques non- renouvelables (Barbolla, 2016).

Tous ces facteurs ont fait émerger la nécessité de trouver d'autres sources d'énergie qui subviennent aux besoins mondiaux mais surtout qui soient RENEUVELABLES. Ce type de sources énergétiques sont écologiques, inépuisables et permettent d'obtenir une certaine indépendance économique.

3.Énergies renouvelables :

Il existe cinq grandes familles d'énergies renouvelables : l'énergie solaire, l'énergie éolienne, l'énergie hydraulique, l'énergie géothermique et les bioénergies.

a)L'énergie solaire :

L'énergie fournie par les rayons du soleil est l'énergie la plus puissante et la mieux exploitée jusque-là. Elle est utilisée de deux façons :

- La transformation photovoltaïque pour la production d'électricité (Figure 2).
- L'utilisation sous forme thermique pour la production d'eau chaude sanitaire grâce à des capteurs solaires (Figure 3).



Figure 2: Panneaux solaire
(Rytfotet *al.*, 2015).

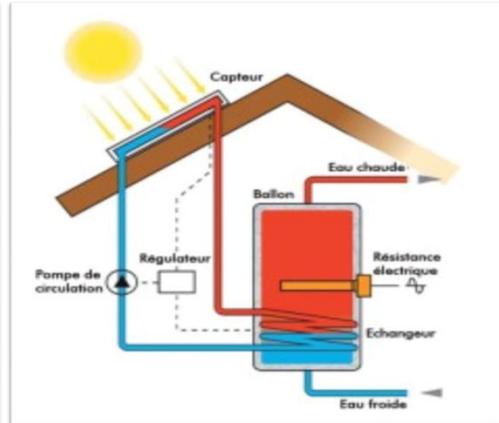


Figure 3 : Principe d'un chauffe-eau
électro solaire (Marien, 2016).

b) L'énergie éolienne :

Cette énergie est utilisée dans le but de la production de l'électricité à partir du vent grâce à la rotation des pales d'un aérogénérateur, la figure 4 représente un exemple d'un aérogénérateur à axe verticale dans la région Alsace-Champagne-Ardenne-Lorraine est la région française où la capacité éolienne installée est la plus importante, avec 2 541 MW raccordés à fin septembre 2015. (Emmanuel, 2017 ; Latrache, 2012 ; Ketep, 2012 ; Rytfot et *al.*, 2015).



Figure4 : les aérogénérateurs à axe vertical du la région Alsace-Champagne-
ArdenneLorrainesFrance. (Vincent, 2017).

c) L'énergie hydraulique :

L'eau est également une source d'énergie renouvelable puisqu'elle se régénère grâce au cycle d'évaporation et des précipitations (Livane, 2016). Cette énergie est utilisée pour

produire de l'électricité. Les figures 5 et 6 donnent des exemples sur l'exploitation des sources hydriques pour produire de l'énergie.



Figure 5 : Hydroélectricité produite grâce à la capacité de stockage (Bal *et al.*, 2012).

L'hydroélectricité peut concourir à l'équilibre du réseau en complément des autres énergies renouvelables électriques comme l'énergie éolien ou solaire.

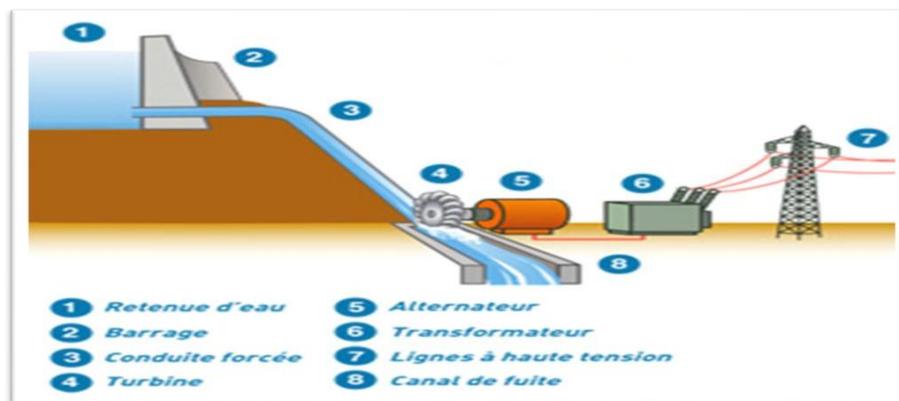


Figure6: le principe de fonctionnement d'une petite centrale d'hydroélectricité (André et al., 2012).

Le principe de fonctionnement d'une centrale hydroélectrique consiste à stocker l'eau puis à canaliser le cours d'eau vers une turbine qui reliée à un alternateur puis à un transformateur, produit de l'électricité destinée au réseau électrique.

d) l'énergie géothermique :

C'est une énergie sous forme de chaleur stockée au sous-sol. Cette chaleur est utilisée pour chauffer les locaux (avec une température moyenne ou faible), ou pour produire de l'électricité (Bal *et al.*, 2012 ;Rytphot *et al.*,2015



Figure 7 : Géothermie en puisant l'énergie du sous-sol (Bal *et al.* , 2012).

La géothermie permet de produire de la chaleur ou de l'électricité en continu

e) Les bioénergies :

La bioénergie est l'énergie stockée par la biomasse biologique. Cette dernière est utilisée comme combustibles pour la production de chaleur et d'électricité ou pour la production de biogaz. Ceci peut exploiter la capacité de la fermentation des microorganismes ou leur capacité à métaboliser les carburants tels que la canne à sucre et les céréales (Quiret ,2010).

Dans notre travail, nous nous intéressons particulièrement à ce type d'énergie renouvelable, c'est-à-dire, la bioénergie. Nous mettons le point sur la production d'électricité à partir de biomasse bactérienne.

Chapitre 2 : Le biofilm

Parmi les principales sources de bioénergie dans le monde, la technologie des piles à combustible microbiennes fait intervenir des microorganismes qui forment des biofilms électrocatalytiques à la surface des électrodes (Ketep, 2012). Il est donc utile de rappeler quelques notions de base sur les biofilms.

1. Définition :

Dans notre environnement, les bactéries se retrouvent sous deux formes : planctonique et sessile. Dans la première forme les bactéries sont libres en suspension. Sous la forme sessile, elles sont organisées sur des surfaces appelées « biofilm ».

Un biofilm est une communauté de microorganismes (bactéries, champignons, algues, et/ou protozoaires), adhérant entre eux et à une surface. Ils sont marqués par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice. Sa structure est hétérogène, souvent sous forme d'une matrice extracellulaire, et composée de substances polymères (Jiao *et al.*, 2011).

2. La formation des biofilms :

Chez les bactéries, la formation et le développement d'un biofilm se déroulent en cinq étapes successives et sont influencés par trois critères selon Jean Valcarcel (Figure 08) :

- Le phénotype et le métabolisme bactérien
- Le type et l'état de surface
- L'environnement physico-chimique et biologique.

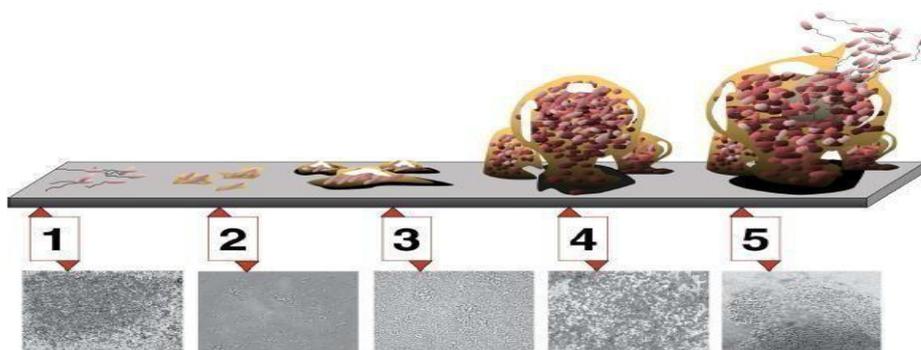


Figure 8 : Les cinq étapes de maturation d'un biofilm (Davis, 2008).

1 : attachement initial. 2 : attachement irréversible. 3 : colonisation. 4 : maturation. 5 : dispersion. Les photomicrographies sont celles d'un biofilm de *P. aeruginosa* en développement.

2.1 Attachement initial :

Durant les phases préliminaires de transport et d'adhésion, les bactéries, en forme planctonique, se déplacent sous l'effet de l'hydrodynamique ou par nage dirigée, grâce à leurs appendices de mobilité appelées « flagelles ». Pour adhérer à une surface. Les liaisons mises en jeu à ce stade sont non covalentes donc fragiles. Cette adhésion primaire des bactéries peut donc être réversible (Ketep, 2012).

2.2 Attachement irréversible :

Sous-entend l'installation des microorganismes sur la surface d'adhésion. Les bactéries sécrètent des polysaccharides et des protéines possédant des propriétés adhésives. L'adhésion devient irréversible avec la production de ces macromolécules appelées glycocalyx ou glycolemmes et la formation de nombreuses liaisons de faible énergie de nature ioniques, hydrophobes ou hydrogènes entre les bactéries et le substrat (Ketep, 2012).

2.3 La colonisation :

A cette étape, les microorganismes se divisent pour former des micro-colonies qui vont recouvrir toute ou une partie de la surface. Le taux de recouvrement dépend de la nature et des propriétés de la surface d'adhésion ainsi que de la nature des bactéries. Les bactéries adhérees produisent des exo-polymères qui forment la matrice du biofilm, favorisant son maintien et sa plasticité. (Ketep, 2012).

2.4 La maturation :

La maturation, résultat de la formation des canaux qui permettent la circulation des nutriments et de l'oxygène dans les régions profondes du biofilm, ainsi que l'évacuation des produits issus de l'activité métabolique. À cette étape, le biofilm s'étend et s'épaissit jusqu'à former une structure macroscopique tridimensionnelle (Ketep, 2012).

2.5 La dispersion du biofilm :

Cette étape est liée à un retour vers l'état planctonique dû au vieillissement, à des carences ou à des stress liés à l'environnement (manques des nutriments ou des

accepteurs d'électrons, modification de pH, l'application des forces physiques sur le biofilm). Les bactéries ainsi libérées vont pouvoir coloniser de nouvelles surfaces. (Ketep, 2012).

3. Les biofilms électroactifs :

L'électroactivité d'une cellule bactérienne est définie par sa capacité à échanger des électrons avec des accepteurs ou des donneurs externes en état naturel.

Un biofilm électroactif désigne un biofilm capable de réaliser ces échanges. Ces transferts d'électrons sont générés par le catabolisme, ils sont de deux types : intracellulaire et extracellulaire (Pinck, 2014).

3.1 Le transfert intracellulaire :

Les transferts intracellulaires d'électrons ont lieu au cours des mécanismes du métabolisme énergétique de la bactérie et participent aux réactions d'oxydo-réduction des molécules nécessaires à son fonctionnement (Pinck, 2014).

3.2 Les transferts extracellulaires d'électrons :

Ce type de transfert d'électrons se fait en règle générale de la cellule vers un accepteur final extracellulaire. Un exemple très étudié de ce mécanisme est la respiration extracellulaire du Fe (III) par *Shewanellaspp* (Figure 9). Un pool de quinone permet le transfert des électrons produits au niveau de la membrane interne lors des réactions de déshydrogénase vers le cytochrome A (CymA), un cytochrome C. Les électrons traversent ensuite le périplasme via d'autres cytochromes C catalysant des réactions d'oxydo-réductions comme la protéine MtrA pour ensuite être transférés aux niveaux d'OmcB et de la réductase terminale sur la membrane externe (Pinck , 2014). Dans le milieu extracellulaire aura alors lieu la réduction de Fe (II) par ces protéines de la membrane externe.

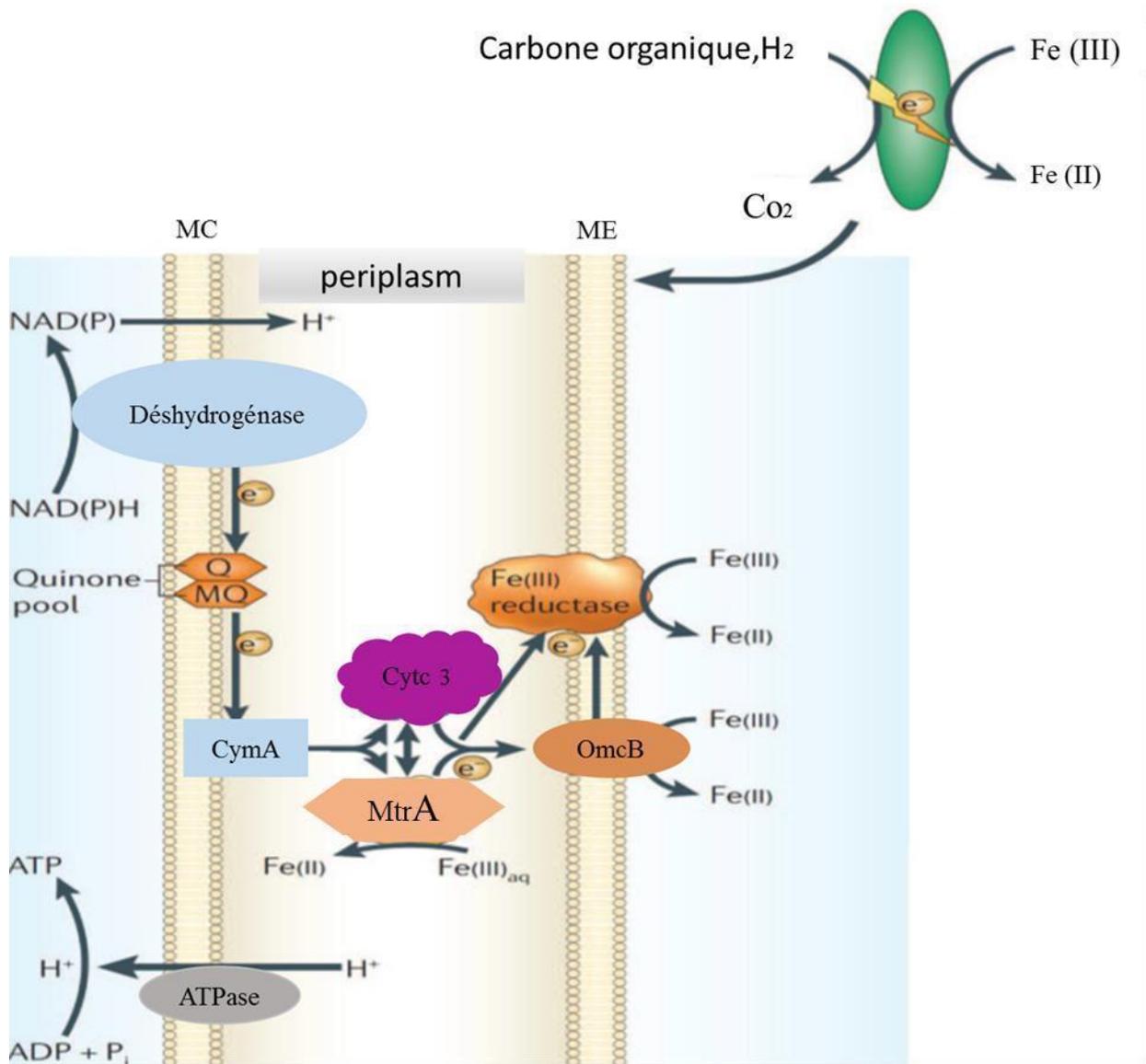


Figure 9 : Respiration de Fe (III) par *Shewanella* spp (Pinck , 2014).

Représentation du mécanisme responsable des transferts d'électrons au cours de la respiration extracellulaire de Fe(III), MC : membrane cytoplasmique ; ME : membrane externe ; OmcB et MtrA : cytochrome de type C.

Chapitre 3 :
La pile à combustible
microbienne

1. Historique :

Depuis des siècles, il a été prouvé que les cellules vivantes ont la capacité de transformer de l'énergie chimique en énergie électrique. Luigi Galvani fut le premier, en 1790, à constater que les pattes de grenouille ont la capacité de se crispier sous l'action d'une excitation électrique.

Le concept de pile à combustible a été découvert en 1839. Puis, en 1911 Michael Cresse qui est un professeur en botanique découvrit que des microorganismes tels que les levures ou *Escherichia coli* peuvent produire un courant électrique. Vingt ans plus tard l'observation a été confirmée grâce à Cohen qui a développé des batteries à combustible microbiennes et a pu obtenir des tensions jusqu'à 35V.

Le développement des biopiles à combustible est accentué dans les années 60, lorsque la NASA s'est intéressée à la transformation des déchets organiques en électricité sur les vols spatiaux. En 1963, les premières piles à combustible biologiques furent commercialisées en tant que sources d'énergies dans les radios, signaux lumineux et autres appareils en mer.

Récemment, un nouvel intérêt est né pour les piles à combustible microbiennes grâce à la découverte du transfert direct d'électrons entre les bactéries et une électrode. Ainsi, les piles à combustible microbiennes ne nécessitent plus l'ajout de médiateurs électrochimiques qui rendaient le système plus coûteux, plus polluant et moins durable dans le temps. (Amandine, 2010 ; Dumas, 2007 ; Ketep, 2012).

2. Notion de pile à combustible

Une pile à combustible est un système électrochimique qui convertit l'énergie chimique en énergie électrique avec un dégagement de chaleur. Elle est composée de deux électrodes : une anode et une cathode séparées par un électrolyte qui permet d'assurer une étanchéité entre les deux électrodes et d'assurer le passage des ions en bloquant le passage des électrons (figure1). La pile est alimentée par deux gaz : O₂ et H₂ qui vont permettre la réaction d'oxydoréduction selon les deux demi- réactions :

- L'oxydation de l'hydrogène à l'anode :



- Réaction de réduction de l'oxygène à la cathode :



On obtient alors comme réaction finale :



Il existe plusieurs type de la pile à combustible et comme un exemple, le principe de fonctionnement d'une pile à combustible d'hydrogène est indiqué sur la (figure 10) (Bedu *etal.*, 2014 ; Benghernit, 2016 ; Bertello, 2015 ; Brüll, 2012).

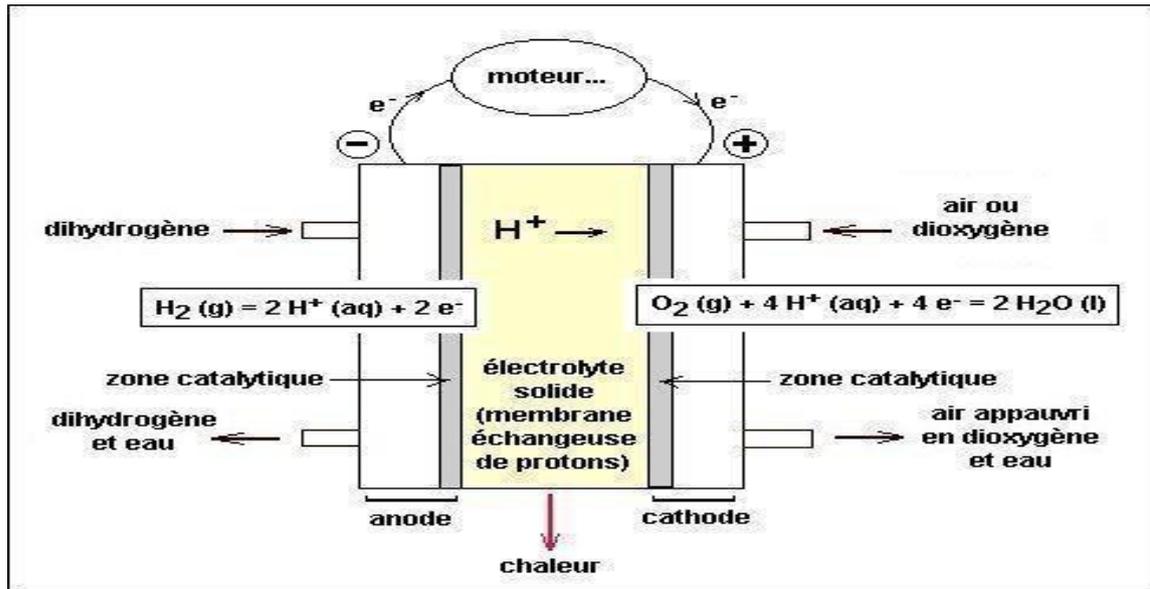


Figure10 : Schéma expliquant le principe de la pile à combustible à hydrogène (Bedu *etal.*, 2014).

L'anode représente le lieu de l'oxydation de l'hydrogène issu d'un réservoir, cette réaction produisant deux protons et deux électrons (l'équation a) ces derniers vont circuler de l'anode vers la cathode via le circuit électrique avec une production d'électricité.

En parallèle les protons sont transférés de l'anode vers la cathode à travers la membrane échangeuses d'ions pour la réduction de l'oxygène avec la consommation des électrons libérés au cour de la première demi- réaction pour former l'eau (l'équation b), qui sera expulsée sous forme de vapeur. Cette réaction est également exothermique.

3. Notion de pile à combustible microbienne

La pile à combustible microbiennes (PCM) est un dispositif électrochimique qui permet de transformer directement en énergie électrique, l'énergie chimique contenue dans des composés organiques ou inorganiques par une réaction d'oxydation (généralement la réaction anodique) assurée par des microorganismes, le plus souvent des bactéries (anode biologique) qualifiés d'exo-électrogènes. Ces bactéries sont organisées en biofilm à la surface de l'anode qui représente un catalyseur électroactif (Adekunle, 2014 ; Benghernit, 2017 ; Dumas, 2007 ; Zhao *et al.* 2017).

Les piles à combustible microbienne peuvent être complètement microbiennes lorsque la catalyse des réactions aux deux électrodes se fait grâce à des microorganismes (Figure 11-A) ou semi microbiennes dans le cas où la catalyse à la cathode est réalisée par des catalyseurs minéraux (Figure 11-B).

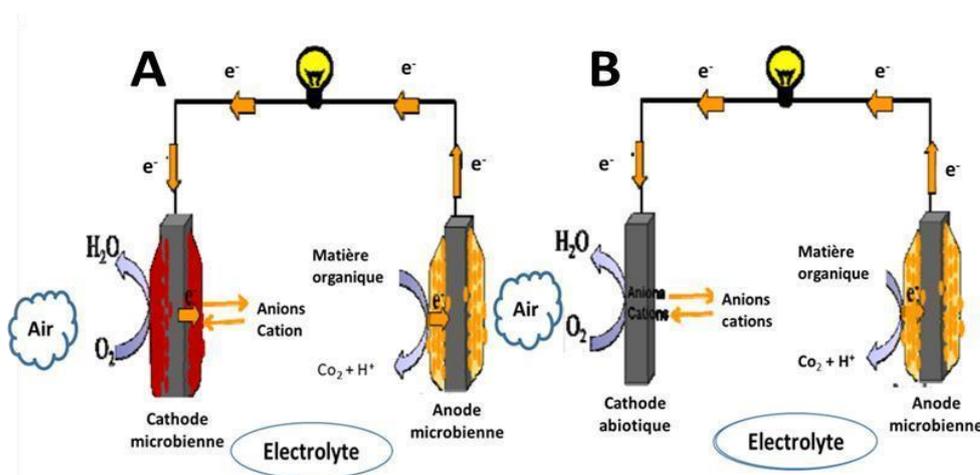


Figure 11 :Schémas de piles à combustible. A : totalement microbienne, B : semimicrobienne (Ketep, 2012).

4. Principe de fonctionnement de la pile à combustible microbienne :

Le principe est similaire aux piles à combustibles à la différence de “ l'utilisation de microorganismes comme catalyseurs.” Ceux-ci forment un biofilm à l'anode (Figure 11), et oxydent les matières organiques grâce à une propriété intéressante qui est celle de la

respiration intracellulaire des microorganismes, processus leur permettant de subvenir à leur besoins énergétiques. Pendant la métabolisation, les substrats sont oxydés, produisant ainsi des électrons et des protons à l'intérieur de la bactérie. Ceux-ci sont par la suite éjectés de la cellule par une multitude de réactions complexes (les réactions de la chaîne respiratoire) et transférés ensuite à la cathode le lieu de la réduction soit de manière directe ou indirecte (Bengharnit, 2016 ; Dumas, 2007 ; Ketep, 2012 ; Pierre *et al.*, 2015).

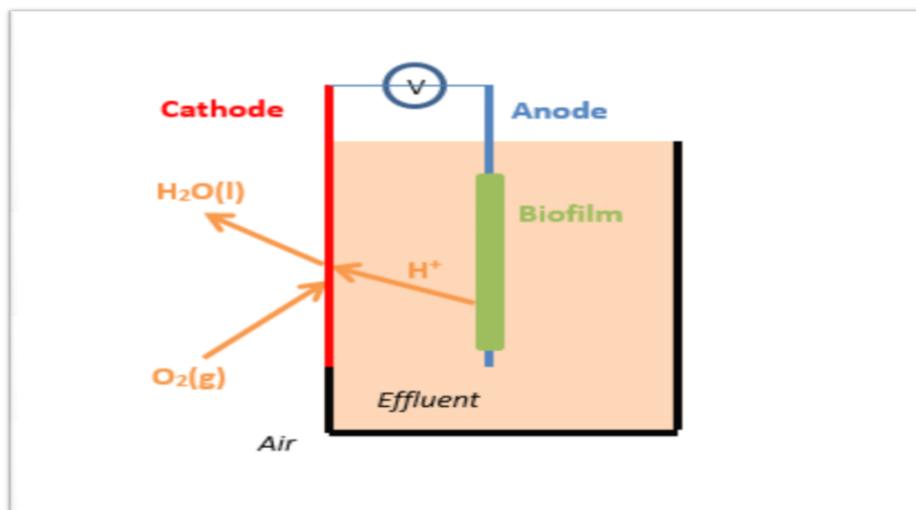


Figure 12 : Schéma de fonctionnement d'une pile à combustible microbienne (Pierre *et al.*, 2015).

Le biofilm est l'agrégation de ces microorganismes sur la surface de l'anode, qui dégrade le substrat. Les protons libérés dans l'effluent (les eaux usées dans ce cas) se déplacent jusqu'à la cathode où ils sont consommés, pour produire de l'eau en présence de dioxygène.

5. Les mécanismes de Transfert des électrons :

La compréhension des mécanismes de transfert électronique entre la bactérie et l'électrode apparaît aujourd'hui comme essentielle dans le développement des piles à combustible microbiennes. Le nombre des articles de revue s'intéressant à ce sujet au cours du 20^{ème} siècle augmente chaque année. En 2011, 504 articles scientifiques ont été publiés par rapport aux 13 articles scientifiques en 2000 selon les données issues de Web of Knowledge. Donc Il faut noter que cette production scientifique qui augmente exponentiellement est un signe fort du nouvel engouement pour cette technologie (Figure 13) (Dumas, 2007 ; Pocaznoi, 2012).

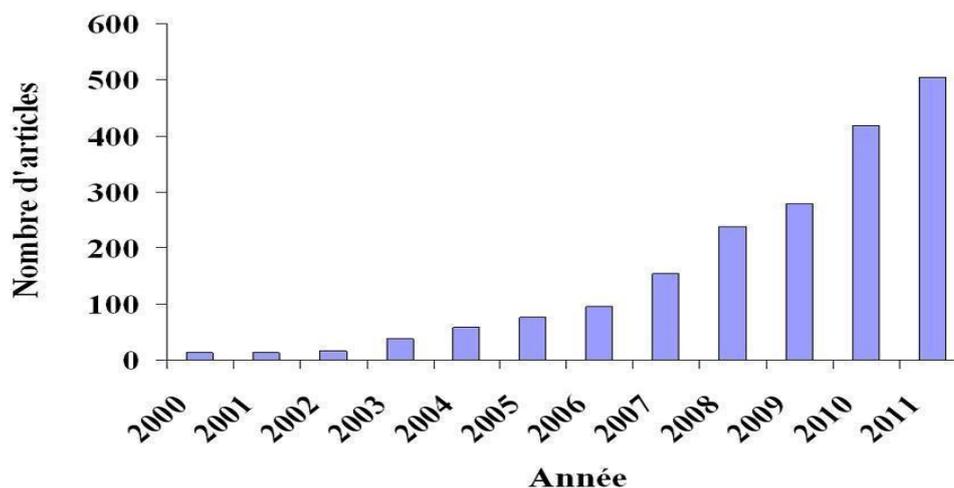


Figure 13 : Évolution du nombre d'articles scientifiques sur les piles à combustible microbiennes (Pocaznoi, 2012).

Le transfert d'électrons entre la bactérie et l'électrode peut se faire de manière directe, via les composants de la membrane cellulaire, ou de façon indirecte, soit par l'oxydation abiotique de produits issus de la fermentation biologique.

5.1. Le transfert direct :

C'est un transfert qui nécessite un contact direct entre la membrane externe de la cellule bactérienne et l'anode, cet échange d'électrons est assuré par des protéines redox membranaires de type cytochrome C (OmcB, OmcD, OmcE) qui ont la capacité de transférer les électrons de l'intérieur de la cellule bactérienne vers un accepteur insoluble qui est l'anode.

Cette découverte qui a eu lieu en 2002 fut révolutionnaire dans le domaine de la pile à combustible microbienne.

Ce mécanisme de transfert direct via les cytochromes a été clairement démontré chez *Geobactersulfurreducens* (Figure 14) grâce à des expériences réalisées avec des mutants pour lesquels le gène codant pour les cytochromes C a été délété ou surexprimé. Le fait que leur génome est parfaitement connu avait facilité l'expérience (Bergel, 2012 ; Dumas, 2007 ; Ketep, 2012 ; Oliot, 2017 ; Pocaznoi, 2012).

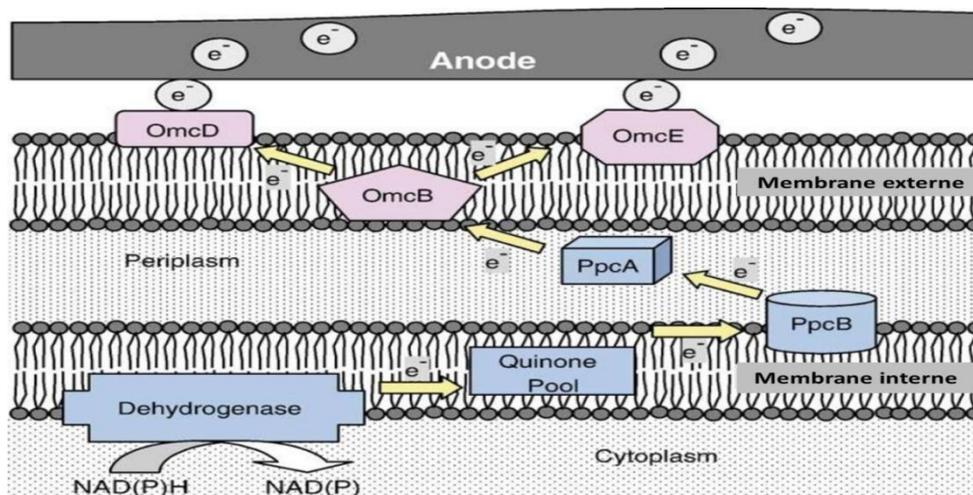


Figure 14 : Représentation des mécanismes de transfert d'électrons direct via les cytochromes chez *G. sulfurreducens* vers l'anode (Bergel, 2012).

OmcB, OmcD, OmcE : les cytochromes de type C ; PpcA, PpcB : les cytochromes périplasmique.

En 2005 un nouveau mécanisme de transfert direct a été décrit. Il s'agit de celui réalisé par les pili qui sont connus chez de nombreuses cellules microbiennes et qui participent à plusieurs fonctions au sein des biofilms tel que l'échange de matériel génétique. Le plus important c'est que certains de ces pili possèdent des propriétés de conduction électrique, plus précisément ce sont des nano-fils électriques ou bien "Nanowires" qui assurent le transfert d'électrons directement de la cellule vers l'électrode. Ce mécanisme était étudiés en détail uniquement chez deux microorganismes *Shewanellaoneidensis* et *Geobactersulfurreducens* (Malvankaret lovley, 2014 ; Ketep, 2012 ; Pocaznoi, 2012 ; Zhao *et al.*, 2017).

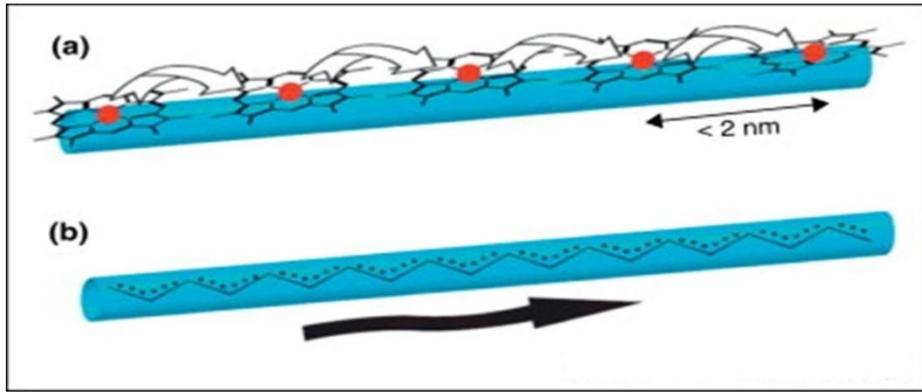


Figure 15 : les différents modèles de flux d'électrons le long de nanofils microbiens (Malvankar and Lovley., 2014), :(a)chez *S. oneidensis*, (b) chez *G.sulfurreducens*

Des études à ce jour ont suggéré que la fonction des nanofils dans ces deux organismes est remarquablement différente (Figure 15). Chez *S.oneidensis*Le modèle actuel pour la conduction électrique le long des nanofils est le saut d'électrons entre les cytochromes (Figure 15a) malgré que la composition des filament est encore non spécifiée mais sont plus épais (diamètre de 50 à 150 nm) que les pili chez *G. sulfurreducens*(diamètre de 3 à 5 μm) qui ont une conductivité semblable à celle du métal (Figure 15b), mais les deux ont la même capacité de former un réseau conducteur à l'intérieur du biofilm en se connectant aux autres bactéries (Figure 16) (Malvankar and Lovley., 2014 ; Pocaznoi, 2012).

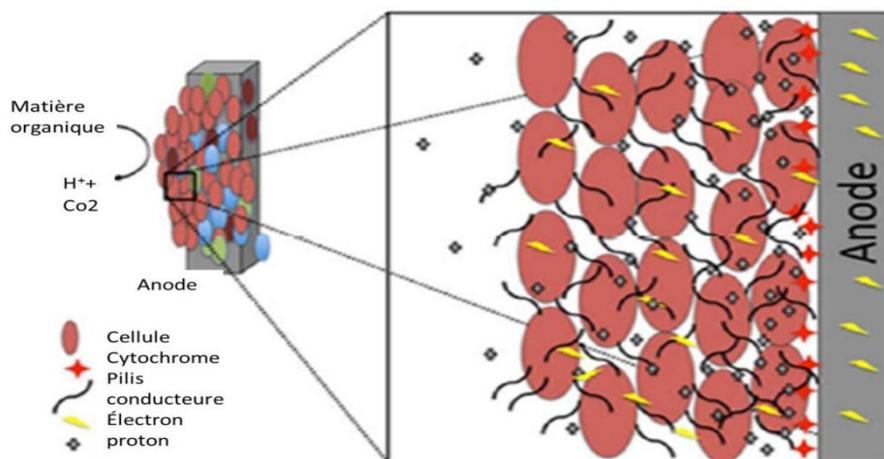


Figure 16 : Transfert d'électrons via les pili chez *Geobactersulfurreducens*(Pocaznoi, 2012)

5.2. Le transfert indirect des électrons :

Le transfert indirect des électrons de la cellule microbienne vers l'anode est un transfert à distance, assuré par des molécules endogènes ou exogènes qui jouent le rôle de médiateurs électrochimiques (Oliot, 2017 ; Pocaznoi, 2012). Il est important de préciser qu'un médiateur électrochimique est une molécule capable de s'oxyder et de se réduire en cycles successifs. Sous sa forme oxydée le médiateur est capable de pénétrer dans la cellule bactérienne en traversant la membrane cellulaire, d'accepter des électrons d'un ou plusieurs porteurs d'électrons à l'intérieur de la cellule, de sortir de cette dernière sous forme réduite pour se réoxyder à la surface de l'anode en lui transférant les électrons (Ketep, 2012).

a) Transfert indirect d'électrons par les médiateurs endogènes :

De nombreuses bactéries sont capables de produire elles-mêmes leur médiateur électrochimique tel que les médiateurs endogènes produits par *Shewanellaoneidensis* sous forme de flavines (riboflavine et de riboflavine-5'-phosphate) qui représente la voie majeure pour les transferts extracellulaires de cette espèce (Pinck, 2014). Et on a aussi *Pseudomonasaeruginosa* qui produit de la pyocyanine, un pigment identifié comme responsable de l'activité électrochimique de cette bactérie (Oliot, 2017).

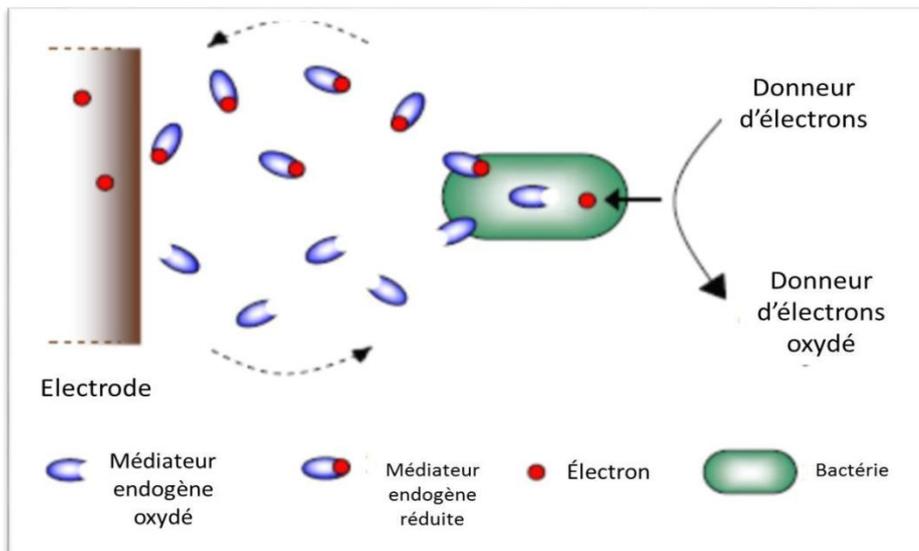


Figure 17 : Représentation schématique du mécanisme de transfert d'électrons entre une bactérie et une électrode via des médiateurs endogènes (De Almeida Cournet, 2010).

b) Transfert indirect d'électrons par les médiateurs exogènes :

De nombreuses bactéries sont incapables d'échanger les électrons avec une électrode comme par exemple : *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Actinobacillus succinogenes*, *Erwinia dissolvens*, *Pseudomonas spp*, *Bacillus spp.*, etc. Elles nécessitent donc l'utilisation de médiateurs artificiels ajoutés dans les cultures microbiennes pour le transfert électronique (Figure 18).

Les médiateurs artificiels les plus utilisés sont le rouge neutre, la thionine, le chélate de fer, les dérivés de la quinone, la phénazine, la phénoxazine et la phénothiazine (Pocaznoi, 2012).

Le choix d'un médiateur artificiel doit satisfaire certains critères :

- Sa forme oxydée doit facilement pénétrer à travers la membrane.
- les cinétiques des réactions d'oxydation à l'électrode doivent être rapides.
- son potentiel d'oxydo réduction doit être proche de celui du métabolite réducteur ;

aucune de ses formes oxydées ne doit interférer avec d'autres processus métaboliques (Ketep, 2012).

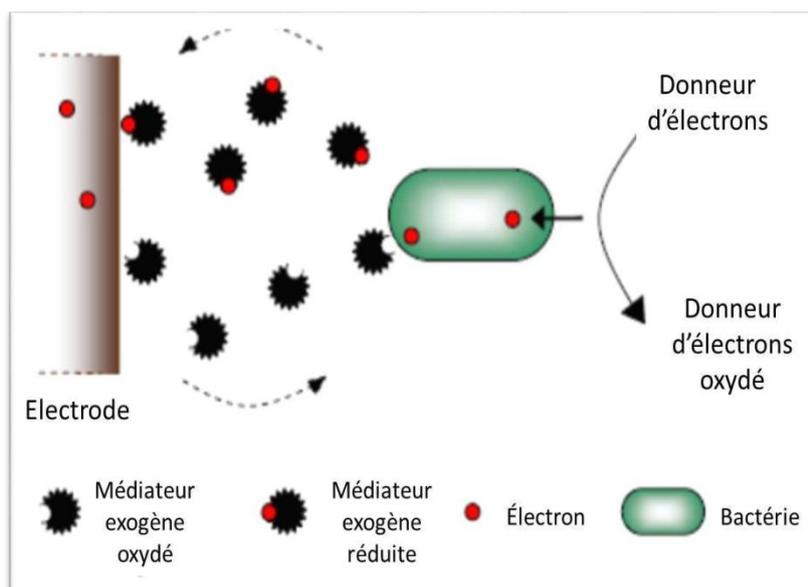


Figure 18: Représentation schématique du mécanisme de transfert d'électrons indirect entre une bactérie et une électrode via des médiateurs exogènes (De Almeida Cournet, 2010).

Un médiateur électrochimique accepte les électrons de composants réduits de la cellule et s'oxyde de façon abiotique à l'anode à laquelle il transmet les électrons. Le médiateur effectue plusieurs cycles successifs de réduction-oxydation. Dans la plupart des cas, les cellules qui utilisent des médiateurs électrochimiques n'oxydent pas le substrat (glucose) complètement en CO₂.

5.3. Transfert d'électrons par l'oxydation d'un produit issu du métabolisme bactérien :

Certains microorganismes produisent des composés métaboliques riches en énergie tels que l'hydrogène, l'éthanol, le formate, ou l'ammonium capables de s'oxyder abiotiquement à l'anode.

C'est dans les années 60 qu'ont été mis au point les premiers biofilms anodiques faisant intervenir l'utilisation de l'hydrogène par les microorganismes. Cependant, la production de courant était faible. Il y a quelques années, les travaux de Niessen ont permis d'obtenir de fortes densités de courant en utilisant des bactéries du genre *Clostridium* (*C.beijerinckii*, *C. butyricum*) ou *Escherichia coli* K12 productrices d'hydrogène.

Les résultats ont encore été améliorés jusqu'à 3 mA/cm² en utilisant des électrodes recouvertes par du carbure de tungstène qui est en outre un électrocatalyseur moins coûteux (Ketep, 2012). D'autres produits du métabolisme bactérien, comme le sulfate, sont utilisés par les biofilms électroactifs. Le sulfate est réduit par des bactéries sulfato-réductrices en HS- ou S²⁻ (fonction du pH) qui eux s'oxydent directement à l'anode en S⁰ (Dumas, 2007).

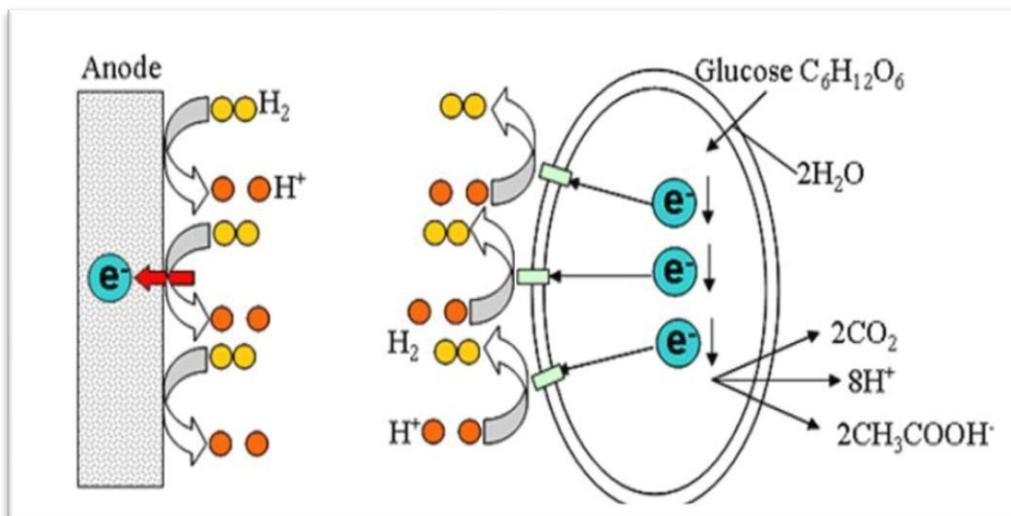


Figure 19: Schéma du mécanisme indirect de transfert d'électrons par l'oxydation d'un produit du métabolisme bactérien (Pocaznoi, 2012).

6. Domaine d'application :

Les piles à combustible microbiennes pourraient être utilisées dans plusieurs domaines : traitement des eaux usées, des déchets ou encore utilisées dans des applications de niche.

➤ Traitement des eaux usées (station d'épuration)

Ces dispositifs sont très riches en bactéries qui vont se nourrir de la matière organique contenue dans les effluents tout en produisant de l'énergie par transfert d'électrons des bactéries aux électrodes. L'énergie alors produite par ce processus bio-électrochimique de nettoyage des eaux usées est ensuite convertie en électricité.

Certains réacteurs "grands volumes" et pilotes ont d'ores et déjà été mis en place c'est le cas du traitement des eaux usées de la brasserie Foster à Yatala en Australie 2008. Cette étude est menée par l'Advanced Water Management Center à l'université du Queensland sous la direction de Jurg Keller et Korneel Rabaey.

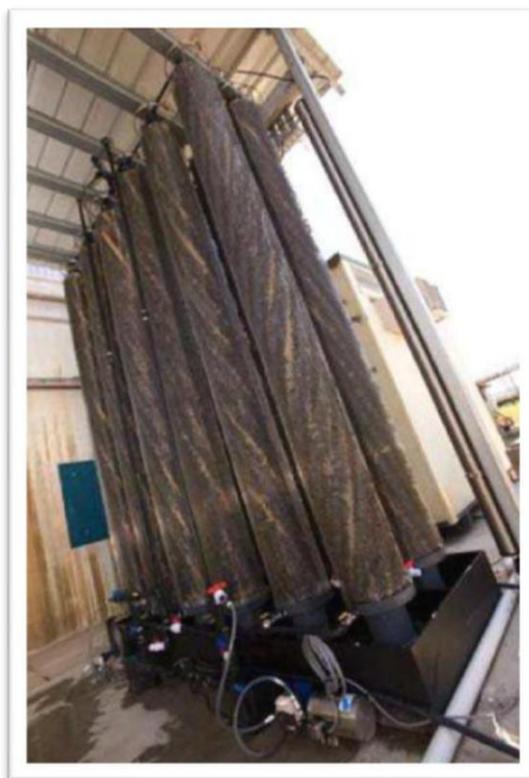


Figure 20: Pile à combustible microbienne tubulaire utilisant l'eau usée de la brasserie Foster à Yatala en Australie (Hourizadeh, 2015). Le réacteur est constitué de douze modules tubulaires de trois mètres chacun pour un volume total d'un mètre cube. Le principe de fonctionnement est le même que l'étude réalisée au laboratoire par Korneel Rabaey. On en sait peu sur l'efficacité de dépollution et sur la production d'électricité.

➤ **Déchets/sols/compost :**

Il y a des chercheurs qui travaillent sur le traitement des déchets de maïs. Après les recherches ils ont obtenu des résultats qui montrent que des hydrolysats de fourrage de maïs possèdent un excellent potentiel en tant que substrats pour la production d'électricité dans les piles à combustible microbiennes (Dumas, 2007).

7. Les avantages de la pile à combustible microbienne

Les piles à combustible microbiennes ont plusieurs avantages :

- un système plus économique et moins coûteux car les microorganismes contenus dans l'inoculum remplacent les catalyseurs minéraux aux électrodes souvent relativement chers.

- le rendement de conversion de l'énergie chimique contenue dans le substrat en électricité peut être élevé

- les réactions aux électrodes ont lieu à température ambiante

- la cathode pouvant être passivement aérée dans le cas des piles à oxygène, cette technologie ne nécessite pas d'apport d'énergie pour l'aération (Ketep, 2012).

Matériels et méthodologies

1. Choix des matériaux, milieu et souches :

1.1. Le milieu de culture :

Le milieu de culture utilisé est le milieu LB « LuriaBertani ». Sa composition est présentée dans le Tableau 1. Le pH du milieu est ajusté à 7-7,02 (Figure 21).

Le milieu LB est un milieu riche qui permet la croissance de toutes les bactéries d'où son choix dans ce travail.

Tableau 1 : composition du milieu de culture LB (les quantités pour 1L).

composants	Concentration g/l
Trypton	10
Extrait de levure	5
NaCl	5

1.2. Les souches :

Les souches *Shewanellaoneidensis* MR-1 et *Exiguobacterium* sp. ont été fournies par le laboratoire de Bio-ingénierie des protéines (BIP), Marseille, France (Arabet *et al.*, 2014, Arabet *et al.*, 2018). La souche MR-1 de *S. oneidensis* a été isolée du port de Marseille, (France), alors que celle de *Exiguobacterium* a été isolée du sol du Sahara algérien (Arabet *et al.*, 2018).

➤ *Shewanellaoneidensis* MR-1 :

L'espèce *Shewanellaoneidensis* MR-1 a été découverte en 1988 dans le lac Oneida (état de New-York, USA) et dans la Mer Noire. Les bactéries du genre *Shewanella* sont des protéobactéries, ubiquitaires et sont toutes des bacilles à Gram négatif, anaérobies facultatives. Sa température optimale de croissance se situe entre 28 et 40°C et elle est neutrophile se développant dans des pH avoisinant la valeur de 7. Elle est non fermentaire et à respiration obligatoire. La respiration se fait alors par la réduction de différents métaux, comme le manganèse ou encore le fer, que la bactérie utilise comme accepteurs finaux

d'électrons (Alice ; 2012). *Shewanellaoneidensis* peut survivre dans différents milieux environnementaux, comme les eaux douces mais aussi les eaux salées, avec des quantités de Na Cl allant jusqu'à 35g/L. Cependant la bactérie se développe d'avantage dans des conditions de salinité faibles.

Shewanellaoneidensis représente un bon modèle pour étudier les propriétés électrochimique de biofilms électro-actifs en raison de sa capacité à adhérer à des surfaces solides conductrices et ce avec une cinétique rapide. Cette bactérie est également caractérisée par une sécrétion d'un médiateur redox « FLAVINE » qui permet un transfert d'électrons efficace entre les bactéries d'un biofilm (Babauta *et al.*, 2011 ; Pinck , 2014).

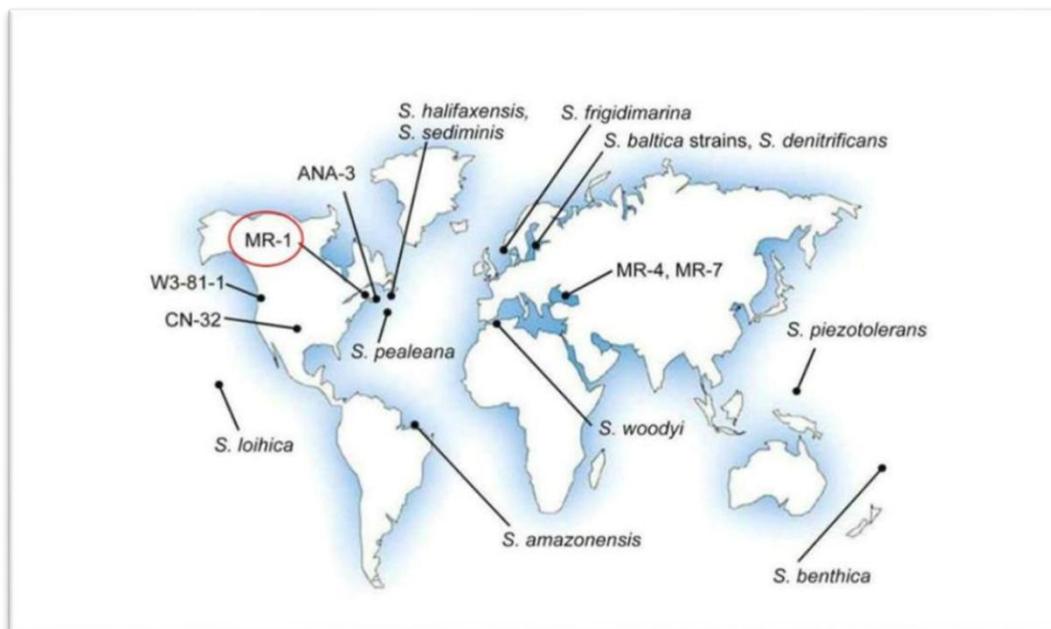


Figure 22: Planisphère associant les différentes souches du genre *Shewanella* et leurs lieux de découverte. «MR-1» correspond à la souche *Shewanellaoneidensis* que nous avons utilisé pour notre étude (Honore, 2017).

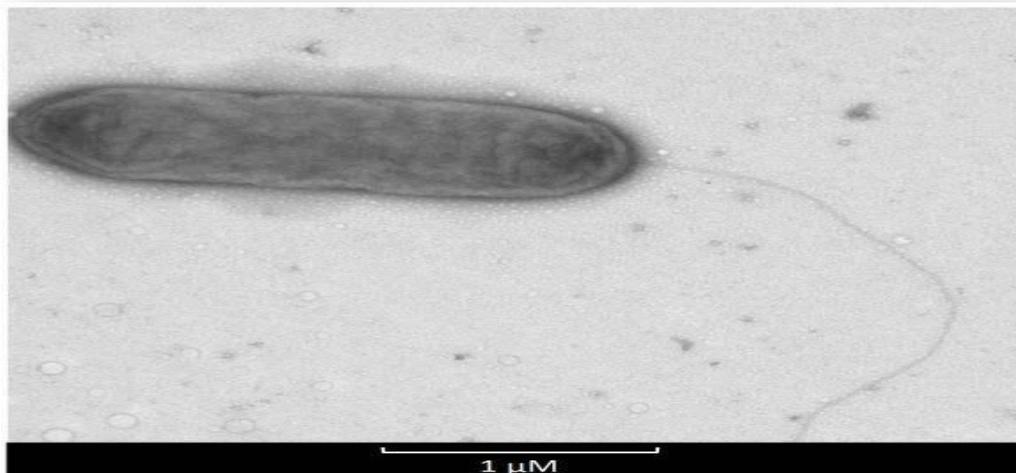


Figure23 : Cellule de *Shewanellaoneidensis* observée par microscopie électronique (Honore, 2017).

S.oneidensis est dotée d'un flagelle polaire qui lui permet de se déplacer vers des milieux plus favorables.

➤ *Exigobactérium*sp.:

Exiguobacterium est un genre de bactéries à Gram positif, souvent pigmentées avec une morphologie variable et qui se trouvent dans divers habitats y compris des environnements extrêmes tels que l'Arctique et les zones très salées comme l'Atacama désert (Castro-Severynet *al.*, 2017).

La première espèce isolée de ce genre était *Exiguobacteriumaurantiacum*. Certaines espèce d'*Exiguobacterium* sont liées à la production d'une enzyme extrême qui est utilisée comme aliment pour la croissance de certaines plantes. En outre, ce genre a une grande capacité à croître sur une large gamme de températures ce qui en fait un modèle pour les études évolutionnistes et biotechnologiques. (Lopez-Cortes *et al.*, 2005).

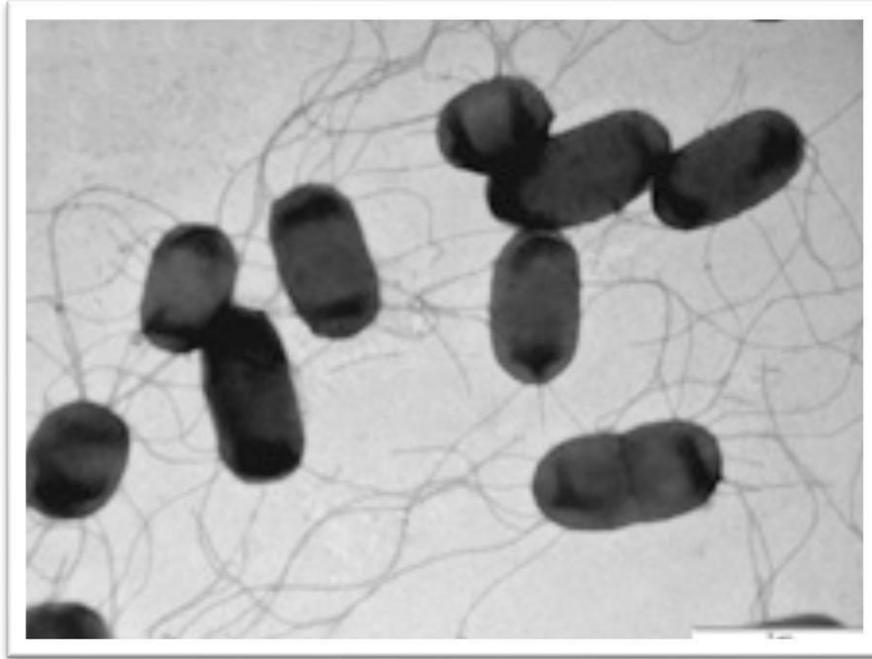


Figure 24 : les cellules d'*Exigobacterium* observé par le microscope électronique (Morgan ,2017).

1.3.Les électrodes

➤ L'anode :

Le choix du matériau de l'anode a été réalisé à partir des recherches scientifiques. Le matériel choisis pour l'anode est la mousse de carbone. Cette dernière est caractérisée par sa biocompatibilité, c'est à dire que les bactéries peuvent se développer par-dessus et former un biofilm à son contact. La mousse de carbone est chimiquement stable dans l'électrolyte (dans ce cas, le milieu de culture même) et son plus grand avantage c'est qu'elle est facile à utiliser (Bouabdalaoui, 2013 ; Dumas, 2007 ; Ketep, 2012).

➤ La cathode :

La cathode est fabriquée par deux éléments principaux : le fil de titane et la plaque de cuivre. Ces deux choix ont été faits pour les raisons suivantes :

- En ce qui concerne le cuivre ;ce métal peut ne pas être le meilleur choix en raison de la possibilité de réagir avec le milieu de culture et d'être également consommé par les

bactéries, notamment la souche MR-1 de *S. oneidensis* connue pour sa capacité à utiliser les métaux. Cependant, le cuivre demeure un excellent conducteur électrique. C'est un métal semi-noble, résistant à l'oxydation et semi-précieux et donc peu chers et disponible sur le marché algérien.

- Pour le fil de titane, ce métal est caractérisé par sa conductivité et son inertie électrochimique. Cette caractéristique en fait le meilleur choix pour de telles manipulations. Cependant, il reste un métal relativement cher.

Le fil de titane a été donc utilisé pour relier la mousse de carbone (anode) à la plaque de cuivre (cathode).

2. Méthodes de travail :

2.1. Isolement des souches bactériennes et culture en aérobiose :

Dans des erlens de 50 ml des précultures de chaque souche ainsi que celle du mélange (Mix) des deux souches, sont réalisées comme suit : **(Figure 25)**

- Premier erlen : 30 ml de milieu LB + la souche *shewanellaoneidensis MRI*.
- Deuxième erlen : 30 ml de milieu LB + la souche *Exiguobacteriumsp.*
- Troisième erlen : 30 ml de milieu LB + le mix (*S.oneidensis MRI*+ *Exiguobacteriumsp.*).

Les précultures sont incubées à 30°C sous agitation à une vitesse de 150 rpm jusqu'à ce que la densité optique (Do) mesurée à 600 nm atteigne 0.3-0.6. Ces valeurs correspondent à la phase exponentielle de la croissance bactérienne, étape pendant laquelle les cellules bactériennes atteignent le maximum de leurs activités métaboliques et biochimiques (Dumas, 2007). Ensuite 100 µl de chaque préculture utilisée pour inoculer de grands volumes (150 ml) de LB qui feront le système électrochimique.



(A)

(B)

Figure 25 : Culture des souches dans le bouillon LB

(A) : Les trois précultures MR-1, *Exiguobacterium* sp. et le Mix (de gauche à droite)

(B) : L'incubation des cultures à 30 °C sous agitation.

2.2. Préparation des bocaux :

Pour le montage de la pile, des bocaux en verre d'un volume d'environ 500 ml ont été utilisés comme récipient du système. Les ustensiles ont été stérilisés dans un four pasteur à une température de 180 °C pendant 1 heure.

2.3. Préparation des électrodes :

Le montage nécessite l'utilisation de deux électrodes :

- a) **L'anode** : Dans des conditions stériles, la mousse de carbone est coupée en morceaux (six morceaux) proportionnellement à la surface de la base du bocal utilisé. Chaque morceau est relié avec un fil de connexion en titane (Figure 26 (A)).
- b) **La cathode** : la plaque de cuivre a été coupée en petits morceaux d'environ 3 cm de longueur et 1 cm de diamètre. Elle est ensuite soudée à l'extrémité du fil de titane à l'aide d'un fer à souder. Cet ensemble représente la cathode (Figure 26 (B)).

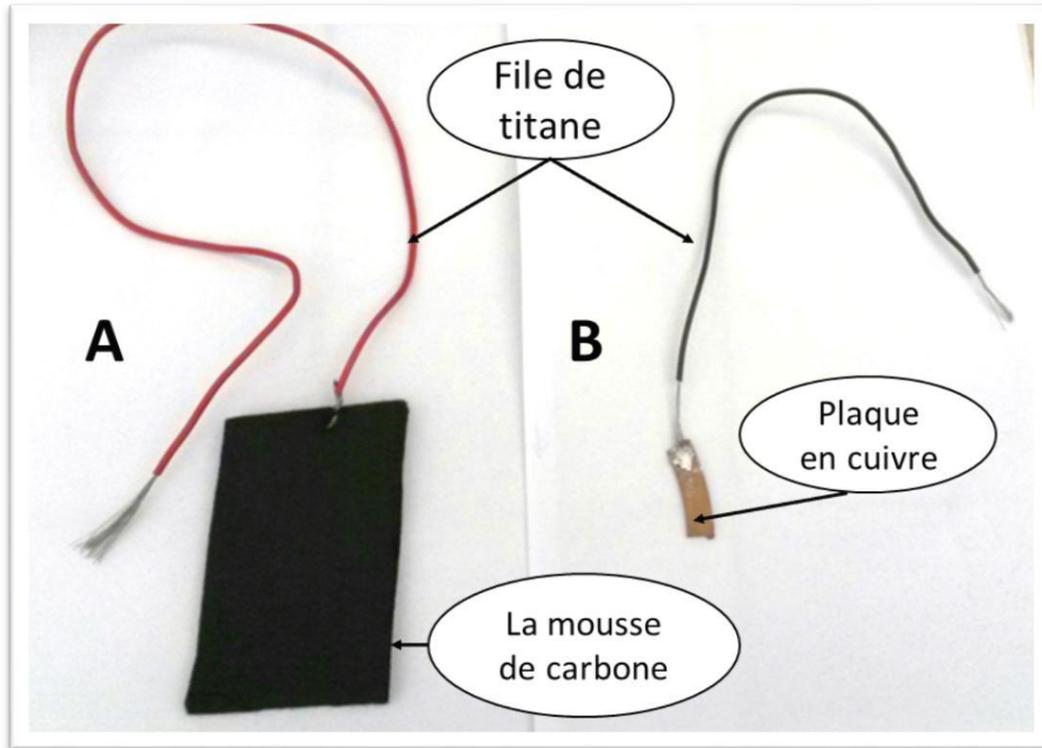


Figure 26 : les deux électrodes utilisées dans le montage

(A) l'anode , (B) la cathode.

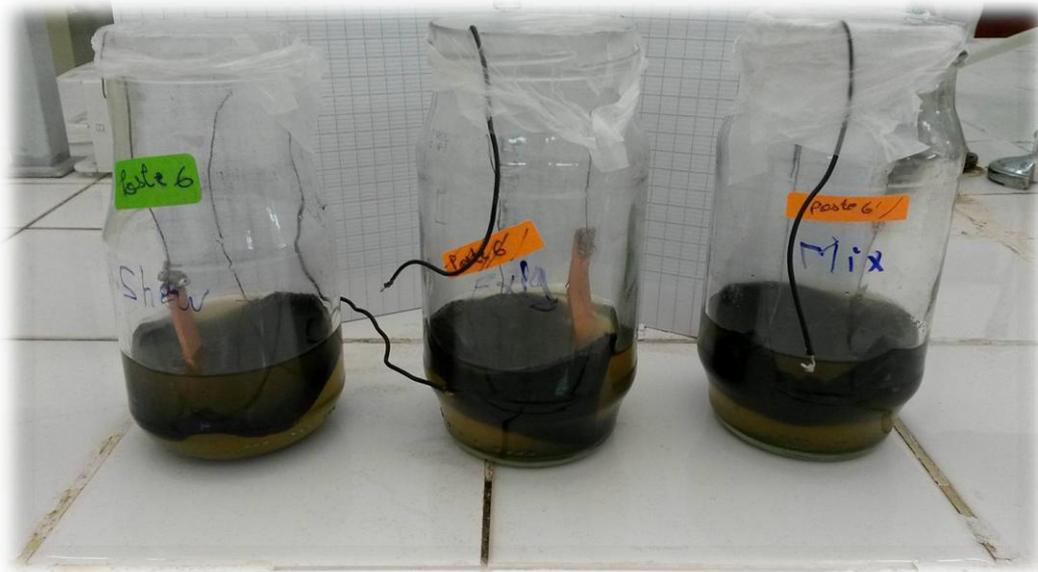
3.L'architecture de la pile microbienne :

- Dans des conditions d'asepsie la mousse de carbone est placée au fond des bocaux en verre. Le fil de titane déjà relié à l'anode est alors attaché au bord de l'ouverture du bocal de verre comme indiqué dans la figure 27 et par le même principe on place la cathode.
- Après la fixation des électrodes, les cultures bactériennes déjà préparées sont versées dans le système. Au total, trois bocaux et donc trois piles semi microbienne (due que la plaque de cuivre est une cathode abiotique) sont construites : *Shewanellaoneidensis MRI*, *Exigobacterium sp.* et le mix des deux souches.
- En utilisant un multimètre, une première mesure du courant est réalisée pour confirmer qu'il n'y a pas de contact direct entre les deux pôles de la pile et donc pour éviter tout éventuel court circuit.
- Finalement, les trois bocaux sont hermétiquement fermés par du parafilm pour éliminer le plus possible le passage d'oxygène (figure 28 (a)).

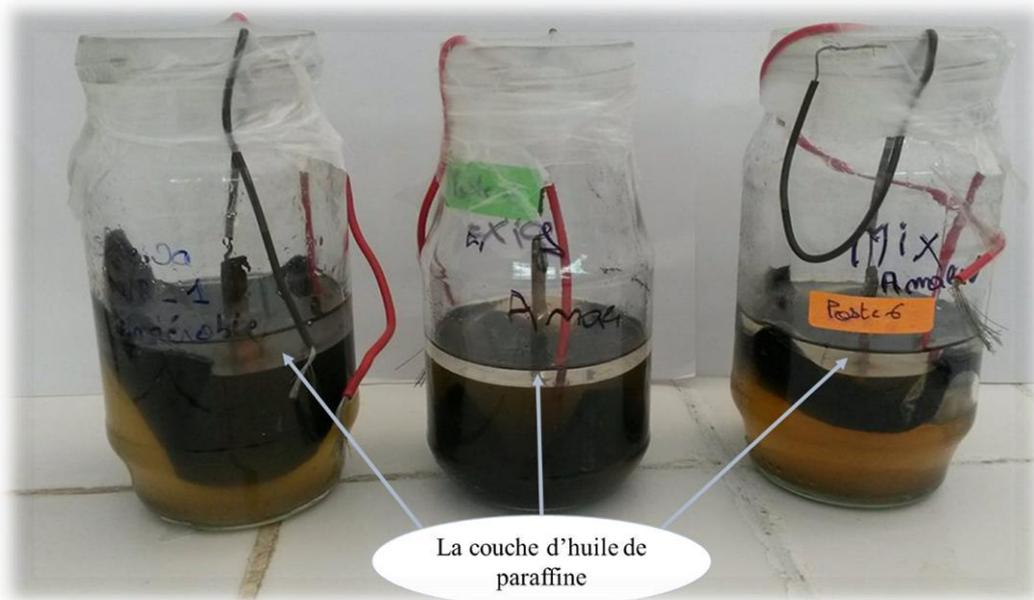


Figure27 : le montage général des électrodes de la pile microbienne.

- Dans une seconde expérience, le même montage est refait en ajoutant une couche d'huile de paraffine (figure 28 (b)). Ceci permet d'isoler les cultures de la zone oxygénée du système dans l'objectif que toutes les réactions biochimiques se déroulent dans des conditions de micro aérobie. les bocaux sont enfin hermétiquement fermés avec du parafilm.



(a)



(b)

Figure 28 : montage final de la pile à combustible semi microbienne

(a) En aérobie

(b) En micro-aérobie

- Dans une troisième expérience, une pile complètement microbienne été réalisé dans le but de compère leur rendement avec les piles semi microbienne ; dans cette pile la plaque de

cuivre qui représente la cathode été remplacé par un petit morceau de la mousse de carbone comme indiqué dans la figure 29.

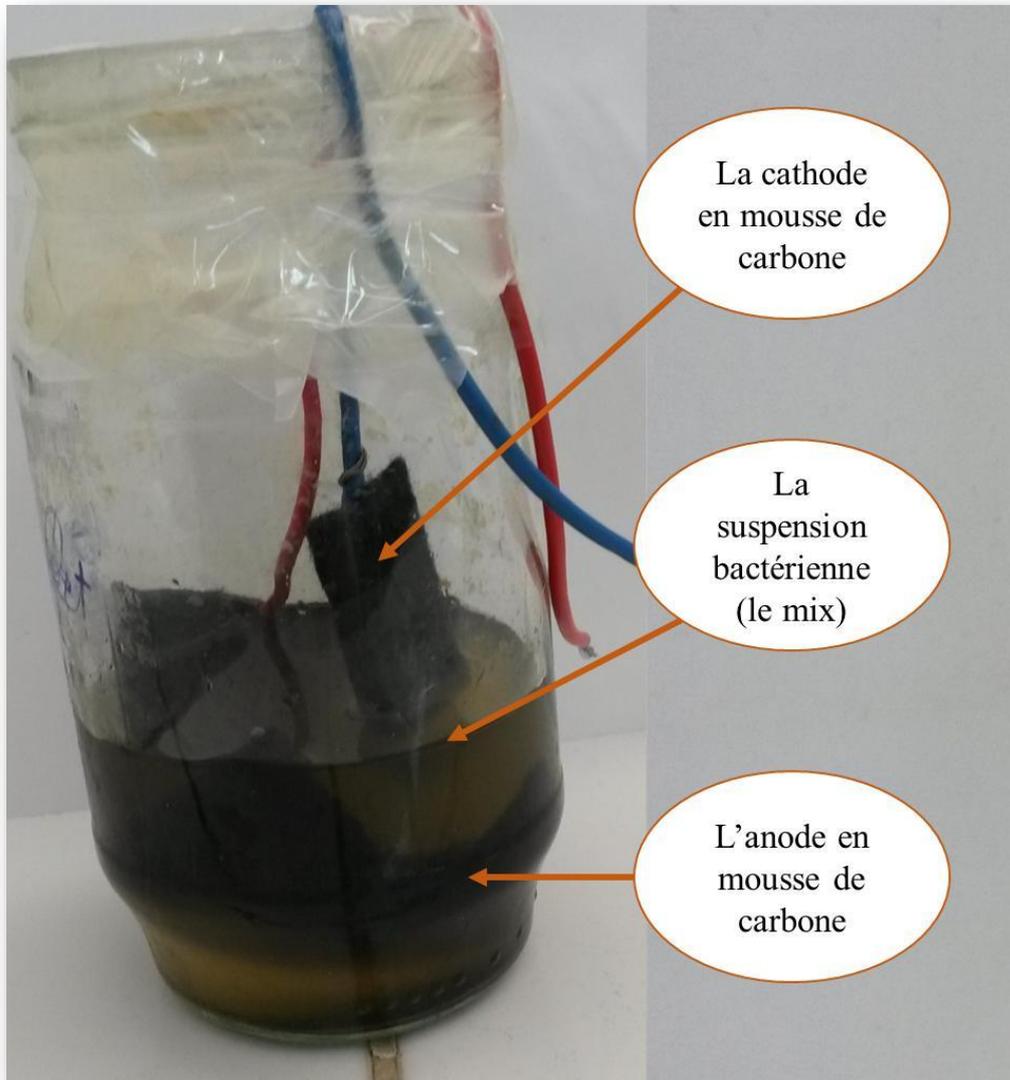


Figure 29 : le montage final de la pile à combustible complètement microbienne.

-Des mesures de voltage de chaque pile sont faites en utilisant un multimètre. Les prises de tension sont réalisées toutes les 24 heures et une courbe de production de courant électrique est ensuite tracée.

Résultats et discussions

Dans l'objectif de trouver une alternative efficace, économique et surtout, écologique aux sources d'énergie non-renouvelables, beaucoup de laboratoires de recherche de part le monde se sont penchés sur l'exploitation des capacités extraordinaires des microorganismes et notamment les bactéries. L'optimisation des piles à combustible microbiennes est devenue alors, une thématique de concurrence entre les chercheurs

De manière conventionnelle, la composition d'une pile à combustible microbienne est comme suit :

- Une cellule électrochimique
- trois électrodes (une électrode de travail, une contre électrode et une électrode de référence). Ces électrodes doivent être constituées d'une matière électrochimiquement stable et compatible.

Le tout, plongé dans un bocal en verre appelé réacteur qui contient un milieu de culture riche. Le milieu de culture est ensuite inoculé par des microorganismes qui sont essentiellement électroactifs. Très souvent, les bactéries utilisées dans de telles expériences appartiennent aux genres *Geobactere* et *Shewanella*. Après la mise en place de ce montage, la création de l'anaérobiose se fait par une injection d'azote (N₂) pendant 20 minutes sous agitation.

Les électrodes sont enfin reliées à un potentiostat pour le lancement des mesures : voltamètre cyclique, chronométrie potentiomètre, chronométrie ampèremètre dans le but de suivre le comportement électrochimique des microorganismes (Bertello, 2016 ; Dumas, 2007 ; ketep, 2012).

Dans notre travail, nous nous sommes fixés comme objectif le montage d'une pile à combustible microbienne avec les moyens disponibles dans nos laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université des Frères Mentouri-Constantine. En effet, en raison du manque de la cellule électrochimiques et les dispositifs de mesure spécialisés, nous avons conçu un montage simplifié (Figure 29).

Pour abordé le sujet, nous nous sommes particulièrement intéressées à la méthode du suivi du comportement électrochimique des microorganismes. Nous avons alors choisi l'utilisation d'un multimètre qui mesure le courant entre les électrodes et détermine ainsi la différence du potentiel. Ce dernier reflète la circulation des électrons libérés suite aux différentes réactions biochimiques élaborées par les cellules bactériennes.

Dans un deuxième temps, Nous avons opté pour l'utilisation de deux électrodes au lieu de trois. L'une est composée de la mousse de carbone (anode) et l'autre d'une plaque de cuivre (cathode). Une série d'essais a permis ensuite d'évaluer à la fois, l'effet des différents supports bactériens sur la production d'électricité ainsi que celui de la présence d'une petite concentration d'oxygène. Le manque de moyens pour la création de l'anaérobiose, nous a obligées de travailler en micro-aérobiose.

Finalement, Six biopiles semi-microbiennes ont été montées : trois en micro-aérobiose et trois en aérobiose total. Le micro-aérobiose a été généré par l'ajout d'une couche de huile de paraffine. Cette dernière avec sa très haute densité bloque l'entrée de toute sorte de gaz y compris l'oxygène. La septième pile représente une pile complètement microbienne où les deux électrodes sont composées de la mousse de carbone.

L'objectif consiste à valider le dispositif expérimental en étudiant le comportement électrochimique en aérobiose et en micro-aérobiose en utilisant :

- *S.oneidensis MRI*.
- *Exiguobacterium sp.*
- Mix (*S.oneidensis MRI* + *Exiguobacterium .sp*).

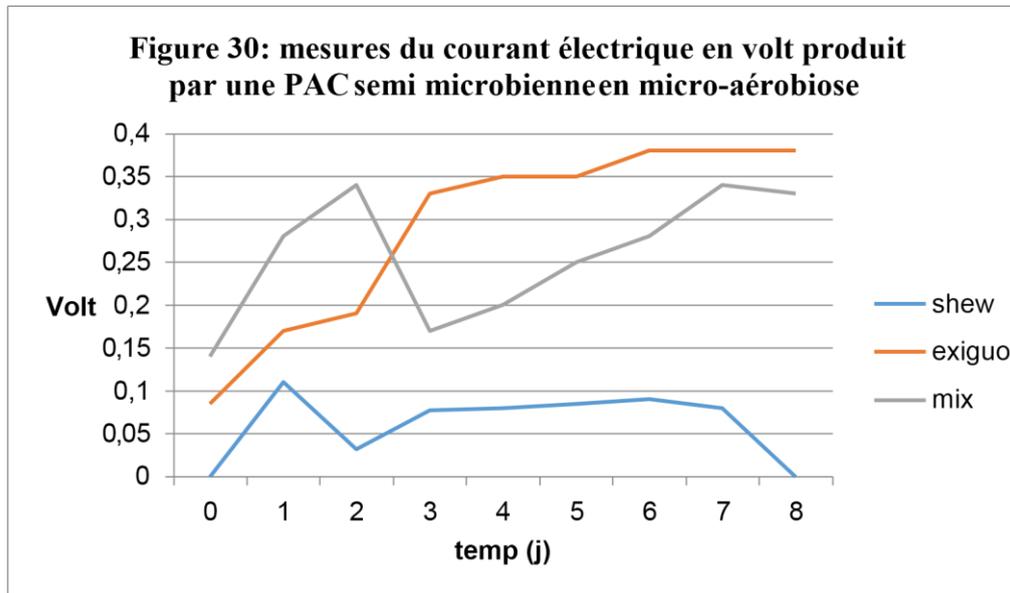
Les mesures des courants électriques ont été alors réalisées sur huit jours et les résultats sont décrits dans les tableaux et les graphes suivants :

1. Résultats obtenus en micro- aérobiose :

Tableau 2 : Mesures du courant électrique en volt produit par une pile à combustible semi microbienne en micro-aérobiose.

Temps	<i>Shewanella MR-1</i>	<i>Exiguobacterium</i>	Mix (volt)
0	0	0.085	0.14
1 jour	0.11	0.17	0.28
2 jours	0.032	0.19	0.34
3 jours	0.077	0.33	0.17
4 jours	Week-end	Week-end	Week-end
5 jours	Week-end	Week-end	Week-end

6 jours	0.09	0.39	0.28
7 jours	0.08	0.38	0.34
8 jours	0	0.38	0.33



Comme le montre le graphe, un courant électrique a été mesuré dès le premier jour aussi bien pour la souche MR1 de *Shewanella* (0,11 V) que pour la souche d'*Exiguobacterium* (0,17 V). Ceci peut être expliqué par le fait que les souches n'ont pas eu besoin de temps d'adaptation au milieu vu qu'elles y étaient déjà cultivées.

Pour la souche MR1, une chute brusque du potentiel a été observée pendant le deuxième jour. C'est le cas de la souche d'*Exiguobacterium* pendant le troisième jour de mesure. Cependant, le courant reprend le jour qui suit. Cette chute du potentiel demeure pour l'instant sans aucune explication.

A partir du troisième jour, la production électrique reprend son cours. Il est très clair sur le graphe que le potentiel produit par la souche MR1 connaît une certaine stabilité jusqu'au septième jour avant de tendre vers le zéro au bout du huitième et dernier jour de mesure. Ceci pourrait être expliqué par la difficulté que rencontre *Shewanella oneidensis* dans la formation des biofilms sur des supports solides (mousse de carbone dans ce cas). En effet, les bactéries du genre *Shewanella* sont très connues pour leur capacité à former des biofilms sur des supports

plutôt liquides (Armitano *et al.*, 2013). La valeur nulle obtenue au dernier jour de mesure pourrait être due à l'épuisement du milieu de culture.

En ce qui concerne la souche d'*Exiguobacterium*, cette souche produit un potentiel presque sept fois plus important que celui produit par la souche MR1 et continue à produire de l'énergie même après le huitième jours. Le fait que cette bactérie soit isolée du Sahara Algérien, ceci pourrait expliquer sa grande résistance aux différents stress. La souche issue d'un milieu pauvre en matière organique et minérale consommerait lentement et efficacement le milieu de culture ce qui pourrait lui permettre de survivre plus longtemps, d'où la production d'électricité au-delà du huitième jour de mesure. En plus, les bactéries appartenant au genre *Exiguobacterium* sont souvent isolées de milieux extrêmes et donc décrites pour leur très grande résistance (CastroSeveryn *et al.*, 2017).

Ce qui concerne le Mix, il est très claire sur le graphe qu'il produit un potentielle important que celui produit par la souche MR1 et continue à produire même après le huitième jours. Vue les résultats obtenus par les souches séparées, il est incontestable que la production d'électricité dans le Mix est surtout due à la souche d'*Exiguobacterium*. Il est probable que cette dernière aide la souche MR1 à mieux résister aux conditions du milieu. En effet, il est connu dans la littérature que les biofilms formés par un mélange de bactéries sont plus résistants en raison de la communication inter-bactérienne qui se crée au sein de ces structures, ce qui pourrait être le cas dans notre montage.

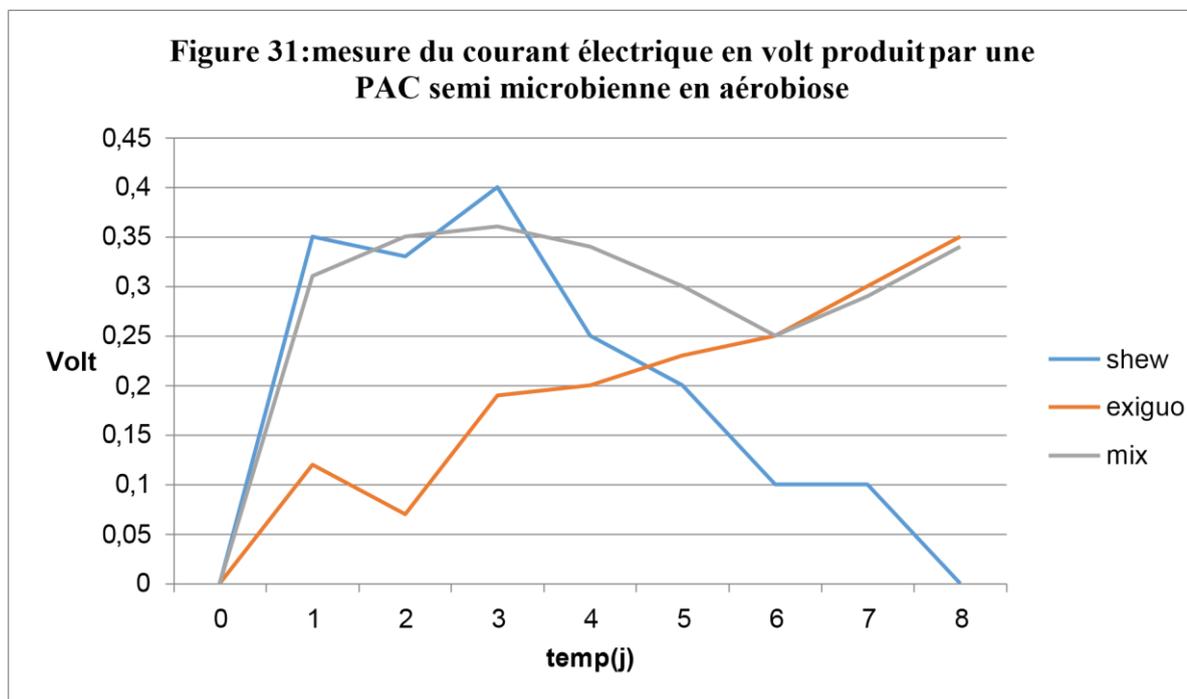
En matière de « quantité » du courant électrique produit dans le cas d'*Exiguobacterium*, la tension de la pile augmente significativement jusqu'à atteindre une valeur maximale de 0.38V Cette phase d'augmentation pourrait être attribuée au développement des biofilms électroacrifs sur l'anode et à la mise en place des mécanismes d'oxydoréduction.

2. Résultats obtenir en aérobiose :

Tableau 3 : Mesures du courant électrique en volt produit par une pile à combustible semi microbienne en aérobiose.

Temps	<i>Shewanella MR-1</i>	<i>Exiguobacterium</i>	Mix (volt)
0	0	0	0

1 jour	0.35	0.12	0.31
2 jours	0.33	0.07	0.35
3 jours	0.40	0.17	0.36
4 jours	Week-end	Week-end	Week-end
5 jours	Week-end	Week-end	Week-end
6 jours	0.1	0.25	0.25
7 jours	0.1	0.30	0.29
8 jours	0	0.35	0.34



Comme le montre le graphe, dans ce cas également un courant électrique a été mesuré dès le premier jour aussi bien pour la souche MR1 de *Shewanella* (0,35 V) que pour la souche d'*Exiguobacterium* (0,12 V) et le Mix (0,32V).

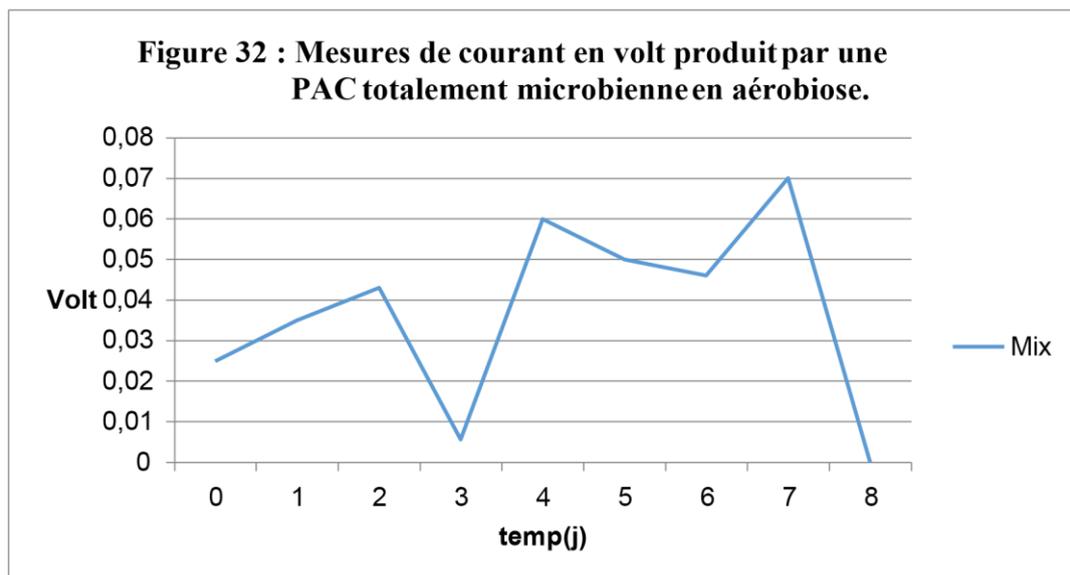
D'une manière inattendue, le comportement des trois compositions bactériennes en aérobiose était complètement semblable à ce qui a déjà été observé en micro-aérobiose. Il est mentionné dans la littérature que la présence de l'oxygène influence négativement le rendement des piles à combustible microbienne. L'O₂ prend en effet le rôle de l'accepteur final d'électrons et empêche ainsi le passage des électrons vers les électrodes. Dans notre cas, la présence d'oxygène n'a pas significativement influencé les résultats. Il se pourrait que notre méthode de créer

l'anaérobiose (couche de paraffine) ne soit pas très efficace et que les valeurs de voltage obtenu ne reflètent que le peu d'électrons échappés de l'O₂. Cette probabilité pourrait aussi expliquer les faibles quantités du courant produit.

3. Résultats obtenus de la pile complètement microbienne

Tableau 4 : mesures du courant électrique en volt produit par une pile à combustible totalement microbienne en aérobiose.

Temps	Mix (volt)
0	0.025
1 jour	0.035
2 jours	0.043
3 jours	0.057
4 jours	Week-end
5 jours	Week-end
6 jours	0.046
7 jours	0.07
8 jours	0



Pour tester la pile complètement microbienne, nous avons choisi le Mix des deux souches car il donnait les meilleurs résultats. Nous avons alors observé une production de courant électrique beaucoup plus faible à ce qui a été obtenu avec les piles semi-microbienne et dans les deux conditions de montage. La valeur du voltage n'a pas ainsi dépassée les 0,07 V. Il a été également observé plusieurs phases de perturbations où le courant électrique augmentait et diminuait de manière très fluctuante.

Il est probable que le fait que les deux électrodes soient formées de mousse de carbone ralentie le passage des électrons d'une part à l'autre du montage. La conductivité du cuivre demeure en effet beaucoup plus importante que celle de la mousse de carbone. Il serait très intéressant de pouvoir tester ce type de pile au-delà du huitième jour. Dans ce cas, la présence d'un système d'alimentation en milieu et en azote serait indispensable.

*Conclusion générale et
perspectives*

Conclusion Et Perspective

Ce travail de projet de master a été consacré à la conception de piles à combustible microbiennes pour la production d'électricité par l'utilisation de deux bactérie électro actives : *Shewanella oneidensis* la souche MR-1 et *Exiguobacterium* sp.

Nous avons pu concevoir un nouveau montage de la pile à combustible microbienne adapté à nos moyens tout en gardant le principe général du montage conventionnel.

La bactérie *Exiguobacterium* sp. Permet d'atteindre de très bonnes densités de courant en pile semi- microbienne soit en micro aérobiose (0.35V) ou en aérobioses (0.38 V) par rapport à la souche *S.oneidensis* MR-1 qui donne une tension faible en micro aérobiose (0.1 V) ou en aérobiose (0.077 V).

Le mélange entre les deux souches des bactéries donne de meilleurs résultats que l'utilisation d'une seule souche

Ce travail n'est qu'une ébauche pour d'autres expérimentations plus approfondies.

- Il serait important de tester de nouvelles gammes de milieu en augmentant la concentration en sel. En effet, la souche *Exigubacterium* est connue pour sa résistance à la salinité et la présence de fortes concentrations en sel pourrait favoriser le passage des électrons entre les électrodes.
- Il serait indispensable d'isoler des souches de sahara car elles ont une importance résistance
- D'utiliser des électrodes couvertes de nanotube de carbone ; l'utilisation d'électrodes modifiées est également une approche possible pour augmenter les interactions entre les cultures et l'électrode de travail.
- Enfin, De renouveler le milieu de culture régulièrement pour tester la capacité des bactéries produire un courant de plus en plus élevé.

*Les références
bibliographiques*

A

Adekunle, A. (2014). Performance in a single chamber air cathode microbial fuel cell. mémoire master of science: bioresource engineering in the faculty of agricultural and environmental sciences. Montreal: McGill university, Montreal, p104. Disponible sur: http://digitool.library.mcgill.ca/webclient/streamgate?Folder_id=0&dvs=1523281425585~383 (page consultée le 08/04/2018)

Arabet ,D ; Tempel ,S ; Fons, M ;Denis ,Y ;Jourlin-Castelli, C ; Armitano, J ;Redelberger ,D ;Iobbi-Nivol ,C ;Boulahrouf, A ; Méjean ,V.(2014).Effects of a sulfonyleurea herbicide on the soil bacterial community. Environ Sci Pollut Res Int.

Arabet, D ; Méjean, V. (2018). Evaluation of the bacterial biodiversity of the Algerian desert soil. Article soumis.

Armitano, J ; Méjean, V ;Jourlin-Castelli, C.(2013). Aerotaxis governs floating biofilm formation in *Shewanella oneidensis*. Environ Microbiol. 2013

B

Babauta, JT; Nguyen, HD; Beyenal, H. (2011).Redox and pH Microenvironments within *Shewanella oneidensis* MR-1 Biofilms Reveal an Electron Transfer Mechanism. Environ Sci Technol,45(15): 6654–6660. (Page consultée le 05/05/2018)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3238545/>

Barbolla, J.Énergies renouvelables, [en ligne] (page consultée le 24/03/2018)

<https://prezi.com/ixy5oezqjzen/energie-renouvelables/>

Bedu, E.Golli, A. Quinio, P.Abdul Aziz, J. (2014). Pile à combustible et production de H₂ à partir d'un panneau solaire .Rapporte du projet P6 sujet 39 (26/05/2014) :Insa Rouen - Institut National Des Sciences Appliquées , 43p . (Page consultée le 28/03/2018). Disponible sur :https://moodle.insarouen.fr/pluginfile.php/41749/mod_folder/content/0/Rapport_P6_2014_39.pdf?Forcedownload=1

Bengharnit, M. (2015). Mise en oeuvre de la chronoampérométrie et de la voltamétrie cyclique pour la conception d'une pile à combustible microbienne. Mémoire Magister : Electronique. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, 127p. (page consultée le 06/04/2018). disponible sur : http://www.univ-usto.dz/theses_en_ligne/doc_num.php?Explnum_id=1456

Bergel, A. (2012). Les piles à combustible à micro-organismes. Laboratoire de Génie Chimique, CNRS, plan national de formation, séminaire national, 23-24 mai 2012, Paris, 43p. (Page consultée le 22/03/2018). Disponible sur : <https://www.fondationlamap.org/sites/default/files/upload/media/minisites/EIST/PDF/Piles%20C3%A0%20Combustible%20C3%A0%20Micro-organismes.pdf>

Bertello, B. (2015). Approche électrochimique du métabolisme bactérien .Rapporte de stage de recherche .génie biologique /biotechnologie .Marseille université.37p

Brull , A. (2012). Journée Académique de l'Union des Professeurs de Physique et de Chimie. Les piles à combustible, institut de chimie de la matière condensée de Bordeau , 03/10/2012, France , 77p .consultée le (24/03/2018). Disponible sur : <http://bordeaux.udppc.asso.fr/telechargement/2012%20Journee%20de%201%27udppc%20-%20Annelise%20Brull.pdf>

Bouabdalaoui.L. (2013) .Etude de matériaux d'anodes à base de graphite modifiée par des composés fer-soufre: applications aux piles à combustible microbiennes. Thèse de doctorat : chimie. Université Evry val d'Essonne 209p. Disponible sur : <http://www.theses.fr/2013EVRY0011>

C

Connaissances des énergies. (Page consultée le 13/04/2018)[Photo], Parc éolien français.
In : <https://www.connaissancedesenergies.org/fiche-pedagogique/parc-eolien-francais>

Corbière, T. (2009). Quels sont les avantages de l'utilisation des sources d'énergie non renouvelables. RTS découverte science [en ligne] 1(1). (Consultée le 15/03/2018). <https://www.rts.ch/decouverte/sciences-et-environnement/environnement/4641531>

D

De Almeida Cournet, A. (2010). Etude de la catalyse microbienne de la réduction électrochimique du dioxygène .thèse de doctorat : Ingénieries Microbienne et Enzymatique. L'Université Toulouse III – Paul Sabatier ,152p. (Page consultée le 20/04/2018). Disponible sur : http://thesesups.ups-tlse.fr/958/1/De-Almeida_Cournet_Amandine.pdf.

Debuy, S. (2015). Développement de cathode microbienne canalisant la réduction du dioxygène . Thèse de doctorat : Génie des Procédés et de l'Environnement : Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse), 228p. (Page consultée le 10/03/2018). Disponible sur : <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00003036/01/debuy.pdf>.

Dumas, C. (2007). Catalyse électro-microbienne dans les piles à combustible. Thèse de doctorat : Génie des Procédés et de l'Environnement : École doctorale Transferts Dynamiques Fluides et Procédés, 177p. (Page consultée le 18/03/2018). Disponible sur : <http://ethesis.inptoulouse.fr/archive/00000617/01/dumas.pdf>

G

Gay, E. (2016) panorama des énergies renouvelable en régions Grand Est. (Bilan année 2015). Service aménagement, énergies renouvelables (consultée le 25/03/2018) .disponible sur : Http://www.grand-est.developpement-durable.gouv.fr/IMG/pdf/panorama-enr_2016.pdf

Gil, E. (2018).énergies . Organisation Mondiale pour la Protection de l'Environnement [en ligne], (consultée le 16/03/2018).<http://www.ompe.org/theme/lenergie/>

Guillet, J., Guérin, Y. (2008). Les combustibles nucléaires. Une monographie de la Direction De l'énergie nucléaire : Département d'études des combustibles (consultée le 21/03/2018). Disponible sur : http://www.nti.org/media/pdfs/135-Fr.pdf?_id=1317070655

H

Hazotte, A. (2012).. Rapport de stage : Cinétique de l'utilisation microbienne du di-hydrogène sous hautes pressions : université de lorraine, 35p. (Page consultée le 01/05/2018).Disponible sur : http://docnum.univ-lorraine.fr/public/BUS_M_2012_HAZOTTE_ALICE.pdf

Hydrostadium groupe edf(page consultée le 15/03/2018)[figure].principes et enjeux : hydroélectricité, [enligne],In : <http://www.hydrostadium.com/ingenierie-hydroelectrique/enjeux-amenagement-hydroelectrique>

Honoré, F. (2017). Étude du chaperon moléculaire Hsp90 chez la bactérie modèle *Shewanella oneidensis*. Thèse de mémoire : Sciences de la Vie et de la Terre : École pratique des hautes études, 209p. (Page consultée le 24/04/2018).Disponible sur : <https://hal-ephe.archives-ouvertes.fr/hal-01623417/document>

K

Ketep , F. (2012).Piles à combustible microbiennes pour la production d'électricité couplée au traitement des eaux de l'industrie papetière[en ligne]. Thèse de doctorat : Matériaux, Mécanique, Génie civil, Electrochimie : Université de Grenoble, 317p .(page consultée le10/03/2018).

Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00872058/document>

L

Latrache, M. (2012). Commande Floue de la Machine Synchrone à Aimant Permanent (MSAP) utilisée dans un système éolien. Mémoire Magister : Commande Electrique. Université Ferhat Abbas de Setif. 128p. In : <http://www.univsetif.dz/MMAGISTER/images/facultes/TEC/2012/LATRECH E%20Mohammed%20Tahar.pdf>.

Legard , V., Sidler ,O., Letz ,T., Couturier,C., Rialhe , A., Stephano ,P ., Bonduelle ,A., Metivier ,S., Marignac ,Y .(2012). Vers Un SystemeEnergetique « 100% Renouvelable » .Rapporte de stage : Scénario et plans d’actions pour réussir la transition énergétique en Région Provence-Alpes-Côte d’Azur. Institut négawatt, Enertech, Solagro, Aere, Wise-Paris, E&E. 412p. Disponible sur : http://www.institutnegawatt.com/fichiers/autres_documents/120719_Partie3_resultats_sc enariopaca.pdf

Livane, N. (2016). Le renouvelable.energie renouvelable 101[en ligne]. (16/03/2018). <https://www.linkedin.com/pulse/le-renouvelable-livane-n-bouedy/>

M

Malvankar, NS., Lovley, DR(2014).Microbial nanowires for bioenergy applications. Current Opinion in Biotechnology. 27., 88-95.

Marien, S. Principe d’un chauffe-eau électro solaire. (2016). [figure] In : energy panel. Disponible sur : <http://energypanel.net/blog/lenergie-solaire-thermodynamique/>.

O

Oliot, M. (2017). Bio-ingénierie pour les piles à combustible microbiennes. Thèse de doctorat : Génie des Procédés et de l'Environnement. Institut National Polytechnique de

Toulouse ,301p.(page consultée le 27/03/2018). Disponible sur : http://oatao.univ-toulouse.fr/18425/1/OLIOT_Manon.pdf

P

Pinck, S ;(2014). Elaboration d'un biofilm artificiel électroactif [en ligne].mémoire de master deux : microbiologie environnementale et sanitaire : Université de Lorraine;77p. (page consultée le10/03/2018).Disponible sur : http://docnum.univlorraine.fr/public/BUS_M_2014_PINCK_STEPHANE.pdf

Pocaznoi, D.(2012). Optimisation d'anodes microbiennes à partir de lixiviat de sol pour la conception de piles à combustible microbiennes. Thèse de doctorat : Génie des Procédés et de l'Environnement. Institut National Polytechnique de Toulouse ,224p. (Page consultée le 27/03/2018). Disponible sur : <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00001935/01/pocaznoi.pdf>

R

Rytfot, .C., Groupe ABB. Énergie Solaire.76.2/15 (consultée le 21/03/2018).disponible sur : https://library.e.abb.com/public/7f87f9eae20c4a46990a1eedb141ab3a/Revue%20ABB%20-2015_72dpi.pdf

V

Vincent, M. Les aérogénérateurs à axe vertical du la région Alsace-Champagne-Ardenne-Lorraine en France. (2017).[photos] In : Greentechjournal.disponible sur: <https://www.greentechjournal.fr/engie-publiera-donnees-parc-eolien-open-data/>

W

Wikipédia (2017) . les énergies non renouvelable [en ligne].(page consultée le 08/03/2018).https://fr.wikipedia.org/wiki/%C3%89nergie_non_renouvelable

Wikimedia commons. File:Total World Energy Consumption by Source 2010. [figure] In: Wikimedia. (Page consultée le 28/03/2018).Disponible sur:https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Total_World_Energy_Consumption_by_Source_2010.png

Z

Zhao, C., Gai, P., Song, R., Chen, Y., Zhang, J., Zhu, J.(2017).Nanostructured material-based biofuel cells: recent advances and future prospects, 46 (5) , 1545-1564

Résumé

Élaboration d'une pile à combustible microbienne en utilisant les souches *Shewanella oneidensis* MR1 et *Exiguobacterium sp.*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie moléculaire des Microorganismes

Les piles à combustible microbiennes sont des systèmes bio-électrochimiques qui assurent la transformation de l'énergie chimique contenue dans des composants organiques, en énergie électrique à partir des réactions d'oxydo-réduction. Ce processus est assuré par des microorganismes organisés dans un biofilm jouant ainsi le rôle de biocatalyseurs. Les microorganismes, particulièrement les bactéries, libèrent des protons et des électrons qui peuvent être transférés aux électrodes.

Dans ce travail, les expériences ont été effectuées en dispositif électrochimique semi-microbien sur les souches électro actives : *Shewanella oneidensis* MR-1 et *Exiguobacterium sp.* en micro-aérobiose et en aérobiose. Les résultats ont montré que *Exiguobacterium sp.* produit un potentiel presque sept fois plus important que celui produit par la souche MR1. Ceci pourrait être dû à la résistance d *Exiguobacterium* et la difficulté que rencontre *Shewanella oneidensis* dans la formation des biofilms sur des supports solides.

Une seconde expérience effectuée par la réalisation d'une pile à combustible complètement microbienne par l'utilisation d'un mix entre les deux souches, suggère que le potentiel produit par la pile à combustible semi-microbienne est plus important par rapport au potentiel produit par la pile à combustible complètement microbienne. La conductibilité de la plaque de cuivre favorise la circulation des électrons mieux que la mousse de carbone.

Ce travail n'était qu'un début pour d'autres expériences. Il serait très intéressant d'améliorer la rentabilité de notre système électrochimique et de mieux comprendre l'interaction entre nos deux souches d'intérêt. Les bactéries isolées à partir du Sahara Algériens semblent être une bonne cible pour optimiser ce genre de pile à combustible.

Mots clés : Pile à combustible microbienne, *Shewanella oneidensis* MR 1 , *Exiguobacterium sp.*, Biofilm
Electroactivité, Energie , Electrodes

Laboratoire de recherche : Laboratoire 14 de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université des Frères Mentouri-Constantine.

Jury d'évaluation :

Président du jury : M. DEHIMAT LAID (Professeur - UFM Constantine),
Examineur : Mme. BENKAHOUL MALIKA (MCB - UFM Constantine).

Date de soutenance : 21/06/2018

Abstract:

Microbial fuel cells are bio-electrochemical systems that transform the chemical energy contained in organic components into electrical energy from oxidation-reduction reactions. Microorganisms that are able to provide this process are usually organized in a biofilm where they play the role of biocatalysts. In the fuel cell technology, microorganisms, especially bacteria, release protons and electrons that can be transferred to the electrodes.

In this work, the experiments were carried out in semi-microbial electrochemical device using the electroactive strains: *Shewanella oneidensis* MR-1 and *Exiguobacterium sp.* in micro-aerobiosis and aerobiosis media. The results showed that *Exiguobacterium sp.* produces a potential almost seven times greater than that produced by the MR1 strain. This may be due to the high resistance of *Exiguobacterium* to bad conditions and the difficulty encountered by *Shewanella oneidensis* in the formation of biofilms on solid supports.

A second experiment was carried out by the realization of a completely microbial fuel cell by the use of a mix between the two strains, suggests that the potential produced by the semi-microbial fuel cell is more important compared to the potential produced by the completely microbial fuel cell. This may be explained by the possibility that copper plate provides more conductivity to the flow of electrons than carbon foam.

This work was just the beginning for other experiences. It would be very interesting to improve the profitability of our electrochemical system and better understand the interaction between our two strains of interest. Bacteria isolated from the Algerian Sahara seem to be a good target to optimize this kind of fuel cell.

Keywords: Microbial fuel cell, *Shewanella oneidensis* MR 1, *Exiguobacterium sp.*, Biofilm Electroactivity, Energy, Electrodes.

ملخص :

خلايا الوقود الميكروبية هي عبارة عن أنظمة بيوكيميائية حيوية توفر طاقة كهربائية ، من خلال الطاقة الكيميائية المتواجدة في المكونات العضوية عن طريق سلسلة من تفاعلات الأكسدة و الأرجاع التي تتم بواسطة الكائنات الدقيقة متجمعة في غشاء حيوي الذي يلعب دور المحفز الحيوي، من خلال تحرير البروتونات والإلكترونات التي يمكن نقلها إلى الأقطاب الكهربائية .

في هذا العمل ، أجريت التجارب في جهاز كهروكيمياوي شبه ميكروبي في وسط الهوائي و اخرى تركيز اوكسجين به ضعيف على سلالتين نشطة كهربائيا :

(1) *Shewanella oneidensis* MR-1

(2) *Exiguobacterium* sp.

أظهرت النتائج أن السلالة (2) تنتج ما يقرب من سبعة أضعاف ما أنتجته سلالة (1) قد يكون هذا بسبب نظرا لقوة تحمل سلالة (2) إضافة الى ما تواجهه السلالة (1) من صعوبة في تشكيل الأغشية الحيوية على دعائم صلبة.

تفيد التجربة الثانية التي تم إجراؤها عن طريق تحقيق خلية وقود ميكروبية بالكامل باستخدام مزيج بين السلالتين أن القدرة التي تنتجها خلية الوقود شبه الميكروبية أكبر مقارنة بالإمكانات التي تنتجها خلية الوقود الميكروبية بالكامل. إن توصيل اللوح النحاسي يعزز تدفق الإلكترونات بشكل أفضل من رغوة الكربون.

كان هذا العمل مجرد بداية لتجارب أخرى. سيكون من المثير للاهتمام للغاية تحسين مردودية نظامنا الكهروكيمياوي وفهم أفضل للتفاعل بين سلالتين. يبدو من خلال هذه التجارب أن البكتيريا المعزولة من الصحراء الجزائرية هدف جيد لتحسين هذا النوع من خلايا الوقود .

الكلمات المفتاحية : خلية الوقود الميكروبي , غشاء الحيوي , نشاط كهربائي , سلالة , الطاقة , الأقطاب الكهربائية .

Élaboration d'une pile à combustible microbienne en utilisant les souches *Shewanella oneidensis* MR1 et *Exiguobacterium sp.*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie moléculaire des Microorganismes

Les piles à combustible microbiennes sont des systèmes bio-électrochimiques qui assurent la transformation de l'énergie chimique contenue dans des composants organiques, en énergie électrique à partir des réactions d'oxydo-réduction. Ce processus est assuré par des microorganismes organisés dans un biofilm jouant ainsi le rôle de biocatalyseurs. Les microorganismes, particulièrement les bactéries, libèrent des protons et des électrons qui peuvent être transférés aux électrodes.

Dans ce travail, les expériences ont été effectuées en dispositif électrochimique semi-microbien sur les souches électro actives : *Shewanella oneidensis* MR-1 et *Exiguobacterium sp.* en micro-aérobiose et en aérobiose. Les résultats ont montré que *Exiguobacterium sp.* produit un potentiel presque sept fois plus important que celui produit par la souche MR1. Ceci pourrait être dû à la résistance d *Exiguobacterium* et la difficulté que rencontre *Shewanella oneidensis* dans la formation des biofilms sur des supports solides.

Une seconde expérience effectuée par la réalisation d'une pile à combustible complètement microbienne par l'utilisation d'un mix entre les deux souches, suggère que le potentiel produit par la pile à combustible semi-microbienne est plus important par rapport au potentiel produit par la pile à combustible complètement microbienne. La conductibilité de la plaque de cuivre favorise la circulation des électrons mieux que la mousse de carbone.

Ce travail n'était qu'un début pour d'autres expériences. Il serait très intéressant d'améliorer la rentabilité de notre système électrochimique et de mieux comprendre l'interaction entre nos deux souches d'intérêt. Les bactéries isolées à partir du Sahara Algériens semblent être une bonne cible pour optimiser ce genre de pile à combustible.

Mots clés : Pile à combustible microbienne, *Shewanella oneidensis* MR 1 , *Exiguobacterium sp.*, Biofilm
Electroactivité, Energie , Electrodes

Laboratoire de recherche : Laboratoire 14 de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université des Frères Mentouri-Constantine.

Jury d'évaluation :

Président du jury : M. DEHIMAT LAID (Professeur - UFM Constantine),
Examineur : Mme. BENKAHOUL MALIKA (MCB - UFM Constantine).

Date de soutenance : 21/06/2018