



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث 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 و الحياة

Département : Microbiologie قسم : ميكرو وولوجيا.

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 :

**Amélioration du rendement d'une pile à combustible microbienne en utilisant
une souche apparentée à *Exiguobacterium sp.* Isolée du Sahara Algérien.**

Présenté et soutenu par : *BENYANET Maroua*
MAHDI Rokia

Le : 11 /07/2019

Jury d'évaluation :

Président du jury : *ARABET Dallel* (MCA- UFM Constantine).

Rapporteur : *SEDIRA Sofiane* (MCB- UFM Constantine).

Examineurs : *BENKAHOUL Malika* (MCB- UFM Constantine).

Année universitaire
2018- 2019

Tables de matière

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces.....	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Résumé.....	
Introduction générale.....	1
Chapitre 1 : L'énergie	
1. Définitions de l'énergie :	3
1.1 L'énergie renouvelable :.....	3
1.1.1 L'énergie solaire :.....	3
1.1.2 L'énergie éolienne :.....	4
1.1.3 L'énergie géothermique :	4
1.1.4 L'énergie hydraulique :	4
1.1.5 La biomasse :.....	5
1.2 Les énergies non renouvelables :.....	5
1.2.1 L'énergie fossile :.....	5
1.2.2 L'énergie nucléaire :.....	5
Chapitre 2 : La pile à combustible microbienne	
1. Notion de pile :	7
2. Pile à combustible :	7
3. Notion de la pile à combustible microbienne :	8
4. Historique de la pile à combustible microbienne :	8
5. Les constituants d'une pile à combustible microbienne :.....	9
5.1 Les composants de l'anode :	9
5.2 Les composants de la cathode :	9
5.3 Le substrat :	10
5.4 La membrane échangeuse d'ions :	10
5.5 L'inoculum de la PACM :	10
6. Le mécanisme des PACMs :	10
7. Les applications de la PACM :	12
Chapitre 3 : Le biofilm	

1. Notion de biofilm :	13
2. Les étapes de la formation du biofilm :	14
3. Le quorum sensing :	15
4. Les biofilms électro actifs :	16
Chapitre 4 : Matériels et Méthodes	
1. Matériels :	17
1.1 La cathode :	17
1.2 L'anode :	18
1.3 La souche :	18
1.4 Le milieu de culture :	19
2. Méthodes de travail :	20
2.1 Isolement et culture de la souche bactérienne :	20
2.2 Préparation des PACM :	21
2.2.1 Surface de la mousse de carbone	24
2.3 Mesure du courant électrique	24
Chapitre 5 : Résultats et discussions	
1. Comparaison du potentiel électrique du premier et du deuxième montage :	27
2. Variation du potentiel électrique en fonction de la surface de la mousse de carbone :	29
Conclusion générale et perspectives	32
Références bibliographiques	32

Remerciements

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

Remerciements

Tout d'abord, Merci à notre grand dieu qui nous a donné la volonté et le courage pour terminer ce travail.

*C'est un agréable plaisir pour nous d'expliquer nos remerciements à Madame **ARABET DALLEL**, pour ses efforts, sa grande patience et ses conseils judicieux.*

*Un spécial remerciement à notre encadrant, Mr. **SÉDIRA SOFIANE**, pour avoir accepté de diriger ce travail ainsi que pour sa disponibilité.*

*A madame **BENKEHOUL MALIKA** docteur à l'Université des Frères Mentouri Constantine1, merci d'avoir accepté d'examiner notre humble travail.*

*Nous voudrions remercier également tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'accomplissement de ce travail et en particulier : les ingénieurs du laboratoire 11 du département de Microbiologie, pour leur serviabilité et leur gentillesse et en particulier **Mouna**.*

Dédicaces

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

Mes parents : ma mère et mon père, qui m'ont toujours soutenue et encouragée, et que je ne remercierai jamais assez. Il est évident que je ne serais jamais arrivée jusqu'ici sans vous.

*A ma petite sœur **ASMA**, Le secret de la joie dans ma vie.*

*A mon frère **NAOUFEL**, que dieu le protège.*

*A toute ma grande famille spécialement mes cousines :
**SARA, ANFEL, NESRINE, AFINANE, IKHLAS,
HADJER.***

*Une spéciale dédicace à ma chère et unique amie
YOUSRA, merci pour cette belle amitié.*

*A toute la promotion **BMM 2019**.*

Sans oublier mes enseignants qui m'ont soutenue durant toutes mes années d'études.

ROKIA MAHDI

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes chère parent, ma mère et mon père, pour leurs encouragements, leur patience illimitée et pour leurs sacrifices. Je vous aime trop.

*A mes deux sœur, mes fleurs dans cette vie :
Amina et Chaima, pour leur grand amour et leur soutien.*

*A mon unique frère **Ayoub***

*Une spéciale dédicace aux maris de mes sœurs :
Youssef et Sami, pour leur soutien inconditionnel.*

*Une grande dédicace à mes chères cousines **Amira, Louiza, Safia, Amel, Imane et Bouchra** mes amis et toute la promotion **BMM** de l'année **2018/2019***

A toute ma famille et à tous ceux que j'aime

Maroua Benyanet

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1 : Ferme solaire de 6MWsur terrain de 11 Ha dans la Drôme, en France, installée en 2011(durée d'exploitation prévue : 30 ans) (Van den, 2018).....	03
Figure 2 : Capteur géothermique horizontal (Alami, 2017).....	04
Figure 3 : Capteur géothermique vertical (Alami, 2017).....	04
Figure 4 : le principe de fonctionnement des centrales hydroélectrique (Tahir et Dahouche, 2015).....	05
Figure 5 : Schéma de principe de la pile à combustible à hydrogène (Dumas, 2007).....	07
Figure 6 : Mécanismes de transfert des électrons entre la bactérie et l'anode (Bouabdalaoui, 2013).....	12
Figure 7 : Représentation schématique des étapes de détachement d'un biofilm (Mibarki, 2016).....	14
Figure 8 : Environnements utilisés comme source de microorganismes électroactifs pour ensemenecer le compartiment anodique des PACMs (Parot, 2007).....	16
Figure 9 : la cathode utilisée dans le montage.....	17
Figure 10 : L'anode utilisée dans le montage.....	18
Figure 11 : les cellules d'Exigoubactérium sp observé sous microscope électronique (Morgan ,2017).....	19
Figure 12 : Préparation du milieu de culture LB.....	20
Figure 13 : Préculture de la souche dans le bouillon LB.....	21
Figure 14 : Les deux compartiments utilisés dans le montage : (A) Compartiments anodiques, (B) Compartiments cathodiques.....	22
Figure 15 : La première expérience réalisée en système séparé.....	22
Figure 16 : La deuxième expérience réalisée en système unique.....	23
Figure 17 : Image montrant les différentes surfaces de la mousse de carbone utilisée.....	24

Figure 18 : Le multimètre utilisé pour la mesure du courant électrique produit au sein de la PACM.....	25
Figure 19 : La variation du potentiel électrique en (mV) en fonction du temps (J) pour les deux architectures différentes.....	28
Figure 20 : Variation du potentiel électrique en (mV) en fonction du temps (J) donné par deux PACMs différentes par rapport à la surface de la mousse de carbone.....	30

Liste des Tableaux

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Facteurs environnementaux et microbiologiques influençant l'attachement microbien et la structure du biofilm.....	15
Tableau 2 : composition du milieu de culture LB.....	19
Tableau 3 : Mesures du courant électrique en milli volt produit par une pile à combustible semi microbienne en anaérobiose en utilisant deux architectures différentes (unique et séparé), avec une surface de la mousse de 18cm ²	30
Tableau 4 : Mesures du courant électrique en milli volt produit par une pile à combustible semi microbienne en anaérobiose en utilisant deux surface de la mousse de carbone différent (18 cm ² et 50 cm ²).....	33

Liste des abréviations

Liste des abréviations

Do : densité optique.

e⁻ : électron

H⁺: proton.

J : Joule.

KWh : kilowattheure.

LB :LuriaBetrani.

mV : millivolte.

NaCl : chlorure de sodium.

NASA : National Aeronautics and Space.

PACM : Pile à Combustible Microbienne.

PACPs : Piles à Combustibles Microbiennes.

pH : potentiel hydrogène.

rpm : rotation par minute.

Résumé

La pile à combustible microbienne représente un dispositif électrochimique, qui utilise l'action catalytique des bactéries organisées en biofilms pour réaliser l'oxydation de composés organiques et produire un courant électrique. Ces bactéries sont qualifiées d'électroactives car elles sont capables de transférer des électrons en dehors de leurs cellules.

Dans ce travail, les expériences ont été effectuées en dispositif électrochimique microbien inoculé par la souche électroactive proche de: *Exiguobacterium sp.*, en microaérobie. Dans la première manipulation en utilisant deux systèmes : **système à compartiment unique** et **système à compartiment séparé**. Les résultats ont montré que le système unique donne un potentiel très élevé que celui donné par le système séparé. Ceci pourrait être en raison de la séparation totale entre l'anode et la cathode dans le deuxième système.

Dans la seconde manipulation, l'architecture de la PACM est fixée comme système unique. Un autre paramètre a été étudié, Il s'agit de l'influence de la surface de la mousse de carbone sur le rendement de la pile. Pour cela, deux surfaces différentes ont été testées : 18cm^2 et 50cm^2 . D'une manière inattendue les résultats ont montré que l'augmentation de la surface de la mousse de carbone n'améliore pas considérablement le rendement de la pile. Plusieurs facteurs pourraient être incriminés dans ce résultat, en l'occurrence le temps de mesure choisi.

Le concept n'est pas nouveau et plusieurs travaux similaires ont déjà été réalisés. Cependant, les résultats varient selon les paramètres étudiés et le matériel utilisé. Quoi qu'il en soit, les tensions électriques fournies par ces piles microbiennes ne sont pour l'instant que très faibles. Il s'agit simplement d'une étape montrant qu'il est possible de mettre en place de tels procédés.

The microbial fuel cell represents an electrochemical device, which uses the catalytic action of bacteria organized in biofilms to effect the oxidation of organic compounds and to produce an electric power. These bacteria are called electroactive because they are able to transfer electrons out of their cells.

In this work, the experiments were carried out in microbial electrochemical device inoculated by the electroactive strain close to : *Exiguobacterium sp*, in microaerobiosis. In the first manipulation using two systems : single compartment system and separate compartment system. The results showed that the unique compartment system is able to produce more important electric power than the separate compartment system. This could be because of the total separation between the anode and the cathode in the second system.

In the second manipulation, the single compartment system was chosen to be tested under another parameter which is the influence of the surface of the carbon foam on the efficiency of the pile. For this, two different surfaces were tested : 18cm² and 50cm². Unexpectedly, the results showed that increasing the surface of the carbon foam does not significantly improve the efficiency of the PACM. Several factors could be incriminated in this result, for instance, the measurement time chosen.

The concept is not new and several similar works have already been done. However, the results vary according to the parameters studied and the equipment used. Anyway, the electrical voltages supplied by these microbial cells are for the moment only very small. It is simply a step showing that it is possible to set up such processes.

خلية الوقود الميكروبية هي جهاز كهروكيميائي يستخدم قدرة الهدم الخاصة بالبكتيريا المنظمة في أغشية حيوية للقيام بأكسدة المواد العضوية بهدف إنتاج التيار الكهربائي. هذه البكتيريا نشطة كهربائيا بسبب قدرتها على نقل الإلكترونات نحو الخارج.

في هذا العمل، أجريت التجارب في جهاز كهروكيميائي جرثومي تمت تغذيته بسلسلة ميكروبية نشطة كهربائيا في وسط شبه لا هوائي.

خلال التجربة الأولى تم استخدام نظامين، **نظام متصل ونظام منفصل**. أظهرت النتائج أن النظام المتصل يعطي استطاعة كهربائية عالية مقارنة بنتائج النظام المنفصل. قد تكون هذه النتائج بسبب تواجد مساحة لتبادل الإلكترونات مابين المقبض الصاعد والنازل في النظام المنفصل. في التجربة الثانية تم استعمال النظام المتصل لدراسة تأثير مساحة رغوة الكربون على مردود الخلية باستخدام قطعتين مختلفتين من حيث المساحة 18cm^2 و 50cm^2 .

بشكل غير منتظر، أظهرت النتائج أنّ تكبير مساحة رغوة الكربون لم تشارك في تحسين مردود الخلية وقد يكون هذا بسبب عوامل أخرى من بينها مدة القياس المختارة.

هذه التقنية ليست جديدة وقد تم بالفعل إنجاز العديد من الأعمال المشابهة. ومع ذلك يبقى التوتر الكهربائي الذي توفره هذه الخلايا الميكروبية في الوقت الحالي صغير للغاية. إنها ببساطة خطوة توضح انه من الممكن تجسيد مثل هذه التجارب.

Introduction générale

L'énergie est l'un des enjeux décisifs du monde moderne. En effet, l'accroissement de la population, ainsi que le développement des pays émergents, participent à l'augmentation de la demande en énergie et à la raréfaction des ressources naturelles.

Aujourd'hui, l'économie internationale repose fondamentalement sur l'exploitation des sources d'énergie primaires. Il s'agit principalement du pétrole, du gaz naturel, du charbon et de l'énergie nucléaire. Cette exploitation massive met en danger toute la planète Terre, car ces sources d'énergie non renouvelables sont très polluantes, chères et surtout présentent en quantité limitée. Ces inconvénients, nous obligent à se remettre en question par rapport à notre système énergétique, et à « discipliner » nos façons de produire et de consommer l'énergie.

Le monde de la recherche a activement orienté ses efforts vers l'étude et la création de solutions alternatives et renouvelables qui permettraient la production d'une énergie plus saine et moins coûteuse. L'une de ses solutions repose sur la capacité qu'ont certaines bactéries, dites électroactives, à libérer des électrons lorsqu'elles consomment de la matière organique. Des laboratoires de recherche, utilisent donc ces bactéries pour générer de l'électricité dans des piles à combustibles microbiennes.

Notre projet de Master s'inscrit dans cette thématique. L'objectif était de proposer une optimisation d'une pile à combustible microbienne déjà élaborée au niveau de notre laboratoire. D'abord, en améliorant la conversion de la matière organique en énergie électrique à travers des choix technologiques fiables et à faible coût. Ensuite, en choisissant deux aspects en termes d'architecture : une architecture à compartiments séparés et une autre architecture à compartiment unique, dans le but d'améliorer la circulation des éléments électroactifs et par conséquent, d'augmenter la rentabilité de la pile.

En second lieu, nous avons choisi d'agir sur un facteur fondamental. Il s'agit du changement d'un paramètre très essentiel qui est la surface de l'anode (la mousse de carbone) en essayant de donner plus de surface aux bactéries testées toujours dans un objectif d'augmenter la rentabilité.

Le manuscrit se présente en cinq chapitres:

- ✓ Le premier chapitre représente une synthèse bibliographique sur les différents types d'énergies renouvelables et non renouvelables.

- ✓ Le deuxième chapitre est basé sur la technologie de la pile à combustible microbienne, les composants des piles, leur système de fonctionnement et les domaines d'application.
- ✓ Le troisième chapitre explique les étapes de la formation du biofilm et la propriété électroactive des bactéries et certaines notions sur le biofilm.
- ✓ Dans le quatrième chapitre, nous présentons les dispositifs expérimentaux et les caractéristiques des matériaux utilisés.
- ✓ Le cinquième chapitre détaille les résultats obtenus dans notre étude et leur interprétation scientifique.
- ✓ Finalement le manuscrit se termine avec une conclusion.

Chapitre 1 : L'énergie

L'énergie dans le monde représente un enjeu majeur dans presque tous les domaines, que ça soit dans le domaine politique, scientifique, environnemental et surtout dans le domaine économique.

1. Définitions de l'énergie :

Le mot énergie vient du grec « *energeia* » et signifie "Force en action". C'est le moteur des phénomènes naturels : la croissance des plantes, le vent, les courants des rivières, les vagues, la chute d'objets...etc. Sa propriété principale est de pouvoir être convertie d'une forme en une autre. Elle n'est jamais ni créée ni détruite au cours du temps. L'unité de mesure de l'énergie est le Joule (J) selon le système international, mais elle s'exprime le plus souvent en kilowattheure (KWh).

Dans la nature l'énergie se trouve sous diverses formes : énergie électrique, mécanique, cinétique, chimique. Aussi les sources d'énergie sont également très diverses : énergie non renouvelable (fossiles, nucléaire) et énergie renouvelable (éolienne, solaire, géothermique, hydraulique et biomasse) (Ulmet, 2014 ; Villain, 2018).

1.1 L'énergie renouvelable :

L'énergie renouvelable représente un ensemble de sources d'énergie qui sont inépuisables, largement disponibles et essentiellement gratuites.

1.1.1 L'énergie solaire :

L'énergie solaire est la source énergétique la plus abondante sur terre. Cette énergie permet de produire de l'électricité à partir des panneaux photovoltaïques ou des centrales solaires thermiques, grâce à la lumière du soleil captée par des panneaux solaires (Figure 1). Ce qui lui vaut d'être classée parmi les énergies renouvelables. Les centrales solaires thermodynamiques utilisent la concentration optique du rayonnement solaire direct pour produire de la vapeur d'eau à haute température. Cette dernière est ensuite utilisée directement comme fluide de travail d'un cycle thermodynamique (Déruelle, 2002 ; Arousseau, 2016).



Figure 1 : Ferme solaire de 6MW sur terrain de 11 Ha dans la Drôme, en France, installée en 2011 (durée d'exploitation prévue : 30 ans) (Van den hende, 2018)

1.1.2 L'énergie éolienne :

L'énergie éolienne est produite par des aérogénérateurs qui captent à travers leurs pales l'énergie cinétique du vent et entraînent elles-mêmes un générateur qui produit de l'électricité d'origine renouvelable (Ameziane, 2009).

1.1.3 L'énergie géothermique :

Elle recouvre l'ensemble des techniques qui permettent de récupérer la chaleur naturellement présente dans le sous-sol terrestre. Par l'utilisation d'un capteur géothermique, constitué des tubes en polyéthylène ou en cuivre gainé, ces tubes étant déroulés ou enterrés dans le sol, afin de capter la chaleur du sol pour la transmettre à une pompe à chaleur de chauffage (Alami, 2017).

Il existe deux types de capteurs géothermiques (Figure 2 et Figure 3) :

- Capteur géothermique horizontal.
- Capteur géothermique vertical.

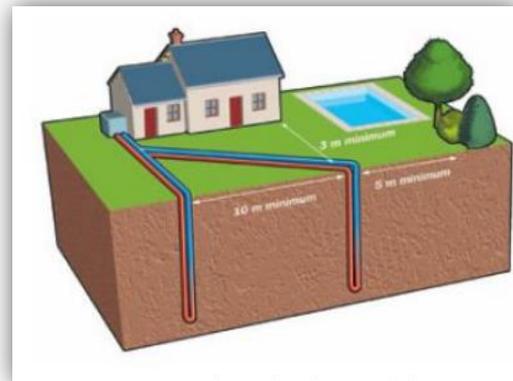
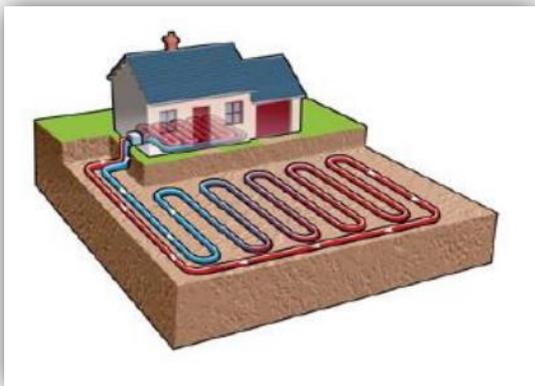


Figure 2 : Capteur géothermique horizontal **Figure 3 :** Capteur géothermique vertical

(Alami , 2017)

1.1.4 L'énergie hydraulique :

C'est la source d'énergie renouvelable la plus utilisée. Cette énergie fonctionne presque comme l'énergie éolienne : le mouvement de l'eau fait tourner une turbine qui produit de l'électricité (Figure 4). Plus l'eau coule vite, plus l'énergie produite est importante. En effet, la quantité d'énergie produite dépend de la pression et du volume d'eau à disposition.

C'est une énergie qui n'émet pas de gaz à effet de serre, elle est utilisable rapidement grâce aux grandes quantités d'eau stockée et c'est une énergie renouvelable très économique à long terme (Huynh Quang, 2013).

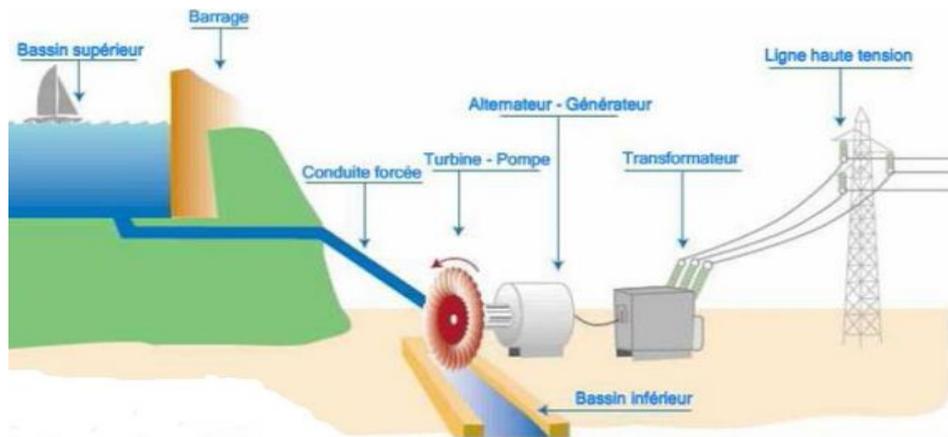


Figure 4 : le principe de fonctionnement des centrales hydroélectrique(Tahir et Dahouche, 2015)

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

1.1.5 La biomasse :

C'est la forme d'énergie la plus ancienne utilisée par l'homme depuis la découverte du feu. Ce type d'énergie couvre toutes les matières d'origine biologique employées comme combustibles pour la production de chaleur, d'électricité ou de carburants.

L'avantage de la conversion énergétique de la biomasse, par rapport aux autres sources énergétiques renouvelables, réside dans le fait qu'en plus de la production d'énergie, elle participe activement au traitement des déchets organiques contribuant ainsi à la réduction de l'impact de nos activités sur l'environnement (Mancini, 2006).

1.2 Les énergies non renouvelables :

Une source d'énergie est dite non renouvelable en raison d'un très long processus de formation s'étalant souvent sur des millions d'années. Ces combustibles sont issus de la décomposition de matière organique (plantes et animaux) dans le sol en milieu anaérobie.

1.2.1 L'énergie fossile :

Cette énergie regroupe : le pétrole, le charbon, et le gaz naturel. Elles sont le résultat de la décomposition des déchets organiques (plantes et animaux) qui ont vécu sur terre il y a des centaines de millions d'années, sous une forte pression et une forte chaleur.

1.2.2 L'énergie nucléaire :

L'énergie nucléaire dépend d'un combustible fissile. Elle permet de produire de l'électricité, dans les centrales nucléaires, appelées centrales électronucléaires, grâce à la chaleur dégagée par la fission d'atomes d'uranium. Sous le flux de neutrons, l'uranium subit des fissions formant des noyaux de masse inférieure à celle de l'uranium et générant de nouveaux neutrons.

Ainsi, la différence est dissipée sous forme de chaleur qui est ensuite utilisée pour faire tourner des turbines générant de l'électricité (Guillet et Guérin, 2008; Villain, 2018 ; Barré, 2019).

Depuis le XX^{ème} siècle l'exploitation massive des énergies fossiles, fait augmenter la concentration de dioxyde de carbone dans l'atmosphère. Cette concentration anormale en CO₂ amplifie l'effet de serre et provoque le changement climatique.

Cela fait aujourd'hui plus de 20 ans que la communauté scientifique a tourné son effort de recherche vers la création d'énergies alternatives visant à compléter, voire à remplacer l'utilisation de composés fossiles (pétrole, gaz, charbon). Parmi ces alternatives, la technologie de la pile à combustible microbienne.

Chapitre 2 :
**La pile à combustible
microbienne**

1. Notion de pile :

Une pile est un appareil transformant directement l'énergie développée dans une réaction chimique en énergie électrique.

2. Pile à combustible :

Une pile à combustible est un dispositif électrochimique qui transforme l'énergie chimique en énergie électrique tant qu'un combustible et un oxydant sont fournis.

Les principes électrochimiques de la pile à combustible peuvent être facilement illustrés par l'exemple de la pile à hydrogène (Figure 5) (Cercado Quezada, 2009).

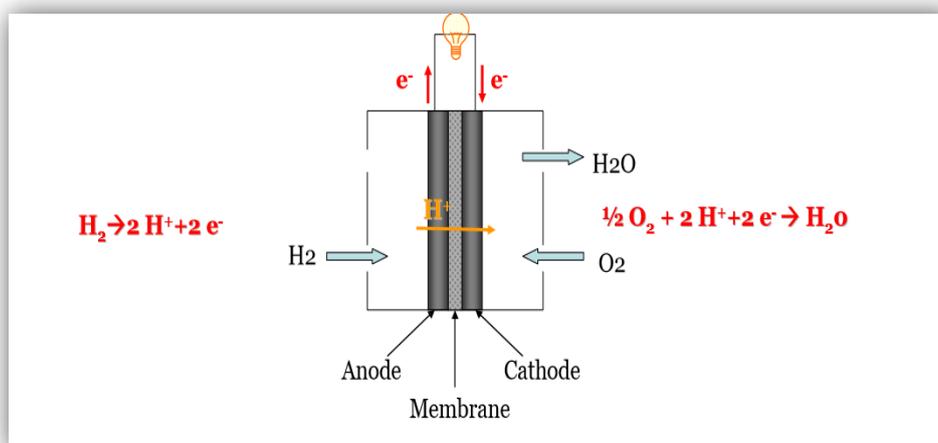


Figure 5 : Schéma de principe de la pile à combustible à hydrogène (Dumas, 2007)

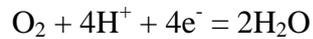
À l'anode, la réaction d'oxydation consomme le dihydrogène et libère des électrons (e^-) dans le système électrique, tandis qu'à la cathode, la réduction consomme des électrons et du dioxygène de l'air pour produire de l'eau. Les protons (H^+) qui traversent l'espace entre les électrodes sont produits lors de la décomposition du dihydrogène et consommés par la réduction (Dumas, 2007).

Les réactions d'oxydoréduction mises en jeu sont comme suit :

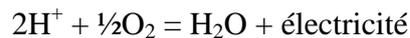
- L'oxydation de l'hydrogène à l'anode :



- La réduction de l'oxygène à la cathode :



- La réaction finale :



3. Notion de la pile à combustible microbienne :

Une pile à combustible microbienne transforme l'énergie chimique contenue dans la matière organique en électricité (Cercado Quezada, 2009). Cette conversion est facilitée par la présence des bactéries à l'anode, voire à la cathode, qui jouent le rôle de catalyseurs biologiques (Bouabdalaoui, 2013).

4. Historique de la pile à combustible microbienne :

Depuis des siècles, les bactéries capables de transformer de l'énergie chimique (substrat) en électricité, intéressent les scientifiques.

En 1790, Luigi Galvani a noté pour la première fois que les pattes de grenouille étaient capables de se crispier sous l'action d'une excitation électrique, à partir de ce moment le mot « Bioélectricité » est apparu.

Le botaniste Michael Cresse Potter a découvert en 1911 que lorsqu'une électrode de platine est placée dans des cultures de levures ou d'*Escherichia coli* était capable de générer une force électrique avec des potentiels différents. Potter arrive à la conclusion que l'énergie électrique peut être libérée à partir de la dégradation microbienne des composés organiques. Cette observation a été confirmée 20 ans plus tard.

L'équipe de Cohen à Cambridge en 1931, ont développé des batteries à combustible microbiennes en série, capables de générer des tensions de plus de 35 V ce qui aboutit à la naissance des Piles À Combustible Microbiennes (PACMs).

Ce n'est qu'à partir des années 60 que le développement des PACMs s'est accentué lorsque la NASA (*National Aeronautics and Space*) s'est intéressée à la transformation des déchets organiques en électricité pour ses vols spatiaux.

Dans les années 80, Peter H. Bennetto a développé une PACM inoculé à partir des cultures pures de bactéries comme *Escherichia coli* pour catalyser l'oxydation des matières organiques en présence de médiateurs électroniques à l'anode.

Au début des années 2000, la pile microbienne a connu un nouvel essor avec les travaux de chercheurs de l'Université du Massachusetts qui ont utilisé un dispositif constitué d'une électrode immergée connectée à une seconde enfouie dans les sédiments marins (Ketep, 2012 ; Bouabdalaoui, 2013).

5. Les constituants d'une pile à combustible microbienne :

La construction d'une pile à combustible repose essentiellement sur l'utilisation des électrodes à base d'acier inoxydable, d'or ou de carbone sous différentes formes (Ketep, 2012).

5.1 Les composants de l'anode :

Généralement les matériaux utilisés pour l'anode sont à base de carbone sous forme de plaque, granules ou encore sous forme de matériaux fibreux (feutre, tissu, papier, fibre, mousse).

Les matériaux d'anode doivent être biocompatibles et chimiquement stables dans l'électrolyte avec une résistance au transfert d'électrons. Ils doivent également être stables dans les cultures microbiennes, à faible coût et faciles à utiliser (Pham et al ., 2009 ; Lepage, 2012).

5.2 Les composants de la cathode :

Le carbone et le graphite sont les plus utilisés comme matériaux pour la formation de la cathode. L'efficacité des réactions à la cathode dépend de la concentration de l'accepteur des électrons, de la disponibilité des protons qui proviennent de l'anode, de la performance du catalyseur et de la structure de l'électrode (Pham et al ., 2009 ; Ketep, 2012).

5.3 Le substrat :

Le substrat est ajouté dans le milieu de culture lorsque ce dernier n'est pas suffisamment riche en matières organiques oxydables. Le substrat est comme un combustible à la pile utilisé par les microorganismes. Il influence la composition de la communauté bactérienne qui forme le biofilm et les performances de la PACM de part sa puissance et son rendement. Au niveau de l'anode, plusieurs substrats ont déjà été testés mais l'acétate est considéré comme le meilleur substrat utilisé. Il est donc défini comme un combustible modèle car il est rapidement biodégradable et non fermentescible. Par contre, à la cathode, les substrats généralement utilisés sont l'oxygène, les sulfates et les nitrates (Pant et al., 2009; Ketep, 2012 ; Pocaznoi, 2012).

5.4 La membrane échangeuse d'ions :

Dans certains cas il existe des membranes spécifiques qui jouent le rôle de barrières entre les deux électrodes. Ces membranes sont non-conductrices, ont une forte perméabilité aux ions H⁺ et une faible perméabilité à l'oxygène. Les plus utilisées sont les membranes Nafion® (Fan et al., 2007 ; Lepage, 2012).

5.5 L'inoculum de la PACM :

Les piles à combustible microbiennes peuvent être inoculées d'une souche bactérienne pure tel que *Clostridium sp.*, *Shewanella oneidensis* et *Shewanella putrefaciens* ou bien d'un inoculum à population mixte qui peut être prélevé à partir de certains environnements naturels tels que les sédiments d'océan, de mer, de rivière, ou encore les eaux usées domestiques ou industrielles. Il peut également être extrait à partir des boues aérobies, anaérobies et de milieux humides (Park et al., 2001; Beliaev et al., 2005; Edith, 2011).

Le choix des bactéries pour la production d'électricité repose d'une part sur leur capacité à oxyder la matière organique et d'autre part sur leur pouvoir de régénération (Edith, 2011).

6. Le mécanisme des PACMs :

Le principe de fonctionnement des PACMs est basé sur l'utilisation des biocatalyseurs. Ces derniers sont les bactéries qui permettent d'oxyder la matière organique à des potentiels plus faibles. Elles peuvent être introduites dans les PACMs sous forme de souche pure ou bien intégrées à leur environnement. Elles catalysent l'extraction des électrons de la matière organique et les transfèrent à divers transporteurs d'électrons (e⁻) (Lovley, 2006).

La PACM est divisée en deux compartiments. Le premier, dans lequel est plongée l'anode, contient le combustible (matière organique) et les micro-organismes dans un milieu pauvre en oxygène. Le second, dans lequel est plongée la cathode, est un milieu au contraire riche en oxygène. Les deux compartiments sont séparés par une membrane d'échange, perméable aux ions mais imperméable à l'oxygène. Dans le compartiment anodique, les micro-organismes présents dans le milieu vont spontanément adhérer à la surface de l'électrode et se développer pour former un biofilm bactérien. Les bactéries électro-actives vont y oxyder la matière organique en l'absence d'oxygène et transférer les électrons à l'anode (Capitaine, 2017).

Il existe trois types de transfert des électrons vers l'anode (Figure 6) :

1. Un transfert direct entre la bactérie et l'anode par le biais des protéines de transport d'électron intégrées dans la membrane cellulaire externe tel que les cytochromes.
2. Un transfert indirect : par le biais des médiateurs, qui peuvent être naturels qui sont des molécules synthétisés par la bactérie elle-même, ou artificiel ajoutés dans les cultures microbienne.
3. Un transfert par les pili conducteurs de courant (sorte de nano-fils organiques) (Bouabdalaoui, 2013).

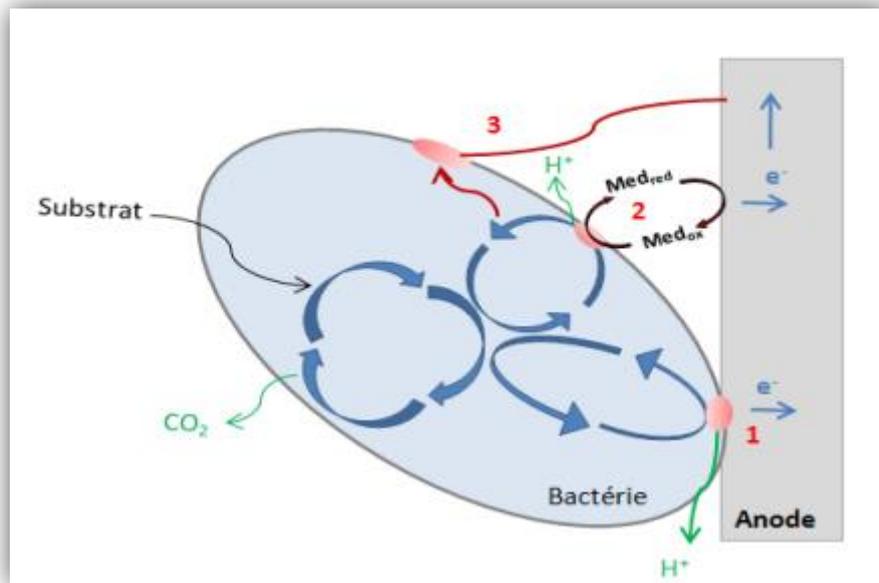


Figure 6 : Mécanismes de transfert des électrons entre la bactérie et l'anode

- 1) transfert direct via des protéines intra membranaires, 2) médiateurs externes et 3) nanopilis
(Bouabdalaoui, 2013)

7. Les applications de la PACM :

Les PACMs peuvent avoir plusieurs applications, on cite à titre d'exemple (Dumas, 2007 ; Ketep, 2012).

- Le traitement des effluents, des eaux usées.
- Le traitement des déchets, la production d'hydrogène et la bioremédiation.

Chapitre 3 : Le biofilm

Les qualités des PACMs ainsi que leurs différents champs d'applications ont incité les chercheurs à exploiter de nouveaux moyens pour les optimiser. L'un des facteurs à étudier dans ce but, est le biofilm, élément à la base de la production d'électricité par les microorganismes.

1. Notion de biofilm :

Dans la nature, les microorganismes peuvent se retrouver dans le milieu aquatique sous plusieurs formes :

- La forme planctonique : où les microorganismes vivent sous forme libres dans le milieu.
- La forme benthique : où les microorganismes vivent à la surface et dans les sédiments sous forme des biofilms .

Un biofilm est un assemblage de microorganismes, contenus dans une matrice extracellulaire de type exopolymérique (Salvin, 2012).

Le biofilm est composé d'agrégats de microorganismes, séparés par des espaces libres, dépourvus de bactéries et parcourus par des courants aqueux « canaux ». Ceux-ci y assurent la circulation des fluides et permettent à la fois l'apport des nutriments aux bactéries et l'élimination de leurs produits de dégradation (Roux et Ghigo, 2006). Ces microorganismes adhèrent d'une manière irréversible sur une grande variété de surfaces naturelles ou artificielles telles que : les métaux, le plastique, les tissus vivants (en l'occurrence humains), les feuilles et les racines des végétaux ou bien des surfaces minérales (Feleming et *al.* , 2000).

Un biofilm est constitué d'environ 15% en volume de cellules microbiennes contenues dans 85% d'une matrice d'exopolymères hydratés. Cette matrice est responsable des propriétés physiques et physicochimiques du biofilm (Feleming et *al.* , 2000).

Le développement de l'architecture des biofilms bactériens est lié à la production de la matrice extracellulaire par les bactéries du biofilm. Cette matrice est composée essentiellement d'eau (jusqu'à 97 %), de polymères polysaccharidiques sécrétés par les microorganismes, de produits de dégradation et de substances provenant du milieu extérieur, de l'ADN, de l'ARN et des lipides (Salvin, 2012).

Le biofilm n'est pas un milieu homogène, mais un environnement structuré qui présente souvent une architecture complexe, très variable d'un biofilm à l'autre selon les microorganismes qui le composent et les conditions environnementales (Salvin, 2012). Il existe des zones à teneurs variables en oxygène ou en nutriments, qui présentent des valeurs de pH différentes. Les régions au centre des agrégats bactériens sont généralement anaérobies et pauvres en nutriments alors que celles situées près des canaux ou de l'interface entre le biofilm et le liquide sont mieux oxygénées et plus riches en nutriments (Roux et Ghigo, 2006).

2. Les étapes de la formation du biofilm :

La formation du biofilm est un processus qui se déroule en Cinq étapes (Figure 7) (Roux et Ghigo, 2006):

- ❖ Adhésion réversible des bactéries de la phase planctonique à une surface.
- ❖ Irréversibilité de l'adhésion correspondant à la synthèse de structure d'exopolysaccharides et la formation de la matrice à la surface des bactéries.
- ❖ Formation des microcolonies.
- ❖ Développement des microcolonies traduisant le stade de maturation du biofilm. Et,
- ❖ Colonisation des nouvelles surfaces.

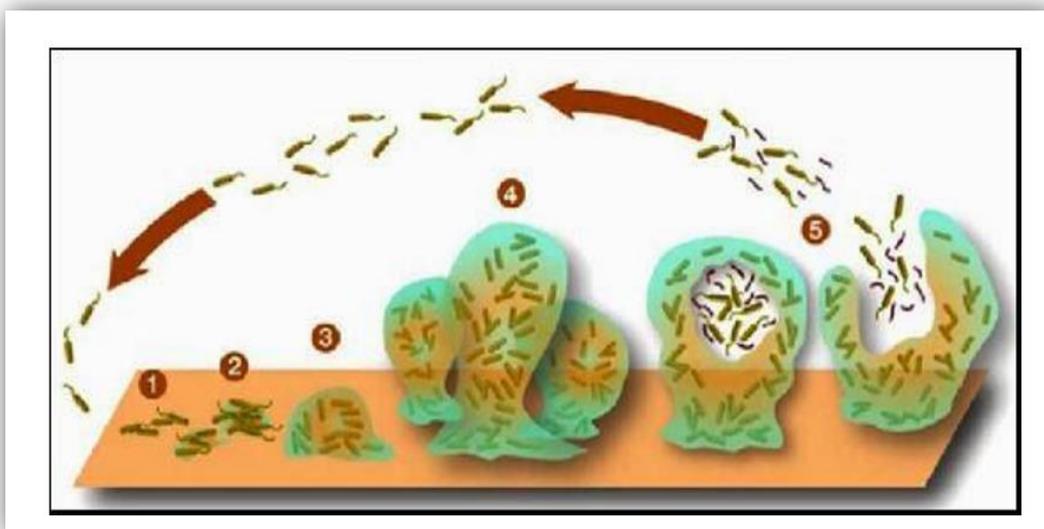


Figure 7 : Représentation schématique des étapes de détachement d'un biofilm (Mibarki, 2016)

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'attachement microbien et la structure du biofilm, ces facteurs sont présentés dans le **tableau 1**.

Tableau1 : Facteurs environnementaux et microbiologiques influençant l'attachement microbien et la structure du biofilm (Salvin, 2012).

Effets du milieu	Effets de la composition microbiologique	Effets de la surface ou de l'interface
-Température -pH -Intensité lumineuse -Concentration en substrat -Vitesse d'écoulement de l'eau (hydrodynamique)	-Surface cellulaire (protéine lipopolysaccharide, exopolysaccharides...) -Appendices extracellulaire (flagelle ou fimbriae (pili)) -Hydrophobicité de la surface cellulaire	-Nature de la surface -Rugosité de la surface -Hydrophobicité de la surface

3. Le quorum sensing :

Dans le biofilm, les bactéries communiquent entre elles par un phénomène de quorum sensing. C'est l'un des processus clé dans la formation des biofilms, Le quorumsensing permet aux bactéries d'adopter un comportement spécifique à la vie en communauté, par régulation de leur expression génétique en réponse à la densité cellulaire via la production d'auto- inducteurs. Lorsque la concentration des molécules signaux atteint une valeur seuil, des régulateurs transcriptionnels sont activés et exercent un contrôle sur des gènes spécifiques (Roux et Ghigo, 2006).

Le quorum sensing intervient lors du détachement des bactéries, une sécrétion d'auto-inducteurs peut permettre le ralentissement de la formation de la matrice pour libérer les cellules. Aussi dans de nombreux processus métaboliques comme la biosynthèse d'enzymes extracellulaires, le développement et la croissance du biofilm, le développement des nouvelles compétences génétiques et la symbiose (Roux et Ghigo, 2006).

4. Les biofilms électro actifs :

Une bactérie électroactive est une bactérie capable d'échanger des électrons avec une électrode et produire un courant électrique. Lorsque les bactéries électroactives sont organisées en biofilm, elles forment un biofilm électroactif, c'est à dire capable d'échanger des électrons avec des surfaces solides conductrices telles que les électrodes de la pile à combustible microbiennes. Cet échange électronique est possible grâce à des mécanismes directs ou indirects, faisant intervenir les procédés cataboliques bactériennes tels que : la dégradation moléculaire, la fermentation et la respiration cellulaire (Salvin, 2012).

Au début de la formation de biofilm, l'activité électrocatalytique augmente avec le temps en corrélation selon l'augmentation de la densité des cellules à la surface de l'électrode (Ketep, 2012).

La plupart des microorganismes électroactifs utilisés pour ensemençer les PACMs sont prélevée à partir de boues anaérobies et boues activées, des effluents industriels, domestiques ou agricoles.

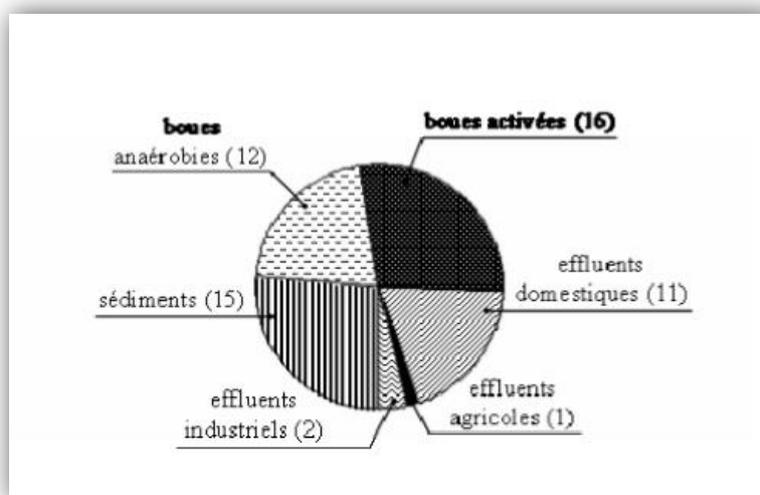


Figure 8 : Environnements utilisés comme source de microorganismes électroactifs pour ensemençer le compartiment anodique des PACMs.

Entre parenthèses est indiqué le nombre de publications mentionnant la source de microorganismes citée. Cette étude est basée sur un total de 57 publications (Parot, 2007)

Chapitre 4 : Matériels et Méthodes

Ce deuxième chapitre a pour objectif de présenter les matériels et les méthodes mis en œuvre au cours de notre travail.

1. Matériels :

1.1 La cathode :

La cathode est composée de deux éléments principaux : Un fil de titane très fin et une plaque de cuivre à peu près de $3,5\text{cm}^2$ de surface (Figure 9). Le choix de ces métaux a été établi vue leur bonne conductivité électrique et leur inertie électrochimique vis à vis du chlorure de sodium (NaCl) ajouté dans le compartiment cathodique.

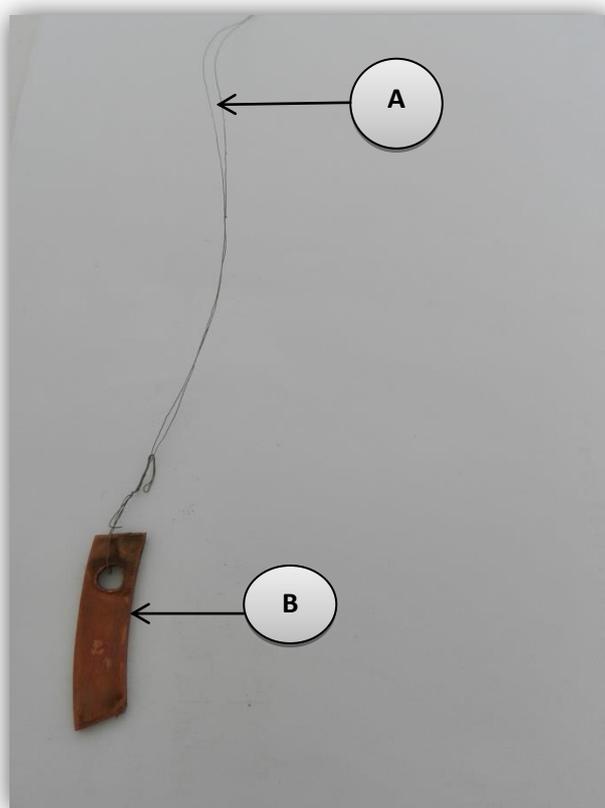


Figure 9 : la cathode utilisée dans le montage.

A : Fil de titane, B : Plaque de cuivre

1.2 L'anode :

L'anode est composée de deux éléments principaux : Un fil de titane, identique à celui de la cathode et une mousse de carbone (Figure 10). Le tout émergé dans une culture bactérienne de la souche apparentée à *Exiguobacterium sp.*

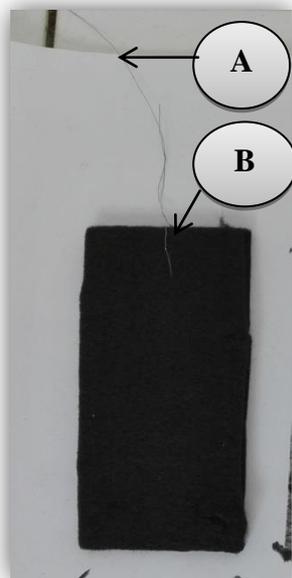


Figure 10 : L'anode utilisée dans le montage.

A : Fil de titane, B : Mousse de carbone

La mousse de carbone est caractérisée par sa biocompatibilité et sa porosité ce qui permet une bonne formation du biofilm à sa surface. De plus, elle est chimiquement stable dans l'électrolyte et n'exerce donc aucun effet, ni sur le milieu de culture ni sur la bactérie inoculée (souche apparentée à *Exiguobacterium sp.*).

1.3 La souche :

Le choix de la souche apparentée à *Exiguobacterium sp.* a été fait suite à de précédents travaux réalisés au niveau de notre laboratoire. Il s'agit notamment du travail intitulé « Élaboration d'une pile à combustible microbienne en utilisant les souches *Shewanella oneidensis MRI* et *Exiguobacterium sp.* ». Pendant cette étude, des valeurs prometteuses de différences de potentiels ont été mesurées lors de l'utilisation de la souche apparentée à *Exiguobacterium sp.* (pile semi microbienne en aérobiose (0.35V) et en microaérobiose (0.38V)) par rapport à la souche *Shewanella oneidensis MRI*.

Exiguobacterium sp est une bactérie à Gram positif, pigmentées avec une morphologie variable (Figure 11). Elle a la capacité de se développer sur une large plage de températures (Lopez-Cortes et al., 2005). Cette bactérie a été isolée par les membres de l'équipe de notre laboratoire à partir des dunes du Sahara Algérien, précisément, de la région de Biskra. L'isolement a été réalisé en mois de Février 2016 (Arabet *et al.*, en cours de publication).

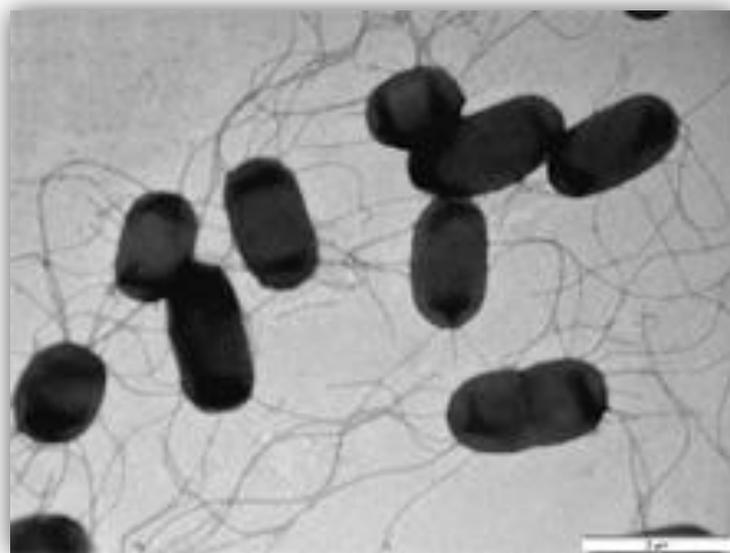


Figure 11 : les cellules d'*Exiguobacterium sp* observé sous microscope électronique (Morgan, 2017)

1.4 Le milieu de culture :

Le milieu de culture utilisé est le milieu « Luria Bertani » (LB). C'est une préparation au sein de laquelle la souche *Exiguobacterium sp* se multiplie facilement. Ce milieu est classé parmi les milieux synthétiques de composition connue (Figure 12), présentée dans le **Tableau 2** (Miller, 1972:

Tableau 2 : composition du milieu de culture LB.

Les composants	Les concentrations g/l
Tryptone	10
Na Cl	5
Extrais de levure	5



Figure 12 : préparation du milieu de culture LB

2. Méthodes de travail :

2.1 Isolement et culture de la souche bactérienne :

Dans des erlens de 100 ml, 20ml de précultures de la souche apparentée à *Exiguobacterium sp.* sont effectuées (à raison de trois répliques) (figure 13). Les précultures sont incubées à 30°C sous agitation à une vitesse de 150rpm jusqu'à ce que la densité optique (Do) mesurée à 600nm atteigne des valeurs correspondant à la phase exponentielle de la croissance bactérienne où les cellules sont au maximum de leurs activités métaboliques et biochimiques (Dumas, 2007). Cette étape est nécessaire pour revivifier notre souche qui était conservée sur gélose inclinée. Par la suite, 15ml de chaque préculture est utilisée pour inoculer un volume de 150ml de LB. Ces derniers sont utilisés comme inoculum de la PACM (Figure 13).



Figure 13 : Précultures de la souches dans le bouillon LB.

2.2 Préparation des PACM :

Deux montages différents ont été réalisés :

Le premier est constitué de deux compartiments séparés. Chaque compartiment est représenté par un flacon en verre de 250ml (figure 14). Le compartiment anodique, contient la culture bactérienne de la souche apparentée à *Exiguobacterium sp.* alors que le compartiment cathodique est rempli de 150ml d'une solution électrolytique de NaCl à une concentration comparable à celle de l'eau de mer, en l'occurrence 30g/l (Tsoata, 1995). Le compartiment anodique est rempli à rat bord dans l'objectif d'assurer une culture en anaérobiose et le flacon est hermétiquement fermé. Alors que le compartiment anodique est laissé ouvert pour permettre l'oxygénation nécessaire au circuit (figure 15).

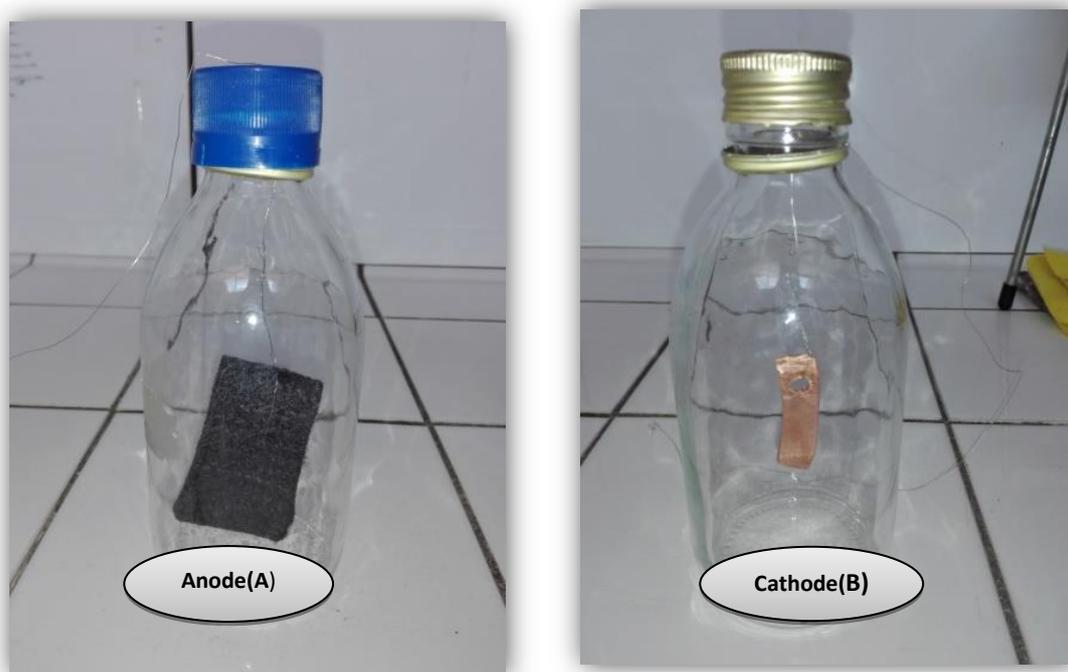


Figure 14 : Les deux compartiments utilisés dans le montage
(A) Compartiments anodiques, (B) Compartiments cathodiques.



Figure 15 : la première expérience réalisée en système séparé

Le deuxième montage est constitué d'un compartiment anodique totalement immergé dans le compartiment cathodique. En effet, dans ce montage, la cathode est représentée par un bécher de 2 litres de volume, rempli à ras bord, par une solution électrolytique de NaCl à 30g/l de concentration. Le compartiment anodique quant à lui, est un flacon en verre de 250ml rempli entièrement à son tour par la culture bactérienne. Ces deux compartiments sont séparés par une surface échangeuse d'ions sous forme d'un coton de nature semi perméable (Dumas, 2007). Cette dernière a pour rôle de permettre le transfert protonique entre les deux compartiments sans permettre à la bactérie de passer vers le compartiment cathodique (figure 16).

Il est important d'indiquer que les ustensiles ont été stérilisés dans un four pasteur à une température de 180°C pendant 1 heure.



Figure 16 : la deuxième expérience réalisée en système unique.

2.2.1 Surface de la mousse de carbone

Les deux montages précédemment expliqués ont été testés en deux modes (Figure 17) :

- 1- Avec une mousse de carbone de 18cm^2 de surface
- 2- Avec une mousse de carbone de 50cm^2 de surface

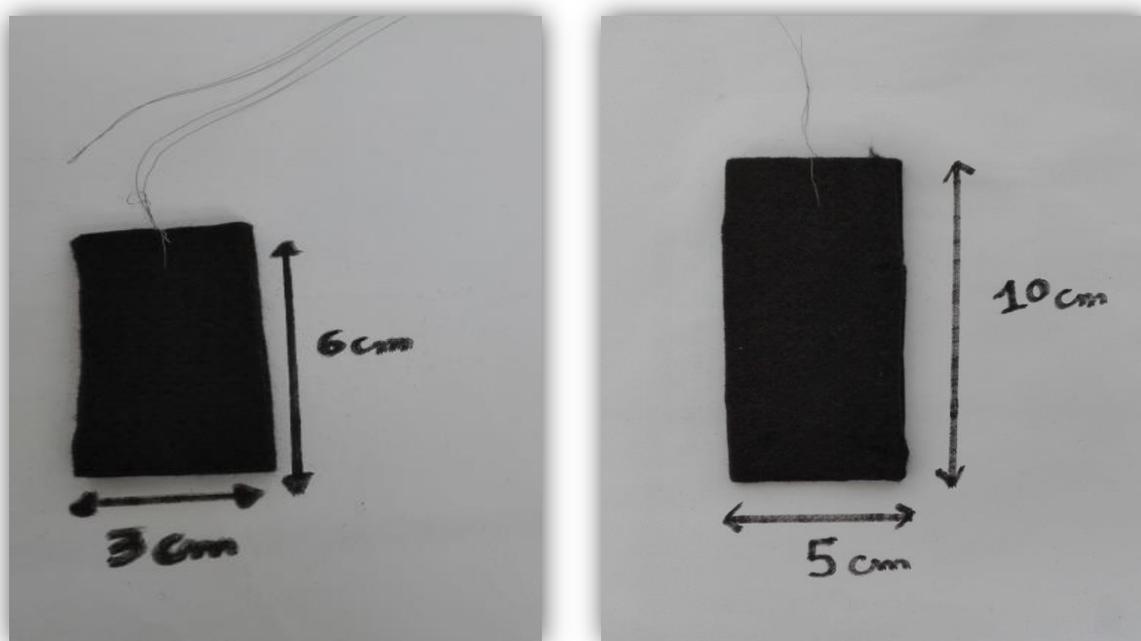


Figure 17 : Image montrant les différentes surfaces de la mousse de carbone utilisée

2.3 Mesure du courant électrique

Le courant électrique généré entre les deux compartiments, est mesuré en utilisant un Multimètre (figure 18).

À chaque expérience, une première mesure est réalisée directement après le montage du système 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.

Les prises de tension sont par la suite réalisées toutes les 24 heures et une courbe de production de courant électrique est ensuite tracée.



Figure 18 : le multimètre utilisé pour la mesure du courant électrique produit au sein de la PACM.

Chapitre 5 : Résultats et Discussions

Ce projet d'étude s'intéresse aux piles à combustibles microbiennes (PACMs), qui permettent de produire un courant électrique en utilisant une culture bactérienne. Dans notre cas, la bactérie utilisée est une souche apparentée à *Exiguobacterium sp.*

Le but principal de ce projet est d'optimiser le rendement d'une pile déjà construite au niveau de notre laboratoire. Pour cela, nous avons entretenu le sujet en modifiant deux facteurs principaux :

D'abord, l'architecture de la PACM et puis la surface de la mousse de carbone utilisée comme support où se développe le biofilm bactérien.

Un autre but à long terme est de participer dans la course internationale pour trouver une alternative efficace, économique et surtout, écologique aux sources d'énergie non-renouvelables.

Dans notre travail, des moyens très simples et pas chers sont utilisés dans la construction de la pile à combustible microbienne. Le projet est réalisé uniquement avec ce qui est disponible dans notre laboratoire.

Deux montages sont ainsi construits :

- Une PACM à compartiments séparés, et
- Une PACM à compartiment unique avec une surface échangeuse d'ions

Le premier objectif est de comparer le rendement des deux PACMs et de voir ainsi l'influence de la connexion des compartiments et de la présence d'une surface échangeuses d'ions sur la production du courant électrique.

Le deuxième objectif est de choisir le montage qui donne le meilleur rendement et de changer la surface de la mousse de carbone (support du biofilm bactérien). Ceci permet de tester si l'augmentation de la surface de contact avec les bactéries améliore le rendement électrique.

Il est important de noter que sur tout le travail, l'intervalle de mesure du potentiel électrique est de 24 heures.

1. Comparaison du potentiel électrique du premier et du deuxième montage :

Comme déjà expliqué dans la partie Matériels et Méthodes, nous avons réalisé deux types de montages. Le premier composé de deux compartiments totalement séparés, où l'échange entre la cathode et l'anode se fait uniquement à travers le fil de titane. Alors que le deuxième est composé d'un seul compartiment où l'échange entre la cathode et l'anode est principalement fait à travers une surface échangeuse d'ions (représenté dans notre cas en la boule de coton semi-perléable).

Nous avons ensuite comparé les potentiels électriques générés par chaque PACM. Les résultats sont représentés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Mesures du courant électrique en millivolt produit par une pile à combustible microbienne en microaérobiose en utilisant deux architectures différentes (unique et séparé), avec une surface de la mousse de 18cm².

Temps (jour)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Mesure 1 en (mV) du système séparé	00	0,1	3,2	3,7	0,9	0,8	0,4	0,2	00	00
Mesure 2 en (mV) du système unique	97,5	119	137	142,2	137,1	192,6	194,1	145	118	111

Le graphe suivant (figure 21) montre mieux l'évolution du courant électrique produit sur les 10 jours de mesure.

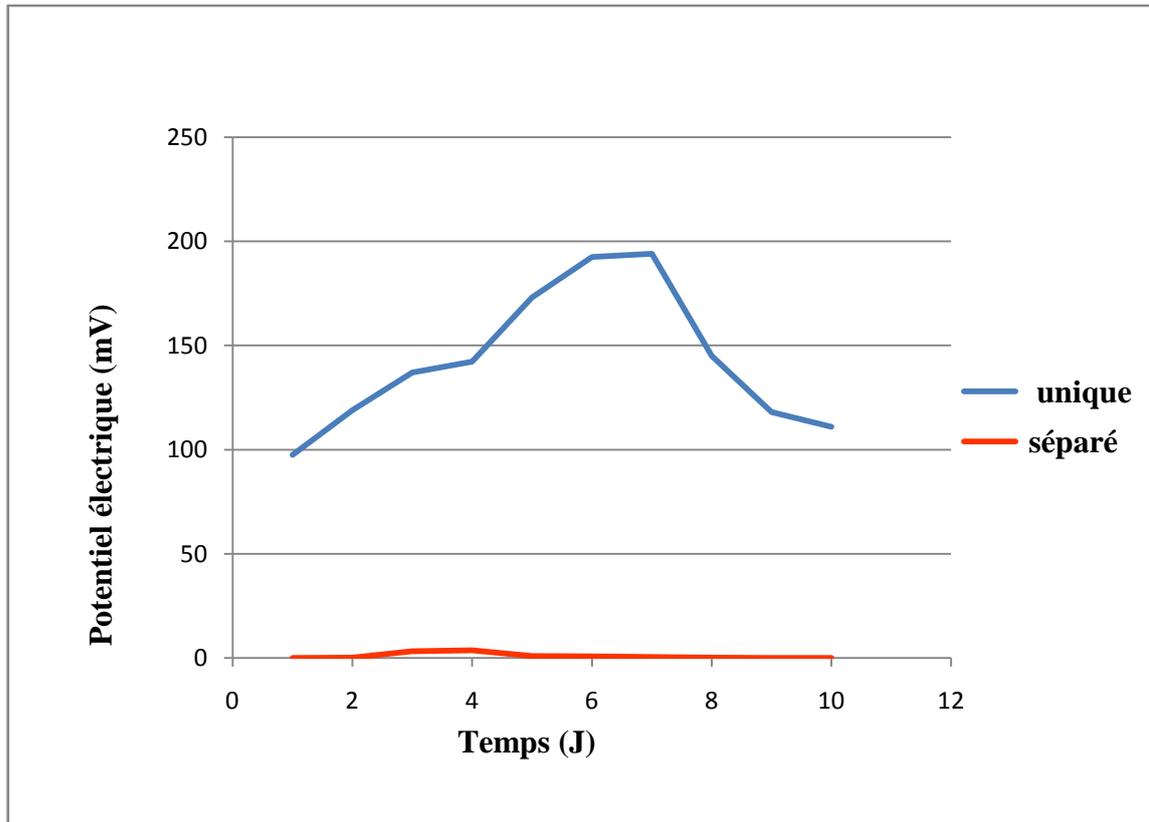


Figure 19 : La variation du potentiel électrique en (mV) en fonction du temps (J) pour les deux architectures différentes.

Les courbes du potentiel électrique tracées pour chaque système permettent de corréler le fonctionnement de la pile avec la cinétique bactérienne.

Nos résultats montrent qu'un courant électrique est déjà détecté dès le premier jour pour les deux systèmes (unique et séparé). Nous avons ainsi confirmé que la souche apparentée à *Exiguobacterium sp.* N'a pas eu besoin de temps d'adaptation au milieu vue qu'elle y été déjà cultivées.

Les cultures bactériennes de la souche apparentées à *Exiguobacterium sp.* Utilisées pour l'inoculation de la pile sont en phase exponentielle, ce qui justifie les valeurs obtenues dès le premier jour de prise de mesure.

À partir du quatrième jour, la production électrique dans le système unique est en évolution continue comme montré sur le graphe, jusqu'au sixième/septième jour où nous assistons à une production maximale du potentiel électrique (192,6-194,1). Ceci pourrait être expliqué par le fait que le biofilm électroactif a eu le temps qu'il faut pour mieux se former

sur l'anode, se consolider et établir un meilleur chimiotactisme entre les cellules qui le composent. Une certaine stabilité est observée ensuite dès le septième jour, ce qui pourrait être expliqué par l'épuisement du milieu et l'entrée dans la phase de latence de croissance cellulaire vue que le système est fermé. L'accumulation de certains produits toxiques pourrait également être incriminée.

Il est clair, que le montage séparé génère des valeurs extrêmement faibles comparées à celles générées par le système unique. Ce résultat met en valeur l'influence de la surface échangeuse d'ions. Cette dernière donne libre cours aux protons pour mieux circuler de l'anode vers la cathode et ainsi activer le circuit.

Un élément important est également impliqué dans l'amélioration de la circulation des protons/électrons. Il s'agit de la concentration du NaCl au niveau de la cathode. Cette concentration n'a pas été choisie au hasard. Nous avons choisi de mimer la même concentration de l'eau de mer, proche de celle mesurée dans le sol du Sahara, dans l'espoir de procurer un milieu proche de ce que les bactéries rencontrent dans la nature. Les molécules d'NaCl jouent le rôle de « véhicule » transportant les électrons qui sont le pur produit des réactions d'oxydoréduction bactériennes.

La souche apparentée à *Exiguobacterium sp.* Montre également sa capacité à supporter des concentrations importante en sel ce qui confirme encore une fois, sa grande habilité d'adaptation.

2. Variation du potentiel électrique en fonction de la surface de la mousse de carbone :

Afin de tester l'influence de la surface de contact entre les cellules bactériennes et le support du biofilm sur la production électrique, nous avons réalisé une expérience où la surface de la mousse de carbone est presque trois fois supérieure à celle testée dans la première expérience. Les résultats sont représentés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Mesures du courant électrique en millivolt produit par une pile à combustible microbienne en microaérobiose en utilisant deux surfaces différentes de la mousse de carbone (18cm² et 50cm²).

Temps	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Mesure 2 en (mV) de système unique 18cm ²	97,5	119	137	142,2	173,1	192,6	194,1	145	118	111
Mesure 3 en (mV) de système unique 50cm ²	92,2	140	133	183	120	120	100	100	100	100

Ces valeurs nous ont permis de tracer deux courbes comparatives comme illustrée dans la figure 20.

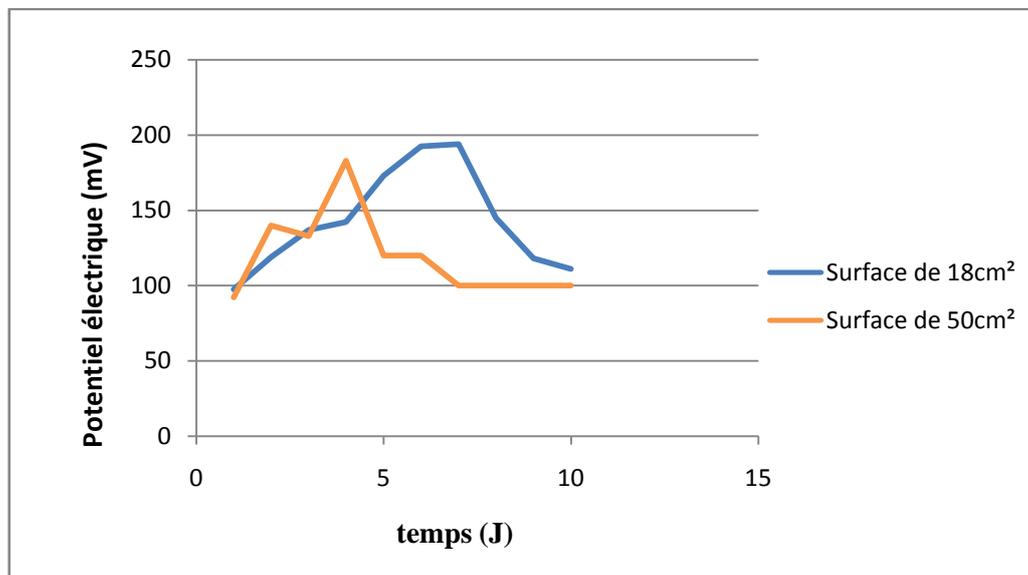


Figure 20 : Variation du potentiel électrique en (mV) en fonction du temps (J) donné par deux PACMs différentes par rapport à la surface de la mousse de carbone.

Il est clair, d'après les résultats ci-dessus, que le potentiel électrique obtenu par la PACM de 18cm² atteint des valeurs plus importantes (194,1mV) que celui obtenu par la PACM à 50cm² de surface de mousse de carbone (183mV).

Il est important de noter, que nous avons été confrontés à des perturbations de valeurs de potentiel électrique produit par la PACM à 50cm². Ces perturbations pourraient être expliquées par la dispersion des cellules sur la totalité de la surface (assez grande par rapport au premier montage), ce qui pourrait influencer la communication intercellulaire et par conséquent la détection des électrons produits.

Nous avons également remarqué que les valeurs du potentiel électrique, atteignent une certaine stabilité dès le quatrième jour de mesure dans la PACM à 50cm² de surface de mousse de carbone. Ces valeurs finissent par chuter au delà du dixième jour. Ces résultats demeurent pour le moment sans explications.

Il serait très intéressant de pouvoir continuer à prendre les mesures bien au-delà de 10 jours pour voir s'il pourrait y avoir de nouvelles modifications en ce qui concerne la production du potentiel électrique.

Il est maintenant clair, grâce à ce travail, que le montage unique est beaucoup plus productif que l'architecture séparée. Nos systèmes demeurent cependant, des systèmes fermés, où aucune alimentation en éléments nutritifs ni élimination de déchets cellulaire n'est possible. La production électrique serait sûrement plus stable et plus forte si les moyens nécessaires sont disponibles pour pouvoir réaliser des montages « ouverts » où le manipulateur pourra suivre de près l'état cellulaire et le maintenir en phase exponentielle.

Encore une fois la souche du laboratoire, apparentée à *Exiguobacterium sp.* Confirme son efficacité notamment en des concentrations importantes en sel. Ceci n'était pas surprenant vue le milieu d'où elle a été isolée. Le sol du Sahara où des concentrations importante en sel ont été mesurée à cause de la déshydratation du sol et du manque des précipitations (Arabet *et al.*, en cours de publication).

Conclusion Générale et perspectives

Dans le cadre de ce travail de recherche nous nous sommes intéressés à un sujet d'impact économique et écologique. Il s'agit de la recherche de nouvelles sources d'énergie. Un outil particulier attire toute l'attention au niveau de notre laboratoire, la pile à combustible microbienne. Ici, l'objectif était d'optimiser une PACM déjà élaboré par l'équipe, en utilisant une souche proche d'*Exiguobacterium sp.*

La première partie de ce travail a consisté à tester deux systèmes d'architecture de la PACM : un système à compartiment unique et un système à compartiments séparés. La deuxième partie a permis de tester l'effet de la surface de l'anode sur le rendement de la pile.

L'ensemble des résultats obtenus révèlent que l'architecture à compartiment unique de la pile influence le rendement électrique positivement, Un potentiel électrique de 194,1mV a été mesuré en comparaison au système séparé (3,7 mV). Quant à la surface de l'anode, il s'avère que la grande surface de 50cm² donne une tension faible (183mV) en comparaison à la petite surface 18cm² (194,1mV).

Ce travail nous a permis de mieux contrôler le système architectural de la PACM et de déterminer l'effet de certains paramètres qui étaient jusque là, inconnu. En parallèle, il nous ouvre beaucoup de portes et met en surface de nouveaux questionnements dans un même objectif, celui d'améliorer le rendement électrique.

Ainsi, il serait très intéressant de pouvoir tester l'influence de différentes concentrations du NaCl sur le fonctionnement de la pile. Dans notre travail, nous avons mimé la concentration de l'eau de mer mais il serait très intéressant d'essayer l'eau de mer naturelle et de voir son effet.

Il serait important également de remplacer le coton par une membrane Nafion® spécifique au transfert ionique. Il est probable qu'elle aura un meilleur effet, cependant, l'utilisation du coton semi-perméable réserve l'avantage d'être une pratique à faible coût.

Concernant le changement de la surface de l'anode, il serait curieux de prolonger le temps de mesure pour voir l'évolution de la production électrique.

Les Références Bibliographiques

(A)

Alami, A. (2018). Etude et modélisation d'un système thermique alimenté par énergie géothermique [en ligne]. Thèse de doctorat : Génie Mécanique. Sidi Bel Abbès : Université Djillali Liabès de Sidi Bel Abbès, 128 P. Disponible sur : http://rdoc.univsba.dz/bitstream/123456789/2214/1/D3C_GM_ALAMI_Ahmed.pdf (Page consultée le 24/06/2019)

Alami A. Etude et modélisation d'un système thermique alimenté par énergie géothermique(2018).

http://rdoc.univsba.dz/bitstream/123456789/2214/1/D3C_GM_ALAMI_Ahmed.pdf

Ameziane, S. (2009). Implantation expérimentale de l'MPPT pour un système de génération hybride solaire-éolien[en ligne]. Thèse de doctorat. Batna : Université de Batna, 84P. Disponible sur : <https://studylibfr.com/doc/7939852/r%C3%A9publique-alg%C3%A9rienne-d%C3%A9mocratie-et-populaire> (Page consultée le 24/06/2019)

Aurousseau, A. (2016). Modélisation dynamique et régulation des centrales solaires thermodynamiques linéaires à génération directe de vapeur [en ligne]. Thèse de doctorat : Mécanique, génie civil et procédés. Toulouse : Ecole nationale des Mines d'Albicarmaux, disponible sur : <http://www.theses.fr/2016EMAC0003> (Page consultée le 24/06/2019)

(B)

Barré, B. (2018). Maîtriser l'énergie nucléaire. Encyclopédie de l'environnement [en ligne], 10 (3) (page consultée le 01/ 06/2019)

<https://www.encyclopedie-environnement.org/physique/l-energie-nucleaire/>

Beliaev, A. S ; Klingeman, D. M ; Klappenbach, J. A ; Wu, L ; Romine, M. F ; Tiedje, J. M ; et al. (2005). Global Transcriptome Analysis of *Shewanella oneidensis* MR-1 Exposed to Different Terminal Electron Acceptors. J. Bacteriol [en ligne], 187(20) (page consulté le 24/06/2019)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16199584>

Bouabdalaoui, L. (2013). Etude des matériaux d'anode à base de graphite modifiée par des composés fer-soufre : application aux piles à combustible microbiennes[en ligne]. Thèse de doctorat : Chimie. Université Evry Val D'Essonne, 205P. Disponible

sur : <https://www.biblio.univ-evry.fr/theses/2013/2013EVRY0011.pdf> (Page consultée le 24/06/2019)

Bouabdalaoui L. Etude des matériaux d'anode à base de graphite modifiée par des composés fer-soufre : application aux piles à combustible microbiennes (2013).

<https://www.biblio.univ-evry.fr/theses/2013/2013EVRY0011.pdf>

(C)

Capitaine, A. (2017). Récupération d'énergie à partir de piles à combustible microbiennes benthiques[en ligne]. Thèse de doctorat : Electronique, micro et nanoélectronique, optique et laser. Lyon : L'Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 131P. Disponible sur : <https://hal.archives-ouvertes.fr/tel-01678777/document> (Page consultée le 24/06/2019)

Cercado Quezada, B. (2009). Traitement de déchets issus de l'industrie agro-alimentaire par pile à combustible microbienne[en ligne]. Thèse de doctorat : Génie des Procédés et de l'Environnement. Toulouse : Université de Toulouse, 176P. Disponible sur : <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00000904/01/cercado.pdf> (Page consultée le 24/06/2019)

(D)

Déruelle, O. (2002). Mise au point d'un système de spectroscopie pour mesurer les sections efficaces neutroniques applicables à un possible développement du nucléaire comme source d'énergie [en ligne]. Thèse de doctorat. Paris : Université de Paris XI, 175P. Disponible sur : <https://www.osti.gov/etdeweb/servlets/purl/20373063> (Page consultée le 24/06/2019)

Dumas, C. (2007). Catalyse électro-microbienne dans les piles à combustible[en ligne]. Thèse de doctorat : Génie des Procédés et de l'Environnement. Toulouse : École doctorale : Transferts Dynamiques Fluides et Procédés, 271P. Disponible sur : <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00000617/01/dumas1.pdf> (Page consultée le 24/06/2019)

Dumas C. Catalyse électro-microbienne dans les piles à combustible (2007).

<http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00000617/01/dumas1.pdf>

(F)

Fan, Y ; Hu, H ; Liu, H. (2007). Enhanced Coulombic efficiency and power density of aircathode microbial fuel cells with an PowerSources, improved cell configuration. Journal of Power [en ligne], 171(2) (page consulté le 24/06/2019)

<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.619.6737&rep=rep1&type=pdf>

Flemming, H-C., Wingender, J., Moritz, R., Borchard, W., Mayer, C. (2000). Physicochemical properties of biofilms - A short review. Chapitre du livre: Biofilms in the aquatic environment, éditeurs: Keevil, C.w.; Dow, C.; Godfree, A.; Holt, D., Cambridge Royal Society of Chemistry, 19-34.

(H)

Huynh Quang, M. (2013). Optimisation de la production de l'électricité renouvelable pour site isolé[en ligne]. Thèse de doctorat : Automatique. Université de Reims Champagne-Ardenne, 99P. Disponible sur : <http://WWW.theses.fr/2013REIMS047> (Page consultée le 24/06/2019)

(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. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00872058/document> (Page consultée le 24/06/2019)

(L)

Lepage, G. (2012). Caractérisation et optimisation d'une pile à combustible microbienne[en ligne]. Thèse de doctorat : Énergétique et génie des procédés. Université de Grenoble, 201P. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00836765/document> (Page consultée le 24/06/2019)

Lovley, D R. (2006). Bug juice: harvesting electricity with microorganisms. Nature Reviews [en ligne], (4) (page consulté le 24/06/2019)

<https://www.nature.com/articles/nrmicro1442>

(M)

Mancini, F. (2006). Traitement des déchets issus de la biomasse pour la génération d'énergie [en ligne]. Thèse de doctorat : Génie des procédés. Université de BORDEAUX I, 137P. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00102009/document> (Page consultée le 24/06/2019)

Martin, E. (2011). Étude de la performance de la pile à combustible microbiennes et l'effet de matériaux électrodes [en ligne]. Thèse de doctorat : Génie chimique. Montréal : École Polytechnique de Montréal, 152P. Disponible sur : https://publications.polymtl.ca/573/1/2011_EdithMartin.pdf (Page consultée le 24/06/2019)

Mebarki M. Traitement de biofilm bactérien par les molécules bioactives (2016).http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac_css/doc_num.php?explnum_id=2319

Medeiros, A. (2016). Etude expérimentale de la formation des biofilms sous conditions hydrodynamiques contrôlées[en ligne]. Thèse de doctorat : Mécanique des fluides, Énergétique, Procédés. Université de Grenoble Alpes, 179 P. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01482919/document> (Page consultée le 24/06/2019)

Miller, J.H. (1972). Experiments in Molecular Genetics. In: Miller JH, editor. Assays of lac operon enzymes: β -galactosidase permease, repressor, transacetylase, a complementation.[en ligne],(page consultée le 03/07/2019)

<http://www.oalib.com/references/13048608>

(P)

Pant, D ; Van Bogaert, Diels, G. L ; Vanbroekhoven, K. (2009). A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. *Bioresource Technology*[en ligne], 101 (6)(page consultée le 24/06/2019)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19892549>

Park, H.S ; Kim, B. H ; Kim, H. S ; Kim, H. J ; Kim, G. T ; Kim, M ; et al. (2001). A Novel Electrochemically Active and Fe (III)-reducing Bacterium Phylogenetically Related to *Clostridium butyricum* Isolated from a Microbial Fuel Cell. *Anaerobe*[en ligne], 7(6) (page consulté le 24/06/2019)

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1075996401903993>

Parot, S. (2007). Biofilms électroactifs : formation, caractérisation et mécanismes[en ligne]. Thèse de doctorat : Génie des Procédés et de l'Environnement. Toulouse : Institut National Polytechnique De Toulouse, 229P. Disponible sur : <https://core.ac.uk/download/pdf/19938170.pdf>(Page consultée le 24/06/2019)

Parot S. Biofilms électroactifs : formation, caractérisation et mécanismes. (2007). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19892549>

Pham, T. H ; Aelterman, P ; Verstraete, W. (2009). Bioanode performance in bioelectrochemical systems: Recent improvements and prospects. *Trends in Biotechnology*[en ligne], 27 (3) (page consulté le 24/06/2019)

<https://europepmc.org/abstract/med/19187991>

Pocaznoi, D. (2012). Optimisation d'anodes microbiennes à partir de lixiviat de sol pour la conception de piles à combustible microbiennes[en ligne]. Thèse de doctorat : Génie des Procédés et de l'Environnement. Toulouse : Université de Toulouse, 209P. Disponible sur : <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00001935/01/pocaznoi.pdf>(Page consultée le 24/06/2019)

(R)

Roux, A ; Ghigo, J. (2006). Les biofilms bactériens [en ligne], 159 (3) (page consultée le 24/06/2019)

https://research.pasteur.fr/wp-content/uploads/2015/05/research.pasteur.fr_genetics-of-biofilms1.pdf

(S)

Salvin, P. (2012). Etude des biofilms électroactifs issus des milieux humides de la Guyane Française : Application aux piles à combustible microbiennes [en ligne]. Thèse de doctorat : Chimie. Université des Antilles et de la Guyane, 171P. Disponible sur : https://www.ecofog.gf/greybase/files/salvin/2012/203_Salvin2012.pdf (Page consultée le 24/06/2019)

(T)

Tahir R. ; Dehouche E. Commande en puissance d'une centrale hydroélectrique (2015).

<https://docplayer.fr/113854215-Memoire-de-fin-de-cycle-theme.html>

Tsoata, E. (1995). Effet du sel (NaCl) sur la germination de graines de légumineuses. Cahiers Agricultures[en ligne],4(3)(page consultée le 04/07/2019) <http://revues.cirad.fr/index.php/cahiers-agricultures/article/view/2988>

(V)

Villain, J. (2018). L'énergie. Encyclopédie de l'environnement [en ligne], 10 (1) (page consultée le 01/06/2019)

<https://www.encyclopedie-environnement.org/physique/lenergie/>

Van den hende, Alain. Ferme solaire de 6MWsur terrain de 11 Ha dans la Drôme, en France, installée en 2011(durée d'exploitation prévue : 30 ans)(23/07/2018) **[photo]**. Wikimedia, 2018.

Amélioration du rendement d'une pile à combustible microbienne en utilisant une souche apparentée à *Exiguobacterium sp.* Isolée du Sahara Algérien.

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

La pile à combustible microbienne représente un dispositif électrochimique, qui utilise l'action catalytique des bactéries organisées en biofilms pour réaliser l'oxydation de composés organiques et produire un courant électrique. Ces bactéries sont qualifiées d'électroactives car elles sont capables de transférer des électrons en dehors de leurs cellules.

Dans ce travail, les expériences ont été effectuées en dispositif électrochimique microbien inoculé par la souche électroactive proche de: *Exiguobacterium sp.*, en microaérobiose. Dans la première manipulation en utilisant deux systèmes : **système à compartiment unique** et **système à compartiment séparé**. Les résultats ont montré que le système unique donne un potentiel très élevé que celui donné par le système séparé. Ceci pourrait être en raison de la séparation totale entre l'anode et la cathode dans le deuxième système.

Dans la seconde manipulation, l'architecture de la PACM est fixée comme système unique. Un autre paramètre a été étudié, Il s'agit de l'influence de la surface de la mousse de carbone sur le rendement de la pile. Pour cela, deux surfaces différentes ont été testées : 18cm² et 50cm². D'une manière inattendue les résultats ont montré que l'augmentation de la surface de la mousse de carbone n'améliore pas considérablement le rendement de la pile. Plusieurs facteurs pourraient être incriminés dans ce résultat, en l'occurrence le temps de mesure choisi.

Le concept n'est pas nouveau et plusieurs travaux similaires ont déjà été réalisés. Cependant, les résultats varient selon les paramètres étudiés et le matériel utilisé. Quoi qu'il en soit, les tensions électriques fournies par ces piles microbiennes ne sont pour l'instant que très faibles. Il s'agit simplement d'une étape montrant qu'il est possible de mettre en place de tels procédés.

Mots clés : Pile à combustible microbienne, *Exiguobacterium sp.*, Bactérie Electroactive, la mousse de carbone, système unique ; système séparé.

Laboratoire de recherche : Laboratoire 11 de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université des Frères Mentouri-Constantine 1.

Jury d'évaluation :

Président du jury : ARABET Dellel (MCA- UFM Constantine),

Rapporteur : SEDIRA Sofiane (MCB - UFM Constantine),

Examineur : BENKAHOUL Malika (MCB - UFM Constantine).

Date de soutenance : 11/07/2019