

Les biopiles enzymatiques pour produire de l'électricité

Sophie Tingry, Marc Cretin et Christophe Innocent

- Résumé** La production d'énergie devient un enjeu majeur et l'impact sur l'environnement de la combustion des énergies fossiles oblige à trouver d'autres modes de production. Les piles à combustible permettent d'obtenir de l'électricité à partir de carburant comme l'hydrogène ou le méthanol. Mais d'autres dispositifs alternatifs qui s'inspirent des mécanismes développés dans le monde biologique peuvent être envisagés : les biopiles enzymatiques. La catalyse électrochimique est alors assurée par des enzymes. Du courant électrique est ainsi produit à partir de l'oxydation de sucre ou d'alcool. Compte tenu des faibles puissances délivrées, la miniaturisation de ces systèmes est nécessaire pour permettre leur utilisation comme source d'énergie alimentant des microsystèmes, des capteurs, voire des dispositifs implantables.
- Mots-clés** **Biopile, immobilisation et connexion d'enzymes, bioélectrochimie.**
- Abstract** **Enzymatic biofuel cells as electrical power source**
Fuel cells can generate electricity from fuel such as hydrogen or methanol. However, other alternative devices may be considered inspired from the nature: enzymatic biofuel cells. The electrochemical catalysis is then provided by enzyme reaction. Electric current is produced from the oxidation of sugar or alcohol. Due to the low delivered power, the miniaturization of these systems is necessary to use them as electrical power source for small consumer electronics, sensors or implantable devices.
- Keywords** **Biofuel cell, immobilization and connection of enzyme, bioelectrochemistry.**

La demande énergétique croissante de notre société moderne et l'impact sur l'environnement de la combustion des énergies fossiles obligent à trouver d'autres modes de production d'énergie. Parmi les nouvelles sources alternatives, la conversion d'énergie par des techniques électrochimiques est sérieusement envisagée (piles à combustible). Par ailleurs, ces questions énergétiques peuvent s'inspirer des systèmes développés par le monde biologique. L'objet de cet article est d'apporter quelques informations sur l'état des recherches et les avancées possibles dans le développement de biopiles à combustible, qui associent les réactions biochimiques et la production d'électricité.

Le développement important de piles à combustible capables de générer de l'électricité à partir de l'oxydation de combustible (hydrogène, méthanol...) et de la réduction d'un comburant (l'oxygène) démontre les potentialités des techniques électrochimiques pour la génération d'énergie. Il est toutefois nécessaire d'utiliser des catalyseurs aux électrodes pour augmenter la vitesse des réactions électrochimiques. Les métaux nobles comme le platine ou le palladium sont de très bons candidats.

Les efforts engagés ces dernières années pour étendre le concept de développement durable à nos modes de production d'énergie obligent à reconsidérer la question des catalyseurs minéraux. Dans ce contexte, l'utilisation de catalyseurs biologiques, comme les enzymes, devient incontournable. Ces piles à combustible sont alors nommées biopiles en raison de la nature biologique de leurs catalyseurs. Il existe deux grandes catégories : les *biopiles microbiennes*, qui mettent en jeu des micro-organismes connectés à des électrodes, et les *biopiles enzymatiques*, dans lesquelles la catalyse est assurée par des enzymes.

Ces dernières années, le développement important des recherches sur les biopiles a permis de envisager comme une source alternative d'énergie dans différents domaines. Il convient toutefois de rappeler que les concepts mis en jeu dans ces systèmes sont anciens : les premiers exemples de biopiles microbiennes apparaissent dès 1910, et la première biopile enzymatique est décrite en 1964.

Au début... la bioélectrochimie

La bioélectrochimie est la discipline qui étudie les transferts d'électrons des biomolécules et applique les techniques électrochimiques aux milieux biologiques. Les liens entre électricité et milieu biologique sont en effet très étroits : c'est par l'étude du fonctionnement des muscles et la naissance de l'électrophysiologie que fut découverte « l'électricité animale » de Luigi Galvani (1786), précurseur des travaux d'Alessandro Volta qui inventa la pile électrique (1800).

Si historiquement les liens entre électricité et monde vivant sont clairement établis, c'est que les mécanismes de transfert d'électrons (à l'origine de l'électricité) sont des réactions essentielles dans le monde vivant. C'est en effet par transfert d'électrons que la chaîne photosynthétique des végétaux transforme l'énergie lumineuse pour la synthèse de composés chimiques (fixation du carbone - CO₂) et la production d'oxygène.

De l'autre côté de la chaîne métabolique, la respiration des êtres vivants est aussi reliée à une chaîne de transfert d'électrons qui permet l'utilisation de l'oxygène comme comburant associé à l'oxydation de carburant comme le sucre. Ces cycles de transfert d'électrons (cycle de Calvin et cycle de Krebs par exemple) sont donc les éléments essentiels aux

processus biochimiques des organismes vivants (respiration, photosynthèse).

La bioélectrochimie, qui vise à associer électrochimie et biologie, est donc inspirée par le fonctionnement même des mécanismes biochimiques.

L'étude des interactions électrons-biologie peut conduire à de nouvelles applications où le processus naturel sera maîtrisé : c'est le cas des biopiles qui utilisent les propriétés électrochimiques d'éléments biologiques (enzymes, micro-organismes) afin de générer un courant électrique. Le principe consiste en fait à canaliser le flux d'électrons produits par les réactions redox non plus par réactions chimiques successives, mais par transfert d'électrons sur une électrode. Tout l'enjeu se situe à ce niveau : assurer un transfert d'électrons entre une entité biologique et une électrode.

Différents types de biopiles

Le terme de biopile est aussi utilisé par traduction littérale du terme anglais « biopile » ; il définit une méthode de remédiation des sols basée sur leur activité microbienne en utilisant la matière organique polluante comme source carbonée pour le métabolisme. Ce n'est pas l'objet de cet article. Nous considérerons ici les biopiles au sens de « piles à combustible biologiques », traduction de l'expression anglaise « biofuel cell ». Il s'agit de dispositifs électrochimiques de production d'électricité par utilisation de carburant et de comburant ayant des enzymes ou des micro-organismes comme catalyseurs électrochimiques.

Le principe de la biopile est directement issu du fonctionnement des piles à combustible ; deux électrodes assurent le fonctionnement du générateur : une anode, lieu de l'oxydation d'un carburant, et une cathode, lieu de la réduction du comburant (généralement l'oxygène). Les électrodes assurent la collecte des électrons entre les électrodes et permettent ainsi la génération d'un courant électrique. Ces réactions d'électrodes nécessitent des catalyseurs. Dans le cas des piles à combustible « classique », la catalyse est assurée par des métaux nobles (platine notamment) qui permettent d'améliorer l'efficacité des réactions électrochimiques. Dans le cas des biopiles, la catalyse est assurée par des bioéléments : des enzymes redox pour les biopiles enzymatiques, ou des micro-organismes (bactéries, algues, levures...) pour les biopiles microbiennes.

Les biopiles microbiennes

En 1910, Michael Cresse Potter, professeur de botanique à l'Université de Durham (Royaume-Uni), a observé que la bactérie *Escherichia Coli*, qui peuple l'intestin humain, produisait de l'électricité. Il a ensuite été démontré que bon nombre de bactéries communes produisaient de l'électricité par catabolisme naturel des sucres, c'est-à-dire par dégradation de certaines molécules organiques en libérant des électrons qui peuvent être récupérés par l'anode de la pile.

Au début des années 1980, une équipe du King's College de Londres, dirigée par Peter Bennetto, eut l'idée d'augmenter le rendement des piles bactériennes en recourant à un « médiateur » qui améliore le transfert des électrons entre les bactéries et l'anode. La pile en elle-même était assez semblable à n'importe quelle pile à combustible, avec sa membrane séparant l'anode de la cathode.

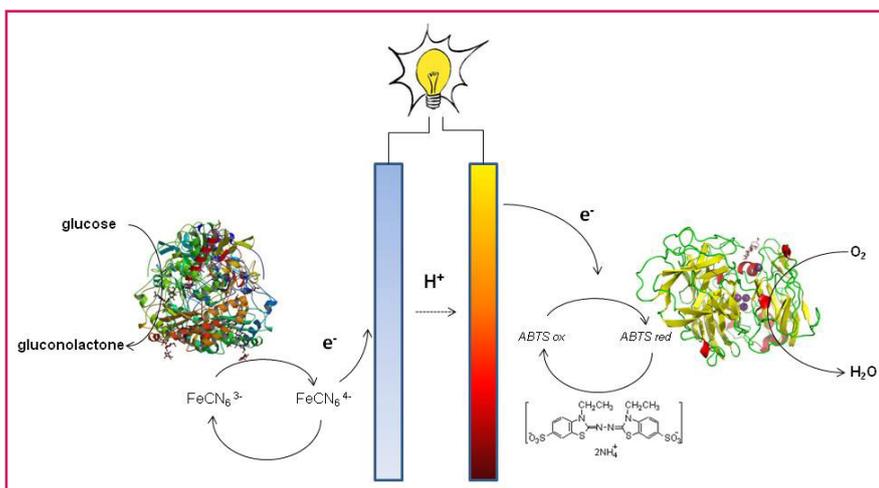


Figure 1 - Principe de la biopile à glucose/oxygène : le glucose est oxydé par l'enzyme glucose oxydase en présence de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) qui est oxydé à l'électrode, et l'oxygène est réduit en eau par l'enzyme laccase en présence d'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS) qui est réduit à l'électrode.

Dans une pile bactérienne, le rendement électrique dépend à la fois du nombre de bactéries, de l'efficacité de leur métabolisme et de la surface des électrodes qui collectent les électrons.

Ces biopiles ont connu un développement depuis une dizaine d'années. De nombreux travaux ont montré les possibilités de génération d'un courant électrique par des micro-organismes fixés sous forme de biofilm sur des électrodes. Les applications de ces dispositifs restent toutefois limitées en raison des particularités de mise en œuvre liées à l'utilisation de cultures microbiennes.

Les biopiles enzymatiques

Le micro-organisme qui assure la réaction redox et le transfert d'électrons peut être remplacé par des catalyseurs biologiques, les enzymes, ce qui ouvre alors un nouveau champ d'applications pour ces dispositifs.

Une classe particulière d'enzymes, nommée oxydoréductase, a comme fonction la catalyse de réactions redox. L'utilisation de ces enzymes connectées à des électrodes permet la construction de biopiles enzymatiques.

Pour assurer leur fonctionnement, il est nécessaire d'immobiliser les enzymes afin de maintenir la stabilité du catalyseur et l'efficacité de sa connexion. Cette connexion entre l'enzyme et l'électrode peut nécessiter l'intervention d'un médiateur qui assure le transfert électronique entre ces deux parties. Le choix du médiateur devient alors primordial pour l'efficacité de la biopile. Compte tenu des potentiels électrochimiques différents de ces deux électrodes, un courant électrique circule entre la cathode et l'anode.

La figure 1 présente le principe de fonctionnement d'une biopile glucose/oxygène. Le glucose est oxydé par l'enzyme glucose oxydase à l'anode en présence de médiateur qui transfère les électrons à l'électrode. À la cathode, une enzyme spécifique réduit l'oxygène en présence de médiateur qui assure le transfert électronique à l'électrode.

De nombreux exemples de biopiles à glucose/oxygène sont décrits dans la littérature. La plupart des systèmes reposent sur l'oxydation du glucose par l'enzyme glucose oxydase associée à un médiateur (ferrocène, ferrocyanure, complexe organométallique...). La réduction enzymatique

de l'oxygène à la cathode est assurée soit par la bilirubine oxydase, soit par la laccase associée à des médiateurs.

Parmi les différentes classes d'enzymes, celles qui présentent un intérêt majeur pour l'élaboration de biopiles sont les oxydoréductases ; ces enzymes catalysent les réactions redox qui mettent en jeu des électrons, soit pour l'oxydation, soit pour la réduction d'un substrat. Dans ce cas, la catalyse enzymatique s'effectue grâce au site actif de la protéine enzymatique qui est associé à un coenzyme. Ce coenzyme agit comme un relais d'électrons. Deux catégories de coenzymes peuvent être associées aux oxydoréductases : les coenzymes activateurs ou groupements prosthétiques, qui sont fortement liés à la protéine enzymatique par des liaisons covalentes, et les coenzymes transporteurs qui se dissocient facilement de la protéine et peuvent diffuser en solution. Le *tableau 1* présente les enzymes de type oxydoréductase utilisables dans des biopiles à combustible. Compte tenu du nombre important d'enzymes catalysant les réactions redox, de très nombreux substrats peuvent être utilisés ; ceci représente un avantage important pour ces dispositifs. Toutefois, les puissances délivrées par ces dispositifs de laboratoire restent faibles (quelques microwatts).

L'avantage de l'utilisation de catalyseurs biologiques est que la pile fonctionne dans des conditions physiologiques de pH et de température, ce qui peut être d'intérêt notable en fonction des applications visées. Notamment, les possibilités de construire des dispositifs implantables pour assurer la production d'énergie à l'intérieur du corps humain et l'alimentation de microsystèmes constituent un domaine de recherches en plein essor [1]. Toutefois, les limitations majeures des biopiles enzymatiques sont liées à la stabilité des enzymes. Même si les méthodes d'immobilisation permettent de protéger l'enzyme et d'éviter sa dénaturation rapide, leur fonctionnement en continu sur plusieurs jours reste encore très problématique.

Stabilité et puissance sont les points limitants actuels des biopiles enzymatiques. Les voies d'amélioration de ces dispositifs concernent la connexion électrique entre l'enzyme et l'électrode, mais aussi le design des électrodes et des cellules électrochimiques.

Historique des biopiles enzymatiques

La première communication scientifique concernant la mise au point d'une biopile enzymatique à combustible date de 1964 [2].

Entre 1964 et 1998, la recherche sur les biopiles enzymatiques est restée confidentielle en termes de publications. Ce n'est qu'au cours des dernières années que le volume de publications scientifiques a augmenté : si en 1998 deux publications répondaient à ces critères de recherche, on en dénombrait 82 en 2010 (*figure 2*).

La biopile à enzyme a connu un regain d'intérêt dans les années 1990, notamment avec les travaux de deux équipes

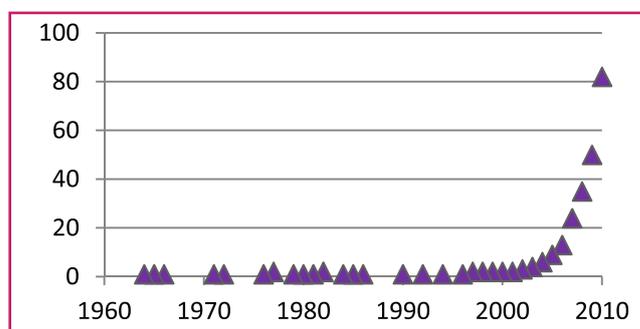


Figure 2 - Nombre de publications par an sur le thème « biopile enzymatique » dans des revues à comité de lecture (source ISI Web of knowledge).

Tableau 1 - Exemple d'enzymes oxydoréductases utilisées pour la réalisation de biopiles, en fonction du substrat, des produits et du coenzyme, ou en fonction du site actif de l'enzyme.

Substrat	Enzyme	Co-enzyme	Produit
Anode			
Méthanol	<i>Alcool déshydrogénase</i>	NAD ⁺	Formaldéhyde
Formaldéhyde	<i>Formaldéhyde déshydrogénase</i>	NAD ⁺	Formiate
Formiate	<i>Formiate déshydrogénase</i>	NAD ⁺	CO ₂
Éthanol	<i>Alcool déshydrogénase</i>	NAD ⁺	Acétaldéhyde
	<i>Alcool déshydrogénase</i>	PQQ lié covalamment	Acétaldéhyde
Acétaldéhyde	<i>Aldéhyde déshydrogénase</i>	NAD ⁺	Acétate
	<i>Aldéhyde déshydrogénase</i>	PQQ lié covalamment	Acétate
Glucose	<i>Glucose oxydase</i>	FAD lié	Gluconolactone + peroxide
	<i>Glucose déshydrogénase</i>	NAD ⁺ /PQQ	Glucose-6-phosphate
	<i>Glucose oxydase</i>	PQQ lié covalamment	Glucose-6-phosphate
Fructose	<i>Fructose déshydrogénase</i>	NAD ⁺	5-déhydro-D-fructose
Lactate	<i>Lactate déshydrogénase</i>	NAD ⁺	Pyruvate
Cathode			
Oxygène	<i>Bilirubin oxydase</i>	Cuivre (site actif)	Eau
	<i>Laccase</i>	Cuivre (site actif)	Eau
Peroxide	<i>Horseradish peroxidase</i>	Hème (site actif)	Eau
	<i>Microperoxidase</i>	Hème (site actif)	Eau
	<i>Cyclooxygénase</i>	Hème (site actif)	Eau

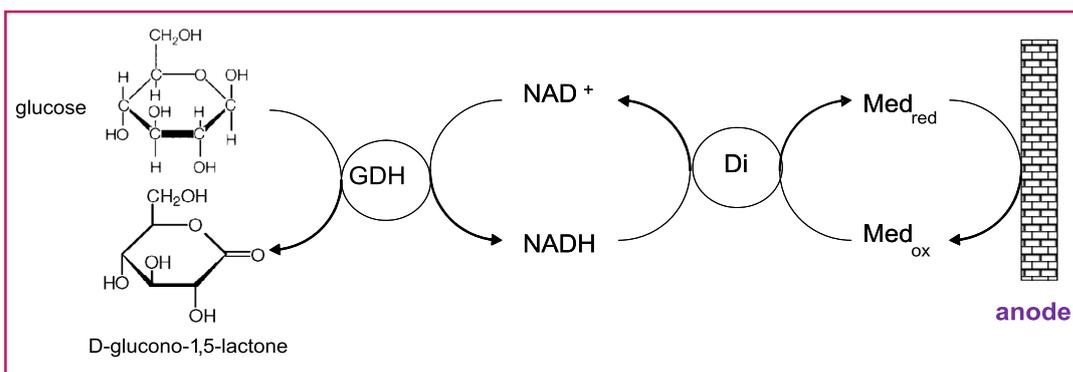


Figure 3 - Principe de la biopile glucose/oxygène développée par Sony.

internationales (I. Willner en Israël et A. Heller aux États-Unis) [3]. Le développement rapide de ces systèmes concerne des recherches autant sur les différentes possibilités d'immobilisation des enzymes que sur les moyens de réaliser leur contact électrique à l'électrode. Malgré le nombre croissant de brevets et de publications scientifiques au cours des dernières années, la commercialisation des biopiles enzymatiques demeure balbutiante en raison des limites technologiques.

Récemment, le développement par Sony d'une biopile capable d'alimenter un appareil de type MP3 a relancé l'intérêt pour ces dispositifs [4]. L'annonce faite à la presse a mis en avant les avantages d'utiliser du sucre comme carburant pour alimenter les appareils électroniques portables. Avec 100 mW de puissance, ce dispositif apparaît comme le plus efficace jamais obtenu. Repris récemment dans une publication scientifique [5], ces travaux montrent les possibilités offertes par ce type de système.

Dans l'exemple présenté par Sony, le dispositif est en réalité plus complexe car à l'anode, une chaîne de réactions est mise en œuvre. Deux enzymes sont utilisées : la glucose déshydrogénase (GDH) et la diaphorase (Di) (voir la figure 3). Pour la cathode, l'enzyme catalysant la réduction de l'oxygène est la bilirubine oxydase associée à la vitamine K3 (ménadione) comme médiateur.

En termes de puissance délivrée par ces dispositifs, les données publiées indiquaient quelques microwatts par cm^2 à la fin des années 1990, pour atteindre 300 à 400 $\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ à la fin des années 2000. Les efforts ont porté principalement sur les méthodes d'immobilisation et de connexion des enzymes sur l'électrode.

Un point clé : l'immobilisation des enzymes

La possibilité de connexion électrique entre l'enzyme et l'électrode pour produire du courant électrique repose sur la capacité à immobiliser le catalyseur sur l'électrode. Classiquement, quatre méthodes peuvent être mises en œuvre pour fixer une enzyme à une électrode : adsorption, greffage covalent, réticulation et encapsulation (voir figure 4).

Immobilisation par adsorption

L'adsorption de biomolécules à la surface de l'électrode est la plus simple des techniques d'immobilisation. Une solution d'enzymes est mise en contact avec la surface d'un corps adsorbant, minéral ou organique, durant une période définie. L'enzyme est retenue à la surface grâce à des liaisons de van der Waals et des interactions homophiles

(hydrophobes et/ou hydrophiles). Les biomolécules non adsorbées sont éliminées lors du lavage. Puisque l'adsorption de protéines sur une surface fonctionnalisée est un phénomène réversible, en modifiant le pH, la force ionique, la concentration en substrat ou la température, il est aisé de la détacher du support. Cette technique est particulièrement simple et économique.

Immobilisation par liaison covalente

La méthode consiste à effectuer une réaction chimique entre les groupements fonctionnels libres d'une enzyme et un groupement réactif situé aux extrémités des chaînes latérales d'un support insoluble. La réaction doit faire intervenir des groupements qui ne sont pas essentiels à l'activité biologique de l'enzyme. Les groupements réactifs d'une protéine peuvent être des groupements aminés, des groupements carboxyliques, des résidus phénoliques (tyrosine), ou bien encore des groupements imidazoles présents sur les histidines. Cette technique se déroule en trois étapes : activation du support, couplage de la biomolécule, et pour finir, rinçage afin d'éliminer toutes les protéines qui auraient pu s'adsorber sur le support.

Immobilisation par réticulation

Les enzymes peuvent être liées entre elles (liaisons intermoléculaires) par des agents bi- ou multifonctionnels ou avec une autre protéine fonctionnalisée comme l'albumine. Ces biomolécules sont tout d'abord adsorbées sur un support, puis traitées par un agent chimique hydrosoluble bifonctionnel comme le glutaraldéhyde. Les enzymes sont alors susceptibles de réagir sur les groupements fonctionnels libres ; on obtient un réseau enzymatique tridimensionnel et insoluble. Les enzymes sont ensuite encapsulées dans un gel qui les réticule.

Les avantages de cette technique sont d'une part la simplicité de la procédure, et d'autre part les liaisons chimiques fortes entre les biomolécules permettant ainsi de

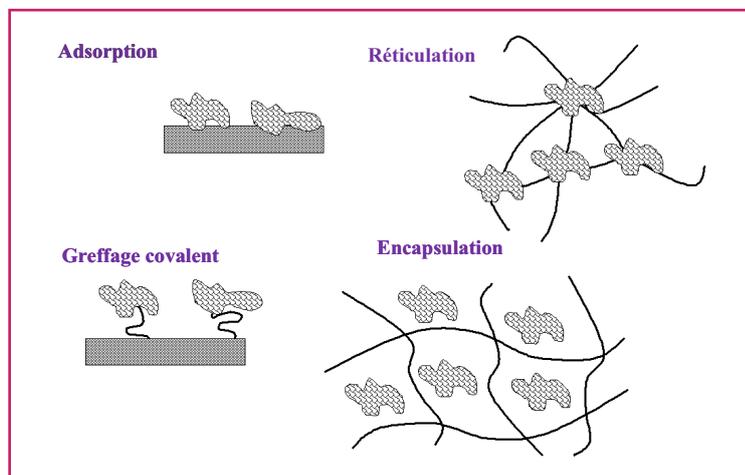


Figure 4 - Différentes méthodes d'immobilisation d'enzymes.

fournir des dérivés insolubles constitués presque exclusivement d'enzymes. De plus, le choix du degré de réticulation peut influencer les propriétés physiques, car dans la plupart des cas, les produits sont gélatineux et difficiles à filtrer, et leurs propriétés mécaniques sont médiocres. Un inconvénient majeur est la perte d'activité enzymatique due aux altérations du site catalytique de l'enzyme.

Immobilisation par encapsulation

L'encapsulation dans une matrice évite la perte des biomolécules dans le mélange réactionnel, tout en laissant aux petites molécules la possibilité de diffuser à travers la matrice. L'encapsulation est une procédure qui ne lie pas chimiquement les enzymes : elles sont immobilisées de manière physique.

Les matrices peuvent être classées en plusieurs catégories : matrices inorganiques (gels de silice, oxydes métalliques), matrices organiques (chitosan, Nafion® et alginate), polymères synthétiques (polyacrylamide, polyuréthanes...), et enfin matériaux composites (pâte de carbone).

Cette méthode est très largement utilisée en raison de ses avantages : maintien de la stabilité des enzymes, bonne efficacité catalytique de l'enzyme immobilisée malgré une perte d'activité, fixation irréversible de l'enzyme.

Connexion électrique des enzymes sur électrode

L'immobilisation d'enzymes sur les électrodes est un paramètre important et doit permettre d'assurer la connexion électrique de l'enzyme. De nombreuses méthodes ont été proposées pour établir ou améliorer le transfert électronique entre les biomolécules et les électrodes. En général, le transfert d'électrons répond à deux mécanismes différents (figure 5) : le transfert direct d'électrons (TDE), et le transfert d'électrons *via* un médiateur (transfert médié d'électrons, TME).

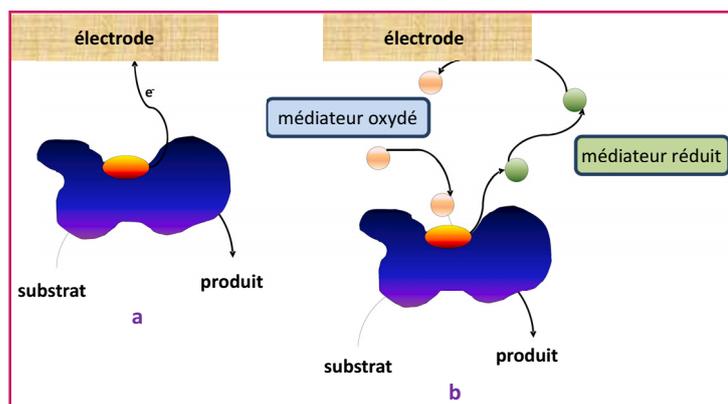


Figure 5 - Schématisation des mécanismes de transfert d'électrons : transfert direct (a) et transfert *via* un médiateur (b).

Dans le transfert direct, les réactions enzymatiques et électriques sont couplées directement. Les électrons transitent directement de l'électrode au substrat *via* le site actif de l'enzyme.

Dans le transfert *via* un médiateur, de petites espèces à faible poids moléculaire, appelées médiateurs, sont introduites dans le système pour transférer les électrons du site actif de l'enzyme généralement peu accessible à l'électrode. Dans ce cas, l'enzyme catalyse l'oxydation ou la réduction

du médiateur. La régénération de celui-ci se fait à la surface de l'électrode. Les caractéristiques majeures des médiateurs sont leurs actions en tant que co-substrat lors de la réaction enzymatique et la réversibilité de leur transformation électrochimique à l'électrode. Les médiateurs peuvent être libres en solution, physiquement encapsulés à l'intérieur d'une membrane, immobilisés avec l'enzyme dans une matrice, ou bien greffés de façon covalente à la surface d'un polymère.

Il existe une très grande quantité de composés capables d'agir comme médiateurs d'enzymes [6] ; les plus fréquemment employés lors de la construction d'électrodes enzymatiques sont répertoriés à la figure 6. Les médiateurs issus de complexes organométalliques sont les plus populaires. Cela peut être attribué à trois facteurs : ils présentent des potentiels redox bas, généralement insensibles au pH, et sont disponibles dans le commerce. Les ferrocènes et les quinones sont très intéressants car une grande variété de dérivés existe avec diverses fonctionnalités.

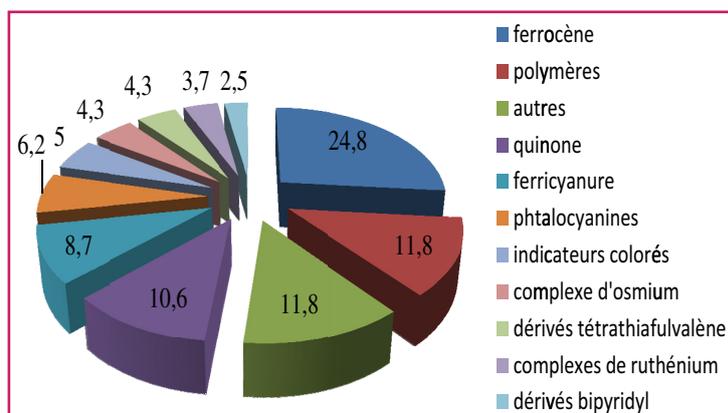


Figure 6 - Médiateurs utilisés dans la construction d'électrodes enzymatiques (données compilées à partir de 140 articles) [6].

L'efficacité de cette connexion peut être largement augmentée grâce à l'immobilisation conjointe de l'enzyme et du médiateur redox à la surface du conducteur électronique. L'élaboration d'une biopile passe ainsi de manière incontournable par la recherche d'un dispositif efficace de connexion entre l'enzyme et le conducteur électronique.

Miniaturisation des biopiles

Les biopiles enzymatiques fournissent des puissances faibles (de l'ordre de quelques dizaines, voire centaines de microwatts par cm^2), qui les rend bien adaptées pour l'alimentation d'appareils électroniques. Les applications potentielles sont des générateurs miniatures dont la puissance et la taille sont compatibles avec une utilisation comme source d'énergie nomade dans des appareils électriques (téléphonie mobile, MP3, capteurs...), voire implantables dans l'organisme (utilisation de carburants présents dans le corps humain comme le glucose ou les acides organiques). La miniaturisation des biopiles nécessite, d'une part, la construction de microélectrodes avec une géométrie et un ajustement optimisés pour maximiser la puissance délivrée et minimiser les résistances ohmiques, et d'autre part, l'immobilisation efficace des enzymes à la surface des électrodes.

Différentes stratégies sont mises en œuvre pour diminuer les dimensions du système. Elles concernent la réduction de la taille de l'électrode, le design du dispositif et plus récemment, l'introduction de la technologie microfluidique appliquée aux biopiles.

L'utilisation de fibres de carbone de dimension micrométrique a permis de diminuer fortement les dimensions de la biopile. C'est ainsi que la réduction de la dimension du système a permis, il y a quelques années, d'implanter une biopile dans un grain de raisin [7]. Ce travail avait montré les applications potentielles des biopiles comme dispositifs implantables grâce à leurs faibles dimensions.

La modification du design de la biopile peut également permettre sa miniaturisation. Une équipe de l'Institut européen des membranes (IEM Montpellier) s'est engagée depuis plusieurs années déjà dans cette thématique. La réalisation d'un prototype de biopile glucose/O₂ il y a quelques années avait montré les potentialités d'utilisation d'électrodes de carbone poreuses. Ce système mettait en œuvre les enzymes glucose oxydase et laccase associées respectivement aux réactions d'oxydation du glucose à l'anode et de réduction de l'oxygène de l'air à la cathode, en présence de leurs médiateurs respectifs, l'acide 8-hydroxyquinoline-5-sulfonique (HQS) et le 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS). Les enzymes et les médiateurs étaient co-immobilisés par piégeage dans un polymère conducteur de polypyrrole déposé à la surface de tubes de carbone poreux (3 µm, porosité 20 %). L'originalité de ce travail a été de montrer l'apport de la structure et la nature poreuse des électrodes. L'oxygène étant nécessaire seulement à la biocathode, la stratégie a été d'introduire par convection une solution saturée en O₂ à l'intérieur du tube poreux qui joue à la fois le rôle de biocathode et de contacteur, capable de délivrer à l'électrode la quantité d'oxygène nécessaire à son fonctionnement. Ce dispositif a délivré une densité de puissance d'environ 19 µW.cm⁻² à 0,23 V.

Le développement d'une biopile concentrique constituée de deux électrodes tubulaires insérées l'une dans l'autre a ensuite été présentée. Dans cette approche, un nouveau design de biopile a été envisagé grâce à la compartimentalisation des électrodes. Ce concept d'électrode sous forme tubulaire entraîne une modification radicale de la géométrie de la pile, passant d'un système plan, présenté dans la littérature, à un système cylindrique.

La figure 7 présente les configurations de biopiles récemment développées à l'IEM. Les électrodes sont en carbone et de forme tubulaire. Cette géométrie permet l'alimentation en gaz (l'oxygène) par le centre du tube. L'enzyme laccase est immobilisée sur les parois et catalyse la réaction de réduction de l'oxygène. Les électrodes sont

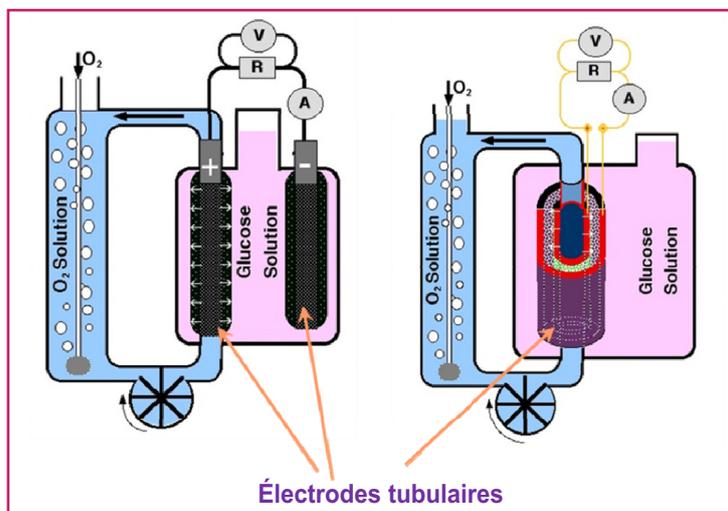


Figure 7 - Prototypes de biopile glucose/O₂.

immergées dans une solution de glucose. Le deuxième dispositif est un système concentrique dans lequel le tube de l'électrode cathodique (modifié par la laccase) est inséré dans un tube plus gros (modifié par la glucose oxydase) qui constitue l'anode de la biopile.

Ce changement de design permet d'envisager la miniaturisation des dispositifs grâce au changement de géométrie et au rapport surface/volume plus intéressant dans les configurations cylindriques.

La miniaturisation de ce système est alors possible en réduisant la taille des tubes, passant de tubes classique à des fibres (type fibres creuses).

Dans le schéma de la figure 8, une solution unique de glucose et d'oxygène alimente la pile. La cathode (tube central) réduit l'oxygène grâce à la laccase et l'ABTS immobilisés, tandis que le glucose diffuse vers le tube externe pour réagir à l'anode. L'intérêt majeur de ce type de dispositif est de permettre une alimentation de la pile avec une solution unique, élément important pour limiter la taille de la biopile.

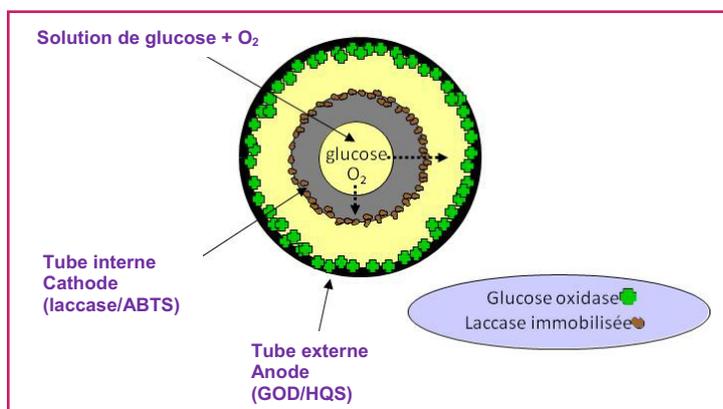


Figure 8 - Exemple de dispositif concentrique de biopile.

Pour poursuivre dans la recherche de la miniaturisation, une autre stratégie basée sur la technologie microfluidique a été récemment développée. Elle permet à la fois de limiter la taille des biopiles et de contrôler les flux de matière qui l'alimentent.

La microfluidique étudie le transport de fluides dans des canaux de dimensions transverses allant de quelques micromètres à quelques centaines de micromètres, et de longueur millimétrique ou centimétrique. À cette échelle, les effets inertiels (à l'origine de la turbulence) sont généralement négligeables. L'écoulement de ces petits volumes dans les microcanaux du système microfluidique est basé sur le régime d'écoulement laminaire. Ainsi, l'écoulement de deux fluides dans un canal microfluidique s'effectue sans mélange convectif entre les deux solutions.

Les premiers dispositifs microfluidiques ont vu le jour dans les années 1980 avec quelques réalisations isolées, inspirées de l'utilisation de nouvelles techniques de microfabrication développées pour les composants électroniques afin de réaliser des systèmes miniatures au sein desquels circulaient des fluides. La microfluidique a réellement connu un essor dans les années 1990 avec pour objectif des analyses en chimie ou biochimie, plus efficaces que les méthodes « macroscopiques » habituelles.

Pour mettre en œuvre la technologie microfluidique, une cellule en forme de double Y est utilisée. Le principe consiste à faire circuler les deux solutions alimentant la biopile. De par les dimensions géométriques de ces dispositifs, les flux des solutions de carburant (glucose) et de comburant (oxygène)

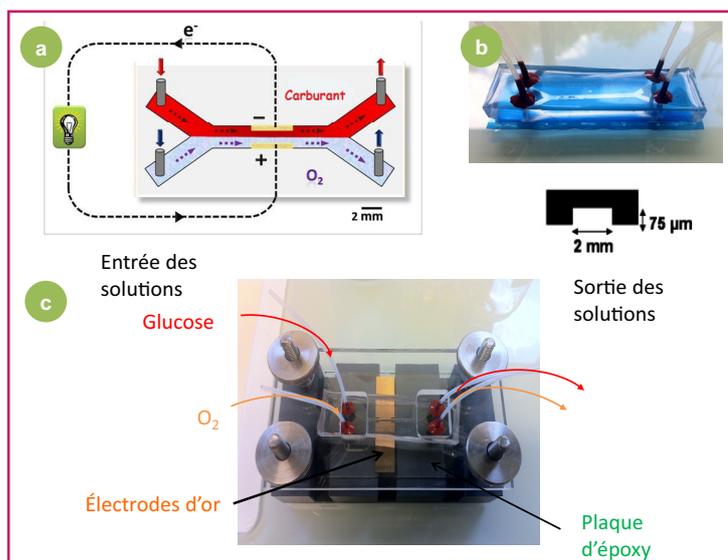


Figure 9 - a) Schéma du dispositif de la biopile microfluidique et b) photographie de la cellule en PDMS recouverte d'un « film bleu » pour la protéger des poussières avant utilisation ; c) cellule d'étude complète.

dissous) circulent en parallèle (régime laminaire) dans un micro-canal sans mélange convectif. Le prototype mis au point (figure 9) est caractérisé par un micro-canal en PDMS (polydiméthylsiloxane) de 2 mm de largeur et 75 µm de profondeur, en contact avec une lame de verre modifiée par des électrodes d'or. Ce prototype est équipé de deux entrées et deux sorties pour introduire les solutions de carburant et d'oxydant contenant les enzymes en solution. L'avantage de ces systèmes est d'éviter, d'une part, le mélange du carburant et de l'oxydant (« crossover ») qui pénalise la connexion électrique, et d'autre part, de travailler avec des solutions d'alimentation de nature différente.

Les microcanaux permettent d'obtenir des écoulements invariablement laminaires, quels que soient les débits appliqués. Dans notre cas, cela garantit une diffusion minimum des produits entre l'anolyte et le catholyte (par exemple, pas de diffusion de l'oxygène vers l'anode).

La cellule est formée par technique de lithographie molle. La cellule de PDMS présente un canal de dimension microfluidique. Elle est collée sur une plaque de verre par simple pressage. Ces cellules ont été appliquées dans des dispositifs électrochimiques (figure 10). À cet effet, la plaque de

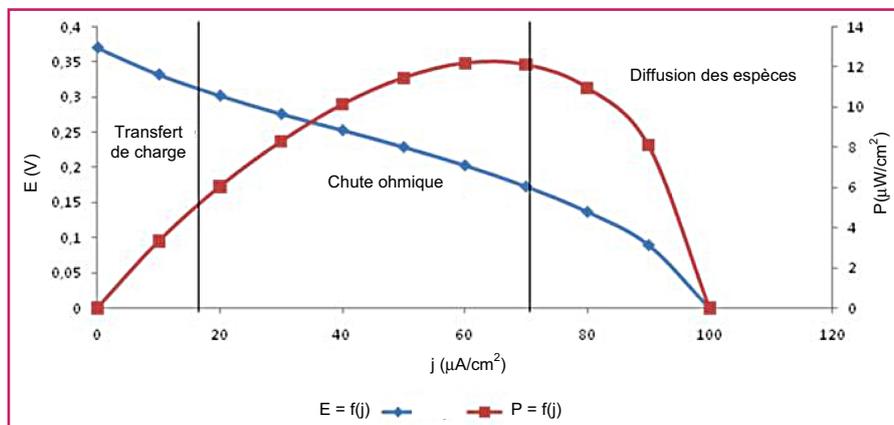


Figure 10 - Exemple de caractéristique électrochimique d'une biopile microfluidique glucose/ O_2 . Le courant débité par la biopile est enregistré en fonction du potentiel appliqué.

verre qui reçoit la cellule en PDMS est modifiée par un dépôt d'or dessiné pour permettre le contact entre le fluide du canal et les électrodes ainsi réalisées.

Compte tenu des faibles dimensions de ces systèmes, il est possible d'augmenter l'apport énergétique en multipliant le nombre de biopiles utilisées, grâce notamment à leur mise en série.

Un exemple de configuration possible de dispositif en série est présenté sur la figure 11. Les électrodes situées dans chacun des canaux verticaux peuvent être connectées électriquement en série afin d'obtenir une tension maximale ou en parallèle pour obtenir une intensité maximale. De plus, les solutions de sortie sont collectées et peuvent être réinjectées en entrée de la pile. Cet exemple montre les possibilités offertes par ce type de dispositif.

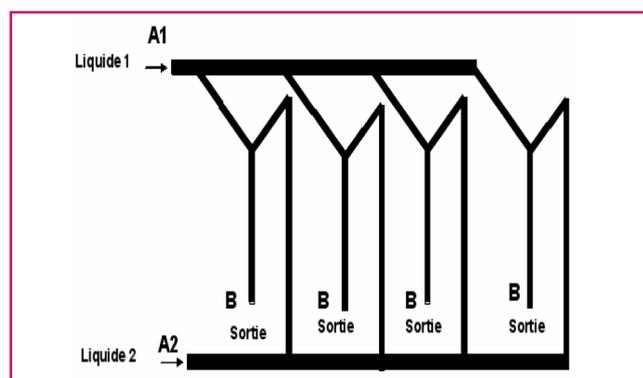


Figure 11 - Exemple de dispositif en série de cellules microfluidiques.

Perspectives

Les biopiles enzymatiques font l'objet de nombreux travaux ces dernières années. Elles constituent un dispositif alternatif de pile à combustible pour la production d'électricité. Même si les puissances délivrées restent très faibles (de l'ordre de quelques dizaines de microwatts), les possibilités d'application comme source d'énergie pour des micro-machines, des microcapteurs, montrent la pertinence de ces systèmes. L'utilisation de combustibles comme des sucres ou des alcools et de catalyseurs enzymatiques en substitution des catalyseurs métalliques utilisés dans les

piles à combustible classiques permet l'intégration des biopiles dans un réel enjeu de développement durable, c'est-à-dire de limitation de l'impact environnemental des dispositifs de production d'énergie. C'est aussi cet aspect qui justifie les recherches dans ce domaine. Il est clair que les faibles puissances de ces dispositifs limiteront notablement leur champ d'application, mais de sérieuses perspectives d'utilisation des biopiles existent, que ce soit avec des systèmes enzymatiques ou des systèmes microbiens. Les possibilités d'implantation *in vivo* de biopiles dans le domaine biomédical restent aussi une voie prometteuse.

Références

- [1] Enfin un implant qui carbure au glucose, *Courrier international*, **2012**, 1141, p. 39 (www.courrierinternational.com/article/2012/09/11/enfin-un-implant-qui-carbure-au-glucose).
- [2] Yahiro A.T., Lee S.M., Kimble D.O., Bioelectrochemistry: I. Enzyme utilizing bio-fuel cell studies, *Biochim. Biophys. Acta*, **1964**, 88, p. 375.
- [3] Wilson G.S., Bioelectrochemistry, *Encyclopedia of Electrochemistry*, vol. 9, John Wiley, **2002**.
- [4] www.sony.net/SonyInfo/News/Press/200708/07-074E/index.html
- [5] Sakai H., Nakgawa T., Tokita Y., Hatazawa T., Ikeda T., Tsujimura S., Kano K., A high-power glucose/oxygen biofuel cell operating under quiescent conditions, *Energy Environ. Sci.*, **2009**, 2, p. 133.
- [6] Davis J., Vaughan D.H., Cardosi M.F., Elements of biosensor construction, *Enzyme Microb. Technol.*, **1995**, 17, p. 1030.
- [7] Mao F., Mano N., Heller A., Long tethers binding redox centers to polymer backbones enhance electron transport in enzyme "Wiring" hydrogels, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, p. 4951.



S. Tingry



C. Innocent



M. Cretin

Sophie Tingry et **Christophe Innocent** (*auteur correspondant*) sont chargés de recherche à l'Institut Européen des Membranes de Montpellier*.

Marc Cretin est professeur à l'Université Montpellier 2*.

* Institut Européen des Membranes, Université Montpellier 2, place E. Bataillon, CC 047, F-34095 Montpellier Cedex 5.
Courriel : christophe.innocent@iemm.univ-montp2.fr



Institut de Chimie des Substances Naturelles

L'ICSN organisera son XIIIème symposium

les 13 et 14 juin 2013

sur le campus du CNRS de Gif sur Yvette

Ce symposium se déroulera pendant deux jours et accueillera une large audience de scientifiques et d'étudiants en thèse. Il comprend environ treize conférences plénières données par des scientifiques invités de renommée internationale et près de 100 communications par affiche.

Le programme détaillé est consultable sur le site du symposium : <http://www.icsn.cnrs-gif.fr/symposium>

ICSN CNRS

1 avenue de la Terrasse - Bâtiment 27 91198 Gif sur Yvette cedex

Tél : (33) 1 69 82 45 93 - Fax : (33) 1 69 07 77 52

E-mail : beatrice.fixois@icsn.cnrs-gif.fr

Site web de l'ICSN : <http://www.icsn.cnrs-gif.fr>

