

La bioélectrochimie

Une interface entre les sciences pour l'ingénieur et les sciences du vivant

Christophe Innocent et Pierre Gros

Résumé	La bioélectrochimie est la discipline qui développe les concepts et utilise les méthodes électrochimiques pour l'étude des objets biologiques, depuis la molécule jusqu'aux systèmes organisés. Son domaine d'application s'étend des mécanismes fondamentaux de transferts électroniques ou ioniques dans le monde vivant jusqu'aux développements biotechnologiques. Cet article donne un aperçu rapide des différents aspects de la discipline et est complété dans ce numéro par trois articles spécifiques qui apportent un éclairage particulier sur des domaines d'applications actuels : bioanalytique, biomédical et bioénergétique.
Mots-clés	Électrochimie, biologie, transfert électronique, transfert ionique, biocapteur, bioprocédé.
Abstract	Bioelectrochemistry: an interface between engineering and life science Bioelectrochemistry is the discipline that develops concepts and electrochemical methods for the study of biological objects, from molecule to organized systems. Its application fields cover as well fundamental mechanism of electronic or ionic transfer in living world as biotechnologic developments. This article provides a quick overview of the various aspects of the discipline. It is complemented in this issue by three articles that bring a special focus on current applications: bioanalytical, biomedical and bioenergetic.
Keywords	Electrochemistry, biology, electronic transfer, ionic transfer, biosensor, bioprocess.

De Galvani à Sakmann : bref rappel historique

Les prémices de la bioélectrochimie remontent à l'Antiquité, lorsque les Grecs ont observé les phénomènes liés à l'électricité statique et au magnétisme. Dès cette époque, le lien avec le monde vivant se fait grâce à la connaissance du poisson électrique (poisson torpille notamment) et de ses effets sur l'homme. Les différents effets de l'électricité n'étaient pas conceptuellement reliés. La foudre, l'effet du poisson torpille, la triboélectricité, restaient des concepts indépendants, suggérant même une force intérieure aux choses. Au XVIII^e siècle, les questionnements sur l'origine des mouvements musculaires vont permettre une avancée notable. La découverte de la bouteille de Leyde [1], condensateur capable de générer une décharge électrique importante, apporte un élément déterminant dans la compréhension des mouvements musculaires. Utilisé initialement pour « électriser de l'eau et en « tirer le feu » » d'après les expériences du physicien allemand Bose vers 1740, l'effet d'une décharge électrique sur le corps humain est démontré par Pieter van Musschenbroek à l'Université de Leyde au Pays-Bas en 1746, qui écrira : « *Tout à coup ma main droite fut frappée avec tant de violence que j'eus tout le corps ébranlé comme d'un coup de foudre [...]; en un mot je croyais que c'en était fait de moi.* » Les expériences sur l'effet de l'électricité à travers la bouteille de Leyde et la contraction musculaire voient le jour. En 1786, Luigi Galvani montrera le lien entre le mouvement musculaire et l'électricité en développant le concept d'« électricité animale » dans *Commentaire sur les forces de l'électricité dans le mouvement musculaire* publié en 1792. Un désaccord important opposera Alessandro Volta et Luigi Galvani sur la nature de l'électricité, Volta argumentant qu'il s'agit d'une électricité « métallique » liée à la nature des conducteurs uti-

lisés et non animale. Cette querelle aboutira à la mise au point par Volta de la pile électrochimique (qui portera son nom) et qui ouvrira la voie au stockage électrochimique de l'énergie.

Même si ses conclusions ont donné lieu à controverses, les travaux de Galvani ont ouvert la voie à ce qui deviendra l'électrophysiologie. L'idée est qu'une différence de potentiel électrique existe bien dans le muscle. Toutefois, la mesure du courant induit, d'intensité trop faible, n'était pas possible. C'est grâce à Leopoldo Nobili et son invention du galvanomètre astatique que les choses vont évoluer, la mesure du courant n'étant alors plus influencée par le champ magnétique terrestre. Grâce à cet appareil, l'Italien Carlo Matteucci met en évidence en 1838 un courant électrique entre la surface intacte et la section lésée d'un muscle de grenouille au repos. Emil du Bois-Reymond, physiologiste allemand, montre que la stimulation des muscles se traduit également par un courant qui circule en sens inverse du courant observé au repos. Ces travaux ont été publiés dans trois volumes des *Études de l'électricité animale (Untersuchungen über tierische Elektrizität)*, en 1848, 1860 et 1884. La théorie selon laquelle les cellules des tissus nerveux, les neurones, se comportent comme de minuscules piles biologiques voit le jour. La différence de potentiel observée est due à la différence de concentration des ions potassium de part et d'autre de la membrane des cellules. L'étude d'un neurone géant de calamar par Alan Hodgkin et Andrew Huxley en 1952 a permis de confirmer que la membrane neuronale est électriquement polarisée en fonction de son activité. Au repos, la différence de potentiel entre l'intérieur du neurone, riche en potassium, et l'extérieur, riche en sodium, est négative. La stimulation du nerf modifie la perméabilité de la membrane, déclenchant une migration contrôlée des espèces chimiques, qui se traduit par une inversion de polarité. Le signal électrique ainsi créé, ou potentiel d'action, se propage inchangé le long du neurone, en direction

Le Groupe Français de Bioélectrochimie (GFB)

Le Groupe Français de Bioélectrochimie est une association de type « loi de 1901 » fondée en 1986* afin de promouvoir la bio-électrochimie à travers l'établissement de liens entre les électrochimistes intéressés par les phénomènes biologiques, et les biologistes confrontés aux problèmes de transfert d'électrons et/ou de transport d'ions (spécialistes des membranes, électrophysiologistes, spécialistes des canaux ioniques, etc.). Le GFB concerne également les analystes, les biochimistes, les micro-électroniciens et les microtechnologues impliqués dans le développement des capteurs biologiques tels que les puces à ADN ou les biopuces, et les bioréacteurs électrochimiques comme les biopiles. Ses activités regroupent désormais six grandes thématiques : Biocapteurs et électrodes modifiées ; Biofilms et biocorrosion ; Biopiles ; Développement des biopuces et systèmes intégrés ; Électrochimie des protéines et biomimétisme ; Électrochimie du vivant.

Le GFB édite régulièrement une lettre d'information pour ses membres afin de faire vivre la communauté à travers l'échange régulier d'information. L'association fêtera en 2016 son 30^e anniversaire à l'occasion de son XV^e colloque, démontrant ainsi la pérennité de cette discipline et la nécessité de maintenir un lieu d'échange à travers une association dynamique.

*<http://bioelectrochimie-gfb.org>

du neurone suivant. Le modèle électrique de Hodgkin et Huxley leur a valu le prix Nobel de médecine en 1963. Erwin Neher et Bert Sakmann obtiendront aussi le prix Nobel en 1991 grâce à la mise point de la technique dite du « patch clamp » [2]. Ils ont montré que le transfert du potassium et du sodium à travers la membrane des neurones s'effectue par de minuscules canaux, tapissés de protéines de largeur variable.

La bioélectrochimie est une discipline toujours vivante et fait l'objet de nombreux travaux de recherche dans le monde. En France, la communauté des bioélectrochimistes s'est fédérée il y a presque trente ans à travers une association, le Groupe Français de Bioélectrochimie (GFB, voir *encadré*).

Étude des processus bioélectrochimiques fondamentaux

Les fondements de la bioélectrochimie reposent sur l'étude des interactions entre l'électrochimie et les molécules ou systèmes biologiques. Deux grands domaines peuvent être distingués : celui du transfert électronique à l'électrode lié aux processus biologiques, et celui du transport ionique associé aux phénomènes électriques des cellules.

Transfert électronique électrode-biomolécules

Les réactions de transfert d'électron sont courantes en milieu biologique. Elles gouvernent notamment les métabolismes photosynthétiques ou les phénomènes respiratoires chez les êtres vivants, par le biais de réactions redox en cas-

cade. L'examen de ces processus par les techniques électrochimiques nécessite l'établissement d'un transfert électronique entre les molécules redox et un matériau conducteur. Cette connexion électrique entre des biomolécules et une électrode n'est pas triviale. Par exemple, dans le cas des enzymes, le site catalytique actif doit être au plus près de la surface de l'électrode avec une orientation optimale. Très souvent, un médiateur d'oxydoréduction est utilisé, sorte de relai électronique entre l'enzyme et l'électrode (*figure 1*).

De manière analogue, la connexion entre une cellule et une électrode peut s'établir, soit *via* l'intervention d'un médiateur électrochimique, artificiel ou excrété par la cellule, soit de manière directe. Dans ce dernier cas, il est nécessaire que les cellules s'organisent sous forme de biofilm à la surface de l'électrode. Ces biofilms sont à l'origine des phénomènes de biocorrosion, bien connus dans le domaine maritime. Les transferts électroniques assurés entre les cellules et la partie métallique de la coque des bateaux entraînent la corrosion du métal. Dans ce cas, l'électrode devient sacrificielle puisqu'elle participe directement aux réactions redox en fournissant les électrons par oxydation du métal. Les biofilms peuvent également fonctionner dans l'autre sens, c'est-à-dire comme générateur d'électrons ; c'est le cas dans les biopiles microbiennes, dispositif capable de produire du courant électrique grâce à l'utilisation de bactéries immobilisées sur une électrode (voir article de Y. Holade *et coll.* p. 81).

Transport ionique en biologie et électrochimie

Comme décrit précédemment, c'est historiquement à travers l'électrophysiologie que la bioélectrochimie est née. En effet, le monde vivant est constitué de cellules, entités élémentaires capables d'assurer les fonctions essentielles au maintien de leur activité et de leur reproduction. Les membranes de ces cellules assurent une barrière sélective entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule. Une différence de concentration ionique est maintenue par cette membrane. Il en résulte donc un potentiel électrique auquel sont associées des fonctionnalités cellulaires particulières : les neurones (influx nerveux) et les cellules musculaires (contraction) sont les cas les plus remarquables. Les techniques électrochimiques permettent de mesurer, d'analyser et donc de mieux comprendre les phénomènes électriques dans les cellules. Elles peuvent également être utilisées pour agir sur ces cellules, notamment pour modifier leur perméabilité membranaire par application d'un champ électrique : c'est le cas de l'électropériméabilisation ou l'électroporation. Des applications médicales ont été développées avec l'électrochimiothérapie, technique qui permet l'introduction de substances chimiques. L'électroporation est de nos jours aussi appliquée pour modifier le patrimoine génétique des cellules en introduisant de l'ADN sous l'effet d'un champ électrique pulsé. Ces études et applications sont développées dans l'article de M. Breton *et coll.* (p. 83).

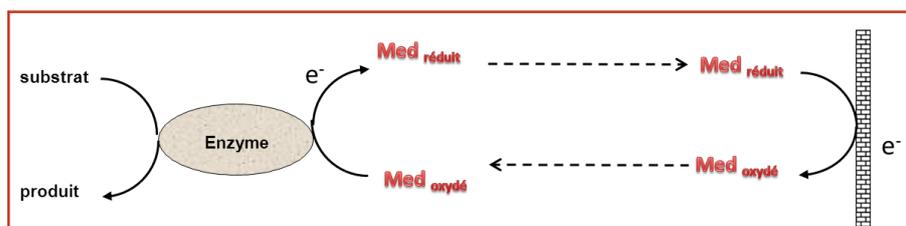


Figure 1 - Principe de la connexion électronique entre une enzyme et une électrode *via* un médiateur (Med) électrochimique.

Bioélectrochimie et analyse : les biocapteurs et électrodes biomédicales

Selon l'International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), un biocapteur est défini comme un outil analytique autonome qui associe une macromolécule biologique (enzyme, anticorps, antigène, oligonucléotide, micro-

organisme, tissu végétal ou animal...) à un transducteur (électrode, thermistor, transistor à effet de champ, fibre optique, microbalance à quartz...). L'interaction spécifique entre le récepteur biochimique et l'analyte induit un signal physico-chimique qui est transformé en un signal analogique mesurable par divers moyens physiques. Ce signal donne une information quantitative ou semi-quantitative, généralement la concentration de l'espèce cible [3]. Dans le cas d'un biocapteur électrochimique, la transduction est assurée par une électrode. Le signal mesuré est alors un potentiel électrique, une intensité de courant, une conductivité électrique ou une capacité. Une définition complémentaire est quelquefois proposée : un biocapteur est un capteur chimique qui, comprenant un élément de reconnaissance spécifique non biologique, permet l'étude et le suivi de processus biologiques. Quelle que soit la définition retenue, le terme même de biocapteur révèle les points de rencontre entre la sphère biologique et le domaine de la mesure. Deux objectifs majeurs sont poursuivis : en amont, il s'agit d'exploiter les méthodes d'élaboration de l'interface bioélectrochimique pour concevoir le capteur. En aval, les mesures permettent la résolution de problèmes analytiques et l'étude de mécanismes biologiques de transfert d'électron.

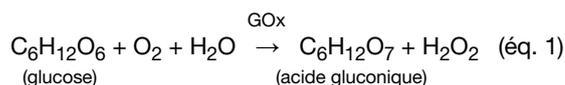
Les biocapteurs représentent à ce jour un des exemples les plus réussis d'interfaces bioélectrochimiques. Ce succès tient pour une grande part à leurs performances analytiques : précis (moins de 5 % d'incertitude) et fiables, ils présentent généralement une sensibilité permettant d'atteindre des seuils limites de détection inférieurs à la micromole par litre en routine. Le domaine de linéarité du signal couvre plusieurs décades de concentration. Les vitesses élevées des réactions biocatalytiques et de transport de matière induisent des temps de réponse, de l'ordre de quelques secondes à la minute, compatibles avec la plupart des métabolismes ; ils sont ainsi adaptés au suivi des processus biologiques en temps réel. Enfin, les progrès réalisés dans la miniaturisation et l'intégration de fonctions complémentaires font des biocapteurs des outils simples d'utilisation et de coût sans commune mesure avec la plupart des systèmes d'analyse. Toutefois, la couche de reconnaissance moléculaire implique un élément biologique dont l'activité décroît irréversiblement au cours du temps. Malgré les progrès réalisés en génie enzymatique et l'ingéniosité déployée pour optimiser l'immobilisation et la stabilisation des macromolécules biologiques à la surface des électrodes, les biocapteurs présentent une durée de vie limitée, de quelques semaines à quelques mois pour les biorécepteurs les plus robustes.

Les biocapteurs ont initialement été dédiés à l'analyse en biologie clinique, faisant l'objet de revues bibliographiques [4] et d'ouvrages décrivant les exemples les plus courants [5] : dosage du glucose, du lactate, de l'urée et de la créatinine. Ils ont depuis investi d'autres domaines d'application : contrôle de procédés agroalimentaires, qualité sanitaire des aliments, protection de l'environnement, analyse des produits pharmaceutiques ou détection de substances illicites.

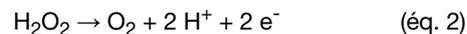
Le biocapteur à glucose : les raisons d'un succès

On doit les premiers travaux sur le biocapteur électrochimique à glucose, appelé autrefois électrode à enzyme à glucose, à Leland C. Clark Jr, il y a plus de cinquante ans. Le dispositif comprenait une membrane de dialyse semi-perméable disposée à la surface d'une électrode à oxygène et confinant une fine couche de glucose oxydase (GOx). Le capteur suivait la concentration du gaz dissous, consommé au cours de la

réaction biocatalytique [6] :

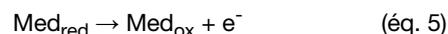
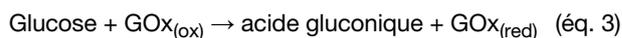


Afin de corriger les erreurs de mesure dues à la variation de concentration d'oxygène dans l'échantillon, ou même de s'affranchir de la quantité d'oxygène disponible, d'autres dispositifs ont été imaginés, qui ont consisté à détecter non plus l'oxygène consommé mais le peroxyde d'hydrogène produit, en mesurant à une anode le courant correspondant à son oxydation [7] :



Ce point est d'autant plus crucial dans l'analyse sanguine pour laquelle, dans les conditions physiologiques, la concentration en oxygène est d'un ordre de grandeur inférieur à celle du glucose. Ces travaux pionniers ont ouvert la voie à une activité de recherche intense, en particulier dans le domaine de l'analyse en biologie clinique. Ils ont donné lieu en 1975 à la commercialisation par Yellow Spring Instrument d'un dispositif de mesure directe du glucose dans 25 μL de sang.

Un capteur, dit de seconde génération, a consisté à remplacer le co-substrat naturel de l'enzyme par des médiateurs d'oxydoréduction de faible poids moléculaire, tels que les ions ferricyanure, le ferrocène ou les composés quinoniques. La reconnaissance moléculaire repose alors sur le mécanisme biocatalytique suivant :



L'éventuelle toxicité du médiateur excluant de l'introduire dans l'échantillon, différentes stratégies ont été envisagées pour l'immobiliser à la surface de l'électrode : création de liaisons chimiques avec le conducteur électronique, immobilisation dans une matrice telle qu'un gel ou un polymère, corrélation avec un agent polyfonctionnel tel que le glutaraldéhyde... Une troisième génération de biocapteurs favorise un transfert électronique direct entre l'enzyme et l'électrode [8]. Celui-ci est d'autant plus facile que la distance entre le centre redox du biocatalyseur et la surface de l'électrode est courte. Ce n'est pas le cas de la glucose oxydase dont le centre flavinique est recouvert par une couche protéique épaisse. Parmi les voies substitutives empruntées, on peut citer les travaux du groupe de Heller [9], qui a créé une connexion électrique à l'aide d'une chaîne polymère flexible de polypyridine, ou ceux de Willner, basés sur la fonctionnalisation d'électrodes d'or par des groupes thiolés, qui favorisent l'assemblage organisé de couches multiples d'enzyme [10].

Les développements récents des biocapteurs à glucose visent deux applications principales. La première concerne les systèmes d'analyse *in vitro* pouvant être utilisés par les diabétiques au quotidien et de manière autonome. Ils nécessitent des électrodes prêtes à l'emploi, à usage unique, faisant appel aux techniques de microfabrication collective à moindre coût. La deuxième application concerne le contrôle en continu et à distance du taux de glucose. La mesure peut être réalisée *in vivo* ou de manière non invasive. La première option exige des électrodes miniaturisées, biocompatibles, présentant une longue durée de vie et un temps de réponse court, et qui autorisent une calibration *in vivo*. Le dispositif le plus abouti est le microbiocapteur type aiguille implanté sous

la peau (voir l'article de S. Marinesco et S. Arbault, p. 79). La deuxième voie est basée sur l'extraction électro-osmotique transcutanée du glucose couplée à un biocapteur. Les données sont récoltées à la surface de la peau à l'aide d'un dispositif équivalent à une montre.

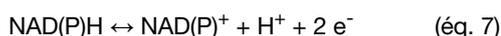
Les raisons du succès du biocapteur à glucose tiennent à des considérations scientifiques, sociétales et économiques. Toutes ces recherches ont certes été rendues possibles par les progrès technologiques, en particulier les innovations accomplies dans le domaine des sciences des matériaux. Elles bénéficient également de la très grande stabilité de la glucose oxydase qui a permis presque toutes les tentatives d'exploitation. Ce travail répond également à une demande sociétale, 16 millions de personnes souffrant de diabète aux États-Unis et plus de 300 millions dans le monde à la fin du siècle dernier [11]. C'est enfin, peut-être surtout, un marché gigantesque : le coût direct et indirect associé au diabète s'élève à 100 milliards de dollars pour la seule économie américaine...

Les biocapteurs NAD-dépendants : verrous scientifiques et techniques

Le deuxième exemple remarquable d'application des biocapteurs électrochimiques utilise les systèmes enzymatiques NAD(P)-dépendants, c'est-à-dire impliquant le nicotinamide adénine dinucléotide (phosphate) comme coenzyme dans le mécanisme biocatalytique. L'une des raisons est que les déshydrogénases constituent le plus grand groupe des oxydo-réductases, plus de 250 enzymes NAD-dépendantes et près de 150 NADP⁺-dépendantes ayant été recensées. Le mécanisme biocatalytique repose sur l'oxydation du substrat par le coenzyme pyridinique :



Le coût relativement élevé du coenzyme ne permet pas d'envisager son introduction en quantité stœchiométrique et il est nécessaire de le régénérer électrochimiquement. Dans le cadre de la mise au point d'un biocapteur ampérométrique autonome, l'oxydation électrochimique de NAD(P)H est utilisée avantageusement comme étape de transduction :



Ce mécanisme est à la base d'un certain nombre de biocapteurs dits de première génération. L'inconvénient majeur réside dans la surtension anodique nécessaire pour assurer un transfert électronique rapide et qui peut générer des interférences. Différentes stratégies ont été développées pour s'affranchir de ce problème. Une première solution consiste à employer un médiateur d'oxydoréduction, comme les quinones, quinoneimine, phénoxazine, indophénol ou ferrocène. L'immobilisation à la surface de l'électrode de la déshydrogénase, du coenzyme et du médiateur exige dès lors la mise au point d'un édifice bioélectrochimique structuré, qui retient efficacement l'ensemble des acteurs du système catalytique tout en favorisant le transport du substrat. La contrepartie est l'assurance d'un contact intime entre le biocatalyseur et le médiateur d'une part, entre le médiateur et le transducteur d'autre part. Une seconde stratégie consiste à favoriser l'émergence de matériaux d'électrode permettant d'oxyder directement NADH à des potentiels relativement bas, sans passer par l'intermédiaire de médiateur d'oxydoréduction. Dans ce contexte, quelques tentatives de biocapteurs de troisième génération ont été rapportées dans la bibliographie, qui utilisent des électrodes d'or, des pâtes de carbone contenant

des particules métalliques catalytiques (Pt, Pd, Ru) ou des sels organiques conducteurs.

Les applications biomédicales des biocapteurs NAD-dépendants sont multiples. La première concerne bien sûr le dosage du glucose. Substituer la glucose déshydrogénase à la glucose oxydase permet de ne plus être tributaire de la présence d'oxygène. Deuxième exemple réussi d'application, le capteur à L-lactate est très présent dans la médecine du sport ; les athlètes qui s'adonnent aux épreuves d'endurance contrôlent régulièrement leur capacité à éliminer l'acide L-lactique dont l'accumulation dans l'organisme entraîne l'apparition de crampes musculaires. D'autres travaux plus récents ont concerné la mise au point de microbiocapteurs à glutamate pour l'étude des mécanismes de neurotransmission.

Autres types de biocapteurs électrochimiques

Le désir légitime d'un diagnostic toujours plus fiable et plus précoce, la recherche de nouveaux marqueurs pathologiques, et l'émergence de problèmes analytiques de plus en plus complexes ont engendré le développement d'autres types de biocapteurs électrochimiques. Les immunocapteurs et les biocapteurs à ADN présentent le plus de potentialités en analyse clinique. Les premiers exploitent la spécificité inhérente à la réaction d'affinité antigène-anticorps. Le dispositif le plus répandu, connu sous le nom de test ELISA (« enzyme-linked immunosorbent assay »), mesure par colorimétrie la quantité d'antigène cible fixé à l'anticorps de capture. Les techniques électrochimiques ont également été explorées [12]. Des capteurs potentiométriques, ampérométriques, conductimétriques ou à capacité ont été mis au point, associés à la détection directe ou indirecte de la réaction immunologique. Les exemples d'application biomédicale sont nombreux : dosage d'hormones, détection de virus...

La détection de séquences d'acides nucléiques a ouvert de larges perspectives pour le diagnostic de maladies infectieuses ou génétiques. Les vingt dernières années ont ainsi été le témoin d'une activité de recherche intense sur les capteurs à ADN. Quel que soit le mode de transduction, le principe de fonctionnement repose sur l'immobilisation sur un support d'un brin d'ADN récepteur ; celui-ci reconnaît de manière spécifique le brin complémentaire constituant l'espèce cible. L'électrochimie a dans un premier temps été utilisée comme technique d'adressage pour immobiliser le brin récepteur sur des surfaces électrochimiques, notamment par l'intermédiaire de polymères fonctionnalisés [13]. Développée par Cis Bio International, elle a permis de multiplier le nombre de puits par puce. Une transduction électrochimique indirecte du processus d'hybridation a également pu être mise en évidence. Elle exploite la modification des propriétés électrochimiques de complexes, de polymères, de particules métalliques ou d'enzymes qui se lient de manière spécifique avec le double brin d'ADN. Cette avancée offre une alternative intéressante pour réaliser des dosages plus rapides et moins coûteux que les techniques conventionnelles de fluorescence. Associé aux technologies de fabrication collective d'électrodes miniaturisées, ce nouveau dispositif permet plusieurs centaines de mesures simultanées sur des puces de quelques mm² de surface.

Procédés de production électrique : les biopiles

La production d'énergie devient un enjeu majeur et l'impact sur l'environnement de la combustion de sources

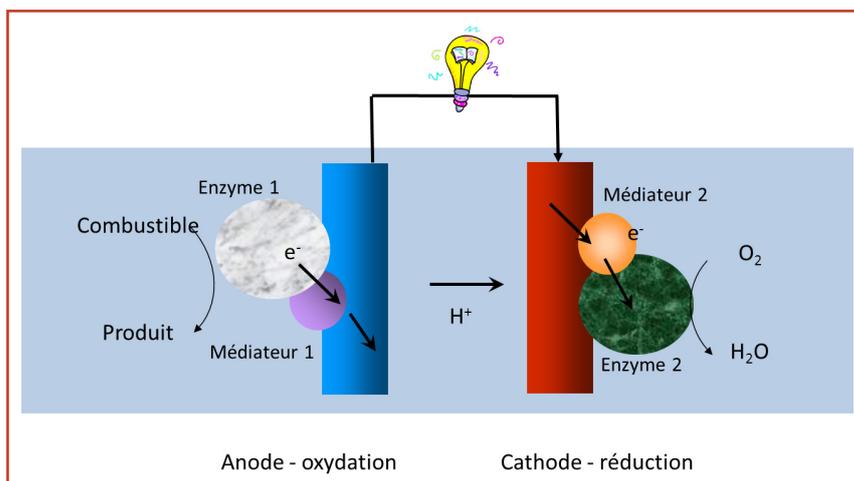


Figure 2 - Schéma simplifié d'une biopile enzymatique.

La cinétique de réduction de l'oxygène est une problématique majeure pour l'efficacité d'une biopile. La réaction peut être catalysée par des enzymes, comme la laccase ou la bilirubine oxydase. Leur connexion à l'électrode *via* un médiateur ou par transfert direct constitue un enjeu important. L'introduction de matériaux d'électrode poreux a par ailleurs permis le développement de cathode à air, capable de réduire l'oxygène de l'air et ainsi de s'affranchir de la faible solubilité de l'oxygène dans l'eau, qui limite les dispositifs en solution [15].

Un des avantages importants des biopiles est la grande quantité de carburant utilisable pour la production de courant électrique. L'hydrogène, à travers l'utilisation de l'enzyme hydrogénase, l'alcool, les sucres, sont autant de substrats possibles pour les biopiles.

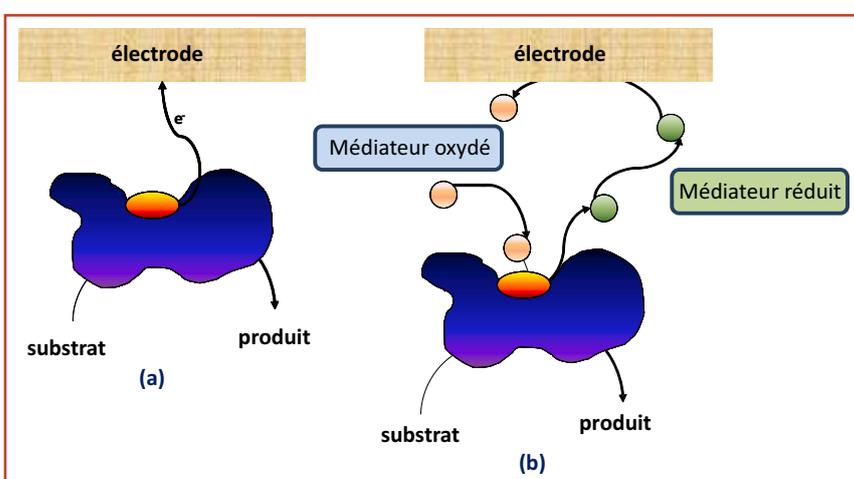


Figure 3 - Mécanismes de transfert d'électrons : (a) transfert direct ; (b) transfert *via* un médiateur [14].

d'énergie fossile oblige à trouver d'autres modes de production. Les piles à combustible permettent la production d'électricité à partir de carburant comme l'hydrogène ou le méthanol. Mais d'autres dispositifs alternatifs peuvent être envisagés, qui s'inspirent des mécanismes développés dans le monde biologique : il s'agit des biopiles. Dans une biopile, la catalyse est assurée par des bioéléments : des enzymes redox pour les biopiles enzymatiques, et des microorganismes (bactéries, algues, levures...) pour les biopiles microbiennes.

Biopiles enzymatiques

L'utilisation d'enzyme de type oxydoréductase dans un système électrochimique permet la catalyse des réactions anodique et cathodique d'une pile. Le générateur électrochimique ainsi constitué peut donc produire de l'électricité grâce à l'oxydation d'un carburant et la réduction d'un comburant (l'oxygène) (figure 2).

Les enjeux importants pour la construction de ces biopiles sont liés à la connexion électrique des enzymes aux électrodes. Pour cela, des architectures moléculaires plus ou moins complexes peuvent être mises en place à la surface des électrodes. Deux voies de connexion sont possibles : i) la voie médiée, faisant appel à un médiateur électrochimique capable de transférer les électrons de l'enzyme vers l'électrode ; ii) la voie directe, où l'enzyme communique électriquement avec la surface de l'électrode [14] (figure 3).

Biopiles microbiennes

Une autre voie de construction de biopile fait appel à des systèmes microbiens pour assurer la catalyse électrochimique. La capacité de certains microorganismes à former des biofilms électroactifs sur des surfaces conductrices a été largement démontrée. Développés initialement pour l'oxydation de composés à l'anode des biopiles, les microorganismes sont aussi capables d'assurer la réduction d'espèces électroactives [16]. Ainsi, l'association de deux électrodes microbiennes met en œuvre un dispositif totalement microbien capable de produire de l'électricité. L'apport des réactions cathodiques catalysées par des microorganismes a ouvert la voie à de nouvelles applications, pour lesquelles la production d'électricité implique d'autres réactions que la réduction de l'oxygène. Une autre voie prometteuse concerne aussi l'association d'électrode microbienne et d'électrolyse. Il s'agit d'utiliser les propriétés électrocatalytiques mises en œuvre dans les biopiles pour les appliquer à la synthèse électrochimique de composés.

Voies bio-inspirées pour la catalyse électrochimique

L'étude des systèmes enzymatiques a permis de mettre en évidence les fonctions et complexes chimiques responsables de l'activité catalytique des hydrogénases, enzymes capables d'oxyder ou de produire de l'hydrogène. Des modèles chimiques ont été élaborés afin de mimer le système catalytique [17]. Ainsi, l'apport de la chimie permet d'envisager des systèmes biomimétiques efficaces. Ces recherches ouvrent d'intéressantes perspectives où l'association des modèles catalytiques d'oxydation et de réduction pourrait permettre le développement de « bio » piles d'un nouveau genre, totalement bioinspirée.

Les procédés bioélectrochimiques

Les produits de la pharmacie et de la chimie fine (médicaments, cosmétiques, arômes, herbicides ou insecticides) sont astreints à des normes de pureté de plus en plus sévères. Les synthèses organiques, qui représentent la voie de fabrication la plus développée, sont progressivement remplacées

par des synthèses biochimiques [18], qui présentent de nombreux avantages : spécificité de la biocatalyse, nombre réduit d'étapes de synthèse, conditions opératoires douces, moins polluantes et moins consommatrices d'énergie... La plupart de ces bioconversions sont réalisées par fermentation qui utilise directement le microorganisme possédant le ou les biocatalyseur(s) désiré(s). Le produit recherché est toutefois obtenu dans un milieu réactionnel complexe contenant la biomasse, les substrats non transformés nécessaires à la croissance des microorganismes et les produits des réactions biocatalytiques secondaires. Aussi, l'obtention d'un composé chiral pur nécessite de nombreuses opérations de séparation et de purification complémentaires. Augmenter la sélectivité du procédé passe par l'utilisation d'enzyme isolée, seule la réaction souhaitée étant alors mise en œuvre. Des verrous technologiques existent, notamment dans le cas particulier des oxydoréductases, où l'étape clé consiste à extraire ou à apporter les électrons dans le processus catalytique sans faire appel à un substrat supplémentaire accepteur ou donneur d'électrons. Pourtant, ces réactions d'oxydoréduction biocatalysées sont parmi les plus intéressantes dans le domaine de la chimie fine et de la pharmacie : synthèse de molécules à haute valeur ajoutée (acides aminés, sucres...), hydroxylation de stéroïdes naturels, production d'alcools, d'aldéhydes et de cétones...

Le procédé bioélectrochimique constitue une solution intéressante [19], l'échange ultime d'électrons s'effectuant sous forme d'énergie électrique. Il présente ainsi une sélectivité optimale, seul le produit désiré et le substrat non transformé sortant du réacteur. Toutefois, l'efficacité et la rentabilité d'un tel procédé passent nécessairement par le confinement de l'enzyme au voisinage de l'électrode, comme pour l'élaboration d'un capteur autonome. L'association intime entre réaction biochimique et réaction électrochimique doit être d'autant mieux favorisée lorsque le transfert électronique peut se faire directement entre le centre catalytique et le conducteur électronique. La transposition de ces techniques d'interfaçage du capteur au réacteur ne se réduit pas toutefois à un simple changement d'échelle. Les objectifs poursuivis sont par essence différents : dans le cas d'un biocapteur, la sensibilité, le seuil de détection, le domaine de linéarité et le temps de réponse sont les caractéristiques essentielles à optimiser. Sa stabilité au cours du temps n'est en outre souvent estimée que par le nombre de mesures discrètes effectuées. Le fonctionnement d'un réacteur ne peut en revanche être envisagé qu'en mode continu et ses performances sont généralement évaluées en termes de rendement et de productivité. Aussi, le passage de ce type d'électrode modifiée du capteur au réacteur nécessite de prendre en compte trois nouveaux éléments : optimiser l'efficacité catalytique, maximiser la perméabilité de l'interface bioélectrochimique afin de favoriser le transport du substrat vers le site catalytique, et évaluer les potentialités d'utilisation de l'électrode en continu.

Depuis les travaux pionniers de l'équipe de G.M. Whitesides [20], quelques recherches ont été menées, notamment en France. Elles reposent sur le confinement d'une solution enzymatique à l'aide d'une membrane de filtration pour la régénération du coenzyme NADH dans des synthèses utilisant l'alcool déshydrogénase [21], l'oxydation du styrène impliquant le dépôt « layer-by-layer » de films surfactants, l'utilisation de membrane de polypyrrole biotinylé [22]... Si la faisabilité de tels systèmes bioélectrochimiques a été démontrée, peu de réalisations à l'échelle pilote ont atteint à ce jour une dimension industrielle.

Conclusion

La bioélectrochimie est une discipline ancienne dans l'histoire des sciences, à l'interface entre la biologie, la physique et la chimie. Toutefois, les concepts mis en jeu présentent encore aujourd'hui des perspectives pour l'avenir dans divers domaines comme l'analyse, la médecine, l'environnement ou les procédés. Les articles qui suivent reviennent sur quelques développements actuels et futurs de ces domaines.

Références

- [1] www.ampere.cnrs.fr/parcourspedagogique/zoom/18e/bouteilleleyde/index.php
- [2] Hamill O.P., Marty A., Neher U., Sakmann B., Sigworth F.J., Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches, *Pflügers Arch.-Eur. J. Physiol.*, **1981**, *391*, p. 85.
- [3] Thévenot D.R., Toth K., Durst R.A., Wilson G.S., Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification, *Pure Appl. Chem.*, **1999**, *71*, p. 2333.
- [4] Wang J., Amperometric biosensors for clinical and therapeutic drug monitoring: a review, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **1999**, *19*, p. 47.
- [5] Spichiger-Keller U.E., *Chemical sensors and biosensors for medical and biological applications*, Wiley-VCH, **1998**.
- [6] Clark L., Lyons C., Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery, *Ann. NY Acad. Sci.*, **1962**, *102*, p. 29.
- [7] Guilbault G.G., Lubrano G., An enzyme electrode for the amperometric determination of glucose, *Anal. Chim. Acta*, **1973**, *64*, p. 439.
- [8] Armstrong F.A., Hill H.A.O., Walton N.J., Reactions of electron-transfer proteins at electrodes, *Quater. Rev. Biophys.*, **1986**, *18*, p. 262.
- [9] Degani Y., Heller A., Direct electrical communication between chemically modified enzymes and metal electrodes, *J. Phys. Chem.*, **1987**, *91*, p. 1285.
- [10] Willner I., Katz E., Integration of layered redox proteins and conductive supports for bioelectronic applications, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, *39*, p. 1180.
- [11] Heller A., Implanted electrochemical glucose sensors for the management of diabetes, *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, **1999**, *1*, p. 153.
- [12] Ghindilis A.L., Atanasov P., Wilkins M., Wilkins E., Immunosensors: electrochemical sensing and other engineering approaches, *Biosens. Bioelectron.*, **1998**, *13*, p. 113.
- [13] Bidan G., Billon M., Livache T., Ingénierie et électrochimie moléculaires pour la conception de puces à ADN, *L'Act. Chim.*, nov.-déc. **2003**, *270*, p. 39.
- [14] Tingry S., Cretin M., Innocent C., Les biopiles enzymatiques pour produire de l'électricité, *L'Act. Chim.*, **2013**, *373*, p. 18.
- [15] Gupta G., Lau C., Rajendran V., Colon F., Branch B., Ivnitski D., Atanasov P., Direct electron transfer catalysed by bilirubin oxidase for air-breathing gas-diffusion electrodes, *Electrochem. Com.*, **2011**, *13*, p. 247.
- [16] Erable B., Etcheverry L., Delia M.-L., Vandecandelaere I., Faimali M., Bergel A., Marine aerobic biofilm as biocathode catalyst, *Bioelectrochemistry*, **2010**, *78*, p. 51.
- [17] Le Goff A., Artero V., Jousselle B., Tran P.D., Guillet N., Métayé R., Fihri A., Palacin S., Fontecave M., From hydrogenases to noble metal-free catalytic nanomaterials for H₂ production and uptake, *Science*, **2009**, *326*, p. 1384.
- [18] Buendia J., Paris J.-M., Les biotechnologies industrielles, résultats récents et perspectives, *L'Act. Chim.*, **2013**, *375-376*, p. 15.
- [19] Delecouls K., Basséguy R., Bergel A., Vers l'utilisation des processus bioélectrochimiques à l'échelle industrielle, *L'Act. Chim.*, **1998**, *10*, p. 91.
- [20] DiCosimo R., Wong C.H., Whitesides G.M., Enzyme-catalyzed organic synthesis: electrochemical regeneration of NAD(P)H from NAD(P) using methyl viologen and flavoenzymes, *J. Org. Chem.*, **1981**, *46*, p. 4622.
- [21] Delecouls-Servat K., Basséguy R., Bergel A., Membrane electrochemical reactor: application to NADH regeneration for ADH-catalysed synthesis, *Chem. Eng. Sci.*, **2002**, *57*, p. 4633.
- [22] Amounas M., Innocent C., Cosnier S., Seta P., A membrane based reactor within enzyme immobilized by an avidin-biotin molecular recognition in a polymer matrix, *J. Membr. Sci.*, **2000**, *176*, p. 169.



C. Innocent

Christophe Innocent (auteur correspondant) est chargé de recherche au CNRS, à l'Institut Européen des Membranes (IEM), Université de Montpellier*.

Pierre Gros

est professeur des universités, Université de Toulouse, Laboratoire de Génie Chimique**.



P. Gros

* IEM, Université de Montpellier, place Eugène Bataillon, CC 047, F-34095 Montpellier Cedex 5.
Courriel : christophe.innocent@univ-montp2.fr

** Université de Toulouse, Laboratoire de Génie chimique, UMR UPS/INP/CNRS 5503, Université Paul Sabatier, F-31062 Toulouse.
Courriel : gros@chimie.ups-tlse.fr