

Applications industrielles des biopiles enzymatiques : utopie ou réalité ?

Ces dernières décennies ont été marquées par des progrès de plus en plus rapides dans le domaine des piles à combustible enzymatiques en tant que nouvelle source d'énergie biosourcée et écologique. Ces biopiles, basées sur des enzymes comme catalyseurs, constituent une sous-classe de piles à combustible conventionnelles. Contrairement aux piles à combustible, les biopiles ne nécessitent pas de matériaux nobles (platine, nickel...) mais utilisent, à la place, des enzymes comme électrocatalyseur. De plus, en raison de la spécificité des réactions enzymatiques, le fonctionnement des biopiles ne requiert pas de carburant de haute pureté, ni de membrane pour séparer les réactions se produisant à l'anode et à la cathode (voir *L'Act. Chim.* n° 427-428, mars 2018). Il faut souligner que les piles enzymatiques présentent généralement une activité maximale à des températures modérées (20 à 50 °C) et à un pH presque neutre. Par rapport aux piles à combustible qui fonctionnent majoritairement avec de l'oxygène et du H₂ ou du CH₃OH, la gamme de combustibles des piles enzymatiques est considérablement plus large, englobant plusieurs sucres (comme le glucose, fructose, saccharose, maltose, xylose, cellobiose et des polysaccharides), des alcools (méthanol, éthanol), le lactate et, plus récemment, l'hydrogène. Toutefois, il convient de noter que les biopiles ne sont pas destinées à résoudre le problème de l'épuisement des combustibles fossiles et à entrer dans la catégorie des ressources énergétiques renouvelables telles que l'énergie hydroélectrique, solaire et éolienne. Le champ d'application des piles à combustible enzymatiques est limité, du moins pour l'instant, à la production d'électricité pour alimenter des systèmes microélectroniques tels que des actionneurs et des capteurs.

Une grande majorité des piles enzymatiques génèrent de l'énergie électrique à partir de l'oxydation du glucose à l'anode et la réduction de l'oxygène à la cathode, deux substrats présents dans les fluides physiologiques. Ainsi, parallèlement à l'alimentation d'appareils électroniques portables (téléphone portable, lecteur de musique numérique, GPS, capteurs etc.), une perspective fascinante d'application des biopiles concerne leur implantation dans le corps humain. Contrairement aux piles conventionnelles qui contiennent une quantité finie d'électricité, les biopiles ne sont pas un réservoir d'énergie, mais pourraient agir comme une source d'énergie théoriquement illimitée en consommant ces composés puisque ces derniers sont apportés en quasi-continu à la biopile *via* les fluides corporels (liquides extracellulaires, sang, sueur) (figure 1). De telles biopiles pourraient ainsi constituer une alternative prometteuse à l'alimentation des dispositifs médicaux implantés, une application phare postulée par les chercheurs étant l'alimentation de pacemaker. Cette motivation emblématique des piles enzymatiques s'est concrétisée par une première mondiale en 2010 avec l'implantation totale d'une biopile dans un rat. Cette biopile, placée dans l'espace rétro-péritonéal, était capable de délivrer de l'énergie (24,4 μW/mL), l'animal étant éveillé et libre de ses mouvements [1]. Par la suite, de nombreux essais dans le règne animal s'avèrent fructueux avec l'introduction partielle des électrodes des biopiles *via* la perforation de la carapace d'insectes (blatte) ou des homards, de la coquille des escargots, des coquillages, voire en ouvrant superficiellement la peau de souris ou de rats ou en piquant dans une veine chez des lapins et des rats (il s'agissait plus de planter que d'implanter) [2-7]. Ces travaux ont permis de démontrer que les biopiles pouvaient fonctionner dans le sang ou les liquides extracellulaires avec le glucose voire avec d'autres substrats ainsi que, malheureusement, l'impossibilité d'associer plusieurs biopiles dans un organisme vivant unique [6]. L'amplification des performances des biopiles *via* l'utilisation de nanomatériaux conducteurs, comme la compression de mélange d'enzymes et de nanotubes de carbone, a conduit au premier

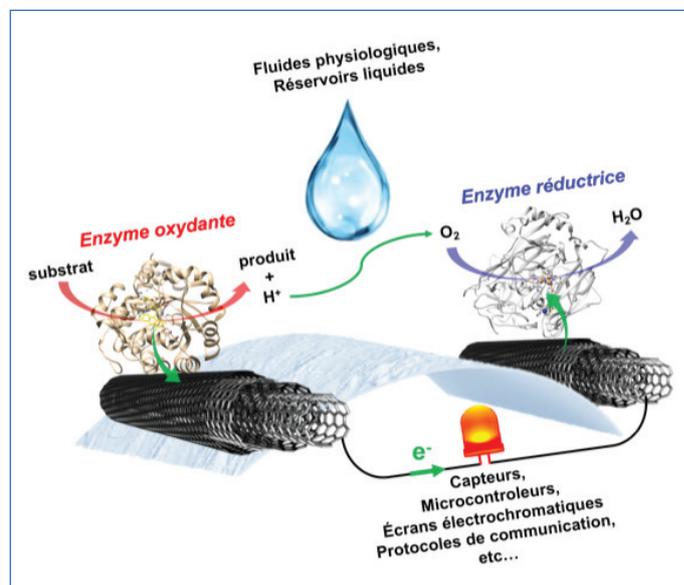


Figure 1 - Schéma de principe d'une biopile enzymatique substrat/oxygène dont les bioélectrodes nanostructurées sont déposées sur support flexible.

exemple d'une biopile entièrement implantée dans un mammifère produisant la puissance nécessaire (161 μW/mL) au fonctionnement de deux types d'appareils électroniques : une LED et un thermomètre numérique [8]. Plus récemment, la combinaison de feutre de carbone modifié par des nanotubes de carbone et des enzymes a débouché sur le premier exemple de pile enzymatique implantée dans un oiseau. Cette biopile, comprenant une bioanode basée sur la glucose oxydase et une biocathode basée sur la bilirubine oxydase, fournit 0,12 mW *in vitro* et 0,08 mW *in vivo*, et permet l'alimentation d'un stimulateur cérébral. La combinaison de ces deux systèmes totalement implantés dans un pigeon constitue une avancée significative vers la neuromodulation auto-alimentée [9]. Plus récemment, des microbiopiles à base de fils torsadés de multicouches de nanotubes de carbone sous forme de feuillets contenant des enzymes et des médiateurs rédox et recouverts de poly(3,4-éthylène dioxythiophène) (PEDOT) et de *Nafion* ont été implantées chirurgicalement dans la cavité abdominale d'une souris. Ce type de microbiopile génère environ 5 μW, ce qui représente théoriquement une avancée en termes de puissance surfacique en atteignant 298 μW/cm² [10]. Cependant, malgré toutes ces avancées, il reste de nombreux obstacles à surmonter pour le développement industriel des biopiles implantées, comme leur faible puissance, leur biocompatibilité et leur stabilité opérationnelle qui varie de quelques heures à maximum un an contre, par exemple, cinq à huit ans pour des piles au lithium utilisées pour les pacemakers. Il apparaît donc illusoire d'envisager, avec ces systèmes, l'alimentation d'un stimulateur cardiaque. Concernant la faible puissance des biopiles, cette dernière étant directement reliée à la quantité d'enzyme fixée et électriquement connectée à l'électrode, les efforts ont récemment porté sur la création d'électrodes à grande surface conductrice spécifique. Ce concept inclut, mais n'est pas limité aux électrodes textiles en fil de carbone et de nanotubes de carbone, à la structuration 3D des surfaces par des nanomatériaux conducteurs comme des structures hiérarchiquement poreuse à structure MgO, des fibres de nanotube de carbone modifiées par des nanoparticules d'or, des structures à squelette organique (COF) ou organométallique poreux (MOF), etc. [11,12]. Outre l'augmentation de puissance, le piégeage ou l'adsorption

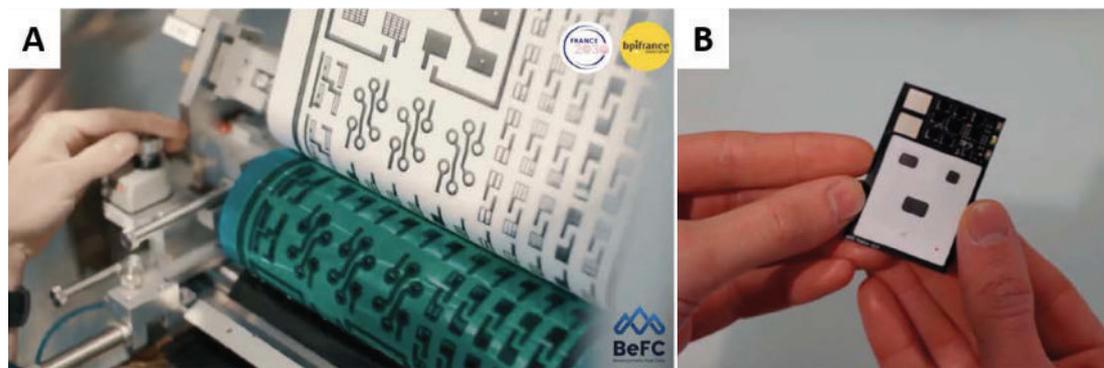


Figure 2 - A) Impression de différentes couches d'une biopile enzymatique BeFC glucose/oxygène par flexographie selon une vitesse d'impression de $25 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$; B) Biopile enzymatique BeFC glucose/oxygène ($30 \text{ mm} \times 35 \text{ mm}$) délivrant une tension de $0,7 \text{ V}$ et produisant 25 mWh pour alimenter une plateforme électronique BeFC avec un circuit amplificateur (3 V) et 3 LED.

d'enzymes dans ces structures poreuses améliorent nettement la stabilité des enzymes. Parallèlement, la possibilité d'extraire davantage d'énergie (en fait d'électrons) du substrat en associant plusieurs réactions enzymatiques séquentielles a été également envisagée via l'immobilisation de systèmes métaboliques pour les réactions en cascade d'enzymes [13].

Outre les problèmes de puissance et de durée de vie, un verrou technologique qui n'a quasiment jamais été abordé concerne la notion de stérilisation des biopiles. En effet, à l'exception d'un exemple de biopile stérilisée par rayonnement gamma, toutes les réalisations d'implantation ont été effectuées sans traitement particulier [14]. L'explication réside dans l'incompatibilité entre la fragilité des enzymes et les technologies de stérilisation les plus largement utilisées pour les dispositifs médicaux comme les traitements thermiques (autoclave), l'oxyde d'éthylène gazeux et les rayonnements. Très récemment, une nouvelle approche de stérilisation des biopiles a été décrite qui permet une élimination totale des micro-organismes avant implantation sans dégrader l'activité enzymatique [15]. Il s'agit d'un traitement chimique simple, pratique et peu coûteux, basé sur l'immersion des biopiles dans une solution de chlorhexidine qui est un agent antimicrobien efficace à large spectre contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives ainsi que les champignons et les virus. En conclusion, la résolution de ces d'obstacles technologiques devrait aboutir à de réelles applications potentielles des piles enzymatiques implantées ou cutanées [16] pour l'alimentation de (bio)capteurs pour la surveillance périodique de maladies ou de leur de traitements sur de courtes périodes (1 à 3 mois). Parallèlement aux applications biomédicales potentielles des biopiles implantées, le développement industriel des biopiles comme source d'énergie transitoire et jetable connaît un essor exponentiel avec, en particulier, la création d'une startup nommée BeFC, acronyme pour Bioenzymatic Fuel Cells. BeFC a débuté la pré-industrialisation de ses biopiles à base de papier, aussi appelées biocellules enzymatiques, en juin 2023. Cette industrialisation sera entreprise par impression d'une encre de carbone encapsulant des composés biologiques avec pour objectif la production de millions d'unités de biocellules par jour d'ici la fin de l'année 2024.

Le défi de l'industrialisation est d'équilibrer la faisabilité technico-économique ($\text{mW}/\text{cm}^2/\text{€}$ et $\text{mWh}/\text{cm}^2/\text{€}$), la processabilité (et la capacité à faire évoluer les dits processus) ainsi que le débit de production. L'utilisation des technologies analogues imprimées (sérigraphie à plat à alimentation rotative, flexographie, offset et sérigraphie rotative) permet d'atteindre des débits d'impression des biopiles d'une dizaine de mètres par minute (figure 2A). L'épaisseur du film obtenu est importante pour la performance et la processabilité,

et est gouvernée par la formulation de l'encre (teneur en masse, rhéologie, viscosité etc.) et la technologie d'impression sélectionnée. Le séchage/durcissement des collecteurs de courant imprimés et des électrodes constitue souvent un verrou limitatif du débit du processus de fabrication.

Délivrant plus de $10 \text{ mW}/\text{cm}^2$, pour des impulsions de densité de puissance inférieures à 1 seconde, ce type de biopile est capable d'alimenter une gamme de capteurs, microcontrôleurs, écran électrochromatique et protocole de communication sans fil (NFC, BLE, Sigfox) sur la même plateforme électronique (figure 2B). En bref, il est possible de collecter et de transmettre des données avec une source d'énergie imprimée sur papier, ouvrant ainsi la voie au développement de produits écoresponsables pour la logistique intelligente, le secteur médical et la santé digitale, ou encore le traitement de déchets et de la contrefaçon pour les produits de luxe.

- [1] P. Cinquin *et al.*, A glucose biofuel cell implanted in rats, *PLOS ONE*, **2010**, *5*(5), e10476.
- [2] T. Miyake *et al.*, Enzymatic biofuel cells designed for direct power generation from biofluids in living organisms, *Energy Environ. Sci.*, **2011**, *4*, 5008.
- [3] L. Halámková *et al.*, Implanted biofuel cell operating in a living snail, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, p. 5040-43.
- [4] M. Rasmussen *et al.*, An implantable biofuel cell for a live insect, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, 1458-60.
- [5] A. Szczupak *et al.*, Living battery-biofuel cells operating in vivo in clams, *Energy Environ. Sci.*, **2012**, *5*, 8891.
- [6] K. MacVittie *et al.*, From "cyborg" lobsters to a pacemaker powered by implantable biofuel cells, *Energy Environ. Sci.*, **2013**, *6*, p. 81-86.
- [7] F.C.P.F. Sales *et al.*, An intravenous implantable glucose/dioxygen biofuel cell with modified flexible carbon fiber electrodes, *Lab. Chip*, **2013**, *13*, p. 468-474
- [8] A. Zebda *et al.*, *Sci. Rep.*, Single glucose biofuel cells implanted in rats power electronic devices, **2013**, *3*, 1516.
- [9] D. Lee *et al.*, Totally implantable enzymatic biofuel cell and brain stimulator operating in bird through wireless communication, *Biosens. Bioelectron.*, **2021**, *171*, 112746.
- [10] D.Y. Lee *et al.*, Two-ply carbon nanotube fiber-typed enzymatic biofuel cell implanted in mice, *IEEE Trans. NanoBioscience*, **2020**, *19*, 333.
- [11] C.H. Kwon *et al.*, Highly conductive electrocatalytic gold nanoparticle-assembled carbon fiber electrode for high-performance glucose-based biofuel cells, *J. Mater. Chem. A*, **2019**, *7*, 13495.
- [12] Y. Wang *et al.*, Novel g-C₃N₄ assisted metal organic frameworks derived high efficiency oxygen reduction catalyst in microbial fuel cells, *J. Power Sources*, **2020**, *450*, 227681.
- [13] M. Bilal *et al.*, Multi-enzyme co-immobilized nano-assemblies: bringing enzymes together for expanding bio-catalysis scope to meet biotechnological challenges, *Int. J. Biol. Macromol.*, **2021**, *186*, p. 735-789.
- [14] S. El Ichi-Ribault *et al.*, Remote wireless control of an enzymatic biofuel cell implanted in a rabbit for 2 months, *Electrochimica Acta*, **2018**, *269*, p. 360-366.
- [15] A. Berezovska *et al.*, Chlorhexidine digluconate exerts bactericidal activity vs Gram positive Staphylococci with bioelectrocatalytic compatibility: high level disinfection for implantable biofuel cells, *Bioelectrochemistry*, **2023**, *152*, 108435.
- [16] X. Chen *et al.*, Stretchable and flexible buckypaper-based lactate biofuel cell for wearable electronics, *Adv. Funct. Mater.*, **2019**, *29*(46), 1905785.

Cette fiche a été réalisée par **Fabien GIROUD**, enseignant-chercheur, **Serge COSNIER**, directeur de recherche au département de chimie moléculaire (CNRS/Université Grenoble Alpes), ainsi que **Jules HAMMOND**, président, et **Marie BERTHUEL**, cheffe de produit, de BeFC SAS située à Grenoble.

Les fiches « Un point sur » sont coordonnées par Jean-Pierre FOULON (jpfoulon@wanadoo.fr).

Elles sont regroupées en téléchargement libre sur www.lactualitechimique.org.