

Piles à combustible utilisant des enzymes et des biofilms comme catalyseurs

par Damien FÉRON et Alain BERGEL

La biocatalyse des réactions anodiques ou cathodiques est à l'origine des mécanismes de biocorrosion et fait partie des phénomènes redoutés par les utilisateurs de matériaux métalliques. Cette biocatalyse peut être utilisée de manière positive pour augmenter les vitesses des réactions électrochimiques qui se produisent à l'anode et à la cathode de piles à combustible. À l'heure où les piles à combustible font l'objet de nombreuses recherches pour diminuer leur coût et améliorer leurs performances, la mise en œuvre de bactéries dans des biofilms ou l'utilisation d'enzymes comme catalyseurs deviennent des solutions alternatives crédibles et galvanisent les recherches en France et à l'étranger.

Damien FÉRON est expert senior au CEA-Saclay, Service de la corrosion et du comportement des matériaux dans l'environnement.

Alain BERGEL est directeur de recherche au Laboratoire de génie chimique du CNRS-INPT à Toulouse au sein de l'École nationale supérieure des ingénieurs en arts chimiques et technologiques (ENSIACET).

1. Contexte

Une pile à combustible produit de l'électricité grâce à l'oxydation d'un combustible sur l'anode et la réduction d'un oxydant sur la cathode. Les piles à combustible les plus connues du grand public exploitent l'oxydation de l'hydrogène à l'anode couplée à la réduction de l'oxygène à la cathode [1]. Les performances d'une pile sont directement corrélées à la vitesse des réactions électrochimiques sur chacune des électrodes. Des catalyseurs, souvent à base de platine, sont nécessaires pour accélérer les réactions d'électrode. Leur coût constitue un frein majeur au développement de piles à prix abordables. Ces catalyseurs, très sensibles à l'inhibition par toutes sortes de composés, exigent en outre l'utilisation de combustibles relativement purs.

Longtemps en sommeil, le concept de pile à combustible biologique ou **pile microbienne** a cristallisé à la naissance de ce XXI^e siècle. Il y a cinq ans, deux articles parus dans *Science* et *Nature Biotechnology* [2] [3] proposent d'exploiter les sédiments marins

pour produire de l'électricité. Les auteurs construisent une pile à combustible dont l'une des électrodes, l'anode, est enfouie dans les sédiments anaérobies et l'autre, la cathode, placée au-dessus dans l'eau plus ou moins saturée en oxygène dissous. Leurs résultats montrent que c'est la colonisation de la surface de l'anode par des bactéries spécifiques qui augmente de façon remarquable l'efficacité du transfert des électrons. La même année et indépendamment de ces travaux, deux équipes françaises, l'une du Centre national de la recherche scientifique (CNRS – Laboratoire de génie chimique, Toulouse), l'autre du Commissariat à l'énergie atomique (CEA – Saclay, Service de la corrosion et du comportement des matériaux dans leur environnement), déposent deux demandes conjointes de brevet intitulées « *Pile à combustible utilisant des enzymes en tant que catalyseurs des réactions cathodique et/ou anodique* » [4] et « *Pile à combustible utilisant des biofilms en tant que catalyseurs des réactions cathodique et/ou anodique* » [5]. Il s'agit bien du même phénomène : les bactéries ou les mécanismes enzymatiques mis en œuvre par les bactéries peuvent être utilisés pour catalyser les réactions électrochimiques dans les piles à combustible.

Les études menées au CEA et au CNRS sur les mécanismes de la catalyse par les bactéries (ou catalyse microbienne) des réactions anodiques et/ou cathodiques ont, de plus, mis en évidence le rôle essentiel joué par les enzymes. Pour l'anecdote, ces études étaient conduites initialement dans le cadre de programmes et de réseaux européens de recherches sur la biocorrosion des aciers inoxydables en

eau de mer, avec l'aide d'une équipe italienne du Conseil national de la recherche (CNR-ISMAR, Istituto di Scienze Marine, Gênes).

Dans des conditions bien précises, des coupons d'acier inoxydable immergés en mer voient leur surface colonisée par des micro-organismes capables d'accélérer considérablement la vitesse de réduction de l'oxygène dissous. Les micro-organismes se fixent à la surface du matériau en produisant des polymères. L'ensemble forme un film adhérent, appelé **biofilm** (cf. encadré), dans lequel bactéries, polysaccharides, protéines... induisent des réactions locales complexes, conduisant parfois à l'altération du matériau support. Le phénomène de biocatalyse de la réduction de l'oxygène, provoqué par les biofilms marins, est connu depuis une trentaine d'années et très redouté, car il est à l'origine de sévères corrosions des alliages passivables en milieu naturel (eaux de mer, eaux de rivière...). Il est donc généralement farouchement combattu. Au contraire, pour une application dans les piles à combustible, il conviendra de favoriser le phénomène en choisissant les bonnes conditions opératoires. Les micro-organismes marins qui se développent ainsi en conditions aérées à la surface d'électrodes d'acier inoxydable constituent de remarquables catalyseurs de la réduction de l'oxygène qui pourraient remplacer les catalyseurs minéraux à base de platine. L'intérêt de la catalyse bactérienne, dans le cadre des piles à combustible, est alors évident puisque le coût du platine est l'un des freins majeurs au développement de la technologie.

Les études sur les mécanismes des phénomènes de biocorrosion ont également conduit à mettre en évidence le rôle majeur joué par les enzymes présentes dans le biofilm dans l'accélération des vitesses des réactions cathodiques de corrosion : c'est le modèle enzymatique de biocorrosion des aciers inoxydables en eaux naturelles représenté en figure 1. L'effet corrosif est essentiellement induit par la transformation de l'oxygène en peroxyde d'hydrogène couplé à l'acidification locale. Le mécanisme détaillé fait également intervenir une évolution des oxydes/hydroxydes qui constituent la couche passive des aciers inoxydables ; l'adsorption de la protéine pourrait également intervenir dans la modification locale de ces couches.

Deux voies s'ouvrent donc pour la biocatalyse dans les piles à combustible :

- **la voie enzymatique** dans laquelle l'enzyme joue le rôle de catalyseur biologique des réactions cathodique et/ou anodique ;
- **la voie microbiologique** qui fait intervenir les bactéries adhérentes qui catalysent directement ou indirectement ces réactions.

2. Biocatalyse enzymatique (*biofuel cells*)

De nombreuses équipes de recherche travaillent sur les piles à enzymes [6] ; il s'agit le plus souvent d'enzymes permettant l'oxydation du substrat de l'enzyme pris comme combustible dans le compartiment anodique et la réduction de l'oxygène dans le compartiment cathodique. L'un des points clés concerne la fixation des enzymes sur les électrodes (piégeage dans une matrice de polymères conduc-

Quelques notions sur les biofilms

Les micro-organismes peuvent se développer sous forme adhérente à des surfaces ou agrégée à des interfaces. Ils approchent la surface, s'y fixent par une première étape d'adhésion réversible puis pérennisent leur liaison avec le support en produisant des polymères (exopolysaccharides).

Les biofilms ainsi formés, de quelques micromètres à quelques millimètres d'épaisseur, créent des conditions physico-chimiques à la surface du support très différentes des conditions dans le milieu environnant. Du fait de la consommation de nutriments par les micro-organismes, de l'accumulation des composés qu'ils produisent (métabolites, protéines, enzymes...) et, parfois, des composés engendrés par la dégradation du support, les biofilms sont le siège de fortes hétérogénéités locales en termes de concentration des espèces chimiques et biochimiques, de concentration d'oxygène, de pH, etc. Les consortiums microbiens s'organisent par l'échange d'informations chimiques qui peut conduire à une structuration précise du biofilm en trois dimensions. La formation de biofilms constitue la méthode ubiquitaire de colonisation des surfaces. Les biofilms sont présents sur les matériaux naturels (roches, sables...) ou industriels (bétons, métaux, plastiques...) exposés aux eaux de rivières, de mer ou à toute atmosphère humide ; ils colonisent les racines et les feuilles des végétaux, mais aussi les organismes vivants supérieurs et jouent, dans ce cas, des fonctions physiologiques primordiales, comme dans le tractus intestinal, par exemple. Ils sont des agents géochimiques importants dans les sols en participant à la formation ou à l'altération des minéraux. Les biofilms sont aussi connus comme une source de problèmes sociaux et industriels majeurs, par leur capacité à dégrader/corroder les matériaux supports, ou à favoriser la prolifération d'espèces pathogènes.

Les biofilms utilisés ici sur les cathodes de piles microbiennes se forment naturellement en eaux de mers aérées. Les premières analyses montrent qu'ils sont constitués d'une grande variété d'espèces microbiennes.

teurs, liaison covalente avec le site actif de l'enzyme intégrant un composé médiateur, adsorption couche par couche, etc.)

Différentes classes d'oxydoréductases sont utilisées telles que les oxydases ou les hydrogénases pour l'oxydation, ou les laccases et peroxydases pour la réduction. Elles nécessitent l'utilisation d'outils moléculaires pour établir un transfert électronique efficace entre les sites actifs des enzymes et les électrodes. Ces techniques sont généralement relativement sophistiquées, difficiles à mettre en œuvre, et donc coûteuses, surtout pour de grandes surfaces d'électrodes. De plus, les surfaces ainsi modifiées ne restent souvent actives que peu de temps. Les piles enzymatiques sont donc pour l'instant plutôt destinées à des niches spécifiques comme la bioélectronique ou les systèmes médicaux implantables [7].

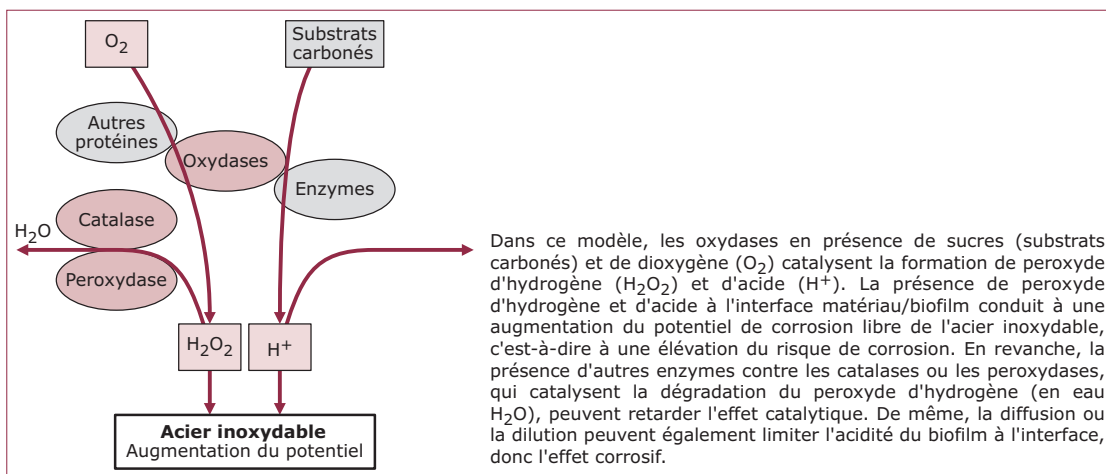


Figure 1 – « Modèle enzymatique » de la biocorrosion des aciers inoxydables en eaux naturelles

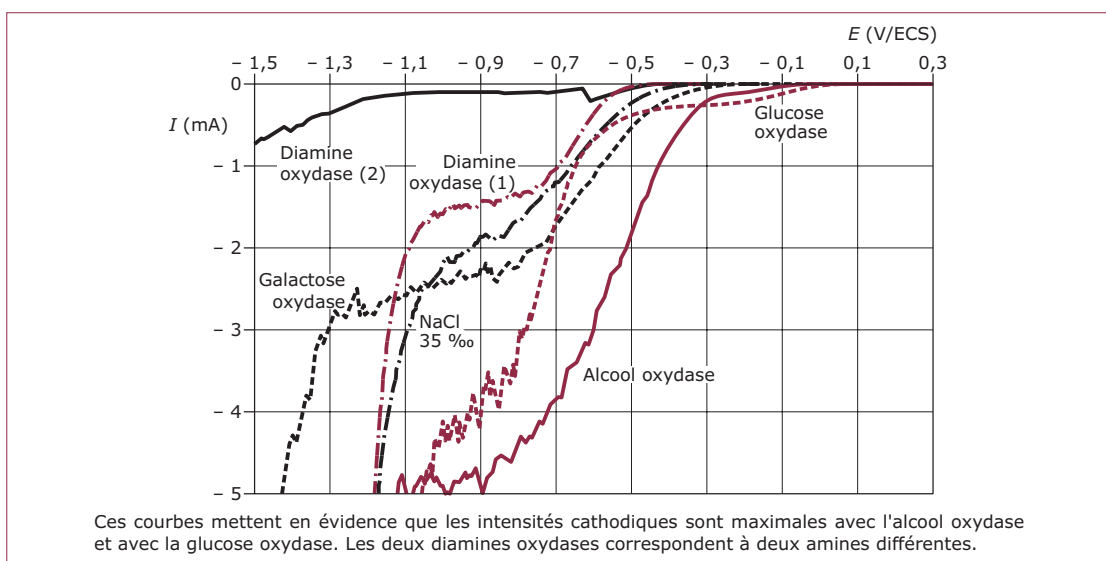


Figure 2 – Comparaison des intensités, exprimées en milliampères (mA), des réactions cathodiques pour cinq oxydases en fonction du potentiel (mesuré en volts) par rapport à une électrode de référence dite au calomel saturé (ECS)

Le modèle enzymatique issu de la biocorrosion que nous avons appliqué aux aciers inoxydables concerne, pour l'heure, la catalyse de la réduction de l'oxygène. Elle présente un double intérêt :

- elle concerne la réaction qui est le plus souvent limitante dans les piles à combustible ;
- sa mise en œuvre ne nécessite pas d'étape de fixation des enzymes sur la surface des électrodes.

Sans doute une certaine adsorption de la protéine sur l'acier inoxydable se produit-elle et améliore-t-elle l'efficacité de la catalyse, mais cette phase se réalise sans avoir recours à des outils particuliers, malheureusement d'ailleurs pour la tenue des aciers inoxydables en eaux naturelles. C'est donc une utilisation aisée de la biocatalyse enzymatique qui est proposée et a été testée côté cathodique.

2.1 Sélectionner l'enzyme appropriée

La mise en œuvre du modèle enzymatique de la biocorrosion aérobie (figure 1) dans le compartiment cathodique d'une pile de type PEMFC (*Proton Exchange Membrane Fuel Cell*) a commencé par la recherche d'une enzyme qui reproduise les phénomènes observés de biocorrosion, qui soit de plus facile à manipuler et le moins chère possible. Plusieurs types d'oxydases se sont révélés capables de reproduire le comportement électrochimique des aciers inoxydables en eaux naturelles, comme l'illustre la figure 2 où sont comparées les intensités des réactions cathodiques catalysées par quatre enzymes de type oxydase (diamine, oxydase, alcool oxydase, galactose oxydase et glucose oxydase).

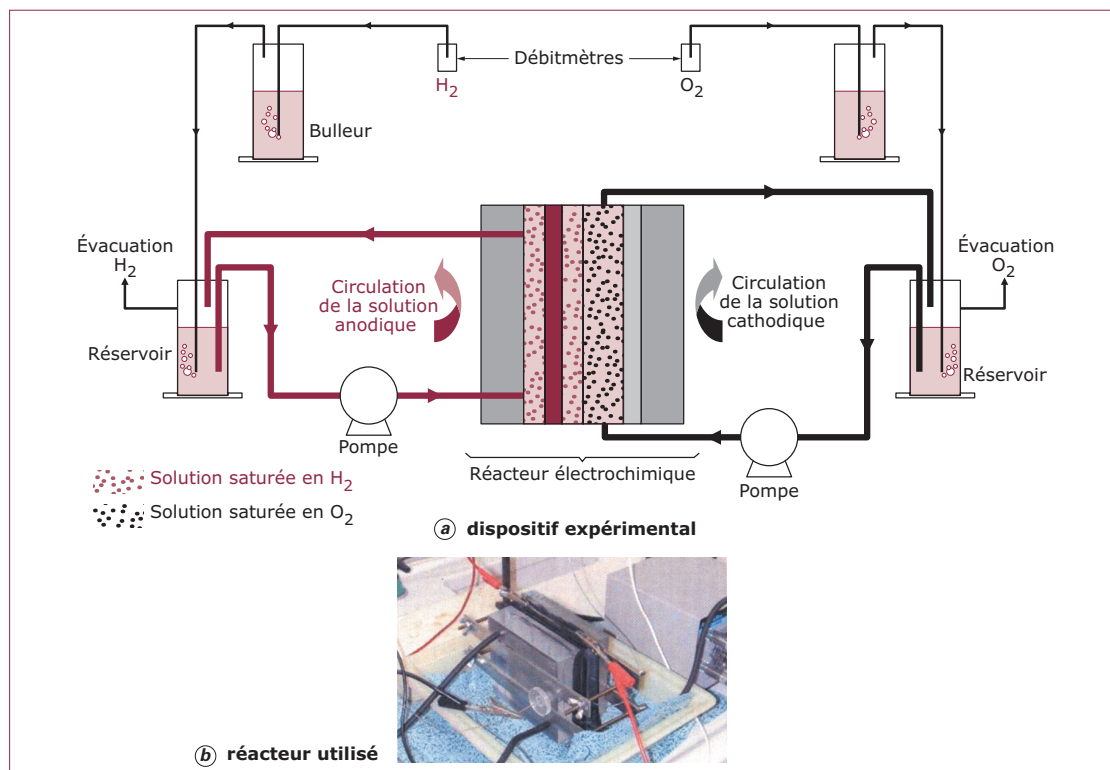
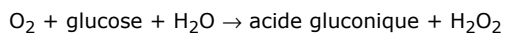


Figure 3 – Schéma du dispositif expérimental avec les circulations de la solution anodique hydrogénée et de la solution cathodique oxygénée

L'effet catalytique est mesuré ici par l'augmentation de l'intensité due à la réduction de l'oxygène dissous. Parmi les enzymes testées, la glucose oxydase a été sélectionnée pour les essais sur pile PEMFC, car elle est peu chère (c'est l'une des oxydoréductases les moins chères actuellement) et relativement facile à mettre en œuvre. Globalement, elle catalyse la réaction suivante :



Elle doit donc être ajoutée avec son substrat, le glucose, pour assurer l'effet catalytique.

2.2 Essais en réacteur électrochimique

Une première campagne d'essais a été réalisée avec un réacteur en milieu aqueux constitué de deux compartiments séparés par une membrane échangeuse de protons (*Nafion*[®]), comme schématisé en figure 3. Le compartiment anodique est relié à un circuit dans lequel circule une solution hydrogénée par un bullage continu d'hydrogène, alors qu'une solution oxygénée par bullage d'oxygène circule dans la boucle cathodique. Chaque compartiment est équipé d'une électrode de référence au calomel saturée qui permet de mesurer le potentiel de chaque électrode en cours de fonctionnement. L'anode est constituée d'une grille en platine et la cathode, sur laquelle on étudie le phénomène catalytique, d'une plaque en acier inoxydable de 26 cm² de surface active. La plaque est préalablement net-

toyée dans un mélange acétone/éthanol, puis un mélange fluoronitrique. La pile ainsi constituée débite au travers de résistances électriques qui varient lors des essais entre 1 et 10⁵ Ω. Comme illustré en figure 4a, la puissance délivrée par la pile augmente fortement dès que le glucose (30 mM) et la glucose oxydase, même en faible concentration (0,47 unité/mL), sont introduits dans le compartiment cathodique. La diminution observée ensuite, même en ajoutant des concentrations croissantes de glucose oxydase, s'explique par une dérive de l'anode au fur et à mesure du fonctionnement, comme on peut le voir sur le tracé des courbes intensité-potential présentées en figure 4b. Cette dérive est sans doute due à la diffusion d'oxygène ou de peroxyde d'hydrogène de la cathode vers l'anode, car elle s'atténue lorsque le débit d'oxygène est réduit dans la boucle cathodique. L'ajout d'enzyme induit dans ce cas un facteur 6,9 sur la puissance qui passe de 4,4 mW/m² à 30,3 nW/m². L'évolution des courbes cathodiques de la figure 4b démontre l'effet catalytique remarquable induit sur la cathode. En réduisant la surface de la cathode, pour éviter la dérive anodique, des puissances de 98 mW/m² ont été atteintes avec le même système. L'augmentation de puissance délivrée dépend fortement des concentrations de l'enzyme et de son substrat et de la puissance initiale délivrée. Les expériences successives ont mis en évidence des facteurs de 5 à 500 sur le gain de puissance.

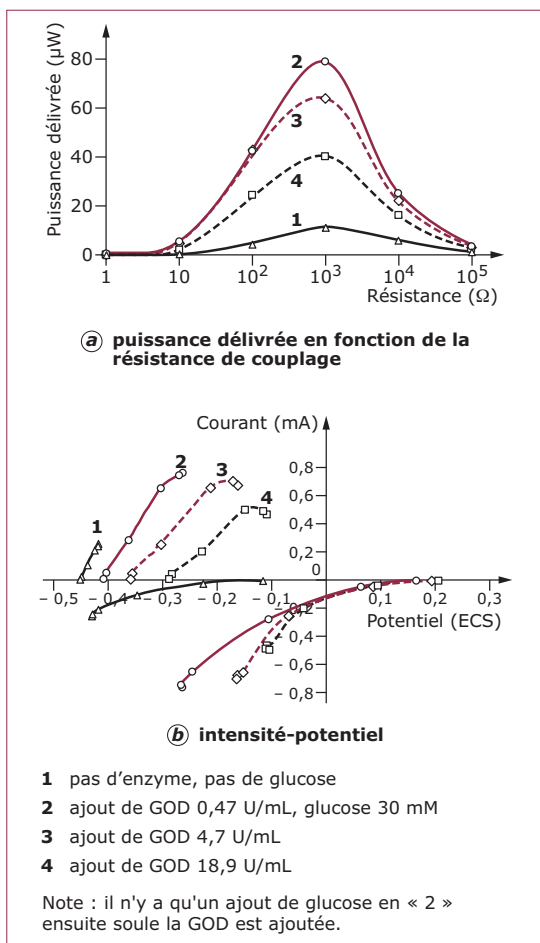
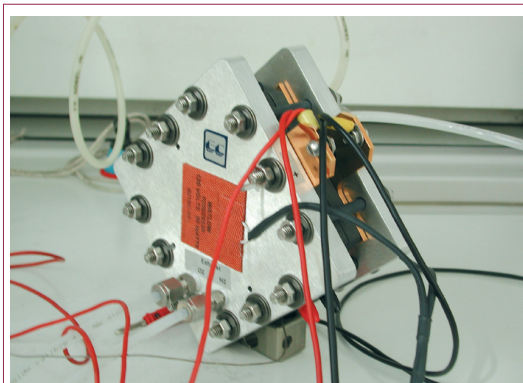


Figure 4 – Effet de l'addition de glucose et glucose oxydase (GOD) sur les performances de la pile en milieu aqueux schématisée figure 3

Ces essais en réacteur électrochimique ont permis de mettre en évidence une catalyse efficace de la réduction de l'oxydant dans le compartiment cathodique par la glucose oxydase. Cependant, dans ces piles en milieu aqueux, la puissance reste limitée, car la diffusion des espèces réactives dans les solutions aqueuses (oxygène et hydrogène) limite rapidement le système.

2.3 Essais en PEMFC

Les expériences suivantes ont été menées sur une pile de type PEMFC qui utilise du dihydrogène et du dioxygène gazeux. Le dispositif utilisé, présenté en figure 5, est équipé d'électrodes en graphite possédant une charge de platine de 1 mg/cm². Lorsque la glucose oxydase et le glucose sont ajoutés dans le compartiment cathodique, une augmentation de la puissance délivrée par la pile est observée comme illustré en figure 6 : sans addition d'enzyme, la puissance délivrée est comprise entre 6 et 7 W, alors que, en injectant dans le flux d'oxy-



Des essais d'ajouts d'enzymes ont été réalisés côté cathodique

Figure 5 – Pile à combustible de laboratoire H₂/O₂ alimentée par du dihydrogène et du dioxygène gazeux

gène quelques millilitres d'une solution contenant entre 1 et 100 unités par litre de glucose oxydase et 20 mM de glucose, la puissance délivrée avec les mêmes débits de dioxygène et dihydrogène atteint 8 à 9 W, soit une augmentation de la puissance délivrée de 15 % à 25 %. On peut conclure que l'introduction de l'enzyme dans une pile classique ne nuit pas à la catalyse, comme on aurait pu le craindre du fait de l'adsorption de la protéine qui pourrait masquer une partie de la surface active de l'électrode. Bien au contraire, même en présence de platine, les enzymes de type oxydase augmentent encore la vitesse de la réaction cathodique.

Les recherches se poursuivent pour optimiser cette utilisation d'enzymes dans les PEMFC, qu'elles soient à caractère fondamental (caractérisation électrochimique de cette catalyse, relation entre le substrat et les enzymes...) ou à caractère technologique (optimisation de l'introduction de l'enzyme et de son cofacteur, effets d'échelle, influence du substrat, suppression du platine...).

3. Piles à combustible microbienne (*microbial fuel cell*)

Deux types d'expériences ont été réalisés avec des biofilms utilisés comme catalyseurs. Dans les études préliminaires, seule la cathode était recouverte d'un biofilm alors que, dans les essais suivants, les deux électrodes étaient recouvertes de biofilm.

3.1 Demi-pile microbienne

Comme mentionné dans l'introduction, depuis 5 ans de nombreuses équipes focalisent leur recherche sur la catalyse des réactions anodiques par les bactéries, ce qui ne résout pas le problème du platine utilisé pour la réaction cathodique. Les études préliminaires réalisées en collaboration avec l'Institut des sciences de la mer (Dr Alfonso Mollica, CNR-ISMAR

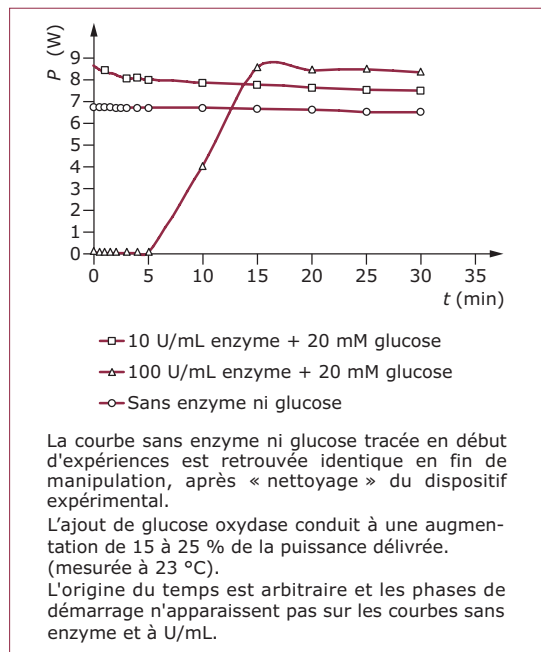
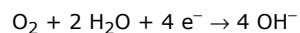


Figure 6 – Puissance délivrée par une pile gazeuse de laboratoire H₂/O₂, dans laquelle la glucose oxydase et le glucose ont été rajoutés à des teneurs différentes dans le compartiment cathodique

de Gênes, Italie) sur une pile en milieu aqueux ont mis en évidence l'efficacité des biofilms formés en eau de mer aérée pour catalyser la réaction cathodique de réduction de l'oxygène sur des électrodes en acier inoxydable [8]. Ces expériences ont été réalisées dans le port de Gênes, avec une pile à combustible schématisée en figure 7 constituée :

- d'une anode en platine de 23,5 cm² dans le compartiment de laquelle circule soit de l'eau de mer désaérée et saturée en hydrogène, soit une solution de soude également saturée en hydrogène ;
- d'une cathode en acier inoxydable (UNS S31254) de 9 ou 1,8 cm² recouverte d'un biofilm en contact avec une eau de mer aérée par bullage d'air ;
- d'une membrane *Nafion*[®] séparant les deux compartiments.

Dans tous les essais, les biofilms sont d'abord formés sur les électrodes d'acier par une polarisation de plusieurs jours en eau de mer au potentiel de -0,20 V par rapport à une référence Ag/AgCl. Cette phase de conditionnement préliminaire permet d'optimiser la formation de l'interface entre les couches d'oxydes de la cathode en acier et le biofilm qui se forme naturellement à sa surface. L'intensité enregistrée en fonction du temps donne une courbe de type sigmoïdal qui correspond à l'établissement de la catalyse de la réduction de l'oxygène dissous à la surface de l'acier au fur et à mesure de la croissance du biofilm :



Au bout de quelques jours de croissance du biofilm, la vitesse de réduction de l'oxygène dissous sur

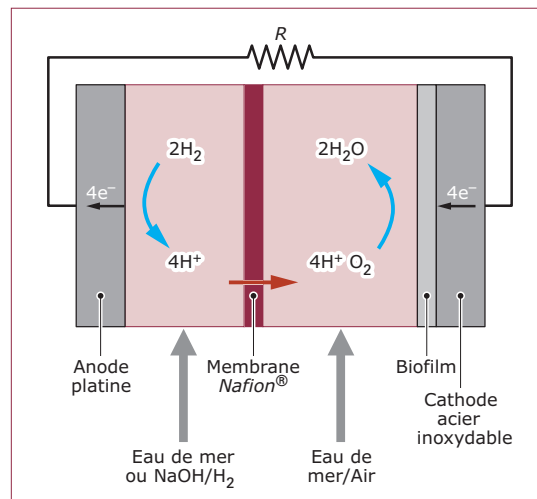


Figure 7 – Demi-bactériopile dans laquelle la cathode est une plaque en acier inoxydable, recouverte d'un biofilm formé en eau de mer aérée

l'acier est du même ordre de grandeur que celle qui serait obtenue sur une surface lisse de platine dans les mêmes conditions opératoires [8]. Les électrodes (cathodes) sont alors insérées dans la pile.

La figure 8 résume les principaux résultats obtenus dans trois conditions expérimentales différentes :

- l'essai **A** correspond à une circulation d'eau de mer (pH 8,2) hydrogénée côté anode et de l'eau de mer aérée côté cathode. Dans ces conditions, la puissance maximale obtenue est de 41 mW/m² en présence d'un biofilm sur la cathode, alors qu'elle n'est que de 1,4 mW/m² sans biofilm, après nettoyage ;
- cette puissance délivrée pouvant être limitée par la réaction anodique, l'essai **B** a été réalisé en augmentant la réaction anodique par une circulation de soude hydrogénée (pH 12,5) côté anode. La densité de puissance atteint 270 mW/m² lorsque la cathode est recouverte d'un biofilm, ce qui représente une puissance presque multipliée par 100 quand elle est comparée à celle obtenue dans les mêmes conditions après avoir ôté le biofilm (2,8 mW/m²) ;
- la densité de puissance maximale est obtenue en diminuant la surface de la cathode dans l'essai **C** (1,8 cm² au lieu de 9 cm² dans les essais A et B) et atteint 325 mW/cm².

La présence d'un biofilm aérobie sur les surfaces en acier inoxydable se révèle donc être un catalyseur puissant de la réaction cathodique.

3.2 Pile à combustible microbienne en milieu marin

Simultanément à notre découverte de la catalyse de la réduction de l'oxygène par des biofilms déposés sur des cathodes en acier, une équipe de l'université du Massachusetts montrait que des bactéries colonisant la surface d'anodes de graphite catalysent l'oxydation des matières organiques contenues dans les

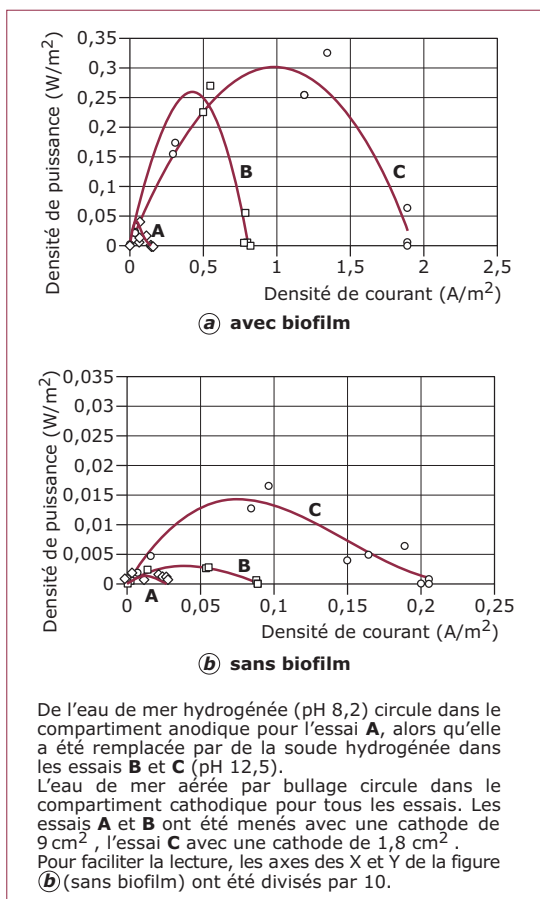


Figure 8 – Puissance délivrée en fonction de la densité de courant, avec biofilm et sans biofilm

sédiments marins. Cette équipe démontrait que la catalyse anodique est due à la capacité de *consortia microbiens* adhérents de transférer directement à l'électrode les électrons issus de l'oxydation du substrat. Les micro-organismes impliqués sur ces nouvelles bioanodes soit produisent en continu leur propre médiateur, soit opèrent des transferts directs par l'intermédiaire de composés [9], des cytochromes par exemple, inclus dans leur membrane externe, ou même par l'intermédiaire de pili conducteurs. D'un point de vue fondamental, c'est la découverte d'un nouveau paradigme ; d'un point de vue appliqué, c'est une voie qui s'ouvre pour la conception de nouvelles piles à combustible microbiennes surmontant le problème jusqu'alors rédhibitoire de l'instabilité des médiateurs organiques artificiels.

En effet le concept de pile microbienne existe depuis le début du XX^e siècle, mais il s'agissait jusqu'alors de systèmes dans lesquels le bioprocédé et le procédé électrochimique, même réalisés dans un réacteur unique, restaient découplés. Soit les micro-organismes produisent un composé, l'hydrogène par exemple, qui s'oxyde ensuite de façon abiotique sur l'anode, soit il faut ajouter des média-

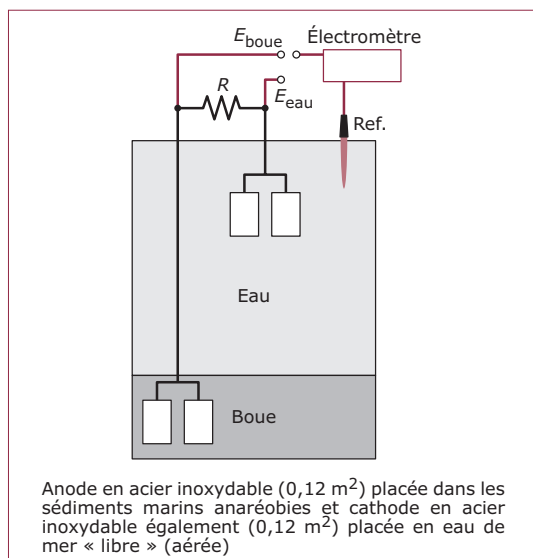


Figure 9 – Schéma de la pile à combustible microbienne implantée en mer avec catalyse bactérienne des réactions anodiques et cathodiques

teurs électrochimiques en solution pour assurer le transfert des électrons vers l'électrode. Ces médiateurs, généralement de petits composés organiques (rouge neutre, méthylviologène, thionine, quinones...) étaient réduits par les micro-organismes, cette opération exigeant le passage au travers de la membrane cellulaire, puis étaient oxydés sur l'anode. Les transferts diffusifs, surtout au niveau de la membrane des micro-organismes, ainsi que la dégradation progressive de ces médiateurs au cours des cycles successifs de réduction/oxydation étaient des causes majeures de la faible puissance délivrée par ces piles et de leur durée de vie limitée. Au contraire, dans la nouvelle génération de piles microbiennes, ce sont les micro-organismes adhérents qui jouent le rôle de catalyseur ; il s'agit d'une réelle catalyse microbienne des réactions électrochimiques.

Le Laboratoire de génie chimique de Toulouse, le CEA-Saclay et l'Institut des sciences de la mer de Gênes ont coordonné leurs efforts pour construire deux prototypes de piles à combustible microbiennes utilisant la catalyse bactérienne aussi bien à l'anode qu'à la cathode, l'un implanté directement en environnement naturel et l'autre en laboratoire.

■ Le prototype **en environnement naturel** utilise des électrodes en acier inoxydable placées directement en mer : il s'agit de plaques ($0,12 \text{ m}^2$) plongées dans les sédiments marins pour l'anode et en eau de mer aérée pour la cathode, comme schématisé en figure 9. L'anode, mise en place dans les sédiments marins, est couplée à la cathode, placée en eau de mer aérée, au travers d'une résistance de 33Ω . Après environ 8 jours d'immersion, le courant s'élève pour atteindre une valeur stable de 23 mA/m^2 . Les mesures de courant et de potentiel ont mis en évidence une limitation liée aux processus anodiques et due à l'évolution de l'interface acier-biofilm.

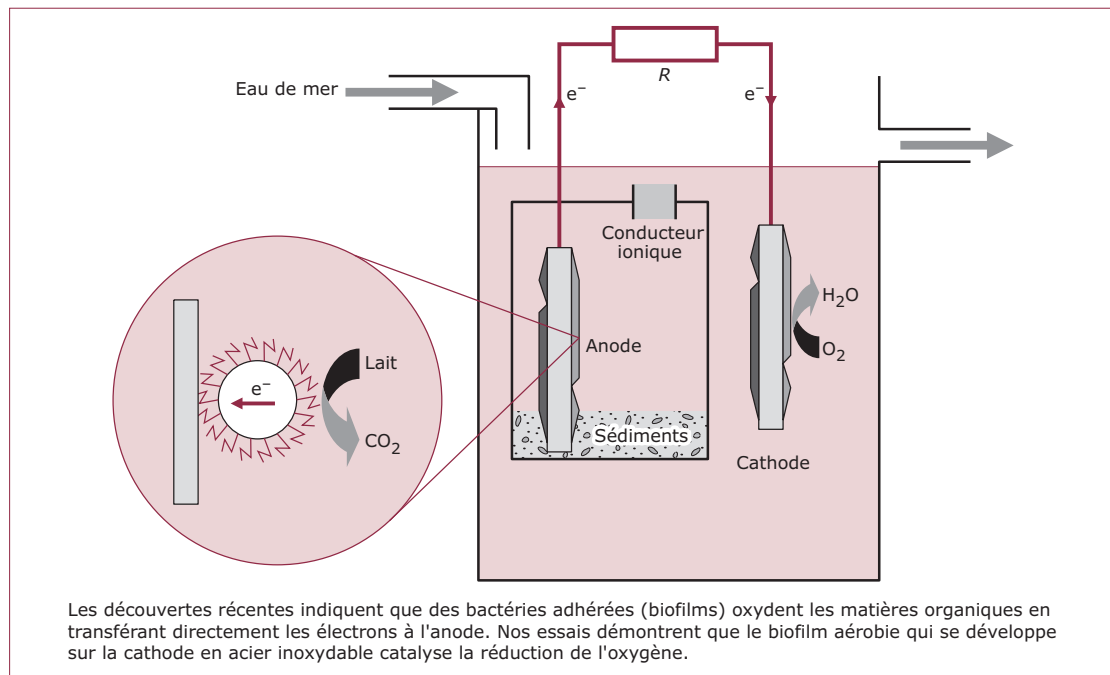


Figure 10 – Schéma du prototype de pile à combustible microbienne implantée en laboratoire, dans le port de Gênes

■ **En laboratoire**, un prototype complet de pile à combustible microbienne a également été développé en associant les catalyses bactériennes à la fois des réactions anodiques et cathodiques. Le prototype (figure 10) est constitué d'une anode en graphite et d'une cathode en acier inoxydable chacune de 600 cm². L'anode est enfouie dans un compartiment fermé contenant environ 0,2 L de sédiments marins collectés 15 m sous le niveau de la mer dans le port de Gênes. La cathode est immergée dans un bassin d'eau de mer de 100 L constamment renouvelée (6 L/h). Le compartiment anodique est plongé dans le compartiment cathodique ; un tube en coton assure le transfert ionique entre les deux environnements tout en assurant le maintien de conditions anaérobies dans le compartiment anodique. L'anode et la cathode sont connectées entre elles *via* une résistance électrique. Le compartiment anodique est alimenté chaque semaine par l'ajout de quelques millilitres de lait, qui constitue le second combustible après l'épuisement des matières organiques contenues dans la charge de sédiments.

En phase de démarrage, la cathode en acier est maintenue pendant quelques jours à un potentiel fixe de $-0,10$ V par rapport à une référence Ag/AgCl grâce à un montage potentiostatique traditionnel. Pendant la phase de démarrage, l'électrode de graphite est laissée en circuit ouvert. Après les quelques jours nécessaires à la formation des biofilms optimaux sur chacune des électrodes, le système potentiostatique est écarté et les deux électrodes sont connectées au travers d'une résistance de 33 Ω. La pile produit alors le courant de façon totalement autonome.

La pile a fonctionné pendant plus de 2 mois, fournissant des puissances entre 2 et 3 mW sur une quarantaine de jours (figure 11a). La puissance maximale évaluée le jour 42 en faisant varier la valeur de la résistance de couplage est de l'ordre de 5 mW (figure 11b), soit une densité de puissance de 80 mW/m². La pile a assuré la production d'électricité directement par conversion des matières organiques contenues dans la charge initiale de sédiments et les ajouts successifs de lait lorsque la puissance faiblissait. Les dernières expériences menées en modifiant le rapport des surfaces et en remplaçant l'anode de graphite par une anode de type industriel (*Dimensionally Stable Anode* ou DSA, matériau titane recouvert d'oxydes d'iridium/tantale couramment utilisé pour les électrolyses industrielles) ont donné des puissances jusqu'à 280 mW/m². Les densités de puissance délivrées correspondent aux valeurs les plus élevées rencontrées dans la bibliographie avec des prototypes de terrain. L'une des dernières installations décrites dans la littérature, mise en place en mer, a délivré une densité de puissance maximale d'environ 100 mW/m², mais avec des matériaux d'anode sophistiqués afin d'augmenter l'efficacité de la catalyse anodique (graphite modifié par adsorption d'une anthraquinone ou matériaux composites obtenus par compression de poudre de graphite avec des sels de nickel et de manganèse) [10].

L'originalité de cette bactériopile réside dans la mise en œuvre d'une cathode en acier inoxydable recouverte d'un biofilm formé par des micro-organismes marins qui repose sur le brevet déposé dès 2002 en copropriété CNRS-CEA [5]. En effet les

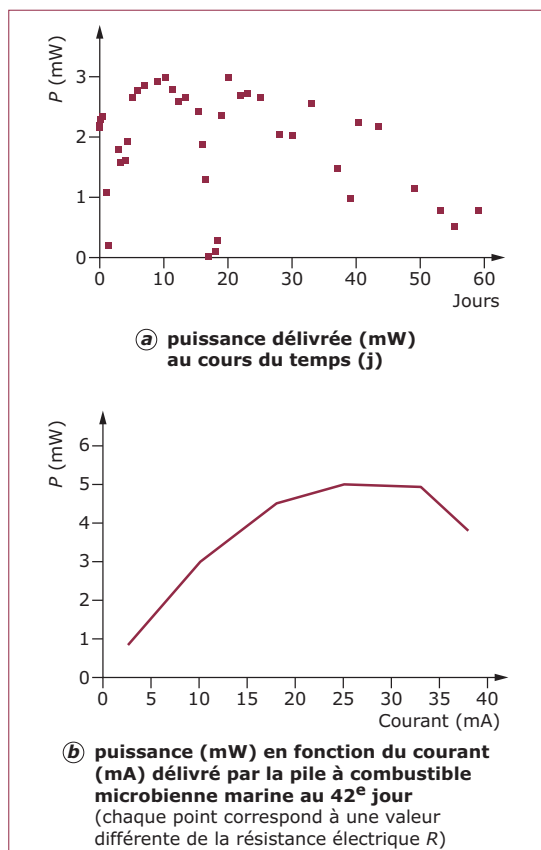


Figure 11 – Résultats obtenus avec la pile à combustible microbienne marine décrite figure 10

prototypes courants utilisent le plus souvent des cathodes en graphite qui défavorisent les performances de la pile, ou des cathodes à air traditionnelles en carbone avec une charge de platine. Les qualités exceptionnelles de l'interface acier/biofilm pour la catalyse de la réduction de l'oxygène permettent à cette bactériopile de délivrer des puissances parmi les plus hautes de celles obtenues actuellement avec des prototypes de terrain, tout en n'utilisant que des matériaux industriels, offrant ainsi une technologie directement industrialisable.

4. Perspectives

4.1 Mise en perspective des recherches

Les piles à combustible microbiennes utilisent des bactéries naturellement fixées sur les électrodes comme catalyseurs des réactions électrochimiques. À l'anode, les bactéries assurent le transfert direct vers l'électrode des électrons issus des composés carbonés qu'elles oxydent (acétate, lactate, sucres...) [2] [3] [9]. Certains auteurs se risquent à dire que ces bactéries anodophiles « respirent » l'anode, c'est-à-dire qu'elles sont aptes à connecter leur métabolisme respiratoire sur une électrode solide. Il a été

démonstré que des *consortia bactériens* électrocatalytiques peuvent se former sur des anodes de graphite immergées dans de nombreux environnements qui possèdent une écologie microbienne riche (sédiments marins, compost, stations d'épuration des eaux, effluents agroalimentaires...). Les « bioanodes » obtenues se montrent capables d'utiliser comme combustible une grande variété de matières organiques de très faible coût, voire des déchets. De nombreux travaux visent en conséquence le développement de piles qui, couplant la production électrique au traitement de déchets ou d'eaux usées, assureraient l'autonomie énergétique des stations d'épuration tout en diminuant le temps de traitement et les quantités de boues rejetées [11]. Il faut souligner que ces équipes ne travaillent que sur la mise au point des anodes et ne proposent pas encore de solution durable pour augmenter l'efficacité des cathodes. Des cathodes chargées en platine sont souvent utilisées ou bien le dioxygène est remplacé par des réactifs tels l'hexacyanoferrate de potassium.

Contrairement aux avancées réalisées sur la compréhension des processus microbiens anodiques, le mécanisme d'action des biofilms sur la cathode n'est pas encore élucidé. Les trois équipes de Toulouse, Gênes et Saclay continuent de collaborer pour progresser sur cette réaction cathodique biocatalysée que ce soit dans le projet de l'Agence nationale de la recherche (ANR) intitulé « *Bactériopile* » [12] dont l'un des objectifs est de construire un démonstrateur, ou dans le programme européen « *Electrochemically Active Biofilms* » du 6^e PCRD (Programme cadre de la recherche technologique) dont l'un des objectifs est de déchiffrer le/les mécanisme(s) [13] des bactéries actives électrochimiquement.

Depuis la naissance du concept en 2002, le nombre de publications scientifiques explose. Les puissances délivrées ne cessent d'augmenter sous l'action parallèle de l'ingénierie génétique sur les micro-organismes et de l'ingénierie sur les matériaux d'électrodes et les configurations de pile. Des anodes microbiennes utilisées en électrolyse permettent d'atteindre des densités de courant dépassant 1 000 A/m². Des densités de puissance de l'ordre de plusieurs watts par mètre carré sont annoncées pour des piles de laboratoire opérant dans des conditions bien contrôlées [14]. Nous sommes ici en présence d'un véritable saut scientifique qui ouvre de nouveaux horizons pour les piles microbiennes. En effet le concept de pile microbienne, connu depuis le milieu de 19^e siècle, désignait auparavant des piles faisant intervenir des réactions microbiennes découplées des réactions électrochimiques qui, elles, restaient traditionnelles. Dans certains cas, l'ajout d'un médiateur organique était nécessaire pour assurer le transfert électronique entre l'anode et le micro-organisme, dans d'autres cas les micro-organismes n'avaient pour fonction que de produire *in situ* le combustible (dihydrogène, éthanol). Dans tous les cas, les réactions électrochimiques faisant intervenir le composé médiateur ou le combustible restaient abiotiques. Au lieu de résoudre le problème de la catalyse électrochimique, ce premier concept tendait à le complexifier puisqu'il était nécessaire de réaliser les catalyses électrochimiques dans des milieux biologiques complexes, riches de nombreux composés propres à polluer les électrodes.

4.2 Applications

La production directe d'électricité à partir de déchets sera-t-elle un jour aussi aisée que le laissent supposer certains films de science-fiction ? (Souvenons-nous de cette séquence du film *Retour vers le futur* où Emmett Brown utilise le contenu d'une poubelle comme source d'énergie pour démarrer son véhicule *Delorean*). Pour l'instant, les piles à combustible microbiennes ne sont pas en mesure d'aborder le domaine des transports ou de la production électrique de masse. Par contre, on peut envisager un développement à court terme (moins de 10 ans) dans un certain nombre de secteurs :

- la production d'énergie dans les lieux éloignés des réseaux de distribution (balises marines, stations off-shore, habitats isolés...); on peut aussi envisager de petites stations de production liées à des traitements d'effluents particuliers; les pays dépourvus d'infrastructures pourraient bénéficier en priorité de cette technologie qui devrait offrir des puissances suffisantes pour alimenter des appareillages de faible consommation (éclairage, poste de radio...) avec des équipements relativement rustiques;

- dans le concept de maison autonome en énergie, les piles microbiennes peuvent devenir l'élément clé qui assurera la production d'électricité à partir de déchets domestiques; notons que cette fonction peut s'étendre au recyclage des déchets dans les stations spatiales ou planétaires;

- intégrées dans les stations d'épuration d'eaux usées, les piles microbiennes pourront produire de l'énergie à partir de l'oxydation directe des matières organiques dissoutes et alimenter en retour les équipements de la station; la National Science Foundation a récemment évalué à 25 milliards de dollars le coût annuel du traitement des effluents aqueux aux États-Unis, dont la majorité est attribuée à l'énergie consommée. L'université de Pennsylvanie [11] travaille depuis plusieurs années à la conception de prototypes dédiés à cette application;

- dans les installations agricoles, de microcentrales pourront réaliser une production électrique couplée au traitement des effluents (jus d'ensilage, eaux de lavage de l'industrie laitière, effluents viticoles...), des lisiers, des déchets de tissus végétaux, etc. La pile microbienne peut être considérée comme un moyen de convertir la biomasse directement en électricité sans passer par l'intermédiaire de la production de biogaz. À plus long terme, si l'augmentation des puissances délivrées suit la courbe de progression actuelle, l'émergence d'une nouvelle filière de valorisation des déchets agricoles est envisageable avec la mise en place de centrales de puissance relativement importante.

5. Conclusion

La mise en évidence des phénomènes de biocatalyse sur les matériaux conducteurs ouvre des perspectives nouvelles par l'identification d'un lien électrochimique entre matériaux et micro-organismes. Les biofilms, par les bactéries et/ou les enzymes qu'ils contiennent, peuvent être actifs électrochimiquement et conférer aux matériaux conducteurs des propriétés inattendues. Une des applications principales de ce phénomène de biocatalyse se situe dans les piles à combustible qui peuvent utiliser soit directement les bactéries dans les biofilms, soit les enzymes, pour catalyser les réac-

tions anodique et/ou cathodique. C'est une voie nouvelle qui vient de s'ouvrir depuis quelques années : les piles microbiennes, encore appelées **biopiles** ou **bactériopiles**, ne sont plus une simple curiosité de laboratoire mais deviennent de vrais enjeux scientifiques et industriels.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier chaleureusement les différents acteurs (étudiants, doctorants, chercheurs, ingénieurs) qui, avec enthousiasme, ont conçu et réalisé les essais décrits dans ce dossier : les équipes de Gènes (Alfonso Mollica, Marco Faimali), du LGC de Toulouse (Marie-Line Délia, Régine Basséguy, Claire Dumas, Nathalie Garapin, Luc Etcheverry, Jean-Pierre Monna) et du CEA-Saclay (Aurélien Agneaux, Dominique Prière, Valérie L'Hostis, Hélène Plouzennec, Marc Roy).

Références bibliographiques

- [1] STEVENS (P.), NOVEL-CATTIN (F.), HAMMOU (A.), LAMY (C.) et CASSIR (M.). - *Piles à combustible*. [D 3 340], **Techniques de l'Ingénieur**, base documentaire « Convertisseurs et machines électriques » (2000).
- [2] BOND (D.R.), HOLMES (D.E.), TENDER (L.M.) et LOVLEY (D.R.). - *Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments*. *Science* 295, p. 483-5 (2002).
- [3] TENDER (L.M.), REIMERS (C.E.), STECHER (H.A.), HOLMES (D.E.), BOND (D.R.), LOWY (D.A.), PIBLO-BELLO (K.), FERTIG (S.) et LOVLEY (D.R.). - *Harnessing microbially generated power on the seafloor*. *Nature Biotechnology* 20, p. 821-5 (2002).
- [4] FERON (D.) et BERGEL (A.). - *Pile à combustible utilisant des enzymes en tant que catalyseur de la réaction cathodique et/ou anodique*. Brevet FR 02.01488 (7 février 2002).
- [5] BERGEL (A.) et FERON (D.). - *Pile à combustible utilisant des biofilms en tant que catalyseur de la réaction cathodique et/ou anodique*. Brevet FR 02.10009 (6 août 2002).
- [6] MINTEER (S.D.), LIAW (B.Y.) et COONEY (M.J.). - *Enzyme-based biofuel cells*. *Current Opinion in Biotechnology* 18, p. 1-7 (2007).
- [7] WILLNER (I.) et WILLNER (B.). - *Biomaterials integrated with electronic elements: en route to bioelectronics*. *Trends in Biotechnology* 19, p. 222-30 (2001).
- [8] BERGEL (A.), FERON (D.) et MOLLICA (A.). - *Catalysis of oxygen reduction in PEM fuel cell by seawater biofilm*. *Electrochemistry Communications* 7, p. 900-4 (2005).
- [9] RABAEY (K.) et VERSTRAETE (W.). - *Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation*. *Trends in Biotechnology* 23, p. 291-8 (2005).
- [10] LOWY (D.A.), TENDER (L.M.), ZEIKUS (J.G.), PARK (D.H.) et LOVLEY (D.R.). - *Harvesting energy from the marine sediment-water interface II - Kinetic activity of anode materials*. *Biosensors and Bioelectronics* 21, p. 2058-63 (2006).
- [11] MIN (B.) et LOGAN (B.E.). - *Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrates in a flat plate microbial fuel cell*. *Environmental Science and Technology* 38, p. 5809-14 (2004).
- [12] Projet ANR *Bactériopile* (déc. 2005 - nov. 2008).
- [13] Projet *Electrochemically Active Biofilms*, 6^e PCRD dans le programme New and Emerging Science and Technology, NEST508866 (sept. 2004 - août 2007).
- [14] RABAEY (K.), LISSENS (G.), SICILIANO (S.D.) et VERSTRAETE (W.). - *A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency*. *Biotechnology Letters* 25, p. 1531-35 (2003).