National Award

Low-cost biofuel cell for investigation of energy metabolism

Biocélula a combustível de baixo custo para investigação do metabolismo energético

Gustavo Silveira*, Masaharu Ikegaki e José Maurício Schneedorf Ferreira da Silva

Universidade Federal de Alfenas – Unifal/MG, Alfenas/MG.

*e-mail: gustavo.silveiraunifal@gmail.com

Abstract

*This work describes the construction of a biofuel cell from low-cost materials and their use in college and undergraduate practical classes. The system employs the baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as micro-organism responsible for the generation of electric potential, whose interaction with the electrode is mediated by methylene blue. Simple experiments are proposed to evaluate the effects of different substrates, inhibitors and cell viability, improving both the knowledge of the system as metabolic pathway concepts. The concepts related to biofuel cells, such as applications, mechanisms and limitations were worked in four biochemical undergraduate classes for a Chemistry Course students at the Federal University of Alfenas (UNIFAL-MG).*

Keywords: *biofuel cells; green chemistry; metabolic pathway.*

Resumo

Esse trabalho descreve a construção de uma biocélula a combustível a partir de materiais de baixo custo e seu uso em aulas práticas de graduação. O sistema emprega a levedura de padaria (*Saccharomyces cerevisiae*) como micro-organismo responsável pela geração de potencial, cuja interação com o eletrodo é mediada por azul de metileno. Foram propostos experimentos simples para avaliar os efeitos de diferentes substratos, inibidores e viabilidade celular, que permitiram maior conhecimento do sistema bem como conceitos relacionados a vias metabólicas. Conceitos relacionados às biocélulas a combustível tais como aplicações, mecanismos e limitações foram trabalhados em duas aulas práticas de bioquímica com estudantes do Curso de Graduação em Química da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).

Palavras-chave: *biocélulas a combustível; química verde; vias metabólicas*

Ficha da atividade

Título	Biocélula a combustível de baixo custo para investigação do metabolismo energético.
Categoria:	Prêmio Nacional de Ensino de Bioquímica e Biologia Molecular “Bayardo Baptista Torres”: Prática de Ensino
Tipo de atividade	Aula prática.
Público-alvo:	Estudantes de Ensino Médio e Superior (Graduação em diversas subáreas de Ciências Biológicas, Ciências Agrárias, Ciências Exatas e da Terra, Engenharias (II, III e IV), Ciências da Saúde, Ciências Agrárias, e Multidisciplinar).
Conteúdos abordados	Células galvânicas; biocélulas a combustível; fermentação; coenzimas de oxidação-redução, ciclo de Krebs, cadeia respiratória; inibição e modulação enzimática; integração metabólica; efeito Crabtree; efeito Pasteur; transferência de carga; curvas de polarização; potência elétrica; biorremediação; Química Verde.
Objetivos educacionais	<ul style="list-style-type: none"> - Despertar o interesse dos jovens estudantes para uma linha de pesquisa de fácil implementação; - Utilizar materiais de baixo custo e fácil aquisição para construção de uma biocélula a combustível; - Auxiliar o aprendiz na compreensão de conceitos envolvidos em metabolismo energético, bioeletricidade e biorremediação; - Utilizar a diferença de potencial gerada pelo dispositivo como indicação da atividade metabólica da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> em diversas condições experimentais sugeridas.
Duração estimada	40 – 60 minutos
Materiais utilizados	Duas minas de grafite comum de 2mm; 1,5 M de KCl; ágar 2% ou algodão hidrofílico; 2 béqueres de 25 mL; Glicose; fermento biológico (<i>S. cerevisiae</i>); multímetro; solução de azul de metileno (AM) 10 mM; PBS pH 7,0 e/ou solução salina (0,9 % NaCl); solução de ferricianeto de potássio 25 mM ou solução de água oxigenada comercial 10 volumes.
Justificativa	<p>A construção e aplicação de biocélulas a combustível envolve conceitos científicos de diversas áreas do conhecimento, tais como transferência de carga, equilíbrio químico, termodinâmica, cinética enzimática, e metabolismo, entre outros. Esses conceitos não são de fácil compreensão para a maioria dos estudantes de Ensino Médio e mesmo Superior, tornando a construção e aplicação de biocélulas atrativas para o aprendizado em Biologia e Química.</p> <p>Assim, uma biocélula de construção simples e baixo custo pode ser utilizada para experimentos de amplo espectro, tanto para a compreensão dos processos de oxidação de combustíveis celulares (Metabolismo), como para geração de energia elétrica alternativa e biorremediação (Química Verde). Em síntese, a biocélula construída empregou o micro-organismo <i>Saccharomyces cerevisiae</i>, o mediador azul de metileno, uma arquitetura de duas câmaras de fácil construção e manuseio, bem como um monitoramento de sinal pelo uso de um multímetro comercial de baixo custo.</p>
Link	http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17518253.2016.1278280

1 Introdução

Uma biocélula a combustível é um dispositivo eletroquímico que permite obter energia elétrica a partir da ação metabólica de micro-organismos. Similar a pilhas e baterias, esses dispositivos são constituídos por uma câmara anódica (onde ocorre a oxidação da matéria orgânica devido a ação dos micro-organismos), por uma câmara catódica (local de redução do receptor dos elétrons), e por um componente que permite o equilíbrio iônico nas duas câmaras, como uma membrana semipermeável a prótons H^+ ou uma ponte salina. Enquanto as células a combustível de O_2/H_2 requerem a catálise proporcionada por metais nobres e uma temperatura de operação próxima a $80^\circ C$, as biocélulas usam o efeito catalítico das enzimas produzidas pelos micro-organismos, trabalhando em condições de pH e temperatura mais brandas. [1]

A ideia de utilizar a fermentação para a produção de energia elétrica remonta a 1911 com os experimentos do professor Potter [2], mas o interesse por esse assunto só se expandiu no final da década de 1990, devido o interesse por novas fontes alternativas de energia. Nos dias atuais, a tecnologia encontra-se em franca expansão[3], estando intimamente ligada à Química Verde, principalmente pela possibilidade de geração de energia concomitante ao tratamento de efluentes[4]. Entretanto, a geração de eletricidade ainda é pequena, requerendo mais estudos para o seu aperfeiçoamento. Nesse sentido, os estudos relacionados à interação dos micro-organismos com os eletrodos apresentam grandes oportunidades.

Os primeiros estudos desse tipo de interação surgiram em 1980 [5], referentes a micro-organismos capazes de reduzir óxidos metálicos e dando origem ao termo “bactérias eletroquimicamente ativas” [6,7]. O termo se refere à capacidade que alguns micro-organismos têm de transferir elétrons provenientes da oxidação de um substrato para um eletrodo, seja de forma direta ou indireta. No primeiro grupo, nanofios, citocromos ou outras enzimas redox presentes na membrana celular são os responsáveis pela transferência eletrônica; no segundo grupo estão presentes micro-organismos que requerem a presença de uma molécula que atue como mediador para a transferência dos elétrons [3].

A presente prática de ensino aborda o uso das biocélulas a combustível como ferramenta auxiliar no ensino de Biologia e Química, através da correlação entre o potencial elétrico gerado pelo dispositivo e os possíveis mecanismos bioquímicos do metabolismo de carboidratos. A simplicidade da metodologia, bem como a variedade de conceitos passíveis de exploração em áreas distintas como eletroquímica, cinética

enzimática, microbiologia, ciência de materiais, e bioremediação, entre outros, fazem das biocélulas a combustível um excelente modelo educacional. Concomitantemente, o potencial de divulgação dessa linha pesquisa bem como o emprego de materiais e reagentes de baixo custo, não tóxicos e facilmente encontrados no comércio local para a construção do dispositivo, reforçam uma prospecção investigativa em acordo com os princípios da Química Verde [8].

2 Apresentação do material ou prática de ensino

Figura 1. Alguns materiais e reagentes necessários à prática: minas de grafite, ponte salina, soluções de ferricianeto de potássio e azul de metileno, multímetro.

Figura 2. Montagem da biocélula, apresentando os compartimentos anódico (esquerda) e catódico (direita), interligados pela ponte salina e já com os eletrodos.

Figura 3. Medição dos potenciais elétricos em uma biocélula em funcionamento. À esquerda, imediatamente após a adição de levedura. À direita, elevação do potencial elétrico após 60 minutos de funcionamento.

Figura 4. Substituição da ponte salina de ágar pela ponte salina de algodão. O maior potencial elétrico em relação à Figura 3 não é um efeito da ponte salina, mas sim do maior tempo de fermentação em que esta fotografia foi tirada.

3 Potencial Educacional

Mediar o aprendizado de metabolismo e da cinética enzimática entre jovens estudantes, bem como incitar uma linha de pesquisa ainda pouco explorada no país em Biologia e Química, contribuindo para aumentar o interesse numa área de grande potencial de expansão como fonte alternativa de energia limpa.

Incentivar os estudantes a buscar materiais alternativos para elaboração de experimentos que possam ser úteis para a investigação de fenômenos bioquímicos.

4 Diferencial com os materiais/ atividade pré-existent

Utilização de materiais de baixo custo facilmente adquiridos no comércio local para a construção e aplicação de uma biocélula a combustível;

Instrução integrada de conceitos em Enzimologia e Metabolismo, Biorremediação e Química Verde;

Criação de conjuntos de experimentos para avaliação de rotas bioquímicas a partir das mudanças nos valores de potencial elétrico.

Operação de biocélula a combustível substituindo eletrodos convencionais, membranas específicas e sistema digital de aquisição de dados, todos onerosos, por grafite de lapiseira, ágar ou algodão embebido, e multímetro comercial, respectivamente.

5 Procedimentos de uso ou aplicação

Em linha gerais, a biocélula foi montada como segue: foram utilizados dois béqueres de 25 mL como compartimentos anódico e catódico. O compartimento catódico foi preenchido com solução de ferricianeto de potássio. No compartimento anódico adicionou-se volumes adequados do eletrólito, da solução estoque de azul de metileno e da solução do açúcar. Os eletrodos foram inseridos em cada compartimento e ligados aos terminais do multímetro (preto – ânodo; vermelho – cátodo). A ponte salina foi colocada interligando os dois compartimentos para completar o circuito (Figura 2), e a escala para leitura de potencial do multímetro foi selecionada para 2 V. Posteriormente, 0,8 g do fermento biológico foi homogeneizado com 2 mL do respectivo anólito por 5 min. Após a estabilização do potencial elétrico, seu valor era anotado, seguindo-se a adição de 2 mL do fermento preparado acima, e monitoramento do potencial em intervalos de 5 min até o final dos ensaios. O anólito foi mantido sob repouso durante os experimentos para minimizar a difusão de O_2 para o interior da solução.

5.1. Materiais/ procedimentos

As soluções foram preparadas usando água destilada. Foi empregada uma solução de tampão fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0 em salina (NaCl 0,9%) como anólito. No compartimento catódico foi empregado ferricianeto de potássio $0,025 \text{ mol L}^{-1}$ no mesmo tampão. A solução estoque de azul de metileno foi preparada na concentração de $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ e armazenada em geladeira. Levedura liofilizada foi adquirida no comércio local e utilizada como fonte de *S. cerevisiae*.

6 Considerações finais

O roteiro experimental proposto é de fácil realização e permite ao aluno conhecer uma nova linha de pesquisa. A partir de materiais de baixo custo facilmente encontrados no comércio local, vários experimentos podem ser realizados com o objetivo de se investigar diferentes rotas metabólicas. Nossa experiência nas aulas práticas realizadas sobre o assunto nos mostra que os alunos ficam bastante interessados com a experimentação proposta devido sua simplicidade, conceitos envolvidos, atualidade e possibilidade de geração de energia a partir de resíduos. Dessa forma, a aula prática proposta sobre o tema “biocélulas a combustível” revelou-se uma ferramenta muito útil para o ensino de bioquímica e matérias afins.

Referências

- [1] Bullen RA, Arnot TC, Lakeman JB, Walsh FC. Biofuel cells and their development. *Biosens Bioelectron* 2006; 21:2015–2045.
- [2] Potter MC. "Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds." *Proceedings of the Royal Society of London* 1911; 84: 260-276.
- [3] Santoro C, Arbizzani C, Erable B, Ieropoulos I. Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review. *J Power Sources* 2017;356:225–44. doi:10.1016/j.jpowsour.2017.03.109.
- [4] Logan BE. *Microbial fuel cells*. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience; 2008.
- [5] Wingard LB, Shaw CH, Castner JF. Bioelectrochemical fuel cells. *Enzyme Microb Technol* 1982;4:137–142.
- [6] Logan BE. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. *Nat Rev Microbiol* 2009;7:375–381.
- [7] Chang, In-Seop, et al. Electrochemically active bacteria (EAB) and mediator-less microbial fuel cells. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2006; 16: 163-177.
- [8] Anastas, PT.; Warner, JC. *Green Chemistry Theory and Practice* Oxford University Press New York, 1998.

Materiais suplementares

Roteiros de aulas práticas em anexo no sistema.