

Saccharomyces cerevisiae como ánodo en una micro celda de combustible para oxidación de glucosa en sangre

Zulma F. Estrella Chavero¹, Allan Vallejo Ruíz², I. L. Vera-Estrada¹, María del C. Bernardino Ruíz¹, Luz C. Castillo-Martínez¹, Jonatan Gachuz¹, J. Héctor Zavala-Gómez¹, Luis Chávez Dorantes¹, Juan M. Olivares-Ramírez¹, D. Dector¹, Carlos R. González Vilchis¹, Faruk Fontal Rico², Jimmy A. Morales-Morales³, Víctor M. Ovando-Medina⁴, Diana Amaya-Cruz⁵, Andrés Dector⁶

¹ Universidad Tecnológica de San Juan del Río, 76800, San Juan del Río, Querétaro, México.

² Universidad Autónoma de Occidente, Cali, Valle del Cauca, Colombia.

³ Universidad Santiago de Cali, Facultad de Ciencias Básicas, Grupo de Investigación de Química y Biotecnología, Campus Pampalinda, Cali, Valle del Cauca, Colombia.

⁴ Ingeniería Química, Coordinación Académica Región Altiplano (COARA) Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 78700, San José de las Torres, Matehuala, San Luis Potosí, México.

⁵ Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de ingeniería, campus Amealco, 76850, Querétaro, México.

⁶ CONACYT – Universidad Tecnológica de San Juan del Río, 76800, San Juan del Río, Querétaro, México.

*Autor de correspondencia: adectore@conacyt.mx

Resumen

En este trabajo, se presenta la evaluación electroquímica de una celda de combustible microfluídica (μ FC, por sus siglas en inglés, *microfluidic fuel cell*) fabricada de papel absorbente en condiciones biológicas aisladas. El objetivo principal es generar energía mediante el uso de electrodos, empleando levadura convencional inocua (*Saccharomyces Cerevisiae*) como bioánodo y Pt sobre carbón como cátodo. Para la fabricación del bioánodo, se llevó a cabo una mezcla para inmovilizar la levadura y mejorar la conductividad de energía, usando carbón Vulcan®, óxido de grafeno, alcohol isopropílico, glutaraldehído 1 % y solución tampón pH 5 (VC-OG-AI-GA-STpH5). A esto, se le agregó la levadura previamente adaptada a los requerimientos óptimos para su crecimiento en un medio rico en glucosa y finalmente centrifugada. Por otra parte, la integración de un electrodo expuesto al aire (Pt/C) como cátodo permitió el suministro directo de oxígeno desde el aire. El rendimiento de la celda de combustible microfluídica se evaluó utilizando sangre humana por su contenido de glucosa. La evaluación electroquímica mediante las curvas de descarga y polarización mostraron un voltaje, una densidad de corriente máxima y una densidad de potencia máxima de 1.58 V, 0.528 mA cm⁻² y 0.148 mW cm⁻², respectivamente. Los resultados obtenidos demostraron que la levadura llevó a cabo la oxidación de la glucosa en sangre humana y que, por lo tanto, podría ser empleada como ánodo en dispositivos de celdas de combustible que a su vez sean empleados como fuentes de poder en dispositivos médicos implantables.

Palabras clave: Celda de combustible microfluídica, *Saccharomyces Cerevisiae*, Inmovilización, Sangre humana.

Abstract

In this work, the electrochemical evaluation of a microfluidic fuel cell (μ FC) made of absorbent paper under isolated biological conditions is presented. The main objective is to generate energy through the use of electrodes, using harmless conventional yeast (*Saccharomyces Cerevisiae*) as bioanode and Pt on carbon as cathode. For the fabrication of the bioanode, a mixture was made to immobilize the yeast and improve energy conductivity, using Vulcan® carbon, graphene oxide, isopropyl alcohol, glutaraldehyde 1 % and buffer solution pH 5 (VC-OG-AI-GA-STpH5). To this, yeast previously adapted to the optimal requirements for growth in a glucose-rich medium was added and finally centrifuged. Moreover, the integration of an air-exposed electrode (Pt/C) as cathode allowed the direct supply of oxygen from the air. The performance of the microfluidic fuel cell was evaluated using human blood for its glucose content. Electrochemical evaluation using discharge and polarization curves showed a voltage, maximum current density and maximum power density of 1.58 V, 0.528 mA cm⁻² and 0.148 mW cm⁻², respectively. The obtained results demonstrated that the yeast carried out the oxidation of glucose in human blood and could therefore be used as an anode in fuel cell devices which in turn are used as power sources in implantable medical devices.

Keywords: microfluidic fuel cell, *Saccharomyces Cerevisiae*, immobilization, human blood.

Introducción

Los primeros microorganismos utilizados como fuente de proteínas fueron las levaduras, principalmente la *Saccharomyces cerevisiae*, que aún es la principal fuente de proteína unicelular, como también se conoce a la proteína obtenida de la biomasa microbiana (Pereira, Freitas, and Paschoalin 2021). La levadura *S. cerevisiae* es probablemente el microorganismo más ampliamente utilizado por el hombre a través del tiempo en la elaboración de diversos alimentos como el pan o las bebidas alcohólicas (Aranda, Salgado & Taillandier 2004). Esta levadura realiza un proceso de fermentación alcohólica, al consumir o romper los azúcares para obtener energía, de manera que, a su vez, se obtiene como producto etanol, CO₂ y moléculas de ATP.

En este sentido, el avance en ciencia y tecnología, así como los conocimientos actuales en microorganismos, ha obligado al ser humano a adentrarse en la búsqueda inminente de nuevos recursos para suplir la alta demanda energética en los dispositivos móviles. Por lo anterior, es importante aplicar materiales que puedan ser amigables con el medio ambiente, que presenten ventaja en bajos costos y con un alto rendimiento en la obtención de nuevas formas de energía.

El uso de celdas de combustible microbianas (MFC, por sus siglas en inglés, *Microbial Fuel Cell*), empleando como catalizador de reacciones químicas el microorganismo *Saccharomyces cerevisiae*, desencadena actualmente un papel fundamental por su capacidad de oxidar glucosa. Esto favorece en gran parte la producción de energía química directamente en electricidad utilizando la glucosa presente en la sangre (Siu & Chiao 2008). Estas celdas de combustible microbianas constituyen una de las formas de energía más limpias y eficientes; a partir de esto, aprovechar la fácil obtención de cepas microbiológicas, que resulta ser una gran alternativa para garantizar el cuidado del medio ambiente evitando así la producción de desechos contaminantes (Ahmad et al., 2011; Dector et al., 2019). Es precisamente en lo anterior donde radica la gran importancia de este proyecto:

aprovechar las reacciones químicas que desencadena la levadura al consumir glucosa y producir energía eléctrica, además, el empleo de sangre humana favorece su futuro y posible uso en dispositivos portátiles médicos.

Metodología

Preparación de levadura

Para el cultivo de la levadura, se utilizó un medio de cultivo YPfru, al que se le agregó 0.5 % de extracto de levadura (DIBICO®), 0.8 % de Peptona (MCD®) y 3 % de glucosa (SIGMA®) en 500 mL de solución tampón pH 7 como fuente de carbón, se incubó durante 24 horas a 28°C.

Se realizó una curva de crecimiento con un espectrofotómetro visible midiendo la transmitancia del medio de cultivo durante el crecimiento de la levadura (en la incubación de las 24 horas mencionada anteriormente), tomando muestras cada 2 horas. Se obtuvo como resultado que el tiempo de crecimiento de la levadura es de 11 horas, esto para la posterior incubación del cultivo de esta. Una vez concluido el tiempo, se realizó una centrifugación de 5000 rpm durante 10 min, agregando a cada tubo 10 ml del medio de cultivo y decantando después con 5 ml de solución salina estéril al 0.9 % para volver a centrifugar.

Ensamble de la celda de combustible

La celda fue preparada a partir de una tira de papel filtro Whatman No 5. Esta tira presentó una longitud de 3 cm y 0.5 cm de ancho. Posteriormente los electrodos fueron preparados a partir de dos cuadros de papel de carbono Toray de 1.0 x 0.5 cm, sobre los cuales se depositaron los materiales catalíticos del ánodo y cátodo en un área de 0.5 x 0.5 cm.

Para la preparación del cátodo, la tinta catalítica fue preparada a partir de una mezcla de Pt/C, como ánodo y cátodo respectivamente, 7 µL de Nafion® al 5 % y 63 µL de alcohol isopropílico y llevado a sonicar por 20 minutos. La tinta se depositó por la técnica de *spray* y se obtuvo una carga final de 1 mg cm⁻². Para

la fabricación del bioánodo, primero se depositó directamente la levadura centrifugada (pellet) sobre el electrodo y posteriormente se realizó a cabo una mezcla para inmovilizar la levadura y mejorar la conductividad de energía; se usó Vulcan[®], óxido de grafeno, alcohol isopropílico, glutaraldehído 1% y solución tampón pH 5 (VC-OG-AI-GA-STpH5); finalmente se agregó el pellet de la levadura previamente adaptada a los requerimientos óptimos para su crecimiento en un medio rico en glucosa y finalmente centrifugada.

Los electrodos fueron depositados en modo sándwich sobre la tira de papel, colocando el cátodo por la parte superior para permitir la respiración de oxígeno del medio y así poder realizar la reacción de reducción del

oxígeno presente en el aire. Todas las pruebas fueron realizadas en un potenciostato/galvanostato Zahner Zennium a temperatura ambiente y presión atmosférica. La recolección de sangre fue llevada a cabo mediante la donación de un voluntario masculino de edad adulta.

Resultados

La Figura 1 muestra la curva de polarización para la celda de combustible microfluídica (μ FC) empleando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* centrifugada como ánodo y sangre humana como combustible. Se observa un potencial a circuito abierto (OCP) de 0.67 V y una densidad de corriente máxima de 0.027 mA cm⁻². Finalmente, cuando la curva de potencia fue realizada, se obtuvo una densidad de potencia máxima de 0.0028 mW cm⁻². Estos resultados muestran que el electrodo a base de levadura *S. cerevisiae* oxida la glucosa presente en la sangre, así como que el cátodo reduce el oxígeno, sin embargo, los valores obtenidos son bajos en comparación con otros trabajos reportados. Además, la evaluación electroquímica solo pudo realizarse en una ocasión, pues los valores en las siguientes evaluaciones eran tan bajos que fueron casi imposibles de medir. En este sentido, la propuesta de la inmovilización de la levadura podría llegar a favorecer la evaluación de la celda de

combustible al obtener mayores valores en voltaje, densidad de corriente y densidad de potencia.

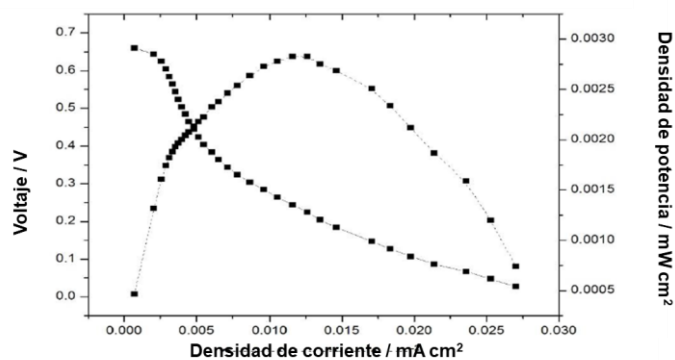


Figura 1. Curva de polarización y de potencia de la celda de combustible microfluídica construida de papel empleando *Saccharomyces cerevisiae* centrifugada como ánodo y Pt/C como cátodo, así como sangre humana como fuente de glucosa como combustible. Fuente: elaboración propia

Por otra parte, la Figura 2 muestra también las curvas de polarización para la celda de combustible microfluídica (μ FC) empleando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como ánodo, pero en este caso inmovilizada usando Vulcan[®], óxido de grafeno, alcohol isopropílico, glutaraldehído 1% y solución tampón pH 5 (VC-OG-AI-GA-STpH5) como se describió en la sección de metodología. Los experimentos se realizaron sobre la misma celda con un periodo de cada 2 días, con el objetivo de observar la estabilidad de la levadura inmovilizada con el tiempo, mediante su capacidad de seguir generando energía. Es decir, en el día uno fue realizada la experimentación 1; en el tercer día, la experimentación 2; en el quinto, la experimentación 3; finalmente, en el séptimo, la experimentación 4.

De manera interesante, en el transcurso de los días para cada experimentación hubo un decremento en los valores de voltaje, densidad de corriente y densidad de potencia. Esto sugiere que la levadura va muriendo con el paso de los días y, al existir menos levaduras en una fase estacionaria, ocurre menos densidad de corriente generada; es decir, que la cantidad de

levaduras es proporcional a la densidad de corriente generada. Otra posible conclusión, pudiera ser que las levaduras van sufriendo un envenenamiento o taponamiento por parte de la sangre, debido a elementos presentes en la sangre como eritrocitos, sales, proteínas, etc. Respecto a este último punto, es importante mencionar que el platino también puede sufrir envenenamiento con el paso de estos días; sin embargo, no fue el objetivo analizar la actividad catalítica del cátodo en este trabajo.

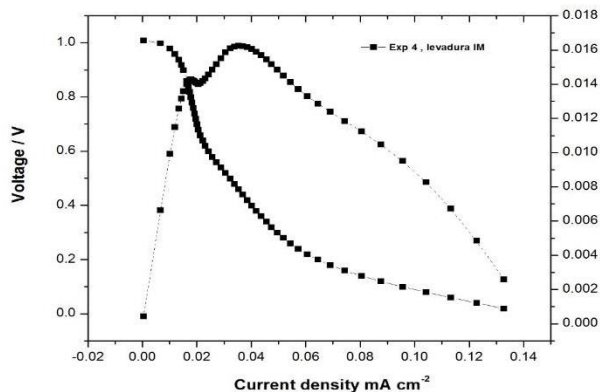
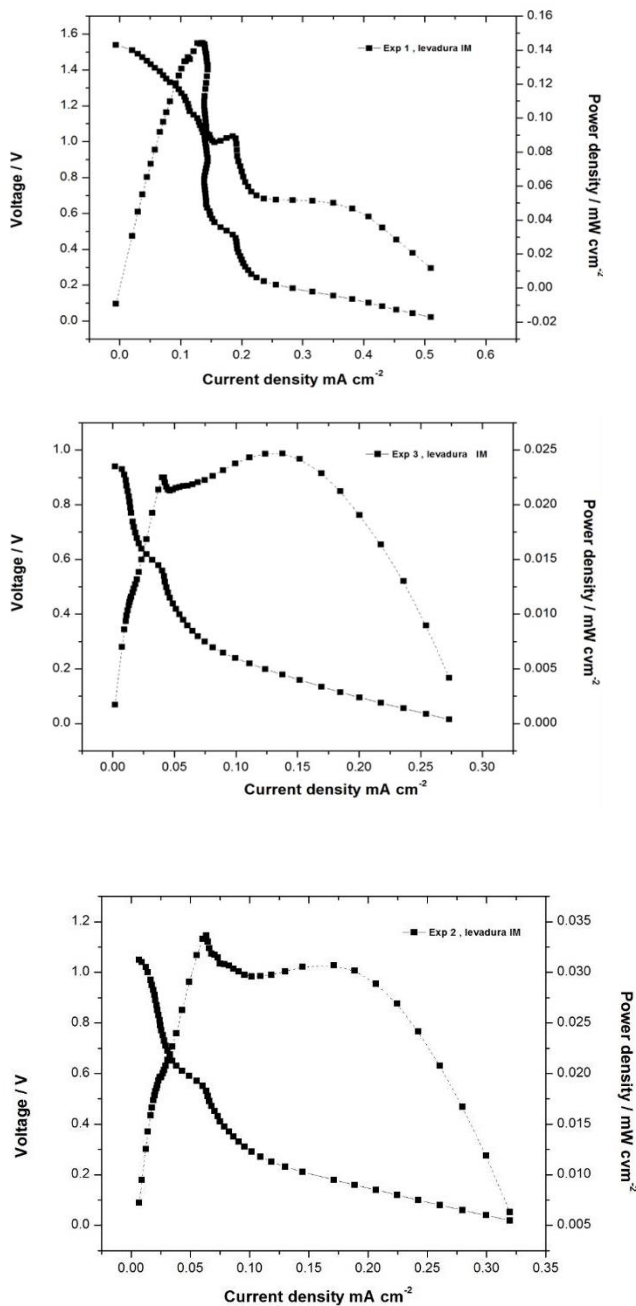


Figura 2. Curvas de polarización y de potencia de las celdas de combustible microfluidicas construidas en papel empleando Saccharomyces cerevisiae centrifugada e inmovilizada como ánodos y Pt/C como cátodo, y sangre humana como combustible; probadas cada 2 días (experimento 1, día 1; experimento 2, día 3; experimento 3, día 5; y experimento 4, día 7). Fuente: elaboración propia.

La Tabla 1 presenta los valores obtenidos para las cuatro experimentaciones y las compara con los valores de las curvas de la celda de combustible donde solo es empleada la levadura centrifugada. El voltaje obtenido en los cuatro casos fue casi en el mismo intervalo, aunque mayor en el primer día (1.58, 1.07, 0.92 y 1.0 V; para el experimento 1, 2, 3 y 4, respectivamente). Lo anterior es confirmado debido a que el voltaje de una celda es una propiedad intensiva y no debería variar. Respecto a la densidad de corriente y la densidad de potencia, se observó que conforme pasaron los días estos valores fueron decreciendo. Se presentó un decremento considerable del día 1 al tercero, y menor del tercero al quinto, y del 5 día al 7 día. (0.528, 0.329,

0.286 y 0.139 mA cm⁻² y 0.148,

0.033, 0.025 y 0.017 mW cm⁻²; para el experimento 1, 2, 3 y 4, respectivamente).

Aun así, los valores obtenidos en voltaje, densidad de corriente y densidad de potencia en cada uno de los días, son mayores que los obtenidos por la celda de combustible donde fue usada como ánodo la levadura solamente centrifugada. Esta observación confirma totalmente que la inmovilización ayuda a que las levaduras tengan un mayor tiempo de vida, es decir

que puede llegar a aumentar la fase estacionaria o retrasar la fase de muerte de la levadura.

Descripción de levadura	Voltaje (V)	Densidad de corriente (mA cm ⁻²)	Densidad de potencia (mW cm ⁻²)
Centrifugada	0.67	0.027	0.0028
Inmovilizada (Exp. 1)	1.58	0.528	0.148
Inmovilizada (Exp. 2)	1.07	0.329	0.033
Inmovilizada (Exp. 3)	0.92	0.286	0.025
Inmovilizada (Exp. 4)	1.0	0.139	0.017

Tabla 1. Parámetros de desempeño de las celdas de combustible microfluidicas construidas en papel empleando *Saccharomyces cerevisiae* centrifugada e inmovilizada como ánodos y Pt/C como cátodo, y sangre humana como combustible; probadas cada dos días. (experimento 1, día 1; experimento 2, día 3; experimento 3, día 5; y experimento 4, día 7).

Agradecimientos

Los autores agradecen a CONACYT por el proyecto 513 de Cátedras CONACYT, así como al CONCYTEQ y la UTSJR por el proyecto de Nuevos Talentos 2021.

Referencias

Ahmad, Mashkoor, Shi Yingying, Amjad Nisar, Hongyu Sun, Wanci Shen, Miao Wei, and Jing Zhu. 2011. "Synthesis of Hierarchical Flower-like ZnO Nanostructures and Their Functionalization by Au Nanoparticles for Improved Photocatalytic and High Performance Li-Ion Battery Anodes." *J. Mater. Chem.* 21,

pp.7723–29. doi: 10.1039/C1JM10720H.

Aranda, Juan S., Edgar Salgado, and Patricia Taillandier. 2004. "Trehalose Accumulation in *Saccharomyces Cerevisiae* Cells: Experimental Data and Structured Modeling." *Biochemical Engineering Journal* 17(2), pp. 129–40. doi: [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(03\)00148-7](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(03)00148-7).

Dector, A., R. A. Escalona-Villalpando, D. Dector, V. Vallejo-Becerra, A. U. Chávez-Ramírez, L. G. Arriaga, and J. Ledesma-García. 2015. "Perspective Use of Direct Human Blood as an Energy Source in Air-Breathing Hybrid Microfluidic Fuel Cells." *Journal of Power Sources*, 288, pp. 70–75. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2015.04.089>.

Dector, A., J. Galindo-de-la-Rosa, D. M. Amaya-Cruz, A. Ortiz-Verdín, M. Guerra-Balcázar, J. M. Olivares-Ramírez, L. G. Arriaga, and J. Ledesma-García. 2017. "Towards Autonomous Lateral Flow Assays: Paper-Based Microfluidic Fuel Cell inside an HIV-Test Using a Blood Sample as Fuel." *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(46), pp. 27979–86. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.07.079>.

Dector, D., J. M. Olivares-Ramírez, V. M. Ovando-Medina, A. Sosa Dominguez, A. L. Villa, A. Duarte-Moller, J. P. Esquivel, N. Sabaté, and A. Dector. 2019. "Fabrication and Evaluation of a Passive SU8-Based Micro Direct Glucose Fuel Cell." *Microsystem Technologies*, 25(1), pp. 211–216.

Pereira, Patricia R., Cyntia S. Freitas, and Vania M. F. Paschoalin. 2021. "Saccharomyces Cerevisiae Biomass as a Source of Next-Generation Food Preservatives: Evaluating Potential Proteins as a Source of Antimicrobial Peptides." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(5), pp. 4450–79. doi: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12798>.

Siu, C., and M. Chiao. 2008. "A Microfabricated PDMS Microbial Fuel Cell." *Journal of Microelectromechanical Systems*, 17(6), pp. 1329–41. doi: 10.1109/JMEMS.2008.2006816.

Slaughter, Gymama, and Joshua Sunday. 2014. "A Membraneless Single Compartment Abiotic Glucose Fuel Cell." *Journal of Power Sources*, 261, pp. 332–36. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2014.03.090>.