|  |
| --- |
| PILA A COMBUSTIBILE MICROBICO (MFC) Scheda esperimento per studente-guida. *Esperimento progettato e realizzato da Dolci Alessandro, Gallarati Simone e Villa Daniele (5L)*. |
| **MATERIALI**   1. Due bottiglie di plastica con tappo sigillabile; 2. Raccordo a compressione con due cappucci; 3. Agar; 4. Cloruro di sodio; 5. Acqua; 6. Tessuto in fibra di carbonio semplice non impermeabile (20 cm x 20 cm); 7. Campione di acqua di stagno e fanghiglia (batteri); 8. Pennarello indelebile; 9. Pistola a colla a caldo (o qualsiasi materiale per saldatura); 10. Filo di rame; 11. Pinze per tagliare i fili metallici; 12. Cavi elettrici con pinze a coccodrillo per collegare i fili di rame al voltmetro; 13. Voltmetro; 14. Trapano; 15. Carta vetrata; 16. Pompa di un acquario per introdurre O2 nel compartimento catodico\*; 17. Carta d’alluminio; 18. Sacchetto di plastica; 19. Forbici; 20. Righello; 21. Glucosio o aceto. |
| **FINALITÀ**   * **Livello semplice**  1. Capire qual è la struttura e quali sono le parti che compongono una MFC a due camere e modello a “H” (realizzata in casa a livello dilettantistico); 2. Capire qual è l’azione svolta dai batteri nella cella anodica, perché è necessario che essa costituisca un ambiente anaerobico e che cosa avviene al catodo.  * **Livello avanzato**  1. Capire il funzionamento di un sistema bio-elettrochimico in cui gli elettroni vengono trasferiti da composti organici ad opera di microrganismi su un elettrodo per generare corrente; 2. Capire l’importanza dell’azione dei mediatori inorganici o dei batteri stessi sulla catena di trasporto degli elettroni (sono necessarie conoscenze di biochimica e respirazione cellulare). |
| **INDICAZIONI OPERATIVE(esperienza dimostrativa; struttura già realizzata)**  Questo modello di MFC consiste in due bottiglie/contenitori di plastica collegati assieme da un tubo contenente una soluzione elettrolita che permette il passaggio di ioni (H3O+) e tiene separato il substrato (riducente) dall’ossigeno (ossidante). Tale tubo costituisce il ponte salino, con agar e sali a elevata costante di dissociazione, e si realizza con un raccordo a compressione, formato da due cappucci (da limare con carta vetrata) e un tubo.     1. **Costruzione dei compartimenti anodico e catodico**. Forare alla stessa altezza i due contenitori di plastica (limarne la superficie con carta vetrata, segnare un punto con pennarello indelebile e righello, trapanare).      1. Realizzare in ognuno dei due coperchi un foro del diametro di 2 mm; in uno di essi (per la cella del catodo) fare un buco del diametro corrispondente a quello della pompa dell’acquario\*. 2. Attorno ad uno dei fori spalmare adesivo per plastica (colla a caldo) e attaccarvi il cappuccio del raccordo a compressione. Avvitare ad esso il tubo e il secondo cappuccio. Su quest’ultimo spalmare l’adesivo e incollarvi il secondo contenitore. 3. **Realizzazione del ponte salino**. Svitare il tubo dai cappucci e chiuderne un’estremità con carta d’alluminio. Metterlo su una piastra di Petri, in posizione verticale con l’estremità libera verso l’alto. Far bollire 300 ml di acqua mescolati con 30 g di agar e, una volta disciolto, aggiungervi 6 g di NaCl. Mentre la soluzione è ancora calda, versarla nel tubo; lasciarlo in frigorifero per una notte e conservarlo in un sacchetto di plastica sigillato fino all’uso. 4. **Realizzazione degli elettrodi\*\***. Tagliare il tessuto in fibra di carbonio in quadrati delle dimensioni di 5 cm x 5 cm. Tagliare un pezzo di filo di rame della lunghezza di almeno 20 cm e saldarlo lungo i lati del tessuto di C.      1. **Assemblaggio**. Collegare i due contenitori di plastica al ponte salino (contenente la soluzione di agar solidificata). Preparare una soluzione salina elettrolita da versare nella cella del catodo (6 cucchiai di sale in poco meno di 3 litri d’acqua). Al compartimento catodico, far passare il filo di rame attraverso il foro più piccolo e assicurarsi che l’elettrodo sia ben immerso nella soluzione; nel foro più grande inserire la pompa per l’acquario e far gorgogliare aria nella cella. Riempire metà del compartimento anodico con acqua e fango (ricco di batteri) prelevati da uno stagno; immergere il secondo elettrodo nel campione e far passare il filo di rame attraverso il foro nel tappo. Il buco deve essere poi occluso con la colla a caldo e bisogna evitare l’entrata di aria nella cella. Collegare i fili di rame al voltmetro attraverso i cavi con le pinze a coccodrillo e misurare la differenza di potenziale.   **Note:**   * L’acqua di stagno conterrà inizialmente sufficiente materiale organico che possa servire da nutrimento per i batteri, ma esso tenderà ad esaurirsi. Come fonte di energia per mantenere funzionante la MFC si può utilizzare glucosio o gocce d’aceto. * La potenza della pila può essere significativamente aumentata utilizzando un catalizzatore come il platino sul catodo o aggiungendo nella cella sostanze ossidanti come il ferricianuro o il permanganato di potassio. |
| **INTERPRETAZIONE (livello avanzato)**  Una **pila a combustibile microbico** (*microbial fuel cell*, *MFC*) è un sistema bio-elettrochimico che genera corrente convertendo energia chimica in energia elettrica tramite la reazione catalitica di microorganismi. Il modello qui proposto viene definito ad “H” in quanto è formato da due camere separate (anodica e catodica, le due bottiglie o contenitori in plastica) collegate da un tubo contenente l’elettrolita che permette solo il passaggio delle cariche ioniche (H3O+).  Le celle a combustibile microbiche differiscono dalle altre pile a combustibile poiché presentano l’elettrodo anodico o entrambi gli elettrodi colonizzati da microrganismi viventi: i batteri crescono su di essi formando un biofilm in grado di catalizzare le reazioni elettrochimiche e il passaggio di elettroni dal comparto anodico a quello catodico.  Nel comparto anodico, alimentato con un flusso continuo o intermittente di biomassa e in assenza di ossigeno, crescono e si sviluppano i batteri in grado di svolgere la degradazione totale delle sostanze organiche in CO2, ioni H+ ed elettroni e ̄. Le colonie di batteri anaerobici s’insediano e ricoprono l’elettrodo anodico (bioanodo), costituendo il biofilm all’interno del quale si compiono le reazioni di scissione delle molecole complesse.  **La respirazione cellulare e la catena di trasporto degli elettroni**  Arrivati all’ultima tappa del processo di combustione con cui le cellule ottengono energia, detto “respirazione cellulare”, gran parte dell’energia del glucosio (la molecola più utilizzata come combustibile nella respirazione) è rimasta negli elettroni rimossi dagli atomi di carbonio, che si trovano ad un livello energetico molto elevato. Attraverso la catena di trasporto degli elettroni queste particelle subatomiche vengono (in condizioni normali) trasferite all’ossigeno scendendo gradualmente a livelli sempre più bassi. I “gradini” di questa scala sono i citocromi (b, c, a e a3), molecole la cui struttura differisce abbastanza per poter ricevere gli elettroni a livelli di energia diversi, il flavin mononucleotide e il coenzima Q. Essi sono disposti in sequenza dentro la membrana interna dei mitocondri e formano tre complessi proteici che contengono i trasportatori e gli enzimi. L’energia liberata dalla “discesa” degli elettroni viene usata dai complessi proteici per “pompare” protoni nello spazio compreso tra le due membrane dei mitocondri, determinando un gradiente elettrochimico. Questo mette in moto l’ATP-sintetasi, un grosso complesso enzimatico, il cui compito è quello di sintetizzare ATP, il principale vettore energetico per tutte le reazioni anaboliche.    **Il funzionamento di una MFC**  Il funzionamento delle pile microbiologiche si basa sulla capacità dei batteri di trasferire gli elettroni prodotti dal metabolismo batterico all’anodo, “rubandoli” alla catena di trasporto. Questo deve avvenire in assenza di ossigeno, che normalmente, data la sua elevata elettronegatività, combinandosi con i protoni e gli elettroni, si riduce ad H2O.  Diversi sono i meccanismi di trasferimento:   * Nelle cellule elettrochimicamente inerti è necessario un mediatore inorganico (come il blu di metilene) che attraversa la membrana lipidica del mitocondrio e libera gli elettroni dalla catena di trasporto, riducendosi. Essi sono poi depositati su un elettrodo, che diventa l’anodo elettro-generatore (negativo). * Le pile senza mediatore usano batteri attivi elettrochimicamente per trasferire gli e– all’elettrodo. Il biofilm in crescita sugli anodi, costituito da complesse comunità di batteri, può utilizzare diversi meccanismi di trasferimento elettronico. * Direttamente per contatto tra l’elettrodo e speciali estrusioni della membrana cellulare aventi proprietà di semiconduttore (“*nanowires*”); * Tramite enzimi elettrotrasportatori presenti sulla membrana cellulare (citocromi) o rilasciati nella zona extracellulare; * Tramite la produzione di altri mediatori riducenti rilasciati in soluzione; * Tramite la produzione sulla membrana di biopolimeri conduttivi.   Gli elettroni così “conquistati” passano attraverso un circuito elettrico prima di arrivare al catodo, carico positivamente ed equivalente al pozzo di ossigeno alla fine della catena di trasporto, ma esterno alla cellula biologica. L’elettrodo è immerso in una soluzione elettrolita (agente ossidante) che raccoglie le particelle subatomiche. In caso di biocatodo, il biofilm catalizza il flusso di e– dall’elettrodo all’ossigeno. Mentre la corrente scorre grazie alla differenza di potenziale, la potenza viene generata direttamente dal biocarburante tramite l'attività catalitica dei batteri.  All’anodo di una MFC il metabolismo del glucosio produce stechiometricamente sei molecole di CO2, 24 ioni H+e 24 elettroni secondo la reazione C6H12O6 + 6H2O 6CO2 + 24H+ + 24e­–.Al catodo (aerobico) avviene la semi-reazione di scarica dell’ossigeno bilanciata in funzione del combustibile (nel caso del glucosio si producono 12 molecole di acqua: 6O2 + 24H+ + 24e–12H2O). A collegare le due celle vi è un tubo/ponte salino (che conferisce alla struttura una forma, appunto, ad “H”) in grado di far passare gli ioni dalla cella dell’anodo a quella del catodo. |

\* Mentre la cella dell’anodo deve essere sigillata e l’entrata di ossigeno deve essere impedita (si può degassificare l’acqua utilizzando azoto per dare ai batteri maggiore possibilità di riprodursi), il contenitore del catodo può essere lasciato scoperto. Questo permette all’O2 di entrare, ma non è necessario installare la pompa dell’acquario per aumentare l’areazione della soluzione salina.

\*\* I modi per costruire gli elettrodi sono numerosi e variegati. I materiali impiegati per la realizzazione dell’anodo devono essere conduttivi, biocompatibili e chimicamente stabili. Si possono usare anodi metallici consistenti in maglie di acciaio inossidabile, privo di stagno, mentre il rame non è indicato a causa della sua tossicità, anche in piccole tracce, per molti microrganismi viventi. Il materiale più versatile per la costruzione dell’elettrodo è però sicuramente il carbonio, disponibile sotto forma compatta di grafite in piatti, bacchette o granuli, oppure in forma fibrosa (feltro, tessuto, carta, fibre, schiume) o come carbonio vitreo.

Per quanto riguarda la cella catodica, l’ossigeno è la specie chimica ossidante più indicata per una MFC, grazie al suo elevato potere ossidativo, buona disponibilità, economicità e mancanza di prodotti chimici di scarto tossici. Il catodo può essere costituito da un semplice elettrodo sterile in lega nobile (a base platino, rutenio o altri metalli nobili) esposto all’aria, oppure da un “biocatodo” in metallo meno pregiato (come per esempio l’acciaio inossidabile), coperto da biofilm batterico aerobico.

|  |
| --- |
| **MFC SECONDO MODELLO: TRE PILE COLLEGATE IN SERIE/PARALLELO**  *Esperimento progettato e realizzato da Dolci Alessandro, Gallarati Simone e Villa Daniele (5L) per migliorare il modello precedentemente costruito.* |
| A seguito dei risultati parzialmente soddisfacenti della prima pila a combustibile microbico, descritta nella sovrastante scheda per studente-guida, è stato deciso di procedere alla costruzione di altre tre celle, di dimensioni inferiori, per poter aumentare il rendimento (voltaggio e amperaggio) e lavorare con più modelli e diversi parametri di riferimento, nonché per provare a collegare le tre strutture in serie e in parallelo.  Benché il procedimento di realizzazione delle singole pile ricalchi le indicazioni operative già presentate, sono state apportate alcune modifiche che saranno al centro di un più accurato studio da parte degli studenti progettisti. Queste comprendono:   * La sostituzione in due celle anodiche dell’acqua di stagno (carica biologica) con una soluzione di acqua e lievito (panetti da 25 g); * La sostituzione in due celle catodiche della soluzione elettrolita di acqua e sale con una soluzione di permanganato di potassio (KMnO4). Per aumentare il voltaggio delle pile si è poi sostituito anche il contenuto della terza cella con la nuova soluzione; * L’utilizzo di elettrodi di grafite (bacchette di carbonio).   **Nota:***per quanto si cercherà di mantenere le condizioni delle pile costanti durante l’esposizione di BergamoScienza per non arrecare confusioni agli studenti-guida, il lavoro dei tre studenti progettisti continuerà durante il mese di ottobre con eventuali variazioni, compresa una possibile sostituzione della carica organica in caso di esaurimento.* |
| **Indicazioni operative per la presentazione dell’esperimento**   * Durata della presentazione = massimo 5 minuti; * Numero di studenti-guida necessari = 1; * Alla strumentazione che costituisce le tre MFC sarà accompagnato un cartellone che permetterà una rapida e chiara visione complessiva da parte dei visitatori del funzionamento di una pila a combustibile microbico; * In seguito, un breve esempio di come potrebbe essere una presentazione semplice e simpatica delle MFC a un gruppo di bambini delle elementari:   *Ragazzi, secondo voi questo strano oggetto cos’è? [Possibili risposte]. Be’, questa, per quanto strano possa sembrare, è una pila. Anzi, addirittura tre pile! Non è strano vedere più pile messe insieme, no? Nel Game Boy ce ne sono almeno due, giusto? Eppure non assomigliano proprio a delle pile. Come sono le pile? [Possibili risposte: piccole, cilindriche, hanno un + e un –, s’inseriscono negli elettrodomestici, si portano in giro]. Effettivamente queste cose non sono piccole, però sono state preparate in casa con prodotti abbastanza facili da trovare e con un po’ di attenzione si possono trasportare. Inoltre, se le guardate bene, vedete che ci sono due parti, due contenitori. Forse un + e un –? Ma cosa c’è dentro? Ecco, la cosa più strana di queste pile è che funzionano con i batteri (sapete cosa sono, giusto?) E producono energia! Anzi, per essere più precisi, trasformano l’energia chimica dei batteri nell’acqua di stagno in energia elettrica. Come fanno? Rubano “qualcosa” che crea la corrente elettrica [gli elettroni, associati al processo di respirazione cellulare] ai batteri quando gli viene tolta l’aria. Perché, se notate, in questi contenitori sigillati non può entrare l’aria. Ma funzionano? Proviamo insieme! [Si accende l’utilizzatore o il tester e si dimostra la produzione di energia elettrica].*  In caso di studenti delle medie si può essere più espliciti nei riferimenti agli elettroni, mentre con gli alunni del liceo si può menzionare il processo di combustione della respirazione cellulare e il fatto che gli elettroni, sottratti agli atomi di carbonio, siano responsabili della produzione di energia negli organismi. |