

Bioprodução de Hidrogênio Utilizando Proteínas Artificiais Apo-reconstituídas com Porfirina de Níquel

Artur C. Souza¹, Fhysmélia F. de Albuquerque¹, Frank N. Crespilho¹,
Rodrigo M. Iost¹

¹Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos – SP

e-mail: artur.chagas@usp.br

Objetivos

Em um cenário de mudanças climáticas impulsionadas pela emissão de gases de efeito estufa, a produção do chamado “hidrogênio verde” vem ganhando grande relevância. Esse tipo de hidrogênio é gerado pela eletrólise da água, utilizando exclusivamente fontes renováveis de energia, e apresenta um enorme potencial para descarbonizar diversos setores da economia, desde a produção de fertilizantes até a aviação. No entanto, os catalisadores mais eficientes para a reação de evolução do hidrogênio (REH) são, predominantemente, à base de platina (Pt), um metal nobre de elevado custo. Isso ressalta a importância da pesquisa voltada para o desenvolvimento de catalisadores baseados em metais não nobres, com o objetivo de tornar o processo mais acessível e sustentável.

Assim, o estudo das enzimas da classe das hidrogenases torna-se relevante, pois essas metaloenzimas catalisam de forma eficiente a reação eletroquímica de formação de H₂, apresentando números de *turnover* (TON) elevados e cinética próxima à da catálise michaeliana, utilizando metais não nobres, como níquel (Ni) e ferro (Fe). Por outro lado, a sua aplicação é limitada pela desativação em altas temperaturas e pela sensibilidade ao oxigênio molecular, além de serem pouco disponíveis comercialmente, o que restringe o seu uso em aplicações industriais [1]. Embora a bioeletroquímica enzimática tradicionalmente utilize enzimas nativas [2-3], a incorporação de cofatores abiológicos, como porfirinas de níquel (NiOEP), em proteínas artificiais apresenta uma estratégia promissora para superar essas limitações. O uso de níquel é especialmente relevante por ser um metal não nobre e naturalmente presente em algumas hidrogenases.

Em um trabalho recente, o nosso grupo de

pesquisa demonstrou recentemente que proteínas artificiais apo-reconstituídas podem ser utilizadas como bioeletrocatalisadores com propriedades superiores quando comparados à classe das hidrogenases nativas [1]. Assim, esse projeto de iniciação científica teve como objetivo utilizar a capacidade proporcionada pela biologia sintética com o objetivo de desenvolver sistemas híbridos de [1→4]-β-D-Galactopiranosil-(1→3)-α-L-3,6-Anidrogalactopiranosose (agarose) e NiOEP, imobilizadas em eletrodos de carbono de alta densidade de borda (HEDGE, *high-edge-density graphite electrode*). Posteriormente será realizada a conjugação da NiOEP em apoproteínas para avaliar a performance das proteínas sintéticas do tipo Apo-NiOEP.

Métodos e procedimentos

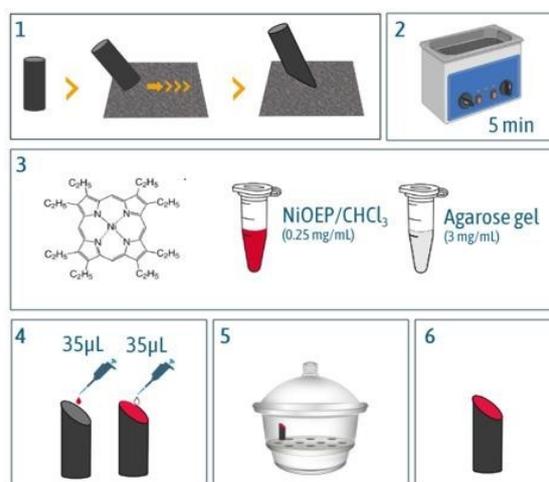


Figura 1: Representação esquemática da fabricação dos bioeletrodos (etapas 1 - 6).

A preparação foram realizados modificando eletrodos HEDGE com agarose e NiOEP. O procedimento experimental teve como etapas:

1) o polimento mecânico dos eletrodos; 2) a limpeza ultrassônica por 5 minutos; 3) o preparo das soluções de NiOEP em clorofórmio (CHCl_3) e agarose; 4) a deposição sequencial da solução de NiOEP e gel de agarose, e; 5) a secagem dos eletrodos em dessecador por 24 horas. A configuração do eletrodo obtida foi HEDGE/Agarose-NiOEP (6). (Figura 1).

Foram realizados os experimentos de voltametria cíclica comparando o eletrodo HEDGE com o eletrodo modificado com Agarose/NiOEP e também de espectrometria de massas diferencial eletroquímica (DEMS) *online* comparando eletrodo de papel de carbono com o eletrodo de papel de carbono modificado com Agarose-NiOEP.

Resultados

Os voltamogramas cíclicos da figura 2 demonstram que o sistema HEDGE/Agarose-NiOEP apresenta uma clara atividade para a REH, com a redução do potencial de início da reação (*onset*) de -630 mV para -567 mV (vs. Ag/AgCl) a 25°C. O potencial termodinâmico da reação neste pH é de -400 mV (vs. Ag/AgCl).

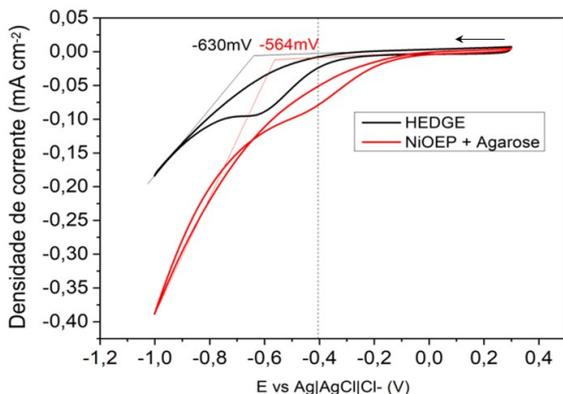


Figura 2: Voltametria cíclica do eletrodo HEDGE/Agarose (preto) e do eletrodo de configuração (HEDGE/Agarose-NiOEP) (vermelho). Os dois voltamogramas mostram as indicações dos potenciais de *onset* para a REH. Eletrólito suporte: tampão acetato de sódio 0,1 mol L⁻¹, pH 3.4. concentração de NiOEP depositada sobre o eletrodo: 0.25 mg mL⁻¹.

O gráfico de corrente iônica *versus* tempo obtido a partir do experimento de DEMS (Figura 3) evidencia que com a aplicação de potenciais progressivamente mais negativos (-0.5, -1.0, -1.5 e -2.0V vs Ag|AgCl) há produção de hidrogênio ($m/z = 2$), com maior intensidade em relação ao papel de carbono não modificado. Vale ressaltar o sinal foi observado mesmo para um eletrodo foi modificado com uma solução altamente diluída (0,029 mg mL⁻¹).

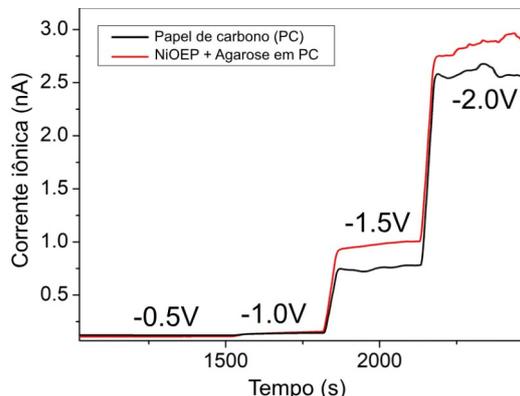


Figura 3: DEMS do eletrodo de papel de carbono (preto) e do eletrodo de papel de carbono modificado com Agarose-NiOEP (vermelho). O gráfico de corrente iônica vs. tempo mostra a evolução da REH com os potenciais aplicados de -0,5 V, -1 V, -1,5 V e -2 V (vs. Ag/AgCl). Eletrólito suporte: tampão acetato de sódio 0,1 mol L⁻¹, pH 3.4. concentração de NiOEP depositada sobre o eletrodo: 0.25 mg mL⁻¹.

Conclusões

Essa primeira etapa do trabalho mostrou que o sistema HEDGE/Agarose-NiOEP é um bioeletrocatalisador eficaz para a REH, mostrando maior densidade de corrente e diminuição do sobrepotencial de *onset* em relação aos eletrodos não modificados com a NiOEP. Como próximas etapas do trabalho, serão realizadas a apo-reconstituição de uma apoproteína nativa ("casca" proteica) com a porfirina de NiOEP e as caracterizações espectroscópicas e medidas eletroquímicas referentes à REH, comparando-as às enzimas da classe das hidrogenases.

Agradecimentos

À FAPESP (2023/10667-4) pela bolsa de iniciação científica (2024/14690-3) concedida e pelo apoio à infraestrutura do laboratório.

Referências

- [1] IOST, R. M.; RADHAKRISHNAN, V.; NASCIMENTO, S. Q.; LIMA, F. H. B.; CRESPILO, F. N. *Hydrogen Bioelectrogenation with pH-Resilient Oxygen-Tolerant Cobalt Apoenzyme-Saccharide*. **Chemical Communications**, 60, p.2509-2511, 2024.
- [2] MACEDO, L. J. A.; HASSAN, A.; SEDENHO, G. C.; CRESPILO, F. N. *Assessing electron transfer reactions and catalysis in multicopper oxidases with operando X-ray absorption spectroscopy*. **Nature Communications**, v.11, n. 316, 2020.
- [3] SEDENHO, G.C.; COLOMBO, R. N.; IOST, R. M.; LIMA, F. C. D. A.; CRESPILO, F. N. *Exploring electron transfer: Bioinspired, biomimetics, and bioelectrochemical systems for sustainable energy and Value-added compound synthesis*. **Applied Physics Reviews**, 11, 021341, 2024.