



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
CURSO DE CIÊNCIAS AMBIENTAIS

RÉGIA LEILIANA SOUZA OLIVEIRA

PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS NA MICROBIOTA DE SOLOS COM
CAPACIDADE DE PRODUÇÃO DE ENERGIA

FORTALEZA

2019

RÉGIA LEILIANA SOUZA OLIVEIRA

PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS NA MICROBIOTA DE SOLOS COM CAPACIDADE
DE PRODUÇÃO DE ENERGIA

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Ambientais.

Orientadora: Prof^a. Dra^a. Oscarina Viana de Sousa.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na
Publicação Universidade
Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O51p Oliveira, Régia Leiliana Souza.
PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS NA MICROBIOTA DE SOLOS COM CAPACIDADE DE PRODUÇÃO
DE ENERGIA / Régia Leiliana Souza Oliveira. – 2019.
64 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do
Mar, Curso de Ciências Ambientais, Fortaleza, 2019.
Orientação: Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa.

1. Biobateria. 2. Eletromicrobiologia. 3. Microbiota de solo. I. Título.

CDD 333.7

RÉGIA LEILIANA SOUZA OLIVEIRA

PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS NA MICROBIOTA DE SOLOS COM CAPACIDADE
DE PRODUÇÃO DE ENERGIA

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Ambientais.

Orientadora: Prof^a. Dra^a. Oscarina Viana de Sousa.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Oscarina Viana de Sousa (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Ms. Anna Luisa de Carvalho Brito
Universidade Federal do Ceará (UFC)

À Deus.

À minha família, em especial à minha mãe.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, em especial a minha amada mãe, Maria do Socorro Souza Oliveira (*in memorian*) por todo o apoio e dedicação, pelo empenho, por investir nos meus sonhos, e me auxiliar durante todo o processo da minha formação acadêmica e profissional, sendo um modelo de pessoa na qual eu procuro me espelhar.

Ao meu pai, Arnaldo da Silva Oliveira por seu apoio e por investir na minha educação. Aos meus amados, lindos e maravilhosos irmãos, Herberon Oliveira, Raquel Oliveira, Matheus Oliveira e Pérola Alves (Prima/irmã) por crescerem junto comigo, contribuindo no meu desenvolvimento, nos meus sonhos e nas minhas conquistas. Obrigado pelas brincadeiras, pelos conselhos, por sempre me apoiarem e me prestarem suporte, por me darem forças e serem um exemplo de união, tenho orgulho dos homens e mulheres que vocês se tornaram. Muito obrigado acima de tudo por serem um pedacinho da nossa mãe, com as qualidades, manias e os sorrisos, que fazem cada um de vocês mais que especiais, obrigado por serem minha maior dádiva, sou grata à Deus pela existência de vocês.

Agradeço a Professora Dr^a Oscarina Viana de Sousa, por toda a paciência, confiança e apoio prestados a mim. Obrigada por me apoiar sempre, não só no âmbito acadêmico, obrigado pelas conversas, pela motivação e por não me deixar desistir. Sou grata pela confiança em mim depositada, por todas as oportunidades concedidas e expansão de conhecimento, por ser um espelho não somente como profissional, mas como ser humano também.

À equipe do Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP) por toda ajuda, por serem tão acessíveis, sempre dispostos a ensinar, a ouvir e orientar, sempre com muito carinho e paciência. Agradeço pelas conversas descontraídas, pelas risadas, pelos momentos de “aperreio”, pelos meios de cultura e materiais autoclavados emprestados, pelas mãos amigas dispostas a ajudar na bancada e pelos olhos que ajudam a tirar dúvidas no microscópio óptico, sem dúvidas estes momentos com a família (LAMAP) contribuíram para a pessoa que eu sou hoje e para o desenvolvimento deste trabalho.

À Anna Luisa por toda ajuda e paciência ao me ajudar na bancada e com os cálculos, por me ouvir e dar sugestões. Sem dúvidas, sua ajuda foi fundamental para minha

pesquisa. As companheiras de laboratório Jade e Lulu (Jéssica Lucinda), pela disposição em ensinar e compartilhar suas experiências acadêmicas.

À Cris (Fátima Cristiane Teles de Carvalho), pelos momentos de preocupação para comigo, por me guiar, corrigir, auxiliar e ajudar em cada momento. Obrigada pela experiência compartilhada, pelas risadas, as dicas, os elogios, e “carões”, que sem dúvidas me fizeram crescer.

Ao meu amigo Matheus Maia, por estar sempre comigo, cooperando com a realização do meu experimento, pelas noites em claro me auxiliando na escrita deste trabalho, dando dicas, risadas, tornando minhas noites menos cansativas e mais descontraídas e produtivas, sendo sua colaboração para o meu trabalho de grande relevância e primordial.

À Marina (Marina Teresa Torres Rodriguez), por me auxiliar durante a pesquisa, tirando minhas dúvidas, compartilhando conhecimento, me ajudando a tomar as melhores decisões para a realização desta pesquisa, pela paciência e disposição em ensinar. Obrigada por ter contribuído grandemente com a realização deste trabalho.

Aos meus amados amigos Rafael, Lucas, Débora, Vanessa e Leninha pelos momentos de descontração, risadas, brincadeiras, trabalhos, experiências, conhecimento. Em especial aos meus amigos e companheiros de laboratório Vitória, Álef e Elizi, por toda a ajuda na bancada, por compartilhar os problemas e reclamar juntos, pelas brincadeiras e risadas enquanto lavávamos vidrarias, tornando minha rotina mais leve. Muito obrigado!

A minha melhor amiga e companheira de todas as horas Mariana, por estar sempre disposta a me ouvir, por me aconselhar, não me deixar desistir, me apoiar, pelas noites que me fez companhia mesmo distante, me mantendo acordada para que eu conseguisse produzir o trabalho.

Agradeço a Universidade Federal do Ceará (UFC) por todas as oportunidades ao longo da minha formação, adquirindo conhecimento, conhecendo novos lugares, pessoas e pelas experiências que mudaram minha vida.

“Há uma força motriz mais poderosa que o vapor, a eletricidade e a energia atômica: a vontade”

Albert Einstein

RESUMO

A busca por meios de energia sustentável, tem aumentado nas últimas décadas, objetivando diminuir os impactos causados no processo produtivo e ainda, na destinação incorreta de resíduos, como os gerados por pilhas e baterias. A demanda destas fontes de energia é muito alta, visto o acelerado desenvolvimento tecnológico, e assim, são facilmente substituídas, já que seu tempo de vida útil é curto, sendo descartados rapidamente. Quando estes materiais são dispostos de forma incorreta, geram uma série de problemas ambientais e riscos para a saúde humana, por serem considerados tóxicos, já que são compostos de metais pesados. Diante disto, o desenvolvimento de alternativas biotecnológicas sustentáveis que utilizam microrganismos para produção de energia, permitem a substituição de pilhas e baterias, reduzindo a geração desses resíduos, bem como, os problemas ambientais causados pelos mesmos. Esse trabalho teve por objetivo a análise do potencial energético de bactérias do solo do Manguezal e do Semiárido, através da construção de um sistema de biobateria, composto por consórcios bacterianos. A partir das amostras de solo dos diferentes ecossistemas, foram selecionadas estirpes de quatro grupos bacterianos, sendo 10 bactérias catódicas do Manguezal (Mcat), 10 anódicas do Manguezal (Man), 10 catódicas do Semiárido (Scat) e 10 anódicas do Semiárido (San), totalizando 40 estirpes bacterianas. As estirpes foram submetidas à coloração de gram, teste de aderência em vidro, teste de produção de gás em placa e teste de antagonismo bacteriano. A construção dos consórcios bacterianos para a montagem do sistema, se deu por meio dos resultados dos testes de antagonismo e de aderência em vidro. Foram eleitos quatro consórcios, um de cada grupo bacteriano, para compor o sistema de biobateria. Os resultados mostram que as bactérias apresentaram capacidade de produção de energia, mas ainda são necessários mais estudos e experimentos laboratoriais para otimizar e estabilizar a produção.

Palavras-chave: Biobateria. Eletromicrobiologia. Microbiota de solo.

ABSTRACT

The search for sustainable energy means has increased in the last decades, aiming to reduce the impacts caused in the production process and also, in the incorrect destination of waste, among these, are the batteries. The demand for these energy sources is very high, given the accelerated technological development, and thus, they are easily replaced, since their useful life is short, being discarded quickly. When these materials are incorrectly disposed, they generate a series of environmental problems and risks to human health, since they are considered toxic composed of heavy metals. Therefore, the development of sustainable biotechnological alternatives that use microorganisms for energy production, allows to solve the problems of efficiency, avoiding the generation of these residues, as well as the environmental problems caused by them. The objective of this work was to analyze the energy potential of soil bacteria from the Mangrove and Semi - arid, through the construction of the biobattery system, composed of bacterial consortia. Strains of four bacterial groups were used: 10 cathodic bacteria from the Manguezal (Mcat), 10 anode Manguezal (Man), 10 cathodic from the Semi-Arid (Scat) and 10 anodic from the Semi-Arid (San), totalizing 40 bacterial strains. The strains were subjected to gram staining, glass adhesion test, plaque gas test and bacterial antagonism test, as criteria for the formation of microbial consortia. The construction of the bacterial consortiums for the assembly of the system was done by means of the previous results of the test of antagonism and test of adhesion in glass. Four consortia were chosen, one from each bacterial group, to compose the biobattery system. The results show that the bacteria presented capacity of energy production, but more studies and laboratory experiments are still needed to optimize the production.

Keywords: Biobattery. Eletromicrobiology. Soil Microbiota.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Fluxograma do processamento das amostras.....	30
Figura 2	– Fluxograma do plaqueamento das amostras.....	31
Figura 3	– Fluxograma do teste de antagonismo.....	33
Figura 4	– Fluxograma do Teste de aderência em vidro.....	35
Figura 5	– Esquema representativo do funcionamento de uma biobateria em meio líquido.....	36
Figura 6a	– Pastilhas de NaOH.....	38
Figura 6b	– Pastilhas de (Mct, NaOH e San) empilhadas.....	38
Figura 7	– Teste de antagonismo pela técnica de estrias cruzadas.....	42
Figura 8	– Resultado positivo para o teste de aderência ao vidro.....	49
Figura 9	–Estirpe (Mcat 03) visualizada em microscópio óptico.....	49
Figura 10a	– Inóculos dos consórcios de Mcat e Man em caldo MFC.....	52
Figura 10b	– Inóculos dos consórcios de Scat e San em caldo MFC.....	52
Figura 11	– Eletrodos de cobre e alumínio imersos em caldo MFC sem inóculos bacterianos	52
Figura 12	– Sistema composto pelos consórcios Mcat e San.....	53
Figura 13	– Consórcio de San em ágar MFC	56
Figura 14	– Medição do sistema de biobateria em meio sólido.....	57

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1– Distribuição percentual de isolados bacterianos originários do solo de Manguezal e do Semiárido quanto às características de morfologia e composição de parede celular. 41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Componentes químicos primários de pilhas e baterias.....	25
Tabela 2– Densidade populacional das bactérias catódicas e anódicas isoladas de solo de Manguezal e de Semiárido, respectivamente.	39
Tabela 3– Caracterização morfotintorial das estirpes bacterianas isoladas de solo de Manguezal e de Semiárido de acordo com a afinidade pelos eletrodos catódicos e anódicos (cobre e alumínio).	40
Tabela 4 – Resultado da 1ª etapa do teste de antagonismos entre as estirpes Manguezal cátodo (Mcat) e Semiárido cátodo (Scat).	43
Tabela 5 – Resultado da 2ª etapa do teste de antagonismos entre as estirpes Manguezal ânodo (Man) e Semiárido ânodo (San).	44
Tabela 6 - Resultado da 3ª etapa do teste de antagonismos entre as estirpes Manguezal cátodo (Mcat) e Manguezal ânodo (Man).	45
Tabela 7 – Resultado da 4ª etapa do teste de antagonismos entre as estirpes Semiárido cátodo (Scat) e Semiárido ânodo (San).....	46
Tabela 8 – Consórcios formados relacionando as 4 etapas de testes de antagonismo.	47
Tabela 9 – Resultado do teste de aderência a superfície do vidro.....	50
Tabela 10 – Consórcios eleitos para a composição da biobateria em meio líquido.	51
Tabela 11 - Sistemas formados pela combinação de pares de consórcio e suas respectivas produções de energia.	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABINEE	Associação Brasileira da Indústria Elétrica e Eletroeletrônica
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
AFC	Célula de Combustível Alcalina
PAFC	Célula de Combustível de Ácido Fosfórico
PEMFC	Célula De Combustível De Membrana Trocadora De Prótons
SOFC	Célula De Combustível De Óxido Sólido
DEFC	Célula De Combustível Direta De Etanol
DMFC	Célula De Combustível Direta De Metanol
MFC	Célula De Combustível Microbiana
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
LAMAP	Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado
Man	Manguezal ânodo
Mcat	Manguezal cátodo
MFC	<i>Microbial Fuel Cells</i>
PNRS	Política Nacional de Resíduos Sólidos
RPM	Rotação por Minuto
sc	Sem Crescimento no Caldo
San	Semiárido ânodo
Scat	Semiárido cátodo
TAV	Teste de Aderência a superfície de Vidro
TSA	<i>Trypticase Soy Agar</i>
UFC	Unidade Formadora de Colônia

LISTA DE SÍMBOLOS

N₂ Gás nitrogênio

% Porcentagem

g Gramas

L Litros

h Horas

mL Mililitros

°C Graus Celsius

cm Centímetros

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2.1 Objetivo Geral	20
2.2 Objetivos específicos	20
3 REFERENCIAL TEÓRICO	21
3.1 Solos	21
3.2 Atividade Microbiana nos solos	21
3.3 Manguezal	23
3.4 Semiárido	24
3.5 Pilhas e Baterias	24
3.6 Célula de combustível microbiana	27
4 METODOLOGIA	29
4.1 Preparo de soluções e meios de cultura	29
4.2 Coleta e processamento da amostra	29
4.2.1 Extração	29
4.2.2 Quantificação e Isolamento das Bactérias (Mcat, Man, Scat, San)	30
4.3 Caracterização morfotintorial dos isolados	32
4.4 Teste de Antagonismo Bacteriano <i>in vitro</i>	32
4.5 Teste de aderência a superfície do vidro (TAV)	34
4.6 Formação dos consórcios e inóculo em caldo MFC	35
4.6.1 Construção do sistema de biobateria em meio líquido	35
4.7 Teste de Produção de Gás em placa	37
4.8 Construção do sistema de biobateria em meio sólido	37
5.1 Contagem padrão em placas	39
5.3 Teste de Antagonismo <i>in vitro</i>	42
5.4 Teste de aderência a superfície do vidro (TAV)	48
5.5 Formação dos consórcios e inóculo em caldo MFC	51
5.6 Construção do sistema de biobateria em meio líquido	52
5.7 Teste de produção de gás em placa	55

5.8 Sistema de biobateria em meio sólido	56
6 CONCLUSÃO.....	58
REFERÊNCIAS	59

1 INTRODUÇÃO

A busca pela sustentabilidade nos meios de geração de energia tem aumentado nas últimas décadas visando reduzir impactos ambientais negativos causados durante o processo produtivo. Contudo, o problema não se limita ao processo produtivo; com o acelerado desenvolvimento tecnológico ocorre também o aumento do uso e compra de aparelhos eletroeletrônicos, que necessitam de energia para seu funcionamento, utilizando algum tipo de bateria geralmente recarregável, como fonte de fornecimento (SCHNEIDER, 2011), o que faz com que a demanda de pilhas e baterias seja proporcional, ou até mesmo maior, ao consumo desses aparelhos.

Esses materiais apresentam curto tempo de vida útil, alta demanda de substituição e, conseqüentemente, desempenham grande influência na geração de resíduos eletroeletrônicos. Quando dispostos de maneira inadequada no meio ambiente, visto a carência de alternativas de descarte em locais corretos e a falta de informação da população, podem resultar numa série de problemas ambientais como contaminação de solos por infiltração (percolando para águas subterrâneas e rios). As baterias são consideradas altamente tóxicas no ambiente por serem constituídas de metais pesados como mercúrio, chumbo, cádmio, níquel, entre outros (AFONSO, 2003; FAGUNDES, 2017; KEMERICH *et al.*, 2012).

Diante desse cenário, tem crescido o desenvolvimento de alternativas biotecnológicas sustentáveis que utilizam microrganismos para produção de energia. Dentre as principais inovações, destacam-se as células de combustível microbianas (MFCs), que utilizam as capacidades bio-catalíticas de microrganismos viáveis para converter energia armazenada nas ligações químicas e gerar uma corrente elétrica, apresentam baixa emissão de poluentes, químicos e sonoros, boa eficiência e alta densidade de energia (GHANGREKAR; SHINDE, 2006; MERLE; WESSLING; NIJMEIJER, 2011; VAGHARI; JAFARIZADEH-MALMIRI; ANARJAN, 2013).

Dentre as técnicas desenvolvidas, a criação de biobaterias que fazem uso de bactérias como fontes para geração de energia elétrica, apresenta-se como potencial alternativa para redução tanto de problemas ambientais, quanto para os problemas de

eficiência relacionados às baterias convencionais, uma vez que as bactérias possuem um ciclo de vida longo, podendo existir enquanto os nutrientes estiverem disponíveis no meio.

As bactérias como possíveis produtoras de energia são o foco principal desta pesquisa. Pretende-se realizar a prospecção de bactérias do solo de manguezal e do solo do semiárido brasileiro, como potenciais produtoras de energia, comparando a maior eficiência em cada um dos casos, analisando seu potencial energético, como base para o desenvolvimento de tecnologia alternativa ambientalmente sustentável aos dispositivos comumente utilizados.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar o potencial energético das bactérias do solo do Manguezal e do solo do Semiárido, como base para tecnologia alternativa sustentável e eficiente de produção de energia.

2.2 Objetivos específicos

- Selecionar bactérias com capacidade de produção de energia;
- Montar consórcios bacterianos com capacidade de produção de energia;
- Desenvolver um modelo de biobateria como fonte alternativa de energia sustentável aos dispositivos comuns utilizados.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Solos

O solo desenvolve-se por meio de interações complexas entre o material parental (rochas, areia, aluviões glaciais, e assim por diante), a topografia, o clima e os organismos vivos, sendo formados no decorrer dos anos por uma série de combinações de processos químicos, físicos e biológicos. A composição do solo se dá por, pelo menos, cinco elementos básicos: minerais (40%), matéria orgânica (5%), macro e microorganismos vivos (5%) e ar e água (50%) (MADIGAN, 2016).

Os processos bioquímicos de intemperismo são aprimorados pela presença de água, oxigênio e dos compostos orgânicos resultantes da atividade biológica. Os processos físico-químicos que convertem rochas, como feldspatos e micas, em partículas minerais menores, como argila, juntamente com a perda de nutrientes das plantas, iniciam o processo de formação dos solos. Durante os estágios iniciais de formação dos solos, há deficiência de dois nutrientes principais, carbono e nitrogênio, por isso, os colonizadores primários do material parental do solo são geralmente organismos com capacidade de fotossintetizar e fixar nitrogênio, esses, são predominantemente as cianobactérias (PAUL; CLARK, 2007).

Assim, a vegetação primária possui associação com organismos do solo, como os fungos, vivendo em simbiose, para ajudar na absorção de nutrientes e água. Após o estabelecimento da vegetação, os processos contínuos no solo constituem uma dinâmica de vida e morte das células, concentração de matéria orgânica no solo, e partículas minerais em pequenos tamanhos, suficientes para permitir íntimas interações coloidais características do solo (PAUL; CLARK, 2007).

3.2 Atividade Microbiana nos solos

O solo é um habitat complexo que apresenta na visão microbiológica, numerosos microambientes e nichos. Nele a atividade microbiana é influenciada por diversos fatores, muitas vezes limitantes, que caracterizam cada tipo de solo de acordo com o ambiente e

processos que o constitui. Os solos são a principal fonte de nutrientes e minerais para microorganismos, uma vez que são sumidouros de materiais mortos, como plantas e animais; enriquecendo as populações microbianas dotadas da capacidade de degradar compostos orgânicos disponíveis em seu meio (DUBEY; TRIPATHI; UPADHYAY, 2006).

Além dos constituintes minerais do solo, existem muitos organismos que nele habitam e que podem contribuir para sua formação e funcionamento. O solo constitui-se de um corpo organizado, que provavelmente contém o maior número de indivíduos e maior diversidade que qualquer outro habitat ou ecossistema (MARTINS [201-]). A fração biológica é composta, predominantemente, por microorganismos (bactérias e fungos), além de minhocas, insetos e nematoides (LEITE; ARAÚJO, 2007).

O solo representa um ecossistema complexo, no qual os microorganismos presentes adaptam-se a micro habitats e vivem juntos em consórcios, interagindo entre si e com o ambiente. A diversidade microbiana é imprescindível para o funcionamento do ecossistema, uma vez que os microorganismos presentes no solo, são responsáveis por diversos processos geoquímicos, decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e energia (incluindo a fixação de nitrogênio atmosférico), liberação de nutrientes em formas disponíveis às plantas e degradação de substâncias tóxicas. Os microorganismos promovem ainda, associações simbióticas com raízes de plantas, atuam no controle biológico de patógenos, e influenciam na solubilização de minerais e contribuem para a estruturação e agregação do solo (DUBEY; TRIPATHI; UPADHYAY, 2006; LEITE; ARAÚJO, 2007; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A diversidade de populações microbianas indica que elas se beneficiam de qualquer nicho encontrado em seu ambiente. Diferentes quantidades de nutrientes, de oxigênio, e luz podem existir em poucos milímetros de solo (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). A presença de um microorganismo no solo é determinada por fatores que limitam sua sobrevivência, atividades, bem como sua distribuição (LEITE; ARAÚJO, 2007). O sucesso de um organismo em qualquer *habitat* é função da extensão e da rapidez de suas respostas fisiológicas às condições ambientais predominantes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

3.3 Manguezal

Os manguezais consistem em ecossistemas de transição entre os ambientes terrestre e marinho, ocorrendo nas faixas tropicais e subtropicais, apresentando um gradiente de salinidade entre a água doce dos rios e a água salgada dos mares, ocorrendo variação dependendo das condições de marés, enchentes e vazantes (GERLING, *et al.*, 2016).

A grande riqueza biológica desse ecossistema, o torna um grande berçário natural, tanto para as espécies residentes, como peixes, quanto para espécies migratórias, que visitam o ecossistema em pelo menos uma fase do ciclo de vida (SCHAEFFER-NOVELLI, 2000). Este ecossistema possui extrema importância ecológica, desempenhando diversas funções como: exportador de matéria orgânica para o estuário; contribui para a produtividade da zona costeira, pois possui solos ricos em nutrientes (com alta concentração de matéria orgânica), proporcionado alimento para uma extensa cadeia alimentar; é um local onde várias espécies encontram as condições ideais para reprodução, berçário, criadouro e abrigo de sua prole; sua vegetação impede a erosão e estabiliza a costa; e suas raízes atuam como filtro para a retenção de sedimentos.

Nos solos do mangue ocorrem altas taxas de decomposição. Quando as plantas morrem seus restos são adicionados ao solo bruto, transformando-se em nutrientes que permitem um desenvolvimento microbiano mais intenso (MADIGAN *et al.*, 2016).

Em ecossistemas de manguezais ocorrem altas taxas de fixação de N₂, associadas a presença de folhas mortas e em decomposição, pneumatóforos, rizosfera e biofilmes de cianobactérias que cobrem a superfície do sedimento, bem como os próprios sedimentos (HOLGUIN; VAZQUEZ; BASHAN, 2001).

Os microrganismos em solo de manguezal estão estimados da seguinte forma: bactérias e fungos representam cerca de 91% da microbiota total, enquanto algas e protozoários constituem somente 7 e 2 %, respectivamente. Os microrganismos de solo executam funções cruciais no ecossistema manguezal, uma vez que atuam em vários passos da decomposição e mineralização de serrapilheira, sendo imprescindível sua contribuição para a produtividade desse ecossistema (HOLGUIN; VAZQUEZ; BASHAN, 2001; LIANG *et al.*, 2007).

3.4 Semiárido

O semiárido trata-se de uma região com características que se aproximam da aridez, a causa disso se deve especialmente ao modo de exploração antropogênica da terra que a tornam deserta ou árida, ao desmatamento, às práticas predatórias em rios e com a terra, as queimadas, a contaminação de solos por agrotóxicos, todos esses fatores aliados à escassez de chuva na região e ao limitado sistema de armazenamento de água da chuva (BAPTISTA; CAMPOS, 2013).

O semiárido brasileiro possui natureza rica e diversa. A maior parte do território do semiárido é ocupada pela caatinga, que é um bioma exclusivamente brasileiro, sua vegetação é constituída principalmente por espécies lenhosas, cactáceas, bromeliáceas e pequenas herbáceas, e caducifólias (BAPTISTA, [201-]). A maioria das espécies florísticas da caatinga, possuem características xerofíticas, sobrevivendo em condições de aridez, sendo adaptadas às secas, e variam dependendo do regime de chuva e do tipo de solo. As adaptações englobam, desde folhas reduzidas ou modificadas, apresentando espinhos para reduzir sua transpiração, queda das folhas durante a estação seca (caducifólias), sistema de armazenamento de água modificado nas raízes e no caule, e presença de raízes profundas para absorção de água do solo (SUÇUARANA, [201-]).

3.5 Pilhas e Baterias

Pilha, ou célula eletroquímica, é um dispositivo constituído unicamente por dois eletrodos e um eletrólito, arrançados de maneira a produzir energia elétrica. Quando estas células são ligadas em série ou em paralelo, ou ainda através da combinação de ambas, originam a bateria, ou seja, uma bateria é o conjunto do agrupamento de pilhas. Nestes sistemas, o fornecimento de energia elétrica ocorre através de reações eletroquímicas, havendo conversão de energia química em energia elétrica (BOCCHI; FERRACIN; BIAGGIO, 2000; SCHNEIDER, 2011).

Cada célula é formada por dois eletrodos, sendo um ânodo, que constitui o pólo negativo, e um cátodo, que constitui o pólo positivo, separados por um eletrólito. Durante a

fase de descarga (fornecimento de energia elétrica) o ânodo libera elétrons para o circuito, pela oxidação, enquanto o cátodo recebe elétrons do circuito, pela redução (SCHNEIDER, 2011). Os eletrodos são constituídos de uma variedade de metais, potencialmente perigosos, que são os metais pesados. Já os eletrólitos, podem ser ácidos ou básicos, variando de acordo com o tipo de pilha (WOLFF, 2001). O eletrólito pode ser líquido, sólido ou pastoso, mas sempre deverá ser um condutor iônico (BOCCHI; FERRACIN; BIAGGIO, 2000). Os materiais que compõem os eletrodos e eletrólitos encontrados nas pilhas e baterias, estão listados na tabela 1.

Tabela 1– Componentes químicos primários de pilhas e baterias.

Tipo de bateria	Cátodo	Ânodo	Eletrólito
Alcalina	Dióxido de manganês	Zinco	Hidróxido de potássio e/ou de sódio
Zinco-carbono	Dióxido de manganês	Zinco	Amônia e/ou cloreto de zinco
Mercúrio	Óxido de mercúrio	Zinco	Hidróxido de potássio e/ou de sódio
Zinco-ar	Oxigênio	Zinco	Hidróxido de potássio
Prata	Óxido de prata	Zinco	Hidróxido de potássio e/ou de sódio
Lítio	Vários óxidos metálicos	Lítio	Solventes orgânicos e/ou soluções salinas
Níquel-cádmio (recarregável)	Óxido de níquel	Cádmio	Hidróxido de potássio e/ou de sódio

Fonte: WOLFF, 2001.

Na última década, com a proliferação de aparelhos eletroeletrônicos portáteis, como: brinquedos, relógios, celular, lanternas, jogos, computadores, aparelhos de som, instrumentos de medição de aferição, equipamentos médicos etc; a demanda por pilhas e baterias tem aumentado, visando atender as necessidades do mercado, fabricando baterias cada vez menores, mais leves e com melhor desempenho, existindo atualmente no mercado

uma grande variedade das mesmas (BOCCHI; FERRACIN; BIAGGIO, 2000). Com o aumento de eletrônicos e conseqüentemente, de pilhas e baterias, a disposição das últimas em resíduos é cada vez maior, sendo dispostos em aterros ou não sendo destinados à reciclagem - mesmo sendo passíveis de reciclagem.

A disposição de pilhas e baterias em lixo doméstico, encaminhado a aterros sanitários e lixões, pode desencadear problemas ambientais como a contaminação de plantas, solos, corpos hídricos e ar, devido a liberação metais pesados presentes em sua composição quando ocorre corrosão da blindagem da pilha exposta ao meio (AFONSO, 2003).

No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) publicou em 2008, a resolução CONAMA 401/2008 que exige coleta e destinação final ambientalmente adequada para pilhas e baterias, bem como, os valores máximos permitidos de chumbo, cádmio, e mercúrio que devem conter nas mesmas. Em 2010, a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) estabelece padrões e diretrizes que, dentre outras coisas, objetivam a implementação de sistemas de logística reversa para uma série de produtos, incluindo pilhas e baterias (ABINEE, 2017).

Segundo dados da Associação Brasileira da Indústria Elétrica e Eletroeletrônica (ABINEE), cerca de 1,2 bilhões de pilhas e baterias de uso doméstico são comercializadas por ano no Brasil, considerando a produção nacional e as importações (legais ou não), sendo que cerca de 40% desse mercado é dominado por produtos irregulares. Entre 2010 e 2011 o programa de logística reversa da ABINEE, recolheu 112 toneladas de pilhas e baterias, cerca de um terço do material recolhido, corresponde a pilhas e baterias de mais de 200 marcas comercializadas e descartadas sem que seus fabricantes assumam a responsabilidade do descarte adequado (ABINEE, 2012).

A quantidade expressiva de pilhas e baterias comercializadas, somado ao fato de serem classificadas como resíduos perigosos, compostos de metais pesados como: chumbo, cádmio e mercúrio, preconiza a necessidade de seu recolhimento e destinação ambientalmente adequada (FAGUNDES, 2017).

3.6 Célula de combustível microbiana

“Sabe-se que as reações de transferência de elétrons são fundamentais para a conservação de energia e o metabolismo de bactérias” (NAGARAJAN, 2012). Tendo em vista o mecanismo de troca de elétrons evidenciados nesses microrganismos surge um campo de estudo voltado para compreender melhor como esse processo ocorre. “Eletromicrobiologia é o estudo da troca de elétrons microbianos com dispositivos eletrônicos externos e funcionalidades de microrganismos que têm o potencial de contribuir para o emergente campo da bioeletrônica” (LOVLEY, 2012).

A bioeletrônica, conforme Lovley (2012), é uma tecnologia que desenvolve dispositivos eletrônicos a partir de componentes biológicos. Uma aplicação desse tipo de tecnologia seriam as biobaterias. As biobaterias são sistemas semelhantes às baterias tradicionais em que microrganismos como as bactérias são responsáveis pelo funcionamento do dispositivo.

Os avanços na Eletromicrobiologia ocorreram muito pelos estudos acerca das bactérias redutoras de metal e das células de combustível microbianas (Microbial Fuel Cells-MFC). Um dos primeiros trabalhos referentes a bactérias com capacidade redutora de metal foi realizado por Lovley e Phillips (1988) onde constatou-se que microrganismos eram capazes de oxidar compostos inorgânicos como ferro (Fe) e manganês (Mn) como único aceptor de elétrons. Em relação às MFC, o primeiro trabalho que se tem registro é de Potter (1911) onde compostos orgânicos foram decompostos por meio da atividade fermentativa de leveduras, sendo o termo MFC amplamente utilizado somente a partir da década de 1970.

As células de combustível, de modo geral, são dispositivos capazes de converter energia química em energia elétrica (CAPODAGLIO *et al.*, 2013). Costumam apresentar uma dinâmica comum de funcionamento, com a presença de um eletrólito para condução de íons que percorrem um trecho entre o ânodo e o cátodo, situados em dois compartimentos, além de um circuito externo por onde os elétrons são conduzidos (OLIVEIRA, 2018).

Podem ter variadas classificações a depender do eletrólito utilizado: célula de combustível alcalina (AFC), célula de combustível de ácido fosfórico (PAFC), célula de combustível de membrana trocadora de prótons (PEMFC), célula de combustível de óxido

sólido (SOFC), célula de combustível direta de metanol (DMFC), célula de combustível direta de etanol (DEFC) e célula de combustível microbiana (MFC) (OLIVEIRA, 2018).

Em relação às células de combustível microbiano (MFCs), são consideradas uma alternativa sustentável para geração direta de eletricidade a partir de doadores de elétrons oxidados por microorganismos (CHAUDHURI; LOVLEY, 2003). Os mecanismos de geração de energias atuantes nas MFCs envolvem processos microbiológicos, bioquímicos e eletroquímicos que possuem variáveis fundamentais para alcançar uma boa eficiência (TYAGI *et al.*, 2012).

Por meio da mediação de microrganismos exoeletrogênicos ou eletrotróficos que, transferem ou recebem elétrons do eletrodo, respectivamente, em reações de redução e oxidação, convertem energia química, contida em um substrato orgânico bioconvertível, em energia elétrica (LOGAN *et al.*, 2012; POTTER, 1911; RABAEY; VERSTRAETE, 2005).

4 METODOLOGIA

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP) do Instituto de Ciências do Mar (Labomar) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

4.1 Preparo de soluções e meios de cultura

Todas as vidrarias, soluções e meios de cultura utilizadas para o desenvolvimento desta pesquisa, foram previamente esterilizados em autoclave a 121° C por 15 minutos. Todos os meios de cultura utilizados nesta pesquisa, foram preparados de acordo com as orientações do fabricante e tiveram seus pHs ajustados entre 7,4-7,5 com solução de NaOH ou HCl 10%.

4.2 Coleta e processamento da amostra

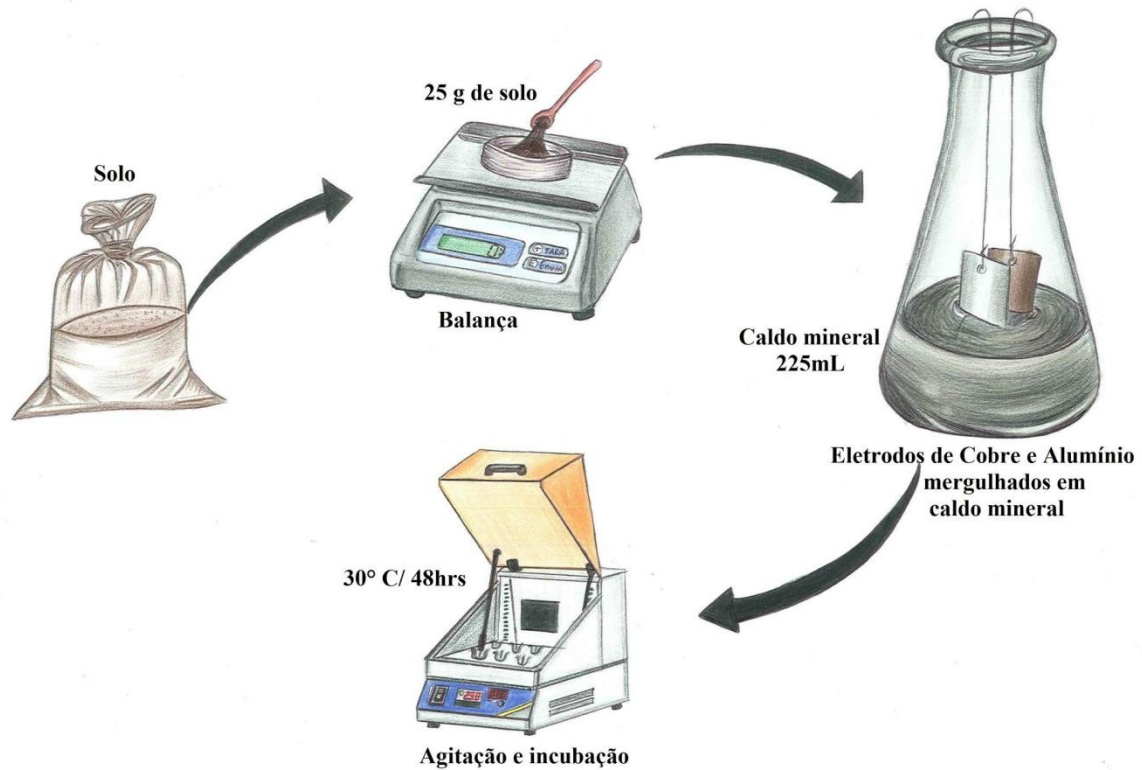
Foram coletadas amostras da camada superficial (horizonte A) de solo do Semiárido no município de Jaguaribe (Ceará) e do solo de Manguezal no município de Fortim (Ceará). Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em uma bolsa isotérmica e transportadas ao LAMAP, onde foram armazenadas até o momento do processamento.

4.2.1 Extração

O processamento das amostras se deu pela pesagem de 25 g de solo do Manguezal e 25 g de solo do Semiárido, posteriormente adicionadas em dois erlenmeyers (um para cada amostra) previamente esterilizados, contendo 225mL de caldo mineral. Em seguida foram mergulhadas no caldo de cada erlenmeyer, duas placas (2,5cm x 6 cm), uma placa de cobre (cátodo) e uma placa de alumínio (ânodo). As placas foram colocadas de forma que ficassem suspensas (Figura 1) e assim facilitasse a aderência das bactérias à parede das mesma e formação de biofilme bacteriano. Devidamente fechados, os dois erlenmeyers foram colocados em incubadora shaker (TE-420-Tecnal) sob agitação a 80 RPM por um período de

48h à temperatura de 30° C. Os procedimentos realizados para processamento da amostra estão esquematizados na figura 1.

Figura 1 – Fluxograma do processamento das amostras.



Fonte: elaborado pela autora.

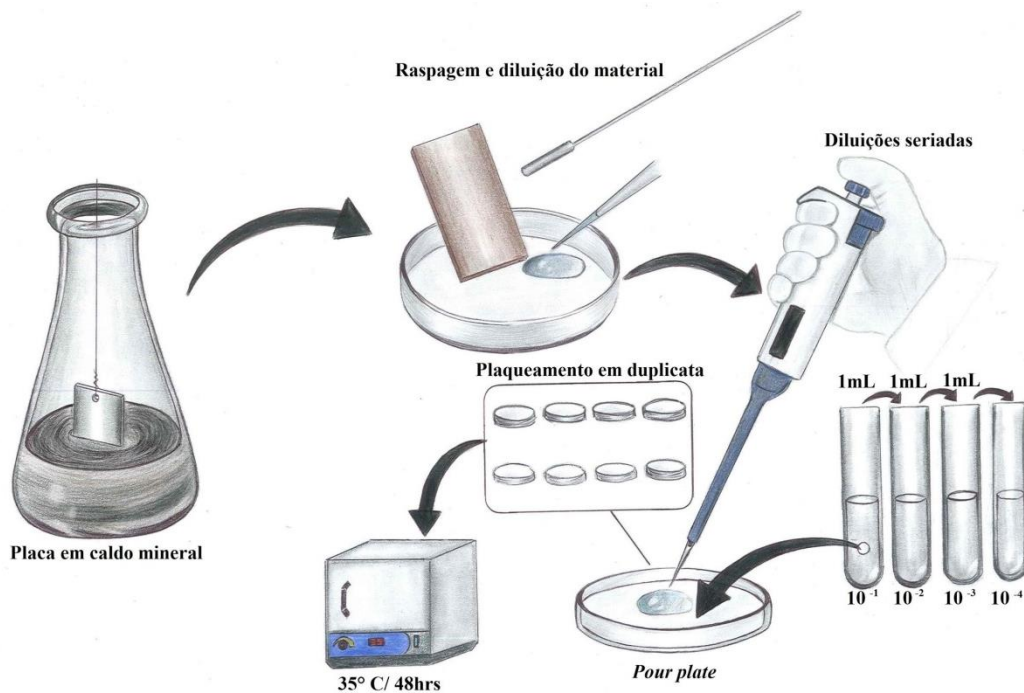
4.2.2 Quantificação e Isolamento das Bactérias (Mcat, Man, Scat, San)

Passado o período de incubação, os erlenmeyers foram retirados e tiveram suas placas (cobre e alumínio) raspadas, sendo que os grupos ficaram denominados da seguinte forma: biocátodo do Manguezal (Mcat), bioânodo do Manguezal (Man), biocátodo do Semiárido (Scat) e bioânodo do Semiárido (San) de acordo com a pré-seleção baseada na aderência das bactérias aos eletrodos de ambos os ecossistemas.

O material da placa foi diluído com 1mL de solução salina 0,85%, a partir dessa etapa foram feitas diluições seriadas até a diluição 10^{-4} , resultando em uma diminuição sistemática na concentração de células da amostra. Em seguida, uma alíquota de 1 mL de cada

diluição foi transferida, em duplicata, para placas de Petri e cobertas com Ágar TSA conforme a técnica de pour plate ou método de sementeira em profundidade, na qual o ágar em solução a $\sim 45-50^{\circ}\text{C}$ foi depositado sobre inóculo e em seguida as placas suavemente agitadas em círculos sobre a bancada, para o espalhamento e mistura (MADIGAN *et al.*, 2016; SANDERS, 2012). As placas foram incubadas na estufa bacteriológica a 35°C por 48h. Os procedimentos realizados para plaqueamento estão esquematizados na figura 2.

Figura 2 – Fluxograma do plaqueamento das amostras.



Fonte: elaborado pela autora.

Após o período de incubação, realizou-se a contagem das placas com número de colônias entre 25 e 250, depois de contabilizadas foi feita a média aritmética das duplicatas, em unidades formadoras de colônia (UFC). Usou-se como critério de seleção, as colônias que apresentaram pigmentação, forma de borda diferenciada e/ou maior tamanho em relação às outras, as colônias selecionadas foram pescadas e repicadas em tubos de ensaio contendo Ágar TSA, onde ficaram na estufa a 35°C por 24h, para posterior caracterização morfológica e estoque. No total, foram isoladas 40 estirpes, 20 de cada ecossistema, sendo

(10) de Manguezal cátodo (Mcat), (10) de Manguezal ânodo (Man), (10) de Semiárido cátodo (Scat) e (10) de Semiárido ânodo (San).

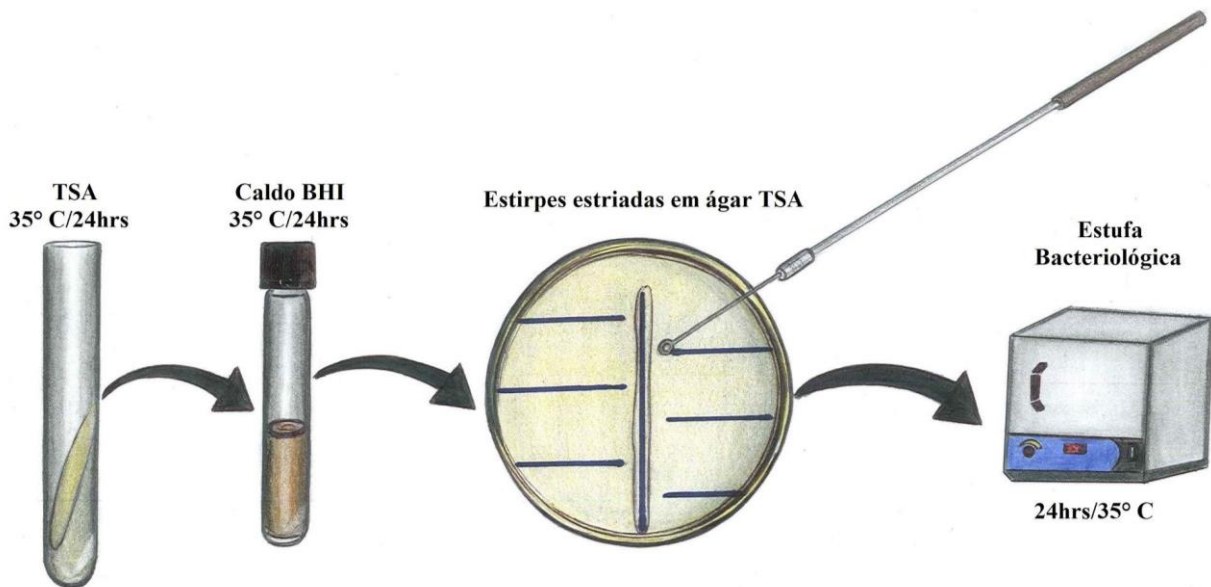
4.3 Caracterização morfotintorial dos isolados

As estirpes foram caracterizadas pela técnica de coloração de Gram, técnica utilizada para classificação bacteriana de acordo com o tamanho, morfologia celular e comportamento diante dos corantes, sendo possível identificar as bactérias em Gram-positivas que possuem parede espessa formada por peptidoglicano, e Gram negativas que, possuem uma membrana externa, além da camada menos densa de peptidoclicano (CAVASSIN; MADIGAN, et al. 2016; MOREIRA; CARVALHO; FROTA, 2015; NOWAKONSKY; LEVY, 2013; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). As bactérias são classificadas quanto a sua morfologia (cocos, bastonetes), e quanto a sua parede (Gram-positiva e/ou Gram-negativa).

4.4 Teste de Antagonismo Bacteriano *in vitro*

Com o intuito de testar diferentes grupos de bactérias para a formação de consórcios microbianos, o teste de antagonismo realizado neste experimento foi feito de acordo com a técnica de estrias cruzadas, *Cross streak*, com algumas adaptações, (YOSHIDA *et al.*, 2009). Inicialmente as culturas bacterianas foram renovadas em Caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) e incubadas a 35° C por 24h. A partir do crescimento em Caldo BHI foi feita uma estria vertical no centro de uma placa de petri contendo ágar TSA e em seguida foram feitas de quatro a seis estrias horizontais e perpendiculares à estria central, distantes desta aproximadamente 0,5cm. Depois de estriadas, as placas foram incubadas em estufa a 35° C por 24h.

Figura 3 – Fluxograma do teste de antagonismo.



Fonte: elaborado pela autora.

O teste foi dividido em quatro etapas. A primeira, para os grupos de estirpes bacterianas do eletrodo cobre (biocátodo) pertencentes aos ecossistemas Manguezal e Semiárido (Mcat e Scat). A segunda, para os grupos de estirpes bacterianas do eletrodo alumínio (bioânodo) pertencentes aos ecossistemas supracitados (Man e San). E as duas últimas etapas, usando os grupos de estirpes de eletrodos diferentes (biocátodo e bioânodo) pertencentes ao mesmo ecossistema, Manguezal e Semiárido respectivamente.

O antagonismo entre as estirpes testadas foi considerado positivo (+) quando identificada a inibição do crescimento entre as estirpes horizontais em relação à estirpe vertical, e considerado negativo (-) quando não apresentaram inibição de crescimento na proximidade uma da outra, ultrapassando os 0,5 cm e não havendo formação de halo entre elas. As estirpes que apresentaram antagonismo negativo são as melhores opções para a formação dos consórcios bacterianos.

As combinações de bactérias visaram a construção de dois consórcios para cada tipo de amostra (biocátodo e bioânodo) e também a formação de um consórcio entre os dois ecossistemas (Manguezal e Semiárido). Cada consórcio foi composto de duas à quatro estirpes.

4.5 Teste de aderência a superfície do vidro (TAV)

As estirpes com relações mutualísticas positivas (antagonismo negativo) foram submetidas a teste para verificação capacidade de aderência. Foi testada através da técnica de agregação em vidro, de acordo com o protocolo descrito a seguir, que foi adaptado de Christensen *et al.* (1985). As estirpes foram inoculadas em TSA a 35°C por 24h. Em seguida, os inóculos foram transferidos para tubos de ensaio contendo 5mL de caldo *Brain Heart infusion* (BHI) e levados à estufa bacteriológica, onde permaneceram a 35°C por 24h.

Após o período de crescimento bacteriano, os caldos foram descartados e os tubos tiveram seu interior lavados com água destilada por três vezes. Em seguida, os tubos foram colocados para secar na posição invertida (com a boca para baixo) em temperatura ambiente. Depois da secagem, foi adicionado em cada tubo, 5mL de safranina 0,1% permanecendo nos tubos por um minuto. A solução foi removida, os tubos foram lavados com água destilada para retirar o excesso de corante e invertidos para secagem.

O teste foi considerado positivo, quando ocorreu a formação de biofilme microbiano na parede dos tubos, evidenciado pelo corante safranina. A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) foi usada como controle positivo.

Figura 4 – Fluxograma do Teste de aderência em vidro



Fonte: elaborado pela autora.

4.6 Formação dos consórcios e inóculo em caldo MFC

Para a formação dos consórcios bacterianos foram considerados: atividade antagônica negativa e preferencialmente, capacidade de aderência positiva. As estirpes foram renovadas em tubos de ensaio contendo 5 mL de Ágar TSA e levadas à estufa bacteriológica a 35°C por 24h. Posteriormente, foram diluídas em solução salina 0,85%, e o inóculo ajustado de acordo com a escala de McFarland (0,5), com a finalidade de atingir a concentração celular igual a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

Em seguida, o consórcio foi construído com alíquotas de 1mL de cada estirpe bacteriana em tubo de vidro estéril contendo 200mL de caldo MFC (meio modificado), composto por: NH_4Cl , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Na_2HPO_4 , KCL, acetato de sódio e caldo mineral. O eletrodo (placa de cobre ou alumínio) foi colocado no sistema suspenso no caldo por um fino fio. Os tubos foram colocados em incubadora shaker (TE-420-Tecnal) sob agitação a 80 RPM por um período de 6 dias à temperatura de 30°C. Assim, foram feitos quatro consórcios, um para cada eletrodo (cobre e alumínio) e um para cada ecossistema (semiárido e manguezal). O crescimento pode ser observado pela formação do biofilme nas placas e pela turvação do meio. Foi usado um controle negativo correspondendo ao sistema com tubo de vidro contendo caldo MFC e eletrodos sem o inóculo bacteriano.

4.6.1 Construção do sistema de biobateria em meio líquido

Após o período de incubação em estufa de agitação, os tubos foram retirados para a formação dos pares de sistemas e o teste de eficiência de produção de energia, conforme será descrito a seguir.

Foram construídos dois pares de sistema, sendo o primeiro composto de estirpes do Manguezal (biocátodo e bioânodo); e o segundo sistema composto por estirpes do Semiárido (biocátodo e bioânodo).

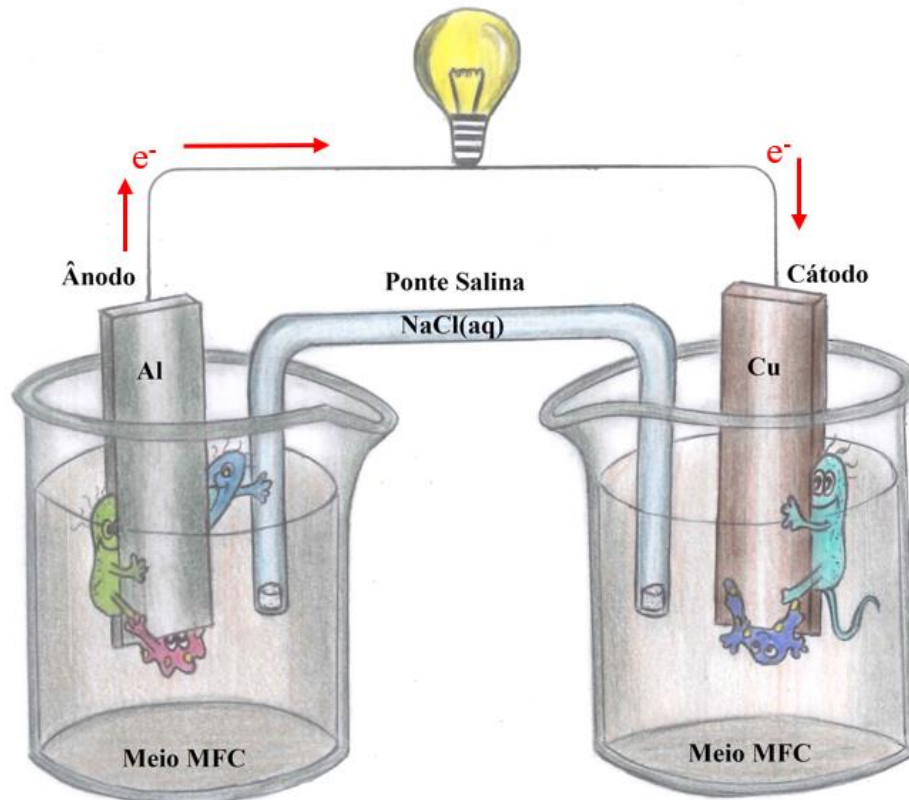
Cada sistema foi interligado por uma ponte salina, que consiste em um cano de plástico (0,5 cm de diâmetro), fechado nas extremidades por algodão, preenchido de solução de cloreto de sódio (NaCl), para manter o equilíbrio dos íons entre cada consórcio, permitindo

o funcionamento contínuo do sistema. A medição da quantidade de energia produzida pelos dois sistemas foi feita através de um multímetro digital (DT830B 8PJ).

Para a construção do sistema de biobateria em meio líquido, usou-se o modelo da pilha de Daniell como referência. No modelo mencionado, a pilha consiste em um ânodo de zinco metálico, um cátodo de cobre metálico e um eletrólito, imersos em uma solução com seus próprios íons (BOCCHI; FERRACIN; BIAGGIO, 2000).

No sistema de biobateria, as bactérias estão imersas em caldo MFC e aderidas aos eletrodos no qual possuem afinidade, ocorrendo as reações químicas de oxidação pelas bactérias com afinidade ao alumínio e redução pelas bactérias com afinidade ao cobre (Figura 5).

Figura 5 - Esquema representativo do funcionamento de uma biobateria em meio líquido.



Fonte: autora.

4.7 Teste de Produção de Gás em placa

As estirpes selecionadas para consórcio e que preferencialmente tiveram maior aderência no TAV, foram submetidas ao teste de produção de gás em placa, conforme será descrito a seguir.

As estirpes foram renovadas em ágar TSA e colocadas em estufa bacteriológica por 24 horas à 35 °C, em seguida foram inoculadas em solução salina 0,85%, e ajustadas de acordo com a escala de McFarland (0,5), objetivando atingir a concentração celular igual a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

Para a construção e teste de produção de gás de cada consórcio, foi colocada em placa de vidro previamente esterilizada, uma alíquota de 1mL de cada estirpe e em seguida, coberta por ágar MFC (caldo acrescido de ágar-ágar) em solução a ~45-50°C pela técnica de *pour plate*. A seguir, as placas foram levadas para estufa a 35 °C durante 5 dias. No total foram inoculadas oito placas, sendo duas correspondentes a cada consórcio.

O teste teve a finalidade de observar a produção de gás pelas bactérias o que pode ser um impedimento para a estabilidade e continuidade do sistema e dificuldade de condução de elétrons necessário para geração de energia elétrica.

4.8 Construção do sistema de biobateria em meio sólido

Para a construção do sistema em meio sólido, foi eleito o consórcio que teve a maior produção de energia em meio líquido (Manguezal cátodo e Semiárido ânodo), cada consórcio foi inoculado em placa de vidro previamente esterilizada, pela técnica de *pour plate*, sendo cobertos de ágar MFC, as estirpes foram ajustadas de acordo com a escala de McFarland (0,5). A seguir foram levadas para estufa a 35 °C durante 5 dias. No total foram inoculadas quatro placas, sendo duas correspondentes a cada consórcio.

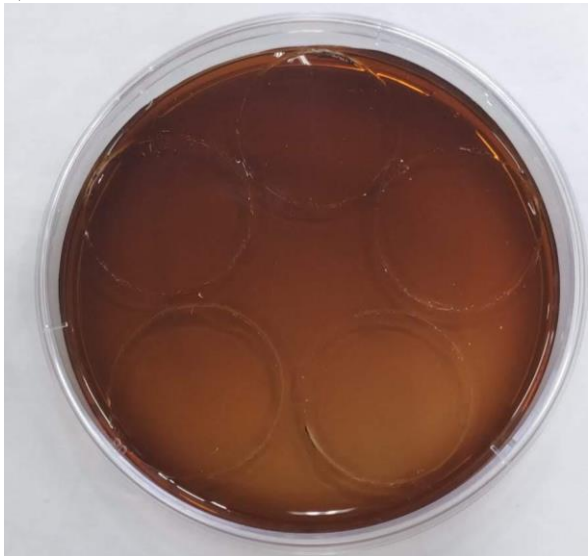
Depois do período de incubação, e verificado o crescimento de colônias, o ágar foi cortado em “pastilhas”, utilizando-se como molde falcons previamente esterilizados para fazer os cortes. Foram também feitas pastilhas de concentrado de NaOH em Ágar ágar, sendo este distribuído anteriormente em placas (Figura 6 a).

A seguir as pastilhas foram empilhadas de modo alternado, sendo que entre cada consórcio foi colocado uma pastilha de NaOH. No total, foram empilhadas cinco pastilhas de cada consórcio e oito pastilhas de NaOH, de modo alternado, seguindo a ordem (Mcat + NaOH + San), é importante ressaltar que para ocorrer a produção de energia, sempre deve haver uma pastilha com consórcio catódico e uma pastilha com consórcio anódico, separados por uma pastilha de NaOH, sendo esta responsável pela troca de íons, atuando como ponte salina (Figura 6 b).

A seguir, foram introduzidos fios de cobre e alumínio na pilha de pastilhas e unidos em uma extremidade, a outra extremidade ficou livre, sendo esta utilizada para a captação de energia. Posteriormente a pilha foi envolta com papel alumínio, previamente esterilizado, e posta em um tubo de vidro onde permaneceu em temperatura ambiente. Foram realizadas medições diariamente durante o período de 7 dias.

Figura 6 - a) Pastilhas de NaOH; b) Pastilhas de (Mct, NaOH e San) empilhadas.

a)



b)



Fonte: autora.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Contagem padrão em placas

A densidade populacional das bactérias do solo do Manguezal com afinidade pelo cobre foi de $7,2 \times 10^3$ UFC/g, e a densidade populacional das bactérias do solo do Manguezal com afinidade pelo alumínio foi de $2,2 \times 10^5$ UFC/g. Na amostra do Semiárido, a densidade populacional das bactérias com afinidade pelo cobre e alumínio foi $3,7 \times 10^5$ UFC/g e $1,7 \times 10^5$ UFC/g respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2– Densidade populacional das bactérias catódicas e anódicas isoladas de solo de Manguezal e de Semiárido, respectivamente.

Amostra	Grupo	UFC/g de solo
Manguezal	Biocátodo	$7,2 \times 10^3$
	Bioânodo	$2,2 \times 10^5$
Semiárido	Biocátodo	$3,7 \times 10^5$
	Bioânodo	$1,7 \times 10^5$

Fonte: Elaborado pela autora.

Os números estiveram na mesma ordem de grandeza com exceção das bactérias com afinidade por cobre no sedimento do manguezal. Observa-se que as bactérias apresentaram maior afinidade ao eletrodo cobre (biocátodo) do ecossistema semiárido e uma quantidade bem menor em relação ao mesmo eletrodo no ecossistema manguezal. Isto pode ser interpretado pela grande diferença entre os dois ecossistemas, já que o manguezal caracteriza-se em um ecossistema altamente produtivo e rico em matéria orgânica, divergindo do ecossistema semiárido este pobre em nutrientes. Assim, as bactérias dos dois ecossistemas possuem diferentes características, com alta capacidade de degradação em manguezais e capacidade de sobrevivência em condições extremas, como a falta de nutrientes no semiárido.

5.2 Caracterização morfotintorial dos isolados

O resultado da coloração de Gram das 40 estirpes bacterianas isoladas de solo de Manguezal e de Semiárido, pode ser observado na tabela 3.

Tabela 3– Caracterização morfotintorial das estirpes bacterianas isoladas de solo de Manguezal e de Semiárido de acordo com a afinidade pelos eletrodos catódicos e anódicos (cobre e alumínio).

Característica morfotintorial	Amostra			
	Manguezal		Semiárido	
	cátodo	ânodo	cátodo	ânodo
Bastonetes Gram +	01, 02, 03, 04, 05,07, 08, 09 e 10	01, 02, 03 e 04	01, 02, 03 e 08	01, 02, 03, 04 e 06
Bastonetes Gram -	06	05 e 06	04, 05, 06, 07 e 10	07
Cocos Gram +	-	10	09	09 e 10
Cocos Gram -	-	-	-	05
Cultura mista	-	-	-	08

Fonte: Elaborado pela autora.

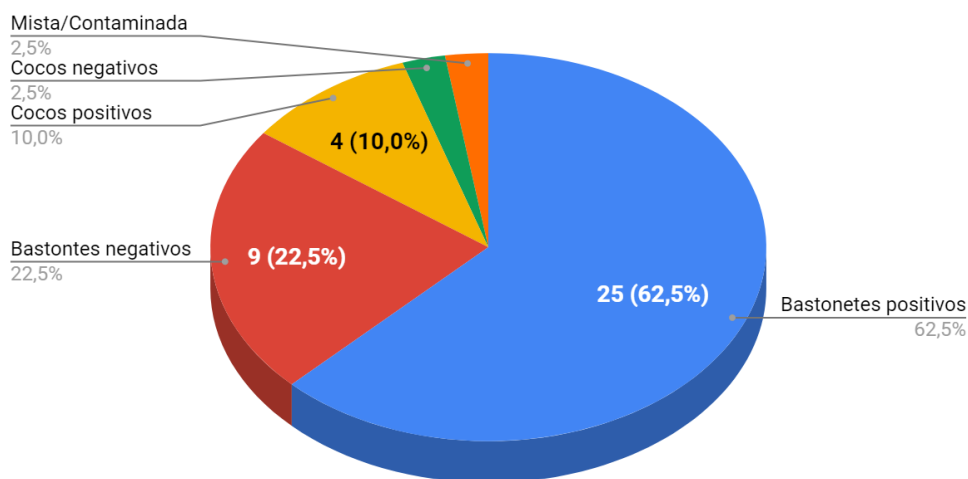
A afinidade das estirpes aos eletrodos, pode ser evidenciada pelo biofilme formado nas placas de cobre e alumínio, de onde as bactérias foram isoladas, havendo uma pré-seleção baseada na formação de biofilme e capacidade de agregação das bactérias as placas.

Na caracterização das estirpes isoladas do solo de Manguezal, dentre as 10 estirpes de (Mcat), as 10 foram bastonetes, 9 Gram positivas e 1 Gram negativa. Enquanto das 10 estirpes de (Man), 9 foram bastonetes, 7 Gram positivas, 2 Gram negativas e 1 era cocos Gram positivos. Já nas estirpes isoladas do solo do Semiárido, dentre as 10 estirpes de (Scat),

9 eram bastonetes, 4 Gram positivas, 5 Gram negativos e 1 eram cocos Gram positivos. Dentre as 10 estirpes de (San), 6 eram bastonetes, 5 Gram positivas, 1 Gram negativa, 2 eram cocos Gram positivos, 1 eram cocos Gram negativos, e uma cepa apresentou-se mista e contaminada, não sendo incluída no experimento.

Observa-se que em ambos os ecossistemas, o eletrodo ânodo apresentou maior diversidade, sendo esta ainda maior no ecossistema semiárido. No gráfico 1 estão apresentados os percentuais de isolados bacterianos quanto a morfologia e composição parede.

Gráfico 1– Distribuição percentual de isolados bacterianos originários do solo de Manguezal e do Semiárido quanto às características de morfologia e composição de parede celular.



Fonte: elaborado pela autora.

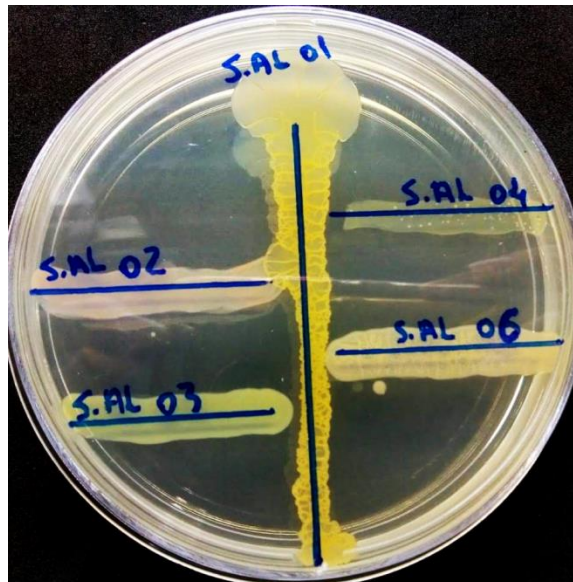
Do total de 40 estirpes isoladas, 34 (85% do total) eram bastonetes, sendo (25) Gram positivos e (9) Gram negativos, 5 (12,5% total) eram cocos, (4) Gram positivos e (1) Gram negativa, uma (1) estirpe apresentou-se mista/contaminada.

5.3 Teste de Antagonismo *in vitro*

O teste de antagonismo bacteriano foi realizado entre as 40 estirpes isoladas, sendo que uma estirpe (San 08) não foi incluída no experimento. Nas tabelas 4, 5, 6 e 7, observa-se o resultado das 4 etapas do teste de antagonismo feito para os dois ecossistemas e diferentes eletrodos.

O antagonismo existente ou não entre as bactérias pode ser observado em placas de petri, sendo classificados como antagônicas quando o crescimento bacteriano nas estrias é inibido pelo crescimento de outra (Figura 7).

Figura 7 - Teste de antagonismo pela técnica de estrias cruzadas.



Fonte: autora.

Na figura 7, pode-se observar um exemplo de resultado do teste de antagonismo realizado em placa de Petri, realizado entre as estirpes do anódicas do Semiárido (San). O resultado negativo do teste pode ser observado entre as estirpes S.Al 01 (San 01) e S.Al 02 (San 02), onde ambas crescem juntas. A estirpe S.Al 06 (San 06) cresce bem próxima a estria central, ultrapassando 0,5 cm, contudo, o antagonismo é evidenciado pela formação de halo.

Na tabela 4 observa-se o resultado do teste de antagonismo entre ecossistemas distintos (Manguezal e Semiárido) com o mesmo eletrodo (Cobre).

Tabela 4 – Resultado da 1ª etapa do teste de antagonismos entre as estirpes Manguezal cátodo (Mcat) e Semiárido cátodo (Scat).

Teste de Antagonismo <i>in vitro</i>																					
		Manguezal cátodo (Mcat)										Semiárido cátodo (Scat)									
	*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Mcat	1	*																			
	2	P	*																		
	3	P	P	*																	
	4	P	P	P	*																
	5	P	N	N	P	*															
	6	P	P	P	P	P	*														
	7	P	P	P	P	P	P	*													
	8	P	P	P	P	P	P	P	*												
	9	P	P	P	P	P	P	P	P	*											
	10	P	P	P	P	P	P	P	P	P	*										
Scat	1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	*									
	2	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	*								
	3	P	P	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	*							
	4	P	P	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	*						
	5	P	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	N	*					
	6	N	N	N	P	P	N	P	P	P	P	N	P	P	P	P	*				
	7	sc	sc	sc	sc	sc	Sc	sc	sc	sc	sc	N	sc	sc	sc	sc	sc	*			
	8	P	P	N	P	P	P	P	P	P	P	N	P	P	N	P	P	P	*		
	9	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	N	P	P	P	P	N	P	P	*	
	10	sc	sc	sc	sc	sc	Sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc

Fonte: Elaborado pela autora. **P**: antagonismo positivo; **N**: antagonismo negativo; **sc**: sem crescimento.

Na tabela 5 observa-se o resultado do teste de antagonismo entre ecossistemas distintos (Manguezal e Semiárido) com o mesmo eletrodo (Alumínio).

Tabela 5 – Resultado da 2ª etapa do teste de antagonismos entre as estirpes Manguezal ânodo (Man) e Semiárido ânodo (San).

Teste de Antagonismo <i>in vitro</i>																					
Manguezal ânodo (Man)												Semiárido ânodo (San)									
	*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Man	1	*																			
	2	P	*																		
	3	P	P	*																	
	4	P	P	N	*																
	5	P	P	P	P	*															
	6	P	P	P	P	P	*														
	7	P	P	P	P	P	P	*													
	8	sc	sc	sc	sc	Sc	Sc	sc	*												
	9	P	P	P	P	P	P	P	sc	*											
	10	P	P	P	P	P	P	P	sc	P	*										
San	1	P	sc	N	N	P	P	P	sc	P	N	*									
	2	P	P	P	P	P	Sc	N	sc	P	P	P	*								
	3	P	P	N	P	P	Sc	P	sc	P	P	P	P	*							
	4	P	N	P	P	P	P	P	sc	P	N	P	N	N	*						
	5	sc	sc	sc	sc	Sc	Sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	*					
	6	N	P	N	P	P	P	P	sc	N	N	N	P	N	N	sc	*				
	7	P	P	P	N	P	P	P	sc	P	P	P	P	P	P	sc	N	*			
	8	sc	sc	sc	sc	Sc	Sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	*	
	9	P	N	P	P	P	P	P	sc	P	N	P	P	P	P	sc	N	P	sc	*	
	10	P	P	P	P	P	P	P	sc	N	N	P	P	N	N	sc	N	N	sc	P	*

Fonte: Elaborado pela autora. **P**: antagonismo positivo; **N**: antagonismo negativo; **sc**: sem crescimento.

Na tabela 6 observa-se o resultado do teste de antagonismo do ecossistema (Manguezal) com eletrodos distintos (Cobre e Alumínio).

Tabela 6 - Resultado da 3ª etapa do teste de antagonismos entre as estirpes Manguezal cátodo (Mcat) e Manguezal ânodo (Man).

Teste de Antagonismo <i>in vitro</i>																					
Manguezal cátodo (Mcat)												Manguezal ânodo (Man)									
	*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Mcat	1	*																			
	2	P	*																		
	3	P	P	*																	
	4	P	P	P	*																
	5	P	P	P	P	*															
	6	P	P	P	P	P	*														
	7	P	P	P	P	P	P	*													
	8	P	P	N	P	N	P	P	*												
	9	P	P	P	P	P	P	P	P	*											
	10	P	P	P	P	P	P	P	P	P	*										
Man	1	N	P	P	N	P	P	P	N	P	P	*									
	2	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	*								
	3	P	P	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	*							
	4	P	P	P	P	P	N	P	P	P	P	P	P	P	*						
	5	P	P	N	P	P	P	P	N	P	P	P	P	P	N	*					
	6	P	P	P	P	P	P	P	P	P	N	P	P	P	P	P	*				
	7	P	P	P	P	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	*			
	8	sc	sc	Sc	sc	sc	Sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	*	
	9	P	P	P	P	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	*
	10	P	P	P	P	P	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P

Fonte: Elaborado pela autora. **P**: antagonismo positivo; **N**: antagonismo negativo; **sc**: sem crescimento.

Na tabela 7 observa-se o resultado do teste de antagonismo do ecossistema (Semiárido) com eletrodos distintos (Cobre e Alumínio).

Tabela 7 – Resultado da 4ª etapa do teste de antagonismos entre as estirpes Semiárido cátodo (Scat) e Semiárido ânodo (San).

Teste de Antagonismo <i>in vitro</i>																					
Semiárido cátodo (Scat)											Semiárido ânodo (San)										
	*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Scat	1	*																			
	2	P	*																		
	3	P	P	*																	
	4	N	N	P	*																
	5	P	P	P	P	*															
	6	P	P	N	P	P	*														
	7	P	P	P	P	P	P	*													
	8	P	P	P	P	P	P	P	*												
	9	P	P	P	P	N	P	P	P	*											
	10	sc	sc	sc	sc	sc	Sc	sc	sc	sc	sc	*									
San	1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	*									
	2	sc	sc	sc	sc	sc	Sc	sc	sc	sc	sc	sc	*								
	3	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	sc	*							
	4	P	P	P	P	N	P	P	P	P	P	P	sc	P	*						
	5	sc	sc	sc	sc	sc	Sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	*					
	6	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	sc	P	P	sc	*				
	7	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	sc	P	P	sc	P	*			
	8	sc	sc	sc	sc	sc	Sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	sc	*	
	9	P	P	P	P	P	P	P	P	N	P	P	sc	P	P	sc	P	P	sc	*	
	10	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	sc	P	P	sc	P	P	sc	P	*

Fonte: Elaborado pela autora. **P**: antagonismo positivo; **N**: antagonismo negativo; **sc**: sem crescimento.

A partir do teste de antagonismo, as estirpes bacterianas que apresentaram resultado negativo, foram selecionadas com potencial uso na a formação de consórcios. As relações existentes, mesmo em um número reduzido de indivíduos, são bem complexas, e ainda assim, as possibilidades de combinações de consórcios que podem ser feitos a partir do resultado do teste, são bastante variadas.

De acordo com o teste de antagonismo *in vitro*, foram eleitos 6 consórcios, listados na Tabela 8, para serem avaliados *in vivo* na construção do sistema de biobateria. Foi usado como critério para formação de consórcios aqueles cuja a composição se dava a partir de três estirpes, e que pertenciam ao mesmo grupo (mesmo ecossistema e mesmo eletrodo).

Tabela 8 – Consórcios formados relacionando as 4 etapas de testes de antagonismo.

Consórcio (C)	Cepas	Grupo
C1	Mcat 03 + Mcat 05 + Mcat 08	Mcat
C2	Man 03 + Man 04	Man
C3	Scat 01 + Scat 06 + Scat 09	Scat
C4	San 02 + San 04 + San 06	San
C5	San 03 + San 04 + San 06 + San 10	San
C6	San 06 + San 07 + San 10	San

Fonte: Elaborado pela autora. **Mcat:** Manguezal cátodo; **Man:** Manguezal ânodo; **Scat:** Semiárido cátodo; **San:** Semiárido ânodo.

A microbiota do solo varia de acordo com algumas características, como a variação da temperatura, do pH, bem como a disponibilidade de nutrientes, luz, e outro fatores limitantes para a sobrevivência dos microorganismos (LEITE; ARAÚJO, 2007; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; MICHEREFF; ANDRADE; MENEZES, 2005; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). A interação entre microorganismo é intensa, podendo ser sinérgica, antagônica, parasitária, mutualística ou saprofítica. Além de competirem entre si, esses microorganismos

atuam para impedir que novas espécies vençam a competição por recursos sobre as espécies nativas. As disputas entre os organismos favorecem o desenvolvimento de novos e diferentes nichos ecológicos, contribuindo com a grande variedade microbiológica do solo (MICHEREFF; ANDRADE; MENEZES, 2005).

Os consórcios microbianos foram extensivamente estudados no campo da engenharia metabólica e biologia sintética (HAYS; PATRICK; ZIESACK; OXMAN; SILVER, 2015; WANG *et al.*, 2015). Os sistemas formados por consórcios apresentam vantagens sobre os sistemas de cultura única, incluindo a capacidade de tolerar maior estresse metabólico, otimizar reações bioquímicas em diferentes ambientes e evitar toxicidade intermediária (BITTIHN *et al.*, 2018).

As maiores densidades de corrente até hoje vêm de culturas mistas que são geralmente dominadas por Deltaproteobacteria do gênero *Geobacter*. No entanto, muitos outros microorganismos podem transferir elétrons para um ânodo (BRUCE *et al.*, 2019).

5.4 Teste de aderência a superfície do vidro (TAV)

As estirpes pertencentes aos consórcios microbianos selecionados no teste de antagonismo *in vitro* foram submetidas aos testes de aderência a superfície do vidro.

O resultado do teste implica na observação visual das células aderidas ao tubo de ensaio, evidenciado pela coloração avermelhada (Figura 08), proveniente do corante safranina que possui a capacidade de ligar-se às moléculas carregadas negativamente e a matriz polissacarídea (CHRISTENSEN *et al.*, 1985; PEETERS *et al.*, 2008; ABDALLAH *et al.*, 2009). Por ser uma superfície lisa, o vidro é um material de difícil adesão, se as bactérias conseguem se aderir a este material, possuem maior capacidade de adesão à outras superfícies, como por exemplo, o cobre e o alumínio, os eletrodos que serão utilizados para condução de energia nos testes de eficiência.

Na figura 8 podemos observar o resultado positivo das estirpes S.A1 06 (San 06) e M.Cu 03 (Mcat 03), e para a espécie *Pseudomonas aeruginosa*, espécie usada como controle positivo. Observa-se que a estirpe Mcat 03 apresentou maior produção de biofilme do que a espécie *Pseudomonas aeruginosa*.

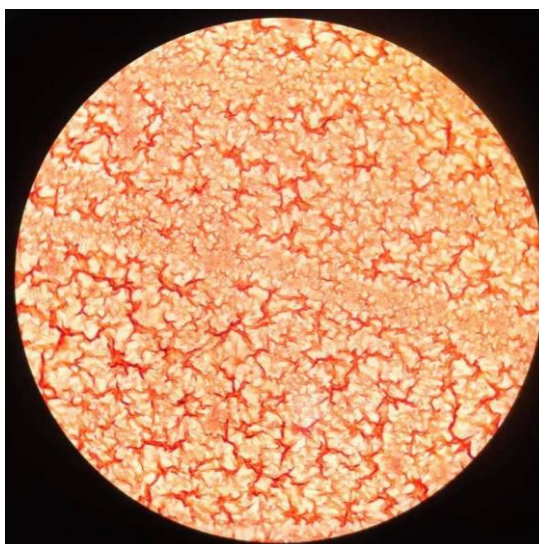
Figura 8 – Resultado positivo para o teste de aderência ao vidro.



Fonte: autora.

Quando observada no microscópio óptico a estirpe Mcat 03, sendo preparada através da técnica de coloração de Gram, a estirpe apresentou alta formação de exopolissacarídeos (figura 9), o que evidencia sua alta capacidade de formação de biofilme. A espécie *P. aeruginosa* é relatada pela produção de alginato, uma matriz hidrofóbica, que auxilia na adesão desse organismo e conseqüentemente na formação do biofilme (LINCOPAN; TRABULSI, 2008; IRIE *et al.*, 2010).

Figura 9 – Estirpe (Mcat 03) visualizada em microscópio óptico.



Fonte: autora. Microscópio óptico: (lente objetiva de imersão 100x).

A capacidade dos microrganismos se aderirem às superfícies, também depende fortemente da natureza da superfície. Dessa forma, as superfícies hidrofóbicas, tais como plásticos são mais propícias à adesão bacteriana do que as hidrofílicas, tais como vidro ou metais (RODRIGUES, 2009).

Do total de 14 estirpes testadas, três (San 02, San 04, San 10) não apresentaram crescimento em caldo (BHI), cinco (Mcat 03, Mcat 05, Mcat 08, Scat 06, San 06) apresentaram resultado positivo, sendo que o consórcio do ecossistema Manguezal eletrodo cobre (Mcat) apresentou (100%) de aderência, enquanto as demais estirpes apresentaram resultado de aderência negativo, sendo que o consórcio do ecossistema Manguezal eletrodo alumínio (Man) apresentou (0%) de aderência.

Tabela 9 – Resultado do teste de aderência a superfície do vidro.

Estirpe bacteriana	TAV	Estirpe bacteriana	TAV
Mcat 03	+	Scat 09	-
Mcat 05	+	San 02	sc
Mcat 08	+	San 03	-
Man 03	-	San 04	sc
Man 04	-	San 06	+
Scat 01	-	San 07	-
Scat 06	+	San 10	sc

Fonte: Elaborado pela autora. **TAV**: Teste de aderência a superfície do vidro; **sc**: sem crescimento no caldo.

Os consórcios eleitos para a composição da biobateria em meio líquido, podem ser observados na tabela 10.

Tabela 10 – Consórcios eleitos para a composição da biobateria em meio líquido.

Grupo	Consórcios
Manguezal cátodo (Mcat)	Mcat 03 + Mcat 05 + Mcat 08
Manguezal ânodo (Man)	Man 03 + Man 04
Semiárido cátodo (Scat)	Scat 01 + Scat 06 + Scat 09
Semiárido ânodo (San)	San 03 + San 06

Fonte: Elaborado pela autora.

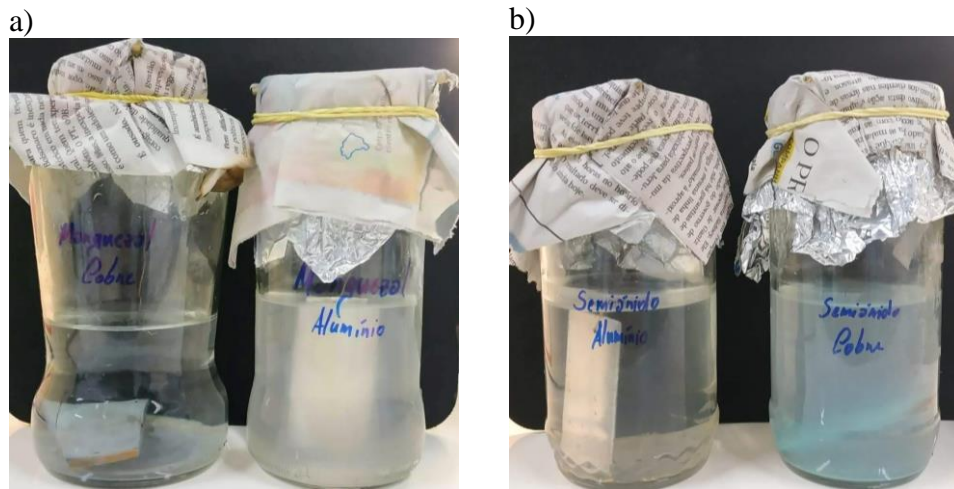
A partir do (TAV), foi possível determinar quais consórcios bacterianos seriam usados, e determinar qual possui maior habilidade de agregação entre os demais. Embora o consórcio do grupo (Man) tenha apresentado (0%) de agregação, ele foi incluso na composição do sistema de biobateria em meio líquido e nos demais testes, já que através das bactérias com afinidade ao eletrodo alumínio (bactérias) haverá transferência de elétrons, pela agregação e oxidação.

5.5 Formação dos consórcios e inóculo em caldo MFC

Após o período de incubação em estufa de agitação, os tubos foram retirados para a formação dos pares de sistemas e o teste de eficiência de produção de energia.

Nas Figuras 10 a) e b) os tubos apresentaram-se turvos, evidenciando o crescimento microbiano no meio. Observa-se ainda a formação de biofilme microbiano nas placas (eletrodos). O tubo de vidro usado como controle negativo, apresentou-se límpido, sendo ausente o crescimento microbiano (Figura 11).

Figura 10 - a Inóculos dos consórcios de Mcat e Man em caldo MFC; b) Inóculos dos consórcios de Scat e San em caldo MFC.



Fonte: autora.

Figura 11 - Eletrodos de cobre e alumínio imersos em caldo MFC sem inóculos bacterianos.



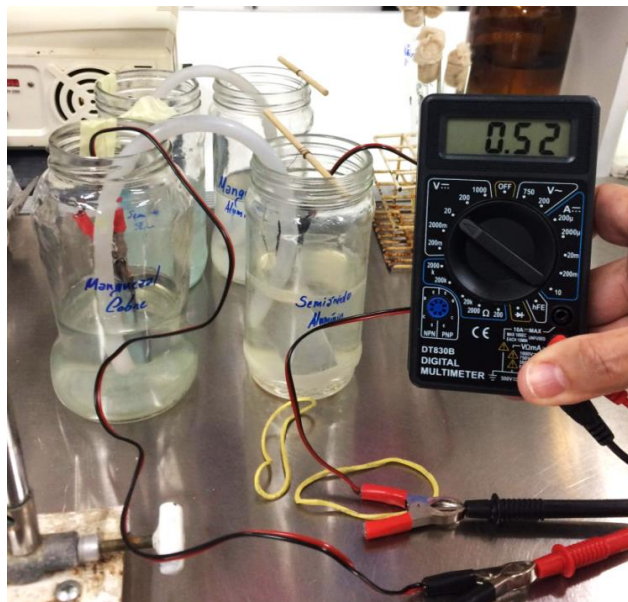
Fonte: autora.

5.6 Construção do sistema de biobateria em meio líquido

Na Figura 12 o multímetro mostra o valor produzido pelo sistema, com o total de 0,52 V produzidos. Observa-se um sistema composto por um consórcio correspondente ao eletrodo cobre (cátodo) do ecossistema Manguezal e um consórcio correspondente ao eletrodo

alumínio (ânodo) do ecossistema Semiárido, interligados através de uma ponte salina constituída por um cano contendo solução de cloreto de sódio (NaCl) e fechado nas extremidades por algodão.

Figura 12 – Sistema composto pelos consórcios Mcat e San.



Fonte: autora.

Na forma sólida o (NaCl) caracteriza-se como isolante, já em meio aquoso os íons Na^+ e Cl^- se dissociam, tornando-se assim portadores de carga livres da solução. Processos semelhantes acontecem com outros sais, ácidos e bases dissolvidos em água. O vinagre, por exemplo, contém ácido acético dissolvido em água, por isso conduz eletricidade. A soda cáustica, mesmo sólida, absorve a umidade do ar e pode conduzir eletricidade. As soluções que possuem íons livres são chamadas de soluções eletrolíticas (NISENBAUM, [2008?]).

Para a construção do sistema, é imprescindível que sempre haja grupos de eletrodos distintos, possibilitando as reações eletroquímicas (oxidação e redução) e trocas de íons, e assim, a condução e geração de energia.

Na geração de energia elétrica o material de um dos eletrodos oxida-se espontaneamente liberando elétrons (ânodo ou eletrodo negativo), enquanto o material do

outro eletrodo reduz-se usando esses elétrons (cátodo ou eletrodo positivo) (BOCCHI; FERRACIN; BIAGGIO, 2000)

Na tabela 11, observa-se as 5 combinações realizadas para verificar a produção de energia, em um mesmo ecossistema (Mcat + Man) e (Scat + San), em ecossistemas distintos (Mcat + San) e (Scat + Man), e por último, a junção dos eletrodos de ecossistemas distintos (Mcat e Scat + Man e San).

Tabela 11 - Sistemas formados pela combinação de pares de consórcio e suas respectivas produções de energia.

Sistemas Formados	Produção de energia (V)
Manguezal cátodo (Mcat) + Manguezal ânodo (Man)	0,38
Semiárido cátodo (Scat) + Semiárido ânodo (San)	0,41
Manguezal cátodo (Mcat) + Semiárido ânodo (San)	0,52
Semiárido cátodo (Scat) + Manguezal ânodo (Man)	0,36
(Mcat) e (Scat) + (Man) e (San)	0,30

Fonte: Elaborado pela autora.

Uma vasta gama de microrganismos dos três domínios da vida pode produzir corrente elétrica e transferir elétrons para os ânodos de diferentes tipos de sistemas bioeletroquímicos (BRUCE *et al.*, 2019).

Na tabela 11, observa-se a que o ecossistema Semiárido apresentou maior produção de energia (0,41V), isto pode ser interpretado pela adaptação das bactérias ao meio (MFC), meio pobre em nutrientes, em contraste com as características do seu ecossistema de origem.

Entre as combinações de consórcios realizadas, houve maior produção quando combinados os consórcios (Mcat + San), apresentando (0,52) de produção de energia. Quando combinados consórcios de um mesmo eletrodo e ecossistemas diferentes, por meio da mistura

dos caldos (MFC) em um único tubo, houve diminuição da energia produzida anteriormente e não um somatório dos sistemas.

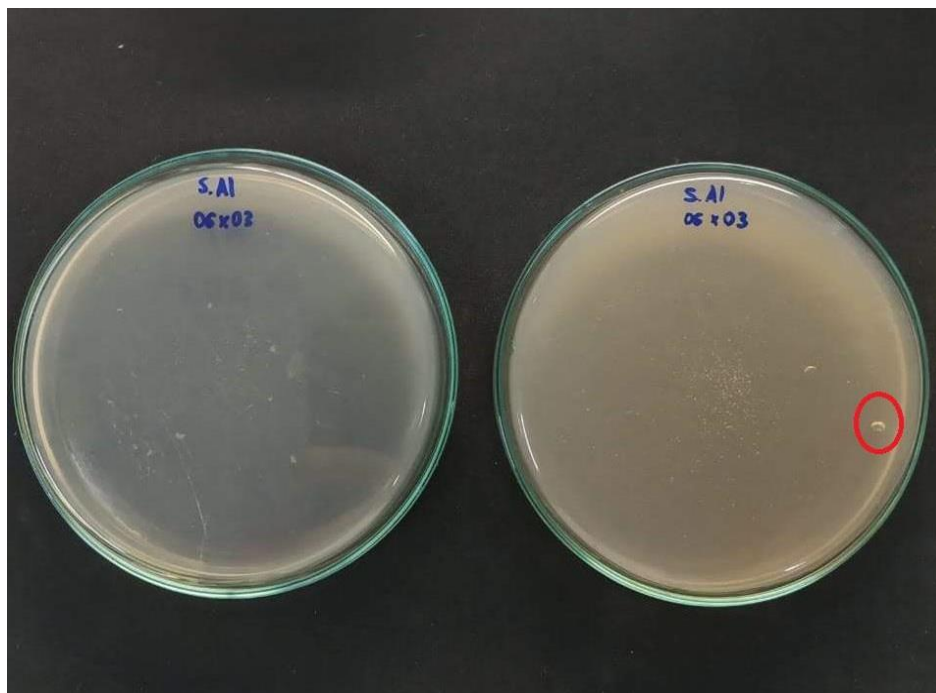
Isto pode ser interpretado pelo fato da medição de energia ter sido realizada imediatamente após a transferência do caldo para outro recipiente, outro fato se deve a taxa de velocidade de adesão dos novos microrganismos aos eletrodos da nova solução, precisando de um maior período de tempo para que haja formação de biofilme nos eletrodos.

E ainda, a ocorrência de antagonismo entre os microrganismos de consórcios diferentes impossibilita as relações mutualísticas, podendo haver competição por nutrientes, e alguns microrganismos ou consórcios serem extinguidos. Embora o antagonismo seja existente entre os consórcios microbianos, as interações antagonicas entre os microrganismos levariam um tempo maior para ocorrer, necessitando de um maior período de tempo para crescimento e adaptação às novas condições do novo “*habitat*”, com novos organismos, condições limitadas de nutrientes e substratos.

5.7 Teste de produção de gás em placa

Dentre as oito placas testadas, a placa de Semiárido ânodo (San) apresentou formação de gás em uma das placas, sendo que a réplica da mesma não apresentou formação de gás, o restante das placas (seis) não apresentou formação de gás. Todas as placas apresentaram crescimento microbiano, ficando evidente a atividade microbiológica dos consórcios. Na figura 13 é possível observar a formação de uma pequena bolha de gás produzido em umas das placas de (San).

Figura 13 - Consórcio de San em ágar MFC.



Fonte: autora.

A não produção de gás nas placas facilita a aderência das bactérias aos eletrodos (cobre e alumínio) colocados no sistema, uma vez que a presença de gás em ágar e consequente formação de vacúolos no mesmo, impede o contato direto do ágar com os eletrodos e consequente a aderência das bactérias, dificultando a condução de energia e estabilidade do sistema.

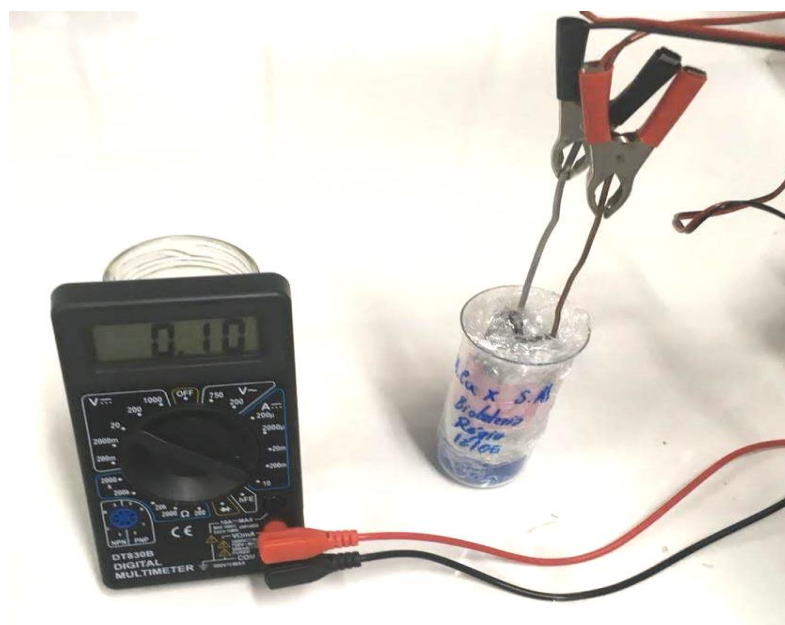
5.8 Sistema de biobateria em meio sólido

Na figura 14, observa-se a medição de eletricidade do sistema de biobateria em meio sólido, composto pelos consórcios Manguezal cátodo (Mcat) e Semiárido ânodo (San), sistema que obteve a maior produção de energia em meio líquido, sendo eleito para compor o sistema sólido.

. Foi realizada uma medição de produção de energia imediatamente após a montagem do sistema em meio sólido, sendo o resultado de 0,0 V de produção de energia. Isto pode ser interpretado pelo fato de as bactérias ainda não terem se aderido aos fios

condutores (eletrodos), pois necessitam de um maior período de tempo para que ocorra a agregação.

Figura 14 - Medição do sistema de biobateria em meio sólido.



Fonte: autora.

Um dia (24h) após a montagem do sistema, realizou-se a medição de energia, sendo produzidos 0,2 V. Isto demonstra que em um tempo maior de crescimento as bactérias já conseguem se aderir aos eletrodos, produzindo energia pela corrosão lenta dos mesmos e consumo dos nutrientes disponíveis no meio MFC.

Durante os dias 7 dias de medição, a quantidade produzida apresentou-se instável, variando ao longo dos dias, não ocorrendo de forma crescente. No quinto dia de medição, ocorreu a maior produção de energia do sistema, sendo esta de 0,29 V produzidos. Estas variações podem ser caracterizadas pelo fato de adesão aos fios não ocorrer de forma intensa, pois ao montar o sistema observou-se que o ágar não ficou em contato direto com os fios, pois a estrutura do ágar é muito frágil, podendo haver rupturas mesmo com pouco atrito.

6 CONCLUSÃO

Foi possível realizar a prospecção de bactérias dos solos dos ecossistemas testados e selecionar estirpes para formação de consórcios baseados pelos resultados dos testes de antagonismo e de aderência em vidro, e realizar combinação dos consórcios bacterianos formados para a produção de energia.

As bactérias dos solos dos dois ecossistemas testados apresentaram potencial energético para a elaboração de uma tecnologia alternativa sustentável, no entanto, não foi possível otimizar a produção de energia pelos microrganismos neste experimento, sendo a produção ainda insuficiente quando comparada a produção de outros sistemas tradicionais.

Para o andamento da pesquisa são necessários mais estudos e experimentos para conseguir aprimorar a produção de energia em meio sólido. Buscando meios mais eficientes de agrupamentos de consórcios, de modo que eles fiquem isolados e não ocorra a inibição de crescimento de um ou mais consórcios, visando a otimização do sistema, e assim, a construção de um protótipo sustentável com capacidade de geração de energia igual ou até mesmo superior às pilhas baterias, comparando a eficiência entre ambas as tecnologias.

É necessário um maior comprometimento dos fabricantes de pilhas e baterias com a destinação final e ambientalmente correta das mesmas, e ainda, sugere-se a implementação de programas de educação ambiental para a população, para que a mesma tenha acesso à informação do descarte adequado e das consequências ambientais e para a saúde causados pelo descarte incorreto.

REFERÊNCIAS

ABDALLAH, F.B *et al.* Adherence assays and slime production of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus*. **Brazilian Journal of Microbioly**, [S. l.], v. 40, n. 2, p.394-398, 2009. Available at: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822009000200033> Access in: 15 June 2019.

ABINEE. Associação Brasileira da Indústria Elétrica e Eletrônica. **A indústria elétrica e eletrônica impulsionando a economia verde e a sustentabilidade**. Jun., 2012. Disponível em: <<http://www.abinee.org.br/programas/imagens/abinee20.pdf>>. Acesso em: 14 jun. 2019.

ABINEE. Associação Brasileira da Indústria Elétrica e Eletrônica. **Programa ABINEE Recebe Pilhas**: cartilha informativa. 2017. Disponível em: <<http://www.abinee.org.br/informac/arquivos/pilhas.pdf>>. Acesso em: 14 jun. 2019.

AFONSO, J. C.; BARANDAS, A. P. M. G.; SILVA, G. A. P.; FONSECA, S. G. Processamento da pasta eletrolítica de pilhas usadas. **Química Nova**, [S. l.], v. 26, n. 4, jul.-ago. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422003000400022>. Acesso em: 14 jun. 2019

BAPTISTA, N. Q. [Semiárido] **Articulação no Semi-Árido Brasileiro**. [201-]. Disponível em: <<http://www.asabrazil.org.br/26-noticias/ultimas-noticias/994-asa---sociedade-civil-na-constru%C3%A7%C3%A3o-de-pol%C3%ADticas-p%C3%BAblicas-para-a-conviv%C3%A2ncia-com-o-semi%C3%A1rido>> Acesso em: 02 jun. 2018

BAPTISTA, N. Q.; CAMPOS, C. H. **Convivência com o semiárido brasileiro**: autonomia e protagonismo social. Brasília: Editora IABS, 2013, p. 45-50. Disponível em: <http://plataforma.redesan.ufrgs.br/biblioteca/mostrar_bib.php?COD_ARQUIVO=17773>. Acesso em: 02 jul. 2018.

BITTIHN, P.; DIN, M. O.; TSIMRING, L. S.; HASTY, J. Rational engineering of synthetic microbial systems: from single cells to consortia. **Current Opinion in Biotechnology**, [S. l.], v.45, p. 92-99, 2018. Available at: <<https://doi.org/10.1016/j.mib.2018.02.009>> Access in: 15 June 2019.

BOCCHI, N.; FERRACIN, L. C.; BIAGGIO, S. R. **Pilhas e baterias**: Funcionamento e impacto ambiental. 2000. Disponível em: <<http://qnesc.s bq.org.br/online/qnesc11/v11a01.pdf>>. Acesso em: 15 abr. 2018.

BRUCE, E. L.; RUGGERO, R.; ALA'A, R.; PASCAL E, S. Electroactive microorganisms in bioelectrochemical systems. **Nature Reviews Microbiology**, [S. l.], v. 17, p. 307-319, 2019. Available at: <<https://www.nature.com/articles/s41579-019-0173-x>>. Access in: 15 June 2019.

CAPODAGLIO, A. G.; MOLOGONI, D.; DALLAGO, E.; LIBERALE, A.; CELLA, R.; LONGONI, P.; PANTALEONI, L. Microbial fuel cells for direct electrical energy recovery from urban wastewaters. **The Scientific World Journal**, [S. l.], p. 1-8, 2013. Available at: <<https://www.hindawi.com/journals/tswj/2013/634738/>>. Access in: 10 June 2019.

CAVASSIN, E. D.; NOWAKONSKY, A. V.; LEVY, C. E. **Procedimentos laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica**. In: Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção em serviços de saúde. Editora Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA), módulo 4, 46 p., 2013. Disponível em: <<https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/procedimentos-laboratoriais-da-requisicao-do-exame-a-analise-microbiologica-e-laudo-final>>. Acesso em: 01 mai. 2019.

CHAUDHURI, S. K.; LOVLEY, D. R. Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells. **Nature Biotechnology**, [S. l.], v. 21, n. 10, p. 1229-1232, 2003.

CHRISTENSEN, G. D.; SIMPSON, W. A.; YOUNGER, J. J.; BADDOUR, L. M.; BARRETT, F. F.; MELTON D. M.; BEACHEY, E. H. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. **Journal of Clinical Microbiology**, [S. l.], v. 22, p.996-1006, 1985. Available at: <<https://pdfs.semanticscholar.org/318b/5853c4f2d9e5063ed3c8d56cbf2c1744f517.pdf>>. Access in: 10 June 2019.

DUBEY, S. K.; TRIPATHI, A. K.; UPADHYAY, S. N. Exploration of soil bacterial communities for their potential as bioresource. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 97, p. 2217-2224, 2006. Available at: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852405003068>>. Access in: 29 June 2018.

FAGUNDES, A. B.; TOKARZ, B.; PEREIRA, D.; BEUREN, F. H.; CAMPOS, D. B. **Logística reversa de pilhas e baterias no Brasil: uma contextualização considerando o Programa ABINEE Recebe Pilhas (PARP)**. Congresso Internacional de Administração, 2017, Ponta Grossa - PR. Disponível em: <<http://www.admpg.com.br/2017/down.php?id=2994&q=1>>. Acesso em: 14 jun. 2019.

GERLING, C *et al.* Manual de ecossistemas marinhos e costeiros para educadores. São Paulo: Editora comunicar, 2016. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/ManualEcossistemasMarinhoseCosteiros3.pdf>>. Acesso em: 14 abr. 2019.

GHANGREKAR, M. M.; SHINDE, V. B.; Microbial fuel cell: a new approach of wastewater treatment with power generation. **International Workshop on R&D Frontiers in Water and Wastewater Management**, Nagpur, India, Citeseer, 2006, p. 20-21. Available at: <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.595.9025&rep=rep1&type=pdf>>. Access in: 10 May 2019.

HAYS, S. G.; PATRICK, W. G.; ZIESACK, M.; OXMAN, N.; SILVER, P. A. Better together: engineering and application of microbial symbioses. **Current Opinion in Biotechnology**, [S. l.], v. 36, p.40–49, 2015. Available at: <<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.08.008>> Access in: 15 June 2018.

HOLGUIN, G.; VAZQUEZ, P.; BASHAN, Y. The role of sediments microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview. **Biology and Fertility of Soils**, [S. l.], v. 33, p. 265-278, 2001. Available at: <<http://www.bashanfoundation.org/gmaweb/pdfs/therole.pdf>>. Access in: 02 July 2018.

IRIE, Y. *et al.* Pseudomonas aeruginosa biofilm matrix polysaccharide Psl is regulated transcriptionally by RpoS and post-transcriptionally by RsmA. **Molecular microbiology**, [S. l.], v. 78, p. 158-172, 2010. Available at: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2958.2010.07320.x>>. Access in: 15 June 2019.

KEMERICH, P. D. C.; MENDES, S. A.; VORPAGEL, T. H.; PIOVESAN, M. Descarte indevido de pilhas e baterias: a percepção do problema no município de Frederico Westphalen - RS. **REGET**, [S. l.], v.8, n.8, p. 1680-1688, set-dez. 2012. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/reget/article/view/6319/pdf_1>. Acesso em: 13 abr. 2019.

LEITE, L. F. C; ARAÚJO, A. S. **Ecologia Microbiana do solo**. 1. ed. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2007. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/69637>>. Acesso em: 01 jun. 2019.

LIANG, J.-B.; CHEN, Y.-Q.; LAN, C.-Y.; TAM, N.F.Y.; ZAN, Q.-J.; HUANG, L.-N. Recovery of novel bacterial diversity from mangrove sediment. **Marine Biology**, [S. l.], v. 150, p. 739-747, 2007. Available at: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00227-006-0377-2>>. Access in: 02 June 2019.

LINCOPAN, N.; TRABULSI, L.R. *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbiologia**. 5^a ed. São Paulo, Atheneu, p. 369-381, 2008.

LOGAN, B. E.; RABAEY, K. Conversion of wastes into bioelectricity and chemicals using microbial electrochemical technologies. **Science**, [S. l.], v. 337, p. 686-690, 2012. Available at: <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.727.7804&rep=rep1&type=pdf>>. Access in: 01 May 2018.

LOVLEY, D. R. Electromicrobiology. **Annual Review of Microbiology**, [S. l.], v. 66, p. 391-409, 2012. Available at: <<https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-micro-092611-150104>>. Access in: 02 July 2018.

LOVLEY, D. R.; PHILLIPS, E. J. P. Novel mode of microbial energy metabolism: organic carbon oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron or manganese. **Applied and Environmental Microbiology**, [S. l.], 1988, v. 54, p. 1472–1480. Available at: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC202682/>>. Access in: 02 July 2018.

PAUL, E. A.; CLARK, F. E. **Soil microbiology and biochemistry**. 3 ed. San Diego: Academic Press, INC., 2007. 28 P. Available at: <<http://csmi.issas.ac.cn/uploadfiles/Soil%20Microbiology,%20Ecology%20&%20Biochemistry.pdf>>. Access in: 02 July 2018.

MADIGAN, M. T; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2016.

MARTINS, M. A. **Microbiologia do Solo**. [201-]. Disponível em: <http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/LSOL_345_1113400965.pdf>. Acesso em: 20 jun.2018.

MERLE, G.; WESSLING, M.; NIJMEIJER, K. Anion exchange membranes for alkaline fuel cells: A review. **Journal of Membrane Science**, [S. l.], v. 377, n. 1, p. 1-35, 2011. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/233413969_Anion_exchange_membranes_for_alkaline_fuel_cells_A_review>. Access in: 02 June 2019.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. UFRPE, Imprensa Universitária, Recife, 2005, p.398. Disponível em: <<https://ppgfito.ufersa.edu.br/wp-content/uploads/sites/45/2015/02/Michereff-et-al.-2005.pdf>>. Acesso em: 15 jun. 2019

MOREIRA, J. L. B.; CARVALHO, C. B. M.; FROTA, C. C. **Visualização Bacteriana e Colorações**. 1. ed. Fortaleza: Imprensa Universitária da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, 2015, 68p. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/16672/1/2015_liv_jlbmoreira.pdf> Acesso em: 15 jun. 2019

MOREIRA, F. M. S; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/departamentos/lso/arquivos_aula/LSO_400%20Livro%20-%20Microbiologia%20e%20bioquimica%20do%20solo.pdf>. Acesso em: 19 mai. 2019.

NAGARAJAN, H. **Electromicrobiology: a systems perspective**. 2012. Dissertation (Doctor of Philosophy) - University of California, San Diego, 2012. Available at: <<https://cloudfront.escholarship.org/dist/prd/content/qt2r80r0zp/qt2r80r0zp.pdf?t=nqpz44>>. Access in: 02 June 2019.

NISENBAUM, M. A. **Pilhas e Baterias** [2008?]. Disponível em: <http://web.ccead.puc-rio.br/condigital/mvsl/Sala%20de%20Leitura/conteudos/SL_pilhas_e_baterias.pdf>. Acesso em: 20 jun.2018.

OLIVEIRA, A. H. P. **Fontes alternativas de energia com origem microbiana: células de combustível e nanoestruturas supercapacitivas**. 111 f. Tese (Doutorado em Engenharia Industrial) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2018. Disponível em: <<https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/28533/1/TESE%20FINAL%20-%20ARIADNE.pdf>>. Acesso em: 02 jun. 2019.

PEETERS, E *et al.* Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. **Journal of Microbiological Methods**, [S. l.], v. 72, p. 157-165, 2008. Available at: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701207003909>> Access in: 15 June 2019.

POTTER, M. C. Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds. **Proceedings of the Royal Society of London**, série B, [S. l.], v. 84, n. 571, p. 260-276, 1911. Available at: <<https://archive.org/details/philtrans07533603/page/n1>>. Access in: 02 June 2019.

RABAEY, K.; VERSTRAETE, W. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. **Trends in Biotechnology**, [S. l.], v. 23, n. 6, p. 291–298, 2005. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/7819936_Microbial_Fuel_Cells_Novel_Biotechnology_for_Energy_Generation>. Access in: 29 Apr 2019.

SANDERS, E. R. Aseptic Laboratory Techniques: Plating Methods. **Journal of Visualized Experiments**, [S. l.], v. 63, p. 1-18, 2012. Available at: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4846335/>>. Access in: 01 May 2019.

SCHNEIDER, K. K. **Modelos Analíticos na Predição do Tempo de Vida de Baterias Utilizadas em Dispositivos Móveis**. 2011. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Modelagem Matemática, Programa de Pós-graduação em Modelagem Matemática, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - Unijuí -, Ijuí/RS, 2011. Disponível em: <<http://bibliodigital.unijui.edu.br:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/263/Dissertacao%20Keila%20Kleveston%20Schneider.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 07 mai. 2019.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. **Grupo de ecossistemas: manguezal, marisma e apicum**. São

Paulo, 2000. Disponível em:

<http://rodadas.anp.gov.br/arquivos/Round7/arquivos_r7/PERFURACAO_R7/refere/manguezal_marisma_apicum.pdf>. Acesso em 10 abr. 2019.

SUÇUARANA, M. S. **Flora da Caatinga**, [S. l.], [201-]. Disponível em:

<<https://www.infoescola.com/biomas/flora-da-caatinga/>>. Acesso em: 02 jul. 2018.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017, 964 p.

TYAGI, A.; DWIVEDI, S. P.; MISHRA, S.; SRIVASTAV, A. Studies on the optimization of bioelectricity production from industrial and domestic waste using immobilization of microbial cells. **ISABB Journal of Biotechnology and Bioinformatics**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 18-25, 2012. Available at:

<https://www.researchgate.net/publication/233537482_Studies_on_the_optimization_of_bioelectricity_production_from_industrial_and_domestic_waste_using_immobilization_of_microbial_cells>. Access in: 29 May 2019.

VAGHARI, H.; JAFARIZADEH-MALMIRI, H.; BERENJIAN, A.; ANARJAN, N. Recent advances in application of chitosan in fuel cells. **Sustainable Chemical Processes**, [S. l.] v. 1, n. 1, p. 1-16, 2013. Available at:

<<https://sustainablechemicalprocesses.springeropen.com/articles/10.1186/2043-7129-1-16>>. Access in: 26 Apr 2019.

WANG, K *et al.* Proteomic analysis of protein methylation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Proteomics**, [S. l.] v. 114, [S.n] p. 226 -233, 30 January 2015.

Available at:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1874391914003935?via%3Dihub>>.

Access in: 26 Apr 2019.

WOLFF, E. **Reciclagem, tratamento e disposição segura das pilhas zinco-carbono e alcalinas de manganês**. 2001. 119 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG - Minas Gerais, 2001. Disponível em: <<http://www.smarh.eng.ufmg.br/defesas/25M.PDF>>. Acesso em: 02 jun. 2019.

YOSHIDA, K. *et al.* A novel convenient method for high bacteriophage titer assay. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 53, p. 315-6, 2009. Available at:

<<https://academic.oup.com/nass/article/53/1/315/1099824>>. Access in: 29 Apr 2019.