



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA MECÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECANICA

KALINE ARAÚJO SOARES

CONSTRUÇÃO E OPERAÇÃO DE UMA CÉLULA COMBUSTIVEL MICROBIANA
COM ANÁLISE DE BACTÉRIAS ELETROATIVAS

FORTALEZA

2024

KALINE ARAÚJO SOARES

**CONSTRUÇÃO E OPERAÇÃO DE UMA CÉLULA COMBUSTIVEL MICROBIANA
COM ANÁLISE DE BACTÉRIAS ELETROATIVAS**

Dissertação apresentada a Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica do Centro de Tecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Mecânica. Área de concentração: Energias Renováveis (Biomassa)

Orientador: Prof. Dra. Fernanda Leite Lobo

FORTALEZA

2024

KALINE ARAÚJO SOARES

**CONSTRUÇÃO E OPERAÇÃO DE UMA CÉLULA COMBUSTIVEL MICROBIANA
COM ANÁLISE DE BACTÉRIAS ELETROATIVAS**

Dissertação apresentada a Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica do Centro de Tecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Mecânica. Área de concentração: Energias Renováveis (Biomassa)

Aprovada em: 16 / 02/ 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Fernanda leite lobo (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. André Valente Bueno
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Mona Lisa Moura
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Carla Silva
Faculdade de ciências da universidade de Lisboa (FCUL)

AGRADECIMENTOS

À Instituição Funcap, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

A Profa. Dra. Fernanda Leite Lobo, pela excelente orientação.

Aos professores participantes da banca examinadora André Valente Bueno e Mona Lisa Moura, pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos laboratórios de hidrogênio e máquinas térmicas e de planctologia pelo espaço cedido e pelo apoio.

Aos ICs do laboratório Ana Carolina, Lucas Ewerton, Alef Pinheiro pelo apoio, disponibilidade e companheirismo durante todo o tempo no laboratório.

Aos meus amigos e colegas de laboratório Claudécir Júnior e Renno Sousa toda disponibilidade e apoio dentro do LHMT.

Ao Samuel Costa por todo apoio e companheirismo nessa trajetória sem você não teria conseguido.

"Lembre-se de olhar para as estrelas e não para os seus pés. Tente dar sentido ao que você vê e se pergunte sobre o que faz o universo existir. Seja curioso. E, por mais difícil que a vida possa parecer, sempre há algo que você pode fazer e ter sucesso. Importa que você não desista." - Stephen Hawking, 2010.

RESUMO

Nos últimos anos, os sistemas bioeletroquímicos têm ganhado destaque devido às crescentes preocupações com a escassez de água. Em particular, as células de combustível microbianas (MFCs) mostraram seu potencial em converter a energia química presente em compostos orgânicos em eletricidade, por meio de processos catalíticos mediados por microrganismos. Além de prometerem a geração de eletricidade renovável, esses sistemas desempenham um papel fundamental na remoção de compostos orgânicos de águas residuais, caracterizando-se por seu baixo consumo de energia e água, biocatalisadores autossustentáveis, alta eficiência de conversão e custos reduzidos. Onde desenvolveu e avaliou os sistemas bioeletroquímicos MFC (Microbial Fuel Cell) – Célula combustível microbiana, além da obtenção de dados da performance de bactérias eletroativas em Fortaleza/ CE. Os resultados experimentais demonstraram que os MFCs operados em modo batelada alimentados por 144 dias (MFC1) e (MFC2) 125 dias produziram máximas de ~500 mV, com tempos de ciclo batelada variando em torno de 2 dias. Observou-se um aumento significativo no crescimento microbiano nas MFC1 e MFC2, juntamente com a estabilização das células. Os dados também revelaram variações nas configurações de pH, temperatura e condutividade ao longo do experimento. Essa descoberta é particularmente promissora, pois indica que a produção da tensão de 550mV está vinculada a uma variedade de bactérias, diferindo significativamente de várias pesquisas que se concentram nos gêneros *Geobacter* e *Shewanella* como os principais protagonistas em células a combustível microbianas portanto nesse estudo de gêneros predominantes foi *Camamonas*, *Serratia*, *Paraclostridium*, *Bacillus* e *Clostridium*. Destaca-se que o MFC1 alcançou uma produção de $600 \pm 0,2$ mW/m², enquanto o MFC2 registrou $350 \pm 0,5$ mW/m². Esses resultados indicam uma associação da produção de tensão de 550mV com uma variedade de bactérias, ampliando a compreensão sobre os protagonistas em células de combustível microbianas. Conclui-se que o desenvolvimento da tecnologia de MFC não deve se basear apenas em culturas puras, mas também em culturas mistas, que se mostraram eficazes e robustas. Essas descobertas abrem novas possibilidades para explorar o potencial de diferentes gêneros bacterianos na eficiência e diversidade funcional dessas tecnologias.

Palavras-chave: energia renovável; sistemas bioeletroquímicos; bactérias eletroativas.

ABSTRACT

In recent years, bioelectrochemical systems have gained prominence due to increasing concerns about water scarcity. Particularly, microbial fuel cells (MFCs) have shown their potential to convert the chemical energy present in organic compounds into electricity through catalytic processes mediated by microorganisms. In addition to promising renewable electricity generation, these systems play a fundamental role in removing organic compounds from wastewater, characterized by their low energy and water consumption, self-sustainable biocatalysts, high conversion efficiency, and reduced costs. Where developed and evaluated MFC (Microbial Fuel Cell) bioelectrochemical systems – Microbial fuel cell, in addition to obtaining data on the performance of electroactive bacteria in Fortaleza/CE. Experimental results demonstrated that MFCs operated in batch mode for 144 days (MFC1) and 125 days (MFC2) produced maxima of ~500 mV, with batch cycle times varying around 2 days. A significant increase in microbial growth was observed in MFC1 and MFC2, along with cell stabilization. The data also revealed variations in pH, temperature, and conductivity settings throughout the experiment. This finding is particularly promising as it indicates that the production of 550mV voltage is linked to a variety of bacteria, differing significantly from various studies focusing on *Geobacter* and *Shewanella* as the main protagonists in microbial fuel cells. Therefore, in this study, the predominant genera were *Camamonas*, *Serratia*, *Paraclostridium*, *Bacillus*, and *Clostridium*. It is noteworthy that MFC1 achieved a production of 600 ± 0.2 mW/m², while MFC2 recorded 350 ± 0.5 mW/m². These results indicate an association of the 550mV voltage production with a variety of bacteria, expanding the understanding of the protagonists in microbial fuel cells. It is concluded that the development of MFC technology should not be based solely on pure cultures but also on mixed cultures, which have proven to be effective and robust. These findings open up new possibilities to explore the potential of different bacterial genera in the efficiency and functional diversity of these technologies.

Keywords: renewable energy; bioelectrochemical systems; electroactive bacteria.

LISTA DE TABELA

Tabela 1- Métodos utilizados na análise da comunidade microbiana	21
Tabela 2- Parâmetros com frequências e métodos analíticos de acordo com APHA (2022) ...	36
Tabela 3- Resumo dos resultados de Remoção de DQO e Eficiência Coulombica	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Ilustração de uma Célula Combustível Microbiana (MFC).....	20
Figura 2- Ilustração da transferência extracelular	26
Figura 3- Resumo das fases experimentais.....	29
Figura 4-Materiais utilizados para a construção da célula combustível microbiana (A) Célula de acrílico (B) Escova de carbono (Ânodo) (C) Tecido de carbono com platina, Carbon black e PTFE (Cátodo) (D) Tela de níquel (Cátodo) (E) Titânio (F) Grampos de jacarés em conexão com multímetro (G) resistores 1k Ω (H) Multímetro.	30
Figura 5- Representação lateral das camadas do cátodo.	31
Figura 6 - Materiais utilizados para a aplicação da camada de base de carbono e o processo de fabricação do cátodo de ar.	32
Figura 7 – Etapas da aplicação da difusão.....	33
Figura 8- Processo de inoculação da Célula Combustível Microbiana	34
Figura 9– Célula Combustível Microbiana em funcionamento.	35
Figura 10- Na primeira semana de operação da MFC1, foi observado um crescimento inicial do biofilme.....	39
Figura 11- O gráfico corresponde à segunda semana de operação da MFC1, onde se destaca uma fase de estabilização, na qual a célula atinge uma média de 570 mV.	40
Figura 12- O gráfico corresponde à terceira semana de operação da MFC1, onde se destaca uma fase de estabilização, na qual a célula atinge uma média de 550 mV.	41
Figura 13- Representação do gráfico, onde é possível observar o comportamento da célula de combustível microbiana, destacando uma fase de estabilização do biofilme que culmina no pico de 570 mV.	42
Figura 14- Apresentação do comportamento e desenvolvimento da MFC1 ao longo de todas as semanas equivalente ao primeiro mês.	43
Figura 15- Gráficos referentes às semanas equivalentes ao segundo mês de operação da MFC1, (A) gráfico referente à primeira semana (B) dados referentes à segunda semana (C) Dados referente a terceira semana (D) Gráfico com dados de todas as semanas equivalendo ao segundo mês.....	44
Figura 16- Gráfico representando as quatro semanas da MFC2, mostrando seu crescimento e	

estabilização do biofilme, (A) Primeira semana com a tensão máxima de 20mv (B) Segunda semana com o máximo de tensão de 500mv (C) Terceira semana com ciclos constantes e estáveis (D) Quarta semana com estabilidade do biofilme da MFC2.	45
Figura 17- Gráfico referente às semanas equivalente ao primeiro mês da MFC2, mostrando seu crescimento e comportamento do biofilme.	46
Figura 18- Gráfico representando cinco meses da MFC1, mostrando seu crescimento e estabilização do biofilme, (A) Primeiro mês (AGOSTO) com a tensão máxima de 550mv (B) Segundo mês (SETEMBRO)algumas oscilações mais bastante estável(C)Terceiro mês (OUTUBRO) com bastante oscilações causadas pela a instabilidade causado pelo cátodo e como também o labview, atingindo tensão de 550mv (D) Quarto mês (NOVEMBRO) com ciclos se estabilizando. (E) Quinto mês (DEZEMBRO) com ciclos constantes e estáveis semana com estabilidade do biofilme da MFC1.	47
Figura 19 - Gráfico representando cinco meses da MFC2, mostrando seu crescimento e estabilização do biofilme, (A) Primeiro mês (AGOSTO) com a tensão máxima de 550mv (B) Segundo mês (SETEMBRO)algumas oscilações por conta de um processo inadequado durante a troca do refil por uma inoculação(C)Terceiro mês (OUTUBRO) com bastante oscilações causadas pela a instabilidade causada, atingindo tensão de 550mv (D) Quarto mês (NOVEMBRO) com ciclos se estabilizando. (E) Quinto mês (DEZEMBRO) com ciclos constantes e estáveis semana com estabilidade do biofilme da MFC2.	48
Figura 20- Gráfico do teste LSV da MFC1.	52
Figura 21- Gráfico do teste LSV da MFC2 com 26 dias de operação.....	53
Figura 22- Gráfico do teste LSV da MFC2 com 41 dias de operação.....	54
Figura 23- Gráfico referente à MFC1 com 144 dias de operação	55
Figura 24 – Gráfico referente à MFC2 com 125 de operação	56
Figura 25- Análise da composição da amostra de lodo 1	58
Figura 26 - Análise da composição da amostra de lodo 2	59
Figura 27- Análise da composição da amostra do Ânodo da MFC2.....	61
Figura 28- Análise da composição da amostra do Ânodo da MFC2 (1.2)	62
Figura 29- Análise da composição da amostra do Ânodo da MFC1 (2.1)	64
Figura 30- Análise da composição da amostra do Ânodo da MFC1 (2.2)	65
Figura 31- Resumo das amostras avaliadas e sua abundância.....	66

Figura 32- Gráfico referente ao metabolismo das amostras de Bactérias	68
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MFC	Microbial Fuel Cell (Célula combustível microbiana)
MEC	Microbial eletrolysis cell (Célula de eletrolise microbiana)
BES	Sistemas bioeletroquímicos
16S rRNA	Sequenciamento genético
EAB	Bactérias eletroativas
TEM	Microscopia eletrônica de transmissão
EET	Transferência extracelular de elétrons
GEE	Gases de efeito estufa
AWE	Eletrólise de água alcalina
PEMs	Membranas de troca de prótons
AEMs	Membranas de troca de íons alcalinos
SOE	Eletrólise de água de óxido sólido
DQO	Demanda química de oxigênio
DET	Transferência extracelular direta de elétrons
MET	Transferência extracelular mediada de elétrons
PTFE	Polytetrafluoroethylene
PCR	Cadeia da polimerase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.2	Objetivos	17
1.2.1	Objetivo geral	17
1.2.2	Objetivos específicos	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	Sistemas bioeletroquímicos	18
2.2	Bactérias eletroativas	21
2.3	Transferência extracelular de elétrons	25
2.4	Tratamento de águas residuárias	27
3	MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1.	Construção da MFC	29
3.1.1.	Construção cátodo de ar	30
3.1.2.	Start-up e inoculação	33
3.2	Métodos analíticos	35
3.2.1.	Parâmetros físico-químicos	35
3.2.2	Parâmetros eletroquímicos	36
3.2.3	Análise microbiológica	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	37
4.1	Desempenho das células combustíveis microbianas	37
4.2	Parâmetros eletroquímicos	48
4.3	Teste LSV nas células combustíveis microbianas (MFC1) e (MFC2)	50
4.4	Análise microbiológica	56
5	CONCLUSÕES	69
	REFERÊNCIAS	70

1 INTRODUÇÃO

Há um consenso na busca de soluções que levem à descarbonização da economia, com o objetivo de reduzir as emissões de Gases de efeito estufa (GEE), na atmosfera, principal causa das mudanças climáticas. (Ecycle, 2021). Para reduzir o aquecimento global e garantir um futuro sustentável para o planeta, são necessárias reduções significativas nas emissões de GEE, especialmente CO_2 e CH_4 (Oeco, 2021). Para tanto, é necessário substituir os combustíveis fósseis por fontes de energia renováveis.

A energia representa o desafio mais crítico enfrentado pela humanidade (Ritter, 2003; Prado, 2021). Essa afirmação está confirmada com as estimativas atuais, que indicam que mais de 85% da energia consumida globalmente é proveniente de combustíveis fósseis, como petróleo, carvão e gás natural (Us energy information administration, 2019). Além disso, as projeções apontam que até o ano de 2250, as fontes de energia não sustentáveis derivadas de combustíveis fósseis serão esgotadas. Diante desse cenário, a produção de energia por meio de recursos renováveis tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, com particularidade de que até 2050, essas fontes podem representar aproximadamente 30% da produção total de energia (Us energy information administration, 2019).

Uma maneira crucial de transferência para a transição energética em direção a uma economia com baixas emissões de carbono envolve a exploração do hidrogênio H_2 proveniente de fontes limpas e renováveis, utilizado como uma alternativa aos recursos fósseis em processos industriais (Bezerra *et al.*, 2021). Além disso, os sistemas bioeletroquímicos estão em constante evolução tecnológica, focando na análise de reações eletroquímicas, tanto abióticas clássicas quanto físicas. É notável que cerca de 75% dos estudos nessa ampla área de pesquisa concentram-se nesses sistemas. Estas apresentam várias vantagens, tais como a capacidade de operar em baixas temperaturas, manter valores de pH próximos à neutralidade, utilizar biomassa como fonte de energia e causar um impacto ambiental moderado (Santoro *et al.*, 2017). Essas inovações e pesquisas indicam um caminho promissor para atingir um sistema energético mais sustentável e contribuir para um futuro de energia mais limpo e eficaz para a humanidade.

Dentro desse contexto, os sistemas biológicos para a produção de energia têm sido vistos com grande interesse, pois é possível utilizar recursos renováveis, inclusive resíduos, tais como águas residuárias e resíduos agroindustriais como matérias primas. O hidrogênio também surge como alternativa atraente de combustível, pois a sua combustão resulta em apenas água, ou seja, não emite gases tóxicos no meio ambiente (Kalinci; Hepbasli; Dincer, 2009; Pereira *et al.*, 2012).

O tratamento adequado antes do lançamento é necessário para evitar a degradação dos ecossistemas (Dareioti, *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2021). Além disso, é sabido que as águas residuárias em geral contêm uma grande quantidade de energia que é substancialmente desperdiçada (Lovley, 2006). A energia contida no esgoto é cerca de 9,3 vezes maior do que o exigido nas estações de tratamento (Heidrich; Curtis; Dolfing, 2011) e calcula-se que do esgoto sanitário pode se recuperar 9,5 kJ/L, a partir da oxidação dos compostos orgânicos (Logan, 2008).

Atualmente há vários métodos eficazes, aeróbios e anaeróbios, para o tratamento e remoção dos poluentes das águas residuárias. Dentre as possibilidades, os sistemas bioeletroquímicos apresentam-se como alternativa sustentável, pois auxiliam a remoção de substâncias orgânicas enquanto, simultaneamente, recuperam e geram energia renovável (Gadkari; Gu; Sadhukhan, 2018; Havisto *et al.*, 2019). Dentre esses, a Célula a Combustível Microbiana (MFC) é um sistema capaz de tratar águas residuárias e simultaneamente gerar energia, utilizando microrganismos como biocatalisadores, além da Célula de Eletrólise Microbiana (MEC) que produz biohidrogênio e bioeletricidade (Mcanulty *et al.*, 2017; Srivastava *et al.*, 2021).

Nos últimos anos, os sistemas bioeletroquímicos despertou grande interesse, assim como a problemática da escassez hídrica: os reatores bioeletroquímicos, em particular, as Células Microbianas (MFCs). Enquanto a falta de água se torna cada vez mais preocupante, esses mecanismos têm mostrado seu potencial ao converter a energia química armazenada em compostos orgânicos em eletricidade e hidrogênio, através da oxidação catalítica realizada por microrganismos. De forma análoga à necessidade de enfrentar a escassez de água, os mesmos oferecem não apenas a promessa de produção de eletricidade e hidrogênio renovável, mas também contribuem para a remoção de compostos orgânicos de águas residuais. Suas características positivas se assemelham à importância de conservar e preservar esse recurso vital: baixo consumo de energia e água na produção, biocatalisadores microbianos autossustentáveis, alta eficiência de conversão, baixo custo e redução da poluição. Assim como a escassez hídrica demanda soluções inovadoras, os reatores bioeletroquímicos surgem como uma alternativa promissora na busca por fontes de energia sustentáveis, paralelamente à preservação dos recursos naturais, incluindo a água (Zhang *et al.*, 2024; Hasany *et al.*, 2016).

A escassez hídrica no Ceará é um desafio crônico e significativo que afeta profundamente a região. O Ceará é um estado localizado no nordeste do Brasil, caracterizado por um clima semiárido com chuvas irregulares e altas taxas de evaporação. Esse cenário climático, aliado a fatores como a crescente demanda por água devido ao aumento populacional

e atividades econômicas, tem levado a sérios problemas de disponibilidade de água ao longo dos anos. Os principais fatores que contribuem para a escassez hídrica no Ceará incluem: Chuvas Irregulares, crescente demanda desmatamento e degradação ambiental, desperdício de água e mudanças. Sendo assim, os sistemas bioeletroquímicos são projetos inovadores que exploram a capacidade de microorganismos para converter compostos orgânicos proficientes do esgoto em energia elétrica através de processos redox. Uma característica interessante dos sistemas bioeletroquímicos é que eles podem ser desenvolvidos para operar sem a necessidade de água, dependendo do tipo de sistema e da configuração específica. Esta abordagem diversificada visa minimizar a dependência do processo tradicional de eletrólise da água, reduzindo assim a demanda por esse recurso essencial. A utilização da biomassa como fonte energética para a produção de hidrogênio oferece uma alternativa sustentável, alinhando-se ao objetivo de mitigar o impacto sobre os recursos hídricos em um cenário de escassez. É um passo crucial em direção à produção de hidrogênio verde de forma mais responsável e em harmonia com a disponibilidade de água, possibilitando avanços significativos na transição para uma matriz energética mais limpa e resiliente (De França *et al.*, 2018).

Portanto a eletrólise da água alimentada por fontes de energia renováveis possibilita o aumento na escala de produção de hidrogênio, ao mesmo tempo em que não são geradas emissões de CO_2 durante o processo. O hidrogênio produzido por meio da eletrólise da água apresenta alta pureza, chegando a 99,9%, e pode ser utilizado como reagente em diversos processos industriais. Existem diferentes sistemas de eletrólise desenvolvidos para a separação da água em seus componentes, incluindo a eletrólise de água alcalina (AWE), membranas de troca de prótons (PEMs), membranas de troca de íons alcalinos (AEMs) e eletrólise de água de óxido sólido (SOE). Embora esses sistemas utilizem diferentes materiais e condições de operação, os princípios básicos de funcionamento são os mesmos. Além disso, dependendo da temperatura de operação, é possível realizar a eletrólise da água em baixa temperatura ou alta temperatura, utilizando diferentes técnicas e materiais apropriados para cada caso. (Chi *et al.*, 2018).

Sendo assim, o hidrogênio pode ser utilizado como uma fonte de energia de baixo ou nulo carbono, dependendo de como é produzido. Ele desempenha um papel crucial em setores que são difíceis de eletrificar e atua como um vetor de armazenamento de energia, permitindo uma maior integração de fontes renováveis variáveis, como energia eólica, solar, entre outras, na matriz energética global. Visto dessa perspectiva, o hidrogênio é considerado um recurso com potencial para unir os mercados de combustíveis, elétrico, industrial e outros. Dessa forma, o hidrogênio não apenas contribui para uma descarbonização profunda da economia mundial,

mas também impulsiona uma dinâmica competitiva ampla e descentralizada ao conectar diferentes segmentos de mercado (Empresa de pesquisa energética, 2022).

Portanto nos últimos anos, o combustível de hidrogênio está exibindo talvez o melhor potencial como portador de energia alternativa e fonte de combustíveis fósseis convencionais. Comparado com outras fontes alternativas de energia, H_2 tem muitas vantagens. Em primeiro lugar, o hidrogênio é um combustível verde que é quase livre de emissões de CO_2 e outros poluentes, a queima de H_2 não contribui para as emissões de GEE, destruição do ozônio ou chuva ácida devido ao seu produto de oxidação ser apenas vapor de H_2O . Em segundo lugar, H_2 é um combustível de alto poder calorífico. Comparado com outros combustíveis gasosos, H_2 tem o maior conteúdo de energia por unidade de peso. Conteúdo energético de 120–142 MJ/kg para H_2 , outros possíveis biocombustíveis CH_4 : 50 MJ/kg ou etanol: 26,8 MJ/kg e 44 MJ/kg para gasolina. Em terceiro lugar, o H_2 pode ser derivado de uma ampla variedade de matérias-primas renováveis e resíduos domésticos. Assim, o H_2 pode ser rentável, limpo, sustentável e renovável. Em quarto lugar, o H_2 é uma matéria-prima importante para a indústria química. O hidrogênio pode ser produzido a partir de diversas matérias primas, incluindo combustíveis fósseis e fontes renováveis por processos químicos, termoquímicos, eletrolíticos, fotolíticos e biológicos (Sá; Cammarota; Ferreira-leitão, 2014).

Dessa forma, o objetivo desta pesquisa é desenvolver e avaliar sistemas bioeletroquímicos MFC (Microbial Fuel Cell) – Célula combustível microbiana, além da obtenção de dados da performance de bactérias eletroativas em Fortaleza/ CE.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

O objetivo principal é obter dados de Fortaleza / CE da performance de bactérias eletroativas em sistemas bioeletroquímicos MFC (Microbial Fuel Cell) – Célula combustível microbiana.

1.2.2 Objetivos específicos

- Selecionar inóculo de bactérias eletroativas;
- Construir as células combustíveis microbianas em laboratório;

- Analisar a performance bioeletroquímica com dados locais;
- Analisar comunidade microbiana do ânodo no modo MFC.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Sistemas bioeletroquímicos

A sigla BES (Bioelectrochemical Systems) é amplamente adotada pela comunidade científica, todavia pode-se utilizar também o termo Microbial Electrochemical Systems. Quase todos os BES possuem um princípio de funcionamento comum: um ânodo em que substratos biodegradáveis, como resíduos e compostos orgânicos, são oxidados por microrganismos e acabam gerando elétrons que podem ser utilizados de diversas formas no cátodo (Harnisch; Schröder, 2010; Logan; Rabaey, 2012).

Portanto os sistemas bioeletroquímicos (BES), englobam as células de Combustível Microbianas e as células de Eletrólise Microbiana que são amplamente reconhecidos pela geração sustentável de bioeletricidade e produção de biohidrogênio, respectivamente. Esses sistemas baseiam-se na oxidação de matéria orgânica no ânodo, que resulta na liberação de prótons e elétrons nas MFCs e MECs. Os elétrons fluem através de um circuito externo, enquanto os prótons se difundem através de uma membrana em direção à câmara catódica. Na presença de oxigênio, a redução dos prótons na câmara catódica de uma MFC resulta na formação de água e geração de eletricidade. Por outro lado, na ausência de oxigênio e com a aplicação de voltagem, os prótons são reduzidos a hidrogênio na câmara catódica de uma MEC (Jafary *et al.*, 2019).

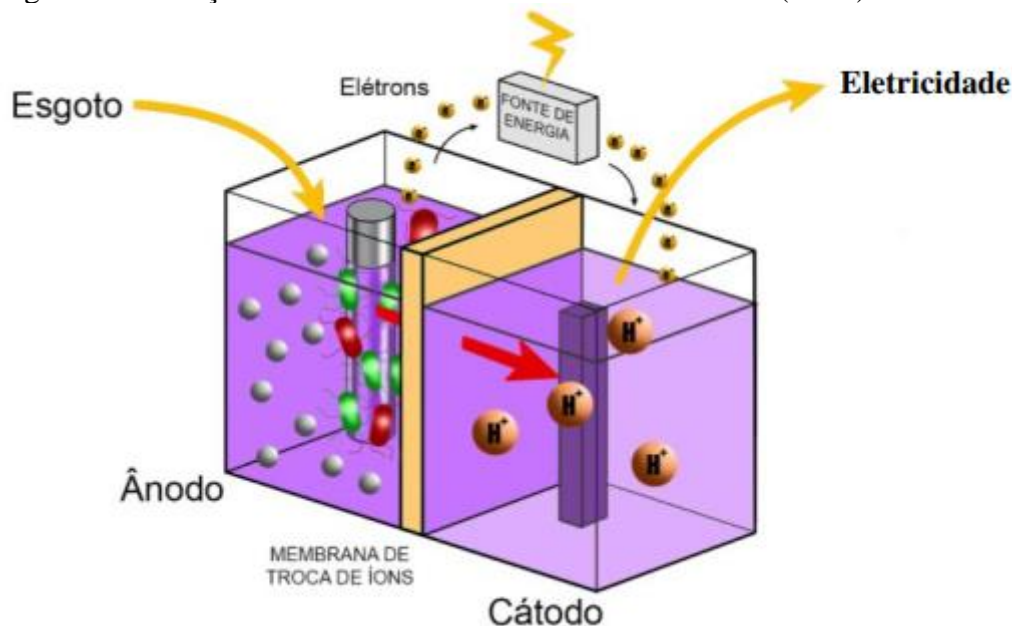
Tipos de mediadores e catalisadores químicos têm sido utilizados e estudados para as reações de oxidação e redução nas câmaras anódicas e catódicas das BESs, respectivamente. Esses compostos desempenham um papel crucial na promoção e aceleração das reações eletroquímicas envolvidas nos processos de geração de eletricidade e produção de hidrogênio. As BES representam uma abordagem promissora para a produção de energia sustentável, pois permitem a utilização de matéria orgânica como fonte de energia renovável e a conversão eficiente de energia química em eletricidade ou hidrogênio. O desenvolvimento contínuo de mediadores e catalisadores avançados nas BESs tem como objetivo melhorar ainda mais sua eficiência e viabilidade para aplicações futuras (Jafary *et al.*, 2019). A célula de eletrólise microbiana fornece uma maneira sustentável a partir de matérias orgânicas, (Huang, 2011) sendo um sistema bastante promissor para a produção de hidrogênio. (Croese, 2011).

As MFCs são o principal tipo de sistemas bioeletroquímicos que convertem biomassa espontaneamente em eletricidade através da atividade metabólica dos microrganismos. A MFC é considerada uma tecnologia sustentável promissora para atender às crescentes necessidades de energia, especialmente usando efluentes como substratos, que podem gerar eletricidade e realizar o tratamento de efluentes simultaneamente, podendo compensar os custos operacionais das estações de tratamentos (Lu *et al.*, 2009).

Diferentemente das células combustíveis inorgânicas, as células combustíveis microbianas operam em melhores condições de temperatura e pressão, empregam eletrólitos neutros e utilizam catalisadores de menor custo. (Shukla *et al.*, 2004). Destas, a MFC vem tendo uma maior visibilidade científica, em consequência ao emprego de uma variedade de substratos como efluentes, resíduos domésticos e industriais, para este dispositivo (Rabaey ; Vestraete, 2005). O uso desse sistema para produção de energia tem atraído à atenção de pesquisadores em todo o mundo. Portanto devem oferecer um duplo benefício: potencial remediação de efluentes e produção concomitante de energia renovável (Levin *et al.*, 2004).

Uma MFC Figura 1 utiliza microrganismos para catalisar a oxidação da matéria orgânica, gerando eletricidade, pela transferência de elétrons para um circuito externo, introduzido antes da etapa da redução de um aceitador de elétrons. (Kim, 2008). Os microrganismos degradam compostos orgânicos removendo elétrons desses compostos (oxidação) e liberando-os para um receptor final, como o oxigênio. No entanto, mesmo na ausência de oxigênio, certas bactérias podem transferir elétrons da oxidação de compostos orgânicos para sistemas fora da célula. Essas bactérias, conhecidas como bactérias exoeletrogênicas, encontraram aplicação como catalisadores biológicos em MFCs (Logan, 2009; Rachinski *et al.*, 2010).

Figura 1- Ilustração de uma Célula Combustível Microbiana (MFC)



Fonte: Autor, (2024).

Os microrganismos utilizados como biocatalisadores no ânodo podem ser culturas puras ou mistas, como o lodo anaeróbio de uma estação de tratamento biológico de efluentes, que constitui uma boa fonte de bactérias exoeletrogênicas (Pham *et al.*, 2006; Logan, 2009). Sendo assim, para um bom funcionamento dessa célula, basicamente, consiste no movimento simultâneo de elétrons do ânodo para o cátodo, através de um circuito externo e de prótons que atravessam uma membrana de troca de prótons, do ânodo para o cátodo. No compartimento cátodo, elétrons, prótons e oxigênio combinam-se na superfície do eletrodo do cátodo, formando água (Logan, 2009). Portanto o material condutor tem a função de coletar os elétrons produzidos metabolicamente e de meio suporte para adesão do biofilme, por isso o material deve ser inerte a reação bioeletrocatalítica. Para este fim vem se empregando materiais derivados do carbono, como, o tecido de carbono, placas e cilindros de grafite, carvão ativado ou espuma de carbono vítreo, que junto com o biofilme aderido formam o eletrodo do anodo (Kim *et al.*, 2008; Do *et al.*, 2018).

Assim, grandes esforços têm sido dedicados para melhorar a geração de energia MFC, otimizando as configurações e materiais do sistema. (Franks *et al.*, 2010), e progressos significativos foram feitos nos últimos anos. Como uma forma de superar esses desafios citados, as células de combustível microbianas têm atraído bastante atenção da comunidade científica devido ao seu grande potencial em possibilitar a recuperação de energia a partir de

águas de resíduos domésticos ou industriais ou até a partir de excrementos humanos em naves espaciais. Apresentando vantagens como longo tempo de vida e utilização de substâncias simples como açúcar (Vaghari *et al.*, 2013, Chen *et al.*, 2015). Porém, um dos grandes desafios a serem conquistados ainda está em possibilitar uma geração de energia em larga escala por parte das MFCs. Os sistemas de tecnologia de bioenergia possuem um enorme potencial para tratamento simultâneo de águas residuais e geração de energia elétrica ou produção de produtos químicos valiosos.

2.2 Bactérias eletroativas

As células a combustível microbianas são dispositivos eletroquímicos, similares à maioria das células a combustível, com exceção que a energia gerada no caso das MFCs tem origem nos microrganismos que catalisam as reações redox a partir de compostos orgânicos (Swanson *et al.*, 2008). Outra definição relaciona as MFCs a biorreatores nos quais há conversão de energia química presente nas ligações moleculares no substrato em eletricidade, através da atividade catalítica de bactérias associadas ao eletrodo (Holmes *et al.*, 2004; Rabaey *et al.*, 2005). Esses microrganismos são chamados de bactérias eletroativas (EAB). Em MECs, a interação de micróbios com outros componentes desempenha um papel crucial na produção de produtos combustíveis como o metano.

Vários métodos são usados para identificação e análise de comunidades microbianas. Como análises mais simples, como comparação do enriquecimento da biomassa microbiana, porosidade, cor, disposição e estrutura do biofilme, e análise de outras matérias ao redor dos microrganismos, microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e polimorfismo de conformação de fita simples (Hasany *et.al.*, 2018).

Tabela 1- Métodos utilizados na análise da comunidade microbiana

Método	Características
Catálogo de oligonucleotídeos de RNA ribossômico 16S	Existência ou inexistência de genes microbianos
Catálogo de oligonucleotídeos de DNA ribossomal 16S	Existência ou inexistência de genes microbianos

Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante (DGGE)	Comparação qualitativa e semiquantitativa de espécies bacterianas
Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição Terminal (T-RFLP)	Comparação reprodutível, qualitativa e semiquantitativa de espécies bacterianas
Análise Automatizada de Espaçadores Intragênicos Ribossomais (ARISA)	Comparação reprodutível, qualitativa e semiquantitativa de espécies bacterianas
Formil-Tetrahidrofolato Sintetase (FTHFS)	Identificação de bactérias acetogênicas
Hibridização In Situ de Fluorescência (FISH)	Visualização e mapeamento do material genético nas células bacterianas de um indivíduo
Polimorfismo de Conformação de Cadeia Única (SSCP)	Identidade reprodutível, qualitativa e quantitativa de espécies bacterianas
GS-FLX yrosequencing do gene 16S rRNA 454	Identidade reprodutível, qualitativa e quantitativa de espécies bacterianas
PCR Quantitativo em Tempo Real (QPCR)	Análise quantitativa da expressão gênica, genotipagem e detecção de bactérias
Microbalança de Cristal de Quartzo (QCM)	Medindo uma variação de massa por unidade de área de biofilme
GeoChip	Análise estrutural, microbianas potencial metabólico e diversidade de comunidades

Fonte: HASANY, 2018 modificado pelo autor.

Para o bom funcionamento nas MFCs, a transferência de elétrons da matéria orgânica (ou substrato) para os eletrodos é essencial. Compreender esta transferência de elétrons extracelular microbiana (EET) dá vantagem adicional para desenvolver novas estratégias para projetar MFCs de forma eficaz. Os micróbios proficientes em aceitar elétrons são conhecidos como eletrotróficos, enquanto os exoeletrogênios se referem aos micróbios que têm a capacidade de transferir elétrons extracelularmente. O EAB foi encontrado em vários

ambientes, como oceano e sedimentos marinhos, águas residuais domésticas e lodo de esgoto anaeróbico. Portanto diferentes micróbios podem ser desenvolvidos tanto no ânodo quanto no cátodo. Espécies gram-negativas, como *Geobacter* e *Shewanella* geralmente estão presentes no ânodo que oxida a matéria orgânica gerando um fluxo de elétrons (Pawar *et al.*, 2022).

As principais famílias das bactérias exoeletrogênicas estudadas atualmente são as famílias Geobacteraceae e Shewanellaceae, com destaque para os gêneros *Geobacter spp.* e *Shewanella spp.*, respectivamente, pois estes gêneros tem apresentado as maiores densidades de corrente (Logan *et al.*, 2019). A *Geobacter sulfurreducens* é a espécie exoeletrogênica mais comumente identificada em MFCs inoculadas com amostras microbianas altamente diversificadas e concentradas, por isto tem sido extensivamente estudada (Logan *et al.*, 2019). Além das cepas de *Geobacter spp.*, as cepas de *Shewanella spp.*, também têm sido usadas em dispositivos tipo MFCs, entretanto como característica específica produz biofilmes finos e cresce principalmente como células suspensas (Logan *et al.*, 2019).

Algumas espécies de bactérias já identificadas em MFCs montadas em laboratório são: *Shewanella putrefaciens*, *Geobacter sulfurreducens*, *Geobacter metallireducens* e *Rhodoferrum ferrireducens*, as quais são normalmente encontradas em sedimento marinho ou fluvial, e também em esgotos. Culturas puras de bactérias, como *Rhodoferrum ferrireducens*, ou *Geobacter sulfurreducens*, foram usadas para a preparação de células de combustível microbianas (MFCs), entretanto, o uso de culturas mistas, como as existentes em lodos de tratamento de esgoto, também já foi citado como material biológico eficiente. (Min, *et al.* 2005; Ieropoulos, *et al.* 2005).

As comunidades bacterianas exoeletrogênicas apresentam uma complexa diversidade de microrganismos, sendo que os pertencentes aos filos Protobacteria e Firmicutes são os mais abundantes (Beyenal; Babauta, 2015). Atualmente, *Geobacter*, *Shewanella* e *Pseudomonas* são as espécies mais investigadas e utilizadas como modelo de estudo (Korth *et al.*, 2015; Logan, 2009; Lovley, 2006; MD khudzari; Tartakovsky; Raghavan, 2016). Outras bactérias como *Rhodoferrum sp.*, *Klebsiella sp.*, *Aeromonas sp.*, *Paracoccus sp.*, *Escherichia coli*, *Geothrix sp.*, *Citrobacter sp.*, *Clostridium sp.*, *Enterobacter sp.* e *Burkholderia sp.* também têm demonstrado propriedades eletroativas (Dulon *et al.*, 2006; Feng *et al.*, 2014).

Por meio da aplicação da técnica de microscopia de tunelamento por varredura (STM), foi identificada a presença de extensões condutoras em espécies como *Geobacter* e *Shewanella* (Gorby, Y. A *et al.*, 2006). Quase simultaneamente, a existência de nanofios também foi confirmada, sendo este termo cunhado por Gorby para se referir a *G. Sulfurreducens*, mediante a utilização de outras metodologias de detecção (Logan, 2003).

Os organismos *Geobacter* são os mais abundantes que colonizam eletrodos em culturas mistas inoculadas ou comunidades naturais, especialmente sob condições estritamente anaeróbias. Dentre as espécies *Geobacter* a mais abundante é a *Geobacter sulfurreducens*, o que é consistente com a descoberta de que as cepas de *G. sulfurreducens* produzem as maiores densidades de corrente dentre as culturas puras, acompanhada pela alta eficiência de Coulomb. (Lehnen *et al.*, 2014). Sob condições típicas de PH neutro e salinidades relativamente baixas, as bactérias capazes de altas densidades de corrente são principalmente *Geobacter spp.*, com bactérias mais semelhantes a *Geobacter sulfurreducens* comumente identificado nos ânodos (Shehab *et al.*, 2013).

O gênero *Shewanella* é um representante da classe das Gammaproteobactérias, família *Shewanellaceae*, compondo um grupo de bactérias gram-negativas, móveis, baciliforme, oxidase positiva, comumente encontrada em ambiente marinho e isolada do trato digestivo de animais aquáticos. (Santos *et al.* 2014). Pesquisas mostram que a redução do íon férrico por bactérias da espécie *Shewanella* também envolve mediadores ligados à membrana da célula, através da identificação de proteínas envolvidas na redução mineral dos óxidos férricos, presentes na membrana plasmática, periplasma e outras membranas. Esta identificação foi feita por mutagenese e por estudos bioquímicos. (Myers, j. m *et al.*, 2001).

Já as bactérias da espécie *Pseudomonas aeruginosa* apresentam-se como bastonetes Gram-negativos, podendo ser observadas como células isoladas, aos pares, ou em curtas cadeias; são intensa ou suavemente curvadas, não esporuladas e aeróbicas estritas (exceto na presença de nitrato, circunstância em que cresce em condições anaeróbicas). É móvel em grau variado, normalmente apresentando apenas um flagelo polar. Essas bactérias podem ser facilmente identificadas nos meios de cultura comuns devido às características morfológicas das colônias e à produção difusa de pigmentos (Nouér, 2005).

As bactérias das espécies *P. aeruginosa* tornaram-se o alvo de pesquisas em MFCs devido à sua capacidade na produção de mediadores fenazínicos em meios de cultura com glicose e glicerol em meio alcalino (Soares *et al.* 2011). Já há evidências da transferência eletrônica entre espécies diferentes de micro-organismos. Foi observado que bactérias da espécie *Pelotomaculum thermopropionicum* produzem minúsculas terminações condutoras que se assemelham a apêndices filiformes (forma de pelos). Em culturas mistas, observou-se que as terminações podem conectar bactérias fermentativas a outras bactérias metanogênicas (*M. Thermoautotrophicus*) (Gorby, y. a *et al.*, 2005).

Os microrganismos extremofílicos prosperam em ambientes hostis onde outros organismos nem conseguem sobreviver. Extremófilos são taxonomicamente amplamente

distribuídos e são um grupo funcionalmente diverso que inclui termófilos, psicrófilos, acidófilos, alcalófilos, halófilos, barófilos, metalófilos e radiófilos. Os extremófilos têm o potencial de produzir biomoléculas de alta relevância para os setores biotecnológicos brancos, cinzas e vermelhos. O setor biotecnológico branco, também conhecido como biotecnologia branca ou biotecnologia industrial, concentra-se na utilização de organismos e sistemas biológicos para produzir produtos úteis em larga escala, como enzimas, proteínas, aminoácidos, lipídios, polissacarídeos, entre outros. O setor biotecnológico cinza, também chamado de biotecnologia ambiental ou biotecnologia cinza, envolve a utilização de organismos e processos biológicos para resolver problemas ambientais, como a remoção de poluentes, tratamento de efluentes industriais e recuperação de áreas degradadas. O setor biotecnológico vermelho, também conhecido como biotecnologia vermelha ou biotecnologia médica, concentra-se na utilização de organismos e tecnologias biológicas para a pesquisa, diagnósticas e tratamento de doenças humanas. (Cowan *et al.*, 2015)

Esses microrganismos produzem enzimas extremófilicas (extremozimas) e biomoléculas orgânicas protetoras (extremólitos) que transmitem características de sobrevivência em condições ambientais extremas. Até o momento, poucos extremófilos isolados de ambientes naturais extremos foram testados para serem capazes de altas taxas de EET para o ânodo de MECs operados sob condições extremas, como altamente alcalifílicos (*Geoalkalibacter ferrihydriticus*), halofílico (*Geoalkalibacter subterraneus*), e termofílico (*Thermincola ferriacetica* e *Thermonoanaerobacter pseudethanolicus*) condições (Badalamenti *et al.*, 2013; Parameswaran *et al.*, 2013; Lusk *et al.*, 2015.)

Diversos estudos relataram o enriquecimento de culturas mistas de exoeletrógenos e extremófilos altamente eficientes no ânodo de Tecnologias de Células a Combustível Microbianas com inóculos provenientes de diversas fontes naturais, como pântano salgado (Rousseau *et al.*, 2013), tapete microbiano salino (Miceli *et al.*, 2012) e lago salgado (Pierra *et al.*, 2015). Em conjunto, esses estudos sugerem que ambientes naturais extremos têm potencial para abrigar microorganismos capazes de realizar a Transferência Extracelular de Elétrons (EET) para o ânodo.

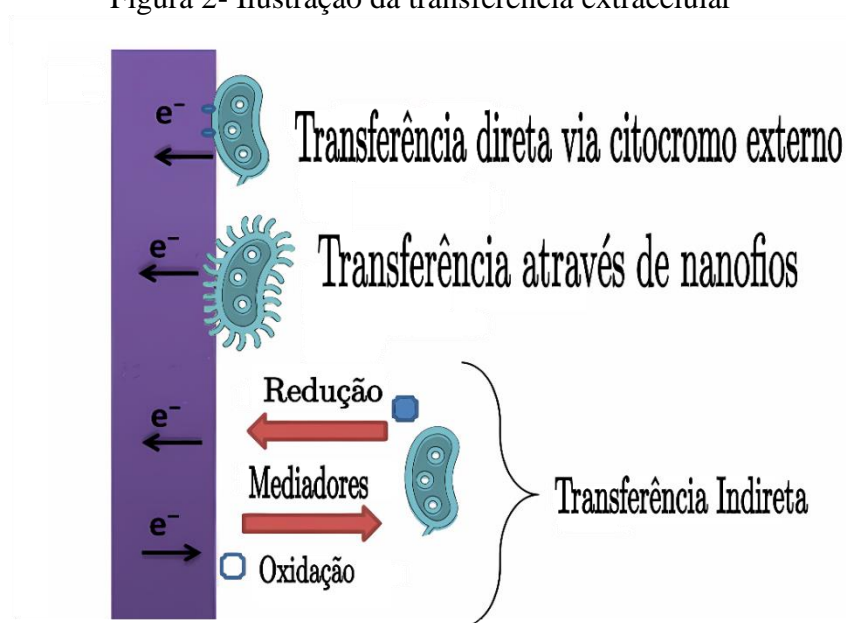
2.3 Transferência extracelular de elétrons

A transferência extracelular de elétrons (EET) é um notável processo bioeletroquímico utilizado por alguns microrganismos para crescimento, manutenção celular geral e troca de informações com microrganismos ou ambientes circundantes (Tahernia *et al.*, 2020). Onde

permite a transferência de elétrons entre células microbianas e materiais sólidos extracelulares, incluindo compostos metálicos de ocorrência natural e eletrodos artificiais (Kato *et al.*, 2015).

Os microrganismos transferem elétrons para o ânodo usando diferentes mecanismos (Logan *et al.*, 2019). Até o momento, dois tipos predominantes de EET foram considerados: 1) transferência extracelular direta de elétrons (DET) por nanofios de proteína condutiva ou pili (Lovley *et al.*, 2019) e citocromos do tipo c multi-heme redoxativos na superfície celular (Breuer *et al.*, 2015); e 2) transferência extracelular mediada de elétrons (MET) baseada em mediadores solúveis como transportadores de elétrons para transportar elétrons de células de bactérias para a superfície do eletrodo (Figura 2) (Yang; Yang, 2020).

Figura 2- Ilustração da transferência extracelular



Fonte: Autor (2024).

As bactérias que são capazes de fazer EET são definidas como bactérias eletroativas, mas também como exoeletrogênicos, bactérias eletroquimicamente ativas, bactérias que respiram ânodo, eletrígenos e outra variedade de termos (Logan *et al.*, 2008). Os BES são baseados em interações entre os microorganismos e os aceptadores de elétrons insolúveis durante a tensão de oxigênio ou condições anaeróbicas (Chen *et al.*, 2022). Algumas outras comunidades microbianas são conectadas eletricamente e realizam cooperação metabólica via transferência direta de elétrons entre espécies onde permite conexões elétricas entre microorganismos doadores e aceptadores de elétrons para compartilhar a energia disponível sob diferentes condições ambientais (Tahernia *et al.*, 2020). Especificamente, as bactérias podem usar pequenas moléculas orgânicas redox-ativas, geradas fora ou dentro das células, para

transportar elétrons entre compostos reduzidos e oxidados. O transporte de elétrons já foi relatado para várias espécies bacterianas diferentes, e as trocas de compostos de transporte podem até ligar sintroficamente diversos organismos na natureza. Os sistemas de biofilme em configurações geológicas e clínicas provavelmente são ambientes importantes para metabolismos que empregam transferência de elétrons extracelulares. Ambas as análises estruturais e funcionais sugerem que os transportes de elétrons e alguns fatores de virulência podem estar relacionados entre si (Hernandez *et al.*, 2001). Portanto as promessas de melhorar a EET em sistemas Bioeletroquímicos são fundamentais para muitas tecnologias emergentes, incluindo a geração de energia e produtos químicos a partir de resíduos ou fontes renováveis (Hu *et al.*, 2018).

2.4 Tratamento de águas residuárias

A geração de águas residuais e suas implicações na sociedade representam questões críticas em âmbito global. O crescimento econômico dos países está em ascensão, com diversos setores, como energia, saúde, transporte e infraestrutura, progredindo rapidamente. Esse avanço tem resultado no aumento da produção de águas residuais, que, por sua vez, contribui para a poluição da água, tanto em fontes superficiais quanto subterrâneas. No entanto, a poluição hídrica não é o único problema, pois o tratamento das águas residuais exige uma considerável quantidade de energia convencional, gerando emissões de gases de efeito estufa. Essa energia é obtida principalmente a partir de usinas termelétricas, que dependem inteiramente de combustíveis fósseis. Como resultado, grandes volumes de CO_2 e outros gases de efeito estufa são liberados por essas usinas, contribuindo significativamente para as mudanças climáticas. Devido ao crescimento contínuo da industrialização e da atividade econômica (Zhuang *et al.*, 2012).

Nos últimos tempos, as águas residuais são reconhecidas como uma fonte vital de energia, materiais (celulose, bioplásticos, fibras, alginato e metais) e nutrientes (fósforo e nitrogênio). Tecnologias eletroquímicas microbianas baseadas em Células de Combustível Microbianas (MFC) ou Células de Eletrólise Microbiana (MEC) oferecem a possibilidade de tratar biologicamente águas residuais e, ao mesmo tempo, recuperar energia. Explorar a cogeração de energia e hidrogênio em células de eletrólise microbiana pode tornar-se uma técnica alternativa para a produção descentralizada de hidrogênio, juntamente com uma estratégia de processamento de tratamento de águas residuais barata e eficaz. Esta é também uma forma inovadora de reduzir os gastos associados à produção de eletricidade e,

portanto, viabilizar todo o sistema. (Arun *et al.*, 2023)

Vários processos eletroquímicos foram relatados para tratamento de águas residuais, no entanto, ainda há uma necessidade de técnicas que sejam adequadas para uso eficiente e sustentável ao longo prazo. Os sistemas bioeletroquímicos é uma tecnologia relativamente nova no campo dos recursos renováveis que pode ser uma solução potencial para estes requisitos. A MFC utiliza metabolismo microbiano para gerar eletricidade. Quando as águas residuais são utilizadas como alimentação, as bactérias degradam a matéria orgânica, resultando em água mais limpa. A dupla utilidade, ou seja, geração de eletricidade e tratamento de águas residuais sem grande consumo de energia torna os sistemas extremamente vantajosos. (James *et al.*, 2022).

Os métodos de tratamento de águas residuais existentes são caros de implementar e requerem uma grande quantidade de energia elétrica e também os sistemas em utilização não geram receitas nem acrescentam valor às águas residuais a serem tratadas. O tratamento sustentável de águas residuais é uma ideia eficaz que pode potencialmente resolver os problemas de escassez de energia, esgotamento de recursos e poluição. Um processo de tratamento sustentável é comumente acordado para atingir o consumo mínimo de recursos, operação com energia neutra, desempenho de tratamento estável, alta qualidade de efluentes para atender aos requisitos de recuperação e reutilização de água, investimento e produção econômica equilibrados, forte equidade social e baixo impacto ambiental. (Li *et al.*, 2014)

Em geral, os contaminantes são removidos dos efluentes utilizando métodos físico-químicos e/ou biológicos, com a investigação focada em combinações de sistemas menos dispendiosas e eficazes ou em novas alternativas. MFC e MEC são as técnicas menos dispendiosas, pois utilizam microrganismos como biocatalisador e o biocatalisador envolve a oxidação da matéria orgânica e a transferência de elétrons para a superfície anódica para a produção de bioeletricidade (Arun *et al.*, 2023).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As MFCs foram desenvolvidas baseadas em um design compacto de câmara única. O estudo experimental está composto por Quatro fases, sendo a Fase 1: Desenvolvimento MFC e modificação; Fase 2: Inoculação e estabilização; Fase 3: Testes das MFCs, e Fase 4: Testes e amostras. A (Figura 3) se trata de um esquema das fases experimentais.

Figura 3- Resumo das fases experimentais



Fonte: Autor (2024).

3.1. Construção da MFC

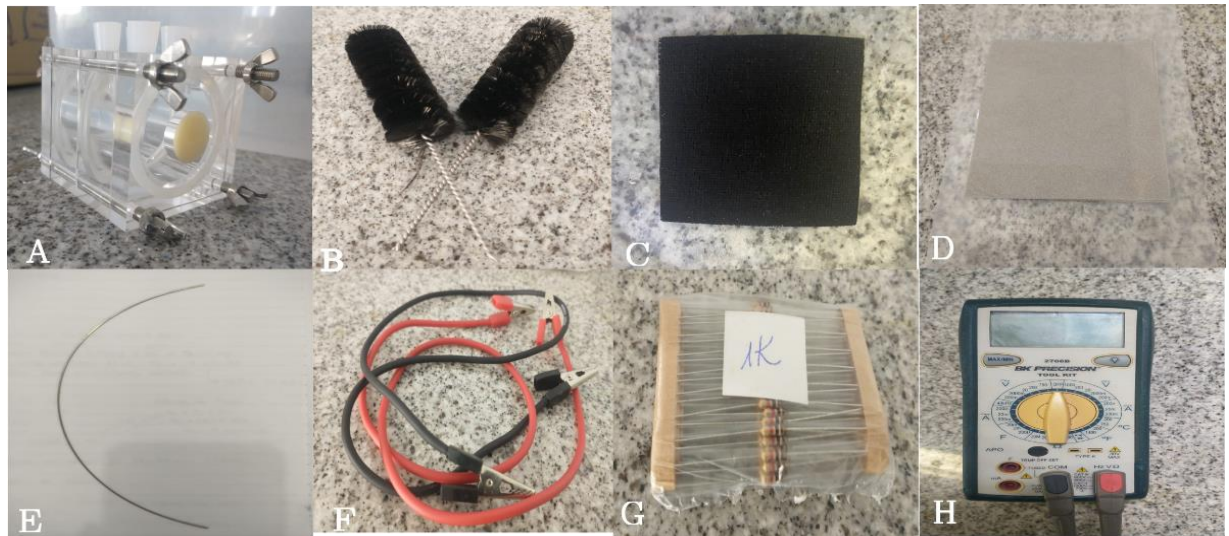
Para que a célula de eletrólise microbiana seja inicializada, faz-se necessário a construção de uma Célula Combustível Microbiana (MFC). Este primeiro passo permite o cultivo de bactérias no ânodo de forma que o biofilme estabelecido seja de bactérias eletroativas, necessárias para a produção de energia.

A MFC utilizada neste experimento consiste em um único compartimento feito de acrílico, com um volume de líquido de 50 mL. Esse compartimento foi vedado com juntas de borracha em ambos os lados para evitar vazamentos do líquido. Os eletrodos foram colocados paralelamente, com uma distância de cerca de 1 cm entre o ânodo e o cátodo. Aberturas foram providenciadas nos compartimentos para permitir a conexão elétrica com os eletrodos. Para garantir a estanqueidade do reator, as placas de cobertura e os compartimentos foram selados com juntas e fixados com parafusos longos e porcas. Tubos de borracha de silicone foram utilizados para fornecer e retirar líquidos e gases dos respectivos compartimentos.

Os ânodos utilizados foram escovas de carbono com hastes de aço inoxidável. Eles foram selecionados devido às suas propriedades condutoras e capacidade de fornecer uma elevada área superficial favorável para as reações eletroquímicas. O cátodo, por sua vez, foi composto por um eletrodo de ar, que consistia em tecido de carbono catalisado com platina de $0,5\text{mg}/\text{cm}^2$ e camadas de PTFE com dimensões de $5\text{ cm} \times 5\text{ cm}$, foi comprado na fuel cell store. Essa configuração do cátodo permitia a redução de íons de oxigênio presentes no ar, contribuindo para a geração de corrente elétrica na célula de combustível microbiana. Essa descrição detalhada pode ser visualizada na Figura 4 dos componentes da célula de combustível

microbiana utilizada no experimento fornece uma visão mais clara das características e materiais empregados, incluindo o tipo de compartimento, vedação, eletrodos e composição do cátodo.

Figura 4-Materiais utilizados para a construção da célula combustível microbiana (A) Célula de acrílico (B) Escova de carbono (Ânodo) (C) Tecido de carbono com platina, Carbon black e PTFE (Cátodo) (D) Tela de níquel (Cátodo) (E) Titânio (F) Grampos de jacarés em conexão com multímetro (G) resistores 1k Ω (H) Multímetro

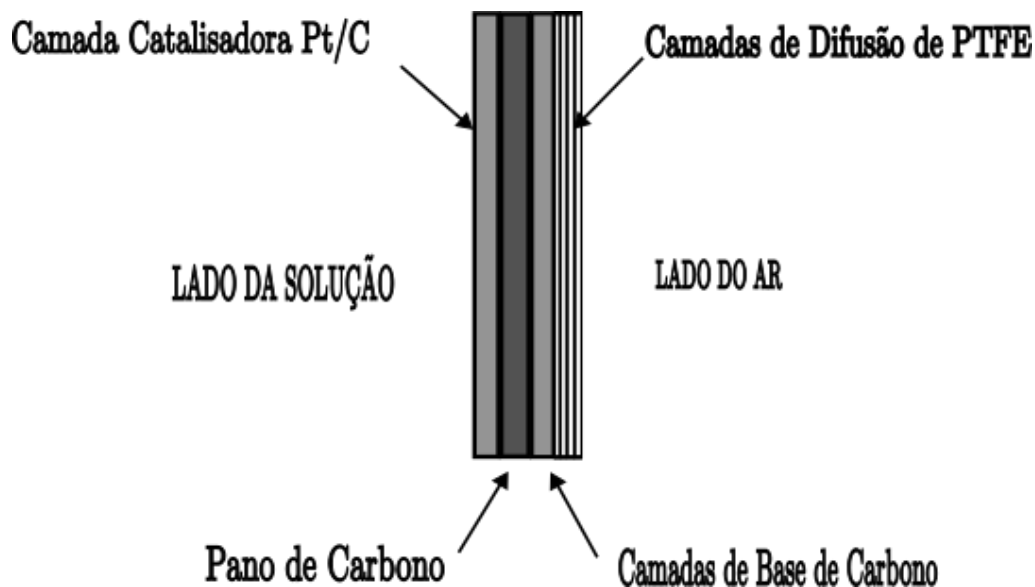


Fonte: Autor (2024).

3.1.1. Construção cátodo de ar

O uso de um cátodo com uma camada de difusão em uma célula a combustível microbiana de câmara única (MFC) pode melhorar significativamente o desempenho do MFC, aumentando sua eficiência coulombiana e densidade de potência máxima, ao mesmo tempo em que diminui sua perda de água. A eficiência coulombiana é aumentada pelo aumento da potência de saída e pelo aumento do tempo de operação do MFC. O tempo de operação é provavelmente aumentado devido a uma redução na quantidade de fluxo de oxigênio para a câmara do ânodo, onde as bactérias preferencialmente usam oxigênio diretamente como um aceptor de elétrons em vez de usar oxigênio indiretamente através do ânodo do MFC. O fluxo de oxigênio, no entanto, ainda é necessário para o lado do catalisador, que é oposto ao lado exposto ao ar, do cátodo. Para construção é preciso passar por diversos processos que estará sendo mostrado a seguir na Figura 5.

Figura 5- Representação lateral das camadas do cátodo

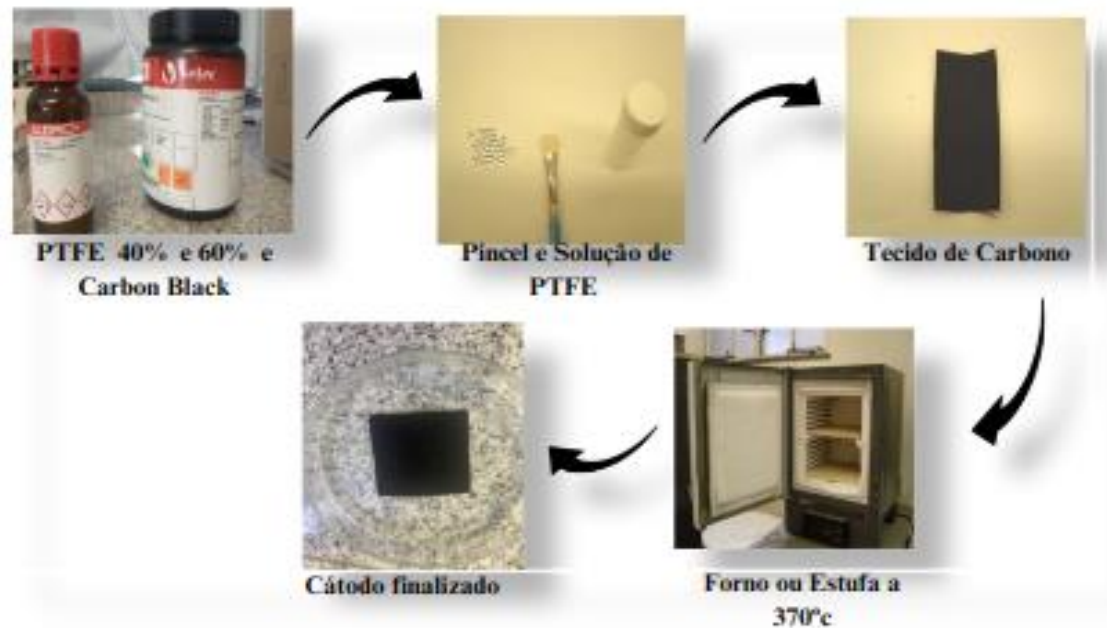


Fonte: Autor (2024).

Para a aplicação da camada de base de carbono, foi utilizado um pedaço de tecido de carbono de $5\text{cm} \times 5\text{cm}$. O negro de fumo (*carbono black*) foi medido em 1,56 mg para cada 1cm^2 de área de superfície do cátodo usando uma balança eletrônica. A solução de PTFE a 40% foi medida em $12\text{ }\mu\text{L}$ para cada 1 mg de negro de fumo usando uma micropipeta. O processo consistiu em colocar o negro de fumo em um frasco de amostra de plástico, adicionar 6-8 esferas de vidro e a solução de PTFE, e agitar no vórtex por 20 segundos. A suspensão de carbono foi aplicada em um lado do tecido de carbono com um pincel pequeno para evitar a entrada no outro lado. Em seguida, o revestimento secou ao ar no pedaço de papelão por pelo menos 2 horas.

Para finalizar a preparação, o pedaço de tecido de carbono foi colocado em uma placa de cerâmica de alta temperatura em um forno pré-aquecido a $370\text{ }^{\circ}\text{C}$ por cerca de 20-30 minutos. Posteriormente, a placa cerâmica e o tecido de carbono foram deixados esfriar até a temperatura ambiente em ladrilhos de alta temperatura antes de manusear. Uma alternativa de resfriamento mais lento foi desligar o forno e deixar a porta ligeiramente aberta. Podendo ser visualizado a seguir na Figura 6.

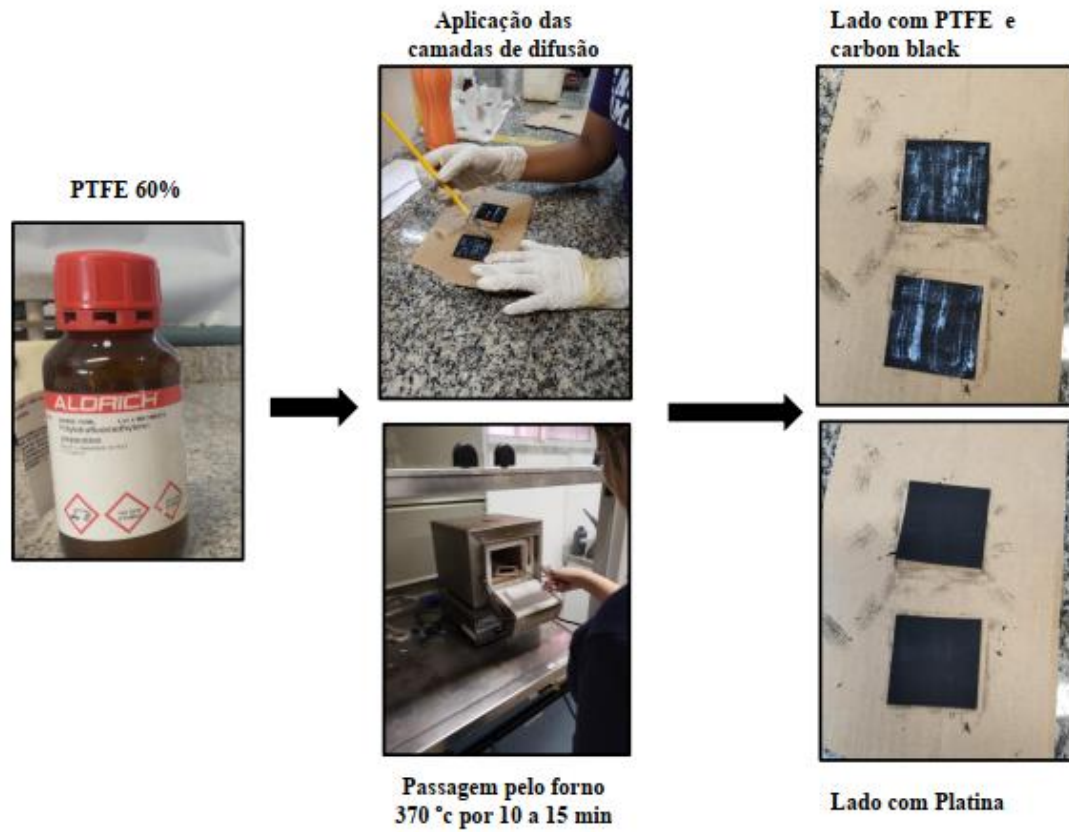
Figura 6 - Materiais utilizados para a aplicação da camada de base de carbono e o processo de fabricação do cátodo de ar



Fonte: Autor (2024).

Para a aplicação da camada de difusão na Figura 7, a solução de PTFE 60% (Sigma – Aldrich) foi agitada para garantir uma distribuição uniforme das partículas de Polytetrafluoroethylene (PTFE). Em seguida, uma demão uniforme da solução foi aplicada no lado previamente revestido do pano de carbono usando um pincel pequeno. O revestimento de PTFE foi deixado secar ao ar por 5-10 minutos até ficar branco quando seco. Posteriormente, o pedaço de pano de carbono foi colocado em uma placa de cerâmica de alta temperatura em um forno pré-aquecido a 370° C por cerca de 10-15 minutos. Após esfriar à temperatura ambiente em ladrilhos de alta temperatura, o revestimento de PTFE ficou preto brilhante. Esse processo foi repetido três vezes para adicionar um total de 04 revestimentos de PTFE, atingindo a espessura ideal para a camada de difusão.

Figura 7 – Etapas da aplicação da difusão



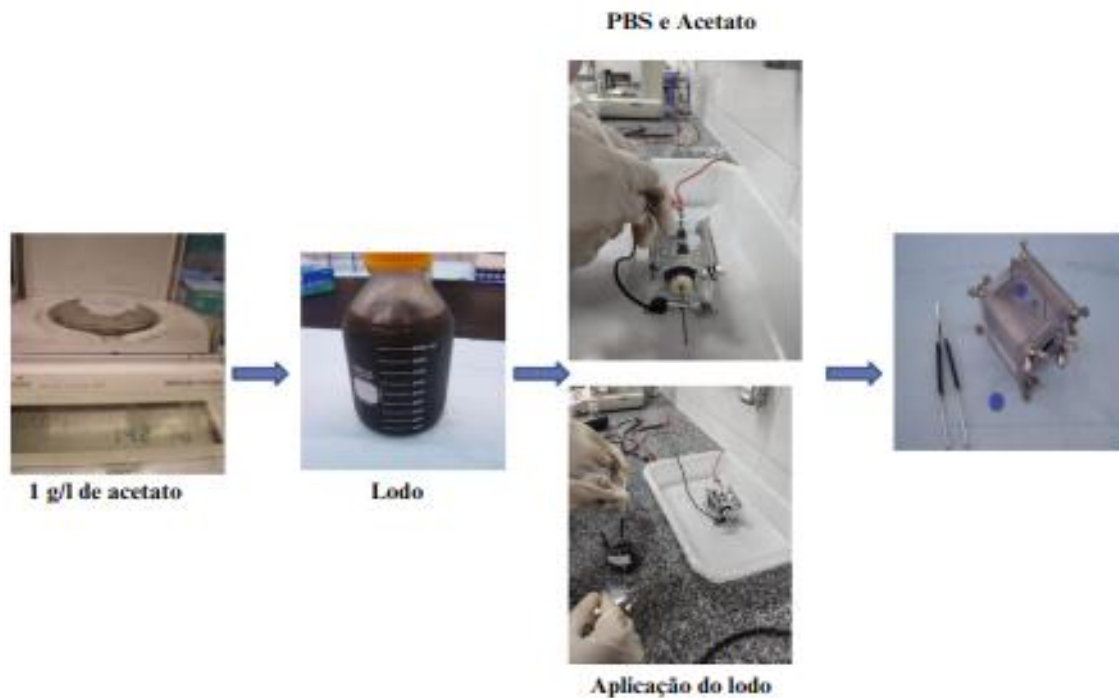
Fonte: Autor (2024).

Na metodologia do experimento, a aplicação da camada de catalisador (platina) foi realizada de forma simplificada, pois optou-se por adquirir um tecido de carbono previamente revestido com a camada de platina na concentração de 0,5 mg/cm². Essa escolha foi vantajosa, pois permitiu agilidade e facilidade no processo experimental.

3.1.2. Start-up e inoculação

No processo de inoculação, o volume da célula de combustível microbiana (MFC) foi preenchido com 1 mL de lodo de UASB da ETE Acarape da Cagece e uma mistura de substrato e meio, composta por 50 mM de PBS (Phosphate Buffer Solution- Solução Tamponada de Fosfato) e acetato. O acetato foi pesado em uma balança digital (SEMI- MICRO - AUW220D, SHIMADSU) utilizando uma concentração de 1g/L Figura 8.

Figura 8- Processo de inoculação da Célula Combustível Microbiana

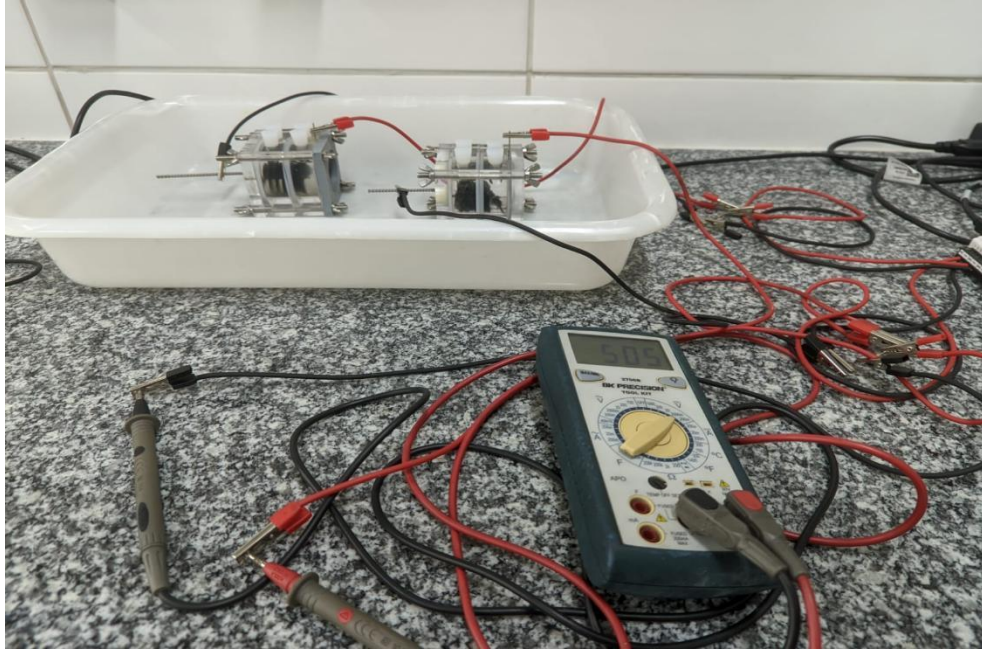


Fonte: Autor (2024).

Durante esse processo, um septo do cubo da MFC foi removido e os 50 mL da solução foram cuidadosamente transferidos. Após essa etapa, o septo foi substituído para garantir a vedação adequada da célula. Os fios de titânio correspondentes a cada eletrodo foram conectados a grampos de jacaré. Certificou-se de conectar o grampo do cátodo ao fio mais próximo do cátodo de ar. A tensão foi monitorada por meio de um resistor de 1000 ohms conectado à MFC. Após 19 ciclos de inoculação, quando a tensão começou a aparecer atingindo cerca de 420 mV é normal ter uma redução, deixando atingir até de 10% da tensão inicial, sendo assim, atingindo 42 mV .

Onde o conteúdo da célula foi esvaziado em uma pia e todas as etapas anteriores foram repetidas. Após atingir uma voltagem de pelo menos 500 mV , foi esperado que a tensão caísse para cerca de 50 mV . Nesse momento, o conteúdo da célula foi substituído por uma solução de acetato/meio com uma concentração de apenas 1 g/L . monitoramento da tensão e outras medidas foram realizados nesse ponto. Essas etapas descritas fornecem detalhes adicionais sobre a inoculação da célula de combustível microbiana incluindo a preparação da solução de bactérias/substrato/meio, a conexão dos fios de titânio e a monitorização da tensão durante o processo que pode ser visualizado na Figura 9.

Figura 9 – Célula combustível microbiana em funcionamento



Fonte: Autor (2024).

O sistema de monitoramento utilizado é o LABVIEW, que é baseado em controle computadorizado. Optamos pelo software LabView® da National Instrument devido à sua fácil configuração de sistemas de aquisição de sinais em PCs. Esse software permite a aquisição online de sinais provenientes dos sensores instalados no equipamento, possibilitando a implementação de um algoritmo de controle usando os sinais de entrada e permitindo o controle com o sinal de saída gerado pelo algoritmo.

Com o programa, é possível acompanhar as condições de operação do sistema, como variações de carga, pressão ou condições do ar de entrada, além de monitorar a evolução de variáveis como voltagem, corrente elétrica, temperatura e umidade. No entanto, o foco principal nesse estudo é realizar o monitoramento da voltagem das células combustíveis microbianas a cada 10 minutos, garantindo dados precisos e atualizados.

3.2 Métodos analíticos

3.2.1. Parâmetros físico-químicos

Para o estudo de desempenho das MFCs em todas as fases operacionais, amostras líquidas do afluente e efluente das MFCs serão coletadas duas vezes por semana. O Ph será determinado com um potenciômetro.

Tabela 2- Parâmetros com frequências e métodos analíticos de acordo com APHA (2022)

Parâmetro	Método	Frequência	APHA (2022)
Temperatura	Termômetro	Diária	2550
Ph	Eletrométrico	Duas vezes por semana	4500-H+
Condutividade	Eletrométrico	Semanal	2510B
DQO	Refluxo fechado	Duas vezes por semana	5220D

A eficiência do tratamento será calculada utilizando a seguinte equação

$$E = \frac{C_e - C_s}{C_e} \times 100$$

Equação 1

Tendo como E como a eficiência de remoção de matéria orgânica e (%); C_e como a concentração de matéria orgânica na entrada (g DQO. L-1) e C_s como a concentração de matéria orgânica na saída (g DQO. L-1).

3.2.2 Parâmetros eletroquímicos

A geração de energia foi monitorada diariamente com o LABVIEW. Os valores referentes a máxima densidade de potência e densidade de corrente foram obtidos a partir da curva de polarização. As curvas de polarização foram realizadas circuito aberto e a resistência externa foi desconectada por 2 horas para estabilização do sistema (Koók *et al.*, 2021; Watson; Logan, 2011). Foram utilizados valores de uma ampla faixa de potenciais para determinação dos pontos e obtenção da curva de polarização que permite quantificar o valor máximo de densidade de potência que pode ser alcançada pela MFCs em função da tensão (WATSON; LOGAN, 2011). Para determinação e avaliação utilizado o equipamento Potenciostato/Galvanostato PGSTAT204 (módulo FRA32M– Metrohm) interfaceado com o *software* (NOVA 2.1.6, METROHM AUTLAB).

3.2.3 Análise microbiológica

Para a remoção do DNA genômico, realizamos o processo após a estabilização do biofilme anódico. Foi coletado pequenos pedaços de fibra de carbono em diferentes locais no ânodo das MFC1 e 2 e os fragmentamos usando tesouras estéreis. Em seguida, é colocado os fragmentos em frascos etiquetados, criando duplicatas de cada uma das células. Também

duplicamos as amostras de esgoto que estão sendo utilizadas. Todas as amostras foram congeladas e mantidas em condições estéreis de conservação. As amostras foram enviadas para a empresa BYMYCELL, onde foram utilizadas para a remoção de DNA total utilizando kits comerciais. O DNA resultante foi enviado na amplificação do gene marcador 16S rRNA por meio da ocorrência na Cadeia da Polimerase (PCR). O fragmento resultante foi utilizado em uma ocorrência de sequenciamento de DNA de nova geração. Os dados gerados foram comparados com um banco de dados de referência que contém informações sobre mais de 15.000 espécies bacterianas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Desempenho das células combustíveis microbianas

As MFCs operadas em modo batelada alimentado por 60 dias produziram tensões máximas de ~500 mV (resistor externo de 1 k Ω). Os tempos de ciclo batelada variaram de aproximadamente 2 dias para as duas MFCs. Esses resultados são condizentes onde as MFCs operadas em modo de batelada ao longo de 90 dias, foi observado que eles geraram tensões máximas de cerca de 400 mV (com um resistor externo de 1 k Ω). Esses resultados sugerem que as MFCs foram capazes de extrair energia dos substratos, transformando resíduos orgânicos das águas residuais em corrente elétrica utilizável. (KIELY. *et al.* 2011).

No mês de junho, as células combustível microbianas (MFCs) foram inicialmente colocadas em operação, alcançando um valor máximo de 17 mV. Contudo, devido a esse desempenho insatisfatório, foi necessária a implementação de uma nova estratégia. No dia 20/06, procedemos com a reconfiguração da MFC1, incorporando um novo cátodo. Após essa modificação, realizamos a inoculação, e em apenas 11 dias, observamos um aumento significativo na tensão, atingindo 230 mV. Continuando com o monitoramento, ao completar 16 dias, conseguimos um incremento ainda mais notável, elevando a tensão de 400 mV para 540 mV. Diante desses avanços, adotamos o software LabVIEW para realizar o monitoramento a cada intervalo de 10 minutos. Dada a considerável quantidade de dados gerados, foi necessário realizar adaptações no sistema. Isso resultou na representação dos dados em forma de gráfico semanal, abrangendo os sete dias da semana.

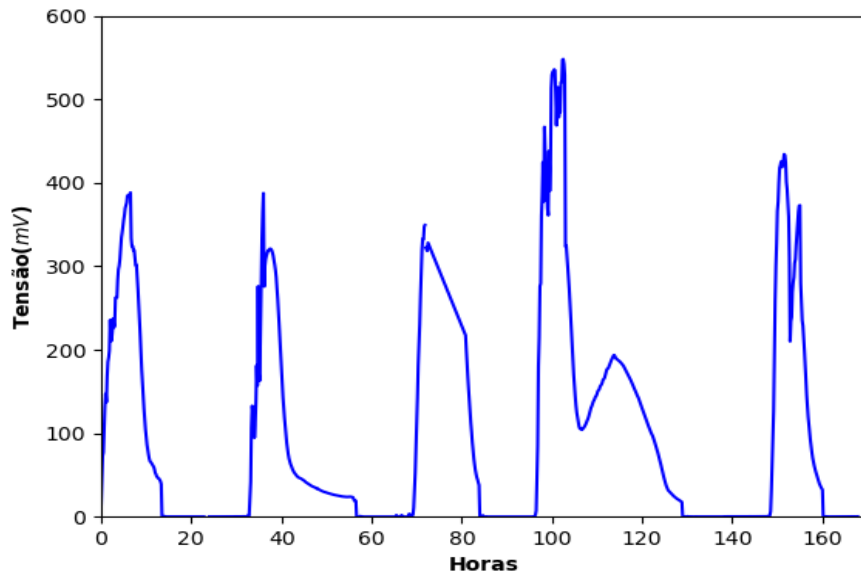
A representação gráfica da primeira semana na (Figura 10) não captura fielmente os dados iniciais obtidos nos primeiros dias de medição da MFC1. Isso se deve ao fato de que, nesse período inicial, os dados apresentaram valores relativamente baixos. Naquela fase, ainda não tínhamos implementado um método de análise contínua, como o que é atualmente realizado

a cada 10 minutos pelo software LabVIEW. Em vez disso, as medições eram realizadas manualmente com o auxílio de um multímetro. Portanto, as informações disponíveis representam uma visão geral dos dados coletados nesse período inicial, que atingiram, no máximo, 80 mV.

Na Figura 10, foi observado variações que podem ser explicadas pelo processo adaptativo das bactérias eletroativas em um sistema de cultura mista. Nesse contexto, as bactérias eletroativas estão gradualmente se estabelecendo no ânodo, formando um biofilme estável. Isso leva à estabilização da tensão ao longo do tempo, embora haja momentos de queda. Esses declínios de cerca de 10% em relação ao valor máximo correspondem ao período em que é realizado um processo de "refil". O refile envolve a adição de PBS e acetato como uma espécie de "alimentação" para o sistema. É relevante notar que, durante essa fase de reabastecimento, a célula passa por um período de reajuste que dura aproximadamente duas horas, antes de retomar a estabilização. Além disso, o decréscimo observado durante a madrugada reflete a ausência de reabastecimento durante esse período, sendo que a próxima reposição com acetato e PBS ocorre no dia seguinte. Quando a tensão atinge o patamar de 250 mV, isso indica que o biofilme está atingindo um estado de estabilidade, e as bactérias eletroativas necessárias estão passando por um processo adaptativo que resulta na produção contínua de eletricidade no sistema.

O gráfico abaixo correspondente os sete dias da semana, dos dados registrados ao longo de todos esses dias. É notável que o declínio nos valores de tensão no gráfico corresponde ao momento em que é necessário realizar o refile de substrato, que ocorre a cada período de 24 horas. Além disso, podemos perceber que há horários em que a tensão se mantém estável e outros em que ocorre uma diminuição. Essa variação nos dados ao longo do tempo reflete o comportamento dinâmico da MFC1 e está relacionada com o ciclo de crescimento e adaptação das bactérias eletroativas no sistema, assim como com os momentos de reabastecimento de substrato de que afetam diretamente a geração de eletricidade.

Figura 10- Na primeira semana de operação da MFC1, foi observado um crescimento inicial do biofilme

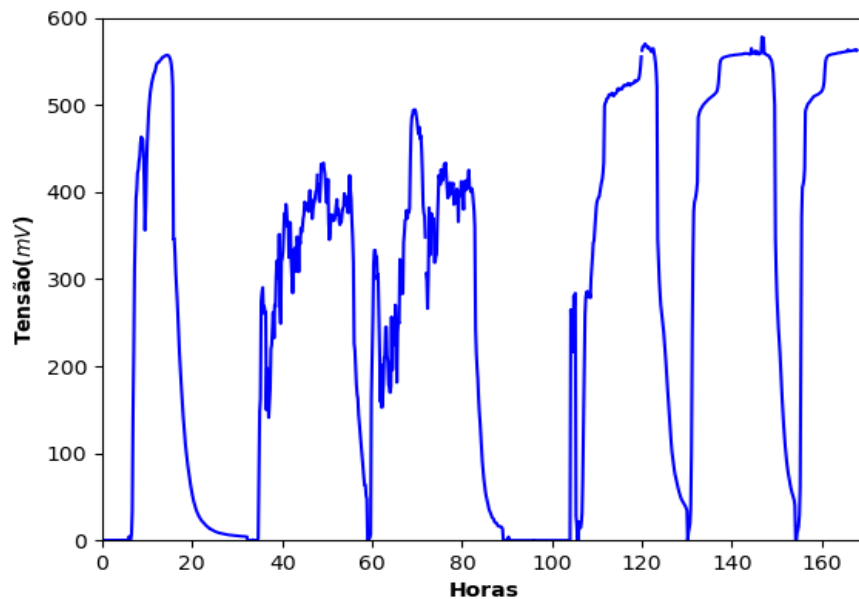


Fonte: Autor (2024).

Na Figura 10, é evidente um processo de estabilização no qual as bactérias no biofilme estão envolvidas na degradação da matéria orgânica presente no substrato (esgoto sintético). Esse processo metabólico implica na utilização de vários compostos orgânicos, incluindo açúcares e ácidos orgânicos, que se encontram no esgoto. Durante essa atividade metabólica, as bactérias eletroativas geram elétrons como subproduto, e esses elétrons são posteriormente transferidos para o eletrodo localizado no ânodo da MFC, caracterizando o fenômeno conhecido como "Transferência de Elétrons".

A partir desse contexto, percebe-se que a voltagem ainda se encontra em uma fase inicial, relacionada à formação do biofilme. No entanto, ao compararmos com o gráfico representado na Figura 11, podemos notar um progresso notável. Nesta última figura, é possível identificar um crescimento substancial e subsequente estabilização da voltagem, alcançando uma média de 570 mV. O declínio subsequente nos valores de tensão é devido ao processo de retil, sendo também bastante perceptível uma distinta mudança na curva em comparação com há primeira semana, como mencionado anteriormente. Essa comparação destaca a evolução do desempenho da célula de combustível microbiana ao longo do tempo e a influência das etapas de desenvolvimento do biofilme e dos processos de manutenção na produção de eletricidade. Também é perceptível que durante os ciclos houve oscilações devido ao mal contato do cátodo na célula.

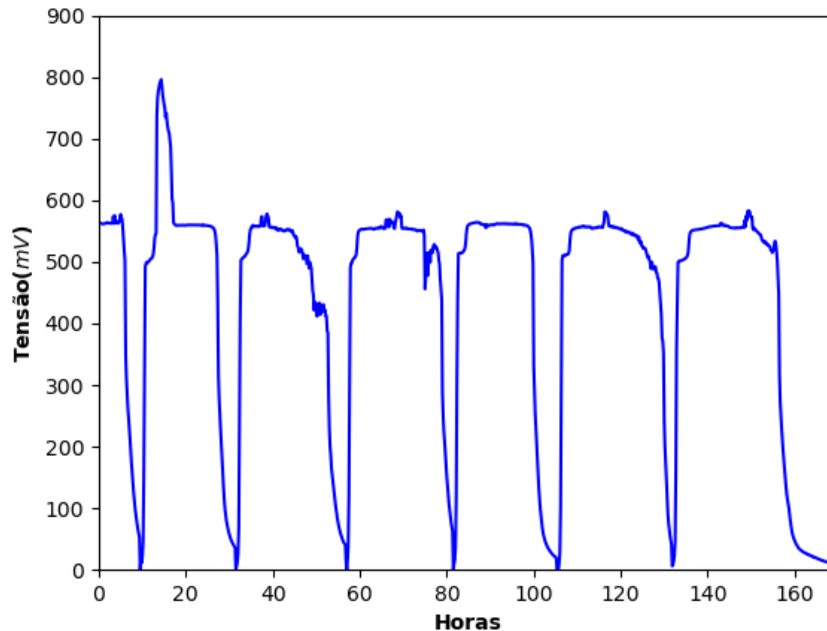
Figura 11- O gráfico corresponde à segunda semana de operação da MFC1, onde se destaca uma fase de estabilização, na qual a célula atinge uma média de 570 mV



Fonte: Autor (2024).

Ao alinhar as Figuras 11 e 12, notamos uma transição contínua de um gráfico para o outro. Ao final de cada dia de medições na Figura 11, é perceptível um momento de queda na tensão, e essa tendência de queda é continuada na Figura 12. Posteriormente, após o processo de refil, observamos um período de crescimento na tensão. Esse padrão de comportamento se repete nas demais figuras, demonstrando a dinâmica de crescimento e estabilização da tensão ao longo do tempo nas células de combustível microbianas, influenciada pelo ciclo de medições e pelo processo de reabastecimento de substrato. É notável observar na Figura 12 a estabilidade das curvas, favorecendo uma visão detalhada do comportamento da MFC1. Ao momento que a célula atingir 800 mv mostra uma instabilidade no cátodo. Que é resolvido imediatamente, mostrando novamente coerências nas curvas.

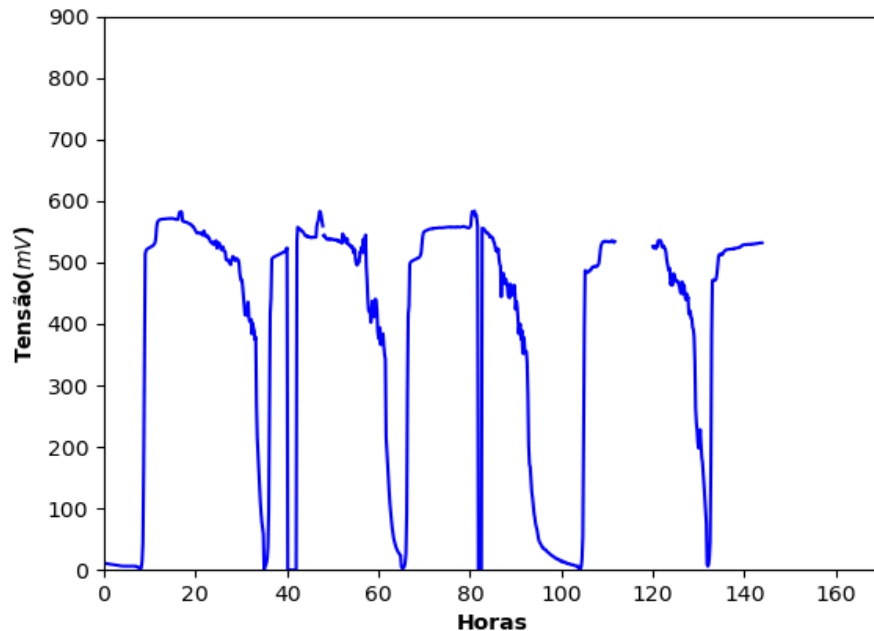
Figura 12- O gráfico corresponde à terceira semana de operação da MFC1, onde se destaca uma fase de estabilização, na qual a célula atinge uma média de 550 mV



Fonte: Autor (2024).

Ao comparar a representação da terceira semana na Figura 12 com a Figura 13, notamos diferenças notáveis na dinâmica do crescimento do biofilme. Na Figura 13, observa-se um crescimento mais acentuado do biofilme, resultando em uma estabilização distinta em comparação com a Figura 12. Nesse momento, a tensão alcançou o seu pico notável de 570 mV, indicando uma performance superior. Além disso, é interessante observar que a célula conseguiu manter essa estabilidade por quase dois dias consecutivos, mantendo um valor em torno de 550 mV por um dia inteiro. Quando ocorreu uma queda, ela foi brusca e repentina, como claramente evidenciadas nos gráficos. Essa análise comparativa ressalta as variações no desempenho da célula de combustível microbiana ao longo do tempo, especialmente no que diz respeito ao crescimento do biofilme e à estabilidade da tensão alcançada em diferentes fases do experimento. É notável, o gráfico apresenta maior estabilidade, alcançando 570 mV, uma diferença marcante em relação à figura anterior. Além disso, podemos perceber variações na tensão ao longo do tempo, e esse comportamento é em grande parte atribuído a problemas operacionais relacionados ao *software* LabVIEW e a quedas de energia. Essas interrupções resultam no desligamento do sistema, o que, por sua vez, contribui para a perda de dados.

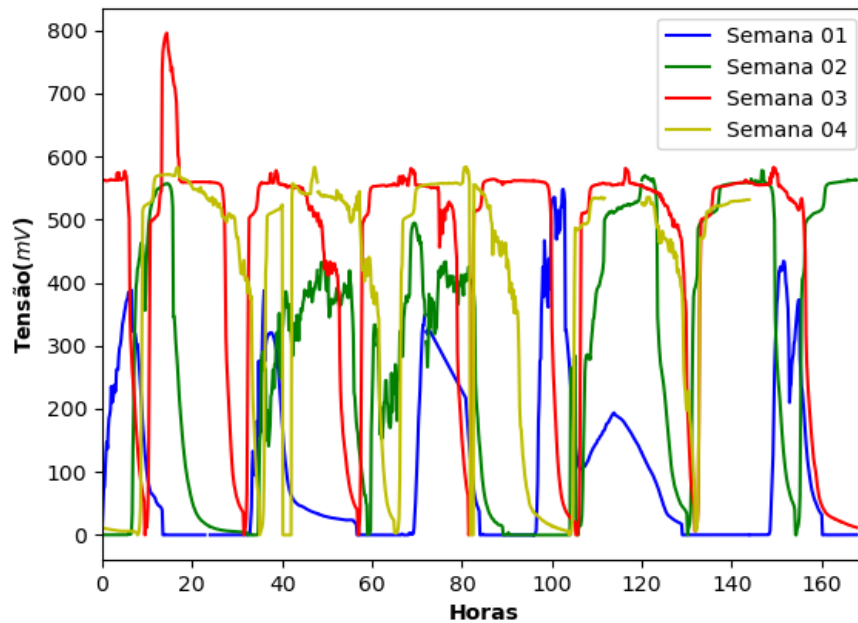
Figura 13- Representação do gráfico, onde é possível observar o comportamento da célula de combustível microbiana, destacando uma fase de estabilização do biofilme que culmina no pico de 570 mV



Fonte: Autor (2024).

Após a conclusão do primeiro mês de operação, prosseguimos com a análise do comportamento da MFC1 no decorrer desse período, conforme apresentado na (Figura 14). Nesse contexto, podemos observar um crescimento notável ao longo das semanas, o que sugere um progresso substancial na eficiência da célula de combustível microbiana. É interessante notar que, à medida que o biofilme com as bactérias eletroativas se desenvolve, ocorre uma melhoria na capacidade de transferência de elétrons. Isso é indicativo de que o sistema está alcançando uma fase de maior maturidade, na qual as bactérias estão efetivamente contribuindo para a geração de eletricidade por meio do processo de transferência de elétrons. Esse avanço é um resultado significativo e demonstra o potencial das MFCs como tecnologia de geração de energia sustentável.

Figura 14- Apresentação do comportamento e desenvolvimento da MFC1 ao longo de todas as semanas equivalente ao primeiro mês



Fonte: Autor (2024).

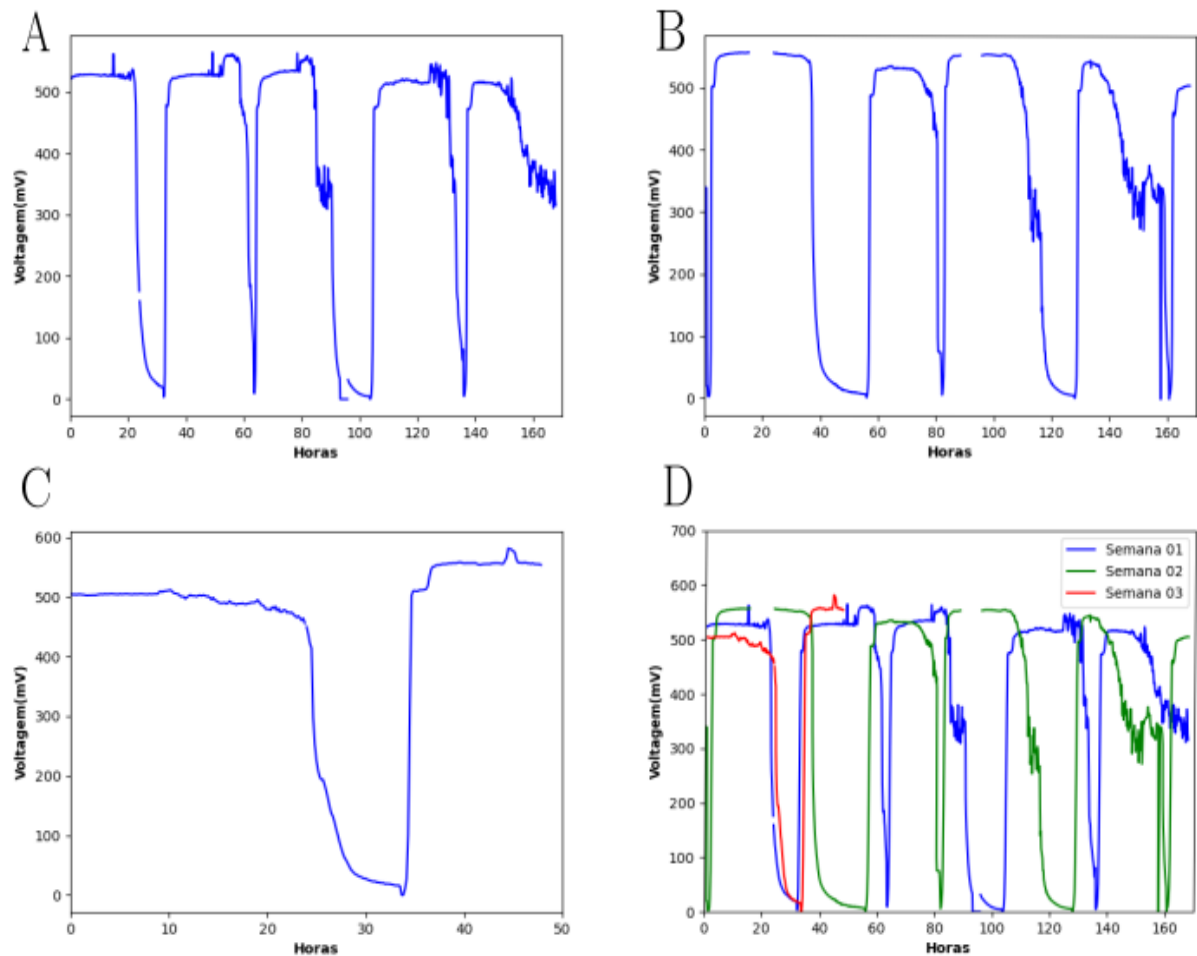
Após um mês de operação como é mostrado no gráfico da Figura 14, foi possível alcançar uma notável estabilidade, apesar da ocorrência de flutuações significativas. A célula conseguiu manter uma tensão de 580 mV de maneira consistente, o que indica a estabilidade do biofilme. No entanto, é importante observar que o gráfico apresenta dados reais das leituras de todas as semanas, mostrando alguns problemas operacionais. Durante o período de monitoramento, enfrentamos desafios técnicos, como o fato de que o cátodo não estava em contato adequado com o fio de titânio. Isso resultou em oscilações no monitoramento da tensão, bem como em quedas de energia ocasionais que afetaram a coleta de dados. Essas condições adversas podem ter influenciado a apresentação dos resultados, embora a estabilidade notada seja um indicativo promissor do desempenho da MFC1 após um mês de funcionamento.

Ao compararmos os gráficos da Figura 14 referentes ao primeiro mês de funcionamento da MFC1 com os do segundo mês da Figura 15, também da mesma MFC, podemos notar uma mudança significativa no comportamento das bactérias e na sua estabilidade. É evidente que, no segundo mês, houve um salto notável no desempenho das bactérias eletroativas. Isso se traduz em uma maior estabilidade ao longo do período, evidenciada pelo declínio menos acentuado no final do dia. Esse declínio ocorre devido ao comportamento das bactérias que se prepararam para o reabastecimento de nutrientes no dia seguinte.

Um ponto crucial a ser observado é a diferença nas médias mensais entre os dois

meses. Enquanto a média mensal no gráfico da Figura 15 do primeiro mês atingiu no máximo 550 mV, no segundo mês conseguimos alcançar uma média de 570 mV. Esse aumento na tensão média é um indicativo claro do progresso no desempenho da MFC1, sugerindo um aprimoramento substancial no processo de geração de eletricidade ao longo do tempo.

Figura 15- Gráficos referentes às semanas equivalentes ao segundo mês de operação da MFC1, (A) gráfico referente à primeira semana (B) dados referentes à segunda semana (C) Dados referente a terceira semana (D) Gráfico com dados de todas as semanas equivalentando ao segundo mês

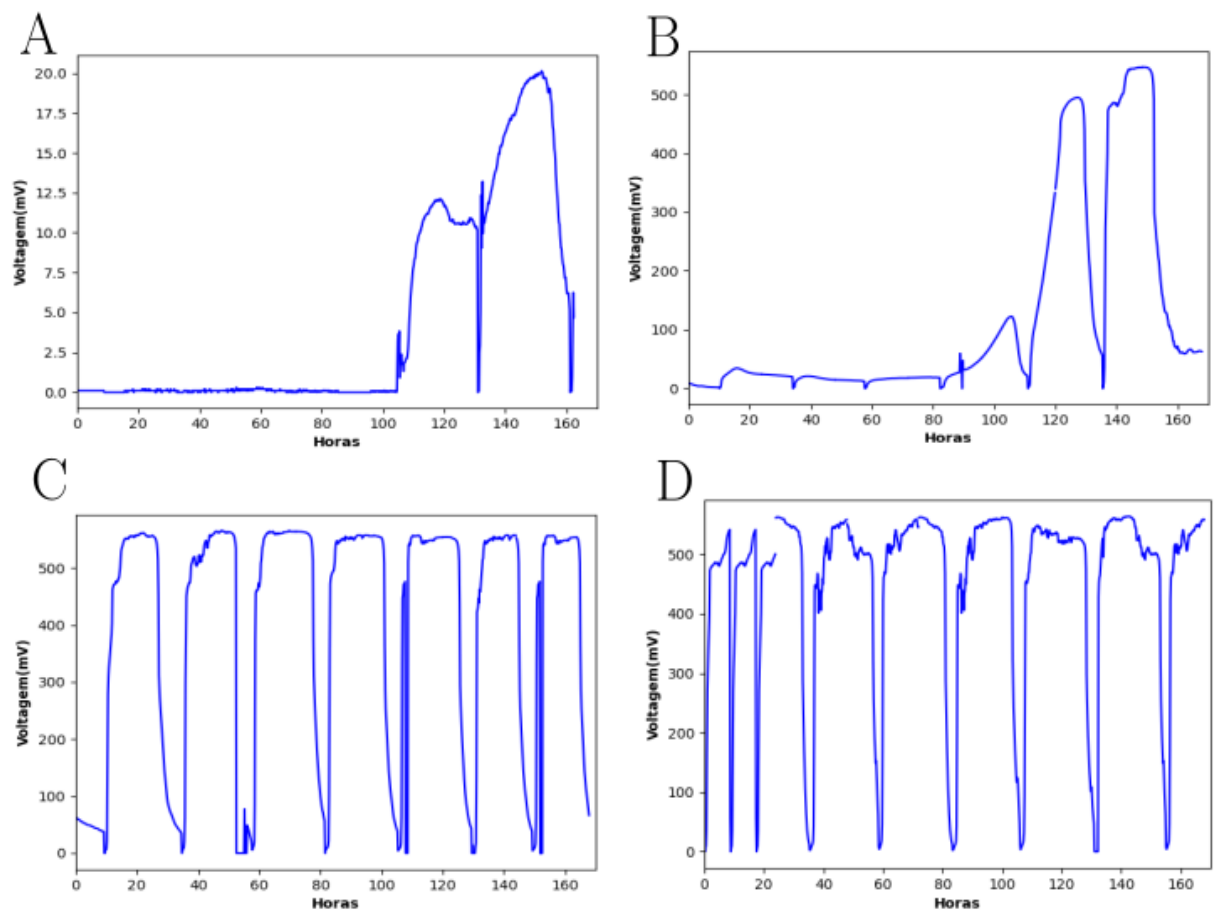


Fonte: Autor (2024).

Após um mês de funcionamento, prosseguimos com a construção de uma segunda célula de combustível microbiana, denominada MFC2, marcando o próximo estágio do nosso projeto. O ciclo de inicialização para atingir a faixa de tensão de 400 a 500 mV foi planejado para 15 dias, no entanto, de maneira surpreendente, conseguimos atingir a faixa de 300 a 400 mV em apenas 14 dias. Esse resultado é notável e reflete um avanço significativo na eficácia do nosso segundo sistema. A Figura 16 nos gráficos apresenta de forma clara e detalhada o crescimento contínuo do biofilme ao longo das semanas.

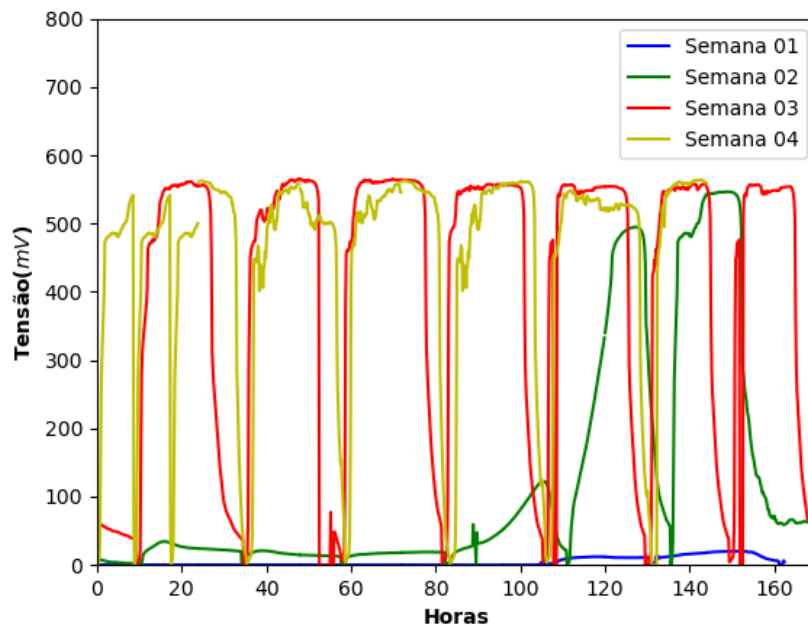
Vale destacar que esse crescimento ocorreu de forma mais rápida em comparação com o experimento anterior, evidenciando a eficiência aprimorada do novo sistema. É importante salientar que continuamos utilizando o mesmo mecanismo de coleta de dados mencionado anteriormente para representar os resultados, proporcionando uma avaliação precisa e comparativa do desenvolvimento do biofilme e da tensão gerada ao longo do tempo na MFC2. Esses resultados notáveis destacam as melhorias substanciais alcançadas em relação à primeira célula de combustível microbiana e reforçam nosso progresso na pesquisa.

Figura 16- Gráfico representando as quatro semanas da MFC2, mostrando seu crescimento e estabilização do biofilme, (A) Primeira semana com a tensão máxima de 20mv (B) Segunda semana com o máximo de tensão de 500mv (C) Terceira semana com ciclos constantes e estáveis (D) Quarta semana com estabilidade do biofilme da MFC2



Fonte: Autor (2024).

Figura 17- Gráfico referente às semanas equivalente ao primeiro mês da MFC2, mostrando seu crescimento e comportamento do biofilme



Fonte: autor (2024).

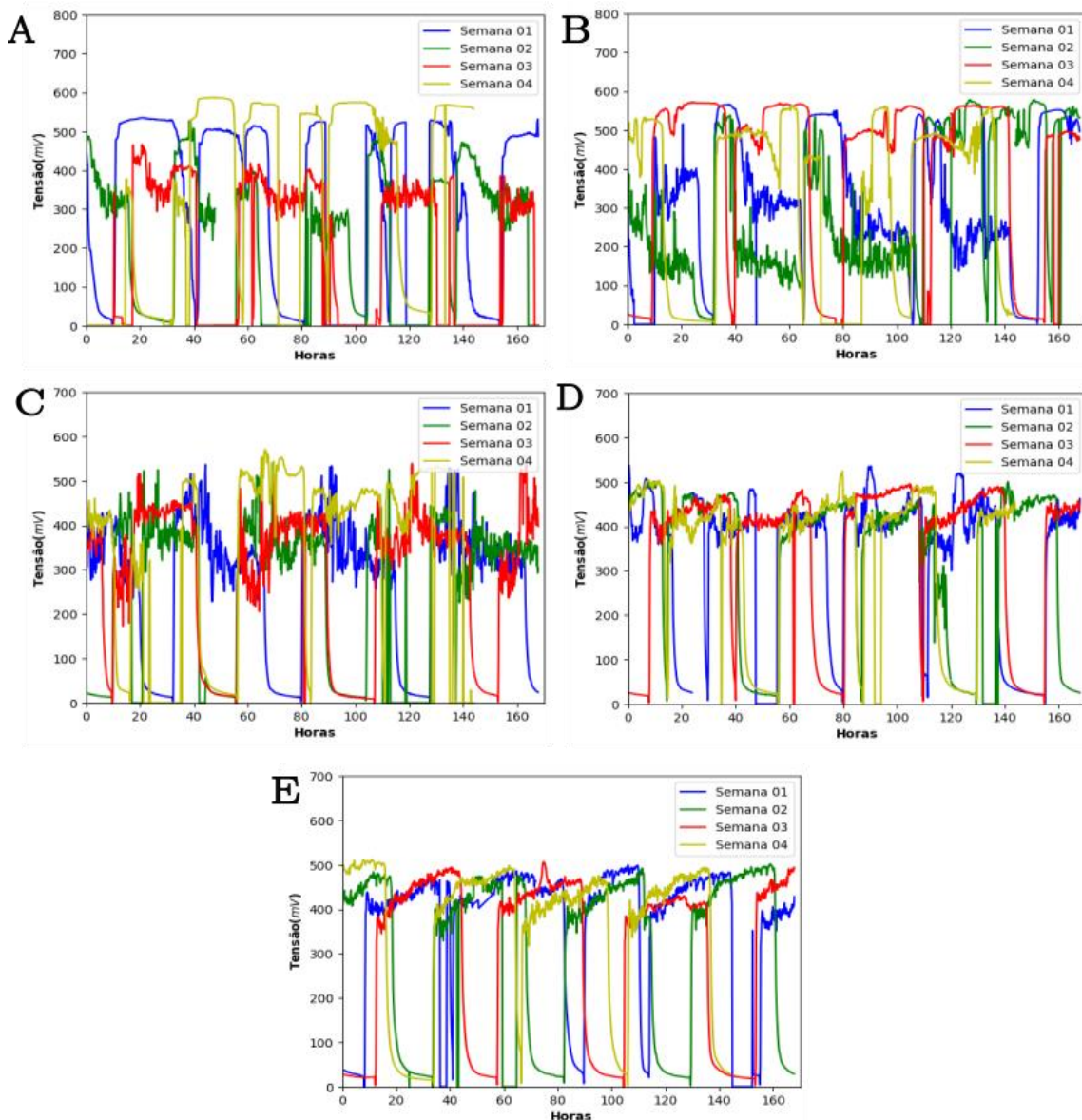
Para análise, o gráfico apresentado na Figura 17 retrata o desempenho da célula MFC2, incluindo o seu processo inicial. É notável que, durante o primeiro mês, essa célula conseguiu atingir uma tensão de 570 mV, um resultado bastante semelhante ao gráfico correspondente o primeiro mês da MFC1 Figura 14. Além disso, os dados obtidos nesses dois experimentos também são bastante similares. Isso evidencia um padrão de comportamento que sugere um processo de estabilização e crescimento similar para ambas as células. O desempenho alcançado no primeiro mês é indicativo de um progresso significativo em relação ao início do funcionamento da MFC2, destacando a eficácia do nosso projeto na pesquisa de células de combustível microbianas.

Entre agosto e dezembro, observa-se um aumento notável no crescimento microbiano nas MFC1 e MFC2, juntamente com a estabilização das células a 500mV ou mais. No entanto, destaca-se uma instabilidade na MFC1 Figura 19 em outubro, devida ao deslocamento do cátodo, e um problema no LabVIEW, que desligou uma das células, resultando em perda de dados. Após a manutenção realizada nos meses subsequentes, a estabilidade foi restaurada.

Na MFC2 Figura 20, em setembro, ocorreu uma situação atípica devido a um processo inadequado durante a troca do refil por uma inoculação, desencadeando uma competição microbiana devido à introdução de uma cultura mista com crescimento prévio de bactérias

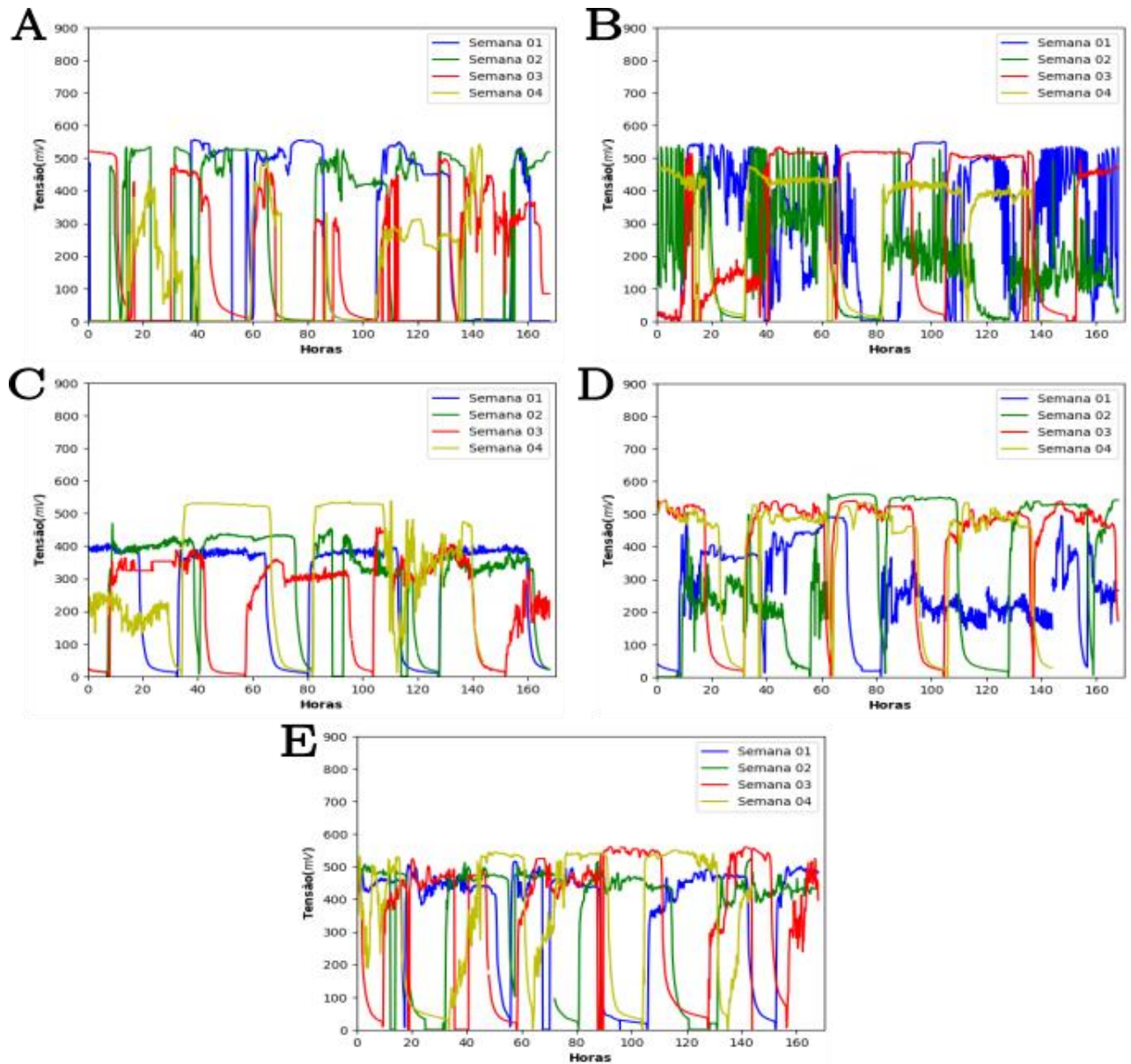
eletroativas. Além disso, é perceptível que nos meses seguintes, a tensão diminuiu para apenas 400mV pela instabilidade no ânodo, mas melhorou em novembro, alcançando 520mV.

Figura 18- Gráfico representando cinco meses da MFC1, mostrando seu crescimento e estabilização do biofilme, (A) Primeiro mês (AGOSTO) com a tensão máxima de 550mv (B) Segundo mês (SETEMBRO) algumas oscilações mais bastante estável (C) Terceiro mês (OUTUBRO) com bastante oscilações causadas pela a instabilidade causado pelo cátodo e como também o labview, atingindo tensão de 550mv (D) Quarto mês (NOVEMBRO) com ciclos se estabilizando. (E) Quinto mês (DEZEMBRO) com ciclos constantes e estáveis semana com estabilidade do biofilme da MFC1



Fonte: Autor (2024).

Figura 19 - Gráfico representando cinco meses da MFC2, mostrando seu crescimento e estabilização do biofilme, (A) Primeiro mês (AGOSTO) com a tensão máxima de 550mv (B) Segundo mês (SETEMBRO) algumas oscilações por conta de um processo inadequado durante a troca do refil por uma inoculação (C) Terceiro mês (OUTUBRO) com bastante oscilações causadas pela a instabilidade causada, atingindo tensão de 550mv (D) Quarto mês (NOVEMBRO) com ciclos se estabilizando. (E) Quinto mês (DEZEMBRO) com ciclos constantes e estáveis semana com estabilidade do biofilme da MFC2



Fonte: Autor (2024).

4.2 Parâmetros eletroquímicos

O presente estudo investigou as influências das condições operacionais, especificamente o pH, temperatura e a condutividade, sobre o desempenho das MFCs) de câmara única. Os parâmetros avaliados incluíram os valores de pH de entrada e saída, a

temperatura de entrada e saída, bem como a condutividade do sistema. Os dados experimentais, indicando que, durante o curso do experimento, o pH de entrada foi registrado como $6,68 \pm 0,06$, enquanto o pH de saída foi observado com $\text{pH } 7,0 \pm 0,02$. Simultaneamente, a temperatura de entrada variou de 19°C para $27,3 \pm 1,82^\circ\text{C}$, e a condutividade inicial foi de $2,44 \text{ ms/cm} \pm 0,04$, diminuindo para $1,30 \text{ ms/cm} \pm 0,02$ na saída.

O controle adequado do pH é crucial para otimizar o crescimento de microrganismos eletrogênicos em MFCs. De acordo com DWIVEDI *et al.* (2022) condições ótimas de pH potencializam a degradação do substrato, transferência de elétrons, concentração e movimento de prótons, diferença de potencial, formação de biofilme e, consequentemente, aumentam a produção de energia. É relevante ressaltar que, em MFCs de câmara única, o controle de pH pode ser mais desafiador. Os resultados do presente estudo indicaram um aumento na produção de corrente elétrica com o aumento do pH. Observou-se que a produção de corrente elétrica foi relativamente baixa em condições ácidas (pH 6), enquanto em pH neutro houve um desempenho superior. A estabilidade da corrente elétrica foi obtida em condições neutras a alcalinas (pH 7). Além do pH, a temperatura também desempenha um papel crucial no desempenho das MFCs. A temperatura influencia o metabolismo dos microrganismos, a cinética química das reações, a condutividade da solução e os potenciais de eletrodos. Microrganismos eletroativos, como o *Geobacter*, demonstram maiores densidades de potência em temperaturas moderadas (Logan *et al.*, 2019).

Os resultados do presente estudo indicaram que, na operação inicial, temperaturas abaixo de 24 e 25°C resultaram em uma queda considerável na tensão gerada, podendo impactar no crescimento microbiano. Por outro lado, temperaturas acima de 30°C mostraram um aumento e estabilização da tensão. Esses achados corroboram com a pesquisa conduzida por LI *et al.* (2013), que variou a temperatura de operação entre 10 , 30 , 43 e 55°C . Os resultados demonstraram que a densidade de potência produzida pela MFC foi significativamente afetada pelas diferentes temperaturas de operação, com um aumento observado na faixa de 20 a 34°C .

Além da produção de energia das MFCs 1 e 2, a eficiência de tratamento do esgoto sintético também foi analisada, considerando a remoção de Demanda Química de Oxigênio (DQO) (Tabela 1). O esgoto sintético usado como entrada dos sistemas MFCs apresentou 478 mg/L de DQO e houve uma remoção de acima de 85% em ciclos de batelada curtos das MFCs construídas e operadas, o que é muito superior aos sistemas convencionais utilizados hoje no Ceará, como lagoas de estabilização, por exemplo. A produção de corrente média em cada ciclo foi de $0,3 \text{ mA}$ para MFC1 e $0,2 \text{ mA}$ para MFC2 (Tabela 3). A eficiência coulombica mostra o quanto desta matéria orgânica foi transformada em elétrons, e a média apresentada nas MFCs

deste estudo foi de 20%, o que é muito comum devido a cultura mista utilizada e a invasão de oxigênio via cátodo de ar, deixando população de bactérias heterotróficas competirem com bactérias eletroativas pelo consumo da matéria orgânica.

Tabela 3- Resumo dos resultados de Remoção de DQO e Eficiência Coulombica

Esgoto sintético	478	mg DQO/L		
	MFC1	MFC1	MFC2	MFC2
DQO Efluente (mg/L)	86	86	124	148
Δ DQO (mg/L)	392	392	354	330
Eficiência de Remoção de DQO	91%	91%	87%	85%
Produção de corrente média (mA)	0,295	0,295	0,205	0,205
Tempo de ciclo de batelada (h)	48	48	48	48
Eficiência Coulombica	22%	22%	17%	18%

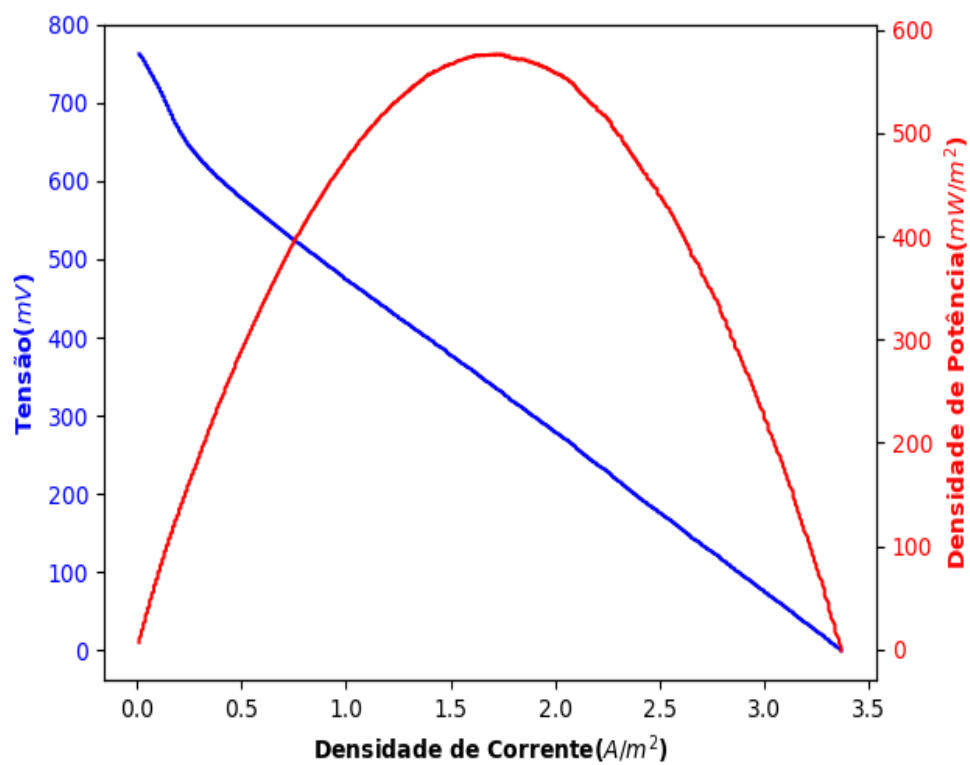
4.3 Teste LSV nas células combustíveis microbianas (MFC1) e (MFC2)

O teste LSV (Linear Sweep Voltammetry) em uma célula de combustível microbiana (MFC) é uma técnica eletroquímica crucial para avaliar o desempenho e as características elétricas da MFC. Ele desempenha vários papéis importantes em pesquisas e desenvolvimento de MFCs. Primeiro, o teste permite avaliar o comportamento eletroquímico da MFC ao variar linearmente a tensão aplicada aos eletrodos ao longo do tempo. Isso é fundamental para entender como a MFC responde sob diferentes condições operacionais. Além disso, ajuda a determinar a densidade de corrente máxima da MFC, indicando sua capacidade máxima de geração de eletricidade. Ele também fornece informações sobre o potencial de pico, que é o ponto em que a corrente elétrica é máxima, auxiliando na avaliação da eficiência da MFC.

Onde se torna essencial para avaliar a resistência ôhmica da célula, que é a resistência ao fluxo de elétrons em seu sistema. Isso é crítico para otimizar a eficiência da MFC. Além disso, o LSV ajuda a identificar perdas de tensão na célula, fornecendo informações sobre áreas que podem ser melhoradas em termos de projeto e operação. Ele também permite estudar a cinética eletroquímica, investigando as reações eletroquímicas nos eletrodos da MFC e a relação entre a tensão aplicada e a taxa de reação. Em resumo, o teste LSV é uma ferramenta valiosa para caracterizar o comportamento eletroquímico da MFC, identificar parâmetros-chave de desempenho e otimizar suas condições de operação, contribuindo para o desenvolvimento de células de combustível microbianas mais eficientes e sustentáveis.

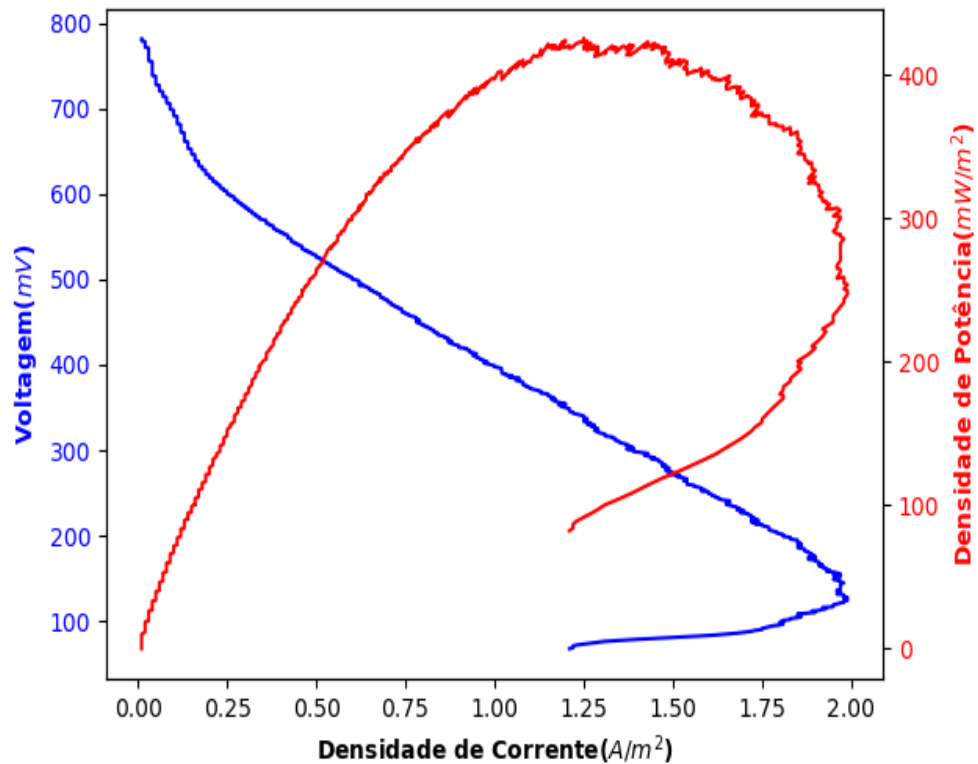
O teste como é mostrado na Figura 20 (MFC1) e Figura 21 e 22 (MFC2) onde é medida que observamos a redução da voltagem em uma célula de combustível microbiana (MFC), fica evidente que a potência também decresce. Esse fenômeno destaca uma relação direta entre a voltagem e a potência, em que a diminuição de uma está associada à redução da outra. No entanto, essa correlação não se manifesta da mesma maneira em relação à corrente elétrica. Ao aumentarmos a densidade de corrente na MFC, percebe-se que a densidade de potência diminui. Essa constatação sugere uma dissipação de energia. O aumento da densidade de corrente implica em um maior fluxo de elétrons, porém, essa intensificação da corrente não é acompanhada proporcionalmente por um aumento na densidade de potência. Em vez disso, ocorre uma diminuição. Essa dissociação entre a densidade de corrente e a densidade de potência resalta um processo de dissipação de energia dentro do sistema. À medida que a densidade de corrente cresce, a potência dissipada também aumenta, indicando uma perda de energia no sistema. Isso traz à tona a relevância de se considerar a eficiência energética na operação da MFC, já que um aumento excessivo na densidade de corrente pode resultar em perdas energéticas consideráveis. Portanto, é crucial compreender essa relação complexa entre voltagem, corrente e potência na célula de combustível microbiana, pois isso tem implicações diretas sobre a eficiência e a capacidade de geração de energia do sistema. Os experimentos foram conduzidos utilizando um sistema de operação MFC1 e MFC2, com um total de 51 dias de operação para MFC1 e apenas 26 dias para MFC2. Isso significa que MFC2 estava operando por um período substancialmente mais curto em comparação com MFC1. O resultado dessa diferença de tempo de operação é claramente visível na Figura 21, onde pode-se notar um fenômeno de *overshoot*. Esse *overshoot* é um indicativo da imaturidade do biofilme presente no sistema.

Figura 20- Gráfico do teste LSV da MFC1



Fonte: Autor (2024).

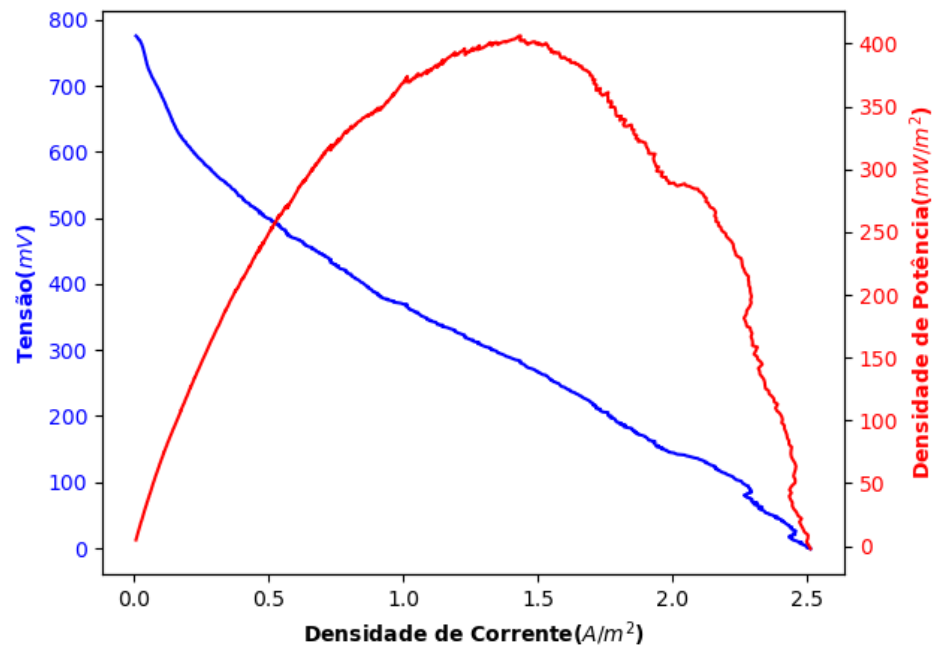
Figura 21- Gráfico do teste LSV da MFC2 com 26 dias de operação



Fonte: Autor (2024).

No entanto, na Figura 22, o teste foi repetido após um período estendido de operação de 41 dias. Durante esse tempo adicional, foi possível observar uma melhoria significativa no desenvolvimento do biofilme. Isso sugere que o biofilme se tornou mais maduro e eficiente em suas funções ao longo desse período, o que é evidenciado pela melhora do *overshoot* observado anteriormente na Figura 21. Mostrando que resultados indicam que o tempo de operação desempenha um papel crucial na maturação e eficácia do biofilme nos sistemas MFC1 e MFC2, com uma notável melhoria na performance do biofilme após um período prolongado de operação.

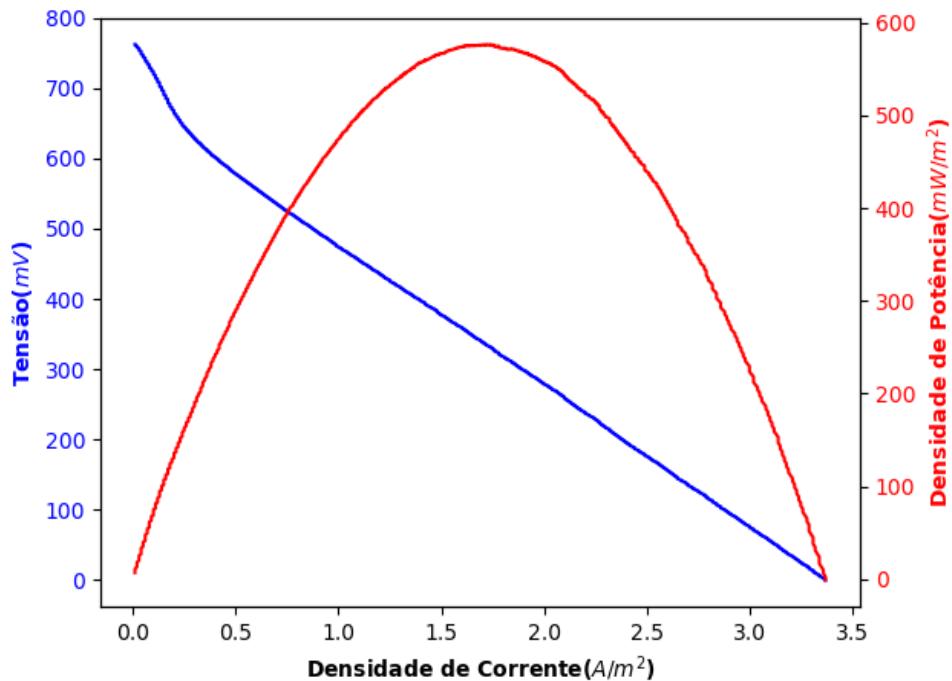
Figura 22- Gráfico do teste LSV da MFC2 com 41 dias de operação



Fonte: Autor (2024).

Após 144 dias de operação, o teste LSV foi reexecutado, conforme apresentado na Figura 23, com o objetivo de analisar o comportamento eletroquímico da MFC. Os resultados revelaram uma notável estabilidade, praticamente idêntica ao que foi observado na Figura 20. Essa consistência sugere uma eficiência notável e uma capacidade de geração de energia do sistema que se mostram bastante promissoras. A MFC demonstra um desempenho confiável ao longo do tempo, indicando uma base sólida para suas aplicações eletroquímicas.

Figura 23- Gráfico referente à MFC1 com 144 dias de operação

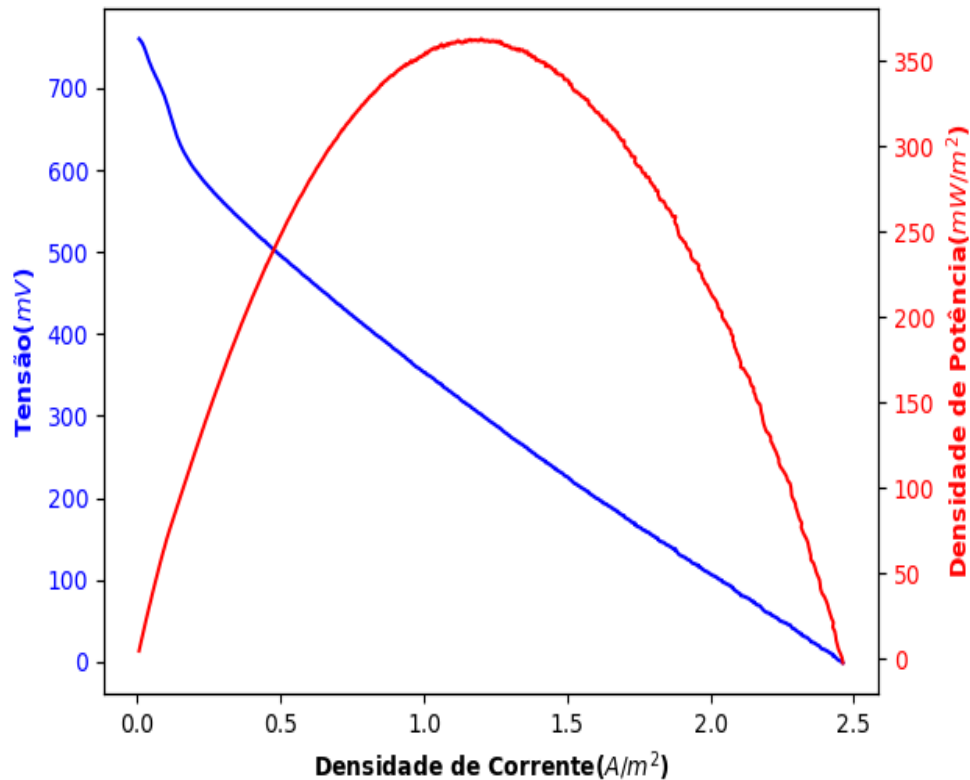


Fonte: autor (2024).

Contudo, ao atingir 125 horas de operação da MFC2, conforme ilustrado na Figura 24, foi conduzido novamente o teste de LSV para avaliar se houve aprimoramento no crescimento microbiano. Os resultados revelaram uma melhoria significativa no desenvolvimento do biofilme, indicando que este se tornou mais maduro e eficiente em suas funções ao longo desse período específico.

Essa constatação é respaldada pela ausência total do *overshoot* anteriormente observado nas Figuras 22 e 23, sugerindo uma maior estabilidade e eficácia do biofilme. Os dados indicam claramente que o tempo de operação desempenha um papel crucial na maturação e eficácia do biofilme nos sistemas MFC1 e MFC2. A notável melhoria na performance do biofilme é particularmente evidente após um período prolongado de operação, destacando a importância do tempo como um fator determinante nesse contexto.

Figura 24 – Gráfico referente á MFC2 com 125 de operação



Fonte: Autor (2024).

4.4 Análise microbiológica

Os resultados de sequenciamento de biofilmes anódicos foram identificados em categorias conhecidas em nível de gênero, proporcionando uma oportunidade para revelar a sucessão complexa da comunidade microbiana. A análise do RNA ribossômico 16S (16RNA) do lodo utilizado na célula de combustível microbiana (MFC) revelou uma composição microbiana diversificada, como indicado pelos percentuais atribuídos a diferentes gêneros bacterianos. Os gráficos apresentados na Figura 25 e 26 resultantes dessa análise apresenta uma visão detalhada da comunidade microbiana presente na amostra de lodo.

A principal constatação das análises foi à predominância do gênero *Paraclostridium*, que representou 25,07% e 14,88% da comunidade bacteriana. Essa alta porcentagem sugere uma presença significativa desses microrganismos no ambiente do lodo. *Paraclostridium* é conhecido por incluir diversas espécies de bactérias anaeróbias que desempenham papéis importantes em processos de degradação de matéria orgânica. Um estudo recente isolou um

exoeletrogênio eficiente, *Paraclostridium* sp. AKS46, que pode gerar um alto nível de eletricidade com uma redução significativa de DQO de diversos resíduos. Assim, o novo isolado tem potencial para ser utilizado em MFC para o desenvolvimento sustentável. (Basu *et al.*, 2023).

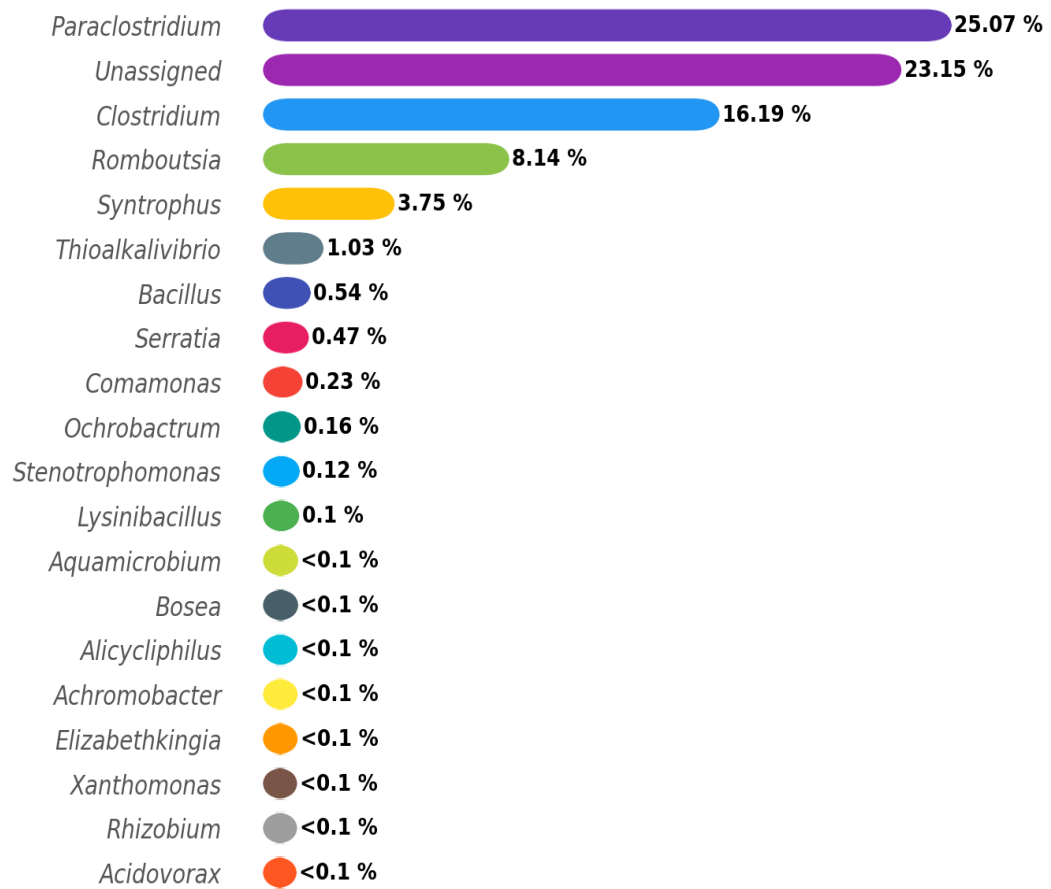
Outro achado relevante foi à presença de um grupo não identificado (Unassigned) compreendendo 23,15% e 26,6 % da comunidade bacteriana. Esse resultado destaca a complexidade da amostra, indicando a presença de microrganismos cuja identificação taxonômica não foi possível na análise, podendo representar novas espécies ou gêneros ainda não caracterizados.

Além disso, o gênero *Clostridium* foi identificado em 16,19% e 11,72%, das amostras sucessivamente. *Clostridium* é um gênero amplamente reconhecido por incluir bactérias anaeróbias que desempenham papéis cruciais em processos biotecnológicos, incluindo a produção de bioenergia em MFCs. A presença de microrganismos fermentadores e produtores de hidrogênio, como *Clostridium*, podem ser uma vantagem adicional, que garantem o fornecimento de diferentes compostos orgânicos. Esses microrganismos podem fermentar substratos complexos em simples subprodutos de fermentação, que então sofrem oxidação devido à ação de microrganismos eletroquimicamente ativos presentes no biofilme (Kumar *et al.*, 2020).

Romboutsia (8,14% e 8,54%) e *Syntrophus* (3,75% e 5,56%) também foram identificados na amostra, sugerindo a participação desses gêneros em processos metabólicos específicos. *Romboutsia* é associado à fermentação de carboidratos, enquanto *Syntrophus* está envolvido em interações sintróficas, que são associações simbióticas entre diferentes espécies bacterianas.

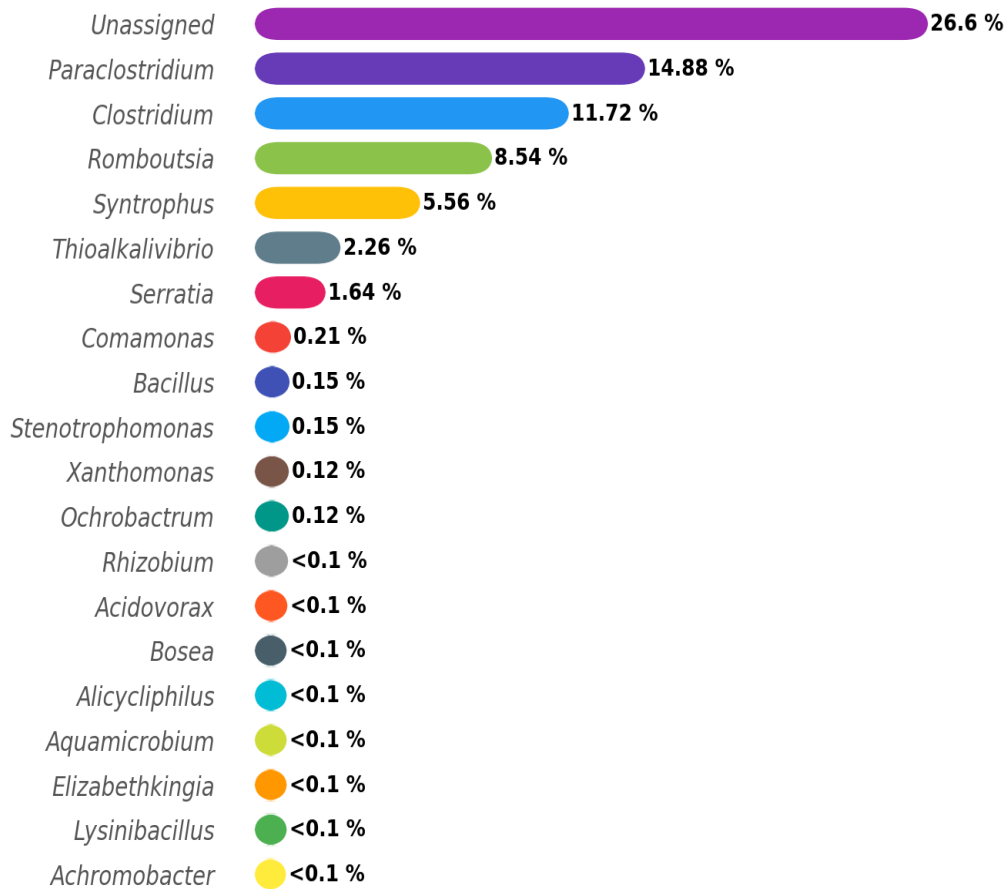
Outros gêneros presentes nas amostras das figuras 25 e 26 incluem *Thioalkalivibrio* (1,03% e 2,26%), *Bacillus* (0,54%), *Serratia* (0,47% e 1,64%), *Comamonas* (0,23% e 0,21%) e outros não especificados (etc.). Cada um desses gêneros pode desempenhar papéis distintos nos processos biológicos e químicos do lodo, contribuindo para a complexidade da comunidade bacteriana.

Figura 25- Análise da composição da amostra de lodo 1



Fonte: Autor (2024).

Figura 26 - Análise da composição da amostra de lodo 2



Fonte: Autor (2024).

A análise do RNA ribossômico 16S (16RNA) do ânodo, com pedaços da escova de carbono utilizada nas células de combustível microbiana (MFC1 e MFC2), revela uma diversidade notável na comunidade microbiana da amostra. O gráfico gerado a partir dessa análise na Figura 27 (MFC2) oferece insights valiosos sobre a composição bacteriana do ânodo, com destaque para vários gêneros significativos.

O gênero *Bacillus* é o componente dominante da comunidade microbiana, representando impressionantes 24,42% da amostra. *Bacillus* é um gênero versátil conhecido por incluir bactérias aeróbias e anaeróbias, muitas das quais desempenham papéis cruciais em processos biotecnológicos e degradação de resíduos orgânicos. Sua presença significativa sugere uma contribuição fundamental para os processos metabólicos ocorrendo na MFC.

Alicyclophilus, representando 12,11% da comunidade, é outro gênero proeminente identificado na amostra. Este gênero é associado à degradação de compostos cíclicos e

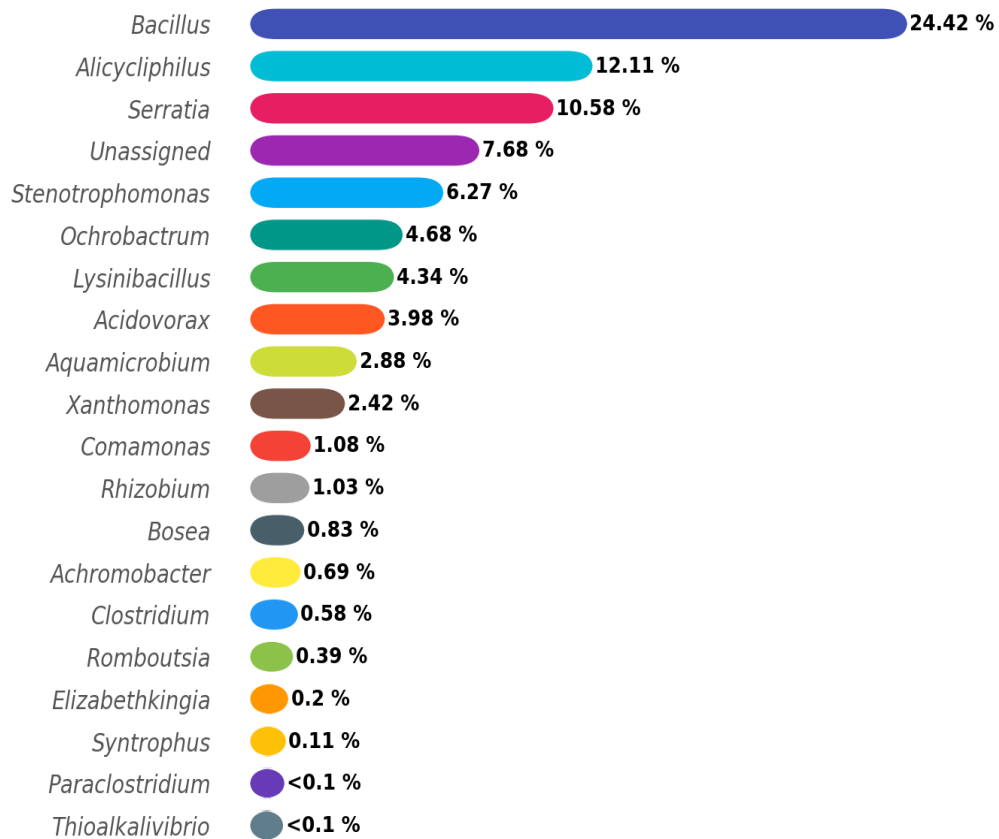
hidrocarbonetos, indicando a possível capacidade da comunidade microbiana em lidar com substratos complexos presentes no ânodo.

Serratia, com 10,58%, também se destaca na análise. Este gênero inclui bactérias conhecidas por suas propriedades de degradação de diversos substratos, podendo contribuir para a eficiência do processo de tratamento na MFC.

O grupo não identificado (Unassigned) compreende 7,68% da amostra, indicando a presença de microrganismos cuja identificação taxonômica não foi possível na análise. Esse resultado sugere a necessidade de investigações adicionais para caracterizar esses microrganismos não identificados, o que pode levar à descoberta de novas espécies ou gêneros.

Outros gêneros identificados na análise incluem *Stenotrophomonas* (6,27%), *Ochrobactrum* (4,68%), *Lysinibacillus* (4,34%), *Acidovorax* (3,98%), *Aquamicrobium* (2,88%), *Xanthomonas* (2,42%), *Comamonas* (1,08%), *Rhizobium* (1,03%), *Bosea* (0,83%), *Achromobacter* (0,69%), e *Clostridium* (0,58%). Cada um desses gêneros contribui para a riqueza e a complexidade da comunidade microbiana no Ânodo, desempenhando papéis específicos em processos biológicos e químicos. *Comamonas*, *Clostridium* tem espécies eletroativas (Logan *et al.*, 2019).

Figura 27- Análise da composição da amostra do Ânodo da MFC2



Fonte: autor (2024).

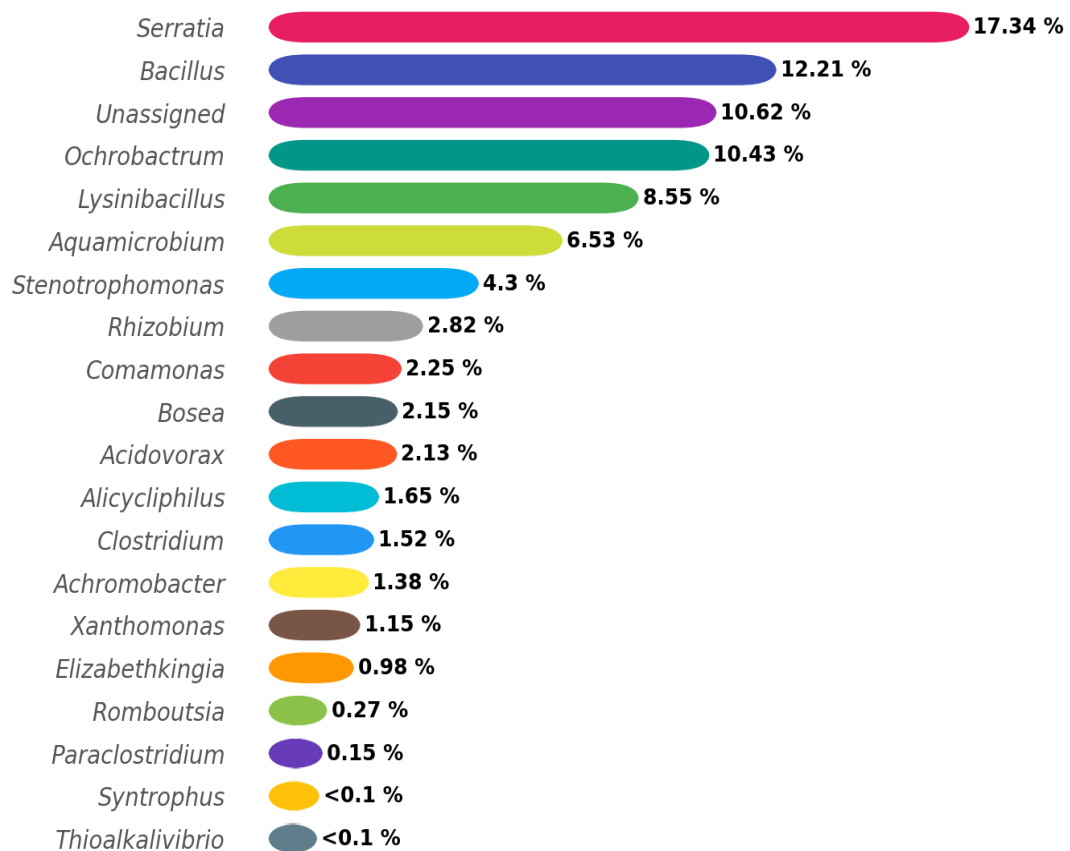
Na figura 28 o gênero *Serratia* é proeminente na amostra, representando 17,34% da comunidade bacteriana. *Serratia* é conhecida por suas propriedades metabólicas, incluindo a capacidade de degradar uma variedade de substratos orgânicos. Sua abundância sugere que este gênero pode ter um papel significativo nos processos biológicos ocorrendo na MFC2, possivelmente contribuindo para a eficiência do tratamento de resíduos e para a produção de energia. O gênero *Bacillus* também se destaca, compreendendo 12,21% da comunidade. *Bacillus* é um gênero versátil, com várias espécies capazes de realizar uma ampla gama de funções metabólicas, incluindo a degradação de compostos orgânicos. Sua presença na amostra sugere uma contribuição importante para os processos biológicos envolvidos na MFC. Um estudo recente mostrou que uma espécie do gênero *Bacillus*, foi o biocatalisador MFC com maior potencial, onde produziu valor MPP "Ponto de Máxima Potência" de 67,11 mW m⁻², densidade de corrente de 333,03 mA m⁻², eficiência coulombiana de 53,86% e eficiência energética de 63,27%, o que mostra capacidade eletroquímica como biocatalisador MFC para

produção de bioeletricidade. (Indriyani *et al.*,2023)

O grupo não identificado (Unassigned) constitui 10,62% da amostra. Essa categoria indica microrganismos cuja identificação taxonômica não foi possível na análise, apontando para a complexidade da comunidade microbiana, possivelmente incluindo espécies não descritas anteriormente.

Outros gêneros presentes na amostra incluem *Ochrobactrum* (10,43%), *Lysinibacillus* (8,55%), *Aquamicrobium* (6,53%), *Stenotrophomonas* (4,3%), *Rhizobium* (2,82%), *Comamonas* (2,25%), *Bosea* (2,15%), *Acidovorax* (2,13%), *Alicyclophilus* (1,65%), *Clostridium* (1,52%) e outros não especificados. A presença diversificada desses gêneros indica uma comunidade microbiana robusta e adaptável no Ânodo utilizado na MFC2. Cada gênero pode desempenhar funções específicas, contribuindo para a degradação de substratos, produção de metabólitos e transferência de elétrons, fundamentais para o funcionamento eficiente da MFC2.

Figura 28- Análise da composição da amostra do Ânodo da MFC2 (1.2)



Fonte: Autor (2024).

A análise do Ânodo utilizado na MFC1 Figura 29, com pedaços retirados para o estudo, revela uma composição microbiana notável. O destaque principal dessa análise é a predominância do gênero *Serratia*, que representa uma parcela significativa da comunidade bacteriana, atingindo 32,83%. *Serratia* é conhecida por suas propriedades metabólicas diversas e em estudo com altos teores de Cu^{2+} , foi um dos gêneros com a maior eficiência na remoção de Cu^{2+} (Yining *et al.* 2020).

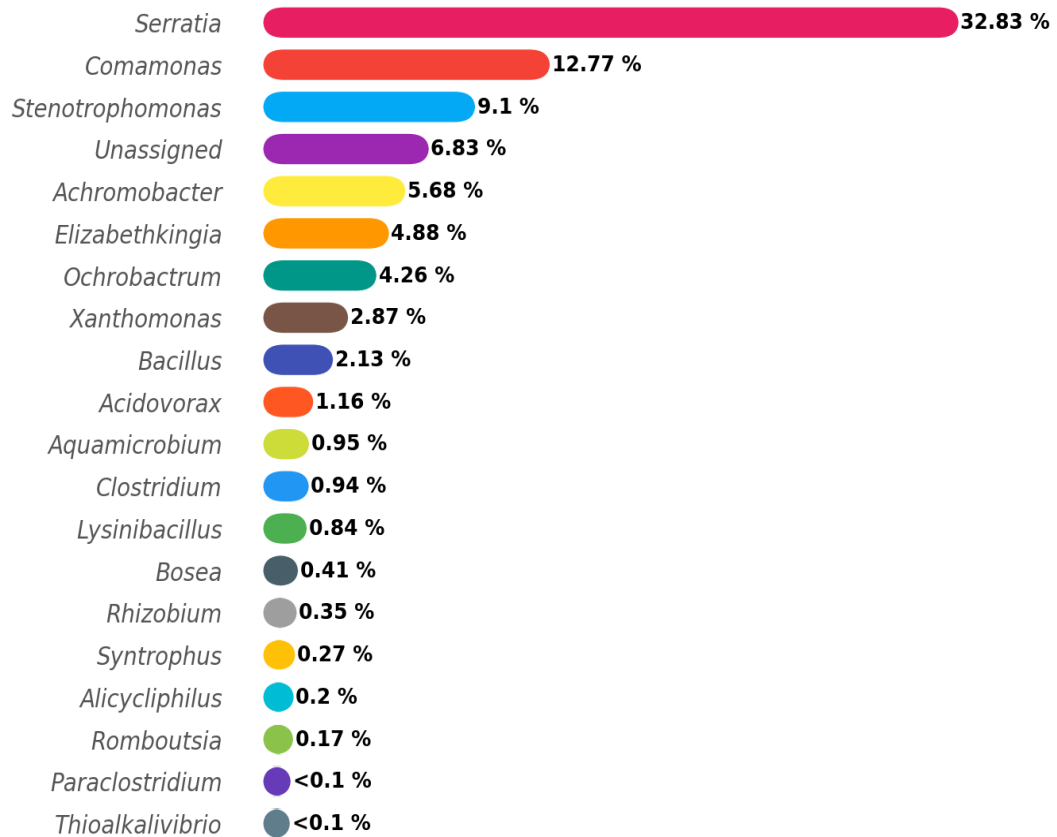
Comamonas também se destaca na amostra, contribuindo com 12,77% da comunidade. Este gênero de bactérias é reconhecido por sua capacidade de degradação de diversos substratos orgânicos e de compostos aromáticos, sugerindo uma contribuição importante para a eficiência do tratamento de resíduos e a produção de energia na MFC1, além de *Comamonas* favorece a eficiência de remoção orgânica e a taxa de degradação na câmara anódica dos MFCs (Juang *et al.*, 2012).

Stenotrophomonas é outro gênero identificado, compreendendo 9,1% da comunidade bacteriana. Este gênero tem características metabólicas variadas, é uma bactéria gram negativa, não fermentativa, exoeletrogênica e desnitrificante, além de ser uma bactéria filamentosa capaz de formar biofilme no ânodo, que forma a base do EET sem mediador (Jayashree, *c. et al.* 2016).

Achromobacter, *Elizabethkingia*, e *Ochrobactrum* (bactérias redutoras de nitrato (bactérias desnitrificantes (Zuo *et al.* 2008)) são outros gêneros presentes, contribuindo com 5,68%, 4,88%, e 4,26%, respectivamente. Esses gêneros podem desempenhar funções específicas na comunidade microbiana, adicionando à diversidade funcional e adaptabilidade do sistema.

Outros gêneros presentes incluem *Xanthomonas* (2,87%), *Bacillus* (2,13%), *Acidovorax* (1,16%), *Aquamicrobium* (0,95%), *Clostridium* (0,94%), e *Lysinibacillus* (0,84%). Cada um desses gêneros possui características metabólicas distintas, sugerindo uma sinergia complexa entre os microrganismos na MFC1.

Figura 29- Análise da composição da amostra do Ânodo da MFC1 (2.1)



Fonte: Autor (2024).

O destaque proeminente dessa análise como é mostrado na Figura 30 é a presença dominante do gênero *Comamonas*, que compõe uma parcela expressiva de 46,93% da comunidade bacteriana. É reconhecido por sua versatilidade metabólica, o que sugere uma influência substancial nos processos biológicos que ocorrem na MFC1.

O gênero *Stenotrophomonas* também se destaca, contribuindo com 12,98% da comunidade bacteriana. Sua presença considerável sugere a possibilidade de desempenhar funções específicas essenciais para o desempenho eficiente da MFC1. A diversidade metabólica desse gênero pode contribuir para uma variedade de processos biológicos e químicos no contexto da célula de combustível microbiana.

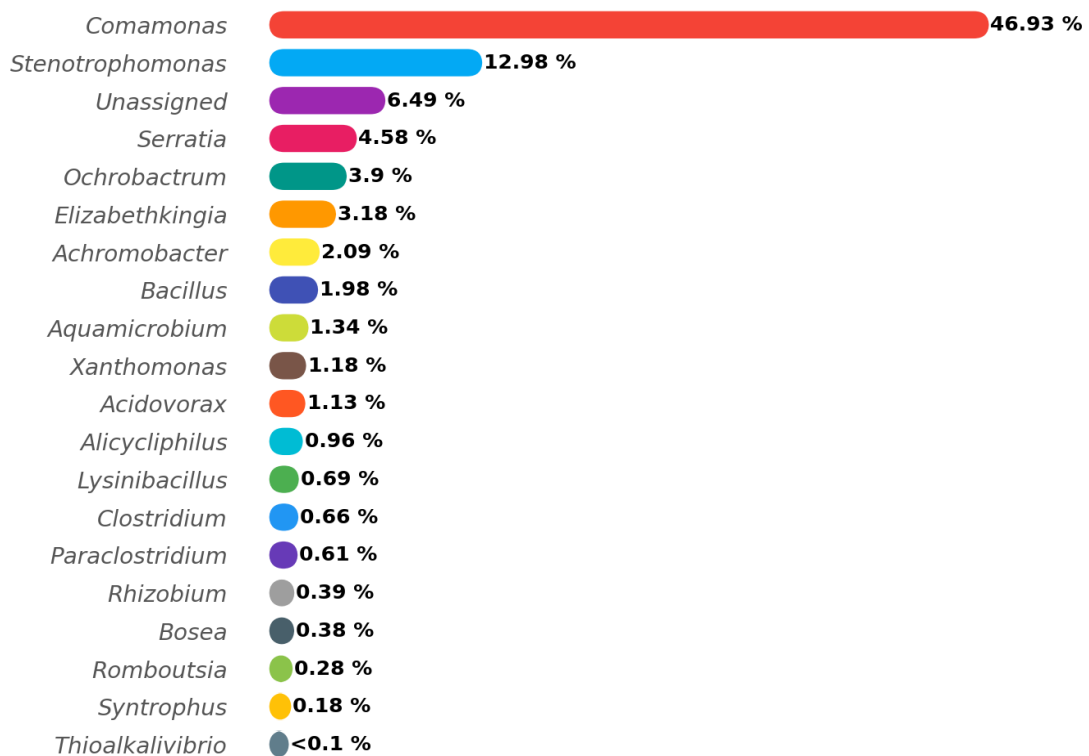
A categoria "Unassigned" constitui 6,49% da amostra, indicando a presença de microrganismos cuja identificação taxonômica não foi possível com base na análise do 16RNA. Essa categoria ressalta a necessidade de investigações adicionais para caracterizar completamente essa fração da comunidade, podendo revelar novas espécies ou gêneros ainda não descritos.

Outros gêneros notáveis incluem *Serratia*, *Ochrobactrum* e *Elizabethkingia*, que contribuem com 4,58%, 3,9% e 3,18%, respectivamente. A presença desses gêneros sugere uma variedade de funções metabólicas que podem ser relevantes para o ambiente específico da MFC1.

Gêneros como *Achromabacter*, *Bacillus*, *Aquamicrobium*, *Xanthomonas* e *Acidovorax*, embora em proporções menores (2,09%, 1,98%, 1,34%, 1,18% e 1,13%, respectivamente), podem desempenhar papéis distintos na dinâmica da comunidade microbiana. Cada um desses gêneros traz consigo uma gama única de características metabólicas que podem contribuir para a complexidade funcional da MFC1.

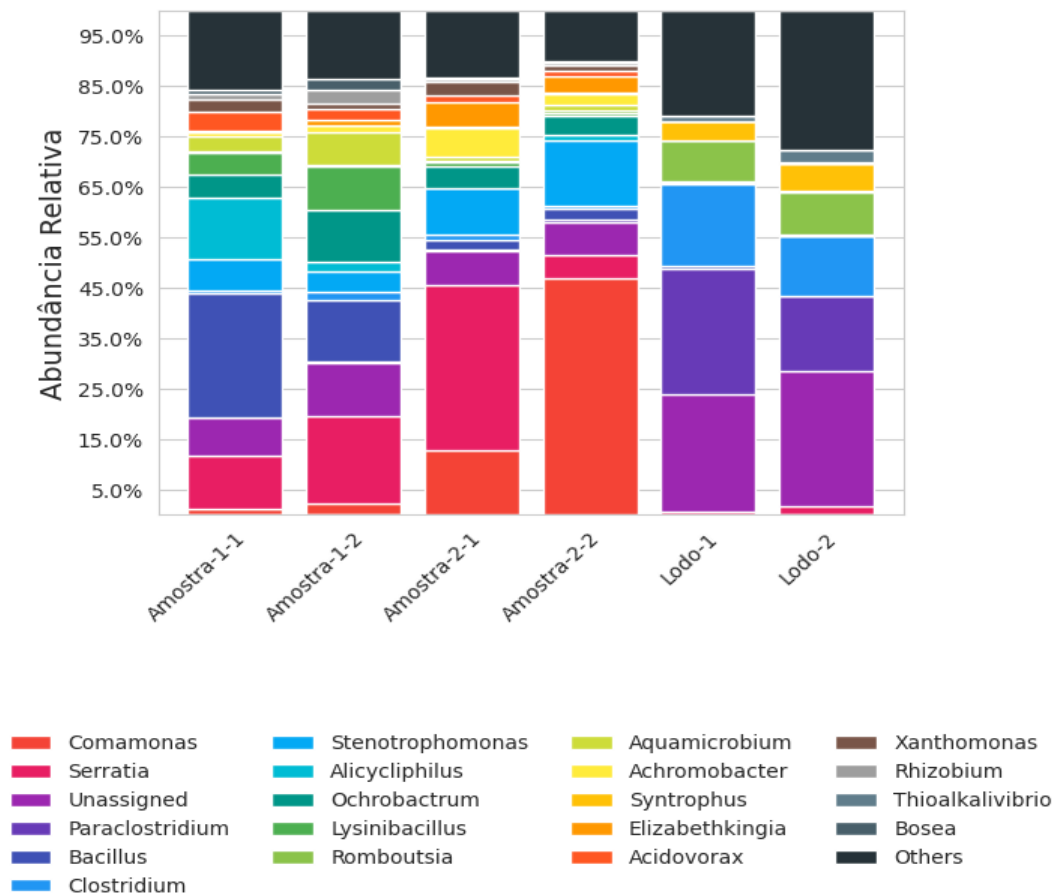
Esses resultados destacam não apenas a diversidade taxonômica, mas também a riqueza funcional da comunidade microbiana no Ânodo da MFC1e MFC2. A compreensão aprofundada desses padrões é crucial para otimizar a eficácia das MFCs em termos de tratamento de resíduos e produção de energia. Além disso, abre oportunidades para pesquisas mais específicas sobre os papéis e as interações desses microrganismos, promovendo avanços na compreensão e aplicação de células de combustível microbianas.

Figura 30- Análise da composição da amostra do Ânodo da MFC1 (2.2)



Fonte: Autor (2024).

Figura 31- Resumo das amostras avaliadas e sua abundância



Fonte: Autor (2024).

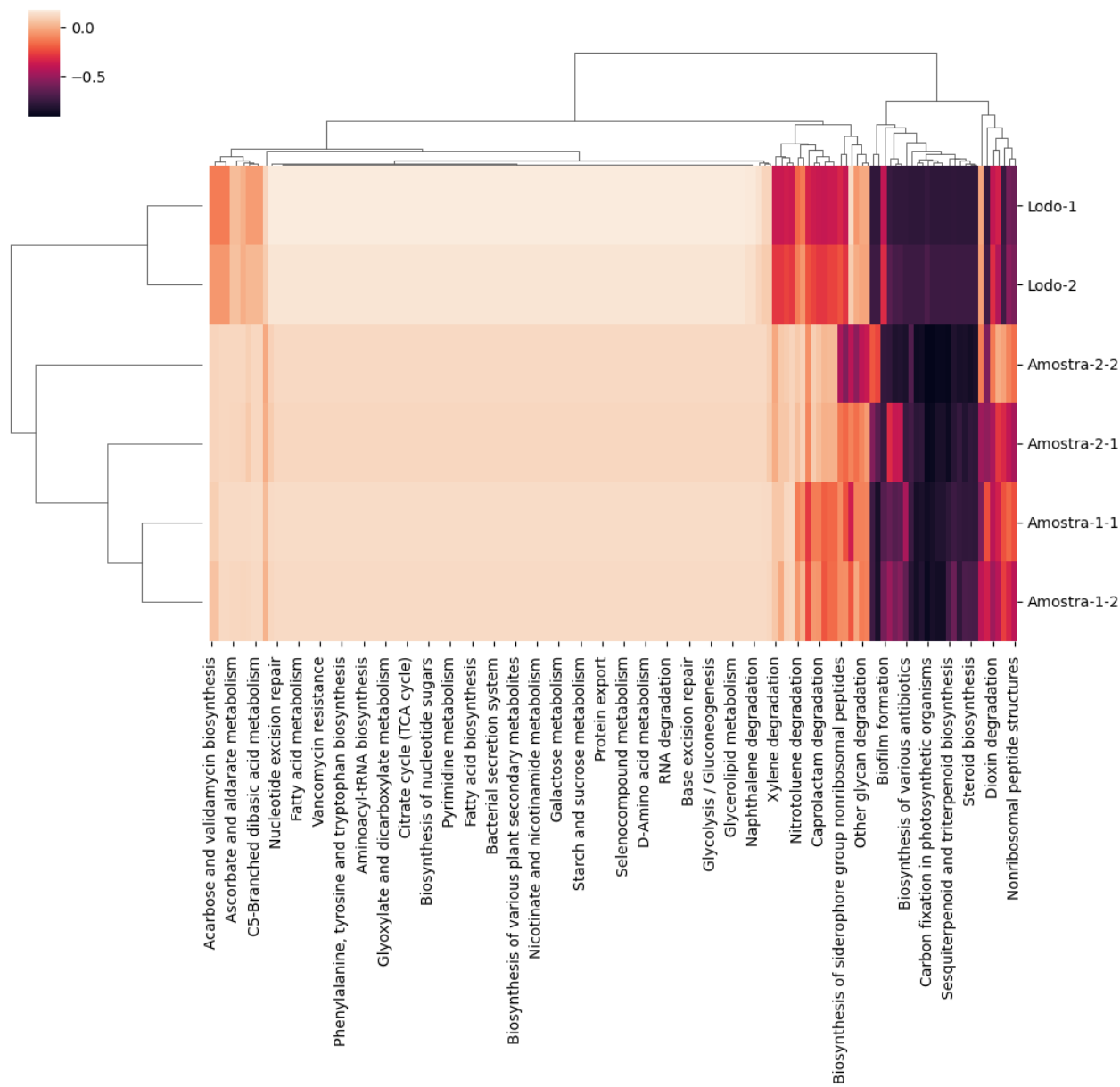
Este gráfico Figura 31 apresenta um resumo detalhado dos gêneros identificados nas amostras, destacando suas respectivas porcentagens. Os resultados revelam que a maior proporção é atribuída aos gêneros *Camamonas*, com 46,98%, no estudo de XING *et al.* 2010 onde a bactéria exoeletrogênica *Comamonas* que era um membro predominante da comunidade conseguiu densidades de potência máximas produzidas pelas duas cepas, uma com $36 \pm 0,8$ mW/m² e $35 \pm 1,2$ mW/m² sucessivamente, seguido por *Serratia* com 32,83%, sendo bastante promissor como é mostrado no estudo SILVA- PALACIOS *et al.*, (2023) onde conseguiu uma voltagem máxima gerada pela bactéria *Serratia* de $0,53 \pm 0,01$ V e os valores mínimos de voltagem registrados foram de $0,37 \pm 0,01$ V, nas MFCs apresentam pH máximo de $6,24 \pm 0,01$ em 3 dias consecutivos e o valor mínimo foi de $2,98 \pm 0,00$ e com a resistência é 215.2151 ± 11.251 Ω. Portanto estes resultados confirmam as excelentes propriedades elétricas destes microrganismos como combustível para geração de eletricidade com, *Paraclostridium*, com 25,07%, *Bacillus*, registrando 24,42%, e posteriormente, *Clostridium*, com 16,19%, e

Stenotrophomonas, com 12,98%. Comparando como nosso resultado a MFC1 atingiu $600 \pm 0,2$ mW/m² Essa descoberta, enquanto a MFC2 $350 \pm 0,5$ mW/m²

Essa descoberta é particularmente promissora, pois indica que a produção da tensão de 550mv está vinculada a uma variedade de bactérias, diferindo significativamente de várias pesquisas que se concentram nos gêneros *Geobacter* e *Shewanella* como os principais protagonistas em células a combustível microbianas (MFCs) e eletroquímicas microbianas como no estudo de LOGAN *et. al.*, (2019) onde as maiores densidades até o momento provêm de culturas mistas que são geralmente dominadas por Deltaproteobacteria do gênero *Geobacter* e *Shewanella oneidensis*. Este achado amplia o escopo da compreensão desses sistemas, abrindo possibilidades para a exploração de novas fontes e potenciais contribuições de diferentes gêneros bacterianos na eficiência e diversidade funcional dessas tecnologias. O estudo indicou que o desenvolvimento da tecnologia de MFC não deve ser baseado apenas em culturas puras, mas nas culturas mistas, que se apresentam como eficazes e robustas.

Este gráfico Figura 32 ilustra as previsões das vias metabólicas dos 20 organismos mais abundantes em todas as amostras. Importante destacar que essas previsões são fundamentadas em dados provenientes de uma base de dados composta por bactérias não eletroativas.

Figura 32- Gráfico referente ao metabolismo das amostras de Bactérias



Fonte: Autor (2024).

5 CONCLUSÕES

Em conclusão este trabalho abordou a construção e operação de uma célula de combustível microbiana, com um foco especial na análise de bactérias eletroativas. Foram realizados testes utilizando dois sistemas, denominados MFC 1 e MFC 2, com diferentes períodos de operação. Observamos que a duração da operação desempenha um papel crucial no desenvolvimento e eficiência do biofilme presente nos sistemas MFCs. Esses resultados indicam que a maturação do biofilme é um processo dinâmico e depende fortemente do tempo de operação. Portanto, é crucial considerar o período de operação ao projetar e operar sistemas de células de combustível microbiana para obter o máximo desempenho a MFC1 atingiu $600 \pm 0,2 \text{ mW/m}^2$ a MFC2 $350 \pm 0,5 \text{ mW/m}^2$. No contexto da análise de bactérias eletroativas, os resultados revelam que a maior proporção é atribuída aos gêneros *Camamonas*, com 46,98%, seguido por *Serratia* com 32,83%, sendo bastante promissor. Portanto estes resultados confirmam as excelentes propriedades elétricas destes microrganismos como combustível para geração de eletricidade com, *Paraclostridium*, com 25,07%, *Bacillus*, registrando 24,42%, e posteriormente, *Clostridium*, com 16,19%, e *Stenotrophomonas*, com 12,98%.

Essa descoberta é particularmente promissora, pois indica que a produção da tensão de 550mv está vinculada a uma variedade de bactérias, diferindo significativamente de várias pesquisas que se concentram nos gêneros *Geobacter* e *Shewanella* como os principais protagonistas em células a combustível microbianas onde as maiores densidades até o momento provêm de culturas mistas que são geralmente dominadas por Deltaproteobacteria do gênero *Geobacter* e *Shewanella oneidensis*. Este achado amplia o escopo da compreensão desses sistemas, abrindo possibilidades para a exploração de novas fontes e potenciais contribuições de diferentes gêneros bacterianos na eficiência e diversidade funcional dessas tecnologias. e não coincidiram com as mudanças na corrente produzida. O estudo indicou que o desenvolvimento da tecnologia de MFC não deve ser baseado apenas em culturas puras, mas nas culturas mistas, que se apresentam como eficazes e robustas. Em suma, a construção e operação da célula de combustível microbiana apresenta um campo de pesquisa promissor, com implicações significativas para a produção de energia sustentável e a compreensão dos processos biológicos envolvidos. Estes resultados iniciais abrem caminho para investigações mais aprofundadas e aplicações práticas futuras nesse campo inovador.

REFERÊNCIAS

- ARUN, Jayaseelan et al. **New insights into microbial electrolysis cells (MEC) and microbial fuel cells (MFC) for simultaneous wastewater treatment and green fuel (hydrogen) generation.** *Fuel*, v. 355, p. 129530, 2024. Disponível em: <https://encurtador.com.br/hPpjN>. Acesso em: 01 mar. 2024.
- AQUINO, Sérgio F. de; SILVA, Silvana de Queiroz; CHERNICHARO, Carlos AL. **Considerações práticas sobre o teste de demanda química de oxigênio (DQO) aplicado a análise de efluentes anaeróbios.** *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 11, p. 295-304, 2006. Disponível em: <https://encurtador.com.br/NXS0V>. Acesso em: 01 fev. 2022.
- BADALAMENTI, Jonathan P.; KRAJMALNIK-BROWN, Rosa; TORRES, César I. **Generation of high current densities by pure cultures of anode-respiring *Geoalkalibacter* spp. under alkaline and saline conditions in microbial electrochemical cells.** *MBio*, v. 4, n. 3, p. 10.1128/mbio. 00144-13, 2013. Disponível em: <https://abrir.link/XAapf>. Acesso em: 01 fev. 2022.
- BASU, Aparajita; MANNA, Sourav; SIL, Alok Kumar. **A new electro-active bacterium, *Paraclostridium* sp. AKS46, converts waste efficiently into electricity in microbial fuel cell.** *Chemical Engineering Journal*, v. 475, p. 145626, 2023. Disponível em: <https://abrir.link/fRjWK>. Acesso em: 21 jun. 2023.
- BEYENAL, Haluk; BABAUTA, Jerome T. **Biofilms in bioelectrochemical systems: from laboratory practice to data interpretation.** John Wiley & Sons, 2015. Disponível em: <https://abrir.link/yumcU> Acesso em: 24 mar. 2022.
- BEZERRA, F. **Hidrogênio verde: nasce um gigante no setor de energia.** Caderno Setorial ETENE. Fortaleza, ano 6, n. 212, p. 1-13, dez. 2021. Disponível em: https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/1109/1/2021_CDS_212.pdf. Acesso em: 24 mar. 2022.
- BREUER, Marian et al. **Multi-haem cytochromes in *Shewanella oneidensis* MR-1: structures, functions and opportunities.** *Journal of the Royal Society Interface*, v. 12, n. 102, p. 20141117, 2015. Disponível em: <https://abrir.link/iGhLE>. Acesso em: 24 set. 2023.
- BION, Nicolas; DUPREZ, Daniel; EPRON, Florence. **Design of nanocatalysts for green hydrogen production from bioethanol.** *ChemSusChem*, v. 5, n. 1, p. 76-84, 2012. Disponível em: <https://abrir.link/sXZyy>. Acesso em: 08 set. 2023.
- CHEN, X. F. et al. **Improved power output by incorporating polyvinyl alcohol into the anode of a microbial fuel cell.** *Journal of Materials Chemistry A*, v. 3, n. 38, p. 19402-19409, 2015. Disponível em: <https://abrir.link/IOvZF>. Acesso em: 08 jan. 2024.
- CHI, Jun; YU, Hongmei. **Water electrolysis based on renewable energy for hydrogen production.** *Chinese Journal of Catalysis*, v. 39, n. 3, p. 390-394, 2018. Disponível em: <https://abrir.link/DxZxu>. Acesso em: 27 jan. 2024.

CROESE, Elsemiek et al. **Analysis of the microbial community of the biocathode of a hydrogen-producing microbial electrolysis cell.** Applied microbiology and biotechnology, v. 92, p. 1083-1093, 2011. Disponível em: <https://abrir.link/FaDMC>. Acesso em: 27 fev. 2024.

DANGE, Pooja et al. **Recent developments in microbial electrolysis cell-based biohydrogen production utilizing wastewater as a feedstock.** Sustainability, v. 13, n. 16, p. 8796, 2021. Disponível em: <https://abrir.link/IMynB>. Acesso em: 27 fev. 2024.

DAREIOTI, Margarita Andreas; VAVOURAKI, Aikaterini Ioannis; KORNAROS, Michael. **Effect of pH on the anaerobic acidogenesis of agroindustrial wastewaters for maximization of bio-hydrogen production: a lab-scale evaluation using batch tests.** Bioresource technology, v. 162, p. 218-227, 2014. Disponível em: <https://abrir.link/PuYyU>. Acesso em: 27 fev. 2024.

DWIVEDI, Kavya Arun et al. **Fundamental understanding of microbial fuel cell technology: recent development and challenges.** Chemosphere, v. 288, p. 132446, 2022. Disponível em: <https://abrir.link/ziuaT>. Acesso em: 27 ago. 2023.

DULON, Sophie et al. **Electroactive biofilms: new means for electrochemistry.** Journal of applied electrochemistry, v. 37, p. 173-179, 2007. Disponível em: <https://shorturl.at/DD1E2>. Acesso em: 27 fev. 2022.

ECYCLE. **O que são os gases do efeito estufa?** 2021. Disponível em: <https://www.ecycle.com.br/gases-do-efeito-estufa/>. Acesso em: 29 de out. de 2022.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. **Bases para a consolidação da estratégia brasileira do hidrogênio, Brasil**, 14 jun. 2021. Nota técnica EPE-DEA-NT-003/2021 rev01. Disponível em: <https://shorturl.at/pKtfU>. Acesso em: 24 mar. 2022.

FRANKS, Ashley E.; NEVIN, Kelly P. **Microbial fuel cells, a current review.** Energies, v. 3, n. 5, p. 899-919, 2010. Disponível em: <https://abrir.link/YsmnR>. Acesso em: 24 mar. 2022.

FENG, C. et al. **Characterization of exoelectrogenic bacteria enterobacter strains isolated from a microbial fuel cell exposed to copper shock load.** Plos One, v. 9, n. 11, p. e113379, 2014. Disponível em: <https://abrir.link/kNYCQ>. Acesso em: 20 mar. 2022.

GADKARI, Siddharth; GU, Sai; SADHUKHAN, Jhuma. **Towards automated design of bioelectrochemical systems: A comprehensive review of mathematical models.** Chemical Engineering Journal, v. 343, p. 303-316, 2018. Disponível em: <https://abrir.link/qJmLE>. Acesso em: 20 mar. 2023.

GILDEMYN, Sylvia; ROZENDAL, René A.; RABAEY, Korneel. **A Gibbs free energy-based assessment of microbial electrocatalysis.** Trends in biotechnology, v. 35, n. 5, p. 393-406, 2017. Disponível em: <https://shre.ink/bXuf>. Acesso em: 20 out 2023.

GORBY, Yuri A. et al. **Electrically conductive bacterial nanowires produced by Shewanella oneidensis strain MR-1 and other microorganisms.** Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 103, n. 30, p. 11358-11363, 2006. Disponível em: <https://abrir.link/opXOC>. Acesso em: 20 mar. 2023.

HASANY, Masoud; MARDANPOUR, Mohammad Mahdi; YAGHMAEI, Soheila. **Biocatalysts in microbial electrolysis cells: A review**. International journal of hydrogen energy, v. 41, n. 3, p. 1477-1493, 2016. Disponível em: <https://abrir.link/gCdAU>. Acesso em: 04 nov. 2023.

HEIDRICH, E. S.; CURTIS, T. P.; DOLFING, J. **Determination of the internal chemical energy of wastewater**. Environmental science & technology, v. 45, n. 2, p. 827-832, 2011. Disponível em: <https://abrir.link/fQCrB>. Acesso em: 04 nov. 2023.

HOLMES, D. E. et al. **Microbial Communities Associated with Electrodes Harvesting Electricity from a Variety of Aquatic Sediments**, Microbial Ecology, Vol. 48, Issue 2, p.178, August, 2004. Disponível em: <https://shorturl.at/daVE2>. Acesso em: 13 jul. 2023.

HUANG, Yu-Xi et al. **A new cathodic electrode deposit with palladium nanoparticles for cost-effective hydrogen production in a microbial electrolysis cell**. international journal of hydrogen energy, v. 36, n. 4, p. 2773-2776, 2011. Disponível em: <https://shorturl.at/e8nLt>. Acesso em: 27 out. 2023.

HU, Hongqiang; FAN, Yanzhen; LIU, Hong. **Hydrogen production using single-chamber membrane-free microbial electrolysis cells**. Water research, v. 42, n. 15, p. 4172-4178, 2008. Disponível em: <https://rb.gy/m93dir>. Acesso em: 7 out. 2023.

HU, Jianjun et al. **Feasible use of microbial fuel cells for pollution treatment**. Renewable energy, v. 129, p. 824-829, 2018. Disponível em: <https://rb.gy/wsghjg>. Acesso em: 09 mar. 2023.

INDRIYANI, Yohanna Anisa et al. **Bioelectrochemical assessment of a novel electrogenic Bacillus altitudinis AC11. 2 for electricity generation in microbial fuel cell (MFC) system**. Journal of Applied Electrochemistry, v. 54, n. 5, p. 977-997, 2024. Disponível em: <https://encurtador.com.br/B3pL9>. Acesso em: 18 jan. 2024.

IEROPOULOS, Ioannis A. et al. **Comparative study of three types of microbial fuel cell**. Enzyme and microbial technology, v. 37, n. 2, p. 238-245, 2005. Disponível em: <https://rb.gy/kzx7le>. Acesso em: 15 abr. 2023.

JAMES, Anina. **Ceramic-microbial fuel cell (C-MFC) for waste water treatment: A mini review**. Environmental Research, v. 210, p. 112963, 2022. Disponível em: <https://rb.gy/ebuqon>. Acesso em: 03 jun. 2023.

JAYASHREE, C. et al. **Treatment of seafood processing wastewater using upflow microbial fuel cell for power generation and identification of bacterial community in anodic biofilm**. Journal of environmental management, v. 180, p. 351-358, 2016. Disponível em: <https://rb.gy/ya9j7f>. Acesso em: 19 nov. 2023.

JAFARY, Tahereh et al. **Clean hydrogen production in a full biological microbial electrolysis cell**. International journal of hydrogen energy, v. 44, n. 58, p. 30524-30531, 2019. Disponível em: <https://encurtador.com.br/nItXT>. Acesso em: 24 jul. 2023.

JAFARY, Tahereh et al. **Biocathode in microbial electrolysis cell; present status and future prospects**. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 47, p. 23-33, 2015. Disponível em: <https://encurtador.com.br/bqZeq>. Acesso em: 08 fev. 2023.

JEREMIASSE, Adriaan W.; HAMELERS, Hubertus VM; BUISMAN, Cees JN. **Microbial electrolysis cell with a microbial biocathode**. Bioelectrochemistry, v. 78, n. 1, p. 39-43, 2010. Disponível em: <https://encurtador.com.br/Xk3Bs>. Acesso em: 14 fev. 2024.

JUANG, Der-Fong. **Organic removal efficiencies and power production capabilities of microbial fuel cells with pure cultures and mixed culture**. APCBEE Procedia, v. 1, p. 2-7, 2012. Disponível em: <https://encurtador.com.br/bdBfE>. Acesso em: 23 jan. 2024.

KALINCI, Y.; HEPBASLI, A.; DINCER, I. **Biomass-based hydrogen production: a review and analysis**. International Journal of Hydrogen Energy, v. 34, n. 21, p. 8799–8817, 2009. Disponível em: <https://abrir.link/LGtQs>. Acesso em: 25 ago. 2023.

KADIER, Abudukeremu et al. **A comprehensive review of microbial electrolysis cells (MEC) reactor designs and configurations for sustainable hydrogen gas production**. Alexandria Engineering Journal, v. 55, n. 1, p. 427-443, 2016. Disponível em: <https://abrir.link/QWijo>. Acesso em: 17 out. 2023.

KATO, Souichiro. **Biotechnological aspects of microbialextracellular electron transfer**. Microbes and environments, v. 30, n. 2, p. 133-139, 2015. Disponível em: <https://abrir.link/WmJev>. Acesso em: 29 mai. 2023.

KADIER, Abudukeremu et al. **Hydrogen gas production with an electroformed Ni mesh cathode catalysts in a single-chamber microbial electrolysis cell (MEC)**. International Journal of Hydrogen Energy, v. 40, n. 41, p. 14095-14103, 2015. Disponível em: <https://abrir.link/cZXgj>. Acesso em: 11 abr. 2023.

KIM, In S. et al. **Microbial fuel cells: recent advances, bacterial communities and application beyond electricity generation**. Environmental Engineering Research, v. 13, n. 2, p. 51-65, 2008. Disponível em: <https://abrir.link/Finqq>. Acesso em: 20 mar. 2023.

KORTH, B. et al. **A framework for modeling electroactive microbial biofilms performing direct electron transfer**. Bioelectrochemistry, v. 106, p. 194–206, 2015. Disponível em: <https://abrir.link/fHAHF>. Acesso em: 27 jan. 2024.

KOCH, Christin; HARNISCH, Falk. **Is there a specific ecological niche for electroactive microorganisms?**. ChemElectroChem, v. 3, n. 9, p. 1282-1295, 2016. Disponível em: <https://abrir.link/dXXqX>. Acesso em: 13 jan. 2024.

KOÓK, L. et al. **The influential role of external electrical load in microbial fuel cells and related improvement strategies: A review**. Bioelectrochemistry, v. 140, p. 107749, 1 ago. 2021. Disponível em: <https://abrir.link/rJeqg>. Acesso em: 13 nov. 2023.

KUMAR, Smita S. et al. **Alkalinity and salinity favor bioelectricity generation potential of Clostridium, Tetrathlobacter and Desulfovibrio consortium in Microbial Fuel Cells (MFC) treating sulfate-laden wastewater**. Bioresource technology, v. 306, p. 123110, 2020. Disponível em: <https://abrir.link/XjFnn>. Acesso em: 29 nov. 2023.

LEVIN, David B.; PITT, Lawrence; LOVE, Murray. **Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application**. International journal of hydrogen energy, v. 29, n. 2, p. 173-185, 2004. Disponível em: <https://abrir.link/ycthJ>. Acesso em: 02 jul. 2023.

LI, L. H. et al. **Effect of temperature change on power generation of microbial fuel cell**. Environmental technology, v. 34, n. 13-14, p. 1929-1934, 2013. Disponível em: <https://abrir.link/FlvLZ>. Acesso em: 22 out. 2023.

LOGAN, B. E. et al. **Electroactive microorganisms in bioelectrochemical systems**. Nature Reviews Microbiology, v. 17, n. 5, p. 307–319, 2019. Disponível em: <https://abrir.link/nrGrH>. Acesso em: 28 set. 2023.

LOGAN, B. E. **Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells**. Nature Reviews Microbiology, v. 7, p. 375–381, 2009. Disponível em: <https://abrir.link/qSTSe>. Acesso em: 12 set. 2023.

LOGAN, B. E.; Microbial Fuel Cells, Wiley: New York, 2003

LOVLEY, D. R. et al. **Geobacter Protein Nanowires**. Frontiers in Microbiology, v. 10, n. Setembro, 2019. Disponível em: <https://abrir.link/tkWbv>. Acesso em: 02 fev. 2024.

LU, Na et al. **Electricity generation from starch processing wastewater using microbial fuel cell technology**. Biochemical engineering journal, v. 43, n. 3, p. 246-251, 2009. Disponível em: <https://abrir.link/FhpNe>. Acesso em: 02 dez. 2023.

MCANULTY, M. J. et al. **Electricity from methane by reversing methanogenesis**. Nature Communications 2017 8:1, v. 8, n. 1, p. 1–8, 17 maio 2017. Disponível em: <https://abrir.link/qzlvld>. Acesso em: 27 mai. 2023.

MYERS, Judith M.; MYERS, Charles R. **Role of the tetraheme cytochrome CymA in anaerobic electron transport in cells of Shewanella putrefaciens MR-1 with normal levels of menaquinone**. Journal of bacteriology, v. 182, n. 1, p. 67-75, 2000. Disponível em: <https://abrir.link/ZZIMq>. Acesso em: 14 jul. 2023.

MYERS, Judith M.; MYERS, Charles R. **Role for outer membrane cytochromes OmcA and OmcB of Shewanella putrefaciens MR-1 in reduction of manganese dioxide**. Applied and Environmental Microbiology, v. 67, n. 1, p. 260-269, 2001. Disponível em: <https://abrir.link/zlDfa>. Acesso em: 27 jun. 2023.

MIN, Booki et al. **Electricity generation from swine wastewater using microbial fuel cells**. Water research, v. 39, n. 20, p. 4961-4968, 2005. Disponível em: <https://abrir.link/ogWDa>. Acesso em: 01 ago. 2023.

MICELI III, Joseph F. et al. **Enrichment and analysis of anode-respiring bacteria from diverse anaerobic inocula**. Environmental science & technology, v. 46, n. 18, p. 10349-10355, 2012. Disponível em: <https://abrir.link/bVXbg>. Acesso em: 19 fev. 2023.

PARAMESWARAN, Prathap et al. **Kinetic, electrochemical, and microscopic characterization of the thermophilic, anode-respiring bacterium *Thermincola ferriacetica***. Environmental science & technology, v. 47, n. 9, p. 4934-4940, 2013. Disponível em: <https://abrir.link/YEkVr>. Acesso em: 07 set. 2023.

PAWAR, Aditya Amrut et al. **Microbial electrolysis cells for electromethanogenesis: Materials, configurations and operations**. Environmental Engineering Research, v. 27, n. 1, 2022. Disponível em: <https://abrir.link/etRJG>. Acesso em: 18 mai. 2023.

PRADO, Maick Meneguzzo; SCHNEIDER, Elisângela Edila; SOARES, Hugo Moreira. **TRATAMENTO DE RESÍDUOS E EFLUENTES ATRAVÉS DE SISTEMAS BIOELETROQUÍMICOS: UMA REVISÃO DA LITERATURA**. Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental, v. 10, n. 3, p. 377-396, 2021. Disponível em: <https://abrir.link/mPKRZ>. Acesso em: 06 mar. 2023.

RACHINSKI, Silvio et al. **Microbial fuel cells used in the production of electricity from organic waste: a perspective of future**. Química Nova, v. 33, p. 1773-1778, 2010. Disponível em: <https://abrir.link/ZzyVR>. Acesso em: 17 mar. 2023.

ROUSSEAU, Raphael et al. **Microbial bioanodes with high salinity tolerance for microbial fuel cells and microbial electrolysis cells**. Electrochemistry Communications, v. 33, p. 1-4, 2013. Disponível em: <https://abrir.link/GnaBV>. Acesso em: 21 jan. 2024.

RABAEY, Korneel; VERSTRAETE, Willy. **Bacterial potential for electricity generation**. Trends in Biotechnology, v. 6, n. 23, p. 291-298, 2005. Disponível em: <https://abrir.link/tCNGK>. Acesso em: 28 jun. 2023.

RABAEY, Korneel et al. **Continuous microbial fuel cells convert carbohydrate to electricity**. Water Science and Technology, v. 52, n. 1-2, p. 515-523, 2005. Disponível em: <https://abrir.link/XbgmO>. Acesso em: 07 dez. 2023.

RABAEY, Korneel; VERSTRAETE, Willy. **Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation**. TRENDS in Biotechnology, v. 23, n. 6, p. 291-298, 2005. Disponível em: <https://abrir.link/oqbxJ>. Acesso em: 05 out. 2023.

RITTER, S. K. **Green Solutions to Global Problems**. Science & Technology, p. 31-33, 2003. Disponível em: <https://abrir.link/rQfGv>. Acesso em: 17 out. 2023.

SILVA-PALACIOS, F. et al. **Bioelectricity generation through Microbial Fuel Cells using *Serratia fonticola* bacteria and *Rhodotorula glutinis* yeast**. Energy Reports, v. 9, p. 295-301, 2023. Disponível em: <https://abrir.link/MmvyX>. Acesso em: 14 set. 2023.

SWANSON, L.; SCHULTZ, J.; BEYENAL, H.; NGUYEN, H. **Using Microbial Fuel Cells in the High School Science Classroom**. Nacional Science Foundation Grant Award, No. ECC-0808716, July, 2008. Disponível em: <https://abrir.link/DtVJy>. Acesso em: 27 jan. 2024.

SHEHAB, Noura et al. **Characterization of bacterial and archaeal communities in air-cathode microbial fuel cells, open circuit and sealed-off reactors**. Applied microbiology and biotechnology, v. 97, p. 9885-9895, 2013. Disponível em: <https://abrir.link/bYMPV>. Acesso em: 09 abr. 2023.

SINDHUJA, M.; SUDHA, V.; HARINIPRIYA, S. **Insights on the resistance, capacitance and bioelectricity generation of microbial fuel cells by electrochemical impedance studies.** International Journal of Hydrogen Energy, v. 44, n. 11, p. 5428–5436, 26 fev. 2019. Disponível em: <https://abrir.link/hWqFs>. Acesso em: 19 mai. 2023.

SHUKLA, A. K. et al. **Biological fuel cells and their applications.** Current science, v. 87, n. 4, p. 455-468, 2004. Disponível em: <https://abrir.link/rnWbm>. Acesso em: 14 mar. 2023.

TAHERNIA, Mehdi et al. **A 96-well high-throughput, rapid-screening platform of extracellular electron transfer in microbial fuel cells.** Biosensors and Bioelectronics, v. 162, p. 112259, 2020. Disponível em: <https://abrir.link/UmrIL>. Acesso em: 28 jan. 2023.

U.S. ENERGY INFORMATION ADMINISTRATION. **International Energy Outlook 2019: with projections to 2050.** Washington: U.S. Energy Information Administration, 2019. Disponível em: <https://abrir.link/awSkk>. Acesso em: 25 out. 2023.

VAGHARI, Hamideh et al. **Recent advances in application of chitosan in fuel cells.** Sustainable Chemical Processes, v. 1, n. 1, p. 1-12, 2013. Disponível em: <https://abrir.link/ONvLY>. Acesso em: 07 fev. 2024.

XING, Defeng et al. **Isolation of the exoelectrogenic denitrifying bacterium Comamonas denitrificans based on dilution to extinction.** Applied microbiology and biotechnology, v. 85, p. 1575-1587, 2010. Disponível em: <https://abrir.link/czNyH>. Acesso em: 15 ago. 2023.

YANG, Z.; YANG, A. **Modelling the impact of operating mode and electron transfer mechanism in microbial fuel cells with two-species anodic biofilm.** Biochemical Engineering Journal, v. 158, n. Novembro 2019, p. 107560, 2020. Disponível em: <https://abrir.link/RbUQV>. Acesso em: 03 jun. 2023.

WATSON, V. J.; LOGAN, B. E. **Analysis of polarization methods for elimination of power overshoot in microbial fuel cells.** Electrochemistry Communications, v. 13, n. 1, p. 54–56, 1 jan. 2011. Disponível em: <https://abrir.link/AfJKj>. Acesso em: 22 nov. 2023.

WINTER, Carl-Jochen. **Hydrogen energy—Abundant, efficient, clean: A debate over the energy-system-of-change.** International journal of hydrogen energy, v. 34, n. 14, p. S1-S52, 2009. Disponível em: <https://abrir.link/sGkdb>. Acesso em: 31 jan. 2023.

WU, Yining et al. **Simultaneous copper removal and electricity production and microbial community in microbial fuel cells with different cathode catalysts.** Bioresource Technology, v. 305, p. 123166, 2020. Disponível em: <https://abrir.link/pgJgM>. Acesso em: 10 abr. 2023.

ZHANG, Yifeng; ANGELIDAKI, Irini. **Microbial electrolysis cells turning to be versatile technology: recent advances and future challenges.** Water research, v. 56, p. 11-25, 2014. Disponível em: <https://abrir.link/MDJdB>. Acesso em: 20 dez. 2023.