



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE BIOSENSOR DE MATÉRIA ORGÂNICA COM CÉLULA  
COMBUSTÍVEL MICROBIOLÓGICA DE CÂMARA ÚNICA À BASE DE RESÍDUO  
DE PILHA**

PABLO EDUARDO GODINHO GUERREIRO

RIO GRANDE – RS

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE BIOSENSOR DE MATÉRIA ORGÂNICA COM CÉLULA  
COMBUSTÍVEL MICROBIOLÓGICA DE CÂMARA ÚNICA À BASE DE RESÍDUO  
DE PILHA**

PABLO EDUARDO GODINHO GUERREIRO

Dissertação de Mestrado apresentada  
ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia  
Química da Universidade Federal do Rio  
Grande.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Butierres Santana

RIO GRANDE – RS

2019

## Ficha catalográfica

G934d Guerreiro, Pablo Eduardo Godinho.

Desenvolvimento de biosensor de matéria orgânica com célula combustível microbiológica de câmara única à base de resíduo de pilha / Pablo Eduardo Godinho Guerreiro. – 2019.

72 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Rio Grande/RS, 2019.

Orientador: Dr. Fabrício Butierres Santana.

1. Densidade de Potência 2. Óxido de Manganês 3. Resíduo de Pilha I. Santana, Fabrício Butierres II. Título.

CDU 543.38:579

## APROVAÇÃO

Dissertação defendida por Pablo Eduardo Godinho Guerreiro e aprovada em 22 de março de 2019, pela Comissão Examinadora constituída pelos professores:



---

Prof. Dr. Fabrício Butierres Santana – FURG



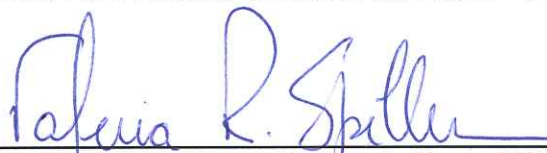
---

Profa. Dra. Taiana Denardi de Souza – FURG



---

Profa. Dra. Ana Priscila Centeno da Rosa – FURG



---

Profa. Dra. Valéria Reginatto Spiller – USP

## AGRADECIMENTOS

À minha família por sempre acreditarem no meu potencial e me darem forças durante os momentos difíceis e estarem sempre ao meu lado.

Ao Filipe Oliveira pelo carinho e frequentes palavras de ânimo. Á todos meus amigos, em especial à Marina Amarante, Luisa Sala, Bruna farias, Sabrina Gomes, Fernanda Menestrino, Karla Bueno, Kerollyn Schneider e Raphael Boschero pelos momentos de descontração.

Às colegas de mestrado Liziane Costa e Gabriela Saldanha por essa caminhada que fizemos juntos e pela amizade.

Ao Laboratório de Controle Ambiental por ter me recebido de braços abertos. Um obrigado a Prof.<sup>a</sup> Christiane Ogradowski, Taiana Denardi e as técnicas Helen Oliveira e Lorena Aguiar por todos os ensinamentos.

Ao Laboratório de Biotecnologia, Laboratório de Engenharia Bioquímica e Centro de Microscopia Eletrônica da Zona Sul desta Universidade por sua infraestrutura e equipes.

Ao Prof. Fabrício Butierres Santana pela orientação, confiança e apoio durante todo o mestrado.

À Universidade Federal do Rio Grande e ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química por essa formação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e pela Companhia Riograndense de Saneamento - Superintendência de Tratamento de Efluentes Líquidos (CORSAN/SITEL).

À todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

## RESUMO

Células combustíveis microbiológicas (CCMs) são dispositivos capazes de converter biologicamente energia química em elétrica. Nas CCMs as bactérias exoeletrogênicas, presentes no ânodo, oxidam matéria orgânica e liberam elétrons extracelularmente que devido à diferença de potencial, migram para o cátodo no qual há um agente oxidante. Uma das aplicações de CCMs é seu uso como biosensores de matéria orgânica, obtendo resultados mais rápidos quando comparado ao método padrão para determinação de compostos biodegradáveis, DBO<sub>5</sub>, o qual necessita de período de incubação de 5 dias e apresenta falhas de reprodutibilidade. Em CCMs do tipo ar-cátodo o agente oxidante é o oxigênio e, por isso, para aumentar a eficiência do sistema diversos materiais vêm sendo estudados para catalisar a reações de redução do O<sub>2</sub>, sendo o óxido de manganês (MnO<sub>x</sub>) um deles. O objetivo deste trabalho foi estudar o uso de eletrodo catódico contendo resíduo de pilha em células combustíveis microbiológicas do tipo ar-cátodo e relacionar a concentração de matéria orgânica de efluente sintético com Coulombs transferidos. Na primeira etapa desse trabalho, foi estudado o uso eletrodos com carvão ativado, polivinilideno co-hexafluorpropileno e diferentes proporções de resíduo de pilha – sem resíduo, 7% (m/m) e 14% (m/m) – e comparados com uma CCM de câmara dupla utilizando ferrocianeto de potássio como agente oxidante. As CCMs ar-cátodo quando operadas com resistência externa (R<sub>ext</sub>) de 1000 Ω e 1,0 g/L de acetato de sódio obtiveram densidade de potência acima entre 26,41 e 34,26 mW/m<sup>2</sup>, mais de 35% superior à CCM operada com ferrocianeto (19,56 mW/m<sup>2</sup>). A operação das CCMs em R<sub>ext</sub> de 560 Ω e concentração de acetato de sódio máxima de 0,20 g/L foi favorável para as CCM ar-cátodo e de câmara dupla, sendo obtidas densidade de corrente 33% superiores para as CCMs ar-cátodo em comparação à operação em 1000 Ω e 3,1 vezes superior para CCM de câmara dupla comparada a sua operação em 1000 Ω. Foi realizado um estudo de aumento da área do ânodo pela adição de pellets de grafite, porém essa modificação resultou na diminuição de ddp gerada. Já na segunda etapa desse trabalho, CCMs ar-cátodo, em triplicata, com eletrodos catódicos sem resíduo de pilha e com 14% (m/m) de resíduo, foram alimentadas com 0,25; 0,50; 1,00; 2,50 e 5,00 g/L de acetato de sódio em R<sub>ext</sub> de 1000, 560, 100, 47 e 10 Ω e analisados o coeficiente de determinação e o tempo de resposta dos biosensores. Em todas condições de resistências externas foram obtidos coeficientes de determinação acima (R<sup>2</sup>) de 0,92 para ambos grupos de CCMs. O tempo de resposta diminuiu com a redução da resistência, sendo obtidos em R<sub>ext</sub> de 47 Ω respostas em 16,8 h com e R<sup>2</sup> de 0,99, e em R<sub>ext</sub> de 10 Ω respostas em 7,7 h com e R<sup>2</sup> acima de 0,95. As CCMs sem resíduo de pilha apresentaram tempo de resposta mais curtos, porém com menor R<sup>2</sup>. O resíduo de pilha no eletrodo catódico de CCM é uma alternativa para reutilização deste resíduo sem que sejam realizados tratamento e purificação do mesmo. As CCMs apresentaram resultados promissores como biosensor de matéria orgânica, sendo obtidos resultados em no máximo 20% do tempo requerido pelo método DBO<sub>5</sub>.

**Palavras-chave:** densidade de potência; óxido de manganês; resíduo de pilha.

## ABSTRACT

Microbiological fuel cells (MFCs) are devices capable of biologically converting chemical energy into electric. In MFCs the exoelectrogenic bacteria, present in the anode, oxidize organic matter and release extracellular electrons that due to the potential difference migrate to the cathode in which there is an oxidizing agent. One of the applications of MFCs is its use as biosensors of organic matter, obtaining faster results when compared to the standard method for the determination of biodegradable compounds, BOD<sub>5</sub>, which requires an incubation period of 5 days and presents reproducibility issues. In air-cathode MFCs, the oxidizing agent is oxygen, therefore, in order to increase the efficiency of the system, several materials have been studied to catalyze O<sub>2</sub> reduction reactions, with manganese oxide (MnO<sub>x</sub>) being one of them. The objective of this work was to study the use of battery waste based cathode electrode in air-cathode microbial fuel cells and to relate the organic matter concentration of synthetic effluent to transferred Coulombs. In the first part of this work, cathodes made out of activated carbon electrodes, polyvinylidene co-hexafluoropropylene and different ratios of pile residue - without residue, 7% (w/w) and 14% (w/w) – were studied and compared to the performance of a double chamber MFC using potassium ferrocyanide as the oxidizing agent. The air-cathode MFCs when operated with 1000 Ω external resistance ( $R_{ext}$ ) and 1.0 g/L sodium acetate obtained power density above 26.41 and 34.26 mW/m<sup>2</sup>, 35% higher than the MFC operated with ferrocyanide (19,56 mW/m<sup>2</sup>). The operation in  $R_{ext}$  of 560 Ω and sodium acetate concentration of 0.20 g/L was favorable for the air-cathode and double chamber MFC, obtaining a current density 33% higher for the air-cathode MFCs compared to operation in 1000 Ω and 3.1 times higher for double chamber MFC compared to its operation in 1000 Ω. A study was carried out with the increase the anode's area by the addition of graphite's pellets, but this modification resulted in the decrease of potential. In the second part of this work, MFCs with cathode electrodes with no battery waste and with 14% (w/w), were feed with of 0.25; 0.50; 1.00; 2.50 and 5.00 g/L of sodium acetate in  $R_{ext}$  of 1000, 560, 100, 47 and 10 Ω. After those experiments, the determination coefficient and the response time of the biosensors were analyzed. In all resistances, determination coefficients ( $R^2$ ) above 0.92 for both groups of MFCs were obtained. The response time decreased with the reduction of resistance, being obtained in  $R_{ext}$  of 47 Ω responses in 16.8 h with and  $R^2$  of 0.99, and in  $R_{ext}$  of 10 Ω responses in 7.7 h and  $R^2$  above 0.95. The MFCs without battery waste had shorter response times, but lower  $R^2$ . The utilization of this residue on the cathode MFC electrode is an alternative to its reuse without treatment and purification process. The MFCs presented promising results as organic matter biosensor, obtaining results in a maximum of 20% of the time required by BOD<sub>5</sub> method.

**Key words:** battery waste; manganese oxide; power density.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação dos componentes de células combustíveis microbiológicas e reações que ocorrem no ânodo e no cátodo .....	16
Figura 2: Etapas da formação de biofilme .....	18
Figura 3: Mecanismos de transferência de elétrons por bactéria exoeletrogênicas .....	19
Figura 4: Configurações de células combustíveis microbiológicas .....	20
Figura 5: Sequência de reações de redução de oxigênio com óxido de manganês como catalisador .....	23
Figura 6: Representação de um voltograma cíclico .....	25
Figura 7: Representação de curva de polarização e da curva de densidade de potência em CCM .....	26
Figura 8: Representação de curva de polarização em CCM .....	27
Figura 9: Componentes da pilha alcalina .....	30
Figura 10: Representação esquemática das etapas do trabalho e suas principais respostas .....	33
Figura 11: Estrutura de montagem das células combustíveis microbiológicas ar-cátodo .....	33
Figura 12: Disposição das CCMs na Etapa 1 .....	34
Figura 13: Esquema das conexões entre a CCM, protoboard, Arduino® e computador .....	35
Figura 14: Representação das etapas desenvolvidas para a Etapa 1 .....	36
Figura 15: Representação das etapas desenvolvidas para a Etapa 2 .....	38
Figura 16: Eletrodo catódico elaborado com carvão ativado, resíduo de pilha e PVDF-HFP sob tela de aço inoxidável .....	41
Figura 17: CCMs utilizadas neste trabalho .....	42
Figura 18: Microscopia eletrônica de varredura do resíduo de pilha .....	42
Figura 19: Voltametria cíclica do compartimento e eletrodos catódico .....	43
Figura 20: Acompanhamento da ddp gerada ao longo de todo o período da Etapa 1 .....	44
Figura 21: Densidade de corrente gerada ao longo de todo o período da Etapa 1 .....	44
Figura 22: Acompanhamento da ddp gerada durante o <i>startup</i> das CCMs na Etapa 1 .....	45
Figura 23: Ilustração de remoção de sedimento da CCM .....	46
Figura 24: Acompanhamento da ddp gerada com pulsos de alimentação de 1,0 g/L (10° ao 21° dia) na Etapa 1 .....	47
Figura 25: Curva de densidade de potência das CCMs da Etapa 1 .....	50
Figura 26: Curva de polarização das CCMs da Etapa 1 .....	50



Figura 27: Eficiência Coloumb e remoção de DQO da Etapa 1 entre os dias 10 a 20.....	51
Figura 28: Acompanhamento da ddp gerada com pulsos variados de alimentação entre os dias 27 e 40 da Etapa 1.....	53
Figura 29: Eficiência Coloumb e remoção de DQO da Etapa 1 dos dias 28 a 39 .....	54
Figura 30: Acompanhamento da ddp gerada da Etapa 1 ao longo do período após aumento da área do ânodo.....	55
Figura 31: Acompanhamento da ddp durante a Etapa 2.....	57
Figura 32: Acompanhamento da densidade de corrente durante a Etapa 2.....	57
Figura 33: Curva de densidade de potência durante a operação das CCMs na Etapa 2.....	60
Figura 34: Correlação entre concentração de DQO e total de Coulomb transferido.....	63

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Algumas reações de oxirredução possíveis em CCMs.....	17
Tabela 2: Materiais utilizados no ânodo e cátodo e respectivo desempenho em CCM .....	22
Tabela 3: Dados da literatura utilizando CCM como biosensor.....	29
Tabela 4: Composição dos eletrodos catódicos utilizados em cada célula combustível microbiológica.....	35
Tabela 5: Composição elementar por EDS do resíduo de pilha.....	42
Tabela 6: Dados de remoção e consumo de matéria orgânica do 6° ao 21° dia - Etapa 1 .....	48
Tabela 7: Total de Coulomb transferidos a cada pulso de alimentação do 6° ao 21° dia da Etapa 1 .....	49
Tabela 8: Total de Coulomb transferidos a cada pulso de alimentação do 28° ao 40° dia da Etapa 1 .....	53
Tabela 9: Remoção de matéria orgânica em termos de DQO das CCMs nas diferentes $R_{ext}$ ..	59
Tabela 10: Remoção de matéria orgânica em termos de COT das CCMs nas diferentes $R_{ext}$ ..	59
Tabela 11: Resistência interna e densidade de potência máxima das CCMs durante operação na Etapa 2.....	61
Tabela 12: Total de Coulomb transferidos (C) das CCMs nas diferentes $R_{ext}$ .....	62
Tabela 13: Eficiência Coulomb (%) das CCMs nas diferentes $R_{ext}$ .....	62
Tabela 14: Tempo de resposta máximo do biosensor em cada resistência externa.....	64

## NOMENCLATURA

$A_{an}$	Área do ânodo
CCM	Célula Combustível Microbiológica
COT	Carbono Orgânico Total
DBO	Demanda Bioquímica De Oxigênio
ddp	Diferença de potencial
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EC	Eficiência Coulomb
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva
I	Corrente elétrica
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
$p$	Densidade de potência máxima
P	Potência
PTFE	Politetrafluoretileno
PVDF	Fluoreto de polivinilideno
PVDF - HFP	Polivinilideno fluoreto-co-hexafluorpropileno
$R_{COT}$	Remoção de COT
$R_{DQO}$	Remoção de DQO
$R_{ext}$	Resistência externa
$R_{int}$	Resistência interna
TEE	Transferência Externa de Elétrons
V	Diferença de potencial
$V_{an}$	Volume do ânodo
$\int i \cdot dt$	Total de Coulomb transferido

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
3.1 CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIOLÓGICA.....	16
3.1.1 Bactérias exoeletrogênicas e biofilme.....	17
3.1.1.1 Transferência externa de elétrons.....	18
3.1.2 Configurações de CCMs e materiais para eletrodos.....	19
3.1.3 Fatores que afetam a transferência de elétrons.....	23
3.1.4 Parâmetros eletroquímicos.....	24
3.1.4.1 Voltametria cíclica.....	24
3.1.4.2 Curva de polarização.....	25
3.1.4.3 Eficiência Coulomb.....	27
3.2 DETERMINAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA.....	28
3.3 BIOSENSORES DE MATÉRIA ORGÂNICA.....	28
3.4 RESÍDUO DE PILHA.....	29
3.5 FONTES DE INÓCULO E POTENCIAL DO SEDIMENTO DE DRAGAGEM DO PORTO DE RIO GRANDE.....	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
4.1 INÓCULO.....	32
4.2 MEIO DE CULTIVO.....	32
4.3 OBTENÇÃO DO RESÍDUO DE PILHA.....	32
4.4 CONDIÇÃO EXPERIMENTAL.....	32
4.4.1 Construção das CCMs e confecção dos eletrodos catódicos.....	33
4.4.2 Etapa 1.....	36
4.4.3 Etapa 2.....	37
4.5 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS.....	38
4.5.1 Determinação de demanda química de oxigênio.....	38
4.5.2 Carbono orgânico total.....	38
4.5.3 Análises eletroquímicas da CCM.....	39
4.5.4 Caracterização dos eletrodos anódicos e catódicos.....	40

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	41
5.1 CONSTRUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ELETRODO CATÓDICO .....	41
5.1.1 Análise elementar e morfológica do resíduo de pilha por EDS e MEV .....	42
5.1.2 Voltametria cíclica .....	42
5.2 ETAPA 1 .....	43
5.2.1 <i>Startup</i> e operação das CCMs com resistência externa de 1 k $\Omega$ .....	45
5.2.1.1 Remoção de matéria orgânica e total de Coulomb transferidos na Etapa 1 (1º até o 27º dia) .....	47
5.2.1.2 Curva de polarização das CCMs .....	49
5.2.1.3 Eficiência Coulomb .....	51
5.2.2 Operação das CCMs após a troca da resistência externa .....	52
5.2.3 Adição de pellets de grafite .....	55
5.3 ETAPA 2 .....	56
5.3.1 Operação das CCMs .....	56
5.3.1.1 Remoção de matéria orgânica das CCMs na Etapa 2 .....	58
5.3.1.2 Curva de polarização das CCMs .....	60
5.3.2 Relação entre concentração de DQO e total de Coulomb transferido .....	61
6 CONCLUSÃO .....	65
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	66
REFERÊNCIAS .....	67

## 1 INTRODUÇÃO

Efluentes industriais são despejos líquidos oriundos de qualquer atividade produtiva e podem ser caracterizados quanto à presença de micro e macro-poluentes e de micro-organismos (METCALF; EDDY, 2014). As regulamentações internacionais, nacionais e regionais preveem níveis mínimos de alguns compostos, como compostos orgânicos, em efluentes antes que sejam retornados ao meio ambiente (CONSEMA, CONAMA, ISO). Para o controle destes contaminantes orgânicos existem métodos que detectam poluentes, sendo a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) utilizada para quantificar a concentração de matéria orgânica bioquimicamente degradável. A importância de se determinar a DBO em efluentes está no controle dos parâmetros operacionais da estação de tratamento, bem como em sua eficiência. Assim, os dados providos por métodos rápidos de determinação de DBO são necessários para identificar presença elevada de carga orgânica e toxidez sendo possível realizar ações imediatas para o melhor tratamento do efluente (METCALF; EDDY, 2014).

O método DBO<sub>5</sub> (APHA, 2012; ISO, 2017) é internacionalmente adotado por órgãos regulamentadores de qualidade de água, e recebe essa nomenclatura ao período de incubação de 5 dias que são necessários para obter o resultado desta análise. Devido a esse longo período e à alguns problemas relacionados à sua reprodutibilidade, técnicas mais precisas e rápidas de DBO vem sendo estudadas (JOUANNEAU et al., 2014). No entanto, os resultados obtidos pelos métodos de detecção rápida de DBO e a metodologia padrão (DBO<sub>5</sub>) podem se distinguir; isso ocorre porque os períodos reduzidos de incubação podem não ser suficientes para quantificação de toda matéria orgânica (LIU; MATTIASSON, 2002).

Métodos alternativos ao DBO<sub>5</sub> como sensores de bactéria luminescentes (SAKAGUCHI et al., 2003), biosensores enzimáticos (KIM; PARK, 2004; MAZURENKO; POULPIQUET; LOJOU, 2017), sensores do tipo biorreatores (RAUD et al., 2012) e de bactérias imobilizadas (ARLYAPOV et al., 2012) surgem com a finalidade de determinar a DBO de efluentes em tempo real. Os sensores com bactéria luminescentes e com enzimas apresentam desvantagem ao analisar substratos complexos, pois os micro-organismos utilizados podem não possuir rotas metabólicas de degradação de certos compostos orgânicos independente dos mesmos serem biodegradáveis e, também, devido à especificidade das enzimas ao substrato. Por isso, métodos utilizando biorreatores e de bactéria imobilizadas apresentam vantagens por geralmente utilizarem consórcios de micro-organismos capazes de degradar uma ampla faixa de compostos orgânicos (JOUANNEAU et al., 2014).

Os sistemas bioeletroquímicos determinam a concentração de matéria orgânica com a conversão de energia proveniente de reações químicas em energia elétrica. A célula de combustível microbiana (CCM) tem sua configuração tipicamente composta por dois compartimentos (ânodo e cátodo), separados por uma membrana catiônica. No ânodo bactérias formadoras de biofilme oxidam a matéria orgânica gerando elétrons que migram através de um fio metálico ao eletrodo do cátodo onde ocorre a redução de oxigênio ou de um agente oxidante (LOGAN, 2008). Nas CCMs do tipo ar-cátodo são aquelas na qual o cátodo é exposto diretamente ao ambiente e tem como acceptor final de elétrons o oxigênio, assim não necessitam de aeração constante e nem de reposição de agente oxidante no cátodo (WANG; LI, 2019).

As reações de redução de oxigênio que ocorrem no cátodo podem ser catalisadas por alguns metais diminuindo a energia de ativação da reação (WANG; LI, 2019). O óxido de manganês é um dos catalisadores utilizados e pode ser encontrado em pilhas alcalinas (TANG et al., 2018). Estas pilhas possuem elevada demanda e seu descarte resulta toneladas de resíduos (EUROPEAN COMMISSION, 2018), sendo interessante a aplicação do potencial desse resíduo no cátodo de CCMs.

Com a geração de eletricidade em função da oxidação de matéria orgânica, é possível estabelecer uma relação entre o consumo de oxigênio e corrente elétrica gerada e, assim, utilizar este dispositivo como método de quantificação rápido de matéria orgânica em efluentes (SANTORO et al., 2017).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o uso de eletrodo catódico contendo resíduo de pilha em células combustíveis microbiológicas do tipo ar-cátodo e relacionar a concentração de matéria orgânica de efluente sintético com Coulombs transferidos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Confeccionar e caracterizar eletrodos catódico com resíduo de pilha;
- Construir células combustíveis microbiológicas ar-cátodo;
- Avaliar o desempenho das células combustíveis microbiológicas em diferentes valores de resistência externa e de concentração de matéria orgânica;
- Avaliar o uso de CCM como biosensor de matéria orgânica.



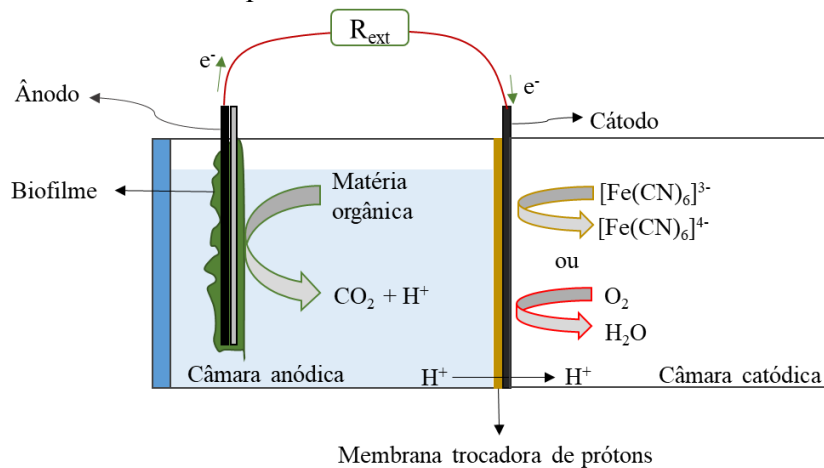
### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIOLÓGICA

As células combustíveis microbiológicas (CCM) são dispositivos bioeletroquímicos que convertem energia química em elétrica. Devido a tais características, as CCMs são de grande interesse no setor energético e de tratamento de efluente, pois a matéria orgânica presente no efluente serve de substrato para as bactérias exoeletrogênicas e com isso é possível gerar energia elétrica. Outra possibilidade é utilizar a CCM como um biosensor de DBO no qual o dispositivo gera um sinal elétrico correspondente à concentração de matéria orgânica alimentada (ROY; PANDIT, 2019).

Estes dispositivos consistem em dois compartimentos, anódico e catódico, separados por uma membrana semipermeável trocadora de prótons, conforme demonstrado na Figura 1. No compartimento anódico, bactérias exoeletrogênicas oxidam matéria orgânica na ausência de oxigênio e liberam elétrons extracelularmente para o circuito elétrico externo. No compartimento catódico a reação é finalizada na presença de um aceptor final de elétrons, dada pela diferença de potencial entre os dois eletrodos (LOGAN, 2008; ROY; PANDIT, 2019).

Figura 1: Representação dos componentes de células combustíveis microbiológicas e reações que ocorrem no ânodo e no cátodo



Fonte: Adaptado de Logan (2008)

O desempenho das CCMs pode ser afetado por parâmetros físico-químicos como pH e temperatura, e operacionais como configuração e tamanho da CCM, agitação e materiais utilizados nos eletrodos (LOGAN, 2008), os quais afetam a cinética reações de oxirredução que podem ocorrer nas CCMs, apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Algumas reações de oxirredução possíveis em CCMs

Compartmento	Substrato	Reação
Ânodo	Acetato	$\text{CH}_3\text{COO}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{HCO}_3^- + 8\text{H}^+ + 8\text{e}^-$
	Glicose	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 6\text{CO}_2 + 24\text{H}^+ + 24\text{e}^-$
	Glicerol	$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{HCO}_3^- + 17\text{H}^+ + 14\text{e}^-$
Cátodo	Oxigênio	$\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$
		$\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$
	Nitrato	$\text{NO}_3^- + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$
		$2\text{NO}_3^- + 12\text{H}^+ + 10\text{e}^- \rightarrow \text{N}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$
Ferro	$\text{Fe}^{+3} + \text{e}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{Fe}^{+2} + 1/2\text{H}_2\text{O}$	
Ferrocianeto	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} + \text{e}^- \rightarrow [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$	

Fonte: adaptado de Koroglu et al. (2019)

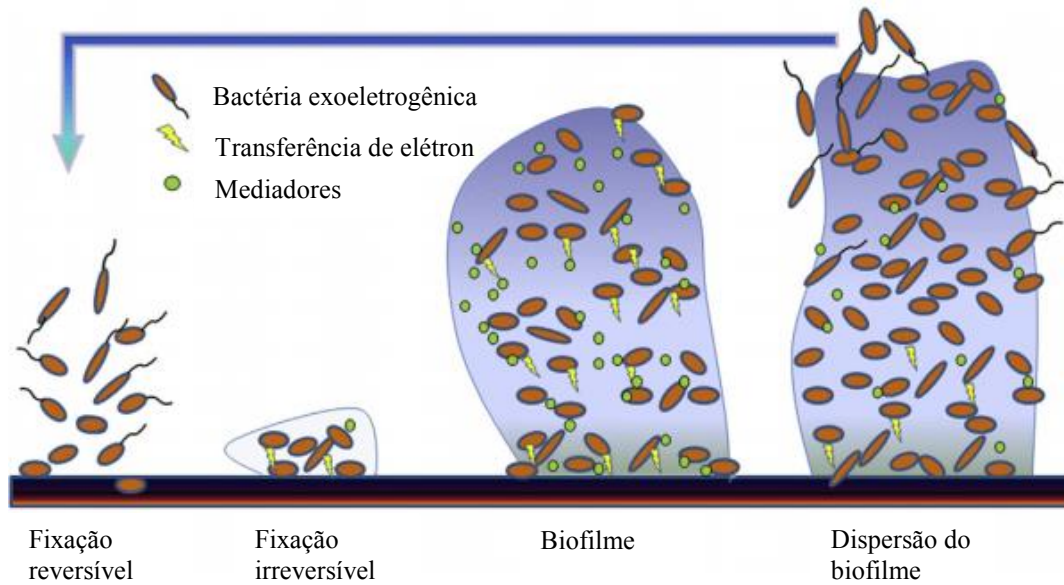
### 3.1.1 Bactérias exoeletrogênicas e biofilme

Os micro-organismos de interesse para CCMs são bactérias exoeletrogênicas que possuem a capacidade de transferir elétrons extracelularmente via compostos ou materiais que não são aceptores finais de elétrons (LOGAN, 2008).

Nas CCMs, estes micro-organismos se aderem à superfície do ânodo e produzem substâncias extracelular poliméricas, denominada de biofilme (LEE; DHAR; HUSSAIN, 2019). A formação do biofilme se inicia pela fixação das bactérias em uma superfície, que depende da rugosidade do material e das interações hidrofóbicas e eletrostáticas com o micro-organismo. Após a fixação ocorre a produção de substância polimérica extracelular a qual é composta majoritariamente por proteínas, carboidratos e lipídios. Em seguida, ocorre o crescimento bacteriano e o aumento de compostos poliméricos estabelecendo o biofilme que com o decorrer do tempo sofre fragmentação e libera bactérias que irão se fixar em outro ponto da superfície (ARUNASRI; MOHAN, 2019). As etapas de formação do biofilme estão ilustradas na Figura 2.

O biofilme auxilia na sobrevivência dos micro-organismos em ambientes desfavoráveis com restrição de nutrientes, variações bruscas de pH ou presença de compostos tóxicos (ARUNASRI; MOHAN, 2019). Isso ocorre porque o biofilme ocasiona algumas limitações relacionadas ao transporte de massa, como uma baixa difusão de nutrientes no interior da matriz polimérica (LEE; DHAR; HUSSAIN, 2019).

Figura 2: Etapas da formação de biofilme



Fonte: adaptado de Arunasri e Mohan (2019)

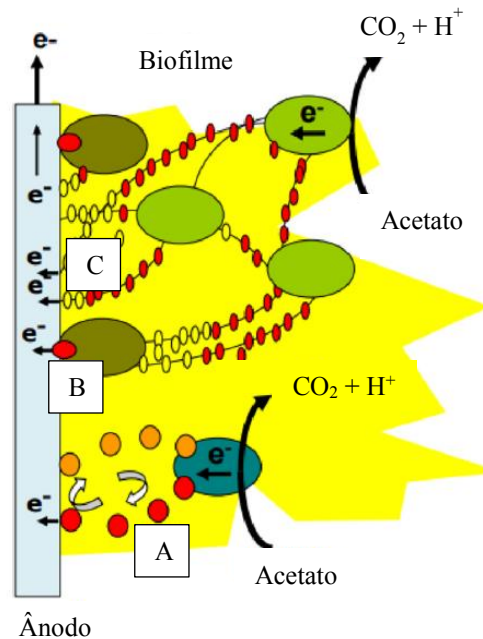
### 3.1.1.1 Transferência externa de elétrons

A transferência externa de elétrons (TEE) das bactérias exoeletrogênicas para a superfície condutora pode ocorrer por três métodos: por mediadores químicos adicionados ao meio de cultivo ou sintetizados pelos próprios micro-organismos, por contato direto e por nanofios. Bactérias como *Shewanella oneidensis*, *Pseudomonas Alcaliphila* e *Pseudomonas aeruginosa* são capazes de produzir seus próprios mediadores redox, como quinona e pigmentos, que são capazes de sofrer oxirredução (SANTORO et al., 2017).

A condução direta de elétrons ocorre entre a membrana externa da bactéria e a superfície do eletrodo usando citocromo C ligado à membrana e proteínas. O citocromo C é uma hemoproteína que contém ferro na sua estrutura e está associada a reações de oxirredução na cadeia transportadora de elétrons (NELSON; COX, 2011) sendo encontrado em algumas bactérias exoeletrogênicas como *S. oneidensis* MR-1 e *Geobacter* spp (ROY; PANDIT, 2019).

A transferência de elétrons por nanofios ocorre pela formação de um canal condutor extracelular sólido chamado de pili ou nanofio, sua identificação foi feita em *Shewanella oneidensis* MR-1 que produz essa estrutura em ambiente com limitação de oxigênio. Os nanofios possibilitam a transferência de elétrons de células afastadas da superfície condutora (GORBY et al., 2006). A Figura 3 apresenta um esquema dos diferentes mecanismos de transferência de elétrons em CCMs.

Figura 3: Mecanismos de transferência de elétrons por bactéria exoeletrogênicas



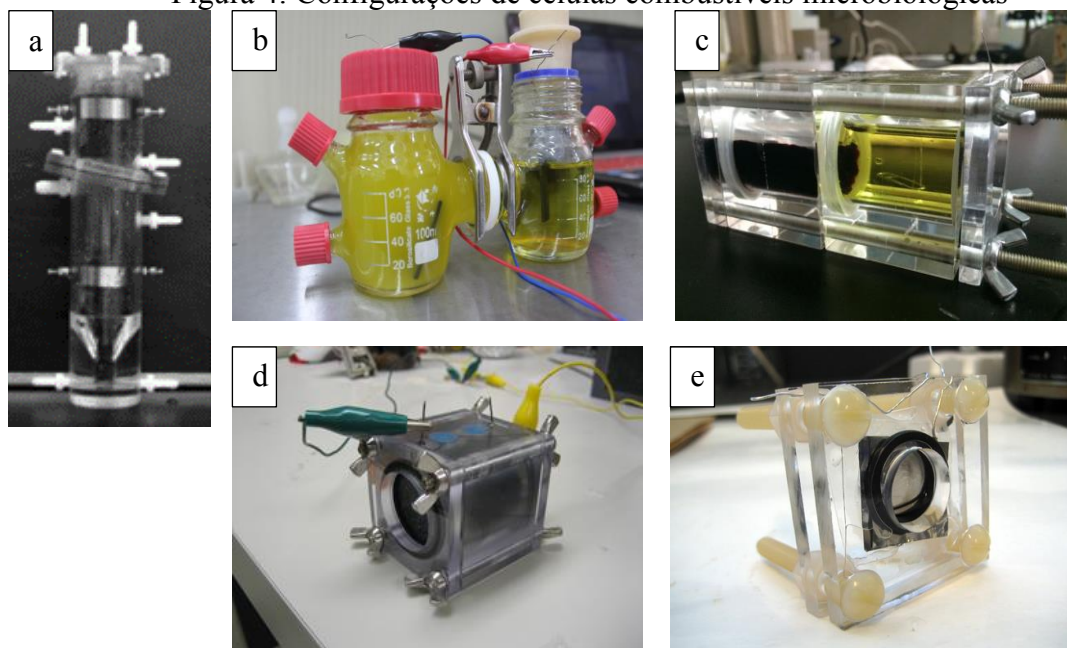
(A) transferência por mediador químico; (B) transferência por contato direto; (C) transferência por nanofios  
 Fonte: adaptado de Santoro et al. (2017)

### 3.1.2 Configurações de CCMs e materiais para eletrodos

A configuração da CCM pode influenciar na potência gerada, eficiência, estabilidade e longevidade. Segundo Logan (2008) e Tamboli e Eswari (2019), as CCMs podem ser divididas em dois grupos, CCMs de duas câmaras ou de câmara única, apresentadas na Figura 4.

As CCMs do tipo câmara dupla, são aquelas que possuem compostos aceptores de elétrons no compartimento do cátodo ou são aeradas com oxigênio (TAMBOLI; ESWARI, 2019). Essa configuração possui como desvantagem a necessidade de aeração constante ou reposição do composto que sofre redução. Um dos compostos mais utilizados comoceptor de elétrons no cátodo é o ferrocianeto de potássio pois alcança valores maiores de potência gerada quando comparada ao uso de oxigênio (LOGAN, 2008). No entanto, apresenta como desvantagem a toxicidade para humanos e animais causando irritações na mucosa e é nocivo para organismos aquáticos (BHATTACHARYA; FLORA, 2015), podendo causar danos ambientais se não descartado corretamente.

Figura 4: Configurações de células combustíveis microbiológicas



(a) CCM de câmara dupla cilíndrica (HE; MINTEER, 2005); (b) CCM de câmara dupla de formato H (IGEM, [s.d.]); (c) CCM de câmara dupla cuboide (IGEM, [s.d.]); (d) CCM de câmara única cuboide (PSU, [s.d.]); (e) CCM de câmara única em placa (UCSD, [s.d.])

Dentre os tipos de CCM de duas câmaras existem as de forma H, cuboide (TELEKEN et al., 2017) e cilíndrica (PHONSA et al., 2018; TAMBOLI; ESWARI, 2019). A CCM em forma H consiste em dois frascos interligados por um cilindro, nesta configuração a membrana trocadora de próton se torna limitante devido ao seu tamanho e, com isso, diminui a potência gerada pelo sistema. A CCM em forma cuboide possui no interior de seu cubo câmaras na qual os eletrodos catódicos e anódicos são posicionados, sendo bastante utilizado nos estudos de CCM. O uso de CCM em formato cilíndrico é dado quando se deseja um fluxo ascendente, no qual o ânodo seria como um leito fluidizado ou fixo. Neste formato o cátodo pode fazer parte do mesmo cilindro, mas separado pela membrana, ou um sistema co-cilíndrico.

As CCMs de câmara única podem ter formato cilíndrico, cuboide, em placa, entre outros (TAMBOLI; ESWARI, 2019). A característica principal desta configuração é a presença de uma única câmara onde se tem o ânodo. O eletrodo catódico, geralmente, é exposto diretamente ao ambiente, o que reduz gastos energéticos de aspersão de oxigênio na câmara catódica, não sendo afetada por limitação de agente oxidante (WANG; LI, 2019).

Um fator importante na construção de CCM é a escolha de materiais dos eletrodos anódicos e catódicos, e da membrana trocadora de prótons. No ânodo é desejável a utilização de materiais condutores, não corrosivos, de baixo custo, biocompatíveis com o micro-organismo, de alta superfície de contato e que possua rugosidade para facilitar a adesão das

bactérias (LOGAN, 2008; SLATE et al., 2019). Alguns materiais utilizados são aço inoxidável e materiais a base de carbono como placa, partículas e escovas de grafite e tecido, feltro e escovas de carbono (SLATE et al., 2019). Membranas trocadoras de íons são utilizadas para difundir os prótons  $H^+$  do ânodo para o cátodo e evitar a difusão de oxigênio para o ânodo (SANTORO et al., 2017). As principais membranas utilizadas em CCM são Nafion 117 e CMI 7000 (TAMBOLI; ESWARI, 2019). No cátodo é necessário que o material auxilie na reação de redução de oxigênio como, por exemplo, a platina, carvão ativado e óxidos de manganês (FENG et al., 2019). Alguns materiais utilizados e o desempenho em termos de densidade potência estão apresentados na Tabela 2.

Em CCMs em que não se utiliza o oxigênio como acceptor de elétrons a escolha do material se baseia somente em ser um bom condutor, não sendo necessário o uso de catalisador. Nas CCMs que utilizam  $O_2$  como acceptor final de elétrons, o cátodo é a principal estrutura estudada pois as reações de redução de oxigênio (Tabela 1) têm grande efeito no desempenho de CCM devido ao alto potencial requerido (WANG et al., 2017). O principal catalisador utilizado é a platina (LOGAN, 2008; SANTORO et al., 2017; SLATE et al., 2019), porém possui custo elevado (WANG; LI, 2019). Devido a isso, alguns compostos vêm sendo estudados como, por exemplo, cobalto (TANG; NG, 2017), manganês (FARAHANI et al., 2018; MAJIDI et al., 2019), combinação de metais (DAI et al., 2016) e alguns materiais a base de carbono como carvão ativado (YANG et al., 2014a).

Como os catalisadores se encontram na forma de pó um ligante, é necessário o emprego de material para formar o eletrodo. Estes ligantes são polímeros que permitem a formação de canais para difusão de gases na camada catalítica. Exemplo de ligantes são Nafion<sup>®</sup> (fluoropolímero-copolímero baseado em tetrafluoroetileno sulfonado), politetrafluoretileno (PTFE) e fluoreto de polivinilideno (PVDF) (WANG; LI, 2019). Em alguns estudos de CCM ar-cátodo, o cátodo é composto por duas camadas sendo elas a camada difusora e a camada catalítica (TOUACH et al., 2016; YANG et al., 2014b). Wang et al. (2018) estudaram a CCM do tipo ar-cátodo utilizando escova de grafite como eletrodo anódico e cátodo a base de carvão ativado, negro de fumo e PVDF, e alcançaram densidades de potência entre 1100 e 1400  $mW/m^2$ , indicando que a CCM obteve bom desempenho de conversão de energia química em elétrica.

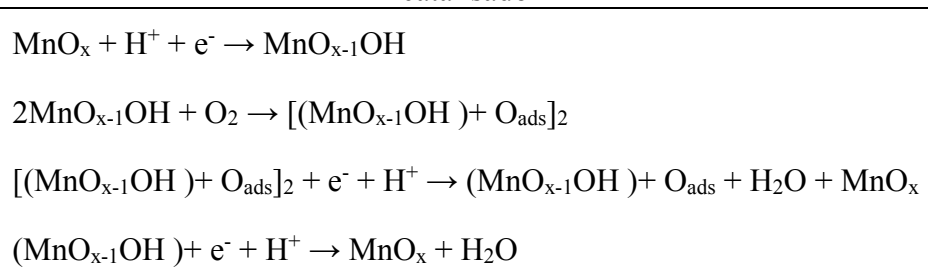
Tabela 2: Materiais utilizados no ânodo e cátodo e respectivo desempenho em CCM

Substrato	Material do ânodo	Material do cátodo	Catalisador	Ligante	Membrana iônica	$p$ máxima (mW/m <sup>2</sup> )	Aceptor final de elétrons	Referência
Acetato	Fibra de grafite	Carvão ativado e negro de fumo	Carvão ativado	PVDF-HFP	-	1430 ± 90	Oxigênio	(YANG et al., 2014a)
Acetato	Fibra de grafite	Carvão ativado e negro de fumo	Carvão ativado	PVDF	-	1470 ± 50	Oxigênio	(YANG et al., 2014b)
Acetato	Escova de grafite	Tecido de carbono	Carvão ativado + MnO <sub>x</sub>	-	Nafion 117	467	Oxigênio	(FARAHANI et al., 2018)
Acetato	Feltro de carbono	Feltro de carbono	-	-	Nafion 117	21,97	Nitrato	(OON et al., 2017)
Acetato	SS316	SS316	MnO <sub>2</sub>	Pirrol	-	440	Oxigênio	(PHONSA et al., 2018)
Efluente	Placa de grafite	Tecido de carbono	MnO <sub>2</sub>	PTFE	-	48,4 ± 10,2	Oxigênio	(TATINCLAUX et al., 2018)
Efluente	Placa de grafite	Tecido de carbono	Pt	PTFE	-	65,4 ± 4,6	Oxigênio	(TATINCLAUX et al., 2018)
Etanol	Feltro de carbono	Feltro de carbono	-	-	CMI 7000	437	Ferrocianeto de potássio	(DAI et al., 2017)
Acetato	Placa de grafite	Placa de grafite	-	-	CMI 7000S	28,18	Ferrocianeto de potássio	(TELEKEN et al., 2017)
Glicose	Tecido de carbono	Tecido de carbono	-	-	Nafion 117	26,97 ± 1,7	Oxigênio	(MIROLIAEI et al., 2015)
Acetato	Escova de grafite	Tecido de carbono	MnO <sub>2</sub>	Nafion	-	180 ± 4,7	Oxigênio	(MAJIDI et al., 2019)
Acetato	Haste de grafite modificada	Grafite	-	-	CMI 7000	100 ± 19	X	(COMMAULT; LEAR; WELD, 2015)
Acetato	Feltro de carbono	Papel de carbono	Pt	-	Nafio 117	61 ± 13	Oxigênio	(MATEO et al., 2018)

(-) não utilizado ou não descrito; (X) não identificado; (SS316) aço inoxidável

As reações de redução de oxigênio usando nanopartículas de  $\text{MnO}_x$  como catalisador foram estudadas por Liu et al. (2010) e são apresentadas na Figura 5. A reação é dada pela adsorção do oxigênio no sítio de ativação do  $\text{MnO}_x$  reduzido e, em seguida, pela redução do oxigênio adsorvido ( $\text{O}_{\text{ads}}$ ).

Figura 5: Sequência de reações de redução de oxigênio com óxido de manganês como catalisador



Fonte: Liu et al. (2010)

### 3.1.3 Fatores que afetam a transferência de elétrons

Se tratando da geração de elétrons, por ser um sistema biológico, é necessário as condições de operação de temperatura e pH no ânodo estejam próximas da condição ótima de crescimento para os micro-organismos. Além disso, se deve averiguar se o tipo de substrato e o tempo de retenção são compatíveis com o crescimento bacteriano e com o período de tratamento desejado (JUNG; PANDIT, 2019).

Quanto à transferência de elétrons, os fatores a serem considerados são: o material do ânodo e a necessidade de mediador redox, catalisador para reação de redução de oxigênio e a concentração do composto, resistência externa ( $R_{\text{ext}}$ ) utilizada e membrana iônica. Esses fatores afetam a diferença de potencial (ddp) gerada e a resistência interna ( $R_{\text{int}}$ ) do sistema bioeletroquímico, e ambos possuem relação com a potência máxima gerada (LOGAN, 2008). A membrana trocadora de prótons é a principal fonte de resistência interna em CCMs (SLATE et al., 2019). Logan (2008) aborda que a operação de CCM com resistência externa próxima do valor da resistência interna otimiza o desempenho do sistema, e que a elevada resistência interna em CCM pode afetar negativamente a geração de potência.

Nikhil et al. (2018) realizaram a curva de polarização após 5 bateladas teve a resistência externa alterada para valores acima (1000  $\Omega$ ), abaixo (10  $\Omega$ ) e próximo (200  $\Omega$ ) da resistência interna relacionada ao ponto de máximo de densidade de potência e após nova bateladas foram determinadas novamente as densidades de potência pós troca de  $R_{\text{ext}}$ . A CCM operada na condição ideal ( $R_{\text{ext}} \approx R_{\text{int}}$ ) obteve a densidade de potência máxima de 113,15  $\text{mW}/\text{m}^2$ , 54%



superior ao máximo da CCM operada com  $R_{ext}$  abaixo do ideal e 189% superior quando comparada com a CCM operada com  $R_{ext}$  acima do ideal, sendo assim para que se obtenha melhor desempenho em CCM a  $R_{ext}$  deve ser próxima da  $R_{int}$ . Suzuki et al. (2018) constataram que a operação em diferentes valores de  $R_{ext}$  aplicada ao sistema bioeletroquímico pode afetar tanto a comunidade microbológica como sua concentração.

O uso de mediador redox em CCM pode ter efeito positivo e negativo dependendo da concentração e da cultura de micro-organismos utilizada. Isso pode ser observado no estudo de Miroliaei et al. (2015) em que foi estudado a ddp máxima e densidade de potência máxima gerada em CCMs inoculada com *Escherichia coli* e *Shewanella* sp na ausência e presença de mediador. No estudo sem mediador no meio de cultivo foram obtidas densidade de potência de 12,15 ( $\pm 1,2$ ) e 26,97 ( $\pm 1,7$ ) mW/m<sup>2</sup> para *E. coli* e *Shewanella*, respectivamente. Quando adicionado mediador, a CCM inoculada com *E.coli* teve densidade de potência de 22,64 ( $\pm 6,6$ ) e 46,14 ( $\pm 3,9$ ) mW/m<sup>2</sup> em concentração de 0,01 e 0,025 mM, respectivamente; concentração acima de 0,05 mM teve efeito negativo causando queda na potência gerada. Nas mesmas concentrações de mediador a *Shewanella* sp. obteve valores de 14,06 ( $\pm 6,8$ ) e 12,55 ( $\pm 0,9$ ) mW/m<sup>2</sup>.

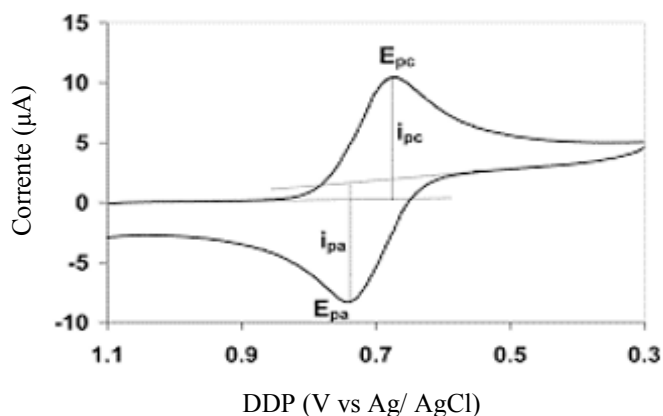
### 3.1.4 Parâmetros eletroquímicos

#### 3.1.4.1 Voltametria cíclica

A voltametria cíclica é uma técnica eletroquímica amplamente aplicada para investigar processos de oxidação e redução de espécies moleculares entre a superfície do eletrodo e região de interface; isto inclui reações de catálise, na qual reações químicas são iniciadas a partir da transferência de elétrons (ELGRISHI et al., 2018).

A voltametria cíclica é realizada pela aplicação de um potencial linear de varredura, que aumenta e diminui linearmente com o tempo, no eletrodo de trabalho (LOGAN et al., 2006). A varredura do potencial é realizada entre os limites E1 e E2 à uma taxa de varredura conhecida; a varredura inicia no potencial inicial, E1, e ao atingir o potencial máximo, E2, a varredura é revertida. De acordo com o aumento e redução do potencial, uma corrente flui através do eletrodo ocasionando a redução ou oxidação do analito. Assim, se obtém um gráfico de corrente (ou densidade de corrente) por potência, determinado de voltograma cíclico (Figura 6).

Figura 6: Representação de um voltograma cíclico



E<sub>pc</sub> - potencial de redução; E<sub>pa</sub> - potencial de oxidação; i<sub>pc</sub> - pico catódico de corrente; i<sub>pa</sub> - pico anódico de corrente  
 Fonte: Petrovic (2000)

O voltograma possui uma forma de onda triangular devido à formação de picos (durante o aumento do potencial a espécie eletroquímica perde um elétron, dando origem ao pico anódico de corrente (i<sub>pa</sub>) que fornece o pico de oxidação em certo potencial (E<sub>pa</sub>); o pico catódico de corrente (i<sub>pc</sub>) é dado quando a taxa de varredura é revertida fornecendo o pico de redução em um dado potencial (E<sub>pc</sub>). A altura e largura de seus picos estão relacionadas a taxa de varredura, a concentração de analito e o material do eletrodo (KISSINGER; HEINEMAN, 1983).

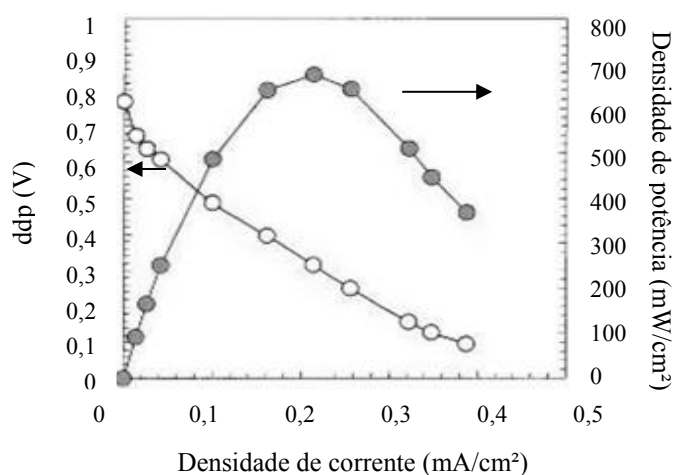
Para a realização desta técnica é necessário um potenciostato conectado à três eletrodos imersos em solução teste (solução iônica). O potenciostato aplica e mantém o potencial entre o eletrodo de trabalho e de referência e, ao mesmo tempo, mede a corrente do eletrodo de trabalho. A carga flui entre o eletrodo de trabalho e o contraeletrodo. O eletrodo de trabalho é o qual acontece o evento eletroquímico de interesse, nele é aplicado uma ddp em relação ao eletrodo de referência. Eletrodo Ag/AgCl é comumente empregado como eletrodo de referência. O contraeletrodo deve ser um metal eletroquimicamente inerte em uma ampla faixa de potencial, sendo o eletrodo de platina o mais utilizado e sua função é completar o circuito elétrico (ELGRISHI et al., 2018).

#### 3.1.4.2 Curva de polarização

A curva de polarização (Figura 7) é uma técnica eletroquímica empregada para determinar a resistência interna em sistemas de geração de eletricidade (FAN; LI, 2016) como, por exemplo, células combustíveis microbiológicas (LOGAN et al., 2006). Para esta técnica é utilizado um potenciostato que detecta a resposta de potencial e corrente mediante a aplicação de diferentes valores de resistência, os quais são convertidos em valores de corrente, com taxa

de varredura fixa; resultando em um gráfico de corrente por potencial. A partir da curva de polarização pode-se obter a curva de potência (Figura 7) que ao invés de plotar o potencial é utilizado a potência ou densidade de potência.

Figura 7: Representação de curva de polarização e da curva de densidade de potência em CCM



Fonte: adaptado de Logan (2008)

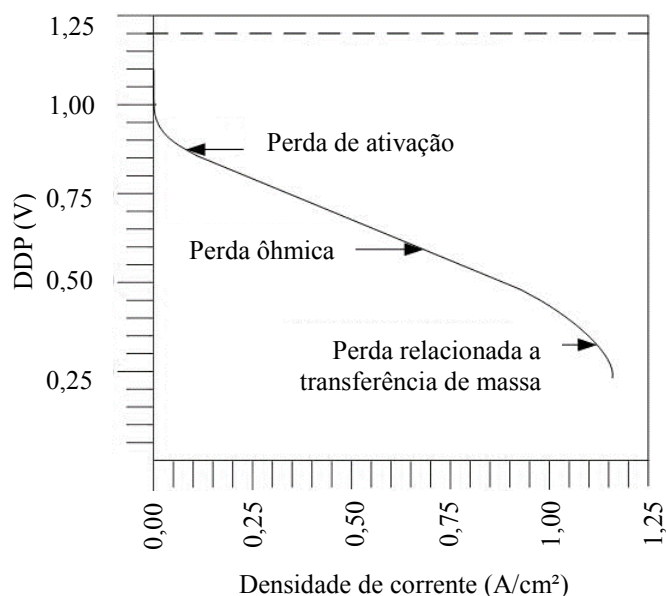
A resistência interna em CCM é a resistência que uma corrente sofre ao passar por este sistema, esta pode ser dividida em: resistência ôhmica, resistência de ativação e resistência de concentração. A primeira se deve, basicamente, às resistências de migração iônica no eletrólito e de transporte de elétrons nos componentes da CCM. A perda ôhmica pode ser minimizada reduzindo o espaçamento entre os eletrodos anódico e catódico, e utilizando membrana de baixa resistência ao fluxo de íons. A perda de ativação ocorre devido a energia de ativação das reações de oxidação e redução; a redução da perda de ativação tem relação com escolha de catalisadores mais adequados e otimização das condições de reação. Por último, a perda relacionada à transferência de massa está relacionada a baixa concentração de reagente nas reações, limitando sua ocorrência; assim, para evitar essa perda é aconselhável ter uma boa difusão de oxigênio no cátodo, por exemplo (KOROGLU et al., 2019).

As curvas de polarização podem ser feitas para o ânodo, cátodo e toda CCM. Segundo Logan et al. (2006), a curva de polarização pode ser dividida em três zonas (Figura 8):

- 1) Começando na voltagem de circuito aberto em corrente igual a zero, há uma inicial queda de voltagem. Nesta zona as perdas de ativação são dominantes;
- 2) A voltagem continua caindo, mas de forma mais lenta, sendo esta, praticamente, linear com a queda de corrente. Nesta zona as perdas ôhmicas são dominantes;

- 3) Há uma queda abrupta de voltagem em correntes elevadas. Nesta zona a perda de concentração (relacionada à transferência de massa) é dominante.

Figura 8: Representação de curva de polarização em CCM



Fonte: Spiegel (2017)

A determinação de resistência interna é importante pois, uma vez que a potência máxima é relacionada com a voltagem em circuito aberto e a resistência interna, ao aplicar uma resistência externa igual à resistência interna da CCM a potência gerada será maximizada (FAN; LI, 2016). Analisando a curva de polarização, a resistência interna é dada pela inclinação da reta na zona linear (zona de perda ôhmica dominante) (FAN; SHARBROUGH; LIU, 2008).

#### 3.1.4.3 Eficiência Coulomb

A eficiência Coulomb é uma medida de eficiência do sistema eletroquímico, a qual é determinada pela quantidade de elétrons que são transferidos pelo sistema e da quantidade total de elétrons que o substrato libera ao ser oxidado (LOGAN, 2008). Alguns fatores como a presença de acceptor final de elétrons no ânodo, presença de outro micro-organismos competindo com as bactérias exoeletrogênicas pelo substrato e incapacidade das bactérias de transferirem seus elétrons para o eletrodo podem reduzir a eficiência Coulomb do sistema (LOGAN et al., 2006). Essa quantidade de carga transferida é tida como o total de Coulombs transferidos.

### 3.2 DETERMINAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA

A quantificação de concentração de matéria orgânica é importante para a caracterização de efluentes, uma vez que fornece dados para melhorar o tratamento do mesmo. Três análises são bastante empregadas para essa determinação, sendo elas: demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e carbono orgânico total (COT) (METCALF; EDDY, 2014).

A DQO é dada pela quantidade de oxidante requerido para oxidar todos os compostos presentes na amostra usualmente é empregado o íon dicromato, sendo que a quantidade de oxidante é fornecida em termos de massa oxigênio. Como ocorre uma oxidação completa da amostra os compostos biodegradáveis e não-biodegradáveis são quantificados. Com isso, considerando um tratamento biológico de efluente, esta medida não é tão representativa pois neste tratamento somente os compostos biodegradáveis são oxidados (APHA, 2012).

A DBO, por sua vez, é uma medida da quantidade de oxigênio consumido por micro-organismos em determinada condição para oxidar compostos orgânicos. Esta medida se torna mais representativa da quantidade de matéria orgânica presente na amostra que é possível ser removida via processo biológico (APHA, 2012). Essa análise possui como desvantagem o longo período de incubação, sendo padrão um período de 5 dias, o que acarreta em problemas no monitoramento da eficiência do tratamento do efluente (METCALF; EDDY, 2014).

Embora o COT forneça valores de quantidade de matéria biodegradável essa análise só quantifica compostos a base carbono. Diferentemente da DBO, o COT não quantifica formas de nitrogênio reduzido (APHA, 2012). Deste modo, mesmo sendo análises similares uma análise não elimina a outra pois fornecem dados diferentes relacionados ao consumo de matéria orgânica.

### 3.3 BIOSENSORES DE MATÉRIA ORGÂNICA

A metodologia padrão, DBO<sub>5</sub>, requer um período de incubação de 5 dias resultando em um acompanhamento tardio do tratamento do efluente, por isso estudos têm sido realizados estudos para descobrir novas técnicas mais rápidas e com bons resultados. O interessante de utilizar CCM para esta finalidade é que a corrente elétrica gerada pela oxidação de matéria orgânica é considerada um sinal analítico para a técnica (EJEIAN et al., 2018).

No entanto, os métodos rápidos de DBO apresentam discrepâncias entre os resultados de DBO<sub>5</sub>, pois em períodos curtos alguns compostos de cadeia longa/poliméricos como amido

e celulose podem não ser totalmente oxidados, causando divergências nos valores entre as técnicas. A aplicação de micro-organismo ou consórcios de micro-organismos permite a utilização de diferentes fontes de matéria orgânica como substrato, pois suas diversas rotas metabólicas podem compostos orgânicos de fácil degradação até compostos recalcitrantes. Porém, mesmo com abrangência de substratos, alguns compostos podem não ser assimiláveis ou serem tóxicos para as bactérias (ABREVAYA et al., 2015).

Alguns estudos utilizando CCM como biosensor de DBO não realizam testes de DBO<sub>5</sub> para aferição da concentração de matéria orgânica, quando utilizado o acetato de potássio como fonte de carbono assumem o valor de DQO da solução como equivalente à DBO (CHOULER et al., 2017; DI LORENZO et al., 2014), ou que 1 mM de acetato corresponde à 64 mg/L de DBO (JIANG et al., 2017).

Chouler et al. (2017) estudaram o uso de CCM para determinação da concentração de carbono orgânico em águas, com faixa de detecção de 9,8 a 19600 mg/L e tempo de resposta de aproximadamente 1 h. Enquanto que Commault et al. (2016) relacionaram a DBO<sub>5</sub> do meio alimentado com o total de Coulomb transferido e obteve boa correlação ( $R^2 = 0,96$ ) na faixa de 174 a 1200 mg/L com tempo de resposta de 17,5 h. A Tabela 3 apresenta estudos dados de aplicação de CCM como biosensor de matéria orgânica.

Tabela 3: Dados da literatura utilizando CCM como biosensor

Correlação	Fonte de carbono	Faixa de detecção (mg/L)	Tempo de resposta (h)	$p$ máx	$V_{an}$ (mL)	Referência
DQO x corrente	Acetato de potássio	9,8 - 19600	1	2,9 – 13,4 mW/m <sup>3</sup>	0,3	(CHOULER et al., 2017)
DBO <sub>5</sub> x total de Coulomb transferido	Acetato de potássio	174 – 1200	17,5	-	1,0	(COMMAULT et al., 2016)
DQO x corrente	Acetato	3 - 164	0,05	-	2,0	(DI LORENZO et al., 2014)
DQO x corrente	Glicose	25 - 1000	1,7 a 8,4	88 mW/m <sup>2</sup>	28,0	(TANIKKUL; PISUTPAISAL, 2018)
Concentração de acetato x corrente	Acetato	20,5 – 820,3	0,09 – 0,42	1424 mW/m <sup>2</sup>	1,4	(JIANG et al., 2017)

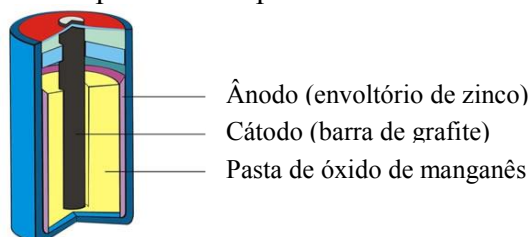
### 3.4 RESÍDUO DE PILHA

A revolução industrial impulsionou o desenvolvimento tecnológico e, com ele, a geração de resíduo eletrônico que possui em composição metais tóxicos e de alto valor

comercial. Assim, é necessário a destinação deste tipo de resíduo para tratamento adequado e reciclagem (ARTIOLA, 2019). No Brasil, a Associação Brasileira de Indústria Elétrica e Eletrônica (ABINEE) em um ano de seu programa de logística reversa de pilhas e baterias de uso doméstico recolheu aproximadamente 120 toneladas (ABINEE, 2012).

Nesse resíduo se tem as pilhas alcalinas, que possuem como principais compostos o zinco e o manganês, a Figura 9 apresenta os componentes de uma pilha alcalina. Esses metais possuem alta demanda e possuem metodologias de recuperação e quando tratados apresentam alto valor agregado (VELLINGIRI et al., 2018). Devido à grande quantidade de resíduo gerado, é importante a proposição de utilização de resíduo de pilha, sendo uma possibilidade a utilização da pasta de óxido de manganês como catalisador de reações de redução de oxigênio (RASCIO et al., 2010).

Figura 9: Componentes da pilha alcalina



Fonte: Fogaça (2013)

### 3.5 FONTES DE INÓCULO E POTENCIAL DO SEDIMENTO DE DRAGAGEM DO PORTO DE RIO GRANDE

O inóculo para CCMs podem ser obtidos em ambientes que favoreçam a transferência de elétrons à metais. As fontes de inóculo podem ser lodo de estação de tratamento de efluentes, sedimentos marinhos e de água doce, solos e ambientes com condições extremas de pH e temperatura (DOYLE; MARSILI, 2015). Sedimentos são utilizados “como inóculo devido à elevada diversidade microbológica e devido à elevada concentração de matéria orgânica (EWING; HA; BEYENAL, 2016). Passos et al. (2019) realizaram o sequenciamento genômico dos micro-organismos presentes no sedimento da dragagem do porto de Rio Grande. Neste sedimento, foi detectado que 60% dos micro-organismos são proteobactérias, dentro desse filo as classes encontradas foram alfa-, beta-, delta- e gama-proteobactérias. Sendo a classe delta-proteobactéria a mais importante para CCMs, da qual o gênero *Geobacter* faz parte.

O sedimento de dragagem do Porto de Rio Grande-RS foi utilizado como inóculo em CCMs no estudo de Passos et al. (2019) no qual foi obtido densidade de potência de 1,21 W/m<sup>2</sup>

e remoção de matéria orgânica de 46% para CCM ar-cátodo operada com ácido acético. Já Teleken et al. (2017) obtiveram densidade de potência de 28,18 mW/m<sup>2</sup> e Sá et al. (2017) obtiveram 30,97 mW/m<sup>2</sup>, com o mesmo inóculo e em CCM de câmara dupla com ferrocianeto de potássio no compartimento catódico. Esses estudos indicam que o sedimento do porto de Rio Grande contém micro-organismos exoeletrogênicos e que pode ser utilizado como inóculo em CCMs.



## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 INÓCULO

O lodo oriundo da dragagem do sedimento marinho do Estuário da Lagoa dos Patos nas proximidades do Porto de Rio Grande, Rio Grande-RS (32°07'38.14"S/52°5'44.91"O), foi coletado e armazenado em recipientes plásticos fechados à 4 °C em refrigerador no Laboratório de Controle Ambiental – Universidade Federal do Rio Grande até a sua utilização. Para inoculação foram adicionados 5 g de lodo no compartimento anódico de cada CCM.

### 4.2 MEIO DE CULTIVO

O meio de cultivo para o estudo das CCMs era composto por NaHCO<sub>3</sub> 2,5 g/L, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O 1,9 g/L, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 0,6 g/L, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,1 g/L, KCl 0,1 g/L, NH<sub>4</sub>Cl 1,5 g/L, NaCl 0,1 g/L, MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O 0,1 g/L, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,1 g/L, MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O 0,005 g/L, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,001 g/L e extrato de levedura 0,05 g/L (LOVLEY; PHILLIPS, 1988), e CH<sub>3</sub>COONa como fonte de carbono.

### 4.3 OBTENÇÃO DO RESÍDUO DE PILHA

Para obtenção do resíduo de pilha, o recipiente de aço de pilhas alcalinas e foi rompido, em seguida, o envoltório de zinco aberto e o bastão de grafite removido. Com o auxílio de uma espátula a pasta de óxido de manganês foi retirada; sendo essa neste estudo chamada de resíduo de pilha.

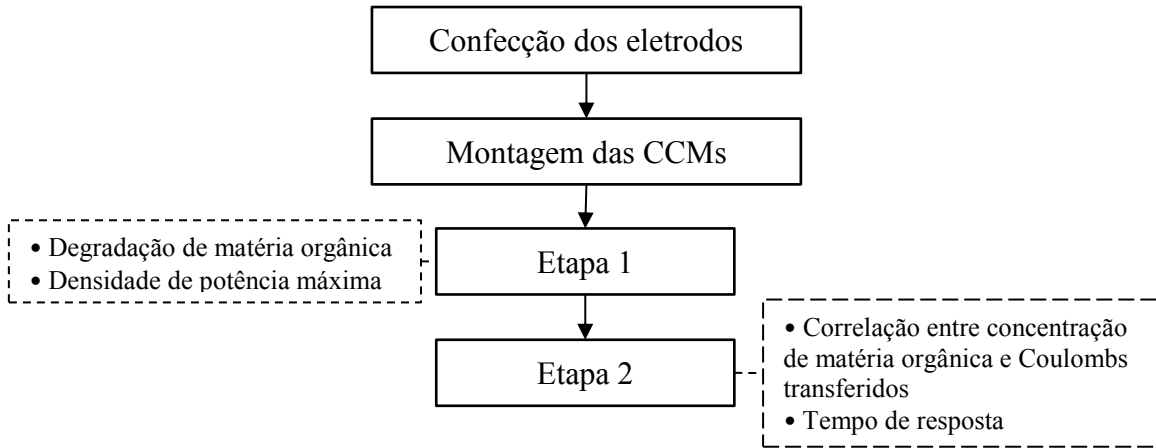
### 4.4 CONDIÇÃO EXPERIMENTAL

Este trabalho foi dividido em 2 Etapas. A Etapa 1 teve como finalidade avaliar as CCMs quanto ao uso do eletrodo do cátodo e condições de cultivo. As melhores condições obtidas na Etapa 1 foram transferidas para a Etapa 2, no qual foram realizados os testes das CCMs como biosensores em diferentes valores de resistência externa com meio sintético. A Figura 10 apresenta o esquema de elaboração do trabalho e suas principais respostas.

A Etapa 1 foi constituído de 4 CCMs distintas, sendo três do tipo ar-cátodo com diferentes composições de eletrodo catódico e uma CCM de câmara dupla com ferrocianeto de

potássio como acceptor de elétrons. Para a Etapa 2 foram feitas triplicatas das duas CCMs que obtiveram maior densidade de potência da Etapa 1.

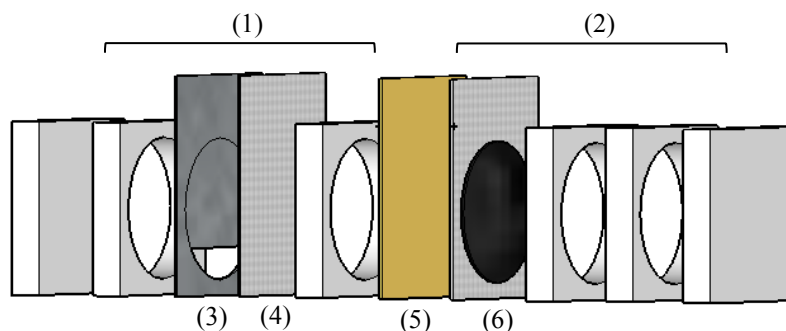
Figura 10: Representação esquemática das etapas do trabalho e suas principais respostas



#### 4.4.1 Construção das CCMs e confecção dos eletrodos catódicos

A Figura 11 apresenta as células combustíveis microbiológicas ar-cátodo de câmara única construídas neste estudo. Foram utilizadas placas de acrílico (5,5 x 5,5 x 0,8 cm) com câmara cilíndrica interna de 4,5 cm de diâmetro, exceto as placas das extremidades as quais não continham câmara interna. As CCMs foram vedadas com silicone e mantidas fixadas com grampos tipo C. As CCMs utilizadas para Etapa 1 são apresentadas na Figura 12.

Figura 11: Estrutura de montagem das células combustíveis microbiológicas ar-cátodo



(1) Câmara anódica; (2) Câmara catódica; (3) Placa de grafite; (4) Tela de aço inoxidável; (5) Membrana catiônica; (6) Eletrodo catódico

Figura 12: Disposição das CCMs na Etapa 1



O volume da câmara anódica foi de 25 cm<sup>3</sup> e como eletrodo utilizado no ânodo foi utilizado placa de grafite de área de superfície de contato ( $A_{an}$ ) de 27,74 cm<sup>2</sup> em contato com uma tela de aço inoxidável (5,5 x 7,0 cm). O compartimento do ânodo foi separado do cátodo pela membrana trocadora de próton (Membranes International Incorp; CMI-7000S, EUA).

A confecção do eletrodo catódico foi baseada na metodologia proposta por Yang et al. (2014a) com modificações. Assim, foram realizadas soluções de polivinilideno fluoreto-co-hexafluorpropileno (PVDF-HFP) (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, EUA) de 10 e 15% (m/v) solubilizando os pellets do polímero em N,N-dimetilacetamida (Dinâmica<sup>®</sup>, Brasil), com auxílio de agitador magnético por 12 h à temperatura ambiente (~20 °C). Neste estudo não foi utilizado o negro de fumo proposto por Yang et al. (2014a), sendo este substituído por resíduo de pilha. Após essa etapa, uma massa de 600 mg de PVDF-HFP foi acrescentada ao carvão ativado e resíduo de pilha nas proporções apresentadas na Tabela 4. Essa mistura foi aplicada com auxílio de uma espátula sob a superfície de uma tela de aço inoxidável (5,5 x 7,0 cm) em uma área circular de 15,90 cm<sup>2</sup>, formando o eletrodo. Por fim, o eletrodo foi imerso em água deionizada por 15 min para induzir a inversão de fase e seco por 24 h à temperatura ambiente (~20 °C). Nas CCMs ar-cátodo os eletrodos catódicos foram diretamente expostos ao ambiente.

Na CCM de câmara dupla havia o compartimento catódico de 25 cm<sup>3</sup> onde se localizava o eletrodo catódico composto por uma placa de grafite e tela de aço inoxidável, como agente oxidante havia uma solução de ferrocianeto de potássio 50 mM, a qual era repostada a cada 7 dias.

Tabela 4: Composição dos eletrodos catódicos utilizados em cada célula combustível microbiológica

Componente	Carvão ativado (mg)	Resíduo de pilha (mg)	PVDF-HFP* (mg)
CCM 1 (+)	1800	180	600
CCM 2 (++)	1620	360	600
CCM 3 (-)	1980	-	600
CCM 4 (Fe)	-	-	-

CCM 1 (+) 7% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 2 (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 3 (-) sem resíduo de pilha; CCM 4 (Fe) placa de grafite e solução de ferrocianeto de potássio

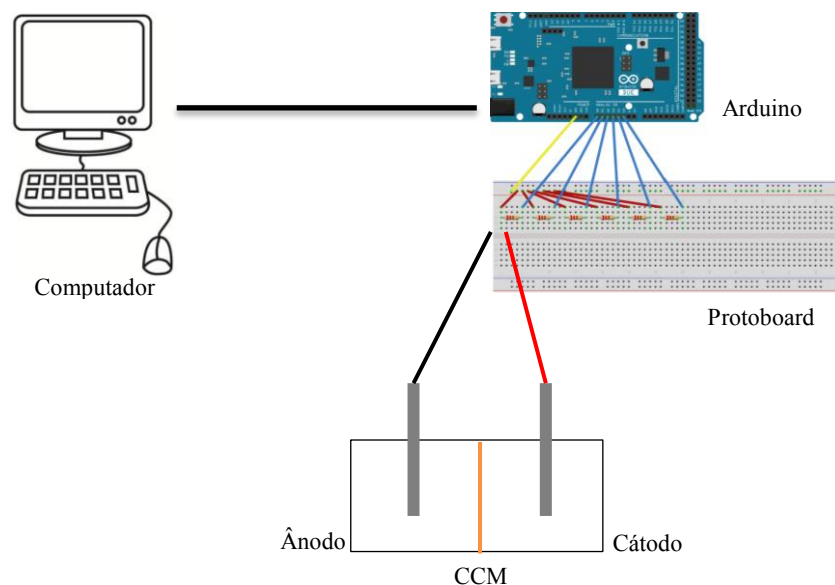
\* O PVDF-HFP se encontrava na forma de solução 10 e 15% (m/v). Foi adicionado um volume correspondente a 600 mg de PVDF-HFP

Os eletrodos anódico e catódico das CCM foram conectados por meio de uma Protoboard ligada à uma resistência externa e ao Arduino<sup>®</sup> (Arduino, DUE, Itália) conectado a um computador (Figura 13). Uma resistência externa fixa de 1 k $\Omega$  foi aplicada sob condições de sistema fechado para polarização das células e monitoramento da diferença de potencial (ddp). A corrente elétrica resultante foi determinada pela Lei de Ohm (Equação 1).

$$I = V/R_{\text{ext}} \quad (1)$$

Onde I (A) é a corrente elétrica gerada, V (V) é a diferença de potencial entre os eletrodos e  $R_{\text{ext}}$  ( $\Omega$ ) é a resistência externa aplicada ao sistema.

Figura 13: Esquema das conexões entre a CCM, protoboard, Arduino<sup>®</sup> e computador

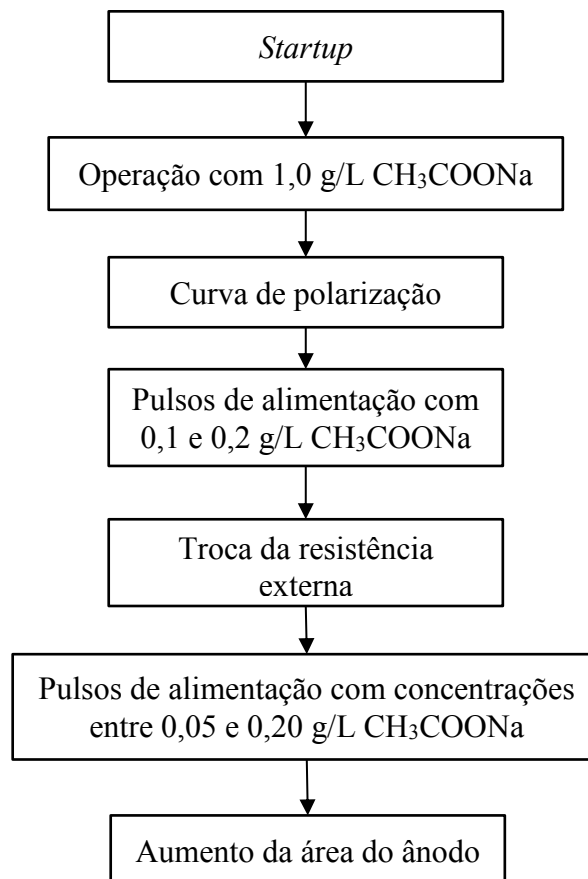


O compartimento anódico da CCM foi inoculado e alimentado com meio de cultivo com 1,0 g/L de acetato de sódio, possibilitando a fixação e formação de biofilme das bactérias exoeletrogênicas na superfície do eletrodo. As CCMs foram operadas à 35 °C e em regime batelada alimentada, onde uma nova alimentação é realizada após consumo total do substrato, sendo esse período entre alimentações considerado como pulso de alimentação.

#### 4.4.2 Etapa 1

A Figura 14 apresenta as subetapas que constituem a Etapa 1. O período de *startup* foi de 10 dias começando pelo momento que ocorreu a inoculação das CCMs. Neste período foi realizado diariamente a remoção gradual do sedimento da dragagem oriundo da inoculação, ao final do *startup* todo sedimento havia sido retirado. A remoção ocorreu pela aspiração de 5 mL do fundo de cada CCM com exceção do 10º dia no qual houve esvaziamento completo das CCMs, sendo o volume repostado com meio de cultivo.

Figura 14: Representação das etapas desenvolvidas para a Etapa 1



Após o *startup* as CCMs começaram a ser alimentadas com solução de 1,0 g/L de acetato de sódio e cada alimentação era realizada a cada 24 h ou quando a ddp gerada em cada CCM atingisse valores abaixo de 0,05 V, o que indica que quase todo acetato contido nas CCMs havia sido oxidado. A curva de polarização foi realizada para verificar a densidade máxima de potência das CCMs (item 4.5.3).

Em seguida a alimentação das CCMs foi alterada primeiro para 0,1 g/L e após para 0,2 g/L de acetato de sódio. Nesta etapa foi implementado o processo de lavagem das CCMs, que consiste no esvaziamento completo das CCMs, reposição do volume com água destilada (25 cm<sup>3</sup>) e novamente esvaziamento das CCMs. Após isso era realizada a alimentação com meio de cultivo contendo 1,0 g/L de acetato de sódio.

A troca da resistência externa foi realizada para maximizar a densidade de potência gerada pelos sistemas. Os testes com concentrações de alimentação de 0,05; 0,10; 0,15 e 0,2 g/L de acetato de sódio foi realizado para verificar o comportamento das CCMs quando alimentadas com baixa concentração de fonte de carbono. Por fim, foram adicionados em todas CCMs pellets de grafite na câmara anódica, que serviram de suporte para o crescimento bacteriano.

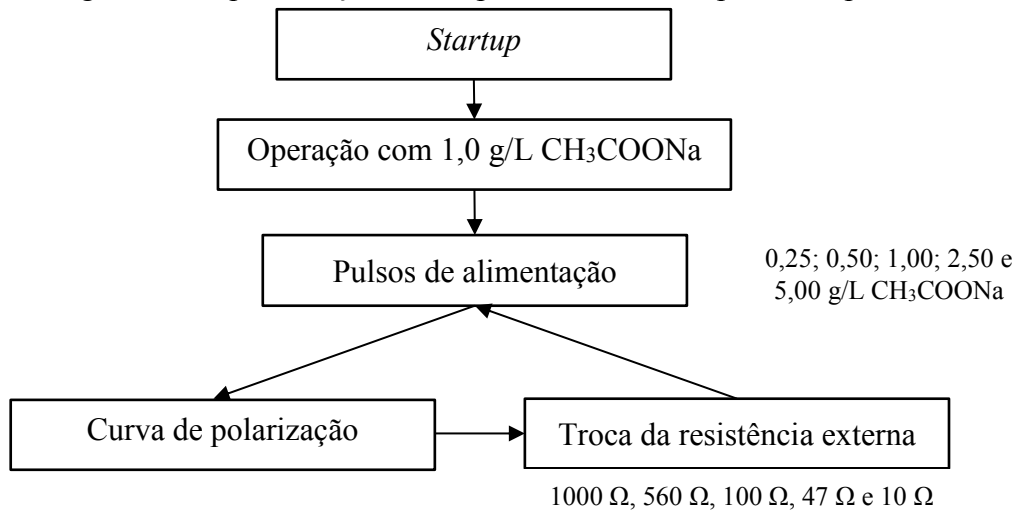
As análises de remoção de matéria orgânica por DQO foram realizadas em triplicata para cada CCM, diariamente dos dias 6 a 20 e dos dias 28 a 39.

#### 4.4.3 Etapa 2

Na Etapa 2 foram utilizados 2 tipos de CCM ar-cátodo, uma sem resíduo de pilha, CCM (-), e outra com 14% (m/m) de resíduo de pilha no eletrodo catódico, CCM (++), em triplicata. Nesta Etapa foram testadas alimentações com concentrações de 0,25; 0,50; 1,00; 2,50 e 5,00 g/L de acetato de sódio e diferentes valores de resistência externa (1000  $\Omega$ , 560  $\Omega$ , 100  $\Omega$ , 47  $\Omega$  e 10  $\Omega$ ), com intervalo mínimo de 10 dias entre cada troca de  $R_{ext}$ . A Figura 15 demonstra a ordem das etapas realizadas na Etapa 2.

As análises de remoção de matéria orgânica por DQO e COT foram realizadas em cada CCM durante os pulsos de alimentações e os valores de média e desvio padrão calculado a partir da triplicata de cada grupo de CCMs.

Figura 15: Representação das etapas desenvolvidas para a Etapa 2



## 4.5 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

### 4.5.1 Determinação de demanda química de oxigênio

A DQO da solução de alimentação e do efluente das CCMs foram determinados segundo metodologia padrão através do método colorimétrico de refluxo fechado (APHA, 2012) e a leitura realizada em espectrofotômetro à 600 nm. A remoção de DQO foi calculada utilizando a Equação 2 e a diferença de DQO pela Equação 3.

$$R_{DQO} = \frac{DQO_i - DQO_f}{DQO_i} \cdot 100 \quad (2)$$

$$\Delta_{DQO} = DQO_i - DQO_f \quad (3)$$

Onde  $R_{DQO}$  (%) é a remoção de matéria orgânica,  $DQO_i$  (mg<sub>O2</sub>/L) é a concentração de compostos oxidáveis ao início do experimento,  $DQO_f$  (mg<sub>O2</sub>/L) é a concentração de compostos oxidáveis ao fim do experimento e  $\Delta_{DQO}$  (mg<sub>O2</sub>/L) é a diferença de DQO entre a DQO inicial e final.

### 4.5.2 Carbono orgânico total

A determinação de carbono orgânico total (COT) da solução de alimentação e do efluente das CCMs foram realizadas de acordo com método de combustão de alta temperatura

(APHA, 2012) utilizando um analisador de carbono orgânico total (TOC-V CPN, Shimadzu<sup>®</sup>, Japão). O carbono orgânico total foi obtido pela diferença entre carbono total e carbono inorgânico. A remoção de COT em cada ensaio foi calculada de acordo com a Equação 4.

$$R_{\text{COT}} = \frac{\text{COT}_i - \text{COT}_f}{\text{COT}_i} \cdot 100 \quad (4)$$

Onde  $R_{\text{COT}}$  (%) é a remoção de carbono orgânico total,  $\text{COT}_i$  ( $\text{mgO}_2/\text{L}$ ) é a concentração de carbono orgânico ao início do experimento e  $\text{COT}_f$  ( $\text{mgO}_2/\text{L}$ ) é a concentração de carbono orgânico ao fim do experimento.

#### 4.5.3 Análises eletroquímicas da CCM

A eficiência Coulomb (EC) referente à fração de elétrons recuperados como corrente elétrica em comparação à quantidade de elétrons presente no substrato foi calculada a partir da Equação 5 (LOGAN, 2008). A potência foi calculada a partir da Equação 6.

$$\text{EC} = \left( \frac{M_S \int_{t_0}^t I \cdot dt}{b \cdot V_{\text{an}} \cdot F \cdot \Delta_{\text{DQO}}} \right) \quad (5)$$

$$P = I^2 \cdot R \quad (6)$$

Onde  $I$  é a corrente gerada (A),  $\int I \cdot dt$  (C) é o total de Coulombs transferidos,  $M_S$  é a massa molar do substrato (g/mol),  $t$  é o tempo de duração da operação em batelada (s),  $b$  é a quantidade total de elétrons que pode ser transferida por mol de  $\text{O}_2$ ,  $V_{\text{an}}$  é o volume de solução no compartimento anódico (L),  $F$  é a constante de Faraday (96485,33 C/ mol<sub>e</sub>-) e  $\Delta_{\text{DQO}}$  (g/L) é a diferença de DQO de entrada e saída. Na Equação 6,  $P$  é potência (W) e  $R$  é a resistência externa ( $\Omega$ ). A densidade de corrente e de potência foi determinada dividindo os valores de potência e corrente, respectivamente, pela área do eletrodo anódico.

A análise eletroquímica de voltametria cíclica foi realizada com potenciaostato (PalmSens3, PalmSens, Holanda) pelo método de três eletrodos com taxa de varredura de 10 mV/s (LOGAN et al., 2006). O eletrodo Ag/AgCl foi utilizado como eletrodo de referência, o eletrodo de platina como contra eletrodo. Para a avaliação das reações de oxirredução do oxigênio foi utilizado eletrodos catódicos (1 cm<sup>2</sup>) como eletrodo de trabalho e solução



eletrolítica utilizada foi tampão de fosfato 50 mM aerada previamente com ar atmosférico por 5 min, com auxílio de um compressor de ar. Para avaliação das reações de oxirredução de ferrocianeto, placa de grafite foi utilizada como eletrodo de trabalho e a solução eletrolítica era 50 mM de ferrocianeto de potássio.

Duas horas antes da realização da curva de polarização as CCMs eram alimentadas com excesso de acetato de sódio (20 g/L) para garantir que as CCMs estavam operando em suas voltagens máximas. A curva de polarização consistiu na redução gradual da resistência externa (10000  $\Omega$ , 2200  $\Omega$ , 1000  $\Omega$ , 800  $\Omega$ , 680  $\Omega$ , 560  $\Omega$ , 390  $\Omega$ , 270  $\Omega$ , 180  $\Omega$ , 100  $\Omega$ , 56  $\Omega$ , 47  $\Omega$ , 10  $\Omega$  e 1  $\Omega$ ), as trocas das resistências externas foram realizadas a cada 30 minutos, tempo necessário para estabilização da ddp.

#### 4.5.4 Caracterização dos eletrodos anódicos e catódicos

A morfologia do resíduo de pilha foi analisada através da técnica de microscopia eletrônica de varredura, utilizando microscópio eletrônico de 120 keV (JEOL, JSM 6060, Japão), com magnificação de 500x. Concomitantemente à essa técnica foi realizada a espectroscopia por energia dispersiva (EDS), a qual que permitiu a quantificação elementar dos compostos presentes no resíduo. Para realização dessa análise a amostra foi metalizada com ouro em pulverizador de ouro (Denton Vacuum, Desk V, EUA).

#### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As médias dos resultados de densidade de potência máxima obtidos pelas CCMs nas diferentes condições experimentais foram comparados, para verificar se existe diferença estatística entre as CCMs, através de análise de variância seguida por teste de *Tukey*, com 95% de significância estatística ( $p < 0,05$ ) utilizando o *software Statistica 7.0* (StatSoft, EUA).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CONSTRUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ELETRODO CATÓDICO

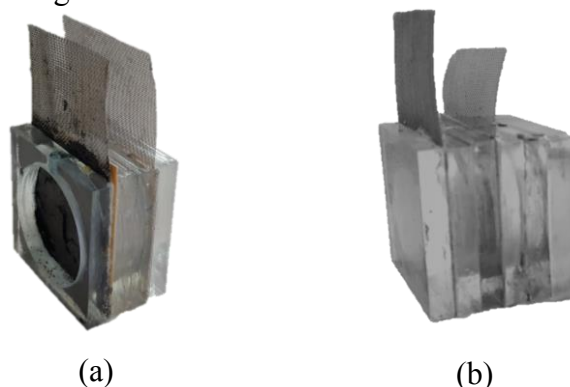
A metodologia proposta por Yang et al. (2014) para o eletrodo catódico utiliza, além do carvão ativado e do PVDF, o negro de fumo. A função deste composto é justamente com um polímero servir como barreira contra a passagem de líquido entre as câmaras de CCM e auxiliar a difusão de oxigênio entre as câmaras. Neste trabalho, foi utilizada uma membrana trocadora de prótons, assim, o negro de fumo não foi realizado. Yang et al. (2014b) estudaram o uso de PVDF-HFP em eletrodos, este polímero devido aos grupos à presença de grupos contendo flúor este apresenta maior hidrofobicidade do que o PVDF, o que auxilia na retenção da água no ânodo.

Inicialmente, foi utilizada uma solução de 10% (m/v) de PVDF-HFP, porém durante a elaboração e com a finalização da confecção do eletrodo foi observado a formação de uma mistura pastosa que não se firmava na tela de aço inoxidável. Por isso, uma solução de 15% (m/v) de PVDF-HFP foi preparada e utilizada no preparo do eletrodo catódico. Nesta concentração era adicionado um menor volume da solução polimérica, tornando a mistura menos líquida e possibilitando sua aplicação na tela de aço inoxidável. A Figura 16 ilustra o eletrodo catódico das CCMs finalizado. A Figura 17 apresenta a CCM ar-cátodo e a CCM de duas câmaras após suas construções.

Figura 16: Eletrodo catódico elaborado com carvão ativado, resíduo de pilha e PVDF-HFP sob tela de aço inoxidável



Figura 17: CCMs utilizadas neste trabalho



(a) CCM ar-cátodo; (b) CCM de duas câmaras

### 5.1.1 Análise elementar e morfológica do resíduo de pilha por EDS e MEV

A técnica de MEV foi realizada para avaliar a morfologia do resíduo de pilha, apresentada na Figura 18. Os dados obtidos por EDS estão demonstrados na Tabela 5, onde foi identificado uma concentração de 36,98% de manganês no resíduo de pilha. Rascio et al. (2010) utilizou resíduos de pilha para eletrocatalise de oxigênio também mostra o manganês como constituinte majoritário de baterias alcalinas.

Figura 18: Microscopia eletrônica de varredura do resíduo de pilha

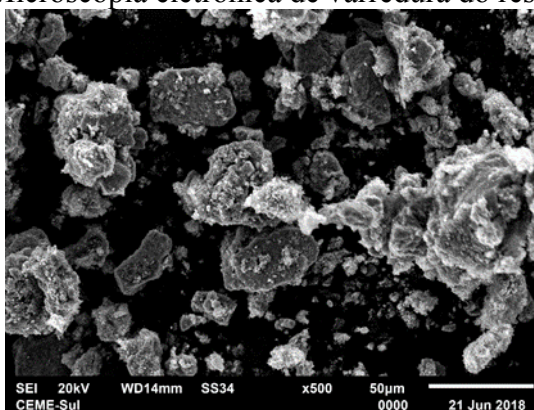


Tabela 5: Composição elementar por EDS do resíduo de pilha

Componente	C-K (%)	O-K (%)	Al-K (%)	Cl-K (%)	K-K (%)	Mn-K (%)	Zn-K (%)
Resíduo de pilha	20,14	23,46	0,55	8,38	0,20	36,98	10,28

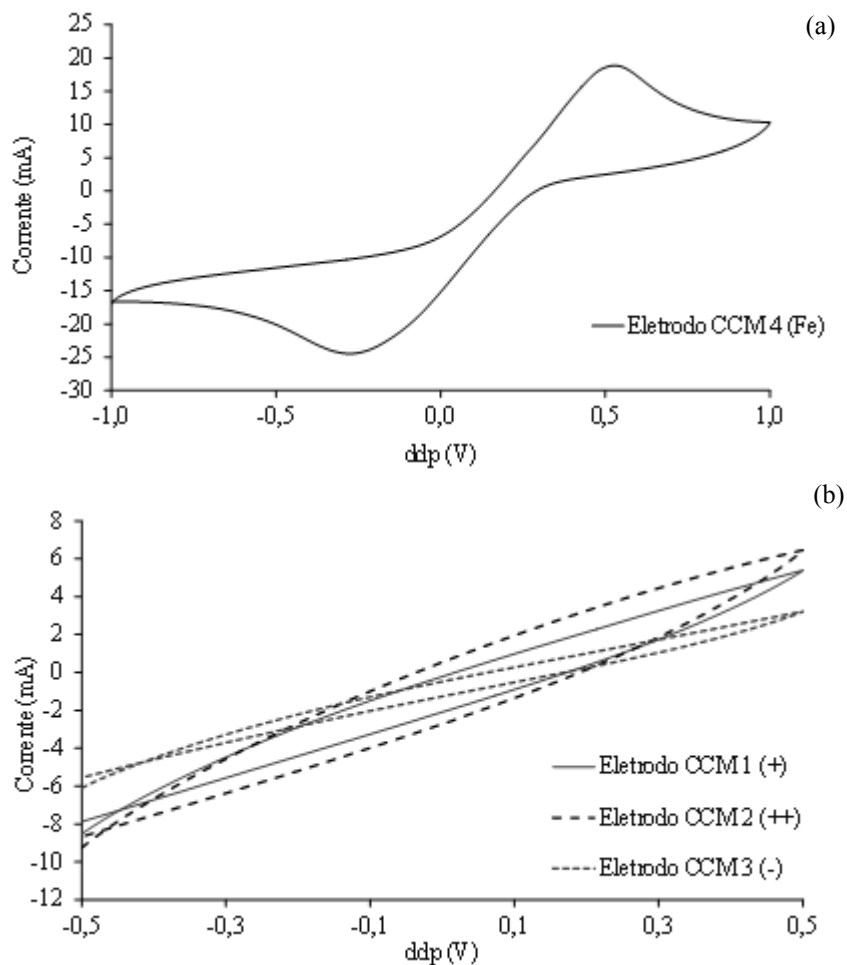
### 5.1.2 Voltametria cíclica

A voltametria cíclica (VC) foi realizada para caracterizar as reações de oxirredução que ocorrem na superfície do cátodo. A Figura 19 apresenta os voltagramas cíclicos dos eletrodos

catódicos, onde a Figura 19a apresenta a VC da CCM 4 (Fe) na qual foi caracterizado as reações de oxirredução do ferrocianeto, apresentando pico de oxidação em 17 mA e pico de redução em -25 mA.

Para os eletrodos das CCM 1 (+), CCM 2 (++) e CCM 3 (-) não foram detectados picos de oxirredução nas condições estudadas (Figura 19b), não sendo possível a caracterização das reações do oxigênio.

Figura 19: Voltametria cíclica do compartimento e eletrodos catódico



(a) CCM 4 (Fe); (b) dos eletrodos das CCMs ar-cátodo

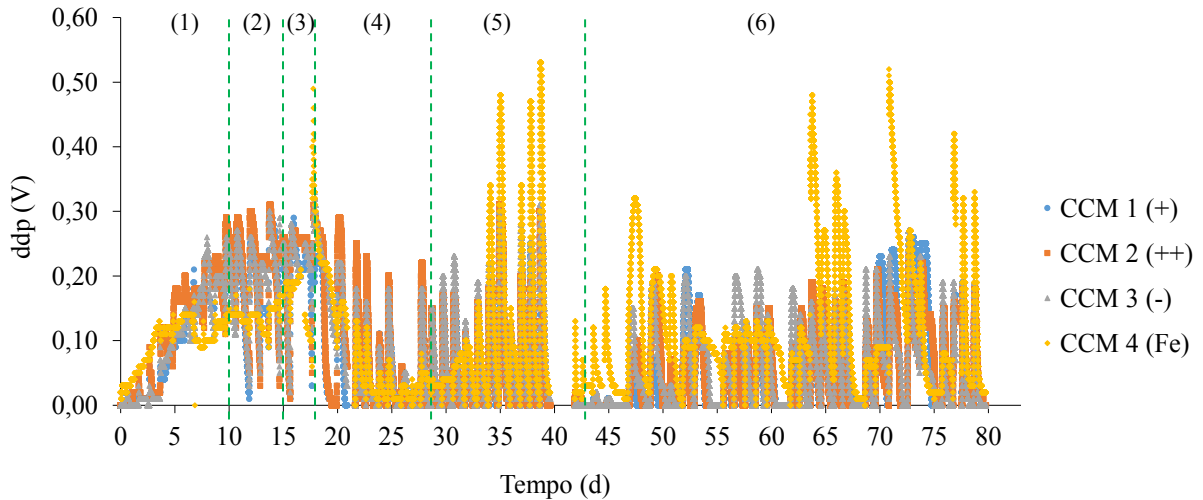
CCM 1 (+) 7% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 2 (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 3 (-) sem resíduo de pilha; CCM 4 (Fe) placa de grafite e solução de ferrocianeto de potássio

## 5.2 ETAPA 1

As Figuras 20 e 21 apresentam o acompanhamento da ddp e da densidade de corrente durante toda essa Etapa, respectivamente. Assim, foi possível estudar o funcionamento de

CCMs ar-cátodo em comparação com a CCM 4 (Fe) de câmara dupla com redução ferrocianeto na câmara catódica que foi considerada como controle.

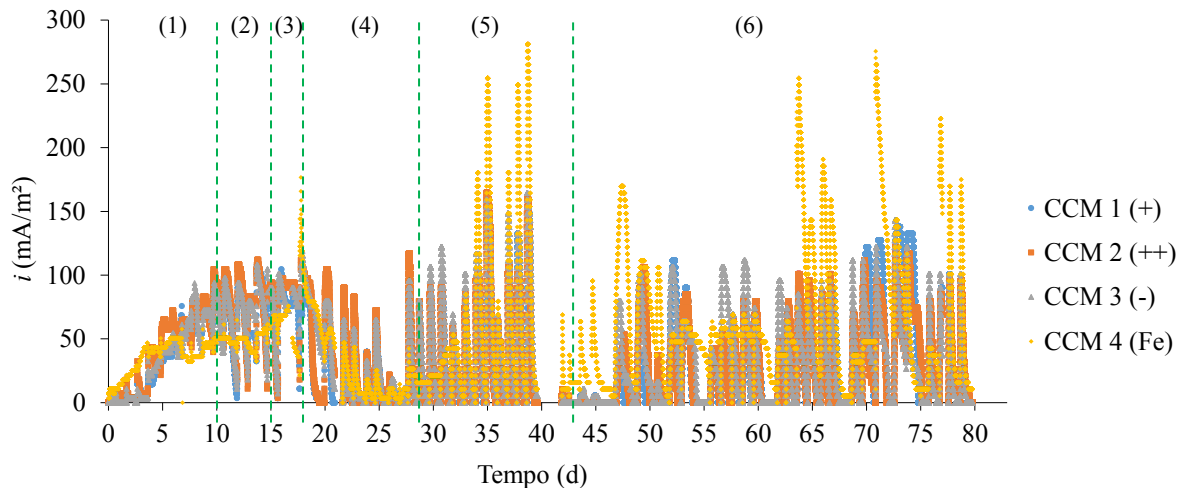
Figura 20: Acompanhamento da ddp gerada ao longo de todo o período da Etapa 1



(1) *startup*, (2) operação com 1,0 g/L de acetato de sódio, (3) curva de polarização, (4) operação com 1,0 g/L e pulsos de alimentação de 0,1 e 0,2 g/L de acetato de sódio; operação com diferentes concentrações de acetato de sódio em 680  $\Omega$ ; (6) aumento da área do ânodo

CCM 1 (+) 7% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 2 (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 3 (-) sem resíduo de pilha; CCM 4 (Fe) placa de grafite e solução de ferrocianeto de potássio

Figura 21: Densidade de corrente gerada ao longo de todo o período da Etapa 1



(1) *startup*, (2) operação com 1,0 g/L de acetato de sódio, (3) curva de polarização, (4) operação com 1,0 g/L e pulsos de alimentação de 0,1 e 0,2 g/L de acetato de sódio; operação com diferentes concentrações de acetato de sódio em 680  $\Omega$ ; (6) aumento da área do ânodo

CCM 1 (+) 7% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 2 (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 3 (-) sem resíduo de pilha; CCM 4 (Fe) placa de grafite e solução de ferrocianeto de potássio

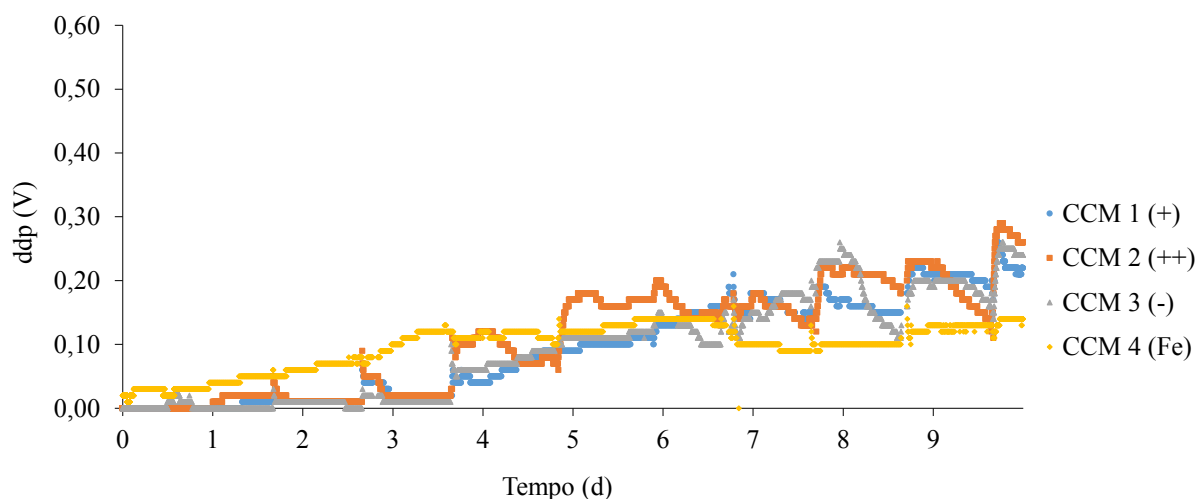
A Etapa 1 teve duração total de 80 dias, sendo os 10 primeiros dias referente ao período de *startup*, do dia 11 ao 21 houve a operação nas mesmas condições do *startup* para verificar a

estabilidade das CCMs. Entre os dias 21 e 28 foram testadas diferentes concentrações de acetato de sódio na alimentação e verificado a remoção de DQO e eficiência Coulomb. No 28º dia foi realizada a troca da  $R_{ext}$  para 560  $\Omega$  comparando com os dados obtidos entre o 21 e 28º dia. No dia 42 foi realizado o aumento da área do ânodo e analisado seu efeito na ddp gerada até o fim da Etapa 1.

### 5.2.1 *Startup* e operação das CCMs com resistência externa de 1 k $\Omega$

O período entre a inoculação das CCMs e estabilização do comportamento de ddp gerada considerado como período de *startup*. A Figura 22 apresenta os dados de ddp nesse período, a CCM 4 (Fe) obteve a maior ddp gerada dentre as demais, porém a partir do 7º dia as CCMs ar-cátodo alcançaram picos de ddp máxima entre 12,5% e 107% superiores à da CCM 4 (Fe). Pinto et al. (2011) utilizou lodo anaeróbico como inóculo e meio sintético com acetato como fonte de carbono em CCM e obtiveram aumento na potência gerada a partir do 3º dia e entre o 7º e 10º dia foi atingido estado estacionário. Sendo esse período semelhante ao encontrado nesta Etapa.

Figura 22: Acompanhamento da ddp gerada durante o *startup* das CCMs na Etapa 1

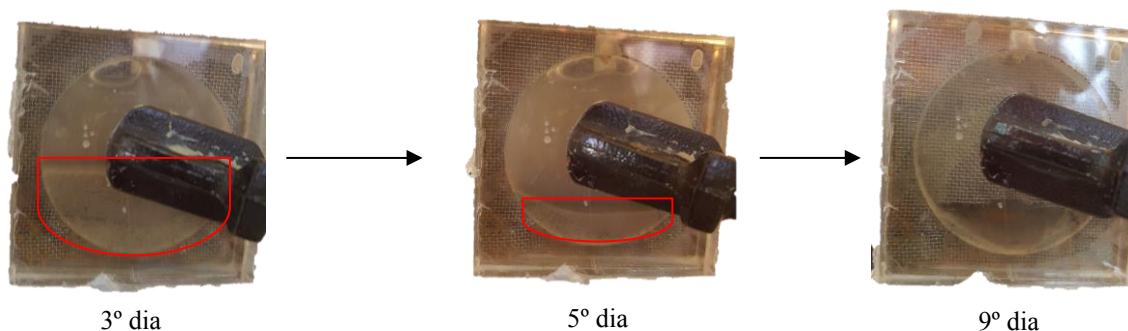


CCM 1 (+) 7% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 2 (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 3 (-) sem resíduo de pilha; CCM 4 (Fe) placa de grafite e solução de ferrocianeto de potássio

A partir do segundo dia de *startup* foi realizado a remoção do sedimento oriundo da fonte do inóculo (sedimento marinho), o qual diminui o volume útil das CCMs, uma vez que ocupa espaço que poderia ser ocupado por meio de cultivo, ilustrado na Figura 23. Como no início dos experimentos nem todo substrato era consumido e ainda havia a reposição com meio de cultivo, quedas drásticas para valores muito baixos de ddp gerada não ocorriam devido ao

excesso de substrato. No 10º dia de cultivo ocorreu o esvaziamento completo das CCMs para total remoção do sedimento.

Figura 23: Ilustração de remoção de sedimento da CCM

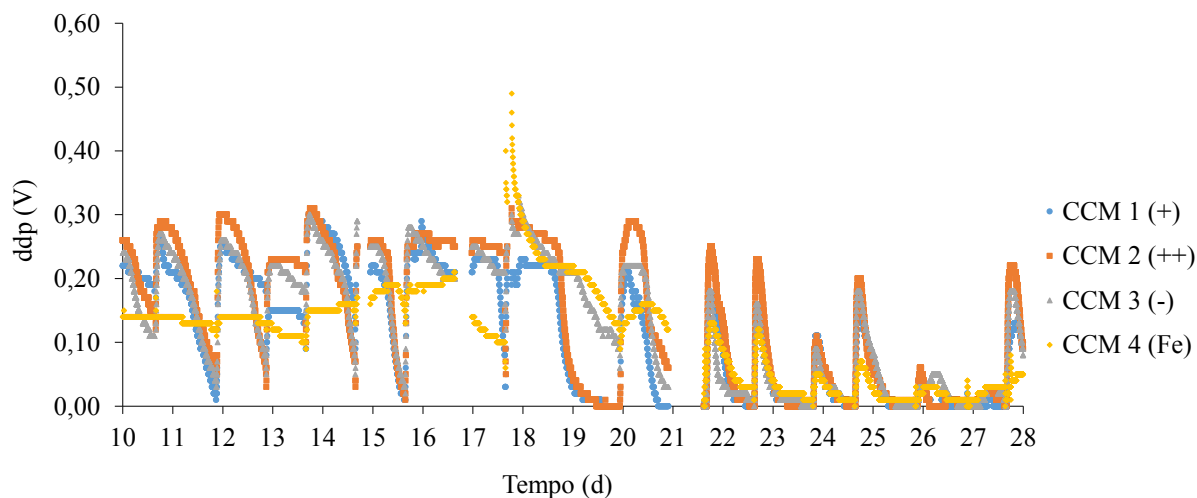


A partir do 11º dia, as CCMs foram operadas com pulsos de alimentação, como apresentado na Figura 24. Entre o 10º dia e 15º dia foram retiradas alíquotas de 10 mL do ânodo das CCMs e realizada reposição desse volume com meio de cultivo contendo 1g/L de acetato de sódio. Entre o 15º e 17º dia foram realizadas as curvas de polarização, sendo adicionado excesso de acetato de sódio (20 g/L). Com isso, houve picos de ddp gerada superiores aos obtidos anteriormente, uma vez que a elevada concentração de acetato de sódio foi gradualmente oxidada entre o início do 17º dia e 20º dia.

Durante os 28 dias iniciais de operação as CCM 1 (+), CCM 2 (++) e CCM 3 (-) obtiveram maior ddp e densidade de corrente gerada com relação a CCM 4 (Fe), com exceção do 17º dia no foi realizado a curva de polarização, provocando alteração nesses dados. A CCM 2 (++) atingiu 0,31 V e 111,75 mA/m<sup>2</sup>, as CCM 1 (+) e CCM 3 (-) obtiveram 0,3 V e 108,15 mA/m<sup>2</sup>, enquanto eu a CCM 4 (Fe) obteve 0,18 V e 64,89 mA/m<sup>2</sup>.

No 22º dia foi iniciado o estudo de pulsos de alimentação, sendo entre o 22º e 25º dia realizados pulsos com 0,1 g/L de acetato e entre o 25º e 27º dia com 0,2 g/L. Com estes pulsos foi verificado uma redução da ddp máxima e amplitude dos picos diante de uma mesma concentração de fonte de carbono na alimentação, sendo isso visualizado na Figura 24.

Figura 24: Acompanhamento da ddp gerada com pulsos de alimentação de 1,0 g/L (10º ao 21º dia) na Etapa 1



CCM 1 (+) 7% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 2 (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 3 (-) sem resíduo de pilha; CCM 4 (Fe) placa de grafite e solução de ferrocianeto de potássio

Essa redução pode ser atribuída à presença de micro-organismos não-exoeletrogênicos que competem com as bactérias exoeletrogênicas pelo substrato. Diante desse dado foi proposto a realização do processo de lavagem antes de cada pulso de alimentação, o objetivo deste processo é remover micro-organismos não aderidos à superfície do ânodo e que, possivelmente, consumiam substrato sem realizar a transferência externa de elétrons.

#### 5.2.1.1 Remoção de matéria orgânica e total de Coulomb transferidos na Etapa 1 (1º até o 27º dia)

A partir das análises de DQO foi possível determinar a remoção ( $R_{DQO}$ ) e consumo ( $\Delta_{DQO}$ ) de matéria orgânicas nos sistemas, apresentados na Tabela 6. A concentração da solução de alimentação de 1,0 g/L corresponde a 916,65 ( $\pm 78,3$ ) mg/L de DQO. Os resultados obtidos entre os dias 6 e 9 apresentam remoção ( $R_{DQO}$ ) e consumo ( $\Delta_{DQO}$ ) negativos, pois o acetato não era totalmente oxidado nos primeiros dias de experimentos, desta forma havia matéria orgânica remanescente nas CCMs que não era quantificada. Com o esvaziamento das CCMs no 10º dia, a matéria orgânica remanescente foi totalmente removida, possibilitando uma melhor avaliação do consumo de matéria orgânica.



Tabela 6: Dados de remoção e consumo de matéria orgânica do 6º ao 21º dia - Etapa 1

Dia	R <sub>DQO</sub> (%)				Δ DQO (mgO <sub>2</sub> /L)			
	CCM 1 (+)	CCM 2 (++)	CCM 3 (-)	CCM 4 (Fe)	CCM 1 (+)	CCM 2 (++)	CCM 3 (-)	CCM 4 (Fe)
6	22,53	37,91	13,19	-9,06	206,55	347,52	120,88	-83,02
7	-30,74	-35,90	-98,93	-83,13	-281,78	-329,09	-906,87	-762,03
8	-85,95	-170,35	-11,23	-157,56	-787,82	-1561,49	-102,97	-1444,25
9	-44,64	40,84	-25,90	-53,49	-409,15	374,36	-237,37	-490,35
10	57,37	99,97	68,03	43,56	525,89	916,35	623,62	399,26
11	80,04	69,22	92,91	74,60	733,73	634,47	851,66	683,87
12	93,45	99,20	98,67	94,73	856,61	909,35	904,47	868,34
13	94,59	91,36	73,60	89,87	867,04	837,41	674,62	823,77
14	95,21	95,58	91,44	86,10	872,72	876,18	838,20	789,27
15	97,16	92,94	98,10	91,24	890,63	851,91	899,27	836,39
16	97,04	97,79	94,96	92,92	889,49	896,38	870,48	851,77
17	48,21	50,30	40,51	54,94	441,95	461,12	371,32	503,61
18	67,20	74,60	70,42	80,55	615,98	683,82	645,50	738,36
19	80,14	85,96	84,82	69,99	734,63	787,94	777,50	641,56
20	85,78	78,61	60,21	77,19	786,34	720,58	551,96	707,57
21	94,39	96,04	93,31	97,42	865,26	880,34	855,29	892,99
Média*	82,55	85,96	80,58	79,43	756,69	787,99	738,66	728,06
Desvio padrão*	16,68	15,13	18,14	16,62	152,86	138,69	166,31	152,34

CCM 1 (+) 7% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 2 (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 3 (-) sem resíduo de pilha; CCM 4 (Fe) placa de grafite e solução de ferrocianeto de potássio

\*Os dados de média e desvio padrão foram calculados utilizando os dados dos dias 10 a 21

Foram obtidas remoções de DQO entre 40,51% e 99,97%, com R<sub>DQO</sub> média acima de 79,43%. No 17º dia a R<sub>DQO</sub> foi menor quando comparada entres os dias anteriores e posteriores, isso ocorreu pois neste dia foi realizada a curva de polarização, na qual foi adicionado concentração de 20 g/L de acetato de sódio alterando o comportamento das CCMs. Oon et al. (2017) utilizando DQO de alimentação de 1123 (± 28) mg/L em batelada alimentada, obtiveram aumento gradual de remoção a cada batelada de aproximadamente 61% havendo um, chegando à 91%. A elevada remoção de matéria orgânica é desejável pois garante que há oxidação completa dos compostos orgânicos pelos micro-organismos.

Na Tabela 7 são apresentados os dados de total de Coulomb transferidos por cada CCM do dia 6 ao 20. As CCM 2 (++) e CCM 3 (-) obtiveram maiores valores de Coulombs transferidos de 17,04 C e 16,44 C, respectivamente. Isso indica de diante de uma mesma alimentação essas CCMs apresentam desempenho superior as demais, resultando em uma maior conversão de energia química em elétrica, possivelmente devido à reações mais rápidas de redução no cátodo.

Tabela 7: Total de Coulomb transferidos a cada pulso de alimentação do 6º ao 21º dia da Etapa 1

Dia	j <sub>i</sub> .dt (C)			
	CCM 1 (+)	CCM 2 (++)	CCM 3 (-)	CCM 4 (Fe)
6	10,10	11,21	8,74	9,71
7	13,02	12,59	12,46	7,94
8	14,16	17,74	16,40	8,71
9	18,13	17,02	16,62	11,27
10	17,71	18,88	15,90	11,60
11	16,99	21,05	18,55	14,54
12	14,44	16,69	14,35	8,98
13	13,52	16,82	15,41	10,26
14	21,90	19,82	19,27	13,28
15	12,97	15,89	15,27	14,27
16	19,72	22,00	19,82	16,39
17	18,59	22,08	21,05	11,77
18	17,59	22,71	21,81	23,38
19	3,82	5,49	18,25	21,05
20	8,34	15,60	12,78	12,07
Média	14,73	17,04	16,44	13,01
Desvio padrão	4,74	4,63	3,51	4,42

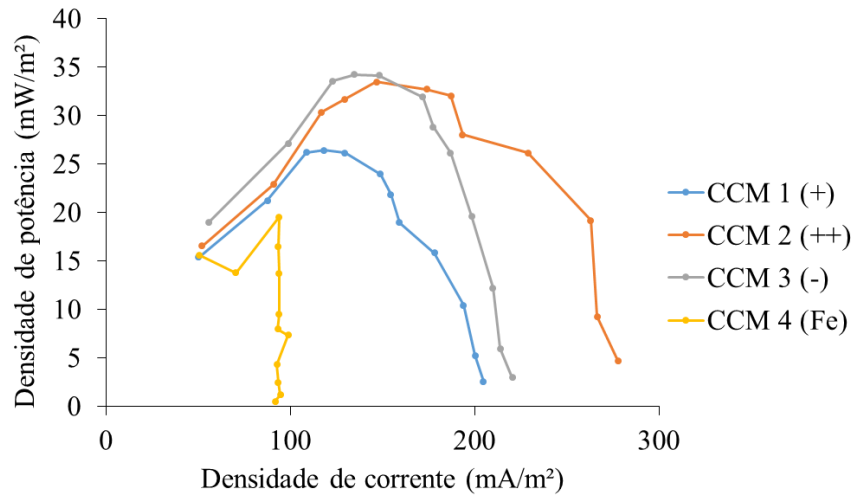
CCM 1 (+) 7% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 2 (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 3 (-) sem resíduo de pilha; CCM 4 (Fe) placa de grafite e solução de ferrocianeto de potássio

### 5.2.1.2 Curva de polarização das CCMs

As curvas de polarização da Etapa 1 foram realizadas nos dias 15 e 17. A Figura 25 apresentam as curvas de densidade de potência das CCMs e a Figura 26 as curvas de polarização. As densidades de potência máxima obtidas pelas CCM 3 (-) e CCM 2 (++) obtiveram foram de 34,26 ( $\pm 5,9$ ) e 33,48 ( $\pm 0,7$ ) mW/m<sup>2</sup>, respectivamente. No entanto, não houve diferença significativa entre as densidades de potências obtidas das 4 CCMs estudadas. Os valores de R<sub>int</sub> das CCMs foram entre 570,15 e 843,04  $\Omega$ .

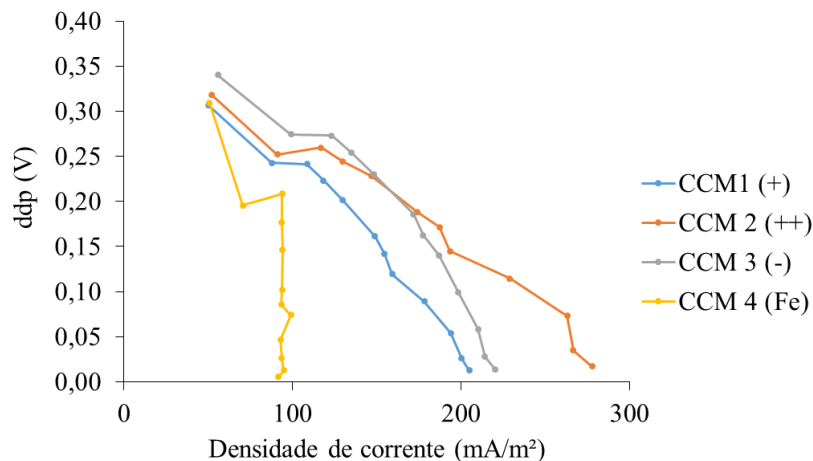
Os resultados encontrados estão próximo dos valores encontrados no estudo de Miroliaei et al. (2015), onde foi utilizada CCM de duas câmaras (V<sub>an</sub> de 25 cm<sup>3</sup>) com O<sub>2</sub> como acceptor final de elétrons, quando utilizado *Shewanella* na ausência de mediador redox foi obtido densidade de potência máxima de 26,97 mW/m<sup>2</sup> e 12,5 mW/m<sup>2</sup> quando inoculada com *E. coli*. A R<sub>ext</sub> no ponto de densidade de potência máxima foi 2000  $\Omega$  para *Shewanella* e de 700  $\Omega$  para *E. coli*, indicando uma R<sub>int</sub> próxima a esses valores, os quais são compatíveis com os encontrados nesta análise.

Figura 25: Curva de densidade de potência das CCMs da Etapa 1



CCM 1 (+) 7% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 2 (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 3 (-) sem resíduo de pilha; CCM 4 (Fe) placa de grafite e solução de ferrocianeto de potássio

Figura 26: Curva de polarização das CCMs da Etapa 1



CCM 1 (+) 7% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 2 (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 3 (-) sem resíduo de pilha; CCM 4 (Fe) placa de grafite e solução de ferrocianeto de potássio

Oon et al. (2017) obtiveram densidade de potência máxima de 21,97 mW/m<sup>2</sup> em um sistema de câmara dupla com nitrato como acceptor final de elétrons, que pode estar relacionado à baixa eficiência de transferência de prótons pela membrana e com a área do eletrodo catódico. Óxidos de manganês sendo estudados como catalisadores de reações de redução de oxigênio em CCM. Touach et al. (2016) atingiram densidade de potência máxima de 511,11 mW/m<sup>3</sup> combinando MnO<sub>2</sub>, PTFE e nanotubos de carbono como eletrodo catódico. Já Farahani et al. (2018) obtiveram densidade de potência máxima de 467 mW/m<sup>2</sup> quando combinaram óxidos de manganês com negro de fumo aproximadamente 4,8% superior ao encontrado quando foi utilizado platina ao invés de óxido de manganês. Isso indica que a

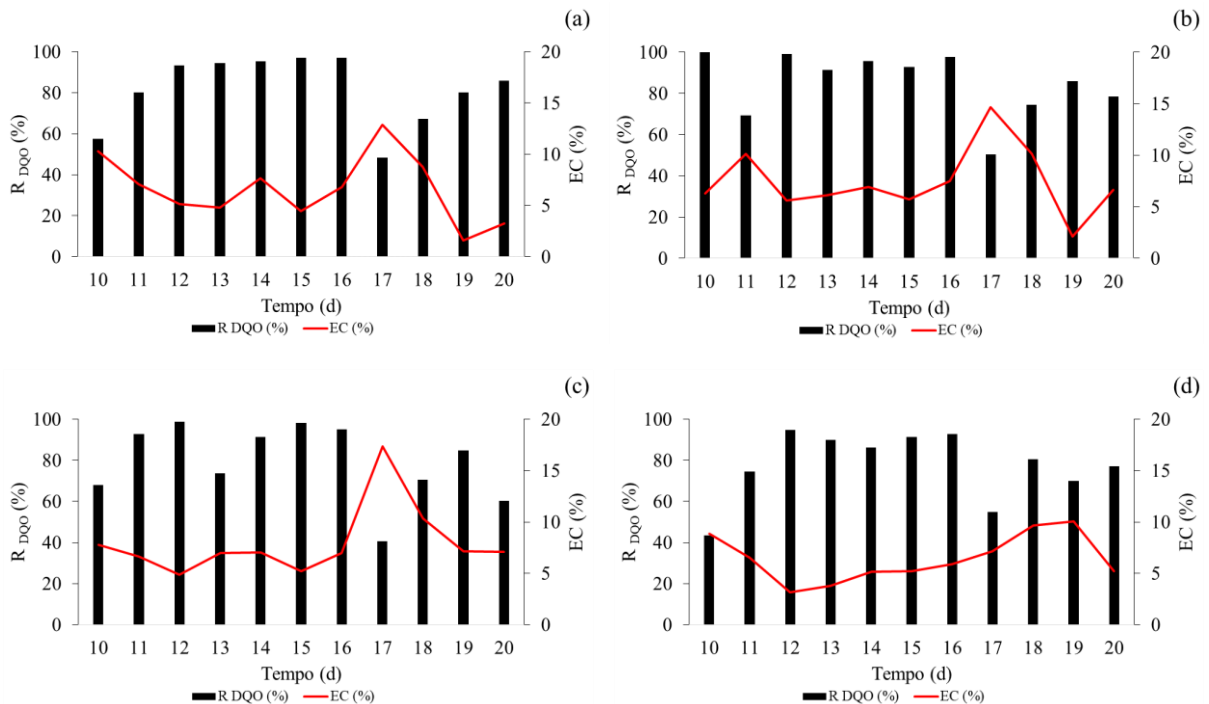
combinação de óxido de manganês com outros materiais pode influenciar o desempenho de CCM em relação a densidade de potência gerada.

Densidades de potência acima de  $1000 \text{ mW/m}^2$  são geralmente encontradas quando se utiliza feltros e escova de fibra de carbono ou de grafite como eletrodo anódico. O uso desses materiais aumenta a superfície de contato para fixação de bactérias exoeletrogênicas, aumentando a população microbológica, e com isso, se tem aumento na oxidação de matéria orgânica e de transferência de elétrons. Estes casos podem ser observados nos estudos de Dai et al. (2016), Yang et al. (2014b) e Yang, Kim e Logan (2015), nos quais as densidades de potência são calculadas em termos de área do cátodo, que, nesses casos, foi muito inferior à área do ânodo, assim a densidade de potência aumenta quando calculada em relação a uma área menor.

### 5.2.1.3 Eficiência Coulomb

A Figura 27 apresenta os resultados de remoção de matéria orgânica e de eficiência Coulomb das CCMs.

Figura 27: Eficiência Coloumb e remoção de DQO da Etapa 1 entre os dias 10 a 20  
(a) CCM 1(+); (b) CCM 2(++); (c) CCM 3(-); (d) CCM 4(Fe)



(R<sub>DQO</sub>) Remoção de matéria orgânica em termos de DQO; (EC) Eficiência Coulomb; CCM 1 (+) 7% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 2 (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 3 (-) sem resíduo de pilha; CCM 4 (Fe) placa de grafite e solução de ferrocianeto de potássio

No sistema ideal a CCM elevada remoção de matéria orgânica e boa parte dos elétrons transferidos no circuito elétrico, obtendo elevada EC, porém no sistema real a matéria orgânica é oxidada por diversos micro-organismos e os elétrons utilizados em rotas metabólicas de crescimento/manutenção celular. Assim, a baixa eficiência Coulomb, inferior a 15% neste estudo, se deve à elevada remoção de matéria orgânica, porém com baixa transferência de elétrons do ânodo para o cátodo, indicando que parte dos elétrons estão sendo utilizados para o metabolismo celular ou que há presença de micro-organismo não-exoeletrogênicos competindo pelo substrato.

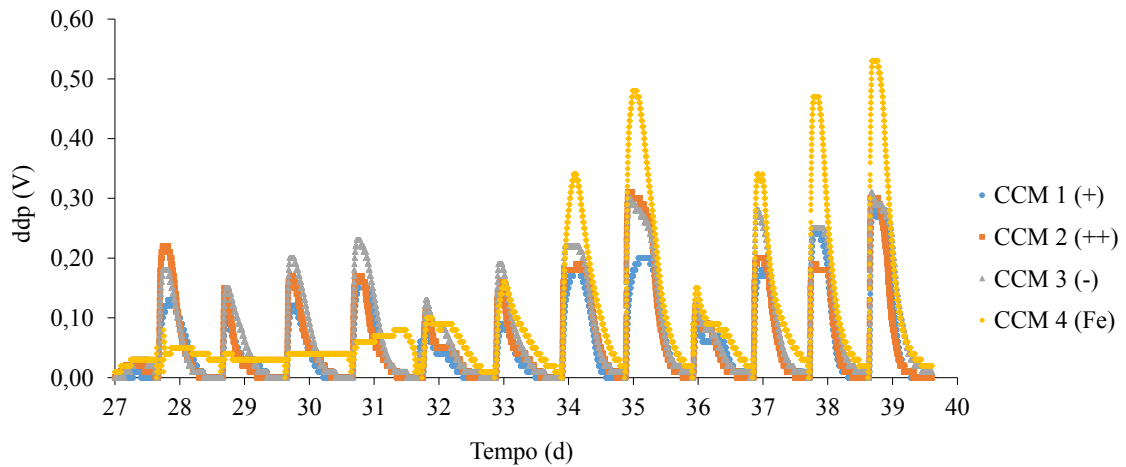
Oon et al. (2017) verificaram a eficiência Coulomb de aproximadamente 5% em CCM operada em batelada alimentada com acetato de sódio e nitrato como acceptor de elétrons. Pinto et al. (2011) apontam que a operação em valores altos de  $R_{ext}$  (1000  $\Omega$ ) resulta em baixos valores de densidade de corrente e também de eficiência Coulomb. Além da  $R_{ext}$  outros fatores podem afetar a EC, como tipo de substrato, concentração e presença de micro-organismos não-exoeletrogênicos (LOGAN, 2008).

### **5.2.2 Operação das CCMs após a troca da resistência externa**

Logan (2008) define que ao se igualar a resistência externa com a interna se obtém a região de máxima densidade de potência. Por isso, no 28º dia a resistência externa foi substituída para 680  $\Omega$ , valor definido pela proximidade com valor da resistência interna determinada pela curva de polarização.

A Figura 28 apresenta o acompanhamento da ddp entre o 28º e 40º dia. A partir do 28º dia foram realizadas alimentações diárias com acetato de sódio em diferentes concentrações (0,05 g/L, 0,10 g/L, 0,15 g/L e 0,20 g/L). Após a troca da  $R_{ext}$  a CCM 4 (Fe) obteve 0,53 V e densidade de corrente de 280,97 mA/m<sup>2</sup>, as CCM 2 (++) e CCM 3 (-) 0,31 V e 164,34 mA/m<sup>2</sup>, e CCM 1 (+) 0,28 V e 148,44 mA/m<sup>2</sup>.

Figura 28: Acompanhamento da ddp gerada com pulsos variados de alimentação entre os dias 27 e 40 da Etapa 1



CCM 1 (+) placa de zinco e solução de acetato de sódio; CCM 2 (++) placa de zinco e solução de acetato de sódio; CCM 3 (-) placa de zinco e solução de acetato de sódio; CCM 4 (Fe) placa de grafite e solução de ferrocianeto de potássio

A Tabela 8 apresenta o total de Coulomb transferido em cada CCM para cada concentração de acetato de sódio alimentada. O elevado desvio padrão para o total de Coulomb transferido para CCM 4 (Fe) ocorre devido a melhor adaptação dos micro-organismos ao sistema com o decorrer dos experimentos, conseguindo assim maior eficiência de conversão de energia química em elétrica, como pode ser observado na Figura 27 nos dias 31, 35 e 39 correspondentes aos pulsos de alimentação com 0,20 g/L de acetato de sódio. O período para estabilização do comportamento da CCM 4 (Fe) nessa etapa dos experimentos não foi suficiente, assim, não é possível afirmar que a ddp se manteria igual aos 4 últimos pulsos ou se teria alteração.

Tabela 8: Total de Coulomb transferidos a cada pulso de alimentação do 28º ao 40º dia da Etapa 1

Acetato (g/L)	DQO (mg/L)	$\int i \cdot dt$ (C)			
		CCM 1 (+)	CCM 2 (++)	CCM 3 (-)	CCM 4 (Fe)
0,05	96,66	2,62 ± 0,5	2,92 ± 0,4	3,93 ± 0,3	5,58 ± 1,7
0,10	139,16	4,05 ± 1,6	4,95 ± 1,2	5,75 ± 1,6	6,43 ± 3,4
0,15	163,69	5,43 ± 2,0	6,17 ± 2,0	7,84 ± 1,8	10,09 ± 5,8
0,20	166,19	7,62 ± 2,2	8,43 ± 3,9	10,41 ± 2,8	13,55 ± 7,1

CCM 1 (+) 7% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 2 (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 3 (-) sem resíduo de pilha; CCM 4 (Fe) placa de grafite e solução de ferrocianeto de potássio

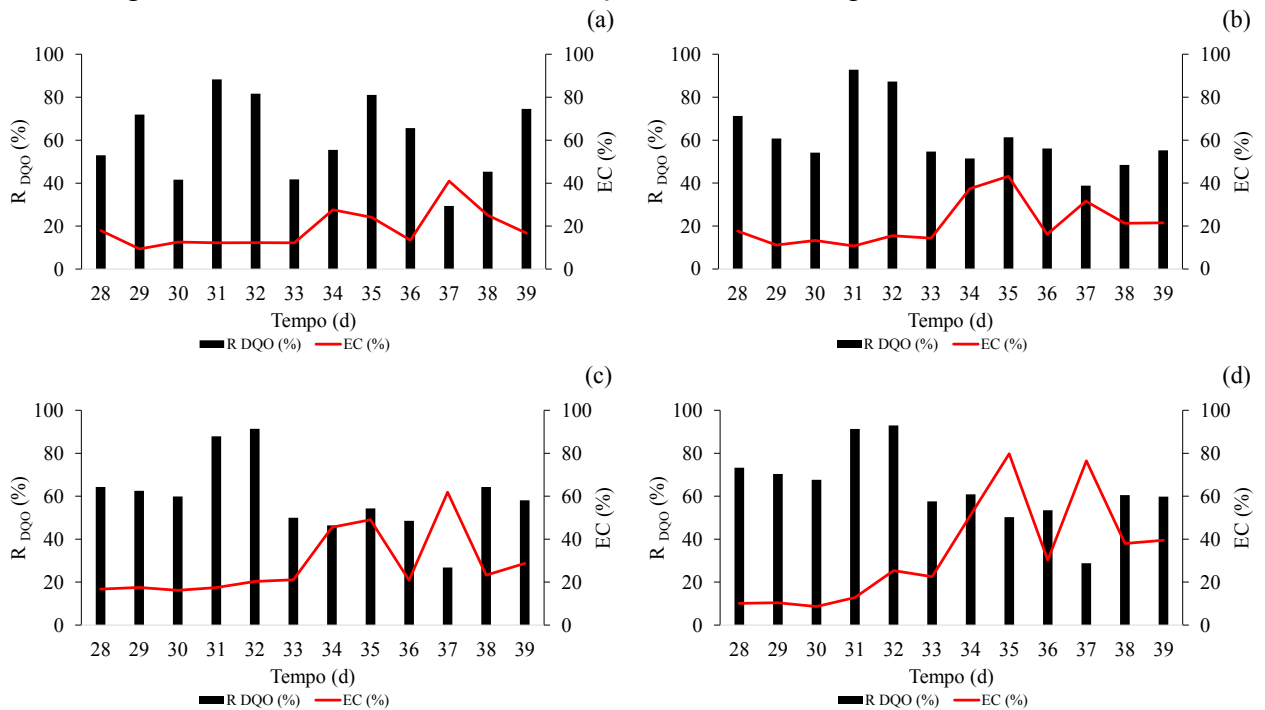
Com a alteração da resistência externa foi observado que a CCM 4 (Fe) melhora sua performance, entre os dias 34 e 40 obteve as maiores ddp máximas e maior valor de Coulomb transferido, indicando maior eficiência de transformação de energia química em elétrica. Com

a repetição da sequência de concentrações crescentes de substrato na alimentação foi verificado que o processo de lavagem não afetou negativamente o desempenho das CCMs.

O aumento da EC entres os dias 28 e 39, demonstrado na Figura 29, de no mínimo 2 vezes superior quando comparado com as EC obtidas entre os dias 10 e 20 pode ter relação com a diminuição com a mudança de concentração do substrato e a redução  $R_{ext}$  utilizada. Essas condições podem estimular o metabolismo de transferência externa de elétrons, aumentando a EC. Assim, mesmo com menor  $R_{DQO}$  as CCMs obtêm maior EC.

A CCM 4 (Fe) obteve a maior EC de 80% seguida pela CCM 3 (-) com 60%, e das CCM 1 (+) e CCM 2 (++) com aproximadamente 40%. Os resultados de EC encontrados neste estudo são próximos aos encontrados por Commault, Lear e Weld (2015) quando verificaram a alimentação de CCM com efluente sintético e obtiveram valores médios de EC de 20%, ao fim do experimento, e em um determinado período chegou a aproximadamente 70% de EC. Yang et al. (2014b) obtiveram EC máxima de 60% ao utilizar PVDF-HFP na construção do eletrodo catódico, a CCM 3 (-) possuía composição semelhante no eletrodo catódico com exceção da ausência de negro de fumo e teve EC de aproximadamente 60%.

Figura 29: Eficiência Coloumb e remoção de DQO da Etapa 1 dos dias 28 a 39



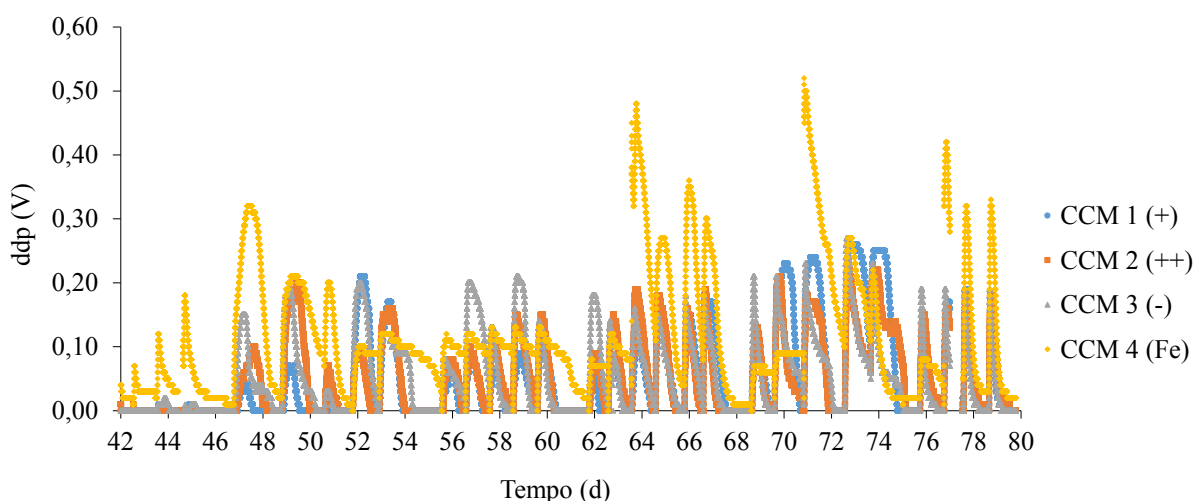
(a) CCM 1 (+); (b) CCM 2 (++); (c) CCM 3 (-); (d) CCM 4 (Fe)

( $R_{DQO}$ ) Remoção de matéria orgânica em termos de DQO; (EC) Eficiência Coulomb; CCM 1 (+) 7% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 2 (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 3 (-) sem resíduo de pilha; CCM 4 (Fe) placa de grafite e solução de ferrocianeto de potássio

### 5.2.3 Adição de pellets de grafite

Nos dias 40 e 41 os resultados não foram computados devido à queda de energia. No 42º dia foi adicionado às CCMs pellets de grafite com a finalidade de aumentar a superfície de contato para adesão das bactérias exoeletrogênicas no ânodo. O comportamento da ddp gerada após a modificação no ânodo pode ser observado na Figura 30. Segundo Di Lorenzo et al. (2009) o aumento da área do ânodo, mantendo a configuração da CCM, pode melhorar o contato entre a solução e os micro-organismos reduzindo o tempo necessário para alcançar a condição de estado estacionário. Com isso, poderia aumentar o total de Coulomb transferido devido a possibilidade de aumento de oxidação da matéria orgânica. A adição de pellets de grafite não foi favorável, sendo que nos 5 primeiros dias de avaliação das CCMs 1 (+), 2 (++) e 3 (-) apresentaram ddp praticamente nula e desempenho inferior em relação ao período anterior. No 5º dia após essa modificação as CCMs ar-cátodo alcançaram ddp máxima entre 0,05 V e 0,15 V, sendo que até o fim da Etapa 1 a ddp máxima foi de 0,28 V, e para a CCM 4 (Fe) a ddp máxima foi de 0,52 V. No geral os resultados de ddp após o aumento do ânodo foi igual ou inferior ao obtido antes dessa modificação. Logan (2008) aborda que em sistemas nos quais a resistência interna limita a geração de potência, o aumento da área do ânodo pode não aumentar de forma significativa a potência gerada, caso que ocorreu nesse estudo.

Figura 30: Acompanhamento da ddp gerada da Etapa 1 ao longo do período após aumento da área do ânodo



CCM 1 (+) 7% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 2 (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha; CCM 3 (-) sem resíduo de pilha; CCM 4 (Fe) placa de grafite e solução de ferrocianeto de potássio

A CCM de câmara dupla utilizando ferrocianeto de potássio como agente oxidante (CCM 4 (Fe)) apresentou aumento de seu desempenho quando utilizada  $R_{ext}$  de 680  $\Omega$ , com



0,52 V em comparação com 0,31 V das CCMs ar-cátodo. Quando operada com  $R_{ext}$  de 1 k $\Omega$  e concentração de acetato de sódio abaixo de 1,0 g/L, a CCM 4 (Fe) apresentou respostas inferiores em relação as demais quanto à ddp gerada. O ferrocianeto é um excelente agente oxidante em célula combustível microbiológica, no entanto possui a desvantagem de necessitar de reposição ou ser regenerado (LOGAN, 2008). Além disso, compostos a base de cianeto apresentam elevada toxicidade (BHATTACHARYA; FLORA, 2015). Sendo assim, mesmo com sua elevada eficiência o uso de ferrocianeto como acceptor de elétrons não é recomendado.

Em termos de ddp gerada e Coulombs transferidos a CCM 1 (+) apresentou um desempenho 26,8% inferior de densidade de potência máxima em relação as CCM 2 (++) e CCM 3 (-). De modo geral, pode-se afirmar que a remoção do sedimento da dragagem proveniente da inoculação das CCMs e o processo de lavagem foram favoráveis à operação das CCMs, uma vez que não foram observadas reduções quanto a ddp máxima gerada e Coulomb total transferido. Devido ao desempenho inferior obtido ao adicionar pellets de grafite, o aumento da área do eletrodo anódica por este método é desaconselhável.

Com os resultados obtidos na Etapa 1 foram definidos que, baseado na densidade de potência máxima e no total de Coulombs transferidos, as CCM 2 (++) e CCM 3 (-) apresentaram os valores mais promissores e, por isso, foram definidas como as melhores condições de operação.

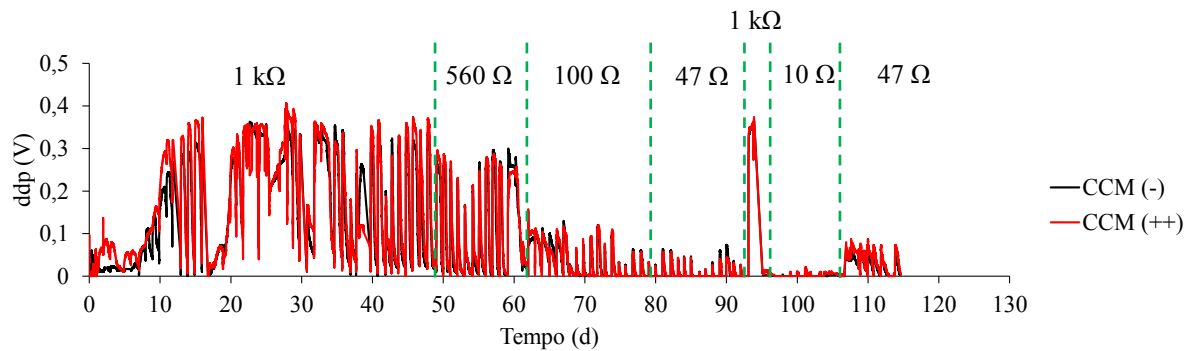
### 5.3 ETAPA 2

Nesta Etapa foram realizadas triplicatas das condições das CCM 2 (++) e CCM 3 (-) da Etapa 1 e foram denominadas de CCM (++) e CCM (-), respectivamente. As CCMs foram operadas em 1000  $\Omega$  durante o *startup* e após esse período foram feitos pulsos de alimentação em diferentes concentrações de acetato de sódio, conseqüentemente em valores diferentes de DQO, em diferentes valores de  $R_{ext}$  (1000, 560, 100, 47 e 10  $\Omega$ ).

#### 5.3.1 Operação das CCMs

Os dados de ddp e corrente obtidos na Etapa 2 são apresentadas nas Figuras 31 e 32, respectivamente. O *startup* ocorreu até o 10º dia no qual foi atingido resultados mais expressivos de ddp/corrente gerada, período igual da Etapa 1. Após, o sistema continuou operando nas mesmas condições até atingir a ddp máxima no 15º dia, de aproximadamente 0,37 V para CCM (++) e 0,33 V para CCM (-).

Figura 31: Acompanhamento da ddp durante a Etapa 2

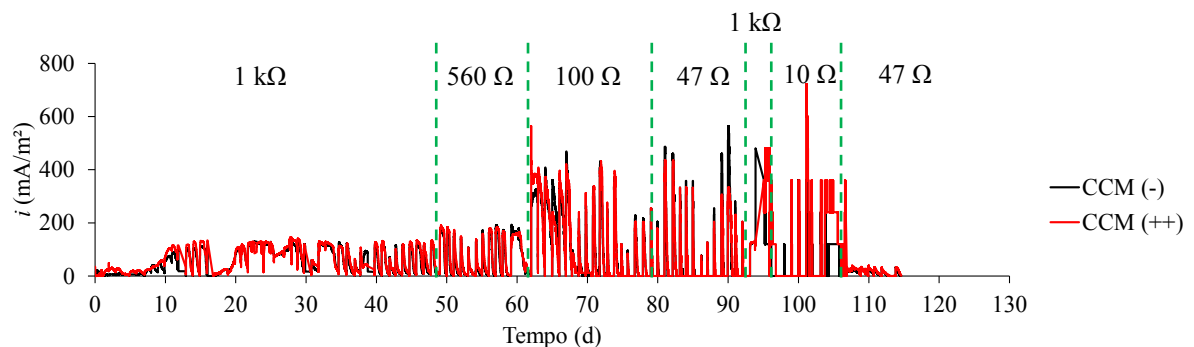


CCM (-) sem resíduo de pilha; CCM (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha

As CCMs apresentaram ddp gerada acima de 0,3 V a partir do 10º dia, com queda no 17º dia. Essa queda foi decorrente de um aumento na temperatura ( $\sim 50^\circ\text{C}$ ) da incubadora o que resultou na morte das bactérias. Para recuperação das CCMs estas foram reinoculadas com inóculo já aclimatado. Por isso, alcançou valores de 0,3 V em um período mais curto quando comparado ao *startup*.

A troca da  $R_{\text{ext}}$  resulta na diminuição da ddp gerada, no entanto, houve aumento da densidade de corrente. Sendo alcançado 136,98 e 149,60 mA/m<sup>2</sup> em 1 kΩ; 193,12 e 184,54 mA/m<sup>2</sup> em 560 Ω; 485,77 e 564,76 mA/m<sup>2</sup> em 100 Ω; 562,47 e 434,64 mA/m<sup>2</sup> em 47 Ω; e 360,49 e 720,98 mA/m<sup>2</sup> em 10 Ω, para CCM (-) e CCM (++) respectivamente.

Figura 32: Acompanhamento da densidade de corrente durante a Etapa 2



CCM (-) sem resíduo de pilha; CCM (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha

### 5.3.1.1 Remoção de matéria orgânica das CCMs na Etapa 2

A remoção de matéria orgânica foi determinada pelos métodos de DQO e COT em todas as condições da Etapa 2, e estão apresentadas na Tabela 9 e 10, respectivamente.

A alimentação das CCMs com baixas concentrações de DQO (117,47 e 156,50 mg/L) resultou em dados de remoção de matéria orgânica negativos e/ou com alto desvio padrão, indicando uma baixa sensibilidade de ambos métodos na determinação de remoção de matéria orgânica de efluentes com baixa concentração de compostos orgânicos. Quando a concentração de DQO de alimentação foi entre 204,94 e 572,69 mg/L o desvio padrão das triplicatas foi reduzido e foram encontrados valores de  $R_{DQO}$  superiores à 63,09 ( $\pm 1,3$ ) para 1000 e 560  $\Omega$  e superiores à 18,20 ( $\pm 8,4$ ) para 100  $\Omega$ . Em relação ao COT a  $R_{COT}$  máxima obtida foi de 92,64 ( $\pm 1,4$ ) para CCM (-) operada com  $R_{ext}$  de 560  $\Omega$  e alimentação com 572,69 mg/L de DQO.

Tabela 9: Remoção de matéria orgânica em termos de DQO das CCMs nas diferentes  $R_{ext}$ 

DQO (mg/L)	1000 $\Omega$		560 $\Omega$		100 $\Omega$		47 $\Omega$		10 $\Omega$	
	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)
117,47	-58,30 $\pm$ 53,5	-26,18 $\pm$ 10,6	28,61 $\pm$ 12,2	12,43 $\pm$ 27,1	-2,82 $\pm$ 22,5	24,70 $\pm$ 10,0	64,66 $\pm$ 61,2	15,05 $\pm$ 25,4	-20,46 $\pm$ 21,5	-37,97 $\pm$ 42,1
156,50	29,78 $\pm$ 21,5	27,24 $\pm$ 10,1	55,07 $\pm$ 21,7	21,67 $\pm$ 7,0	-5,79 $\pm$ 16,3	-15,62 $\pm$ 38,7	61,64 $\pm$ 33,7	44,72 $\pm$ 9,6	32,66 $\pm$ 1,0	20,54 $\pm$ 5,9
204,94	74,64 $\pm$ 7,4	64,56 $\pm$ 6,0	63,09 $\pm$ 1,3	64,33 $\pm$ 3,8	26,12 $\pm$ 2,8	18,20 $\pm$ 8,4	56,52 $\pm$ 2,9	74,47 $\pm$ 7,8	45,37 $\pm$ 3,2	48,17 $\pm$ 3,2
343,25	82,66 $\pm$ 4,9	78,55 $\pm$ 1,4	71,83 $\pm$ 3,8	72,57 $\pm$ 4,8	58,38 $\pm$ 14,4	64,44 $\pm$ 11,9	73,27 $\pm$ 2,5	69,69 $\pm$ 7,2	71,09 $\pm$ 7,0	57,97 $\pm$ 5,8
572,69	78,83 $\pm$ 3,3	79,39 $\pm$ 2,3	80,02 $\pm$ 3,6	76,17 $\pm$ 2,2	76,29 $\pm$ 7,1	74,47 $\pm$ 9,7	86,69 $\pm$ 12,3	79,43 $\pm$ 4,0	67,03 $\pm$ 7,9	70,27 $\pm$ 14,1

CCM (-) sem resíduo de pilha; CCM (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha

Tabela 10: Remoção de matéria orgânica em termos de COT das CCMs nas diferentes  $R_{ext}$ 

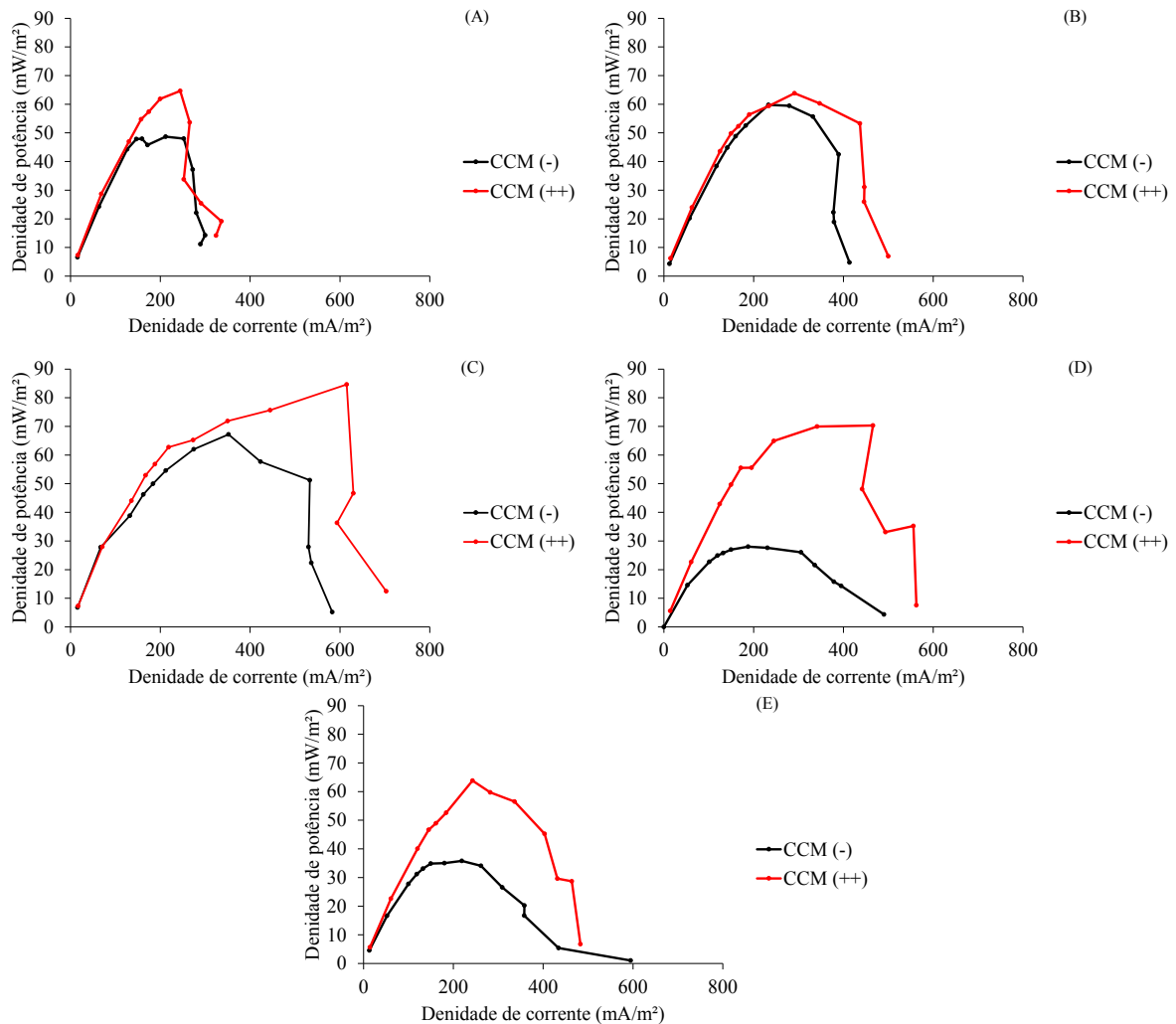
DQO (mg/L)	1000 $\Omega$		560 $\Omega$		100 $\Omega$		47 $\Omega$		10 $\Omega$	
	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)
117,47	1,10 $\pm$ 51,2	-15,39 $\pm$ 21,2	36,44 $\pm$ 15,4	53,72 $\pm$ 12,4	22,19 $\pm$ 6,4	27,63 $\pm$ 3,3	17,17 $\pm$ 4,9	26,16 $\pm$ 6,0	27,21 $\pm$ 1,9	18,26 $\pm$ 0,1
156,50	21,05 $\pm$ 24,1	17,04 $\pm$ 14,6	50,73 $\pm$ 13,9	57,54 $\pm$ 3,4	36,08 $\pm$ 15,3	35,99 $\pm$ 11,6	62,97 $\pm$ 10,4	52,00 $\pm$ 19,1	58,17 $\pm$ 5,3	59,15 $\pm$ 5,5
204,94	42,05 $\pm$ 3,9	39,02 $\pm$ 14,0	34,58 $\pm$ 0,8	46,51 $\pm$ 12,3	52,23 $\pm$ 4,2	44,76 $\pm$ 7,3	51,45 $\pm$ 16,5	50,58 $\pm$ 11,6	59,57 $\pm$ 7,4	44,88 $\pm$ 2,8
343,25	69,57 $\pm$ 12,6	67,15 $\pm$ 3,3	65,84 $\pm$ 4,1	66,21 $\pm$ 8,0	73,51 $\pm$ 4,2	73,96 $\pm$ 2,6	65,85 $\pm$ 14,0	50,30 $\pm$ 9,2	69,73 $\pm$ 4,1	67,06 $\pm$ 15,9
572,69	88,21 $\pm$ 2,8	86,20 $\pm$ 1,9	91,66 $\pm$ 4,0	92,64 $\pm$ 1,4	83,96 $\pm$ 3,8	85,19 $\pm$ 3,8	65,45 $\pm$ 10,2	66,06 $\pm$ 5,1	77,30 $\pm$ 1,8	81,84 $\pm$ 0,4

CCM (-) sem resíduo de pilha; CCM (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha

### 5.3.1.2 Curva de polarização das CCMs

A Figura 33 apresenta as curvas de densidade de potência obtidas ao fim de cada troca de resistência externa, os valores de densidade de potência máxima estão presentes na Tabela 11. A partir da análise estatística foi verificado que houve somente diferença significativa entre os grupos CCM (-) e CCM (+) quando operada em  $R_{ext}$  de 10  $\Omega$ . Os dispositivos obtiveram resultados superiores valores quando operadas em  $R_{ext}$  de 100  $\Omega$ , com 67,19 ( $\pm 3,2$ ) e 84,86 ( $\pm 12,3$ )  $mW/m^2$  para as CCM (-) e CCM (++) respectivamente. A determinação da resistência interna demonstra que durante a Etapa 2, as CCMs apresentaram menores perda ôhmicas uma vez que a  $R_{int}$  é calculada pela região linear da curva de polarização, região correspondente a zona de perda ôhmica (FAN; SHARBROUGH; LIU, 2008).

Figura 33: Curva de densidade de potência durante a operação das CCMs na Etapa 2  
 $R_{ext}$  (A) 1000  $\Omega$ ; (B) 560  $\Omega$ ; (C) 100  $\Omega$ ; (D) 47  $\Omega$ ; (E) 10  $\Omega$



CCM (-) sem resíduo de pilha; CCM (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha

Tabela 11: Resistência interna e densidade de potência máxima das CCMs durante operação na Etapa 2

$R_{ext}$ ( $\Omega$ )	$R_{int}$ ( $\Omega$ )		$p$ máx ( $mW/m^2$ )	
	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)
1000	390,36	391,50	48,69 <sup>a</sup> $\pm$ 7,2	64,63 <sup>a</sup> $\pm$ 4,8
560	397,08	271,34	59,76 <sup>b</sup> $\pm$ 19,3	63,81 <sup>b</sup> $\pm$ 11,0
100	194,05	102,28	67,19 <sup>c</sup> $\pm$ 3,2	84,86 <sup>c</sup> $\pm$ 12,3
47	100,58	88,90	28,01 <sup>d</sup> $\pm$ 6,9	70,29 <sup>d</sup> $\pm$ 17,0
10	180,01	100,44	35,82 <sup>e</sup> $\pm$ 12,1	63,81 <sup>f</sup> $\pm$ 8,0

CCM (-) sem resíduo de pilha; CCM (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha

Letras iguais indicam que não há diferença significativa entre as médias (Teste *Tukey*,  $p < 0,05$ ) na mesma linha

### 5.3.2 Relação entre concentração de DQO e total de Coulomb transferido

O total de Coulomb transferidos e a EC são apresentados nas Tabelas 12 e 13, respectivamente. A EC por ser calculada utilizando a  $\Delta_{DQO}$  teve seus resultados afetados quando as CCMs foram alimentadas com baixa concentração de DQO e, por isso, em alguns casos não foram determinadas. Quando operadas com  $R_{ext}$  de 1000, 560 e 100  $\Omega$ , a EC diminuía com o aumento da concentração de DQO alimentada, enquanto em  $R_{ext}$  de 47 e 10  $\Omega$  a EC aumentou com a concentração de DQO alimentada. Valores elevados de EC são desejáveis tanto quando o objetivo é gerar eletricidade quanto para aplicação da CCM como biosensor, isso porque uma elevada EC indica maior transferência de elétrons provenientes da oxidação da matéria orgânica.

O biosensor de determinação de concentração de matéria orgânica consiste em relacionar uma medida de matéria orgânica com alguma resposta elétrica. Neste estudo o total de Coulomb transferido foi relacionado com a concentração de matéria orgânica expressa em termos de DQO. Outros estudos utilizam como resposta elétrica a corrente ou ddp máxima (CHOULER et al., 2017; TANIKKUL; PISUTPAISAL, 2018), porém isso pode apresentar desvantagens quando valores iguais de ddp máxima são determinadas em concentrações distintas, mas com largura de pico diferentes. Dessa forma, a integral abaixo da curva de corrente gerada seria uma medida mais exata, fornecendo o total de Coulomb transferido.

Tabela 12: Total de Coulomb transferidos (C) das CCMs nas diferentes  $R_{ext}$ 

DQO (mg/L)	1000 $\Omega$		560 $\Omega$		100 $\Omega$		47 $\Omega$		10 $\Omega$	
	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)
117,47	5,33 $\pm$ 2,1	5,75 $\pm$ 2,9	6,20 $\pm$ 2,8	7,44 $\pm$ 2,6	1,56 $\pm$ 0,7	1,52 $\pm$ 0,7	0,51 $\pm$ 0,3	0,89 $\pm$ 0,2	0	0
156,50	7,97 $\pm$ 3,4	7,23 $\pm$ 2,4	6,62 $\pm$ 2,15	8,05 $\pm$ 1,2	1,54 $\pm$ 0,5	1,41 $\pm$ 0,3	2,22 $\pm$ 0,8	1,90 $\pm$ 0,5	1,44 $\pm$ 2,0	0
204,94	10,62 $\pm$ 3,8	12,05 $\pm$ 2,5	10,44 $\pm$ 2,9	12,43 $\pm$ 2,4	1,76 $\pm$ 0,4	1,87 $\pm$ 0,5	6,20 $\pm$ 1,4	5,32 $\pm$ 1,3	5,37 $\pm$ 0,5	5,26 $\pm$ 1,0
343,25	14,00 $\pm$ 4,2	17,22 $\pm$ 3,3	19,14 $\pm$ 4,9	22,03 $\pm$ 3,3	4,06 $\pm$ 1,3	4,18 $\pm$ 0,8	19,67 $\pm$ 4,0	16,92 $\pm$ 4,1	14,70 $\pm$ 1,3	18,94 $\pm$ 3,2
572,69	18,54 $\pm$ 6,4	23,43 $\pm$ 3,5	23,22 $\pm$ 6,6	26,32 $\pm$ 4,4	7,07 $\pm$ 2,7	7,75 $\pm$ 0,6	45,85 $\pm$ 9,2	37,38 $\pm$ 10,6	21,21 $\pm$ 26,0	46,68 $\pm$ 27,8

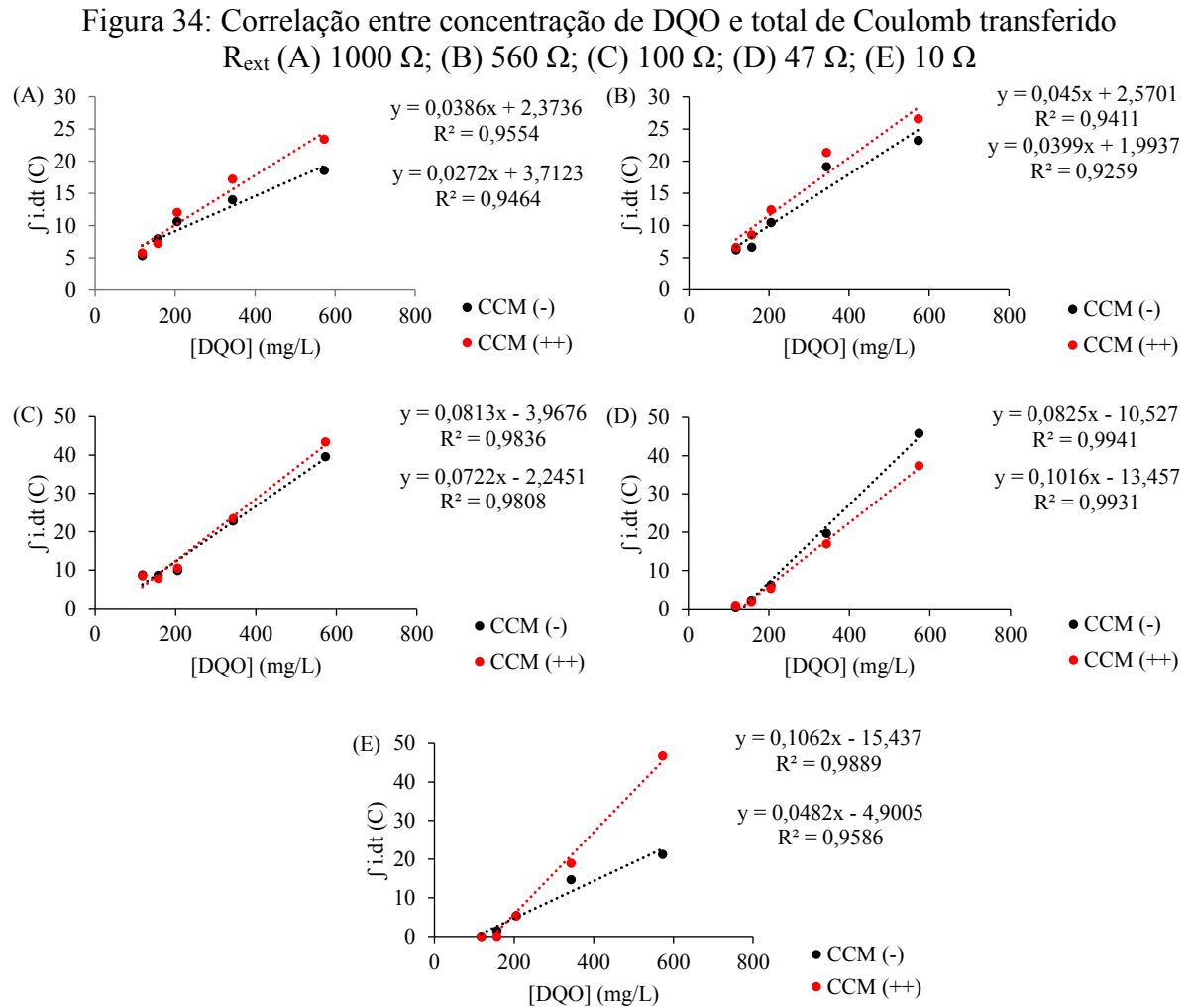
CCM (-) sem resíduo de pilha; CCM (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha

Tabela 13: Eficiência Coulomb (%) das CCMs nas diferentes  $R_{ext}$ 

DQO (mg/L)	1000 $\Omega$		560 $\Omega$		100 $\Omega$		47 $\Omega$		10 $\Omega$	
	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)
117,47	-	-	-	-	-	-	-	23,89	-	-
156,50	65,32	64,78	29,36	37,33	-	-	11,74	9,54	6,18	-
204,94	26,54	34,80	30,86	36,06	70,32	107,41	17,11	11,14	16,98	15,39
343,25	18,86	24,31	29,67	32,77	43,41	40,41	33,75	30,52	30,28	36,81
572,69	15,69	19,69	19,36	23,31	34,61	38,88	59,50	48,88	33,93	72,40

(-) não foi possível determinar; CCM (-) sem resíduo de pilha; CCM (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha

A Figura 34 apresenta as correlações entre DQO alimentada e total de Coulomb transferidos nas diferentes condições de  $R_{ext}$ . A operação das CCMs em todos os valores de  $R_{ext}$  resultaram em uma correlação com coeficiente de correlação ( $R^2$ ) superior a 0,92. Neste estudo destaca-se a operação em  $47 \Omega$  na qual foi obtida  $R^2$  de 0,99 para as duas CCMs. A faixa de detecção foi de 117,47 mg/L a 572,69 mg/L.



CCM (-) sem resíduo de pilha; CCM (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha

Outra resposta importante considerando a aplicação de CCM como biosensor é o tempo de resposta do sistema bioeletroquímico. A Tabela 14 apresenta os valores de tempo de resposta em cada  $R_{ext}$  avaliada. A redução da resistência externa ocasionou a diminuição no tempo de resposta dos biosensores de 233% em relação ao tempo de resposta de 1000  $\Omega$  para 10  $\Omega$ .



Tabela 14: Tempo de resposta máximo do biosensor em cada resistência externa

$R_{ext}$ ( $\Omega$ )	Tempo de resposta (h)		$R^2$	
	CCM (-)	CCM (++)	CCM (-)	CCM (++)
1000	24	24	0,9464	0,9554
560	24	24	0,9259	0,9411
100	15	15,5	0,9808	0,9836
47	14,4	16,8	0,9931	0,9941
10	7,2	7,7	0,9586	0,9889

CCM (-) sem resíduo de pilha; CCM (++) 14% (m/m) de resíduo de pilha

Corbella et al. (2018) utilizaram CCM ar-cátodo como biosensor de DQO e estudou o tempo de resposta, assim foi verificado que em tempo inferior a 10 h houve baixa correlação entre DQO e ddp máxima, em 10 h o  $R^2$  foi superior a 0,8 e em 20 h acima de 0,95, com faixa de detecção de 25 a 192 mg/L de DQO. Tanikkul e Pisutpaisal (2018) obtiveram  $R^2$  de 0,96 em concentração entre 250 e 1000 mg/L de DQO. O método padrão, DBO<sub>5</sub>, possui tempo de resposta de 5 dias e apresenta problema de reprodutibilidade (METCALF; EDDY, 2014).

A resolução N° 430 de 13 de maio de 2011 do CONAMA, prevê que o descarte de efluentes oriundos de sistemas de tratamento de esgotos sanitários em corpos de água receptores deve conter DBO máxima de 120 mg/L. Em relação a valores DQO em efluentes para descarte em corpos da água, no Rio Grande do Sul, esse valor varia de 150 a 330 mg/L (CONSEMA n° 355/2017). A faixa de detecção do biosensor desenvolvido foi de 117,47 a 572,69 mg/L de DQO, estando dentro dos valores estabelecidos para descarte de efluentes, de modo que poderia ser utilizado para esta finalidade.

O aproveitamento do resíduo de pilha na confecção de eletrodo catódico para CCM, proposto neste trabalho foi positivo e adiciona uma outra possibilidade de destino desse resíduo, que só na União Europeia são consumidos 160 mil toneladas por ano de resíduos de pilhas e baterias que pelo curto tempo de vida gera muito resíduo (EUROPEAN COMMISSION, 2018). Por ser um resíduo esse possui baixo valor agregado e a não necessidade de tratamento prévio para uso em CCM como realizado nesse trabalho torna o biosensor mais barato quando comparado ao uso de MnO<sub>2</sub> puro ou platina.

## 6 CONCLUSÃO

A presença de resíduo de pilha no eletrodo catódico apresentou melhora nos resultados quando comparado ao desempenho de CCM sem esse resíduo na composição de seu cátodo, porém sem diferença significativa. Isso possibilita a destinação de resíduo de pilha na confecção de eletrodo catódico para CCMs.

O estudo do uso das CCMs ar-cátodo como biosensores de matéria orgânica foram promissores, sendo possível correlacionar a concentração de DQO na alimentação e o total de Coulomb transferido. A melhor condição de operação do biosensor foi obtida na CCM que continha 14% (m/v) de resíduo de pilha no cátodo e resistência externa de 10  $\Omega$  com tempo de resposta de 7,7 e linearidade entre 117,47 e 572,69 mg/L de DQO h com coeficiente de correlação de 0,99.

## **7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

- Estudar outros materiais para o eletrodo anódico;
- Realizar sequenciamento genômico das bactérias presentes no ânodo;
- Ampliar a faixa de detecção do biosensor;
- Automizar o biosensor.

## REFERÊNCIAS

- ABINEE. **Programa recolhe cerca de 120 toneladas de pilhas e baterias em um ano**. Disponível em: <<http://www.abinee.org.br/noticias/com27.htm>>. Acesso em: 25 fev. 2019.
- ABREVAYA, X. C.; SACCO, N. J.; BONETTO, M. C.; HILDING-OHLSSON, A.; CORTÓN, E. Analytical applications of microbial fuel cells. Part I: Biochemical oxygen demand. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 63, p. 580–590, 2015.
- APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22. ed. Washington: APHA, 2012.
- ARLYAPOV, V.; KAMANIN, S.; PONAMOREVA, O.; RESHETILOV, A. Enzyme and Microbial Technology Biosensor analyzer for BOD index express control on the basis of the yeast microorganisms *Candida maltosa*, *Candida blankii*, and *Debaryomyces hansenii*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 50, n. 4–5, p. 215–220, 2012.
- ARTIOLA, J. F. Industrial Waste and Municipal Solid Waste Treatment and Disposal. In: **Environmental and Pollution Science**. 3. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2019. p. 377–391.
- ARUNASRI, K.; MOHAN, S. V. Electrode surface. In: MOHAN, V.; VARJANI, S.; PANDEY, A. (Eds.). **Microbial Electrochemical Technology**. [s.l.] Elsevier B.V., 2019. p. 295–313.
- BHATTACHARYA, R.; FLORA, S. J. S. Cyanide Toxicity and its Treatment. In: GUPTA, R. C. (Ed.). **Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents: Second Edition**. 2. ed. [s.l.] Academic Press, 2015.
- BRASIL. Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução n.º 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. **Diário Oficial da União**, 2011.
- BRASIL. Resolução CONSEMA nº 355/2017, 19 de julho de 2017. Dispõe sobre critérios e padrões de emissão de efluentes líquidos para as fontes geradoras que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul, do Conselho Estadual do Meio Ambiente - CONSEMA. **Diário Oficial da União**, 2017.
- CHOULER, J.; BENTLEY, I.; VAZ, F.; O’FEE, A.; CAMERON, P. J.; DI LORENZO, M. Exploring the use of cost-effective membrane materials for Microbial Fuel Cell based sensors. **Electrochimica Acta**, v. 231, p. 319–326, 2017.
- COMMAULT, A. S.; LEAR, G.; BOUVIER, S.; FEILER, L.; KARACS, J.; WELD, R. J. *Geobacter*-dominated biofilms used as amperometric BOD sensors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 109, p. 88–95, 2016.
- COMMAULT, A. S.; LEAR, G.; WELD, R. J. Maintenance of *Geobacter*-dominated biofilms in microbial fuel cells treating synthetic wastewater. **Bioelectrochemistry**, v. 106, p. 150–158, 2015.
- CORBELLA, C.; HARTL, M.; FERNADEZ-GATELL, M.; PUIGATUT, J. MFC-based biosensor for domestic wastewater COD assessment in constructed wetlands. **Science of the Total Environment**, v. 660, p. 218–226, 2018.
- DAI, K.; WEN, J.; ZHANG, F.; MA, X.; CUI, X.; ZHANG, Q.; ZHAO, T.; ZENG, R. J. Electricity production and microbial characterization of thermophilic microbial fuel cells. **Bioresour. Technology**, v. 243, p. 512–519, 2017.

DAI, Y.; CHAN, Y.; JIANG, B.; WANG, L.; ZOU, J.; PAN, K.; FU, H. Bifunctional Ag/Fe/N/C catalysts for enhancing oxygen reduction via cathodic biofilm inhibition in microbial fuel cells. **Applied Materials and Interfaces**, v. 8, p. 6992–7002, 2016.

DI LORENZO, M.; CURTIS, T. P.; HEAD, I. M.; SCOTT, K. A single-chamber microbial fuel cell as a biosensor for wastewaters. **Water Research**, v. 43, n. 13, p. 3145–3154, 2009.

DI LORENZO, M.; THOMSON, A. R.; SCHNEIDER, K.; CAMERON, P. J.; IEROPOULOS, I. A small-scale air-cathode microbial fuel cell for on-line monitoring of water quality. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 62, p. 182–188, 2014.

DOYLE, L. E.; MARSILI, E. Methods for enrichment of novel electrochemically-active microorganisms. **Bioresource Technology**, v. 195, p. 273–282, 2015.

EJEIAN, F.; ETEDALI, P.; MANSOURI-TEHRANI, H. A.; SOOZANIPOUR, A.; LOW, Z. X.; ASADNIA, M.; TAHERI-KAFRANI, A.; RAZMJOU, A. Biosensors for wastewater monitoring: A review. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 118, p. 66–79, 2018.

ELGRISHI, N.; ROUNTREE, K. J.; MCCARTHY, B. D.; ROUNTREE, E. S.; EISENHART, T. T.; DEMPSEY, J. L. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 95, n. 2, p. 197–206, 2018.

EUROPEAN COMMISSION. **Batteries & Accumulators**. Disponível em: <<http://ec.europa.eu/environment/waste/batteries/index.htm>>. Acesso em: 21 jan. 2019.

EWING, T.; HA, P. T.; BEYENAL, H. Evaluation of long-term performance of sediment microbial fuel cells and the role of natural resources. **Applied Energy**, p. 9–12, 2016.

FAN, L. P.; LI, J. J. Overviews on internal resistance and its detection of microbial fuel cells. **International Journal of Circuits, Systems and Signal Processing**, v. 10, p. 316–320, 2016.

FAN, Y.; SHARBROUGH, E.; LIU, H. Quantification of the internal resistance distribution of microbial fuel cells. **Environmental Science and Technology**, v. 42, n. 21, p. 8101–8107, 2008.

FARAHANI, F. S.; MECHERI, B.; MADJI, M. R.; DE OLIVEIRA, M. A. C.; D'EPIFANIO, A.; ZURLO, F.; PLACIDI, E.; ARCIPRETE, F.; LICOCIA, S. MnOx-based electrocatalysts for enhanced oxygen reduction in microbial fuel cell air cathodes. **Journal of Power Sources**, v. 390, n. April, p. 45–53, 2018.

FENG, Y.; LI, D.; LIU, J.; HE, W. Carbon-based materials in microbial fuel cells. In: MOHAN, S. V.; VARJANI, S. J.; PANDEY, A. (Eds.). **Microbial Electrochemical Technology**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 49–74.

FOGAÇA, J. R. V. **Pilhas e baterias primárias e secundárias**. Disponível em: <<https://mundoeducacao.bol.uol.com.br/quimica/pilhas-baterias-primarias-secundarias.htm>>. Acesso em: 24 fev. 2019.

GORBY, Y. A. et al. Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. v. 103, n. 30, 2006.

HE, Z.; MINTEER, S. D. Electricity Generation from Artificial Wastewater Using an Upflow Microbial Fuel Cell. **Environmental Science Technology**, v. 39, n. 14, p. 5262–5267, 2005.

IGEM. **MFC/MDC device**. Disponível em: <<http://2014.igem.org/Team:SCAU-China/MFC,MDC-device>>. Acesso em: 11 abr. 2019.

ISO. **International Organization for Standardization**. Disponível em: <<https://www.iso.org/home.html>>. Acesso em: 17 ago. 2017.

JIANG, Y.; LIANG, P.; LIU, P.; YAN, X.; BIAN, Y.; HUANG, X. A cathode-shared microbial fuel cell sensor array for water alert system. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 7, p. 4342–4348, 2017.

JOUANNEAU, S. et al. Methods for assessing biochemical oxygen demand (BOD): A review. **Water Research**, v. 49, n. 1, p. 62–82, 2014.

JUNG, S. P.; PANDIT, S. Important factors influencing microbial fuel cell performance. In: MOHAN, V.; VARJANI, S.; PANDEY, A. (Eds.). **Microbial Electrochemical Technology**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 377–406.

KIM, M.; PARK, K. Immobilization of enzymes for *Klebsiella* BOD sensor. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 98, p. 1–4, 2004.

KISSINGER, P. T.; HEINEMAN, W. R. Cyclic Voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 60, n. 9, p. 702–706, 1983.

KOROGLU, E. O.; YORUKLU, H. C.; DEMIR, A.; OZKAYA, B. Implications. In: MOHAN, V.; VARJANI, S.; PANDEY, A. (Eds.). **Microbial Electrochemical Technology**. [s.l.] Elsevier B.V., 2019. p. 565–583.

LEE, H.; DHAR, B. R.; HUSSAIN, A. Electron transfer kinetics in biofilm anodes: conductive extracellular electron transfer. In: MOHAN, V.; VARJANI, S.; PANDEY, A. (Eds.). **Microbial Electrochemical Technology**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 339–351.

LIU, J.; MATTIASSON, B. Microbial BOD sensors for wastewater analysis. **Water Research**, v. 36, n. 15, p. 3786–3802, 2002.

LIU, X. et al. Nano-structured manganese oxide as a cathodic catalyst for enhanced oxygen reduction in a microbial fuel cell fed with a synthetic wastewater. **Water Research**, v. 4, p. 3–10, 2010.

LOGAN, B. E. **Microbial Fuel Cells**. Hoboken: John Wiley & Sons Inc., 2008.

LOGAN, B. E.; HAMELERS, B.; ROZENDAL, R.; SCHRÖDER, U.; KELLER, J.; FREGUIA, S.; AELTERMAN, P.; VERSTRAETE, W.; RABAEY, K. Microbial fuel cells: Methodology and technology. **Environmental Science and Technology**, v. 40, n. 17, p. 5181–5192, 2006.

LOVLEY, D. R.; PHILLIPS, E. J. P. Novel mode of microbial energy metabolism organic carbon oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron or manganese. **Applied and environmental microbiology**, v. 54, n. 6, p. 1472–1480, 1988.

MAJIDI, M. R.; SHAHBAZI FARAHANI, F.; HOSSEINI, M.; AHADZADEH, I. Low-cost nanowired  $\alpha$ -MnO<sub>2</sub>/C as an ORR catalyst in air-cathode microbial fuel cell. **Bioelectrochemistry**, v. 125, p. 38–45, 2019.

MATEO, S.; MASCIA, M.; FERNANDEZ-MORALES, F. J.; RODRIGO, M. A.; DI LORENZO, M. Assessing the impact of design factors on the performance of two miniature microbial fuel cells. **Electrochimica Acta**, 2018.

MAZURENKO, I.; POULPIQUET, A. DE; LOJOU, E. Recent developments in high surface area bioelectrodes for enzymatic fuel cells. **Current Opinion in Electrochemistry**, n. 2017, p. 1–11, 2017.

METCALF, E.; EDDY, H. **Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery**. 5. ed. New

York: McGraw-Hill Education, 2014.

MIROLIAEI, M. R.; SAMIMI, A.; MOHEBBI-KALHORI, D.; KHORRAM, M. Kinetics investigation of diversity cultures of *E. coli* and *Shewanella sp.*, and their combined effect with mediator on MFC performance. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 25, p. 42–50, 2015.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Fosforilação oxidativa e fotofosforilação. In: **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. p. 515–562.

NIKHIL, G. N.; KRISHNA CHAITANYA, D. N. S.; SRIKANTH, S.; SWAMY, Y. V.; VENKATA MOHAN, S. Applied resistance for power generation and energy distribution in microbial fuel cells with rationale for maximum power point. **Chemical Engineering Journal**, v. 335, n. October 2017, p. 267–274, 2018.

OON, Y. S.; ONG, S. A.; HO, L. N.; WONG, Y. S.; OON, Y. L.; LEHL, H. K.; THUNG, W. E. Microbial fuel cell operation using nitrate as terminal electron acceptor for simultaneous organic and nutrient removal. **International Journal of Environmental Science and Technology**, p. 2435–2442, 2017.

PASSOS, V. F. DOS; MARCILIO, R.; AQUINO-NETO, S.; SANTANA, F. B.; DIAS, A. C. F.; ANDREOTE, F. D.; ANDRADE, A. R. DE; REGINATTO, V. Hydrogen and electrical energy co-generation by a cooperative fermentation system comprising *Clostridium* and Microbial Fuel Cell inoculated with port drainage sediment. **Bioresource Technology**, 2019.

PETROVIC, S. Cyclic voltammetry of hexachloroiridate (IV): An alternative to the electrochemical study of the ferricyanide ion. **The Chemical Educator**, v. 5, n. 5, p. 231–235, 2000.

PHONSA, S.; SREEARUNOTHAI, P.; CHAROJROCHKUL, S.; SOMBATMANKHONG, K. Electrodeposition of MnO<sub>2</sub> on polypyrrole-coated stainless steel to enhance electrochemical activities in microbial fuel cells. **Solid State Ionics**, v. 316, n. November 2017, p. 125–134, 2018.

PINTO, R. P.; SRINIVASAN, B.; UIOT, S. R.; TARTAKOVSKY, B. The effect of real-time external resistance optimization on microbial fuel cell performance. **Water Research**, v. 45, n. 4, p. 1571–1578, 2011.

PSU. **MFCs and METs**. Disponível em: <<https://sites.psu.edu/brucelogan/mfcs-and-mets/>>. Acesso em: 11 abr. 2019.

RASCIO, D. C.; DE SOUZA, R. F. B.; NETO, É. T.; SUFFREDINI, H. B.; SANTOS, M. C. Use of manganese oxides recovered from spent batteries in electrocatalysis of oxygen. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 730–733, 2010.

RAUD, M.; TENNO, T.; JÖGI, E.; KIKAS, T. Comparative study of semi-specific *Aeromonas hydrophila* and universal *Pseudomonas fluorescens* biosensors for BOD measurements in meat industry wastewaters. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 50, n. 4–5, p. 221–226, 2012.

ROY, S.; PANDIT, S. Microbial fuel cells configurations: Principles and application. In: MOHAN, V.; VARJANI, S.; PANDEY, A. (Eds.). **Microbial Electrochemical Technology**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 19–48.

SÁ, J. S. DE; MEZZOMO, H.; FRAGA, M. F.; OGRODOWSKI, C. S.; SANTANA, F. B. Anode air exposure during microbial fuel cell operation inoculated with marine sediment. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, p. 1821–1827, 2017.

SAKAGUCHI, T.; KITAGAWA, K.; ANDO, T.; MURAKAMI, Y. A rapid BOD sensing system using luminescent recombinants of *Escherichia coli*. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 19, p. 115–121, 2003.

SANTORO, C.; ARBIZZANI, C.; ERABLE, B.; IEROPOULOS, I. Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review. **Journal of Power Sources**, v. 356, p. 225–244, 2017.

SLATE, A. J.; WHITEHEAD, K. A.; BROWNSON, D. A. C.; BANKS, C. E. Microbial fuel cells : An overview of current technology. In: MOHAN, V.; VARJANI, S.; PANDEY, A. (Eds.). . **Microbial Electrochemical Technology**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2019. v. 101p. 60–81.

SPIEGEL, C. **Polarization curves**. Disponível em: <<https://www.fuelcellstore.com/blog-section/polarization-curves>>. Acesso em: 15 jul. 2018.

SUZUKI, K.; KATO, Y.; YUI, A.; YAMAMOTO, S.; ANDO, S.; RUBABA, O.; TASHIRO, Y.; FUTAMATA, H. Bacterial communities adapted to higher external resistance can reduce the onset potential of anode in microbial fuel cells. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 125, n. 5, p. 565–571, 2018.

TAMBOLI, E.; ESWARI, J. S. Microbial fuel cell configurations: An overview. In: MOHAN, V.; VARJANI, S.; PANDEY, A. (Eds.). . **Microbial Electrochemical Technology**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 407–435.

TANG, X.; NG, H. Y. Cobalt and nitrogen-doped carbon catalysts for enhanced oxygen reduction and power production in microbial fuel cells. **Electrochimica Acta**, v. 247, p. 193–199, 2017.

TANG, Y.; ZHENG, S.; XU, Y.; XIAO, X.; XUE, H.; PANG, H. Advanced batteries based on manganese dioxide and its composites. **Energy Storage Materials**, v. 12, n. February, p. 284–309, 2018.

TANIKKUL, P.; PISUTPAISAL, N. Membrane-less MFC based biosensor for monitoring wastewater quality. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 43, n. 1, p. 483–489, 2018.

TATINCLAUX, M.; GREGOIRE, K.; LEININGER, A.; BIFFINGER, J. C.; TENDER, L.; RAMIREZ, M.; TORRENTS, A.; KJELLERUP, B. V. Electricity generation from wastewater using a floating air cathode microbial fuel cell. **Water-Energy Nexus**, p. 4–10, 2018.

TELEKEN, J. T.; FRAGA, M. F.; OGRODOWSKI, C. S.; SANTANA, F. B.; CARCIOFI, B. A. M. Mathematical modeling of the electric current generation in a microbial fuel cell inoculated with marine sediment. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 34, n. 1, p. 211–225, 2017.

TOUACH, N.; ORTIZ-MARTÍNEZ, V. M.; SALAR-GARCÍA, M. J.; BENZAOUAK, A.; HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, F. Influence of the preparation method of MnO<sub>2</sub>-based cathodes on the performance of single-chamber MFCs using wastewater. **Separation and Purification Technology**, v. 171, p. 174–181, 2016.

UCSD. **Microbial Fuel Cells for implantable glucose sensors**. Disponível em: <[http://bweb.ucsd.edu/courses/senior-design/projects/2009/project\\_9/testingresults.html](http://bweb.ucsd.edu/courses/senior-design/projects/2009/project_9/testingresults.html)>. Acesso em: 11 abr. 2019.

VELLINGIRI, K.; TSANG, D. C. W.; KIM, K.; DEEP, A.; DUTTA, T.; BOUKHVALOV, D. W. The utilization of zinc recovered from alkaline battery waste as metal precursor in the synthesis of metal-organic framework. **Journal of Cleaner Production**, 2018.

WANG, X.; LI, N. Air-cathodes. In: MOHAN, V.; VARJANI, S.; PANDEY, A. (Eds.). . **Microbial Electrochemical Technology**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 99–115.

WANG, Z.; DUMMI, G.; WU, Y.; ZHAO, F. Progress of air-breathing cathode in microbial fuel cells. **Journal of Power Sources**, v. 356, p. 245–255, 2017.



YANG, W.; HE, W.; ZHANG, F.; HICKNER, M. A.; LOGAN, B. E. Single-step fabrication using a phase inversion method of poly(vinylidene fluoride) (PVDF) activated carbon air cathodes for microbial fuel cells. **Environmental Science and Technology Letters**, 2014a.

YANG, W.; KIM, K.; LOGAN, B. E. Development of carbon free diffusion layer for activated carbon air cathode of microbial fuel cells. **Bioresource Technology**, v. 197, p. 318–322, 2015.

YANG, W.; ZHANG, F.; HE, W.; LIU, J.; HICKNER, M. A.; LOGAN, B. E. Poly(vinylidene fluoride-co-hexa fluoropropylene) phase inversion coating as a diffusion layer to enhance the cathode performance in microbial fuel cells. **Journal of Power Sources**, v. 269, p. 379–384, 2014b.