



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

**CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIOLÓGICA PARA GERAÇÃO DE ENERGIA E
PRODUÇÃO DE BIOCOMPOSTOS**

LIZIANE NUNES COSTA

RIO GRANDE – RS

2019

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

**CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIOLÓGICA PARA GERAÇÃO DE ENERGIA E
PRODUÇÃO DE BIOCOMPOSTOS**

LIZIANE NUNES COSTA

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Christiane Saraiva Ogrodowski

RIO GRANDE – RS

2019

Ficha catalográfica

C837c Costa, Liziane Nunes.

Célula combustível microbiológica para geração de energia e produção de biocompostos / Liziane Nunes Costa. – 2019.
57 f.

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

Orientadora: Dra. Christiane Saraiva Ogradowski.

1. Densidade de Corrente 2. Densidade de Potência
3. Diferença de Potencial 4. Álcool Etílico 5. pH 6. Temperatura
I. Ogradowski, Christiane Saraiva II. Título.

CDU 620.93:579

APROVAÇÃO

Dissertação defendida por Liziane Nunes Costa e aprovada em 08 de setembro de 2019, pela Comissão Examinadora constituída pelos professores:

Christiane Saraiva Ogradowski

Profa. Dra. Christiane Saraiva Ogradowski – FURG

Susana Juliano Kalil

Profa. Dra. Susana Juliano Kalil – FURG

Taiana Denardi de Souza

Profa. Dra. Taiana Denardi de Souza – FURG

Larine Kupski

Profa. Dra. Larine Kupski – UEM

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela oportunidade que me foi presenteada, pelo privilégio de compartilhar experiências e vivenciá-las, por sempre me dar forças e ser tão generoso comigo.

Aos meus pais, Olimar e Flora, por sempre acreditarem em mim, apoiarem as minhas escolhas e estarem sempre do meu lado nos momentos difíceis, fazendo com que eu não desista e acredite nos meus sonhos.

Aos meus irmãos Simone, Eduardo e Viviane pelo carinho, companheirismo e auxílio quando necessário.

Ao meu namorado, Guilherme, pela compreensão, dedicação, carinho e por ser meu ombro amigo nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos, pelos momentos de descontração e desabafos quando necessário.

A minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Christiane Saraiva Ogrodowski, pela dedicação, confiança e paciência. Obrigada por estar sempre disposta a escutar e ser tão atenciosa com seus orientados.

Ao Laboratório de Controle Ambiental, por ter me recebido de braços abertos mais uma vez. Ao Prof. Fabricio Butierres Santana pelo acolhimento e ensinamentos.

As técnicas Lorena e Helen, pela colaboração, dedicação e amizade. Obrigada por todos os aprendizados.

Ao meu IC, Ricardo, pelo seu empenho e dedicação para a realização deste trabalho. Foi uma honra poder compartilhar contigo os ensinamentos desta pesquisa. Saiba que podes sempre contar comigo.

Aos meus colegas e amigos, Gabriela e Pablo, obrigada por caminharem junto comigo nesta etapa. Agradeço pelos momentos compartilhados, a amizade e palavras de conforto. Vocês tornaram essa jornada muito melhor.

A Taiana, pela sua paciência, solidariedade e prestatividade nos momentos que mais precisei. Pelas palavras de carinho e apoio quando a dificuldade chegou.

À Prof^ª Dr^ª Susana Juliano Kalil, pelos ensinamentos e pela disponibilidade da estrutura física do laboratório para realização de parte deste trabalho.

À Universidade Federal de Rio Grande e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química pela oportunidade de formação.

Ao CEME-SUL/FURG (Centro de Microscopia Eletrônica da Zona Sul) pelas análises de MEV (microscopia eletrônica de varredura) e EDS (espectroscopia de energia dispersiva).

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e FAPERGS (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do RS) pelo apoio financeiro.

À todos, que não foram citados aqui, mas que de forma direta ou indireta fizeram parte desta etapa da minha vida, o meu muito obrigada.

RESUMO

Em busca do desenvolvimento de uma inovação para a produção de energia elétrica que, além de minimizar e substituir os combustíveis fósseis, reduza o impacto ambiental, surgiram as células de combustível microbiológicas (CCMs), uma tecnologia promissora que une a geração de eletricidade com o tratamento de efluentes. As CCMs podem converter diretamente energia química em eletricidade pelo uso de bactérias exoeletrogênicas, micro-organismos estes que degradam substâncias oxidáveis produzindo metabólitos e elétrons. As células podem usar diferentes substratos orgânicos complexos, incluindo águas residuais domésticas, industriais e agrícolas; assim, considerando que o sedimento marinho possui uma alta carga de nutrientes, micro-organismos e matéria orgânica, e uma grande quantidade deste é retirada e descartada a cada processo de dragagem de grandes portos, utilizar o sedimento do Porto do Rio Grande como matéria-prima para inocular uma CCM torna-se vantajoso. O sedimento possui alta carga de matéria orgânica extracelular e as substâncias poliméricas extracelulares são seus principais constituintes, compreendendo uma mistura de polímeros de alto peso molecular. Este trabalho tem o objetivo de produzir energia elétrica e estudar o processo de obtenção, separação e caracterização de biocompostos obtidos a partir de célula combustível microbiológica de câmara dupla inoculada com o sedimento da dragagem do Porto de Rio Grande. Na primeira etapa deste trabalho, realizou-se a construção de uma CCM de 2 L de volume utilizando o ferrocianeto de potássio 50 mM como aceptor de elétrons. Operando esta célula com uma resistência externa de 1 k Ω obtiveram-se resultados de diferença de potencial elétrico máximo de 0,71 V e densidade de corrente elétrica máxima de 61,74 mA/m². Posteriormente, realizou-se uma curva de polarização para determinar a potência máxima atingida no sistema e sua resistência interna. Com a curva de polarização, verificou-se que ela atingiu densidade de potência máxima de 128,44 mW/m² com a resistência externa de 150 Ω e resistência interna de 60 Ω . Para dar continuidade ao trabalho, reduziu-se a resistência externa aplicada de 1 k Ω para 150 Ω e seguiu-se operando o reator para as demais etapas. Nesta condição, a CCM atingiu ddp de 0,60 V e 50 mA/m². Com a CCM estabilizada, realizou-se a obtenção, separação e caracterização do biocomposto produzido no compartimento anódico. Para separação do biocomposto utilizou-se uma metodologia de precipitação com álcool etílico utilizando a centrifugação para a separação do biocomposto do sobrenadante. Nesta etapa do trabalho estudou-se as melhores condições de separação avaliando o efeito das variáveis concentração de álcool etílico, pH e temperatura de extração na concentração de carbono total do biocomposto, como melhores condições de separação obtiveram-se a concentração de álcool etílico 100%, o pH em 10 e a temperatura de 4°C. Para a caracterização do biocomposto obtido com as melhores condições de separação realizaram-se as análises de carbono total, reológica, morfológica e elementar. O biocomposto apresentou em sua composição 26% de carbono. Na análise reológica demonstrou menor viscosidade com a temperatura de 40°C e apresentou um comportamento de um fluido não-newtoniano. Como característica morfológica apresentou forma rígida e não uniforme. E em sua composição elementar, o componente majoritário em sua composição foi o oxigênio com 43,23%. A CCM é uma alternativa para a produção de energia elétrica, visto que apresentou resultados de ddp satisfatórios considerando a utilização de um resíduo disponível no meio ambiente para a sua produção. Além disso, paralelamente a produção de eletricidade ela está gerando um bioproduto de possa ter valor agregado.

Palavras-chave: densidade de corrente, densidade de potência, diferença de potencial, álcool etílico, pH e temperatura.

ABSTRACT

In pursuit of the development of an innovation for the production of electricity that, in addition to minimizing and replacing fossil fuels, reduces the environmental impact, microbial fuel cells (MFCs) have emerged, a promising technology that combines electricity generation with treatment of effluents. MFCs can directly convert chemical energy into electricity through the use of exoelectrogenic bacteria, which degrade oxidizable substances to produce metabolites and electrons. Cells can use different complex organic substrates, including domestic, industrial and agricultural waste water; thus, considering that the marine sediment has a high load of nutrients, microorganisms and organic matter, and a great amount of this is withdrawn and discarded for each process of dredging of large ports, to use material from the dredging of the Port of Rio Grande as a raw material to inoculate a MFC becomes a possibility. Sludge has high extracellular organic matter load and extracellular polymeric substances are its main constituents, comprising a mixture of high molecular weight polymers. This work aims to produce electric energy and study the process of obtaining, separating and characterizing biocompounds obtained from double chamber microbiological fuel cell inoculated with the dredging sediment of Rio Grande Port. In the first stage of this work, a 2 L volume MFC was constructed using 50 mM potassium ferricyanide as an electron acceptor. Operating this cell with an external resistance of 1 k Ω resulted in maximum electric potential difference of 0.71 V and maximum electric current density of 61.74 mA/m². Subsequently, a polarization curve was performed to determine the maximum power achieved in the system and its internal resistance. With the polarization curve, it was found that it reached a maximum power density of 128.44 mW/m² with external resistance of 150 Ω and internal resistance of 60 Ω . To continue the work, the applied external resistance was reduced from 1 k Ω to 150 Ω and then the reactor was operated for the remaining steps. In this condition, the MFC reached ddp of 0.60 V and 50 mA/ m². With the MFC stabilized, the biocomposite produced in the anodic compartment was obtained, separated and characterized. For the biocompound separation, an ethanol alcohol precipitation methodology was used using centrifugation to separate the biocompound from the supernatant. The best separation conditions were studied at this stage by evaluating the effect of the variables ethyl alcohol concentration, pH and extraction temperature on the total carbon concentration of the biocomposite. The best separation conditions were 100% ethyl alcohol concentration, the pH at 10 and the temperature at 4 ° C. For the characterization of the biocompound obtained with the best separation conditions, the total carbon, rheological, morphological and elemental analyzes were performed. The biocompound presented in its composition 26% of carbon. The rheological analysis showed lower viscosity at 40 ° C and showed a non-Newtonian fluid behavior. As morphological characteristic it presented rigid and nonuniform form. And in its elemental composition, the major component in its composition was oxygen with 43.23%. The MFC is an alternative for the production of electricity, since it presented satisfactory ddp results considering the use of an environmentally available waste for its production. In addition, in parallel with electricity production, it is generating a bioproduct of added value.

Keywords: current density, power density, potential difference, ethyl alcohol, pH and temperature.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Possíveis reações de oxirredução em Células Combustíveis Microbiológicas	15
Tabela 2: CCMs com diferentes volumes anódicos e seus respectivos desempenhos	1
Tabela 3: Composição do meio de cultivo	30
Tabela 4: Planejamento experimental 2^3 com 3 pontos centrais com os níveis reais e codificados.....	35
Tabela 5: Resultados de densidade de potência e densidade de corrente obtidos da curva de polarização.....	39
Tabela 6: Matriz do planejamento 2^3 com a variável resposta carbono total.	45
Tabela 7: Efeitos estimados das variáveis e parâmetros da análise estatística.....	45
Tabela 8: Análise da variância para a concentração de álcool etílico	46
Tabela 9: Cálculo do teste de Fischer.....	46
Tabela 10: Resultados da análise reológica.....	49
Tabela 11: Resultados da análise do EDS	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação dos principais componentes das células combustíveis microbiológicas.	15
Figura 2: Estágios de Formação do Biofilme.	17
Figura 3: Representação dos mecanismos de transferência de elétrons em bactérias	18
Figura 4: Curva de polarização de CCM relacionando densidade de potência com densidade de corrente de diferença de potencial elétrico	22
Figura 5: Zonas da curva de polarização	22
Figura 6: Fluxograma representativo do desenvolvimento do trabalho	27
Figura 7: Materiais e estruturas das CCM: (A) membrana catiônica; (B) placas de acrílico; (C) eletrodo de placa de grafite; (D) módulo com eletrodo e membrana; (E) CCM final.....	28
Figura 8: Configuração da CCM: (E) eletrodo; (M) membrana catiônica	29
Figura 9: Local de coleta do sedimento na Cidade de São José do Norte.....	29
Figura 10: CCM após <i>startup</i>	31
Figura 11: Procedimento esquemático do processo de separação do biocomposto com precipitações sucessivas	34
Figura 12: Diferença de potencial elétrico nos primeiros 30 dias	37
Figura 13: Densidade de corrente elétrica nos primeiros 30 dias.....	38
Figura 14: Curva de Polarização da CCM com resistência externa de 1000 Ω	39
Figura 15: Curvas de polarização durante o funcionamento da CCM com resistência externa de 150 Ω : (A) curva de polarização realizada após 120 dias da troca de resistência externa e (B) curva de polarização realizada após 190 dias da troca de resistência externa.	41
Figura 16: Diferença de potencial elétrico durante processo	42
Figura 17: Densidade de corrente elétrica durante o processo	43
Figura 18: Massa de sólidos na alimentação	44
Figura 19: Dados da secagem do biocomposto por fluxo de N ₂	47
Figura 20: Biocomposto após processo de separação	48
Figura 21: Imagens de microscopia eletrônica de varredura: (a), (b) e (c) biocomposto produzido na CCM e sua superfície (x300, x500, x1000 respectivamente).....	50

NOMENCLATURA

CCM	Célula Combustível Microbiológica
COT	Carbono Orgânico Total
CIT	Carbono Inorgânico Total
CT	Carbono Total
ddp	Diferença de potencial elétrico
EBOM	Matéria orgânica extracelular
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva
EPS	Substância polimérica extracelular
I	Corrente elétrica
i	Densidade de corrente elétrica
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
P	Potência elétrica
p	Densidade de potência elétrica
R	Resistência
R _{ext}	Resistência externa
V	Voltagem
V _i	Voltagem inicial
V _f	Voltagem final

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS.....	13
2.1	OBJETIVO GERAL	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
3.1	CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIOLÓGICA	14
3.2	BACTÉRIAS EXOELETROGÊNICAS	16
3.3	FORMAÇÃO DO BIOFILME	17
3.4	MECANISMO DE TRANSFERÊNCIA DE ELÉTRONS	18
3.5	CONFIGURAÇÕES DA CCM	19
3.6	FATORES QUE AFETAM A TRANSFERÊNCIA DE ELÉTRONS.....	21
3.7	PARÂMETRO ELETROQUÍMICO: CURVA DE POLARIZAÇÃO	21
3.8	SEDIMENTO DA DRAGAGEM DO PORTO DE RIO GRANDE.....	23
3.9	BIOCOMPOSTOS.....	24
3.9.1	Processos de extração de biocompostos	25
4	MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1	ETAPAS DO TRABALHO	27
4.1.1	Célula Combustível Microbiológica.....	27
4.2	COMPARTIMENTO ANÓDICO	29
4.2.1	Inóculo	29
4.2.2	Meio de Cultivo	30
4.3	COMPARTIMENTO CATÓDICO	30
4.4	MODO DE OPERAÇÃO DA CCM.....	31
4.5	ESTABILIZAÇÃO DA CCM	32
4.5.1	Corrente e potência elétrica	32
4.5.2	Curva de Polarização	32
4.6	OBTENÇÃO DE BIOCOMPOSTOS	33
4.7	SEPARAÇÃO DE BIOCOMPOSTOS	33
4.7.1	Metodologia de separação	33
4.7.2	Planejamento Experimental.....	34
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	35

4.9	CARACTERIZAÇÃO DO BIOCOMPOSTO.....	35
4.9.1	Carbono Total.....	35
4.9.2	Análise Reológica.....	36
4.9.3	Análise morfológica e elementar do biocomposto	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1	CONSTRUÇÃO E <i>STARTUP</i> DA CCM.....	37
5.2	CURVA DE POLARIZAÇÃO.....	38
5.3	FUNCIONAMENTO DA CCM.....	42
5.4	RECICLO DE SÓLIDOS NA ALIMENTAÇÃO	43
5.5	PRODUÇÃO DE BIOCOMPOSTOS	44
5.6	SEPARAÇÃO DE BIOCOMPOSTOS	44
5.6.1	Planejamento Experimental.....	44
5.7	EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO BIOCOMPOSTO	47
5.7.1	Extração do biocomposto	47
5.7.2	Secagem do biocomposto	47
5.7.3	Análise de Carbono Total (CT).....	48
5.7.4	Análise Reológica.....	48
5.7.5	Análise morfológica em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)	49
5.7.6	Análise Elementar em EDS	50
6	CONCLUSÃO	51
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	52
	REFERÊNCIAS	53
	ANEXOS.....	57

1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda por fontes de combustíveis renováveis e métodos inovadores de produção de energia, ganhou destaque durante os últimos anos. Segundo estimativas da Organização das Nações Unidas (ONU), a população do planeta atingirá a marca de 9 bilhões de habitantes em 2050, o equivalente a uma taxa de crescimento de 0,33% ao ano, essa estimativa nos mostra que a demanda energética vai aumentar ao longo dos anos, sendo este um fator preocupante já que no momento atual o consumo energético já mostra-se exorbitante. Considerando o elevado consumo de energia elétrica mundial, uma necessidade da sociedade atual é desenvolver tecnologias que, além de minimizar e substituir os combustíveis fósseis, reduzam o impacto ambiental. Assim, em busca de uma alternativa viável para suprir esses anseios, as células combustíveis microbiológicas (CCM) surgiram como uma promissora tecnologia que une a geração de eletricidade com o tratamento de efluentes (TELEKEN et al., 2017; WANG et al., 2013).

As CCMs podem converter diretamente energia química em eletricidade pelo uso de bactérias exoeletrogênicas, sendo estas as responsáveis pela redução da matéria orgânica e a transferência de elétrons produzidos por seu metabolismo celular, produzindo metabólitos e elétrons (RABAEY E VERSTRAETE, 2005; LOGAN, 2008). Diferentes estudos têm sido realizados para este tipo de célula, como variações na sua estrutura física e modos operacionais, objetivando minimizar as restrições de operação e melhorar a eficiência do processo de geração de energia (DE SÁ et al., 2017); porém, mesmo com uma ampla variedade de configurações para a estrutura da célula, uma das formas mais utilizadas é a de dois compartimentos separados por uma membrana de permuta iônica (LOGAN, 2008).

Uma CCM pode utilizar substratos orgânicos complexos, incluindo águas residuais domésticas, industriais e agrícolas, como fonte de produção de energia (PANT et al., 2010; ELMEKAWY et al., 2015). Assim, utilizar o material oriundo da dragagem do Porto de Rio Grande como matéria-prima para a produção de eletricidade e bioprodutos passa a ser uma possibilidade promissora, levando em conta que uma grande quantidade de sedimento marinho é retirado a cada processo de dragagem e este resíduo possui alta carga de nutrientes, micro-organismos e matéria orgânica.

Estudos estão considerando a ocorrência de reações paralelas as reações de geração de energia elétrica, que acabam ocasionando outros biocompostos, podendo ser proteínas, enzimas, polímeros, oligômeros, entre outros, de acordo com a composição de seu sedimento. Por isso, viu-se a necessidade de realizar um estudo focado na produção de um

biocomposto juntamente com a geração de energia elétrica em uma célula combustível microbiológica inoculada com sedimento marinho, sendo este rico em matéria orgânica extracelular e substâncias poliméricas extracelulares.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Gerar energia elétrica e estudar o processo de obtenção, separação e caracterização de biocompostos obtidos a partir de célula combustível microbiológica de câmara dupla inoculada com o sedimento da dragagem do Porto de Rio Grande.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Construir e operar uma célula combustível microbiológica de câmara dupla de volume igual a 2 L;
- Avaliar a influência da relação do volume do reator e resistência externa na geração de energia;
- Estudar a influência das variáveis temperatura, pH e concentração do solvente na concentração de carbono total do biocomposto;
- Caracterizar o biocomposto obtido na célula combustível microbiológica de 2L através de propriedades reológicas, estrutura morfológica e elementos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

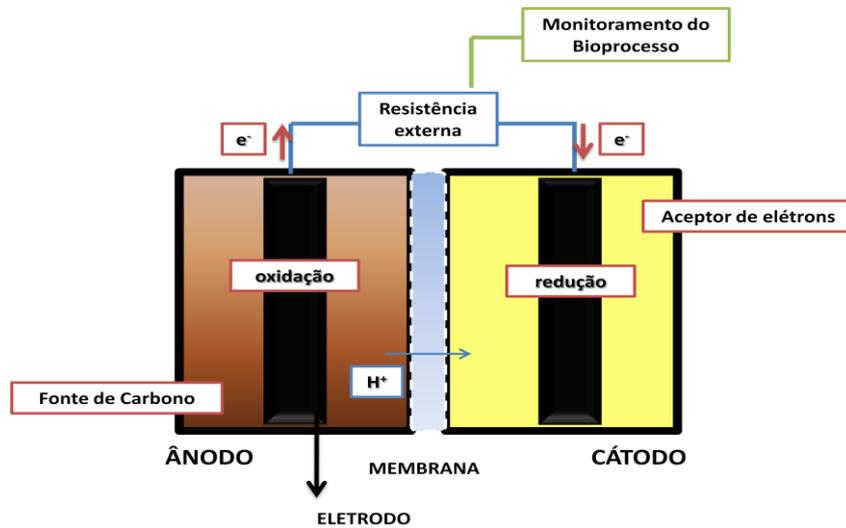
A energia consumida mundialmente é predominantemente originária da queima de combustíveis fósseis, sendo esta a principal fonte energética desde o início do século XVIII. Em 2013, os combustíveis fósseis corresponderam 81,6% da produção global de energia. A queima desses combustíveis proporciona elevados índices de poluição atmosférica, tornando-se um dos mais graves problemas ambientais que a sociedade tem enfrentado (INTERNATIONAL ENERGY AGENCY, 2015). Tendo em vista os grandes malefícios ao meio ambiente causados pela queima de combustíveis fósseis, novos métodos de produção de energia elétrica estão ganhando destaque em estudos na área, dentre elas as Células Combustíveis Microbiológicas.

3.1 CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIOLÓGICA

O elevado consumo energético mundial levou pesquisadores a encontrar novas técnicas de produção de energia ao qual suprisse a necessidade da sociedade atual e também ocasionasse a diminuição da utilização de combustíveis fósseis nessa produção. Assim, em busca de uma nova fonte de produção de energia elétrica surgiram as células combustíveis microbiológicas (CCM), um sistema bioeletroquímico que converte diretamente matéria orgânica em eletricidade através do metabolismo microbiano, degradando as substâncias oxidáveis produzindo metabólitos e elétrons (XIA et al., 2019).

Como demonstrados na Figura 1, as CCMs são constituídas de dois compartimentos separados por uma membrana permeável, ao qual separa o compartimento anódico do catódico. No compartimento anódico ocorre a oxidação da matéria orgânica por meio de micro-organismos exoeletrogênicos em um meio anaeróbico, liberando elétrons para o exterior da célula. Já o compartimento catódico é composto pela solução aceptora de elétrons, ao qual ocasiona uma diferença de potencial entre os dois compartimentos da célula (LOGAN, 2008). Cada compartimento é composto por um eletrodo ligado a uma resistência externa e os dados podem ser controlados por um sistema de aquisição e armazenamento de dados.

Figura 1: Representação dos principais componentes das células combustíveis microbiológicas.



Fonte: adaptado de Logan (2008)

Vários fatores de operação influenciam no bom funcionamento de um CCM, como temperatura, pH, aceptor de elétrons, área de superfície dos eletrodos, tamanho do reator, agitação e tempo de operação (LOGAN, 2008). Os fatores citados podem afetar a cinética das reações de oxirredução que ocorrem na CCM, sendo elas as demonstradas na Tabela 1.

Tabela 1: Possíveis reações de oxirredução em Células Combustíveis Microbiológicas

Reações de Oxidação no Ânodo	
Substrato	Reações
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	$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{HCO}_3^- + 17\text{H}^+ + 14\text{e}^-$
Águas residuais	$\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_3\text{N} + 18\text{H}_2\text{O} \rightarrow 9\text{CO}_2 + \text{NH}_4^+ + \text{HCO}_3^- + 50\text{H}^+ + 50\text{e}^-$
Reações de Redução no Cátodo	
Substrato	Reações
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	$\text{NO}_3^- + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$
	$2\text{NO}_3^- + 12\text{H}^+ + 10\text{e}^- \rightarrow \text{N}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$
Íon Férrico	$\text{Fe}^{+3} + \text{e}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{Fe}^{+2} + 1/2\text{H}_2\text{O}$
Ferrocianeto	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} + \text{e}^- \rightarrow [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$

Fonte: adaptado de Koroglu et al. (2019)

O pH e a temperatura de operação da célula influencia diretamente a sua eficiência energética. Valores de pH devem aproximar-se sempre da neutralidade, já que fora disso suprimem o metabolismo microbiano, levando à queda na densidade de corrente e também ao aumento no potencial de oxidação do substrato. Faixas de pH ácido reduzem a produção de eletricidade. Controlar a temperatura de operação da celular também é um fator muito importante para o seu melhor desempenho, já que variações de temperatura provocam mudanças na cinética, natureza e distribuição das comunidades microbianas. Estudos apontam que em algumas faixas de temperatura a eficiência energética diminui, assim como a composição do biofilme do ânodo (CHENG et al., 2011).

Quando comparada com os demais sistemas convencionais de produção de energia elétrica, a principal vantagem da CCM é a possível utilização de diversas fontes de matéria orgânica como combustível, desde moléculas orgânicas simples, polímeros e até mesmo águas residuais (LOGAN; RABAEY, 2013).

3.2 BACTÉRIAS EXOELETROGÊNICAS

Em CCMs, a transferência de elétrons entre os micro-organismos e o eletrodo é realizada devido a diferença de potencial elétrico existente entre as soluções do compartimento anódico e catódico. Esta capacidade é de micro-organismos que conseguem transferir elétrons diretamente para um material sólido no exterior da célula, designados bactérias exoeletrogênicas (LOGAN, 2008).

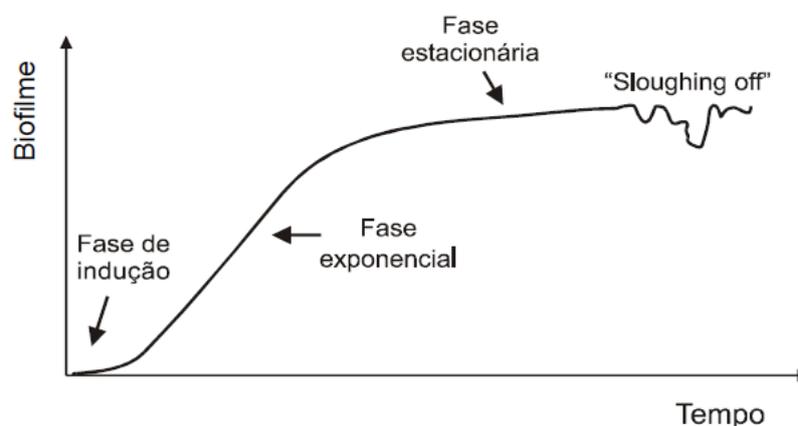
Uma ampla gama da comunidade bacteriana exoeletrogênica está sendo utilizada para geração de bioeletricidade via CCMs, um fator que torna-se vantajoso é que esses micro-organismos podem ser utilizado como cultura pura ou mista. Cerca de 35 culturas puras, incluindo *Geobacter*, *Pseudomonas sp.*, *Rhodospirillum rubrum*, *Shewanella*, *Cupriavidus basilensis*, *Lactococcus lactis* e *Propionibacterium freudenreichii*, etc. foram relatadas como exoeletrogênicos em CCMs (PASSOS et al., 2019). Porém, as culturas puras são limitadas a baixas taxas de crescimento, baixas taxas de transferência de energia, alta especificidades do substrato e riscos contínuos de contaminação de micróbios indesejáveis. Em contrapartida, as culturas mistas podem se adaptar a uma gama variada de condições ambientais e cada espécie na cultura pode desempenhar uma função específica que pode ser considerada crucial para outra espécie, levando a uma melhor sobrevivência e desempenho, além de serem encontradas em lodos ou efluentes (KUMAR et al., 2019).

3.3 FORMAÇÃO DO BIOFILME

Os biofilmes são grupos de micro-organismos que fixam-se na superfície do eletrodo anódico, formando substâncias poliméricas extracelulares. A formação de biofilmes é um fenômeno natural que ocorre com muitas bactérias, o que ajuda a suportar as condições ambientais adversas, como alterações no pH, variações no oxigênio, privação de nutrientes e agentes antimicrobianos (KUMAR et al., 2019).

O fenômeno de formação do biofilme ocorre em 4 estágios, sendo o primeiro a fixação das células microbianas em uma superfície. No segundo estágio ocorre a fixação irreversível das células e a produção de material polimérico extracelular, sendo em sua maioria proteínas, lipídios e carboidratos. O próximo estágio envolve a formação de um biofilme maduro com uma estrutura tridimensional ficando estabilizado. E para finalizar, no quarto estágio ocorre o deslocamento e dispersão de células do biofilme e iniciação da formação de novos biofilmes (ARUNASRI; MOHAN, 2019). Conforme mostrado na Figura 2, a formação do biofilme ocorre de forma sigmoide, devido a fatores físicos, químicos e biológicos (MESQUITA, 2016). Bactérias no interior de um biofilme são cercadas por substâncias poliméricas extracelulares (EPS), um dos principais componentes do biofilme que varia em densidade e composição.

Figura 2: Estágios de Formação do Biofilme.



Fonte: adaptado de Mesquita, 2016.

Onde:

- Fase de indução: fixação dos micro-organismos a superfície sólida;
- Fase exponencial: crescimento, reprodução do biofilme e produção de EPS;

- Fase estacionária: micro-organismos adaptados e estáveis;
- Fase “Sloughing off”: desprendimento de porções de biofilme.

3.4 MECANISMO DE TRANSFERÊNCIA DE ELÉTRONS

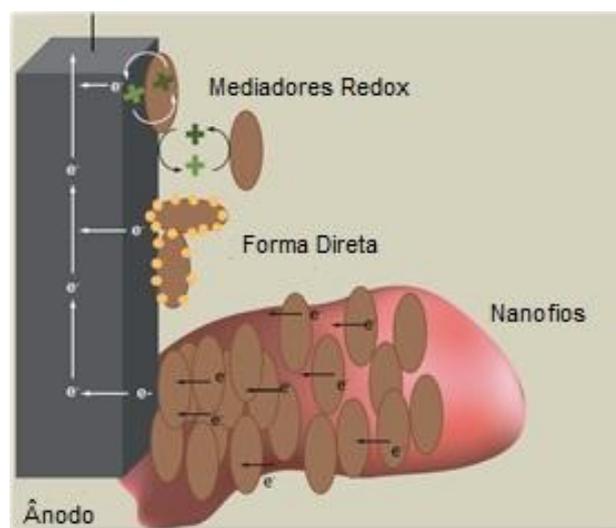
A transferência de elétrons dos micro-organismos para a superfície condutora pode ocorrer por três formas diferentes, por contato direto, contato indireto e nanofios, como demonstrado na Figura 3.

- Contato Direto: Ocorre por meio de contato físico entre a bactéria e a superfície do eletrodo. Isso ocorre devido à presença da proteína identificada como citocromo na membrana que transfere os elétrons do interior para um eletrodo externamente a célula (TELEKEN, 2013). *Geobacter*, *Shewanella* e *Rhodospirillum rubrum* são alguns dos micro-organismos que possuem essa proteína e são capazes de produzirem ATP em condições anaeróbicas (LOGAN, 2008)

- Contato Indireto: Através de mediadores redox, produzidos pelos próprios micro-organismos ou adicionados ao meio reacional possibilitando reações de oxirredução, transportando os elétrons até o eletrodo (MORAES, 2016).

- Nanofios: Consistem na transferência direta de elétrons de um micro-organismo a outro, como por exemplo, micro-organismos encontrados no fundo do mar, em sedimento marinho (LOGAN, 2013).

Figura 3: Representação dos mecanismos de transferência de elétrons em bactérias



Fonte: adaptado de FRANKS; MALVANKAR; NEVIN, 2010.

3.5 CONFIGURAÇÕES DA CCM

O número de compartimentos em uma CCM pode variar desde uma única câmara, para câmara dupla, multicâmaras ou ainda câmaras concêntricas, de acordo com as necessidades e objetivos de sua aplicação. A arquitetura do reator determina como o sistema funcionará em termos de potência, eficiência, estabilidade e longevidade (LOGAN, 2008).

As CCMs mais comumente utilizadas e de maiores estudos desenvolvidos até hoje são as de câmara dupla. Elas são compostas por um conjunto de câmaras, a câmara anódica e a catódica, estas são separadas por uma membrana que permite o fluxo de elétrons entre estes dois compartimentos (LOGAN, 2008). A CCM de câmara dupla possui a vantagem de poder ser operada em modo contínuo ou em batelada. Nas células de câmara dupla o fluxo ascendente é considerado adequado para o tratamento de águas residuais; no entanto, a entrada de energia associada ao bombeamento de fluidos é muito maior do que as saídas de energia (JUNG; PANDIT, 2019).

As células combustíveis de câmara única possuem apenas uma câmara anódica sem a necessidade de aeração em uma câmara catódica. Essas CCMs de um compartimento oferecem projetos mais simples, mantendo o catodo em contato direto com o ar. A CCM de câmara única possui vantagens como nenhum consumo de energia adicional para aeração na câmara do cátodo, fácil manuseio devido ao seu menor volume e arranjo menor do eletrodo confere uma maior densidade de potência volumétrica (JUNG; PANDIT, 2019).

Outra configuração que tem sido bastante estudada com o objetivo de aperfeiçoar esses biorreatores é a fluidização do compartimento anódico. Devido o maior contato entre as partículas que compõem o leito e o fluido que ascende o reator, a operação de fluidização torna-se uma alternativa interessante, tendo em vista que, proporciona uma maior área superficial de contato entre o sólido e o líquido, garantindo assim a melhor homogeneização do meio reacional (DEEKE, 2014), e também gera um elevado coeficiente de transferência de massa (LIU et al, 2014).

A Tabela 2 apresenta resultados de densidade de potência máxima para diferentes tipos de CCMs. De Sá et al. (2017) realizou estudos com o CCM de câmara dupla, porém com volume de ânodo e cátodo diferentes, volume anódico 1,5 L e volume catódico 1,0 L. Mesquita (2016) utilizou resistência externa de 1000 Ω para *start up* de seu experimento, porém realizou a diminuição da resistência a cada 6 dias de funcionamento da célula para comparar a densidade máxima de potência e de corrente atingida em casa uma delas.

Tabela 2: CCMs com diferentes volumes anódicos e seus respectivos desempenhos

Configuração da célula	Substrato	Volume do ânodo (L)	Aceptor final de elétrons	Membrana iônica	Resistência externa (Ω)	p máxima (mW/m²)	Referência
Câmara dupla	Etanol	0,1	Ferricianeto de potássio	CMI 7000	1000	437	(DAI et al., 2017)
Câmara única	Acetato	0,025	Oxigênio	CMI 7000S	100	84,86	(GUERREIRO et al., 2019)
Câmara dupla	Acetato	0,02	Ferricianeto de potássio	CMI 7000S	180	350	(MESQUITA, 2016)
Câmara dupla	Acetato	1,5	Ferricianeto de potássio	CMI 7000S	1000	28,18	(TELEKEN et al., 2017)
Câmara dupla	Acetato	1,5	Ferricianeto de potássio	CMI 7000S	1000	27,53	(DE SÁ et al., 2017)
Leito fluidizado	Acetato	0,05	Ferricianeto de potássio	CMI 7000S	47	238,5	(MORAES, 2016)

Onde: p máxima é a potência máxima atingida na célula.

3.6 FATORES QUE AFETAM A TRANSFERÊNCIA DE ELÉTRONS

Como todo processo biológico, uma das condições de maior necessidade de controle é o pH e a temperatura do compartimento anódico, estando estas de acordo com as condições ótimas para o crescimento celular. 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). A temperatura é uma variável de grande importância no crescimento dos micro-organismos e desenvolvimento do biofilme, pois em altas temperaturas ocorre à desnaturação das proteínas levando a um baixo crescimento dos micro-organismos, assim como baixas temperaturas também prejudicam o seu desenvolvimento. O limite de temperatura é variável para cada espécie de micro-organismos (STANIER; INGRAHAM, 1995). Para as CCMs, buscam-se os micro-organismos exoeletrogênicos que apresentam um melhor desenvolvimento em torno dos 35°C (LOGAN, 2008).

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_{ext}) utilizada e membrana iônica. Esses fatores afetam a diferença de potencial ($\Delta\phi$) gerada e a resistência interna (R_{int}) do sistema bioeletroquímico, e ambos possuem relação com a potência máxima gerada (LOGAN, 2008). A escolha da membrana trocadora de prótons também afeta a transferência de elétrons, já que é esta que vai liberar ou impedir a transferência de elétrons na CCM (SLATE et al., 2019).

Logan (2008) aborda que a maior potência da CCM é alcançada quando tem-se uma resistência externa próxima da resistência interna da célula. A elevada resistência interna em CCM pode afetar negativamente a geração de potência e baixas resistências externas podem aumentar significativamente a corrente.

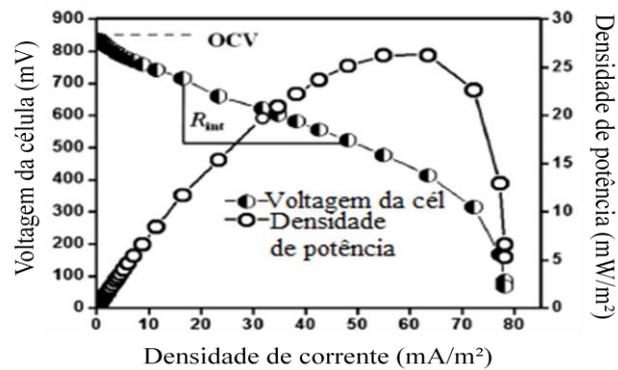
Um dos fatores mais importantes é o tipo de substrato utilizado, já que este serve como fonte de carbono para o crescimento microbiano. Ele influencia na composição da comunidade bacteriana do biofilme formado no ânodo e também no desempenho elétrico da CCM (LIU; CHENG; LOGAN, 2009).

3.7 PARÂMETRO ELETROQUÍMICO: CURVA DE POLARIZAÇÃO

Plotar uma curva de densidade de polarização é uma prática comum para avaliar o desempenho celular. Na curva de polarização, o potencial da célula unitária e a densidade de

potência são plotados no eixo x como uma função da densidade de corrente (eixo y). A densidade de potência máxima e a tensão da célula de trabalho podem ser destacadas deste tipo de curva; a resistência interna pode ser calculada a partir da inclinação (JUNG; PANDIT, 2019). A representação da corrente elétrica em função da ddp é chamada de curva de polarização, tem-se um exemplo na Figura 4.

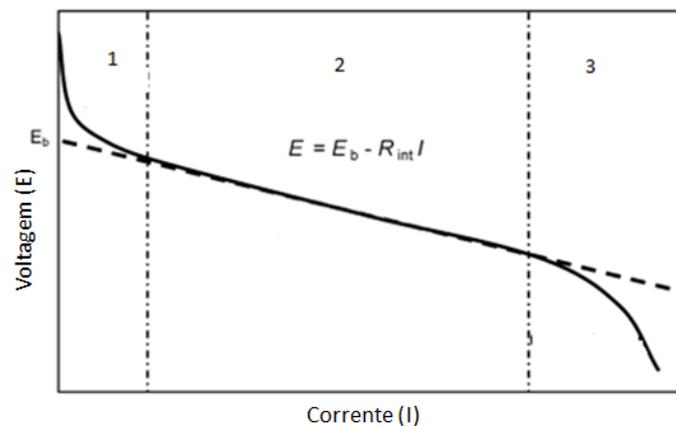
Figura 4: Curva de polarização de CCM relacionando densidade de potência com densidade de corrente de diferença de potencial elétrico



Fonte: JUNG; PANDIT, 2019.

A curva de polarização pode ser dividida em três zonas, conforme apresentado na Figura 5.

Figura 5: Zonas da curva de polarização



Fonte: FAN et al. 2008.

Onde:

Zona 1: ddp máxima na densidade de corrente igual a zero, havendo uma diminuição acentuada da ddp, nesta zona os sobre potenciais por ativação são dominantes.

Zona 2: A ddp cai de forma mais lenta sendo razoavelmente linear com a corrente: nesta zona os sobre potenciais ôhmicos são dominantes, esta região segue a lei de Ohm, e com essa região pode-se calcular a resistência interna (R_{int}) fazendo uso da Equação 1.

$$R_{int} = \frac{V_i + V_f}{I} \quad (1)$$

Onde R_{int} é a resistência interna, V_i é a voltagem inicial, V_b é a voltagem final e I é a corrente.

Zona 3: há uma rápida queda da corrente em altas densidades de corrente: zona dominada pelos sobre potenciais de concentração (LOGAN et al., 2006).

3.8 SEDIMENTO DA DRAGAGEM DO PORTO DE RIO GRANDE

Utilizar o sedimento da dragagem do Porto de Rio Grande como inóculo torna-se vantajoso já que este está disponível em grande volume na natureza e ele é despejado de volta ao meio ambiente após o processo de dragagem. Além disso, esse resíduo marinho possui uma grande quantidade de nutrientes, micro-organismos e considerável quantidade de matéria orgânica, pois a Laguna dos Patos recebe despejos de várias fontes, como agrícolas, urbanas e industriais de varias cidades localizadas nos seus arredores, além das inundações marinhas no canal que arrastam grandes quantidades de sedimentos. Passos et al. (2019), Teleken et al. (2017) e De Sá et al. (2017) utilizam o sedimento marinho do Porto de Rio Grande para estudos envolvendo CCMs. Estes obtiveram, respectivamente, valores de densidade de potência elétrica de 1,21 W/m², 28,18 mW/m² e 30,97 mW/m² e estes estudos tiveram resultados satisfatórios já que estes indicando a presença de micro-organismos exoeletrogênicos no sedimento através da geração de diferença de potencial elétrico, possibilitando seu uso para geração de energia elétrica em células combustíveis microbiológicas.

3.9 BIOCOMPOSTOS

Os micro-organismos produzem uma matriz de biofilme que consiste em proteínas, DNA extracelular e polissacarídeos, que é parte integrante da formação de comunidades bacterianas. Estudos históricos de polissacarídeos revelaram que sua superprodução frequentemente altera a morfologia da colônia e pode ser diagnóstica na identificação de certas espécies. O componente polissacarídico da matriz pode fornecer diversos benefícios às células do biofilme, incluindo adesão, proteção e estrutura. Os polissacarídeos agregados atuam como cola molecular, permitindo que as células bacterianas se colem umas às outras e às superfícies. A adesão facilita a colonização de superfícies bióticas e abióticas, permitindo que as bactérias resistam a tensões físicas impostas pelo movimento de fluidos que poderiam separar as células de uma fonte de nutrientes. Os polissacarídeos também podem fornecer proteção contra uma ampla gama de estresses, tais como dessecação, efetores imunes e predadores. Finalmente, os polissacarídeos podem fornecer estrutura ao biofilme, permitindo a estratificação da comunidade bacteriana e o estabelecimento de gradientes de nutrientes e resíduos. Isso pode ser vantajoso para as bactérias, estabelecendo uma população heterogênea que está preparada para suportar as tensões criadas pelos ambientes em rápida mudança que muitas bactérias encontram. A diversidade de estruturas, propriedades e papéis dos polissacarídeos ressaltam a importância desse constituinte matricial para a adaptação bem-sucedida de bactérias a quase todos os nichos (LIMOLI; JONES; WOZNIAK, 2015). Considerando que o biofilme consiste de polissacarídeos, proteínas e DNA extracelular que identificou-se a necessidade de estudar outra a produção de outro biocomposto, além da geração de energia elétrica, em CCMs, já que estas são inoculadas com sedimentos ricos em micro-organismos produtores desse material.

Os metabólitos produzidos pelos micro-organismos durante a operação das CCM podem ser proteínas, enzimas, polímeros, oligômeros, entre outros. As lamas possuem alta carga de matéria orgânica extracelular (EBOM) e as substâncias poliméricas extracelulares (EPS) são seus principais constituintes, compreendendo uma mistura de polímeros de alta massa molecular, tais como polissacarídeos, glicoproteínas, ácidos nucleicos, lipídios e ácidos húmicos (JIANG et al., 2009; HONG et al., 2017). Carboidratos são observados principalmente em EPS produzidos a partir de culturas puras, enquanto as proteínas são encontradas em maiores quantidades em EPS do sedimento de muitas plantas de tratamento de águas residuais (LIU E FANG, 2002)

Praticamente todas as células microbianas do biofilme são envolvidas por EPS, que auxiliam na formação de biofilme, transferência de massa e proteção microbiana de ambientes desfavoráveis. Nos biofilmes, o EPS é geralmente considerado como uma rede de componentes orgânicos que se prendem firmemente à superfície celular como periférica (YANG et al., 2019a).

Segundo Yang et al. (2019b), está ocorrendo maior produção de proteínas do que de polissacarídeos em biofilmes contendo a bactéria *Geobacter*, estudos já relataram que esta bactéria é exoeletrogênica e pode estar contida em sedimentos marinhos. *Shewanella* e *Geobacter* são os micro-organismos mais estudados devido à sua alta eficiência de transferência de elétrons extracelular.

3.9.1 Processos de extração de biocompostos

De acordo com a literatura, muitos métodos físicos foram testados para avaliar a eficiência de extração de EPS e comparados para selecionar a melhor técnica de extração, entre eles a centrifugação, ultrassom e aquecimento (COMTE et al., 2006). Além dos métodos físicos, métodos químicos também foram avaliados, tais como ajuste de pH, resina de troca catiônica (CER), EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), formaldeído, hidróxido de sódio e álcool etílico (LIU E FANG, 2002; SHENG et al., 2005; XU et al., 2014, KEITHLEY E KIRISITS, 2018).

Durante a extração do EPS, a matriz do biofilme deve ser desestabilizada por métodos químicos ou físicos, e os métodos de extração do EPS não devem ser muito rigorosos para evitar a quebra celular significativa. Além disso, o método de extração empregado afeta muito o rendimento e a composição do EPS, e não existe um método de extração universal para todos os EPS possíveis, especialmente os componentes funcionais do EPS, em vários biofilmes dominados por diferentes micro-organismos (PRONK et al., 2017). Por exemplo, a quantidade de EPS obtida pode variar de 165 mg (método baseado em EDTA) para 26 mg (somente centrifugação) de EPS por grama de lodo (LIU E FANG, 2002); e o ácido acético, em vez da extração alcalina geralmente necessária, foi mais adequado para obter um novo EPS solúvel em ácido a partir de grânulos dominados por *Deffluviococcus sp.* (PRONK et al., 2017). Portanto, a extração de EPS pode abranger um conjunto de métodos infinitos de acordo com o produto formado.

Em sistemas bioeletroquímicos, *Shewanella* e *Geobacter* são os micro-organismos mais amplamente estudados devido à sua alta eficiência de transferência extracelular de

elétrons, sequência do genoma, facilidade de cultivo e manipulação genética e capacidade de transferir elétrons externamente sem a necessidade de mediadores exógenos (MALVANKAR et al., 2012).

Até o momento, métodos baseados em EDTA, aquecimento e ajuste de pH foram usados para extrair EPS de *Shewanella*, e os métodos EDTA e aquecimento foram demonstrados como os métodos mais adequados. O estabelecimento do método de extração de EPS aprimorou o estudo da caracterização e função dos EPS dos biofilmes de *Shewanella* (CAO et al., 2011; DAI et al., 2016).

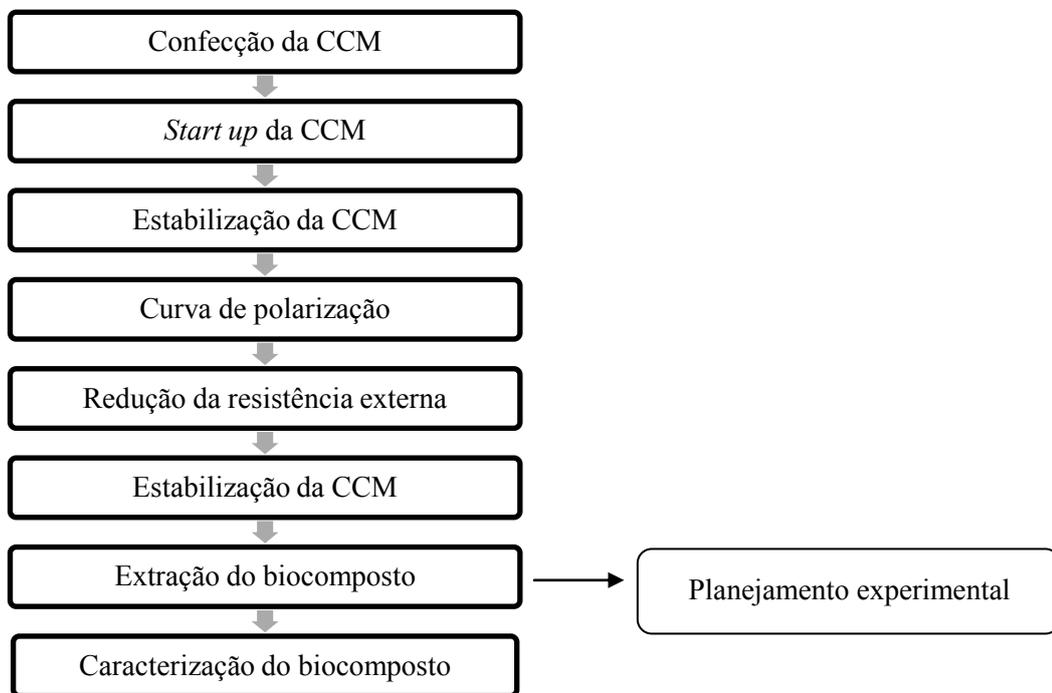
De acordo com XU et al. (2014), o álcool etílico também pode ser utilizado para a precipitação de EPS. Estudos realizados identificaram as melhores condições para a precipitação de polissacarídeos utilizando esta substância orgânica, foram avaliadas condições de concentração de álcool etílico, valor de pH do sobrenadante e temperatura de refrigeração. O rendimento de polissacarídeos totais aumenta com a elevação da concentração de etanol e diminuição da temperatura de refrigeração, que geralmente é realizada em torno de 4°C. Contudo, o efeito do valor do pH do sobrenadante é pouco significativo (XU et al., 2014).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ETAPAS DO TRABALHO

O projeto, confecção e desenvolvimento experimental da célula combustível microbiológica utilizada no presente trabalho foram realizados no Laboratório de Controle Ambiental, da Escola de Química e Alimentos (EQA), da Universidade Federal do Rio Grande. As etapas realizadas para a elaboração do trabalho estão demonstradas na Figura 6.

Figura 6: Fluxograma representativo do desenvolvimento do trabalho

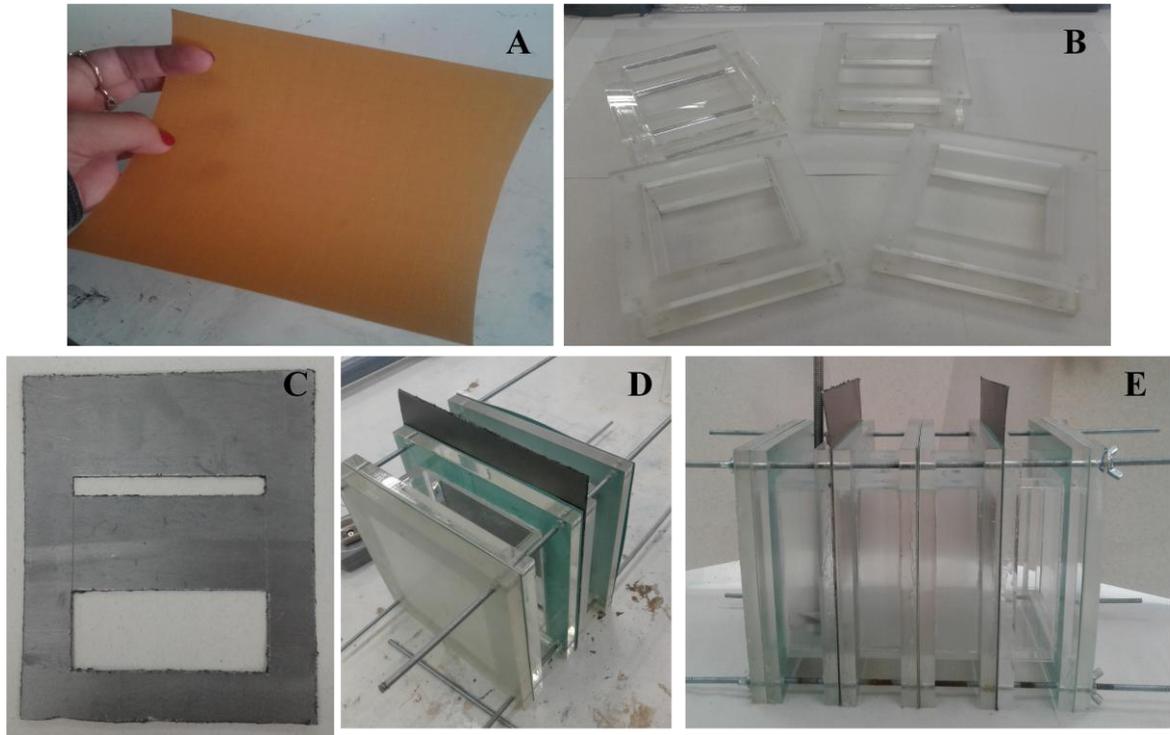


4.1.1 Célula Combustível Microbiológica

A CCM de câmara dupla foi confeccionada com placas de acrílico (10x10x5cm) com um volume total de 2,0 L, sendo 50% dedicados ao ânodo (1,0 L) e 50% destinados ao cátodo (1,0 L). Estes compartimentos foram separados por uma membrana catiônica (CMI-7000S - Membranas International Inc.) (DE SÁ et al., 2017). O compartimento anódico foi mantido sob agitação constante por meio de um impelidor, evitando a sedimentação dos sólidos e mantendo o sistema homogêneo. Neste sistema também utilizou-se eletrodos compostos de placas de grafite de 115 cm² nos dois compartimentos, ambos estão localizados a 5 cm de

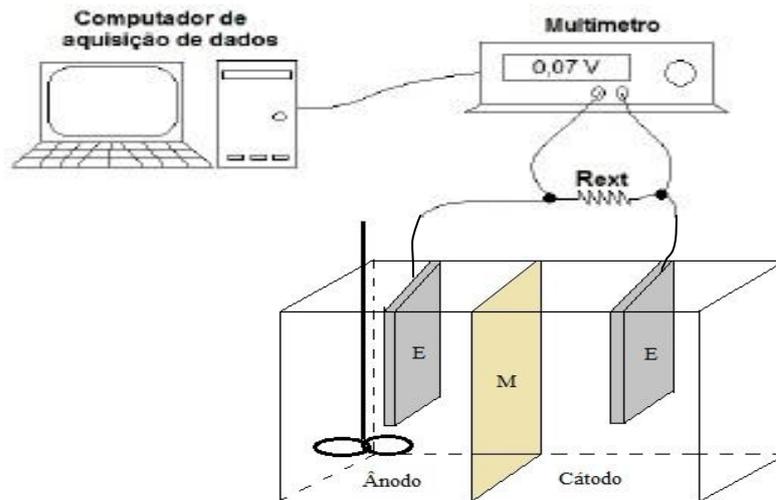
distância da membrana, ou seja, no centro de cada compartimento. A Figura 7 representa algumas etapas de confecção da célula combustível microbiológica.

Figura 7: Materiais e estruturas das CCM: (A) membrana catiônica; (B) placas de acrílico; (C) eletrodo de placa de grafite; (D) módulo com eletrodo e membrana; (E) CCM final



A voltagem gerada pelo sistema foi controlada através da ligação do eletrodo anódico e catódico conectados a uma Protoboard ligado à uma resistência externa e ao microcontrolador Arduino® (Arduino, DUE, Itália) conectado a um computador, responsável pela aquisição e registro dos dados. Levando em consideração estudos realizados anteriormente, para iniciar o experimento utilizou-se uma resistência externa de $1\text{ k}\Omega$, ao qual foi utilizada até estabilização da diferença de potencial gerada (MESQUITA, 2016). A Figura 8 apresenta a configuração da CCM.

Figura 8: Configuração da CCM: (E) eletrodo; (M) membrana catiônica

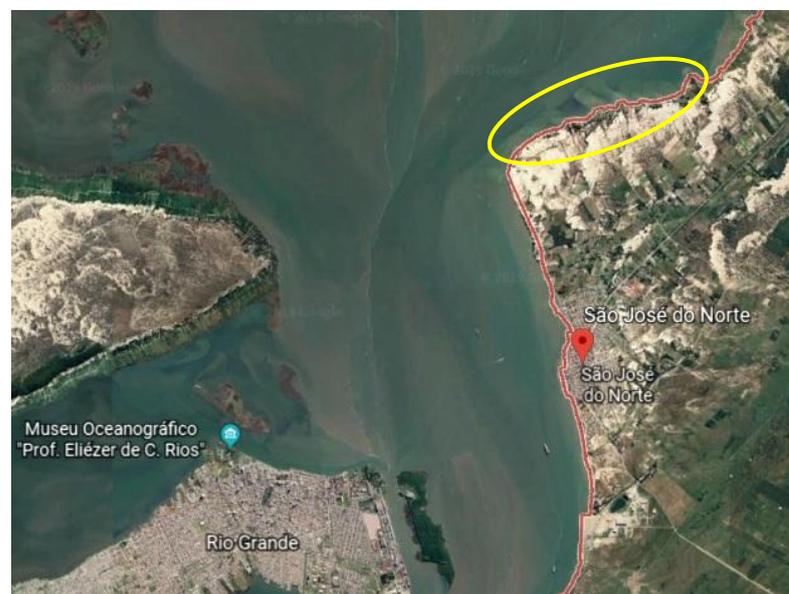


4.2 COMPARTIMENTO ANÓDICO

4.2.1 Inóculo

A célula combustível microbiológica foi inoculada no compartimento anódico com sedimento marinho oriundo do Estuário da Lagoa dos Patos nas proximidades da Cidade de São José do Norte-RS ($31^{\circ}58'25''\text{S}/52^{\circ}02'24''\text{O}$), mostrado na Figura 9. A coleta do sedimento foi realizada com testemunho de 1,0 m de comprimento e 10 cm de diâmetro a 50 m da costa.

Figura 9: Local de coleta do sedimento na Cidade de São José do Norte



O sedimento coletado foi armazenado em recipientes plásticos vedados e mantidos sob refrigeração a 4°C até o momento da inoculação. Para o processo de inoculação a temperatura do inóculo foi ambientada até a temperatura ambiente. Para inocular o reator, misturou-se 700 mL de sedimento com 300 mL de meio de cultivo com acetato como fonte de carbono. Após homogeneizar a mistura, inoculou-se o compartimento anódico.

4.2.2 Meio de Cultivo

O volume total do compartimento anódico foi completado com nutrientes que simulam o habitat natural dos micro-organismos presentes no sedimento marinho. Segundo Lovley e Phillips (1988), para melhor desenvolvimento dos micro-organismos é necessário a presença do meio de cultivo composto por mistura de sais descritos na Tabela 3. Além disso, como principal fonte de carbono, utilizou-se o CH₃COOH na concentração de 10 g/L.

Tabela 3: Composição do meio de cultivo

Reagentes	Concentração (g/L)
NaHCO ₃	2,5
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,1
KCl	0,1
NH ₄ Cl	1,5
NaH ₂ PO ₄	0,6
Na ₂ HPO ₄	1,87
NaCl	0,1
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,1
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,1
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,005
NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,001
Extrato de Levedura	0,05

Fonte: Lovley e Phillips (1988)

4.3 COMPARTIMENTO CATÓDICO

O compartimento catódico do reator foi preenchido com uma solução de ferricianeto de potássio (K₃Fe(CN)₆) 50 mM, constituindo o aceptor final de elétrons (XIA et al., 2019), sendo este substituído a cada 15 dias.

4.4 MODO DE OPERAÇÃO DA CCM

A Figura 10 representa a célula combustível microbiológica após o *start up*. O compartimento anódico da CCM foi inoculado e alimentado com meio de cultivo com 10,0 g/L de CH₃COOH (DE SÁ et al., 2017), possibilitando a fixação e formação de biofilme das bactérias exoeletrogênicas na superfície do eletrodo (KUMAR et al., 2019). De acordo com De Sá et al. (2017) e Teleken et al. (2017), a CCM foi operada à 35 °C e o pH ajustado entre 6,8 e 7,5 para melhor desenvolvimento dos micro-organismos. A alimentação foi realizada com reciclo parcial de células, onde uma nova alimentação foi realizada a cada 24 h. Realizou-se a alimentação diariamente com renovação do efluente anódico de acordo com o seguinte procedimento: 0,3 L do efluente foi removido do reator e assim, os sólidos em suspensão foram separados em centrífuga (modelo Hitachi CR22 GIII) com uma velocidade de rotação ajustada a 18800 g; o sobrenadante foi armazenado sob refrigeração a 4 °C para análises e extração do biocomposto, enquanto os sólidos foram resuspenso com 0,3 L de meio de cultivo com 10 g/L de fonte de carbono. Após o ajuste do pH de 6,8 a 7,5 dessa suspensão, a mistura foi alimentada ao compartimento anódico.

Figura 10: CCM após *startup*



4.5 ESTABILIZAÇÃO DA CCM

4.5.1 Corrente e potência elétrica

Para verificação da estabilidade e do melhor desenvolvimento da célula, foram determinados os parâmetros elétricos da mesma de acordo com o passar do tempo de funcionamento do CCM e com a voltagem gerada. A estabilidade do sistema foi considerada no momento em que a célula apresentou valores de voltagem gerada constantes. A determinação da corrente elétrica gerada pelo sistema foi realizada de acordo com a Lei de Ohm, descrita na Equação 2. Já a potência do sistema determinado em watt calculou-se através da Equação 3. A densidade de corrente e de potência foi determinada dividindo os valores de potência e corrente, respectivamente, pela área do eletrodo anódico (115 cm²).

$$I = \frac{V}{R_{ext}} \quad (2)$$

$$P = I^2 \cdot R_{ext} \quad (3)$$

Onde I (A) é a corrente elétrica gerada, V (V) é a diferença de potencial entre os eletrodos, R_{ext} (Ω) é a resistência externa aplicada ao sistema e P é a potência atingida pelo reator (W)

4.5.2 Curva de Polarização

Para construção de uma curva de polarização em uma célula eletroquímica aplicam-se diferentes valores de resistores conhecidos e realiza-se a leitura da diferença de potencial elétrico (ddp) gerada entre o ânodo e o cátodo para cada uma das resistências externas aplicadas. A curva de polarização foi realizada após estabilização da célula para diminuir a resistência externa aplicada no sistema. A curva de polarização foi realizada após 25 dias de experimento, para a sua construção aplicou-se 19 resistores com resistência externa entre 4,7 e 10000 Ω . A cada resistência aplicada aguardou-se um tempo de 20 min para que a voltagem gerada estabilizasse e assim anotou-se o resultado, esse procedimento foi repetido para todos os resistores. Com os resultados de voltagem gerada adquiridos, calcula-se a densidade de corrente e potência elétrica da célula, e assim é possível plotar um gráfico de densidade de

corrente elétrica *versus* diferença de potencial e densidade de corrente elétrica *versus* densidade de potência elétrica. Com a curva confeccionada através destes valores determina-se a resistência interna e a potência máxima atingida no sistema.

4.6 OBTENÇÃO DE BIOCOMPOSTOS

A produção dos biocompostos é realizada na câmara anódica, onde ocorre a oxidação da matéria orgânica. A célula foi alimentada diariamente com 10 g/L de CH₃COOH e meio de cultivo para garantir o crescimento dos micro-organismos, suas atividades de produção de energia elétrica e de biocomposto. O sobrenadante do efluente do reator resultante do processo de centrifugação após a alimentação foi armazenado sob refrigeração para realização dos ensaios de extração do biocomposto.

4.7 SEPARAÇÃO DE BIOCOMPOSTOS

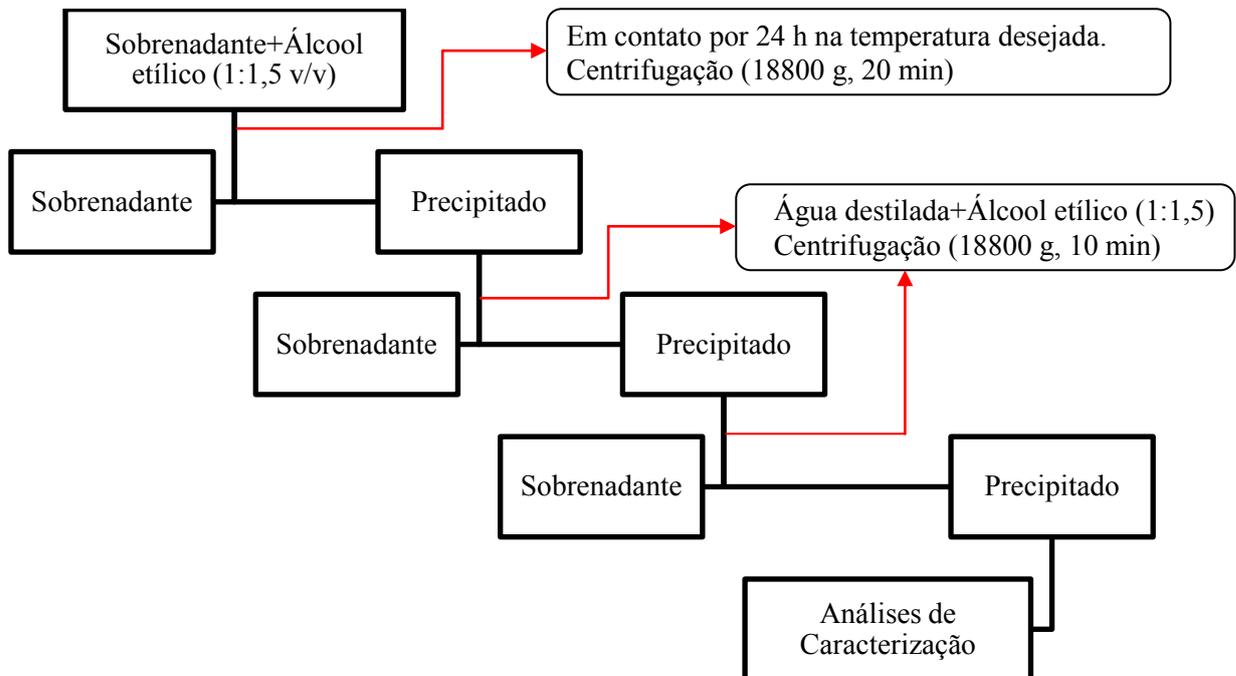
Diferentes métodos podem ser aplicados para a extração de biocompostos obtidos a partir de CCMs, podendo eles serem físicos ou químicos. Os níveis utilizados no planejamento baseou-se no método proposto por Xu et al. (2014) adaptado, ao qual utiliza o álcool etílico para precipitar o bioproduto.

4.7.1 Metodologia de separação

Para a separação do biocomposto, juntou-se o sobrenadante do processo de alimentação de 30 dias e homogeneizou-se. Desta mistura de sobrenadantes, utilizou-se 700 mL para cada experimento. Ao sobrenadante adicionou-se álcool etílico na concentração desejada na proporção de 1:1,5 v/v (sobrenadante:álcool etílico), e após homogeneizar bem ajustou-se o pH da mistura de acordo com o experimento realizado. Para a aferição do pH utilizou-se HCl p.a. ou NaOH 50%. Após este procedimento, transferiu-se a mistura de sobrenadante+álcool etílico para um recipiente de plástico vedado. A solução permaneceu em repouso em incubadora BOD (EletroLab, Modelo EL 101/2) na temperatura especificada do experimento por 24 h. Posteriormente, realizou-se o processo de centrifugação (modelo Hitachi CR22 GIII) a 18800 g por 20 min na temperatura estudada. Após a centrifugação, descartou-se o sobrenadante e ressuspendeu-se o precipitado com 20 mL de água destilada, e

em seguida, adicionou-se álcool etílico na proporção 1:1,5 (30 mL) e realizou-se nova centrifugação a 18800 g por 10 min. Após, realizou-se novamente uma etapa ressuspensão dos sólidos com 10 mL de água destilada e 15 mL de álcool etílico, e realizou-se a centrifugação nas mesmas condições da anterior. O procedimento esquemático desse processo de separação e purificação do biocomposto está demonstrado na Figura 11. O sólido resultante desse processo de separação foi armazenado em tubos de falcon com 1 mL de água destilada e conservados à temperatura de 4°C em refrigerador, para posterior análise de TOC. O pH e a temperatura do processo de separação do biocomposto variaram de acordo com o planejamento experimental apresentado no item 4.7.2.

Figura 11: Procedimento esquemático do processo de separação do biocomposto com precipitações sucessivas



4.7.2 Planejamento Experimental

Com base no método proposto por Xu et al. (2014), de extração de biocomposto, foi realizado um planejamento experimental para determinar a melhor condição de separação do biocomposto produzido na CCM. As variáveis estudadas no planejamento experimental fatorial 2^3 e 3 pontos centrais estão demonstradas na Tabela 4. Neste planejamento foi avaliado a influência das variáveis independentes, sendo elas a concentração de álcool etílico (%), temperatura de separação (°C) e pH, na variável dependente concentração de carbono

total no biocomposto extraído (mg/L). A Tabela 4 apresenta os respectivos experimentos realizados de acordo com os parâmetros do planejamento experimental.

Tabela 4: Planejamento experimental 2^3 com 3 pontos centrais com os níveis reais e codificados

EXP	Níveis reais e codificados		
	Temperatura	pH	Concentração de etanol
1	-1 (4°C)	-1 (4)	-1 (50%)
2	1 (25°C)	-1 (4)	-1 (50%)
3	-1 (4°C)	1 (10)	-1 (50%)
4	1 (25°C)	1 (10)	-1 (50%)
5	-1 (4°C)	-1 (4)	1 (100%)
6	1 (25°C)	-1 (4)	1 (100%)
7	-1 (4°C)	1 (10)	1 (100%)
8	1 (25°C)	1 (10)	1 (100%)
9	0 (14,5°C)	0 (7)	0 (75%)
10	0 (14,5°C)	0 (7)	0 (75%)
11	0 (14,5°C)	0 (7)	0 (75%)

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizou-se o *software* Statistica 7.0 (StatSoft, EUA) para executar o planejamento experimental e avaliar a um nível de significância estatística de 95% ($p < 0,05$) o efeito das variáveis independente na variável dependente, conteúdo de carbono total, o que caracteriza a separação do biocomposto. O Excel foi utilizado para tratamento dos dados das curvas de polarização e de densidade de potência e corrente das análises eletroquímicas.

4.9 CARACTERIZAÇÃO DO BIOCOMPOSTO

4.9.1 Carbono Total

O conteúdo de carbono total foi utilizado na caracterização do biocomposto obtido em cada experimento do planejamento experimental, como variável resposta. E também por fim, para caracterizar o biocomposto separado nas suas melhores condições.

As concentrações de Carbono Total (CT) e Inorgânico (CIT) foram determinadas de acordo com método de combustão de alta temperatura (APHA, 2012) utilizando um analisador de carbono (TOC-V CPN, Shimadzu®, Japão).

4.9.2 Análise Reológica

O bioproduto produzido e separado da CCM na melhor condição de extração apresentada após execução do planejamento experimental foi caracterizado quanto a sua viscosidade em reômetro Brook Field DV-III ULTRA (modelo: RVDV-3UCP-51) com spindle CP51 e banho com temperatura controlada Brook Field (modelo: TC-505). Foram analisados 1 mL de amostra nas temperatura de 20 e 40 °C.

4.9.3 Análise morfológica e elemental do biocomposto

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada para avaliar a morfologia do biocomposto produzido e separado nas suas melhores condições, utilizando microscópio eletrônico de 120 keV (JEOL, JSM 6060, Japão), com magnificação de 300x, 500x e 1000x. Já a espectroscopia por energia dispersiva (EDS), foi realizada para quantificar os elementos presente neste mesmo bioproduto. Para realização dessa análise a amostra foi metalizada com ouro em pulverizador de ouro (Denton Vacuum, Desk V, EUA).

Para a realização de ambas as análises a amostra de biocomposto foi seca sob fluxo de N₂, realizando a secagem a cada 5 min e pesando até massa constante. Ambas as análises foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da Zona Sul (CEME-SUL) da Universidade Federal do Rio Grande.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CONSTRUÇÃO E *STARTUP* DA CCM

Nas primeiras tentativas de *startup* da CCM tiveram-se problemas de vazamentos e morte celular, o que fez com que a célula fosse construída três vezes. Para solucionar esses problemas foi necessário uma melhor vedação das placas de acrílico adicionando cola de silicone nas suas extremidades e uma vedação de borracha entre as placas. A morte celular ocorreu devido ao rompimento da membrana por meio do atrito com o agitador, com isso trocou-se o agitador de lugar afastando-o da membrana. Após a conclusão da etapa de confecção da célula, foi possível dar-se início ao experimento e obteve-se dados de diferença de potencial elétrico (ddp) com poucos dias de funcionamento.

A etapa de *start up* durou aproximadamente 25 dias, ao qual após esse tempo obteve-se a estabilização da célula, ou seja, uma geração uniforme de ddp utilizando a resistência externa de $1\text{ k}\Omega$. Foi estabelecido a estabilização da célula no vigésimo quinto dia porque de acordo com De Sá et al. (2017) e Teleken et al. (2017), CCMs com configurações semelhantes a utilizada neste trabalho atingiram ddp máxima entre 0,6 e 0,7 V com resistência externa de $1\text{ k}\Omega$, e esta foi a ddp atingida durante este período. As Figuras 12 e 13, respectivamente, apresentam os dados de ddp e densidade de corrente elétrica no período de *startup* até o momento de sua estabilização, e assim pode-se verificar a máxima diferença de potencial elétrico atingida nesse período.

Figura 12: Diferença de potencial elétrico nos primeiros 30 dias

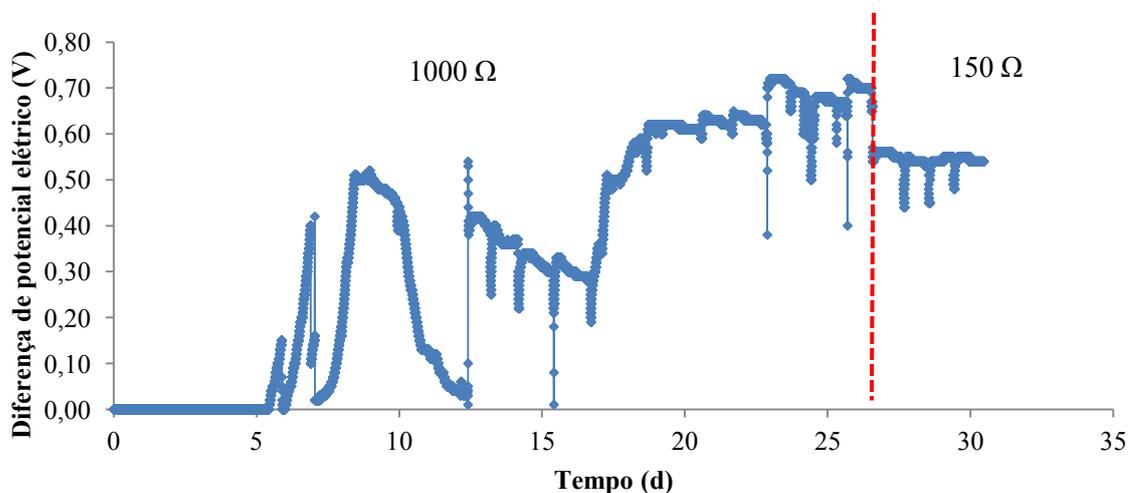
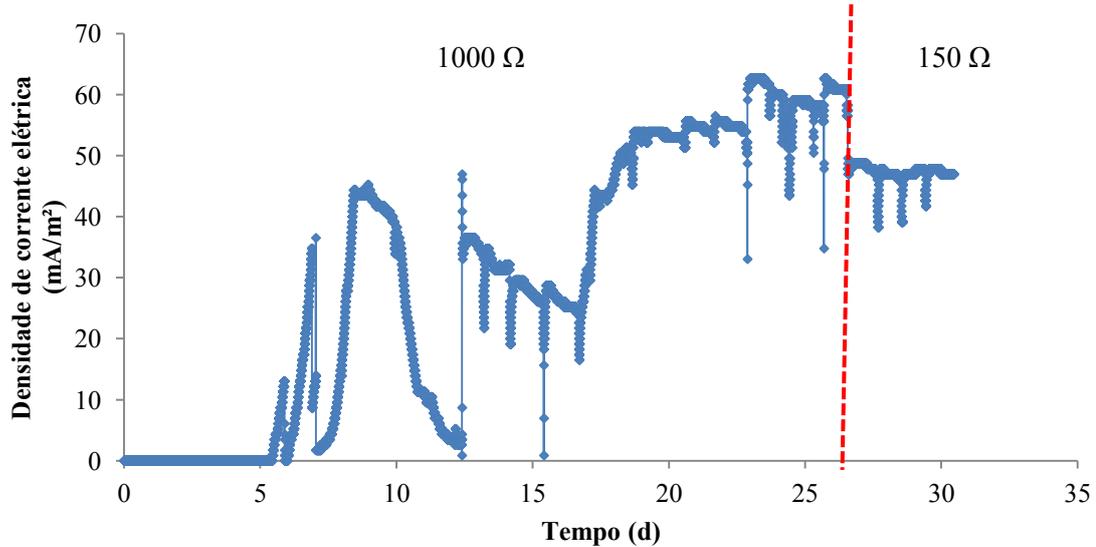


Figura 13: Densidade de corrente elétrica nos primeiros 30 dias



Como observa-se na Figura 12, o primeiro valor de voltagem atingido foi no 6º dia de experimento. A partir deste dia, a célula apresentou valores de ddp satisfatórios para os primeiros dias de experimento, porém estes valores oscilavam bastante, principalmente em seu processo de alimentação que ocorria diariamente. Antes do 10º dia de experimento, ele apresentou picos de ddp que variavam de 0,4 a 0,5 V. Este arranque inicial do reator é considerado bem sucedido de acordo com critérios expostos por Liu et al. (2011), ao qual define valores acima de 0,2 V como ocorrência de geração elétrica biologicamente.

A partir do 23º dia, a célula combustível microbiológica apresentou seus melhores resultados de geração elétrica com a resistência de 1 kΩ. Como pode-se observar nas Figuras 12 e 13, neste dia a célula apresentou picos de ddp de 0,71 V e densidade de corrente de 61,74 mA/m². A partir deste período consideramos que a célula atingiu sua estabilidade, apresentando valores sempre próximos aos demonstrados.

5.2 CURVA DE POLARIZAÇÃO

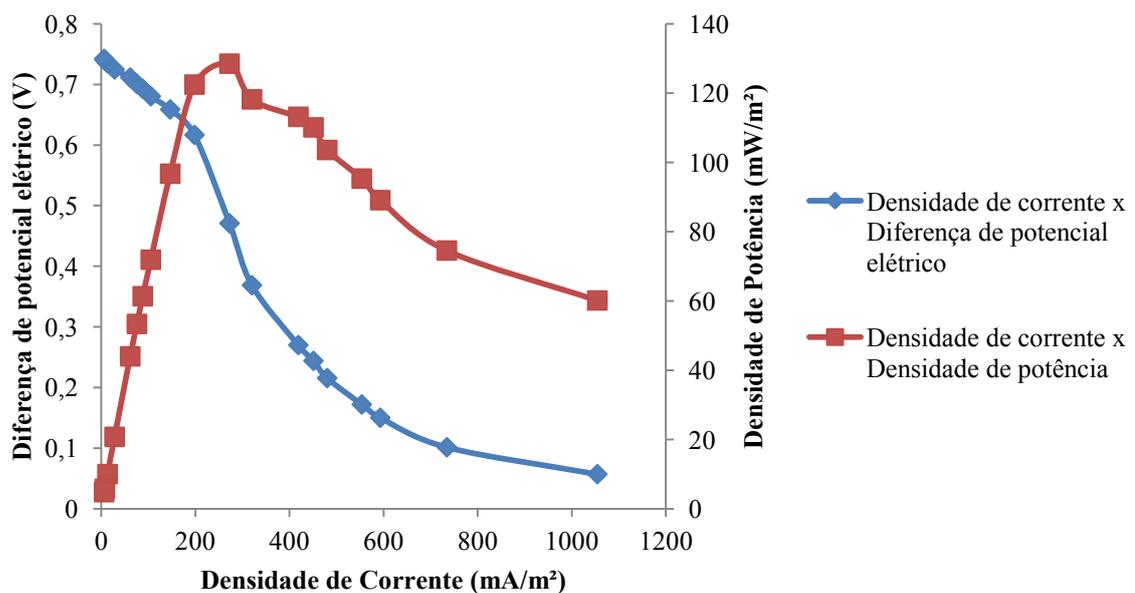
Após a estabilização da célula, realizou-se a curva de polarização para verificar com qual resistência externa o sistema atingiria maior densidade de potência e com isso determinar a sua resistência interna através da inclinação da curva. As resistências aplicadas no sistema para confecção da curva e seus respectivos resultados estão expostos na Tabela 5.

Tabela 5: Resultados de densidade de potência e densidade de corrente obtidos da curva de polarização

E (V)	R (k Ω)	I (mA)	P (mW)	p (mW/m ²)	i (mA/m ²)
0,057	0,0047	12,13	0,69	60,11	1054,58
0,1014	0,012	8,45	0,86	74,51	734,78
0,1501	0,022	6,82	1,02	89,05	593,28
0,172	0,027	6,37	1,10	95,28	553,95
0,2155	0,039	5,53	1,19	103,55	480,49
0,2439	0,047	5,19	1,27	110,06	451,25
0,2699	0,056	4,82	1,30	113,11	419,10
0,3686	0,1	3,69	1,36	118,14	320,52
0,4707	0,15	3,14	1,48	128,44	272,87
0,6165	0,27	2,28	1,41	122,41	198,55
0,6585	0,39	1,69	1,11	96,68	146,82
0,6803	0,56	1,21	0,83	71,86	105,64
0,6925	0,68	1,02	0,71	61,32	88,55
0,7004	0,8	0,88	0,61	53,32	76,13
0,7112	1	0,71	0,51	43,98	61,84
0,7245	2,2	0,33	0,24	20,75	28,64
0,7346	4,7	0,16	0,11	9,98	13,59
0,7395	8,2	0,09	0,07	5,80	7,84
0,742	10	0,07	0,06	4,79	6,45

Onde: E é a diferença de potencial elétrico (V), R é a resistência externa (k Ω), I é a corrente elétrica (mA), P é a potência atingida pelo sistema (mW), p é a densidade de potência (mW/m²) e i é a densidade de corrente elétrica (mA/m²).

Figura 14: Curva de Polarização da CCM com resistência externa de 1000 Ω

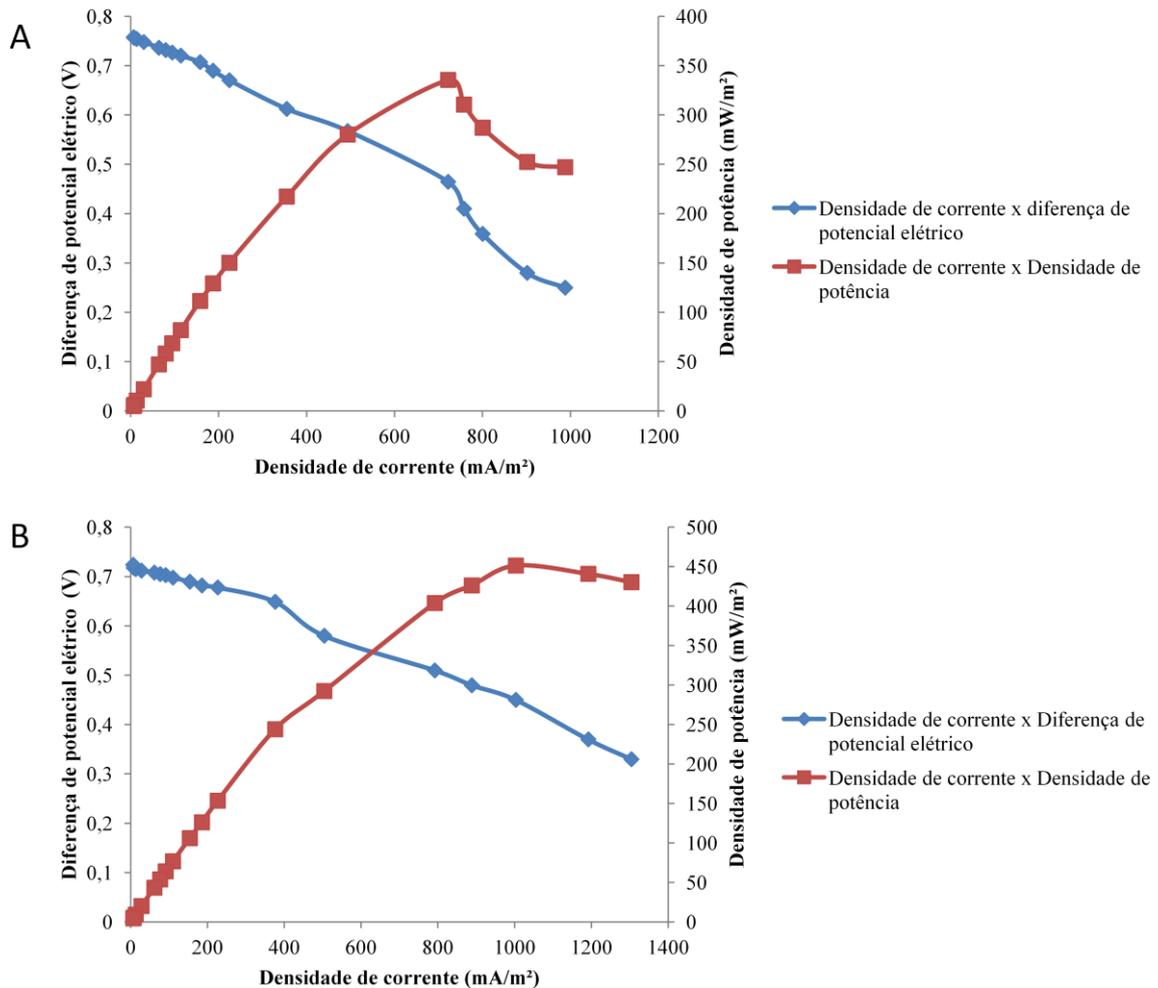


Como observa-se na Tabela 6 e na Figura 14, a densidade de potência máxima foi obtida com a resistência externa de 150 Ω , com o valor de 128,44 mW/m². A partir dos resultados da Figura 14 calculou-se a resistência interna (R_{int}), na região que segue a Lei de Ohm, utilizando a Equação 1. O valor de resistência interna para a célula neste momento foi de aproximadamente 60 Ω . De acordo com estudos realizados por Logan (2008), o valor da resistência interna deveria ser maior, já que este deve estar o mais próximo da resistência externa utilizada. Porém, este valor mais baixo pode ser explicado devido ao pouco tempo de funcionamento da célula e também a cultura de micro-organismos presente no sedimento utilizado, pois isto também influencia na resistência interna adquirida. De Sá et al. (2017) trabalhou com uma CCM de volume anódico de 1,5 L e atingiu densidade de potência máxima de 27,53 mW/m², comparando este resultado com o obtido neste trabalho, teve-se um aumento de 4,66 vezes na densidade de potência máxima com a diminuição do volume do ânodo, ambos utilizando a resistência externa de 1000 Ω para funcionamento da célula.

Sabendo-se que o experimento atingiu potência máxima com a resistência externa de 150 Ω , diminuiu-se a resistência externa do experimento de 1 k Ω para esta, e com isso realizou-se as demais etapas do trabalho.

Durante o tempo de funcionamento da CCM com a resistência externa de 150 Ω , realizou-se outras curvas de polarização para verificar a resistência interna atingida no sistema, a Figura 15 apresenta a representação das curvas de polarização realizadas após 120 e 180 dias após a troca da resistência externa.

Figura 15: Curvas de polarização durante o funcionamento da CCM com resistência externa de $150\ \Omega$: (A) curva de polarização realizada após 120 dias da troca de resistência externa e (B) curva de polarização realizada após 190 dias da troca de resistência externa.



Como observa-se na Figura 15A e 15B, encontrou-se valores de densidade de potência máxima de 335 e 451 mW/m^2 , respectivamente. Comparando com os dados de potência máxima encontrados por diferentes estudos demonstrados na Tabela 2, os resultados atingidos apresentaram-se superiores aos descritos por De Sá et al. (2017) e Teleken et al. (2017), ao qual utilizaram o mesmo substrato, tipo de eletrodo e acceptor de elétrons. Esta variação não é explicada devido a diferença de resistência externa utilizada, De Sá et al. (2017) e Teleken et al. (2017) utilizaram em seus experimentos apenas a resistência externa de $1\ \text{k}\Omega$ enquanto o trabalho em questão realizou a diminuição da resistência externa para $150\ \Omega$, o que fez com que ocorresse um aumento da potência máxima atingida.

Com os dados plotados no gráfico foi possível calcular a resistência interna no sistema, que correspondeu a 36 e 21 Ω , respectivamente. De acordo com Mesquita (2016),

essa variação entre a resistência interna encontra ocorre devido a variação da resistência externa que controla o fluxo de elétrons entre o ânodo e o cátodo e com a formação do biofilme com o decorrer do tempo.

5.3 FUNCIONAMENTO DA CCM

Após a troca da resistência externa de $1\text{ k}\Omega$ para $150\ \Omega$, houve uma diminuição de aproximação 19% no valor de ddp gerado, porém levando em consideração o grande declínio do valor da resistência externa aplicada de $1000\ \Omega$ para $150\ \Omega$ e a diminuição pouco significativa no valor de ddp de $0,72\text{ V}$ para $0,58\text{ V}$, é mais vantajoso utilizar uma resistência de menor valor no processo, porque menor a resistência externa aplicada maior será a densidade de corrente elétrica obtida. Observa-se nas Figuras 16 e 17 que foi possível ter resultados tão satisfatórios de ddp e densidade de corrente elétrica quanto com a resistência de $1\text{ k}\Omega$, já que a diferença de potencial elétrico manteve-se próximo a $0,60\text{ V}$ e densidade de corrente elétrica de 50 mA/m^2 durante todo o seu processo, com picos negativos em suas etapas de alimentação e execução das curvas de polarização. Guerreiro (2019) apresentou picos de ddp de $0,5\text{ V}$ em célula utilizando ferricianeto de potássio como acceptor de elétrons, acetato como substrato e resistência externa de $560\ \Omega$. Comparando os resultados de ddp observa-se que foram semelhantes, porém a resistência externa utilizada no trabalho em questão é 3,73 vezes menor que a utilizada por Guerreiro (2019).

Figura 16: Diferença de potencial elétrico durante processo

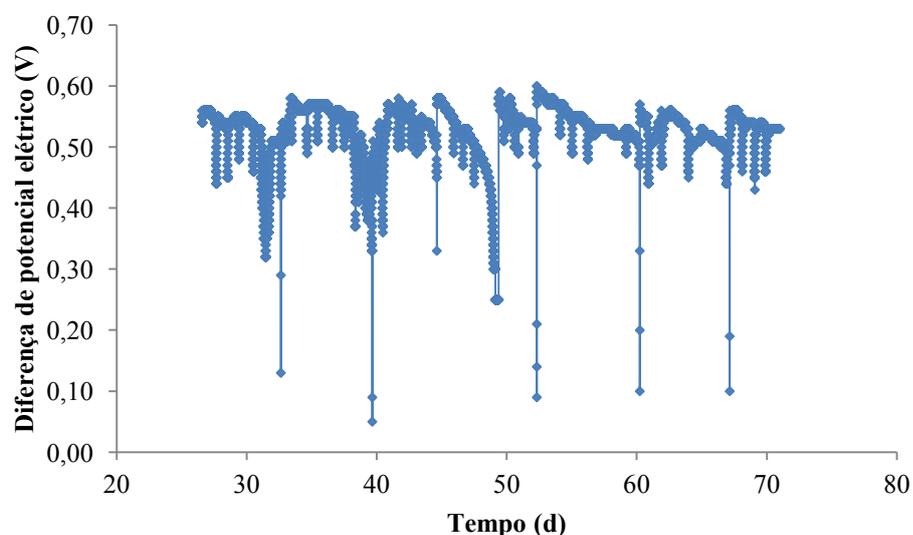
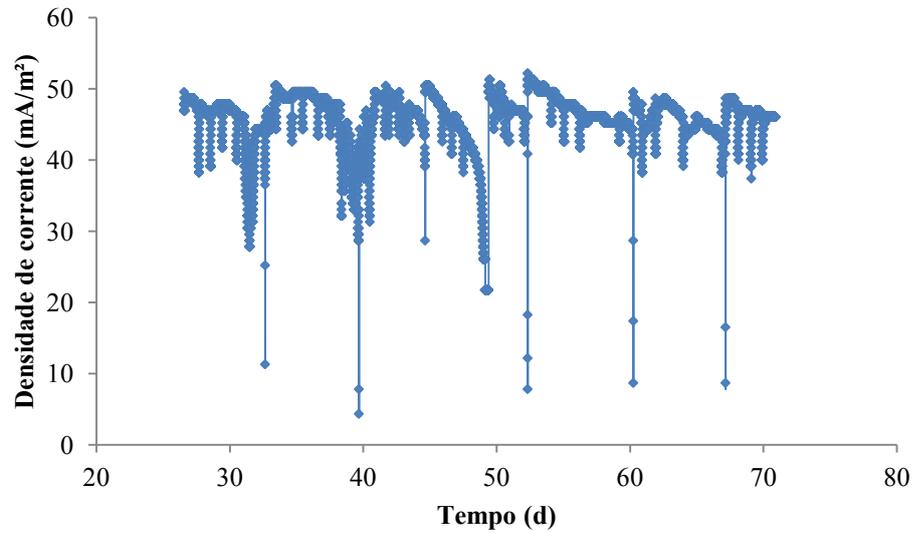


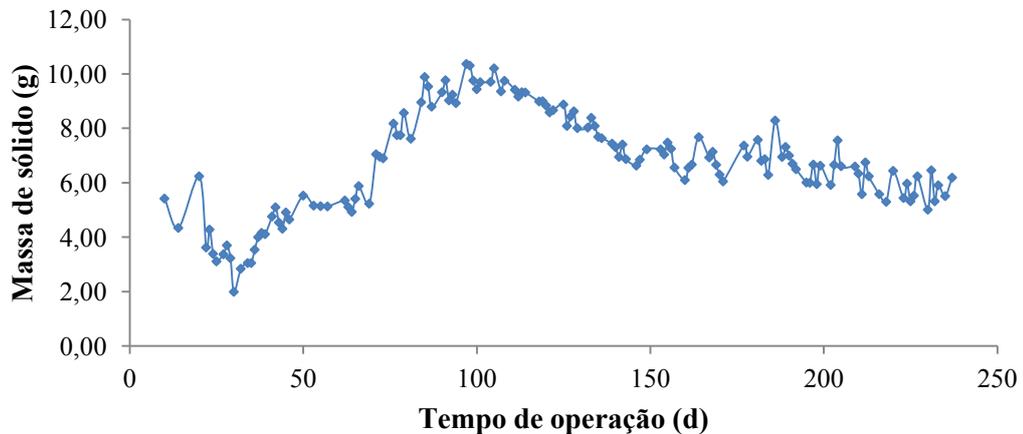
Figura 17: Densidade de corrente elétrica durante o processo



5.4 RECICLO DE SÓLIDOS NA ALIMENTAÇÃO

Tendo em vista que o modo de operação da CCM era com reciclo parcial de sólidos, a massa de sólidos retirada a cada etapa diária de alimentação era retornada ao compartimento anódico com o objetivo de reciclar as células.. Na Figura 18, observa-se que ocorreu um aumento na quantidade de sólidos nos primeiros meses de experimento e depois houve um declínio até manter-se parcialmente constante. Esta variação pode ter ocorrido devido a falta de processos de lavagens para reciclar os sólidos mortos existentes dentro do compartimento anódico, que devem ser reciclados para o melhor desenvolvimento (GUERREIRO, 2019). Os processos de lavagens no reator servem para eliminar as células mortas e manter apenas as que estão aderidas e em desenvolvimento no eletrodo.

Figura 18: Massa de sólidos na alimentação



5.5 PRODUÇÃO DE BIOCOMPOSTOS

Durante o processo de geração de eletricidade, estudou-se também a produção paralela do biocomposto. Esta produção ocorreu no compartimento anódico e a cada processo de alimentação de 0,3 L, que ocorria diariamente, reservou-se o sobrenadante da etapa de centrifugação.

O sobrenadante da centrifugação resultante do processo de alimentação foi utilizado para as etapas de separação.

5.6 SEPARAÇÃO DE BIOCOMPOSTOS

5.6.1 Planejamento Experimental

Avaliou-se através do planejamento experimental composto central, a influência das variáveis independentes: temperatura, pH e concentração de álcool etílico na variável dependente concentração de carbono total contida no precipitado. Para esta análise, realizou-se um planejamento 2^3 e 3 pontos centrais, conforme Tabela 4. Para o processo de separação do biocomposto utilizou-se o método proposto por Xu et al. (2014), ao qual utiliza o álcool etílico para realizar a precipitação.

Para a análise estatística da etapa de separação do biocomposto produzido no compartimento anódico, utilizou-se os resultados de carbono total de cada ensaio, estes resultados estão demonstrados na Tabela 6 e foram determinados através de analisador de carbono total.

Tabela 6: Matriz do planejamento 2³ com a variável resposta carbono total.

EXP	Temperatura (°C)	pH	Concentração (%)	TC (mg/L)
1	4	4	50	15,41
2	25	4	50	19,7
3	4	10	50	10,01
4	25	10	50	21,91
5	4	4	100	50,32
6	25	4	100	47,45
7	4	10	100	77,8
8	25	10	100	49,22
9	14,5	7	75	24,89
10	14,5	7	75	26,47
11	14,5	7	75	25,89

A Tabela 7 apresenta os resultados da análise estatística, onde observa-se a influência individual e combinada das variáveis temperatura (°C), pH e concentração de álcool etílico (%), na concentração de carbono total, através dos efeitos estimados, erro padrão e t-student.

Tabela 7: Efeitos estimados das variáveis e parâmetros da análise estatística.

Fator	Efeitos	Erro Puro	t (2)	p-level
Temperatura (1)	-3,8150	6,992294	-0,54560	0,614340
pH (2)	6,5150	6,992294	0,93174	0,404215
Concentração (3)	39,4400	6,992294	5,64050	0,004863
(1) e (2)	-4,5250	6,992294	-0,64714	0,552805
(1) e (3)	-11,9100	6,992294	-1,70330	0,163720
(2) e (3)	8,1100	6,992294	1,15985	0,310624

Os valores dos efeitos indicaram que a variável concentração de álcool etílico, foi a que apresentou influência estatística significativa, ao nível de 95% de confiança, na concentração de carbono total. Através da análise é possível observar a influência desta variável, no nível positivo, o que indica que a maior concentração de carbono foi obtida para os maiores valores de concentração de álcool etílico. Diferente da variável concentração de álcool etílico, que foi a que apresentou efeito significativo, as variáveis temperatura e pH não apresentaram efeito significativo, bem como a interação entre estas.

A Tabela 8 apresenta a análise de variância da variável independente, concentração de álcool etílico, frente a variável dependente concentração de carbono total.

Tabela 8: Análise da variância para a concentração de álcool etílico

	SS	dF	MS	F	p
Concentração de álcool etílico	3111,027	1	3111,027	31,81518	0,004863
Erro	391,137	4	97,784		
Total SS	4072,355	10			

A análise da variância permite para validar ou não o modelo através do valor de F no teste de Fisher (Tabela 9).

Tabela 9: Cálculo do teste de Fischer.

Fator de variação	Soma quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado	R ²
Regressão	3681,1	6	613,52	6,27	6,163	0,90395
Resíduo	391,14	4	97,78			
Total	4072,26	10				

O F calculado foi de 6,27, sendo o F tabelado com um nível de significância de 95% e de 6,163, conforme Anexo I. Portanto, o calculado é somente 1,02 vezes maior que o F tabelado, isso faz-se concluir que o modelo é significativo devido o valor de R² mas não é preditivo, assim não é possível plotar a superfície resposta, já que para isso o F calculado deve ser de 3 a 4 vezes maior que o tabelado.

A segunda variável com efeito maior foi o pH, mais próximo do nível positivo. E posteriormente, a temperatura mais próxima do nível negativo. Baseando-se no resultado da análise estatística definiu-se as condições de separação do biocomposto, para obtenção deste produto com maior concentração de carbono orgânico total. Logo as condições para uma maior concentração de carbono total no biocomposto são temperatura de 4°C, pH básico de 10 e concentração de álcool etílico de 100%.

De acordo com estudo realizado por Xu et al., 2014 o rendimento de polissacarídeos totais aumenta com a elevação da concentração de álcool etílico e diminuição da temperatura de refrigeração, que geralmente é realizada em torno de 4°C, o que se confirma com os resultados obtidos do planejamento experimental. Outro fator importante que é verificado

neste trabalho é que o efeito do valor do pH do sobrenadante não é significativo, e segundo estes autores a variável pH não tem efeito no processo de separação, o que está de acordo com este trabalho.

5.7 EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO BIOCOMPOSTO

5.7.1 Extração do biocomposto

Após a determinação das melhores condições para a separação do biocomposto de pH 10, concentração de etanol 100% e temperatura de 4°C, realizou-se a extração utilizando os parâmetros de separação para assim realizar as análises de caracterização. Antes de realizar a caracterização do biocomposto, realizou-se a secagem do mesmo.

5.7.2 Secagem do biocomposto

Na Figura 20, tem-se a imagem do precipitado úmido antes de sua secagem. Após a secagem da amostra através de fluxo de N₂, obteve-se que o teor de umidade na mesma que foi de aproximadamente 50% e com isso obteve-se a massa seca de precipitado em cada ensaio. O resultado da secagem da amostra é apresentado na Figura 19.

Figura 19: Dados da secagem do biocomposto por fluxo de N₂

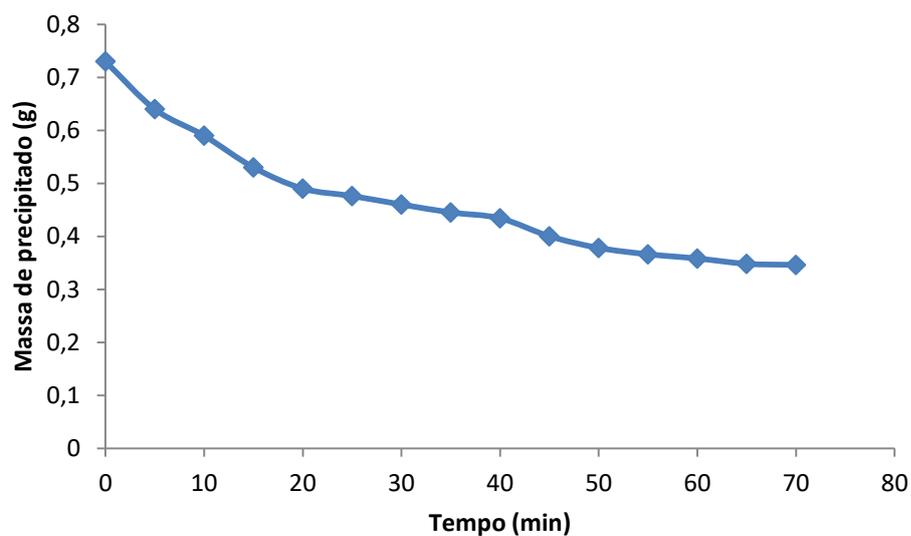


Figura 20: Biocomposto após processo de separação



5.7.3 Análise de Carbono Total (CT)

Na análise de carbono total utilizou-se uma amostra úmida de 0,51 g e descontando que 50% desta é água, ou seja, tem-se uma massa seca de 0,26 g. Após a análise em analisador de carbono total verificou-se que a concentração de carbono total na amostra é de 34,14 mg/L, de carbono inorgânico 0,9310 mg/L e carbono orgânico 33,21 mg/L. Com isso, pode-se determinar que 6,8% da amostra em base seca é carbono, ou seja, 0,01768 g da amostra, o que pode ser considerado uma quantidade pequena de carbono.

5.7.4 Análise Reológica

Realizou-se a análise reológica para determinar a viscosidade e a taxa de cisalhamento do biocomposto produzido na CCM. Esta análise foi realizada em duas faixas de temperatura, 20 e 40°C. Como está detalhado na Tabela 10, pode-se observar que o produto mostrou-se mais viscoso na temperatura de 20°C, ou seja, em temperaturas maiores o produto tende a ter menos resistência ao escoamento. O mesmo resultado repetiu-se para o cisalhamento. Verifica-se também que para ambas as temperaturas ao aumentar a velocidade de rotação diminuiu a viscosidade, resultado este confirma-se já que ao aumentar a velocidade o contato entre o spindle e a amostra é mais brusco e com isso diminui a viscosidade do mesmo. De

acordo com Xing et al. (2019), o biocomposto tem tendência a ser um fluido não-newtoniano, já que para estes fluidos a viscosidade dinâmica diminui com o aumento da taxa de cisalhamento, o que pode-se verificar nos dados expostos na Tabela 10.

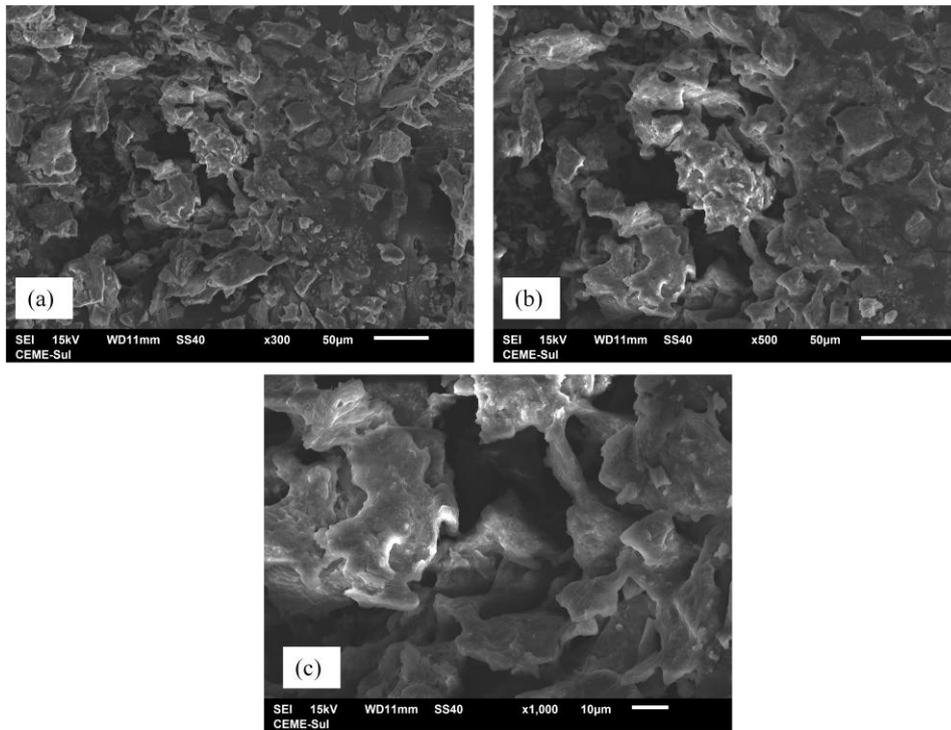
Tabela 10: Resultados da análise reológica

Velocidade	Temperatura			
	20°C		40°C	
	Viscosidade (Pa.s)	Cisalhamento (Pa)	Viscosidade (Pa.s)	Cisalhamento (Pa)
000	14.530	001	153	001
002	2.012	007	089	007
003	1.311	012	066	012
005	1.066	018	045	018
006	753	023	043	023
007	617	028	028	028
009	571	034	029	034
010	548	039	025	039
012	481	045	022	045
013	314	050	024	050
014	291	055	022	055
016	242	061	020	061
017	201	066	021	066
019	208	072	019	072
020	152	077	018	077
021	140	083	017	083
023	129	088	018	088
024	121	093	017	093
026	079	099	016	099
027	090	104	017	104

5.7.5 Análise morfológica em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

A Figura 21 apresenta os resultados da análise morfológica do biocomposto caracterizado em diferentes zooms. Como pode-se observar na a estrutura apresentou-se de forma rígida e não uniforme.

Figura 21: Imagens de microscopia eletrônica de varredura: (a), (b) e (c) biocomposto produzido na CCM e sua superfície (x300, x500, x1000 respectivamente)



5.7.6 Análise Elementar em EDS

Os dados obtidos por EDS estão demonstrados na Tabela 11, onde os elétrons dos elementos C, O, Na, Mg, P e Ca foram retirados da cama K, e do elemento Nb foi retirado da cama L. Observa-se na Tabela 11 uma concentração alta de 43,26% de oxigênio, 24,12% de sódio e 19,01% de fósforo no biocomposto produzido na célula combustível microbiana inoculada com sedimento marinho. Verifica-se também que o percentual de carbono na análise de EDS mostrou-se semelhante ao obtido na análise de TOC, ao qual apresentou 6,8%.

Tabela 11: Resultados da análise do EDS

Componente	C-K (%)	O-K (%)	Na-K (%)	Mg-K (%)	P-K (%)	Ca-K (%)	Nb-L (%)
Composição	6,17	43,23	24,10	0,49	19,01	1,39	5,59

6 CONCLUSÃO

Os estudos realizados neste trabalho comprovaram que é possível utilizar uma célula combustível microbiológica inoculada com sedimento marinho para produzir energia elétrica.

A resistência externa interfere na densidade de corrente produzida pela célula combustível microbiológica, pois diminuiu-se a resistência externa e ao atingir a estabilidade da célula ela alcançou valores de densidade de potência com a resistência externa de 150 Ω próximo aos alcançados com a de 1000 Ω .

As melhores condições estudadas para a separação do biocomposto produzido na célula combustível microbiológica foram concentração de álcool etílico em 100%, temperatura de extração próxima a 4°C e pH básico em 10, pois nessas condições apresentou um biocomposto com maior quantidade de carbono total, variável dependente estudada no planejamento experimental, a amostra apresentou 77,8 mg/L.

A caracterização do biocomposto mostrou a complexidade da sua estrutura, tendo em vista que a análise de carbono total indicou que 6,8% da amostra é carbono. A análise de EDS apresentou uma ampla variedade de componentes presentes no bioproduto, sendo seu componente majoritário o oxigênio. E a análise morfológica no MEV apresentou uma estrutura não uniforme, com rugosidades.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Visto que a literatura não fornece muitas informações a respeito de biocompostos produzidos em células combustíveis microbiológicas inoculadas com sedimento contendo cultura microbiana mista, trabalhos posteriores poderão ter como objetivo:

- Estudar a produção de biocompostos obtidos em células combustíveis microbiológicas de leito fluidizado e câmara única;
- Caracterizar o sedimento em relação as culturas microbianas presentes e verificar a influência do tipo de cultura na produção do biocomposto;
- Verificar a influência da agitação do compartimento anódico e a possível presença de oxigênio na produção.
- Aplicar diferentes resistências externas na CCM e comparar os biocompostos produzidos em cada uma delas.

REFERÊNCIAS

APHA; AWWA; WPFC. Standard Methods for the examination water and wastewater, 21^a Ed, American Public Health Association, Washington, 1995.

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.

CAO, B.; SHI, L.; BROWN, R.N.; XIONG, Y.; FREDRICKSON, J.K.; ROMINE, M.F.; MARSHALL, M.J.; LIPTON, M.S.; BEYENAL, H. Extracellular polymeric substances from *Shewanella sp.* HRCR-1 biofilms: characterization by infrared spectroscopy and proteomics. **Environ. Microbiol**, v. 13, p. 1018–1031, 2011.

CHENG, S.; XING, D.; LOGAN, B. E. Electricity generation of single- chamber microbial fuel cells at low temperatures. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, n. 5, p. 1913–1917, 2011.

COMTE, S., GUIBAUD, G., BAUDU, M. Relations between extraction protocols for activated sludge extracellular polymeric substances (EPS) and complexation properties of Pb and Cd with EPS: part II. Consequences of EPS extraction methods on Pb²⁺ and Cd²⁺ complexation. **Enzym. Microb. Technol**, v. 38, p. 246–252, 2006.

DAI, Y.; XIAO, Y.; ZHANG, E.; LIU, L.; QIU, L.; YOU, L.; GURUMURTHY, D.M.; CHEM, B.; ZHAO, F. Effective methods for extracting extracellular polymeric substances from *Shewanella oneidensis MR-1*. **Water Sci. Technol**, v. 74, p. 2987–2996, 2016.

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. **Bioresource Technology**, v. 243, p. 512-519, 2017.

DEEKE, A. **Capacitive bioanodes for electricity storage in Microbial Fuel Cells**. Tese de Doutorado - Wageningen University, Netherlands, 2014.

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

ELMEKAWY, A., SRIKANTH, S., BAJRACHARVA, S., HEGAB, H. M., NIGAM, P. S., SINGH, A., MOHAN, S., PANT, D., Food and agricultural wastes as substrates for bioelectrochemical system (BES): The synchronized recovery of sustainable energy and waste treatment. **Food Research International**, v. 73, p. 213-225, 2015.

FRANKS, A.; MALVANKAR, N.; NEVIN, K. Bacterial biofilms: The powerhouse of a microbial fuel cell. **Biofuels**, v. 1, p. 589-604, 2010.

GUERREIRO, P. **Desenvolvimento de biosensor de matéria orgânica com célula combustível microbiológica de câmara única à base de resíduo de pilha**. Dissertação Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande, 2019.

HONG, P.; HONDA, R.; NOGUCHI, M.; ITO, T. Optimum selection of extraction methods of extracellular polymeric substances in activated sludge for effective extraction of the target components. **Biochemical Engineering Journal**, v. 127, p. 136-146, 2017.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY Key World Energy Statistics 2015, 81. Disponível em: <http://www.iea.org/publications/freepublications/publication/key-world-energy-statistics-2015.html>> Acesso em: 02 de julho de 2019.

JIANG, J.; ZHAO, Q.; WEI, L.; WANG, K. Extracellular biological organic matters in microbial fuel cell using sewage sludge as fuel. **Water Research**, v. 44, p. 2163-2170, 2010.

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.

KEITHLEY, S.E.; KIRISITS, M.J. An improved protocol for extracting extracellular polymeric substances from granular filter media. **Water Res**, v. 129, p. 419-427, 2018.

KOROGLU, E. O.; YORUKLU, H. C.; DEMIR, A.; OZKAYA, B. Scale-Up and Commercialization Issues of the MFCs: Challenges and Implications. In: MOHAN, V.; VARJANI, S.; PANDEY, A. (Eds.). . **Microbial Electrochemical Technology**. [s.l.] Elsevier B.V., 2019. p. 565–583.

KUMAR, S.; KUMAR, V.; MALVAN, S.; SHARMA, J. Microbial fuel cells (MFCs) for bioelectrochemical treatment of different wastewater streams. **Fuel**, v. 254, 2019.

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.

LIMOLI, D.; JONES, C.; WOZNIAK, D. Bacterial Extracellular Polysaccharides in Biofilm Formation and Function. **Microbiol Spectr**, 2015.

LIU, H.; CHENG, S.; LOGAN, B. E. Power Generation in Fed-Batch Microbial Fuel Cells as a Function of Ionic Strength, Temperature, and Reactor Configuration. **Environmental Science and Technology**; v. 14, p. 5488–5493, 2009.

LIU, H.; FANG, H.H.. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges. **J. Biotechnol**, v. 95, p. 249–256, 2002.

LIU, G.; YATES, M.; CHENG, S.; CALL, D.; SUN, D.; LOGAN, B. Examination of microbial fuel cell start-up times with domestic wastewater and additional amendments. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 7301-7306, 2011.

LIU, J.; ZHANG, F.; HE, W.; ZHANG, X.; FENG, Y.; LOGAN, B. E. Intermittent contact of fluidized anode particles containing exoelectrogenic biofilms for continuous power generation in microbial fuel cells. **Journal of Power Sources**, v. 261, p. 278–284, 2014.

LOGAN, B. E. **Microbial fuel cells**, Wiley-Interscience Microbial fuel cells. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New York, 2008.

LOGAN, B.E., HAMELERS, B., ROZENDAL, R. SCHRODER, U., KELLER, J., FREGUIA, S., AELTERMAN, P., VERSTRAETE, W., RABAEY, K. Microbial fuel cells: methodology and technology. **Environmental Science and Technology**. v. 40, p. 5181-5192, 2006.

LOGAN, B. E.; RABAEY, K. Conversion of wastes into bioelectricity and chemicals by using microbial electrochemical technologies. **Science**, v. 337, p. 686 – 690, 2013.

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.

MALVANKAR, N.S.; TUOMINEN, M.T.; LOVLEY, D.R.. Biofilm conductivity is a decisive variable for high-current-density *Geobacter sulfurreducens* microbial fuel cells. **Energy Environ**, v. 5, p. 5790–5797, 2012.

MESQUITA, D. **Produção de Energia Elétrica em Célula Combustível Microbiológica com Sedimento de Dragagem do Porto de Rio Grande**. Dissertação Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande, 2016.

MORAES, P. **Produção de Energia Elétrica em Célula Combustível Microbiana de Leito Fluidizado**. Dissertação Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande, 2016.

PANT, D.; VAN BOGAERT, G.; DIELS, L.; VANBROEKHOVEN, K. A., Review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 1533-1543, 2010.

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.

PRONK, M.; NEU, T.R.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; LIN, Y.M.. The acid soluble extracellular polymeric substance of aerobic granular sludge dominated by *Defluviicoccus sp.* **Water Res**, v. 122, p. 148–158, 2017.

RABAEY, K.; VERSTRAETE, W. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. **Trends in Biotechnology**. n. 23, p. 291-298, 2005.

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.

SHENG, G. P.; YU, H. Q.; YU, Z. Extraction of extracellular polymeric substances from the photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas acidophila*. **Appl. Microbiol. Biotechnol**, v. 67, p. 125–130, 2005.

STANIER, R. Y., INGRAHAM, J. L. **General Microbiology**. 5th edition. MacMillan Press, Londres; 1995.

TELEKEN, J. **Modelagem Matemática da Geração de Corrente Elétrica em uma Célula Combustível Microbiana Inoculada com Micro-organismos Marinhos**. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

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.

WANG, Z.; MA, J.; XU, Y., YU, H.; WU, Z. Power production from different types of sewage sludge using microbial fuel cells: A comparative study with energetic and microbiological perspectives. **Journal of Power Sources**, v. 235, p. 280-288, 2013.

XIA, T.; ZHANG, X.; WANG, H.; ZHANG, Y.; GAO, Y.; BIAN, C.; WANG, X.; XU, P. Power generation and microbial community analysis in microbial fuel cells: A promising system to treat organic acid fermentation wastewater. **Bioresource Technology**, v. 284, p. 72-79, 2019.

XU, J.; YUE, R.; LIU, J.; HO, H.; YI, T.; CHEN, H.; HAN, Q. Structural diversity requires individual optimization of ethanol concentration in polysaccharide precipitation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 67, p. 205-209, 2014.

YANG^a, G.; HUANG, L.; YU, Z.; LIU, X.; CHEN, S.; ZENG, J.; ZHOU, S.; ZHUANG, L.; Anodo potentials regulate Geobacter biofilms: New insights from the composition and spatial structure of extracellular polymeric substances. **Water Research**, v. 159, p. 294-301, 2019.

YANG^b, G.; LIN, J.; ZENG, E.; ZHUANG, L. Extraction and characterization of stratified extracellular polymeric substances in Geobacter biofilms. **Bioresource Technology**, v. 276, p. 119-126, 2019.

ANEXOS

ANEXO I: Tabela de distribuição F de fisher ao nível de 95% de confiança.

Tabela 5. Limites unilaterais da distribuição F de Fisher-Snedecor ao nível de 5% de probabilidade.

GL	V1														
V2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.0	243.9	244.7	245.4	245.9
2	18.513	19.000	19.164	19.247	19.296	19.329	19.353	19.371	19.385	19.396	19.405	19.412	19.419	19.424	19.429
3	10.128	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.785	8.763	8.745	8.729	8.715	8.703
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.094	6.041	5.999	5.964	5.936	5.912	5.891	5.873	5.858
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735	4.704	4.678	4.655	4.636	4.619
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060	4.027	4.000	3.976	3.956	3.938
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637	3.603	3.575	3.550	3.529	3.511
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.688	3.581	3.500	3.438	3.388	3.347	3.313	3.284	3.259	3.237	3.218
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137	3.102	3.073	3.048	3.025	3.006
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020	2.978	2.943	2.913	2.887	2.865	2.845
11	4.844	3.982	3.587	3.357	3.204	3.095	3.012	2.948	2.896	2.854	2.818	2.788	2.761	2.739	2.719
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106	2.996	2.913	2.849	2.796	2.753	2.717	2.687	2.660	2.637	2.617
13	4.667	3.806	3.411	3.179	3.025	2.915	2.832	2.767	2.714	2.671	2.635	2.604	2.577	2.554	2.533
14	4.600	3.739	3.344	3.112	2.958	2.848	2.764	2.699	2.646	2.602	2.565	2.534	2.507	2.484	2.463
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901	2.790	2.707	2.641	2.588	2.544	2.507	2.475	2.448	2.424	2.403
16	4.494	3.634	3.239	3.007	2.852	2.741	2.657	2.591	2.538	2.494	2.456	2.425	2.397	2.373	2.352
17	4.451	3.592	3.197	2.965	2.810	2.699	2.614	2.548	2.494	2.450	2.413	2.381	2.353	2.329	2.308
18	4.414	3.555	3.160	2.928	2.773	2.661	2.577	2.510	2.456	2.412	2.374	2.342	2.314	2.290	2.269
19	4.381	3.522	3.127	2.895	2.740	2.628	2.544	2.477	2.423	2.378	2.340	2.308	2.280	2.256	2.234
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348	2.310	2.278	2.250	2.225	2.203