

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
ESCOLA DE ENGENHARIA INDUSTRIAL METALÚRGICA DE VOLTA REDONDA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA AMBIENTAL

LUÍSA JARDIM FARIA DE ARAÚJO E SOUSA

GERAÇÃO DE ENERGIA EM UMA CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA  
ALIMENTADA COM EFLUENTE DA PRODUÇÃO DE BODIESEL

VOLTA REDONDA- RJ  
2020

LUÍSA JARDIM FARIA DE ARAÚJO E SOUSA

**GERAÇÃO DE ENERGIA EM UMA CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA  
ALIMENTADA COM EFLUENTE DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Tecnologia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Gilmar Clemente Silva  
Coorientador: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Teresa Cristina de Paiva Brazil

Volta Redonda, RJ  
2020

Ficha catalográfica automática - SDC/BEM  
Gerada com informações fornecidas pelo autor

S725g Sousa, Luísa Jardim Faria de Araújo e  
GERAÇÃO DE ENERGIA EM UMA CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA  
ALIMENTADA COM EFLUENTE DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL / Luísa  
Jardim Faria de Araújo e Sousa. - 2020.  
69 f.: il.

Orientador: Gilmar Clemente Silva.  
Coorientador: Teresa Cristina de Paiva Brazil.  
Dissertação (mestrado)-Universidade Federal Fluminense,  
Escola de Engenharia Industrial e Metalúrgica de Volta  
Redonda, Volta Redonda, 2020.

1. Co-cultura. 2. Remoção de DQO. 3. Toxicidade aguda. 4.  
Tecnologia Ambiental. 5. Produção intelectual. I. Silva,  
Gilmar Clemente, orientador. II. Brazil, Teresa Cristina de  
Paiva, coorientadora. III. Universidade Federal Fluminense.  
Escola de Engenharia Industrial e Metalúrgica de Volta  
Redonda. IV. Título.

CDD - XXX

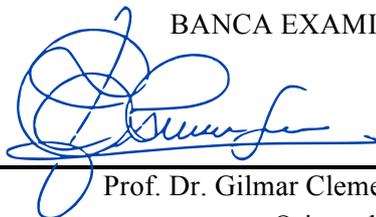
LUÍSA JARDIM FARIA DE ARAÚJO E SOUSA

**GERAÇÃO DE ENERGIA EM UMA CÉLULA A COMBUSTÍVEL  
MICROBIANA ALIMENTADA COM EFLUENTE DA PRODUÇÃO DE  
BIODIESEL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Tecnologia Ambiental

Aprovada em 10 de março de 2020.

BANCA EXAMINADORA



---

Prof. Dr. Gilmar Clemente Silva – UFF  
Orientador



---

Profa. Dra. Conny Cerai Ferreira – UFF



---

Prof. Dr. André Marques dos Santos – UFRRJ

Volta Redonda  
2020

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus que me proporcionou viver mais essa experiência, além de ter me guiado e me amparado durante toda essa jornada.

Ao meu marido que esteve ao meu lado durante esse período, me apoiando e me incentivando em todos os momentos.

Aos meus pais e irmãs pelas orientações e incentivos, fundamentais nessa caminhada.

Agradeço ainda aos meus colegas do Geuff e do Laboratório de Ciências Ambientais e Ecotoxicologia – EEL/USP com os quais compartilhei boas conversas e momentos de descontração e por toda a ajuda ao longo da execução do trabalho.

Aos meus orientadores, por todo o ensinamento, ajuda e paciência.

Por fim, gostaria de agradecer a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para mais essa vitória.

## RESUMO

O crescimento industrial acarreta no aumento dos impactos negativos ao meio ambiente, e com isso, a busca por tecnologias ambientais sustentáveis tem aumentado invariavelmente. Nesse contexto, encontram-se inseridas as células a combustível microbianas (CCMs), tecnologia eletroquímica microbiana que simultaneamente gera eletricidade e trata efluentes. Desta forma, o presente trabalho objetiva estudar o desempenho de uma CCM com cátodo ao ar, alimentada em modo batelada alimentada, na produção de bioeletricidade e remoção de poluentes, utilizando efluente da produção de biodiesel, como substrato. Foram realizados estudos com efluente de biodiesel sem esterilização e inoculado com a co-cultura das bactérias *Shewanella oneidensis* e *Clostridium butyricum*; com o efluente de biodiesel esterilizado e inoculado com a mesma co-cultura (CCM1); e por fim com o efluente de biodiesel sem esterilização e sem inoculação (CCM2). Os experimentos foram divididos em duas etapas: etapa de aclimação (15 dias) e etapa denominada tratamento (35 dias). A CCM com endógenos (sem esterilização) e inoculada com a co-cultura, gerou a maior densidade e potência de  $0,0316 \text{ mW cm}^{-2}$ , enquanto que a CCM1 e CCM2 geraram  $0,013$  e  $0,0035 \text{ mW cm}^{-2}$ , respectivamente. As análises de DQO no efluente após tratamento pela CCM com endógenos e inoculada com as bactérias indicaram que houve uma remoção de 76%, compatível com aquelas obtidas para outros tipos de tratamentos anaeróbios. Contudo, a remoção de fosfato (18,4%), sulfato (28,4%) e cloreto (31,2%) foi relativamente baixa, enquanto que não houve remoção de íons fluoreto e nitrato. Ensaios de toxicidade aguda com microcrustáceo *Daphnia similis* revelaram aumento de toxicidade em cerca de 20 vezes no efluente após o tratamento pela CCM, o que demonstra a importância deste tipo de teste para qualquer processo de tratamento de efluente.

**Palavras-chave:** Co-cultura. Remoção de DQO. Toxicidade aguda.

## ABSTRACT

Industrial growth leads an increase in negative impacts on the environment, so the search for sustainable environmental technologies has steadily increased. In this context are inserted microbial fuel cells (MFCs), microbial electrochemistry technology that simultaneously generation electricity and treats wastewater. In this way, the present work aims to study the performance of an air-cathode MFC, feeding in a batch mode, in the production of bioelectricity and in the removal of pollutants, using biodiesel wastewater as the substrate. Studies were carried out with biodiesel wastewater without sterilization and inoculated with the co-culture of the bacteria *Shewanella oneidensis* and *Clostridium butyricum*; with sterilized biodiesel wastewater and inoculated with the same co-culture (MFC1); and finally with the non-sterilized biodiesel wastewater without bacterial inoculation (MFC2). The experiments were divided into two stages: the acclimatization stage (15 days) and the stage named treatment (35 days). The MFC with endogenous (without sterilization) and inoculated with the co-culture, generated the highest power density of  $0.0316 \text{ mW cm}^{-2}$ , while MFC1 and MFC2 generated  $0.013$  and  $0.0035 \text{ mW cm}^{-2}$ , respectively. The analyzes of COD in the biodiesel wastewater after treatment by MFC with endogenous and bacterial inoculation indicated 76% of removal, compatible with those obtained for other types of anaerobic treatments. However, the removal of phosphate (18.4%), sulfate (28.4%) and chloride (31.2%) was relatively low, while there was no removal of fluoride and nitrate ions. Acute toxicity tests on the micro crustacean *Daphnia similis* revealed an increase in toxicity of about 20 times in the effluent after treatment by MFC, which demonstrates the importance of this type of test for any process of wastewater treatment.

**Keywords:** Co-culture. COD removal. Acute toxiciy.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Comparação das características dos materiais anódicos tradicionalmente encontrados na literatura, p.19

Figura 2- O princípio de funcionamento de uma célula combustível microbiana (CCM), p. 20

Figura 3- Mecanismos de transporte de elétrons em uma CCM, p. 21

Figura 4- Produção em termos de densidade de potência por microrganismos exoeletrogênicos, em que bactérias correspondem a barra de cor azul, eucariotos correspondem a barra de cor roxa, arqueas correspondem a barra de cor verde e consórcio de culturas de microrganismos (em que "2CA" corresponde a CCM com dois compartimentos e cátodo com oxigênio dissolvido, "1A" corresponde a CCM com um compartimento e cátodo ao ar), p. 24

Figura 5- Curva de polarização com regiões de sobretensão delimitadas, p. 25

Figura 6- Gráfico de impedância no plano complexo, onde  $R_e$  é a resistência da solução,  $R_{tc}$  é a resistência de transferência de carga e  $R_L$  é a resistência limite que destaca a intersecção com o eixo real, p. 28

Figura 7- Evolução da produção de biodiesel no Brasil, p. 33

Figura 8- Reação de transesterificação, p. 34

Figura 9- Fluxograma típico de produção de biodiesel, via transesterificação em meio alcalino, p. 34

Figura 10- Fluxograma do processo de tratamento físico químico de uma fábrica produtora de biodiesel localizada na Região Sul Fluminense, p.37

Figura 11- Configuração da CCM, p. 39

Figura 12- Resumo da metodologia adotada, p. 41

Figura 13- Curvas de polarização eletroquímica durante as etapas de aclimação (A), e tratamento (B) da CCM inoculada com a co-cultura, p. 44

Figura 14- Variação da corrente máxima obtida, ao longo dos 50 dias de experimento, p. 44

Figura 15- Curvas de densidade de potência durante as etapas de aclimação (A), e tratamento (B) da CCM inoculada com a co-cultura, p. 46

Figura 16- Variação da densidade de potência ao longo do experimento, p. 47

Figura 17- Densidade de corrente versus DQO durante a etapa de tratamento, p. 49

Figura 18- Diagramas de Nyquist obtidos em diferentes dias durante a etapa de tratamento, p. 50

Figura 19- DQO versus Dias do Experimento durante a etapa de tratamento, p. 51

Figura 20- Variação da voltagem em circuito aberto (OCV) ao longo de 50 dias de experimento, para a CCM alimentada com o efluente esterilizado e co-cultura (CCM1) e para a CCM sem esterilização e sem inoculação (CCM2), p. 56

Figura 21- Curvas das maiores densidade de potência obtidas ao longo do experimento, para CCM1 (efluente esterilizado e com co-cultura) e CCM2 (efluente sem inoculação), p. 56

Figura 22- Gráficos de Nyquist da CCM1, efluente esterilizado e com co-cultura (A) e CCM2, sem inoculação (B), durante a etapa de aclimatação, p. 57

Figura 23- Gráficos de Nyquist da CCM1, efluente esterilizado e com co-cultura (A) e CCM2, sem inoculação (B), durante a etapa de tratamento, p. 58

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentrações máximas de DQO por tipologia industrial, para vazão superior a 3,5 m<sup>3</sup>/h, p.29

Tabela 2- Características do efluente da produção de biodiesel, p.355

Tabela 3 - Resultados para remoção de ânions ao final do experimento, p.533

Tabela 4 -Resultados obtidos para o teste de toxicidade aguda, p.533

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ANP	Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
$A_{an}$	Área projetada do ânodo
B100	Biodiesel puro
CCM	Célula a combustível microbiana
$cm^{-2}$	Centímetros quadrados
CENO	Concentração de efeito não observado
CECR	Concentração do efluente no corpo receptor
CE <sub>50</sub>	Concentração efetiva máxima
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
$I$	Corrente elétrica
ddp	Diferença de potencial
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
$DQO_f$	Demanda química de oxigênio final
$DQO_i$	Demanda química de oxigênio inicial
$i$	Densidade de corrente
$P_{an}$	Densidade de potência
DO	Densidade ótica
DQO	Demanda química de oxigênio
Rtc	Diâmetro do semicírculo
DZ	Diretriz
$e^-$	Elétron
EIE	Espectroscopia de impedância eletroquímica
ETDI	Estação de tratamento de despejos industriais
FD	Fator de diluição
FT	Fator de toxicidade
INEA	Instituto Estadual do Ambiente
$H^+$	Íon hidrogênio
kHz	Kilohertz
kWh/m <sup>3</sup>	Kilowatts hora por metro cúbico
L	Litros
L/dia	Litros por dia

LD	Limite de detecção
$m^3$	Metro cúbico
$m^3/h$	Metros cúbicos por hora
mg/L	Miligramas por litro
$mgPt\ cm^{-2}$	miligramas de platina por centímetro quadrado
$mgO_2L^{-1}$	Miligramas de oxigênio por litro
mHz	Milihertz
mL	mililitros
$mWm^{-2}$	MiliWatts por metro quadrado
$mWm^{-3}$	MiliWatts por metro cúbico
NT	Norma Técnica
$\Omega$	Ohm
OG	Óleos e graxas
$\eta DQO$	Percentual de remoção de Demanda química de oxigênio
$V_{ohm}$	Perdas ôhmicas
$V_{act}$	Perdas por ativação
$V_{tra}$	Perdas por transporte de massa
pH	Potencial hidrogeniônico
$P$	Potência gerada
$P_v$	Potência volumétrica
OCV	Potencial do circuito aberto
kg/dia	Quilograma por dia
Re	Resistência da solução
$R$	Resistência elétrica
$R_{ext}$	Resistência externa
$R_{int}$	Resistência interna
RL	Resistência limite
$\eta$	Sobretensões
SS	Sólidos suspensos
SMWW	Standard Methods for analysis for water and wastewater
E	Tensão
V	Tensão elétrica
$V_{cel}$	Tensão obtida a partir de uma resistência externa

UFF	Universidade Federal Fluminense
EIA	U.S. Energy Information Administration
upH	Unidades de potencial hidrogeniônico
UT	Unidades de toxicidade
$\Delta$	Variação
V	Volts
W	Watts

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO, p. 15

2 OBJETIVOS, p. 17

2.1 OBJETIVO GERAL, p. 17

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS, p. 17

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA, p. 18

3.1 FUNDAMENTOS DA GERAÇÃO DA BIOELETRICIDADE NAS CCM, p. 18

3.1.1 Microrganismos exoeletrogênicos e os mecanismos de transferência de elétrons ao eletrodo, p. 21

3.1.2 Avaliação do desempenho eletroquímico da CCM, p. 24

3.1.3 Oportunidades e desafios para CCM aplicadas a tratamento de efluentes, p. 30

3.2 PRODUÇÃO DO BIODIESEL, p. 32

4 MATERIAIS E MÉTODOS, p. 37

4.1 AMOSTRAGEM DO EFLUENTE DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL, p. 37

4.2 CONSTRUÇÃO E OPERAÇÃO DA CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA, p. 38

4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS, p. 41

4.4 ANÁLISES DE TOXICIDADE, p. 42

4.5 ANÁLISES BIOELETROQUÍMICAS, p. 43

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES, p. 44

5.1 GERAÇÃO DE CORRENTE E POTÊNCIA NA CCM COM CO-CULTURA, p. 45

5.2 ANÁLISES DA EFICIÊNCIA DO TRATAMENTO DO EFLUENTE NA CCM, p. 50

5.3 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA CO-CULTURA E ENDÓGENOS SEPARADAMENTE NA GERAÇÃO DE ENERGIA ELÉTRICA NA CCM, p. 55

6 CONCLUSÕES, p. 59

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS, p. 60

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, p. 61

## 1 INTRODUÇÃO

Uma das consequências da globalização e do crescimento da população é o aumento diário do consumo mundial das fontes primárias de energia, tais como os combustíveis fósseis. Entretanto, o consumo exacerbado dos combustíveis fósseis acarreta em impactos ambientais negativos (LOGAN *et al.*, 2006).

Diante disso, a busca constante por fontes de energias alternativas como o biodiesel, e formas de aproveitamento de resíduos industriais que reduzam as emissões de matéria orgânica biodegradável e não biodegradável, tem seus campos, em termos científicos e tecnológicos, em constante expansão (HAJJARI *et al.*, 2017).

No contexto de aproveitamento energético de efluentes líquidos encontra-se inserida a célula a combustível microbiana (CCM). Essa tecnologia consiste na oxidação de substratos e liberação de elétrons produzidos no ânodo, que através de um circuito externo, seguem para o cátodo, gerando uma corrente elétrica ao longo do processo.

A CCM, como tecnologia ambiental engloba simultaneamente duas linhas de grande importância para o meio ambiente: a geração de bioeletricidade e o tratamento de efluentes líquidos (ELMEKAWY *et al.*, 2015).

Na CCM, bactérias eletrogênicas possuem a capacidade de gerar eletricidade a partir da degradação de substratos tais como efluentes industriais, bem como promovem a remoção de poluentes constituintes desses efluentes (SLATE *et al.*, 2019). Dessa maneira, altas concentrações de Demanda Química de Oxigênio (DQO) no efluente e a presença de diferentes elementos químicos, ou seja, parte de seu potencial poluidor, podem ser convertidos em energia útil (RABAEY, *et al.*, 2010). Além disso, segundo Santoro *et al.* (2017), a tecnologia da CCM é a única que pode gerar energia a partir de efluentes líquidos, sem a entrada de energia no sistema (externa ou adicional), o que aumenta o interesse tecnológico desse biosistema para aplicação em geração de energia em lugares remotos, bem como em biossensores.

A CCM aplicada ao tratamento de efluentes é uma tecnologia relativamente recente e depende de uma série de fatores operacionais para seu correto funcionamento, que incluem temperatura e pH adequados, receptores anódicos de elétrons, eletrodos e áreas específicas relativamente grandes, volume do biorreator e tempos de retenção. A tecnologia possui também algumas limitações: tem sido utilizada com diferentes efluentes orgânicos com sucesso, no entanto, em relação à utilização de efluentes complexos (composição desconhecida) apresenta algumas limitações na compreensão da interação entre o eletrodo e as bactérias, na formação

do biofilme, nas densidades de potência baixas, na interação entre as espécies e na influência dos parâmetros ambientais na colonização microbiana (SANTORO *et al.*, 2017).

Apesar disso, diferentes tipos de efluentes, tais como efluentes lácteos e esgotos sanitários tem sido investigados, tais como o que destaca a viabilidade da CCM em gerar energia simultaneamente à degradação de poluentes, tornando-a uma potencial tecnologia alternativa ao tratamento convencional de efluentes (LOGAN *et al.*, 2006).

Nesse contexto, o grupo de eletroquímica e energia da UFF – Geuff vem se dedicando ao desenvolvimento das Tecnologias Bioeletroquímicas no Brasil, desde 2007, tendo desenvolvido até o presente momento projetos inovadores utilizando efluente industrial como substrato em Células a Combustível Microbianas, contribuindo assim para o desenvolvimento científico, tecnológico, econômico, social e ambiental em âmbito nacional e mundial.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo geral avaliar uma CCM ao ar em termos de geração de bioeletricidade e remoção de poluentes do efluente líquido da produção de biodiesel.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o comportamento bioeletroquímico da co-cultura formada pelas bactérias *Shewanella oneidensis* e *Clostridium butyricum*, em efluente da produção de biodiesel, por meio da avaliação da corrente elétrica e potência elétrica.
- Avaliar o potencial remediador da CCM ao ar por meio de análises de DQO do efluente antes e após o tratamento via CCM.
- Realizar análises de toxicidade aguda do efluente tratado via CCM, utilizando o microcrustáceo *Daphnia similis*.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 FUNDAMENTOS DA GERAÇÃO DA BIOELETRICIDADE NAS CCM

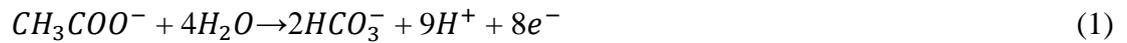
A primeira ocorrência registrada de geração de corrente elétrica a partir de microrganismos ocorreu no início do século XX, e foi relatada e estudada por Michael Cresser Potter que por sua vez, constatou a geração de energia elétrica a partir de culturas de *Escherichia coli* e de *Saccharomyces* spp., na presença de eletrodo de platina (POTTER, 1911). Em 1931, Barnet Cohen desenvolveu células a combustível microbianas conectadas em série, obtendo 35 V de tensão e 2mA de corrente elétrica do sistema. A partir de então este assunto passou a ser considerado como um campo de interesse e constante expansão na ciência e tecnologia (SANTORO *et al.*, 2017).

Células a Combustível Microbianas são dispositivos bioeletroquímicos que possuem a capacidade de transformar, por meio de reações catalíticas biológicas, a energia química das substâncias contidas no substrato, diretamente em energia elétrica. A adição de organismos biológicos responsáveis pela catálise nas reações eletroquímicas confere a esses sistemas um nível de complexidade superior ao encontrado em sistemas eletroquímicos (SANTORO *et al.*, 2017).

A conversão de substrato em energia é realizada por meio da ação de bactérias, organismos procariontes capazes de transformar diferentes substâncias em dióxido de carbono, água e energia. Essa energia produzida é utilizada para manutenção de suas atividades metabólicas e em determinados arranjos, como em uma CCM, pode ser extraída e armazenada em um circuito externo. Muitas configurações de CCM são encontradas na literatura. De uma forma geral, uma CCM é composta de quatro componentes principais: ânodo, cátodo, microrganismos eletroquimicamente ativos e eletrólito (LOGAN, 2008).

No compartimento anódico, os microrganismos eletroquimicamente ativos, denominados de exoeletrogênicos, ou seja, microrganismos capazes de transferir elétrons para o exterior da célula, colonizam o ânodo e transferem elétrons a este, por meio da interação química e física com o(s) substrato(s) (processo de oxidação). O substrato por sua vez pode ser a glicose, acetatos, efluentes industriais, efluentes domésticos, compostos orgânicos diversos. Ressalta-se que o compartimento anódico necessita de condições operacionais classificadas como essenciais para o desenvolvimento das bactérias, tais como: quantidade de matéria orgânica, pH, temperatura, carga de eletrólitos e concentração baixa de oxigênio dissolvido (LOGAN *et al.*, 2019). Um exemplo de reação de oxidação que ocorre por meio da ação de

bactérias eletroquimicamente ativas, em um compartimento anódico, utilizando-se como substrato o acetato é descrita por Logan *et al.* (2006) (Equação 1).



Nas CCM, os materiais carbonáceos são usualmente utilizados como material de ânodo, devido às suas características de boa condutividade elétrica, estabilidade química, estrutura resistente, propriedades de superfície favoráveis ao desenvolvimento do biofilme e flexível em termos de possibilidade de arranjos que promovam uma maior área específica de contato (KHANAL, 2008). Diferentes tipos de materiais constituídos de carbono foram empregados como materiais anódicos em CCMs, tais como: hastes de grafite (LIU; RAMNARAYANAN; LOGAN, 2004), grafite simples (CHAUDHURI; LOVLEY, 2003; RABAEY *et al.*, 2003), espuma de grafite (CHAUDHURI; LOVLEY, 2003), grafite trançado (PARK; ZEIKUS, 2003), feltro de grafite (BIFFINGER *et al.* 2007), grânulos de grafite (RABAEY *et al.*, 2005), papel carbono (LIU; LOGAN, 2004), tecido de carbono (LIU; CHENG; LOGAN, 2005) e pincel de fibra de grafite (LOGAN *et al.*, 2007). A Figura 1 ressalta as principais vantagens e desvantagens entre as características dos diferentes materiais anódicos mais tradicionais, constantes na literatura.

Figura 1- Comparação das características dos materiais anódicos tradicionalmente encontrados na literatura

Materiais Anódicos	Vantagens	Desvantagens
Haste de Grafite	Boa condutividade elétrica e estabilidade química, custo baixo e facilmente disponível	Área específica baixa
Pincel de Fibra de Grafite	Área específica alta e facilmente disponível	Acúmulo de partículas ("entupimento")
Tecido de Carbono	Alta porosidade	Custo alto
Carbono Vítreo Reticulado	Boa condutividade elétrica	Apresenta alta resistência e fragilidade

Fonte: Zhou *et al.*, 2011

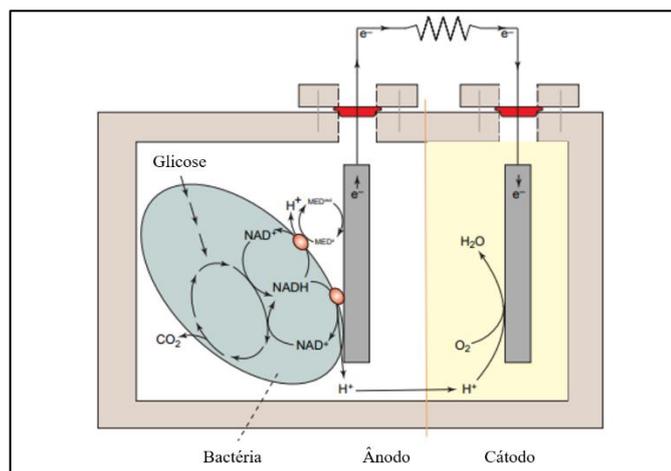
Além do tipo de material anódico, alguns trabalhos na literatura utilizam modificações químicas no ânodo a fim de aumentar a performance das CCMs, tais como tratamentos com amônia,  $Fe_3O_4$ , entre outros (ZHOU *et al.*, 2011).

Do compartimento anódico, os elétrons liberados na reação de oxidação, são transferidos ao cátodo por meio de um circuito elétrico externo, enquanto os prótons, que são também produtos da reação de oxidação, se difundem através de uma membrana trocadora de prótons até o compartimento catódico e dessa forma, a diferença de potencial (ddp), expressa

em volts (V) entre o ânodo e o cátodo e a corrente gerada pelo movimento dos elétrons no circuito externo, geram uma potência elétrica ao sistema, expressa em watts (W). Uma membrana muito utilizada em diferentes estudos na literatura é o Nafion™, membrana polimérica cujo mecanismo de atuação consiste na passagem de prótons (íons hidrogênio) do ânodo para o cátodo, atuando como barreira seletiva. As membranas poliméricas possuem algumas propriedades que tornam sua aplicação, interessante ao processo, tais como alta condutividade aos cátions, permeabilidade seletiva a prótons e baixa resistência interna. Em relação ao compartimento catódico, diferentes agentes oxidantes podem ser aplicados, no entanto, por seu alto potencial de redução e sua abundância, o oxigênio é o acceptor final de elétrons mais empregado na literatura. Apesar de terem sido desenvolvidas diferentes tipos de CCM na literatura, a CCM ao ar é a configuração compatível ao dimensionamento em escala industrial para tratamento de efluentes, devido a produção de altos valores de densidade de potência, estrutura simples e custo relativamente baixo (CHENG; LOGAN, 2011). Em uma CCM ao ar (Figura 2), o oxigênio, é utilizado como acceptor final dos elétrons, reagindo com os prótons e os elétrons para formar água na superfície do cátodo, conforme Equação 2 (DU; LI; GU, 2007):



Figura 2- O princípio de funcionamento de uma célula combustível microbiana (CCM)



Fonte: Adaptado de Rabaey e Verstraete, 2005

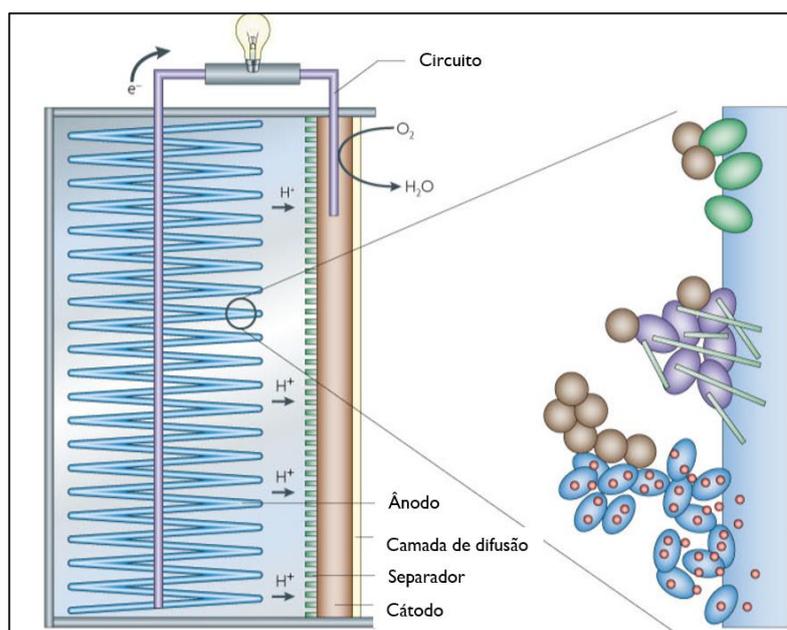
Os materiais que constituem o cátodo em uma CCM, possuem um grande impacto no desempenho das CCM em termos de geração de densidades de potência. O cátodo necessita apresentar uma alta performance além de possuir baixos custos para que uma CCM possa ser aplicada em grande escala. Na literatura, os materiais que são usualmente utilizados como cátodos em CCMs são: grafite, tecido de carbono e papel de carbono. Esses materiais podem

ser utilizados individualmente ou com catalisadores como a platina, que catalisam a redução do oxigênio na CCM ao ar e aumentam as densidades de potência geradas (ZHOU *et al.*, 2011).

### 3.1.1 Microorganismos exoeletrogênicos e os mecanismos de transferência de elétrons ao eletrodo

As bactérias exoeletrogênicas são microrganismos que possuem a capacidade de transferir elétrons ao ânodo por meio de dois mecanismos: mecanismo de transferência direta e mecanismo de transferência indireto. A transferência direta de elétrons ocorre a partir de um contato físico entre as bactérias e superfície do eletrodo, o que pode ocorrer por nanofios bacterianos ou por meio de proteínas ativas redox, enquanto a transferência indireta de elétrons requer a presença de mediadores (Figura 3) (HUANG; REGAN; QUAN, 2011).

Figura 3 - Mecanismos de transporte de elétrons em uma CCM



Fonte: Adaptado de Logan *et al.*, 2006

Existem três mecanismos de transferência de elétrons utilizados pela bactéria para transferir elétrons para o ânodo: transferência por nanofios, transferência por citocromos do tipo-C e transferência por ação de mediadores (ZHOU *et al.*, 2011).

A descoberta do mecanismo de transferência de elétrons por nanofios é resultado de estudos na área de biologia molecular, em estudos de expressão gênica. Durante esses estudos identificou-se nanofios microbianos (também nomeados de "pili"), que por sua vez constituem-

se em filamentos protéicos, condutores elétricos, que se prolongam desde superfície externa do microrganismo até a matriz extracelular, e são encontrados em espécies bacterianas, como *Shewanella spp.* e *Geobacter spp.* Tal descoberta indicou que esses nanofios estão envolvidos na transferência extracelular de elétrons e permitem a redução direta de um aceptor de elétrons distante fisicamente (ZHOU *et al.*, 2011).

O método de transferência direta de elétrons por citocromos ligados à membrana permite a transferência de elétrons a pequenas distâncias. Esse mecanismo necessita que os microrganismos possuam na parte externa de sua célula, proteínas, tais como o citocromo do tipo-C, encontrados na superfície da membrana celular dos microrganismos dos gêneros *Geobacter*, *Rhodoferrax* e *Shewanella*, que por sua vez, transferem elétrons para um aceptor final, como os óxidos de ferro (III), quando trata-se de um ambiente natural desses microrganismos ou para o ânodo nas CCMs. O mecanismo de transferência via citocromo tipo-C, por se tratar de um mecanismo que requer contato físico (aderência) entre célula microbiana – citocromo – ânodo, apresenta limitações na formação de biofilme eletroativo visto que somente a primeira camada de biofilme no ânodo é eletroquimicamente ativa, o que afeta a performance da CCM em termos de geração de densidade de potência (SCHRÖDER, 2007).

O mecanismo de transferência indireta ocorre por meio da transferência de elétrons a partir de mediadores, podendo ser estes artificiais (exógenos) ou metabólitos secundários ou primários dos microrganismos. No mecanismo de transferência indireta via mediadores exógenos, os elétrons provenientes do metabolismo dos microrganismos são transferidos ao ânodo por meio de substâncias redox (como por exemplo ferricianeto e EDTA férrico) que são adicionadas ao meio, propriedade esta que torna este processo inviável em termos de aplicação em escala industrial, pois continuamente é necessário adicionar ao meio reacional tais mediadores a fim de que se mantenha uma boa performance do sistema. Por outro lado, a transferência indireta de elétrons via metabólitos secundários (endógenos) ocorre a partir dos metabólitos secundários produzidos naturalmente pelos microrganismos presentes no meio que por sua vez atuam como aceptores de elétrons "reversíveis" ou seja, se reduzem ao receber elétrons da membrana celular e se oxidam ao doar elétrons para o ânodo (SCHRÖDER, 2007).

A literatura aponta que existem inúmeros microrganismos capazes de produzir corrente elétrica e transferir elétrons ao ânodo nos mais variados tipos de sistemas bioeletroquímicos, tais como as bactérias exoeletrogênicas (LOGAN *et al.*, 2019). *Shewanella spp.* são microrganismos vastamente estudados em sistemas bioeletroquímicos, tal como *Shewanella oneidensis*. *S. oneidensis* é uma bactéria não fermentativa, anaeróbia facultativa, que degrada diferentes compostos incluindo os orgânicos (HUNT *et al.*, 2010). Ao longo dos

anos esse microrganismo foi vastamente estudado, tendo seu genoma sequenciado além de ter sido amplamente estudado como organismo modelo para estudos de biorremediação ambiental e aplicações em CCM (BRETSCHGER *et al.*, 2010). Em aplicações em CCM, pesquisadores obtiveram com *S. oneidensis* (cultura pura) usando lactato de sódio como substrato,  $1460 \text{ mWm}^{-2}$  de densidade de potência (ZHOU *et al.*, 2011), o que de acordo com Logan *et al.* (2019), equivale a uma alta densidade de potência e classifica o microrganismo como exoeletrogênico eficiente, visto que se obteve densidade de potência superior a  $100 \text{ mWm}^{-2}$ .

Bactérias do gênero *Clostridium* são também microrganismos exoeletrogênicos utilizados em estudos com CCM por terem metabolismos conhecidos assim como a característica de facilmente degradarem carboidratos simples e complexos. Existem diferentes espécies do gênero *Clostridium* que vêm sendo estudadas e, também, desenvolvidas empregando-se técnicas de biologia molecular, tais como DNA recombinante e reação em cadeia da polimerase (PCR). Park e Zeikus (2003) isolaram a denominada *Clostridium butyricum* EG3A, que possui 98% de similaridade com a bactéria *Clostridium butyricum*, bactéria fermentativa, gram-positiva, anaeróbia estrita e concluíram que a espécie é eletroquimicamente ativa e capaz de transferir elétrons na ausência de mediadores exógenos de elétrons, em culturas puras. Marassi *et al.* (2019) também estudaram a espécie *C. butyricum* em uma CCM alimentada com vinhaça e obtiveram uma densidade de potência de até  $100 \text{ mWm}^{-2}$  para a espécie pura, e uma densidade de potência de até  $205 \text{ mWm}^{-2}$ , para um consórcio de *S. oneidensis* e *C. butyricum* em uma CCM ao ar.

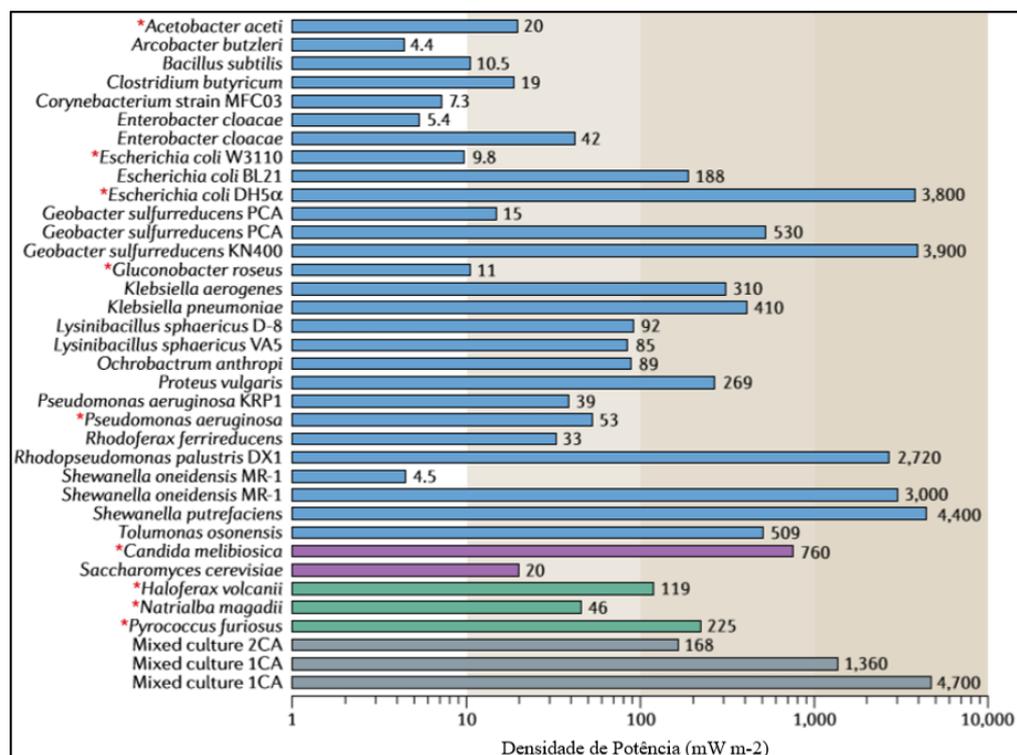
Outros microrganismos tais como *Geobacter sulfurreducens* também são vastamente aplicados em trabalhos desenvolvidos com CCM, por produzirem e transferirem elétrons a partir de nanofios altamente condutores, e assim gerar altas densidades de potência, como Yi *et al.* (2009) obtiveram em seu trabalho utilizando cultura pura da *G. sulfurreducens* ( $3.900 \text{ mWm}^{-2}$ ).

Apesar de existirem muitos estudos na literatura desenvolvidos com culturas puras de microrganismos para aplicações em CCM, Logan *et al.* (2019) ressaltam que a utilização de consórcio de microrganismos também pode alcançar resultados de altas densidades de potência devido aos efeitos sinérgicos produzidos pela interação entre as diferentes culturas, onde uma primeira bactéria pode contribuir para redução de um determinado composto do meio reacional que, por sua vez, atuava como inibidor da segunda bactéria inoculada no meio. Um exemplo do efeito sinérgico obtido a partir de um consórcio microbiano, pode ser verificado no trabalho de Bourdakos, Marsili e Mahadevan (2014) que inocularam uma CCM ao ar com *G. sulfurreducens* e *Escherichia coli*, também com o objetivo de avaliar a interação entre as

diferentes culturas, concluindo que a *E. coli* removeu o oxigênio do meio reacional, mantendo as condições do meio em anaerobiose.

Muitos são os fatores envolvidos em uma CCM, tais como condições operacionais, microrganismos utilizados, design da CCM, tipos de eletrodos, presença ou ausência de catalisadores no meio reacional, distância entre os eletrodos, e, de uma forma geral, cada fator influencia na performance de uma CCM (LOGAN *et al.*, 2019). A Figura 4 indica densidades de potência obtidas para algumas culturas puras, em compartimentos anódicos de CCMs.

Figura 4 - Produção em termos de densidade de potência por microrganismos exoeletrogênicos, em que bactérias correspondem a barra de cor azul, eucariotos correspondem a barra de cor roxa, arqueas correspondem a barra de cor verde e consórcio de culturas de microrganismos (em que "2CA" corresponde a CCM com dois compartimentos e cátodo com oxigênio dissolvido, "1A" corresponde a CCM com um compartimento e cátodo ao ar)



Fonte: Adaptado de Logan *et al.*, 2019

### 3.1.2 Avaliação do desempenho eletroquímico da CCM

De acordo com Khanal (2008), uma forma direta de se avaliar a performance de uma CCM é por meio da verificação da tensão do circuito, com um multímetro. A tensão (V) pode ser utilizada para calcular a corrente gerada pelo circuito (I), através de uma resistência externa (R), com base na lei de Ohm (Equação 3).

$$V=I*R \quad (3)$$

A tensão do circuito é obtida conforme a Equação 4 e Equação 5.

$$V=OCV-\eta \quad (4)$$

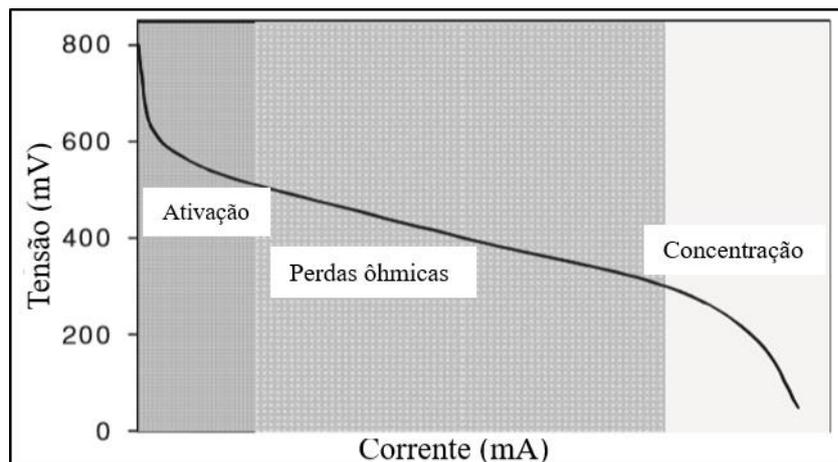
$$\eta=I*R_{int} \quad (5)$$

Onde OCV é o potencial do circuito aberto, obtido quando não há corrente fluindo pelo sistema, ou seja, quando a tensão do sistema é máxima,  $R_{int}$  é a resistência interna do sistema e  $\eta$  são as sobretensões que incluem as perdas por ativação ( $V_{act}$ ), perdas ôhmicas ( $V_{ohm}$ ) e perdas por transporte de massa ( $V_{tra}$ ) (Equação 6).

$$\eta = V_{act} + V_{ohm} + V_{tra} \quad (6)$$

A curva de polarização é uma das formas usualmente empregadas para avaliar as perdas relacionadas à corrente assim como a performance da CCM em termos de geração de energia. A Figura 5 ilustra o gráfico da tensão do estado estacionário versus corrente.

Figura 5 - Curva de polarização com regiões de sobretensão delimitadas



Fonte: Adaptado de Khanal, 2008

A Figura 5 destaca as três áreas da curva de polarização que representam as perdas em um sistema de uma CCM. As perdas por ativação estão relacionadas com a energia de ativação necessária para as reações de oxidação/ redução e ocorrem durante a transferência de elétrons para a superfície do eletrodo. Em geral, as perdas por ativação podem ser reduzidas com o aumento da área específica do eletrodo, aumento da temperatura de operação da CCM e com a presença de catalisadores no meio. As perdas ôhmicas por sua vez, estão relacionadas à resistência à passagem de elétrons através dos eletrodos e à resistência à passagem de íons através da membrana. Esse tipo de perda pode ser reduzido com a diminuição do espaçamento entre os eletrodos, com a utilização de uma membrana seletiva de menor resistência e com o

aumento da condutividade do meio reacional. A terceira área do gráfico refere-se às perdas por concentração (ou perdas por transferência de massa). Essas perdas ocorrem quando a taxa de transferência de massa por meio dos eletrodos limita a produção de corrente no sistema, podendo limitar o transporte de elétrons no biofilme (LOGAN *et al.*, 2006).

A máxima tensão teórica que pode ser obtida de uma CCM é menor do que a tensão real obtida devido às diferentes perdas que ocorrem no sistema (LOGAN *et al.*, 2006).

Segundo Khanal (2008), um importante parâmetro em estudos com CCM é a densidade de potência do sistema. A potência gerada pode ser calculada conforme Equação 7.

$$P = I * V_{cel} \quad (7)$$

Onde, P é a potência gerada,  $V_{cel}$  é a tensão obtida a partir de uma resistência externa e I é a corrente obtida a partir da Lei de Ohm.

Logan *et al.* (2006) afirmam que, para fins de comparação de diferentes tipos de CCM, a avaliação da potência gerada por uma CCM ocorre por meio da normalização da potência gerada, ou seja, por meio da avaliação da densidade de potência do sistema. Usualmente a normalização ocorre de acordo com a área projetada do ânodo, pois é nesse compartimento que ocorre a reação de biodegradação. Dessa forma, a densidade de potência pode ser obtida conforme a Equação 8.

$$P_{an} = \frac{V_{cel}^2}{A_{an} * R_{ext}} \quad (8)$$

Onde  $A_{an}$  é a área projetada do ânodo,  $R_{ext}$  é a resistência externa e  $P_{an}$  é a densidade de potência ( $Wm^{-2}$ ).

Para fins de avaliação de performance da CCM em termos da geração de energia, usualmente, também é estudada a densidade de corrente (i) gerada no sistema, que pode ser definida como a corrente gerada por unidade de área, considerando a área projetada do ânodo (LOGAN *et al.*, 2006).

A normalização também pode ocorrer a partir do volume do reator. Dessa forma, também é possível comparar diferentes tipos de sistemas entre si em termos de densidade de potência, conforme indica a Equação 9 (KHANAL, 2008).

$$P_v = \frac{V_{cel}^2}{v * R_{ext}} \quad (9)$$

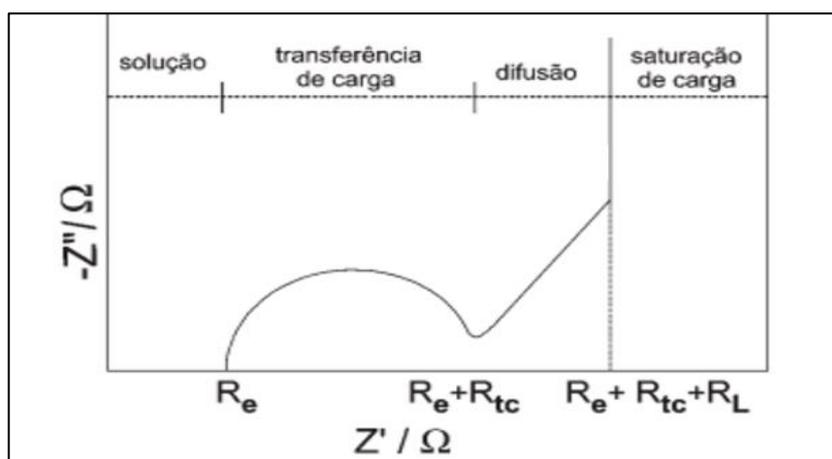
Onde  $P_v$  é a potência volumétrica ( $Wm^{-3}$ ) e  $v$  é o volume total do reator ( $m^3$ ).

Uma outra técnica eletroquímica muito utilizada para avaliar a eficácia de um sistema bioeletroquímico é a técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE), que por sua vez, fornece uma visão geral a respeito das características provenientes da interação

eletrodo/solução, quando ocorrem diferentes processos intercorrelacionados em diferentes velocidades, por meio da aplicação de uma tensão variável (em frequência), revelando os mecanismos eletroquímicos do sistema. Os resultados podem ser expressos de diferentes maneiras, tais como em análogos de circuitos elétricos como em gráfico de Nyquist, que relaciona a parte imaginária da impedância, que está relacionada aos elementos reativos do sistema bioeletroquímico, com a parte real, entre outros. A partir da EIE é possível identificar regiões de resposta a frequência do sistema e associá-las com os processos eletroquímicos que estão ocorrendo (CARVALHO; ANDRADE; BUENO, 2006); (SOUSA, 2011).

Os sistemas eletroquímicos podem ser representados por circuitos elétricos equivalentes. Carvalho, Andrade e Bueno (2006) exemplificaram a resposta idealizada no plano de impedância complexa para um circuito elétrico equivalente de Randles, como exemplo de aplicação da EIE (Figura 6).

Figura 6 - Gráfico de impedância no plano complexo, onde  $R_e$  é a resistência da solução,  $R_{tc}$  é a resistência de transferência de carga e  $R_L$  é a resistência limite que destaca a intersecção com o eixo real



Fonte: Adaptado de Carvalho, Andrade e Bueno, 2006

A partir da Figura 6 observa-se que as regiões bem definidas neste gráfico de resposta idealizada, permitem analisar alguns parâmetros importantes do sistema. De uma forma geral, em baixas frequências, a impedância pode ser descrita em termos de transporte de massa por difusão, em que observa-se um acúmulo de cargas eletrônicas na interface do eletrodo limitando o processo de difusão. Em frequências intermediárias as resistências identificadas relacionam-se às transferências de carga na interface solução/ eletrodo, enquanto que em altas frequências, a resistência está associada à resistência da solução (BRUCE, 1995).

Além das técnicas eletroquímicas, a CCM pode ser avaliada a partir de sua capacidade de remoção de poluentes, quando alimentada com efluentes, visto que também pode ser considerada como um método de tratamento de efluentes. A eficiência do tratamento pode ser expressa a partir de diferentes parâmetros (LOGAN *et al.*, 2006). Segundo Von Sperling (1996) a Demanda Química de Oxigênio (DQO) é um dos parâmetros de maior importância na caracterização do nível de poluição de corpos hídricos, visto que a matéria orgânica excessiva presente nos corpos hídricos é a principal causa da depleção de oxigênio dissolvido em corpos d'água. A decomposição da matéria orgânica, quando esta encontra-se em excesso no meio, acarreta na liberação de nutrientes como fósforo e nitrogênio, em concentrações altas no meio, desequilibrando o processo de fotossíntese e decomposição.

Em termos de análise da eficiência de tratamento, a CCM pode ser avaliada conforme a sua capacidade de remoção de DQO do meio, que é obtida a partir de um menos a razão entre a DQO do efluente de saída e a DQO do efluente de entrada. A eficiência de remoção de DQO é utilizada para avaliar quanto do "combustível" foi convertido em corrente elétrica, por meio da análise da Eficiência Coulômbica ou em biomassa, por meio da avaliação do rendimento de crescimento (LOGAN *et al.*, 2006).

A eficiência do tratamento em qualquer sistema de tratamento, também pode ser avaliada a partir do atendimento ou não, da legislação ambiental em vigor. O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), por meio da Resolução CONAMA 430/2011 delibera sobre os padrões e as condições de lançamento de efluentes no âmbito federal. A Resolução define padrões de lançamento de efluentes na Seção II em termos de alguns parâmetros, tais como pH, Temperatura, Toxicidade, Demanda Bioquímica de Oxigênio ( $DBO_5$ ) e determina que cada estado pode dispor de uma legislação específica ambiental, desde que esta seja mais restritiva do que a legislação federal ou esteja em conformidade com a mesma (CONAMA, 2011).

No estado do Rio de Janeiro, a DZ 205.R-06 é a diretriz de controle de carga orgânica em efluentes líquidos de origem industrial que determina a remoção mínima, em termos de concentração máxima, de DQO para diferentes tipologias industriais, com vazão superior a 3,5m<sup>3</sup>/dia (INEA, 2007).

A Tabela 1 reúne as concentrações máximas de DQO em efluentes de indústrias com vazão superior a 3,5m<sup>3</sup>/h.

Tabela 1 - Concentrações máximas de DQO por tipologia industrial, para vazão superior a 3,5 m<sup>3</sup>/h

Natureza das Indústrias	DQO
Indústrias químicas, petroquímicas e refinarias de petróleo	< 250 mg/L ou 5,0 kg/dia
Fabricação de produtos farmacêuticos e veterinários, exclusive unidades de fabricação de antibióticos por processo fermentativo	< 150 mg/L ou 3,0 kg/dia
Fabricação de bebidas – cervejas, refrigerantes, vinhos, aguardentes, exclusive destilarias de álcool	< 150 mg/L ou 3,0 kg/dia
Indústrias alimentícias, exclusive pescado	< 400 mg/L ou 8,0 kg/dia
Percolado de aterro industrial	< 200 mg/L

Fonte: Adaptado de Inea, 2007

Outros parâmetros também estão usualmente sendo avaliados em estudos com CCM, tais como a toxicidade (SHEN *et al.*, 2012; ABREVAYA *et al.*, 2015; CHOI, 2015). A toxicidade é um parâmetro relacionado com o potencial de um determinado componente, substância ou produto de desencadear efeitos nocivos aos organismos com os quais se estabelece uma interação. Quando relacionada a efluentes, a toxicidade representa a capacidade de determinados constituintes e seus efeitos sinérgicos, de desencadear impactos ambientais negativos quando lançados em um corpo receptor (ARENZON; NETO; GERBER, 2011).

A toxicidade é avaliada em efluentes por meio dos ensaios de toxicidade, que por sua vez, simulam em um laboratório, os possíveis efeitos que poderão ser verificados em um corpo receptor, após o lançamento de efluentes no mesmo. O potencial de toxicidade é avaliado a partir da utilização de organismos aquáticos de diferentes níveis tróficos, que são expostos durante determinado período de tempo a um contaminante. Os ensaios de toxicidade podem ser classificados em agudos e crônicos, de acordo com o tempo de exposição dos organismos-teste ao contaminante. Os ensaios agudos, usualmente ocorrem de 24 a 96 horas e avaliam de uma forma geral, a letalidade ou algum efeito adverso prévio, tal como a imobilidade (COSTA *et al.*, 2008). Ensaios crônicos avaliam efeitos observados após uma exposição maior dos organismos-teste ao contaminante, podendo englobar todo o ciclo de vida do organismo-teste, avaliando os efeitos com potencial de desencadear alterações na reprodução e crescimento do organismo (RUBINGER, 2009).

A Resolução CONAMA 430/2011 prevê a realização de testes de toxicidade em efluentes e afirma que o órgão ambiental competente deve estabelecer os parâmetros e critérios de toxicidade para o lançamento de efluentes em corpos receptores e utilizar pelo menos dois níveis tróficos diferentes. De acordo com a legislação nacional, a avaliação do efeito tóxico do efluente no corpo receptor deve seguir as diretrizes listadas abaixo (CONAMA, 2011):

- Para o lançamento de efluentes em corpo receptor de água doce Classe 1 e Classe 2, águas salinas e salobras Classe 1, a Concentração do Efluente no Corpo Receptor (CECR), obtida a partir da divisão entre a vazão do efluente pela soma das vazões do efluente e vazão de referência do corpo receptor, multiplicada por 100 deve ser inferior ou igual a Concentração de Efeito Não Observado (CENO), que trata-se da maior concentração de agente tóxico que não desencadeia efeitos danosos estatisticamente significativos, durante o tempo de exposição do organismo-teste ao efluente e nas condições do teste, para medir o efeito tóxico crônico; ou a CECR deve ser menor ou igual a 30 dividido pelo Fator de Toxicidade (FT), que é o quanto o efluente é diluído para não gerar efeitos tóxicos no corpo hídrico, para medir o efeito tóxico agudo (CONAMA, 2011).
- Para o lançamento de efluentes em corpo receptor de água doce Classe 3, e águas salinas e salobras Classe 2, a CECR deve ser inferior ou igual a 100 dividido pelo FT, quando for realizado teste de toxicidade para avaliar o efeito tóxico agudo (CONAMA, 2011).

Os testes de toxicidade também podem ser desenvolvidos utilizando outros organismos-teste, tais como bactérias (*Vibrio fischeri*), microcrustáceos (*D. similis*) e algas (*Pseudokirchneriella subcapitata*), por exemplo. A escolha do organismo-teste e tipo de teste a ser utilizado, deve considerar características como: seletividade junto aos contaminantes, disponibilidade e abundância do organismo-teste, genética consolidada, facilidade de adaptação as condições laboratoriais, representatividade em seu nível trófico, volume de amostra disponível para a realização do teste, entre outros. Na literatura os organismos-teste mais utilizados para avaliação da toxicidade de efluentes líquidos são *D. similis*, *Daphnia magna* e *V. fischeri* e isto se deve ao fato desses organismos possuírem características como: tempo de resposta rápido a respeito da toxicidade do efluente bem como disponibilidade de informações na literatura referentes às suas técnicas de cultivo, metabolismos, dentre outros (BÁEZ *et al.*, 2004).

### 3.1.3 Oportunidades e desafios para CCM aplicadas a tratamento de efluentes

Questionamentos sobre a demanda alta por energia para o tratamento eficaz de efluentes, acarretam no crescente interesse na utilização de CCM em tratamentos de efluentes. As CCMs estão sendo desenvolvidas como uma tecnologia sustentável que apresenta um potencial para geração de energia e para o tratamento de efluentes. Em uma CCM ao ar os microrganismos degradam a matéria orgânica e os elétrons provenientes de sua oxidação seguem do ânodo para o cátodo e, junto ao oxigênio, formam água. Essa transferência passiva

do oxigênio para o cátodo elimina a preocupação com a aeração constante necessária em processos de tratamento biológicos convencionais, tais como o de lodo ativado. Além disso o processo via CCM ao ar se comparado a processos de tratamento biológico convencionais, produz menor volume de biomassa, o que reduz o custo com o tratamento e/ou transporte e disposição final desse resíduo (REN; AHN; LOGAN, 2014).

Apesar disso, a CCM utilizada com efluentes apresenta algumas limitações que ainda consistem em desafios para sua aplicação em maior escala. Slate *et al.* (2019) afirmam que as principais limitações das CCMs são: o custo alto associado às membranas e eletrodos, baixos níveis de energia obtidos devido principalmente a taxa de transferência de elétrons do ânodo e as propriedades eletroquímicas do material, resistência interna do sistema, remoção de DQO insuficiente para o lançamento diretamente no corpo receptor e vida útil.

Com objetivo de otimizar a CCM para a geração de energia, Ahn e Logan (2012) utilizaram uma CCM de câmara única, com várias escovas de fibra de grafite, como ânodos, utilizando separadores a fim de reduzir o espaçamento entre os eletrodos que também consiste em uma fator limitante em termos de geração de energia devido a contaminação por oxigênio do ânodo, fator que contribuiu para a obtenção de uma densidade de corrente de 975mW/m<sup>2</sup>. Em seu trabalho, os autores afirmam que para aplicação da CCM em grande escala, com objetivo de gerar energia, são necessários reatores compactos e o uso de múltiplos eletrodos.

Zhang *et al.* (2015) realizaram um estudo com uma CCM ao ar alimentada com efluente doméstico e avaliaram a remoção de DQO durante o estudo. Os autores obtiveram uma redução de concentração de DQO em uma CCM alimentada com efluente doméstico de 76% após 8 horas de operação, o que foi ressaltado no trabalho desenvolvido pelos autores, como uma remoção satisfatória porém insuficiente para o lançamento do efluente em um corpo receptor, sendo necessário um pós tratamento. Essa limitação da CCM no sentido de tratar efluentes líquidos, é verificada segundo os autores, como uma limitação usualmente identificada em estudos com o mesmo tipo de efluente.

Ren, Ahn e Logan (2014) também constataram que a CCM como única forma de tratamento, não consegue obter concentrações de DQO suficientes para o lançamento do efluente de saída em um corpo receptor e propuseram um sistema de tratamento de dois estágios em que a CCM é o primeiro estágio, permitindo a redução da concentração de DQO a valores mais baixos e também, a produção de energia que será consumida pelo segundo estágio, que no trabalho dos autores em questão consiste em um reator anaeróbio de leito fluidizado. O sistema de tratamento proposto foi eficiente na remoção de DQO e as CCMs em série, que forneceram

energia ao segundo estágio, produziram 0,0197 kWh/m<sup>3</sup>, fornecendo energia demandada pelo sistema.

De uma forma geral, Logan *et al.* (2006) consideram que o sucesso na aplicação da CCM em tratamento de efluentes dependerá da concentração e biodegradabilidade do efluente estudado, da temperatura do efluente e da presença de compostos tóxicos no meio. Além disso, os custos com o reator também são fatores que limitam a aplicação desses sistemas em grande escala. Materiais anódicos como grafite, carbono vítreo reticulado e outros, possuem custo alto e as fibras de carbono são mais acessíveis economicamente. A utilização de catalisadores no cátodo para aumentar a geração de energia também aumenta o custo da aplicação do sistema.

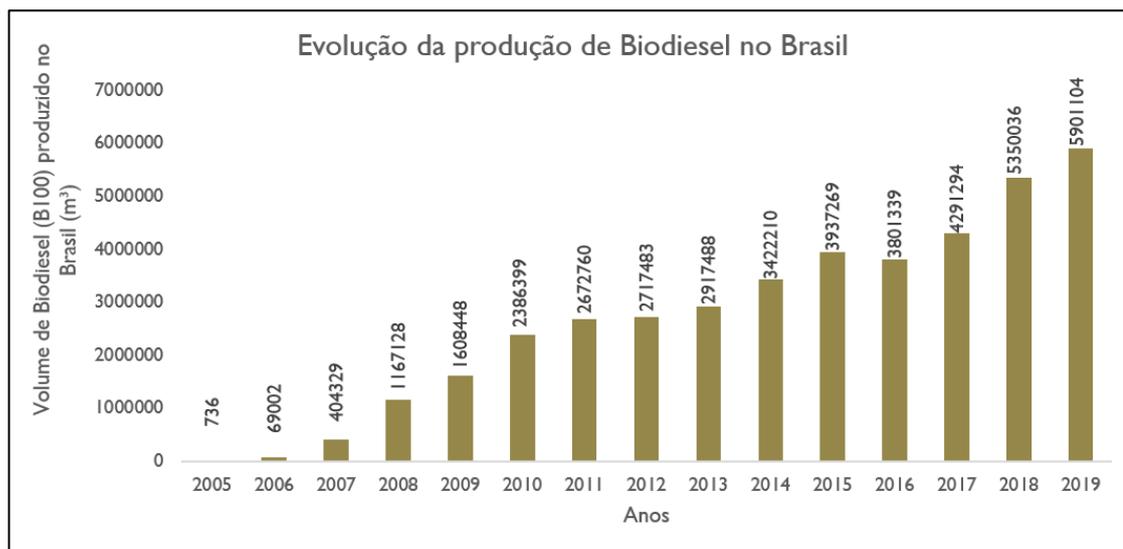
### 3.2 PRODUÇÃO DO BIODIESEL

O biodiesel a base de óleo vegetal começou a ser estudado e introduzido quando Rudolph Diesel desenvolveu os motores a diesel para serem empregados em máquinas do setor agrícola (ORCHARD; DENIS; COUSINS, 2007). Em 1920, com a oferta e disponibilidade de combustíveis derivados de petróleo, o interesse neste biocombustível teve uma redução. Com a crise do petróleo na década de 1970, o interesse na utilização de biodiesel como biocombustível voltou a crescer e até os dias atuais é objeto de estudos e é aplicado em diversos segmentos, como fonte de obtenção de energia (DAUD *et al.*, 2015).

Nos últimos anos, o consumo de energia mundial vem crescendo significativamente e, de acordo com a *U.S. Energy Information Administration* (EIA), aumentará cerca de 28% até o ano de 2040 (CEBULLA *et al.*, 2018).

No Brasil, a produção de biodiesel B100 (biodiesel puro), acompanha a tendência mundial de produção de biodiesel, apresentando de uma forma geral aumento significativo, segundo a Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) (Figura 7).

Figura 7 - Evolução da produção de biodiesel no Brasil



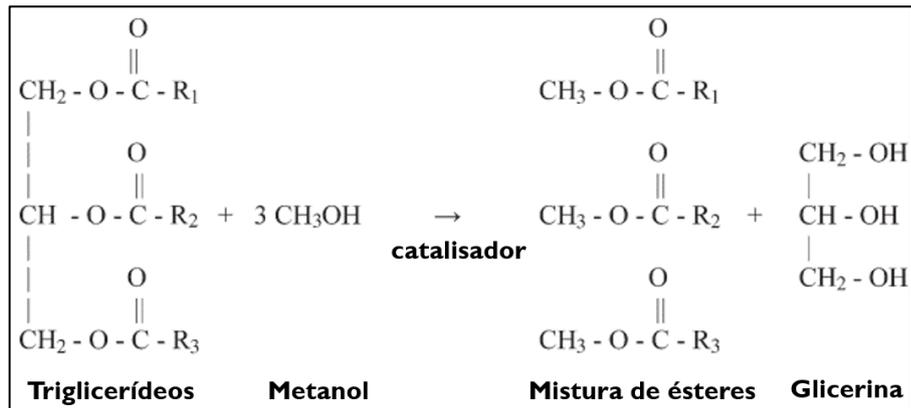
Fonte: ANP, 2020

De acordo com a Lei 13.263 de 23 de março de 2016, atualmente a porcentagem de biodiesel, legalmente permitida, a ser acrescentada no diesel para comercialização é de 11% (em setembro de 2019), com o aumento previsto de 12% para o ano de 2020 (BRASIL, 2016). Com estes aumentos na produção deste biocombustível em um âmbito mundial, muitas tecnologias de produção foram e estão sendo desenvolvidas para atender as demandas.

O biodiesel é um combustível alternativo, semelhante ao diesel convencional. Usualmente, esse biocombustível é produzido a partir de óleo vegetal, gordura animal, sebo e óleo de cozinha usado. Suas principais características são a biodegradabilidade, não toxicidade e a isenção de enxofre e aromáticos em sua composição e por isso é considerado melhor em termos ambientais do que o diesel e a gasolina convencionais (GEBREMARIAM; MARCHETTI, 2018).

O principal método de produção de biodiesel é a transesterificação em meio alcalino homogêneo. A produção de biodiesel inicia-se com uma reação de transesterificação, onde o óleo vegetal, reage com um álcool, como metanol, na presença de um catalisador (um alcóxido metálico por exemplo, em uma transesterificação em meio alcalino), para produzir ésteres metílicos e o coproduto denominado glicerina (VAN GERPEN, 2005) (Figura 8).

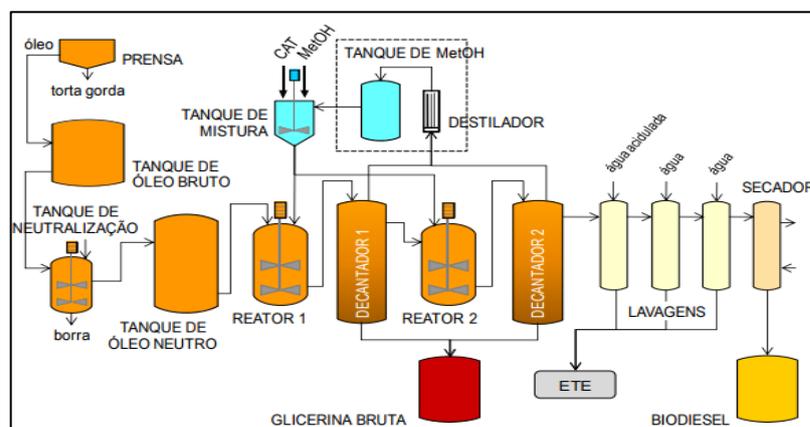
Figura 8 - Reação de transesterificação



Fonte: Adaptado de Van Gerpen, 2005

A Figura 9 representa um fluxograma típico de um processo de produção de biodiesel via reação de transesterificação em meio alcalino, em escala industrial. Neste fluxograma o óleo vegetal é inicialmente encaminhado a um filtro prensa para que se obtenha o óleo bruto a ser utilizado como matéria prima durante o processamento que resultará no biodiesel. Este óleo bruto é então neutralizado e submetido a reação de transesterificação nos reatores de processo, juntamente com alcóxido metálico e metanol, sob condições e parâmetros adequados ao processo. Posteriormente a glicerina é separada como um coproduto, podendo ser utilizada como matéria-prima em um outro processo produtivo, enquanto os ésteres metílicos são submetidos a ciclos de lavagem com água e posterior secagem, para se produzir o biodiesel (RAMOS *et al.*, 2011). No decorrer do processo produtivo, é possível detectar a geração de efluente durante a etapa de lavagem do biodiesel. Este efluente deve ser encaminhado a uma Estação de Tratamento de Despejos Industriais (ETDI) para que seja submetido a um processo de tratamento.

Figura 9 - Fluxograma típico de produção de biodiesel, via transesterificação em meio alcalino



Fonte: Ramos *et al.*, 2011

De acordo com Srirangsan, Ongwandee e Chavalparit (2009) para cada 100 L de biodiesel produzido são gerados cerca de 20 a 120 L de efluente que dependem, dentre outros fatores, da pureza do óleo utilizado como matéria-prima. O lançamento direto do efluente da produção de biodiesel em corpo receptor pode acarretar impactos ambientais negativos significantes devido a sua alta carga orgânica e alta concentração de óleos e graxas (OG), principalmente. As características do efluente da produção de biodiesel podem variar de acordo com o tipo de método utilizado em sua produção. A Tabela 2 mostra algumas caracterizações realizadas em diferentes estudos constantes na literatura, em termos dos parâmetros de DQO, OG e Sólidos Suspensos (SS).

Tabela 2- Características do efluente da produção de biodiesel

pH	DQO (mg/L)	OG (mg/L)
10,1-10,2	542.400	21.048
11,21	40.975	459
8,5-10,5	60.000-545.000	7.000-44.300
8,9	30.980	6.020
9,25-10,76	312.000-588.800	18.000-22.000

Fonte: Srirangsan, Ongwandee e Chavalparit, 2009

Alguns dos processos que compõem um sistema de tratamento de efluente da produção de biodiesel incluem processos físico-químicos e processos biológicos de tratamento. Os processos físico-químicos envolvem etapas de coagulação/floculação, acidificação, sedimentação, filtração, dentre outras. O processo biológico consiste no tratamento por lodo ativado e geralmente ocorre após o pré-tratamento, por processos físico-químicos (SRIRANGSAN; ONGWANDEE; CHAVALPARIT, 2009; VELJKOVIĆ; STAMENKOVIĆ; TASIĆ, 2014).

No processo de coagulação ocorre a remoção inicial de poluentes em termos de DQO, Sólidos Suspensos, turbidez e cor, por meio da adição ao meio de um agente coagulante, que pode ser policloreto de alumínio e sulfato de alumínio, dentre outros, sob uma taxa de agitação. Neste processo ocorre a complexação entre alguns componentes presentes no efluente e o agente coagulante, formando partículas desestabilizadas, que sedimentam no processo de sedimentação (AYGUN; YILMAZ, 2010). No processo físico-químico, em um sistema de tratamento de efluentes oleosos, também é comum a presença de um separador de fases, também denominado de separador de água e óleo, onde por diferença de densidade as fases são separadas e ocorre a redução da concentração de óleos e graxas no sistema. A adsorção é outro método de tratamento utilizado para remoção de poluentes e ocorre a partir da interação entre

a matriz de adsorção e as cargas que compõem o efluente. Esse método é usualmente empregado em conjunto com outros, em uma sequência, para que haja um resultado de remoção ao final dos processos físico-químicos esperado (VELJKOVIĆ; STAMENKOVIĆ; TASIĆ, 2014).

Phukingngam *et al.* (2011) propuseram um tratamento físico-químico seguido de um tratamento biológico anaeróbio, para o efluente de uma indústria de biodiesel, em um estudo de escala piloto. Os autores identificaram altas concentrações de metanol residual (40.300 mg/L) e de DQO (56.400 mg/L) no efluente do biodiesel. As concentrações de óleos e graxas também eram significativas no efluente bruto (3.300 mg/L). Para reduzir inicialmente a concentração de oleosos no efluente, os autores propuseram um processo de acidificação, coagulação e sedimentação, utilizando ácido sulfúrico para ajuste de pH até 4, policloreto de alumínio para a reação de coagulação e formação de pequenos flocos/coágulos e por fim, a introdução de polímero catiônico que por sua vez atuou quimicamente com os coágulos provenientes das interação de cargas no processo de coagulação, formando flocos maiores e mais densos que sedimentaram no processo seguinte, de sedimentação. Segundo os autores, esse pré-tratamento removeu cerca de 96% em concentração de óleos e graxas e 22% em concentração de DQO, do efluente bruto. Ao efluente clarificado adicionou-se fosfato de potássio dibásico, cloreto de ferro II e água para diluição. Em seguida o efluente seguiu para o reator anaeróbico, a uma vazão de entrada de 2,2L/dia, com tempo de residência de 10 dias. Ao final do processo de tratamento os autores obtiveram uma remoção de 99% de DQO.

Siles *et al.* (2011) também propuseram um pré-tratamento físico-químico do efluente seguido de um tratamento biológico anaeróbico. Neste trabalho os autores utilizaram o processo de acidificação até pH 4 do efluente bruto, com ácido sulfúrico, e em seguida, centrifugação. O efluente clarificado foi submetido ao processo de coagulação, seguido pelo processo de floculação, obtendo ao final uma remoção de DQO equivalente a 63%.

De Gisi, Galasso e De Feo (2013) utilizaram processos integrados para o tratamento do efluente de biodiesel de uma planta industrial que produzia o biocombustível via processo de transesterificação em meio alcalino. A sequência de tratamento proposta para o pré-tratamento considerou as etapas do processo físico químico: neutralização, adsorção, coagulação, floculação e sedimentação. O tratamento secundário foi realizado empregando-se o processo biológico de lodo ativado, seguido novamente do processo de coagulação, floculação e sedimentação e por fim, osmose reversa. Os resultados de remoção de DQO foram de cerca de 90% sem considerar a osmose reversa, e de 95% considerando a osmose reversa.

De uma forma geral, os efluentes provenientes da indústria de produção de biodiesel possuem uma alta carga orgânica e por isso, somente o processo de tratamento biológico não é

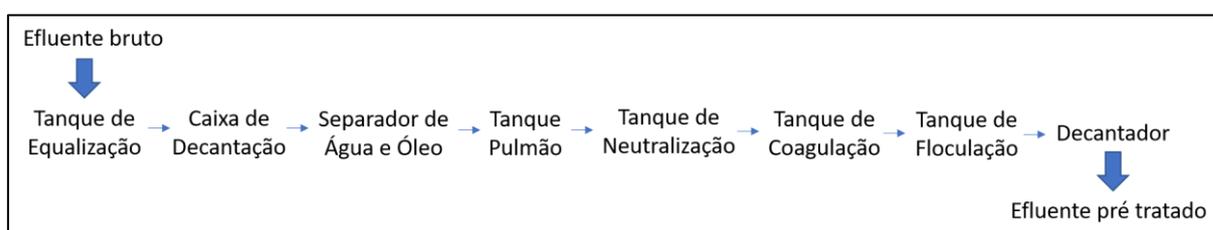
suficiente para atingir os limites de lançamento exigidos por órgãos ambientais competentes. De tal maneira, processos físico-químicos são muito empregados como pré-tratamento em estações de tratamento de forma que neste primeiro estágio, já ocorre uma significativa remoção de DQO, sólidos suspensos e óleos e graxas, que em altas concentrações podem inibir o crescimento de microrganismos que atuam na biodegradação do efluente na etapa do tratamento biológico (KUMJADPAI *et al.*, 2011; SUEHARA *et al.*, 2007).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 AMOSTRAGEM DO EFLUENTE DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

As amostragens do efluente pré tratado foram realizadas em uma fábrica de biodiesel localizada na Região Sul Fluminense, na Estação de Tratamento de Despejos Industriais (ETDI) da mesma. Esta indústria possui uma projeção de crescimento para os próximos anos e seu efluente possui alto potencial poluidor e, portanto, é necessário um tratamento prévio do efluente para que este possa ser lançado em corpo receptor. O plano de amostragem para o presente trabalho considerou a utilização do efluente pré tratado do processo físico químico do sistema de tratamento de uma indústria de biodiesel para a alimentação da CCM. Foi coletado um volume de 2 L do efluente pré-tratado proveniente do processo físico-químico, que compõe o sistema de tratamento de efluentes da fábrica (conforme Figura 10) em janeiro de 2019, para caracterização em termos de pH e DQO. Em julho de 2019, foi realizada uma nova coleta para a realização de novas análises e início do experimento na CCM.

Figura 10 - Fluxograma do processo de tratamento físico químico de uma fábrica produtora de biodiesel localizada na Região Sul Fluminense



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Foi realizada uma amostragem simples devido ao fato de a fonte de efluente bruto ser proveniente de um tanque de equalização, que absorve as variações nas características do

efluente bruto obtido durante o processo de produção, consistindo assim, em uma fonte constante na composição durante o ciclo de produção. As amostras foram preservadas em frascos de plástico de 1L sob refrigeração. Para as análises de DQO, a preservação das amostras seguiu o método 1060C do *Standard Methods for analysis for water and wastewater* (SMWW) (APHA, 2012), preservados com  $H_2SO_4$  até pH 2 e mantidos sob refrigeração.

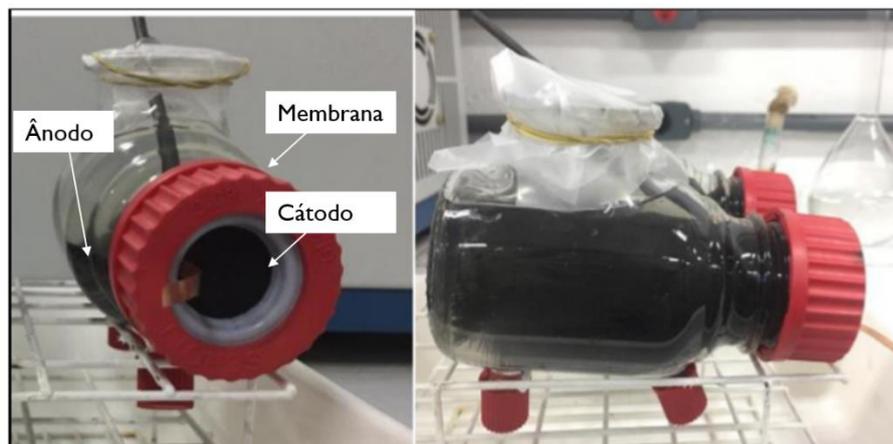
#### 4.2 CONSTRUÇÃO E OPERAÇÃO DA CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA

A configuração da CCM utilizou a célula de vidro (*H-type* adaptada) com tampa rosqueável, com volume útil de 280 mL. Para o material anódico, utilizou-se tecido de carbono, com 16cm<sup>2</sup> área nominal específica. Para o cátodo foi utilizado tecido de carbono (4cm<sup>2</sup>), porém com carga catalisadora de 0,4 mgPt cm<sup>-2</sup> que, por sua vez, foi estruturado na lateral da célula e fixado empregando-se borracha de vedação, por meio da tampa rosqueável. A separação entre as câmaras anódica e catódica ocorreu com a utilização de tecido de carbono aderido a membrana Nafion<sup>TM</sup> 117, com 4cm<sup>2</sup> de área específica. O contato entre o ânodo e a membrana permeável foi realizado por bastão de grafite e o contato entre cátodo e a membrana permeável foi realizado empregando-se fio de níquel. Para não haver difusão de oxigênio no interior da câmara anódica, utilizou-se Parafilm M<sup>®</sup> e borracha para vedação. A membrana Nafion<sup>TM</sup> 117 foi tratada sequencialmente com solução de peróxido de oxigênio ( $H_2O_2$ ) a 30%, água deionizada,  $H_2SO_4$ , na concentração de 0,5 mol L<sup>-1</sup> e água deionizada, cada etapa, com 1 hora de duração (LIU; LOGAN, 2004).

A operação da CCM foi inicialmente dividida em duas etapas: a etapa de aclimação, que consistiu em período de adaptação dos microrganismos ao efluente, com duração de 15 dias e aumento progressivo da concentração de efluente no volume adicionado (5%, 10% e 15%), e a etapa denominada tratamento, que consistiu em uma batelada alimentada, com alimentação do efluente pré-tratado a cada 120 horas, com duração de 35 dias e concentração de efluente no volume adicionado (40 mL de efluente pré tratado a cada batelada) igual a 100%.

O registro da montagem e configuração da CCM utilizada no presente trabalho, encontra-se na Figura 11.

Figura 11 - Configuração da CCM



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Para etapa de aclimação, utilizou-se a suspensão das bactérias exoeletrogênicas ativas *S. oneidensis*, adquiridas no *American Type Culture Collection* (8 mL) e *C. butyricum sp.*, adquirida na fundação André Toselho de Campinas/ São Paulo (1,5 mL). O volume de cada cepa inoculada foi obtido a partir da absorvância ( $DO_{600}$ ) de uma alíquota do pré cultivo das bactérias, obtido a partir de espectrofotômetro da marca Shimadzu (modelo UV-1800), em que para co-cultura, foi utilizado o volume calculado para  $0,05DO_{600}$  para cada microrganismo. As cepas foram crescidas em meio Luria Bertani (LB) (*S. oneidensis*), a 30°C e 150 rpm por 18 horas e em meio *Reinforced Clostridium Medium* (RCM) (*C. butyricum*) em incubadora da marca Sanyo, a 30°C e atmosfera com 10% de  $CO_2$  (ROY *et al.*, 2014). Nesta etapa, o ânodo foi inicialmente preenchido com uma solução nutritiva composta por: 1,0g de acetato de sódio ( $CH_3COONa$ ), 2,0g de glicose ( $C_6H_{12}O_6$ ), 0,15g de cloreto de amônio ( $NH_4Cl$ ), 0,015g de sulfato de magnésio ( $MgSO_4$ ), 0,02g de cloreto de cálcio ( $CaCl_2$ ), 0,1g de bicarbonato de sódio ( $NaHCO_3$ ), 0,53g de fosfato de potássio monobásico ( $KH_2PO_4$ ), 1,07g de fosfato de potássio dibásico ( $K_2HPO_4$ ) (KELLY; HE, 2014).

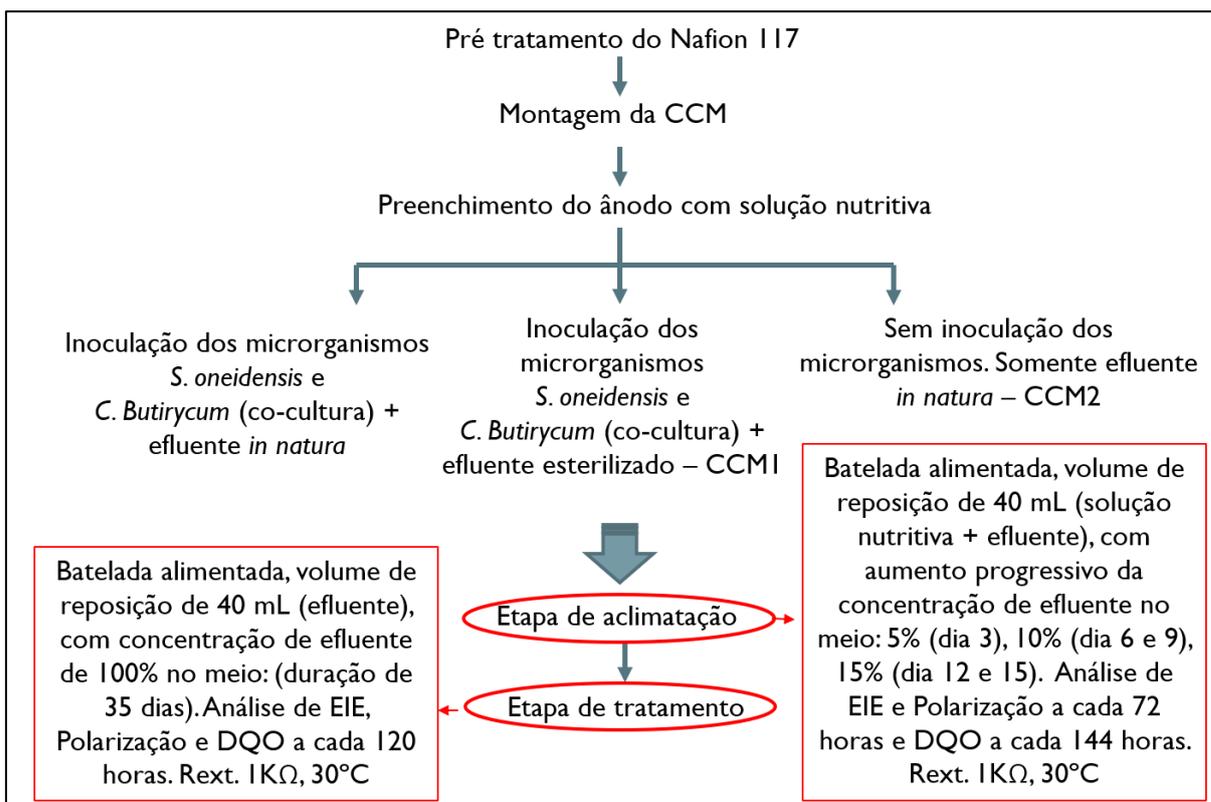
A CCM foi operada durante toda a etapa de aclimação, em modo batelada alimentada, com aumento progressivo da concentração do efluente de entrada, a cada 144 horas. A operação da CCM teve início no dia 0 (05 de agosto de 2019), com a inoculação de 280mL de solução nutritiva e dos microrganismos *S. oneidensis* e *C. butyricum sp.* A alimentação foi realizada retirando-se 40 mL de volume da CCM e logo em seguida, acrescentando-se 40 mL, composto por solução nutritiva e efluente pré tratado do físico-químico, em concentrações progressivas de 5% (dia 3), 10% (dia 6 e dia 9) e 15% (dia 12 e dia 15) com objetivo de verificar a adaptação dos microrganismos ao meio de cultivo, parâmetro este, avaliado pela densidade

de corrente e de potência (por meio da polarização eletroquímica a cada 72 horas), assim como remoção de DQO (por meio da análise de DQO a cada 144 horas) . Após a etapa de aclimatação, a CCM continuou sendo operada em modo de batelada alimentada, com retirada de 40 mL do efluente da CCM a cada 120 horas e introdução de 40mL de efluente pré tratado, sem diluição. Essa etapa teve duração de 35 dias, sendo que a cada 120 horas, eram realizados os ensaios de impedância eletroquímica, polarização eletroquímica, DQO, pH e cromatografia de íons para ânions. Durante o período de operação, a CCM esteve conectada a uma resistência externa de  $1000\Omega$ , e a temperatura foi mantida em  $30^{\circ}\text{C}$  (LIU; LOGAN, 2004).

Como forma de complementar o presente estudo foi investigado a possibilidade de haver microrganismos endógenos no efluente pré tratado da produção de biodiesel, que pudessem estar interferindo no experimento, no sentido de contribuir com a geração de energia elétrica na CCM. Então montou-se duas CCM ao ar (CCM1 e CCM 2) com as mesmas características estruturais, composição de efluentes e modo de operação. No entanto, como forma de verificar a influência dos inóculos e dos endógenos separadamente, na geração de energia na CCM, o efluente utilizado ao longo do tempo para a CCM1 foi esterilizado em autoclave, a  $121^{\circ}\text{C}$ , durante 20 minutos e a célula foi inoculada com a suspensão das bactérias exoeletrogênicas ativas *S. oneidensis* e *C. butyricum*. Para a CCM2, o efluente utilizado não foi previamente esterilizado e também não foram inoculadas as bactérias exoeletrogênicas ativas, de forma que a única fonte de geração de energia fosse a partir da biodegradação da matéria orgânica por meio da atuação dos endógenos presentes originalmente no efluente pré tratado. Seguiu-se o mesmo protocolo adotado para as etapas de aclimatação e tratamento quando a CCM com o efluente *in natura* foi inoculada com a co-cultura. As análises de EIE e polarização eletroquímica foram realizadas durante a etapa de aclimatação, a cada 72 horas enquanto que para a etapa de tratamento as análises eletroquímicas foram realizadas a cada 120 horas. Durante o período de operação, as CCMs estiveram conectadas a uma resistência externa de  $1000\Omega$ , cada, e a temperatura foi mantida em  $30^{\circ}\text{C}$ .

O fluxograma que resume a metodologia adotada encontra-se na Figura 12.

Figura 12 - Resumo da metodologia adotada



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

#### 4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises de caracterização do efluente foram realizadas conforme o SMWW, 22ª edição. Os parâmetros para caracterização foram DQO (método 5220 D), pH (método 4500-*H+*), cromatografia de íons para ânions (método 4110-B) e toxicidade aguda (método 8711) (APHA, 2012).

Durante o período do experimento conduzido na etapa de aclimação foram realizadas análises de DQO a cada 120 horas, a fim de ao final do experimento, verificar o total de remoção de DQO obtida para a CCM alimentada com o efluente da produção do biodiesel, assim como verificar o comportamento da concentração de DQO com o tempo e relacioná-lo com a geração de energia na CCM. Para a análises de toxicidade aguda, foram realizados ensaios ao início e ao final do experimento, a fim de observar a remoção da toxicidade do efluente pelos microrganismos incubados na CCM.

Para a determinação de DQO foi adotado o método 5220-D, sendo a calibração realizada com ftalato de potássio monobásico (P.A. > 99,5%, Sigma – Aldrich) para a faixa de  $50 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  a  $1000 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ . A absorvância foi verificada no comprimento de onda de 600 nm,

por meio do espectrofotômetro da marca Shimadzu modelo UVis -1800. A curva de calibração foi construída a partir das concentrações e absorvâncias obtidas para a solução padrão de ftalato de potássio monobásico. A avaliação da eficiência do tratamento ocorreu ao final do experimento, em termos de remoção de DQO (Equação 11).

$$\eta DQO(\%) = \left[ \frac{DQO_f - DQO_i}{DQO_f} \right] * 100 \quad (11)$$

A determinação do pH da solução foi conduzida de acordo com o método 4500-H+B, com o pHâmetro (Metrohm). Para o ensaio de cromatografia de íons para ânions foi utilizado o método 4110-B por meio de um 940 *Vario professional Ion Chromatograph* (Metrohm, Herisau, Switzerland).

#### 4.4 ANÁLISES DE TOXICIDADE

O ensaio de toxicidade aguda foi conduzido no Laboratório de Ecotoxicologia da Universidade de São Paulo em Lorena/São Paulo, com base na NBR 12713:2016, utilizando *Daphnia similis* como organismo-teste (ABNT, 2016). *D. similis* foram cultivadas em meio nutritivo, em condições de pH entre 7,0 e 7,2 e dureza entre 40 e 48 mg CaCO<sub>3</sub>L<sup>-1</sup>, em incubadora com controle de iluminação (16 horas de exposição a luz e 8 horas de escuro), a uma temperatura de 20°C. Os organismos foram alimentados diariamente com suspensão da alga *Pseudokirchneriella subcaptata*. As *D. similis* com idade entre 6 e 24 horas foram então colocadas em contato com as amostras de efluente em diferentes concentrações (cinco concentrações para cada amostra) e permaneceram durante 48 horas. Para cada análise foi também realizado em conjunto um controle, em que os organismos não foram expostos ao efluente.

Os testes foram conduzidos para o efluente pré tratado e para o efluente tratado da CCM, tendo sido realizado com cinco organismos, em quatro réplicas, totalizando 20 organismos para cada concentração de efluente analisada. Após 48 horas foi realizada a leitura dos ensaios por meio da verificação da imobilidade dos organismos em cada réplica e concentração. Os resultados foram registrados em formulário padronizado. Para o cálculo de CE<sub>50</sub> utilizou-se o programa estatístico *Trimmed Spearman Karber* (TSK) (HAMILTON; RUSSO; THURSTON, 1977).

#### 4.5 ANÁLISES BIOELETROQUÍMICAS

Para as análises de espectroscopia de impedância eletroquímica - EIE foi utilizado o potenciostato Modulab Electrochemical System (Solartron Analytical, Farnborough, UK), acoplado ao módulo FRA, com frequência variando de 100 kHz a 5 mHz, durante os ensaios, com amplitude de 10 mV. Para a obtenção das curvas do plano complexo, que permitem a análise dos processos que ocorrem entre interface do eletrodo e do biofilme, utilizou-se o software Zview (Scribners Associates, Southern Pines, NC).

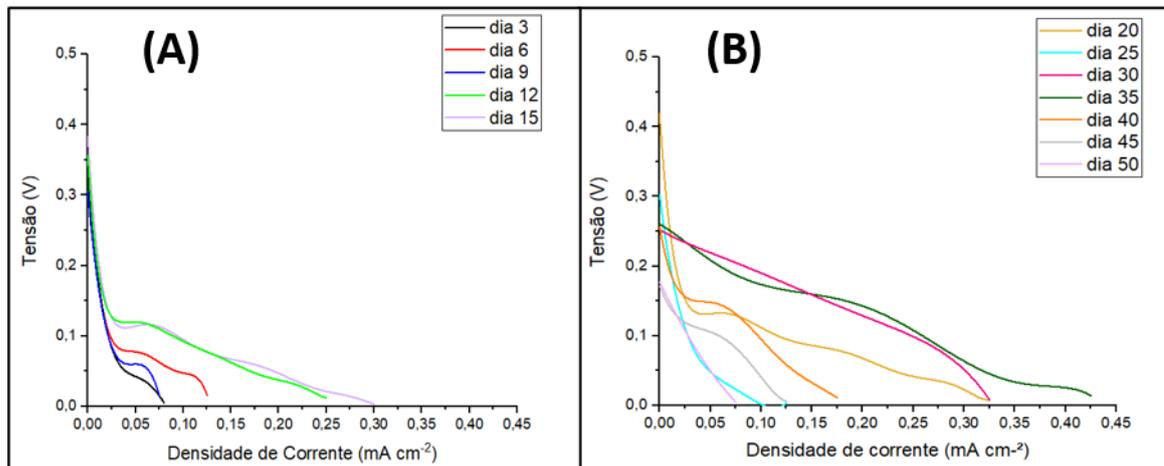
Para as análises de polarização eletroquímica, foi utilizado o equipamento KFM 2005 Impedance Meter (Kikusui, Yokohama, Japan) que, por meio da variação das resistências eletrônicas pré determinadas, para o tempo de 1 segundo, gerou as curvas tensão-corrente do sistema. A partir das curvas de polarização foram geradas as curvas de densidade de potência durante os 50 dias de experimento.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 GERAÇÃO DE CORRENTE E POTÊNCIA NA CCM COM CO-CULTURA

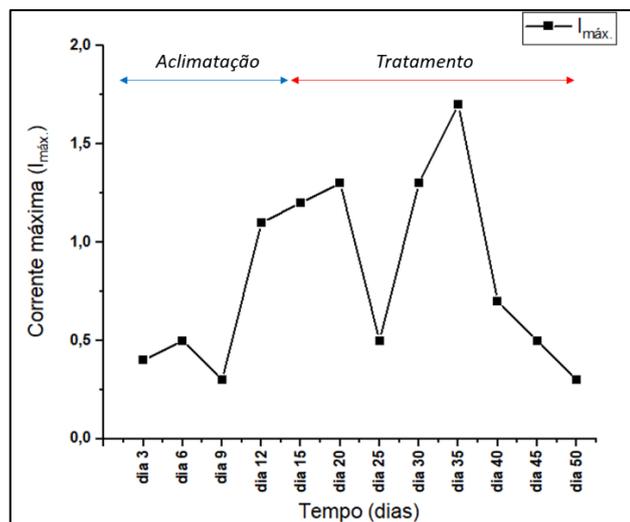
A obtenção de energia direta na CCM foi avaliada no presente trabalho por meio do ensaio polarização eletroquímica. Elaborou-se o gráfico de  $E(V)$  versus  $i$  ( $\text{mA cm}^{-2}$ ) e o gráficos  $I_{\text{máx.}}$  versus tempo (dias), para as etapas de aclimação e de tratamento, Figuras 13 e 14, respectivamente.

Figura 13 - Curvas de polarização eletroquímica durante as etapas de aclimação (A), e tratamento (B) da CCM inoculada com a co-cultura



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Figura 14 - Variação da corrente máxima obtida, ao longo dos 50 dias de experimento



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

As Figuras 13 e Figura 14 mostram que houve uma variação na corrente máxima gerada pela CCM ao longo do tempo, que teve seu máximo no dia 35 do experimento. No período que abrangeu os 15 primeiros dias do experimento (etapa de aclimação), a densidade de corrente apresentou uma tendência de crescimento, expressando seu maior valor, após 15 dias de experimento ( $0,30 \text{ mA cm}^{-2}$ ), onde a corrente máxima obtida foi de 1,2 mA. A queda na corrente máxima entre os dias 20 e 25 pode ser explicada pela transição de etapas na CCM, onde a alimentação da mesma passou a ser de 100% de efluente pré tratado no dia 20, o que impactou nas condições de aclimação já estabelecidas na etapa de aclimação.

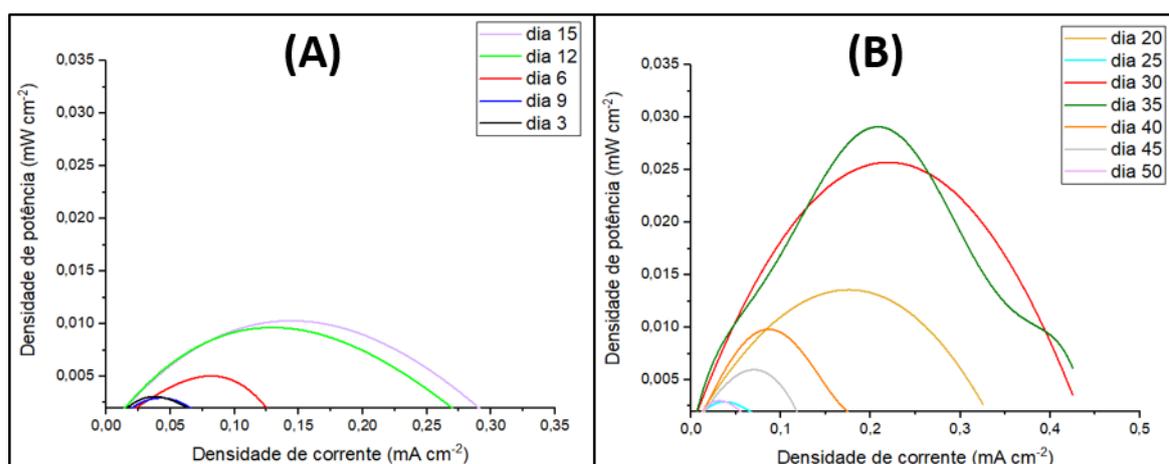
Nos dias seguintes do experimento a CCM apresentou recuperação e melhorou a performance em termos de geração de energia. Para os 35 dias da etapa de tratamento, obteve-se a maior densidade de corrente no dia 35 ( $0,42 \text{ mA cm}^{-2}$ ), em que a corrente máxima obtida foi de 1,7mA, o que indica que neste dia houve maior bioatividade devido a boa estabilização do biofilme e boas condições no meio (fenômeno de bioincrustação ainda no início). Estudos anteriores obtiveram  $0,15 \text{ mA cm}^{-2}$  de densidade de corrente para CCM com ânodo de tecido de carbono, utilizando resíduo da produção de biodiesel (composto por éster residual e outros produtos) como substrato para geração de energia em uma CCM ao ar. Os autores compararam essa geração de energia com aquela obtida em uma CCM ao ar alimentada com glicerina, que por sua vez, obteve uma densidade de corrente cerca de 9% superior (FENG *et al.*, 2011). A baixa densidade de corrente deve-se ao fato de que a degradabilidade do éster residual presente no resíduo do biodiesel, por microrganismos, é baixa e quando há no meio reacional, a glicerina, os microrganismos atuam preferencialmente na sua degradação, o que conseqüentemente é refletido em uma baixa densidade de corrente (OWSIANIAK *et al.*, 2009)

A partir das curvas destacadas na Figura 13, em termos de densidade de corrente, também é importante ressaltar que o comportamento das curvas obtidas ao longo do período analisado confirma dados teóricos do comportamento de uma célula microbiana, de uma forma geral. As curvas de polarização para a etapa de aclimação apresentam as três regiões distintas de sobretensão, correspondentes às perdas por ativação, ôhmica e por concentração conforme mencionadas por Khanal (2008). Durante essa etapa, as perdas por ativação foram as que mais influenciaram na diminuição da tensão elétrica gerada, o que pode estar associado à baixa velocidade das reações de oxidação e redução obtidas durante a fase de aclimação dos microrganismos, que consistiu no aumento gradativo da concentração do efluente no meio reacional (KHANAL, 2008). Além disso, para a etapa de aclimação, a resistência interna da CCM diminuiu ao longo do tempo, o que refletiu em uma crescente variação de corrente máxima produzida durante essa etapa já observada em estudos anteriores desenvolvidos por

outros pesquisadores (CHEN; PATIL; SCHRÖDER, 2018). Por outro lado, durante a etapa de tratamento, até o dia 35 do experimento, a resistência interna do sistema apresentou uma tendência de redução até atingir o dia onde a geração de corrente elétrica foi máxima. Após o dia 35 observou-se um aumento progressivo da resistência interna do sistema que pode ser atribuída ao aumento das perdas ôhmicas e das perdas por concentração na CCM, o que pode ser explicado pela resistência oferecida pela membrana Nafion e baixa taxa de transferência de massa pelo biofilme, que por sua vez possui ligação com o fenômeno bioincrustação (*biofouling*) (YANG *et al.*, 2018), respectivamente, fato este que limita a produção de corrente pelo sistema (LOGAN *et al.*, 2006).

Para o sistema desenvolvido, também foram estudadas as curvas de potência obtidas ao longo do tempo do experimento, que por sua vez, descrevem as densidades de potência em função das densidades de corrente, conforme apresentado na Figura 15.

Figura 15 – Curvas de densidade de potência durante as etapas de aclimação (A), e tratamento (B) da CCM inoculada com a co-cultura

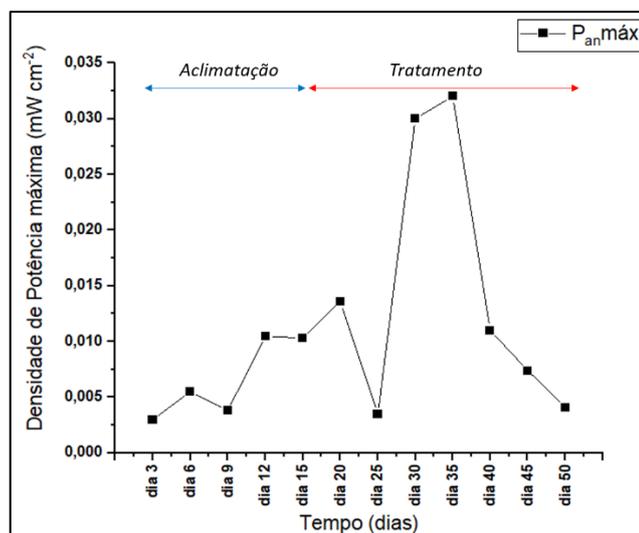


Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Nota-se que com o aumento progressivo da concentração do efluente no meio com o tempo na etapa de aclimação, as densidades de potência aumentaram, sendo que no dia 15 do experimento obteve-se o maior valor de densidade de potência (0,0103 mW cm<sup>-2</sup>). Observa-se a partir da Figura 15 também, que no dia 25, 120 horas após a primeira alimentação da célula com 100% do efluente pré tratado, que a densidade de potência apresentou uma queda significativa em termos de performance que tornou a aumentar até atingir o seu maior valor para este experimento, no dia 35 (0,0316 mW cm<sup>-2</sup>). Depois de atingir seu valor máximo as densidades de potência produzidas pela CCM foram reduzindo até o término do experimento.

A Figura 16 apresenta as variações das densidades de potência máximas obtidas para os 50 dias de experimento, onde verifica-se o máximo de potência atingido e a diminuição da capacidade de geração a partir do dia 35 de experimento.

Figura 16 - Variação da densidade de potência ao longo do experimento



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

A partir dos resultados apresentados nas Figuras 15 e 16 destaca-se que existem algumas limitações na obtenção de densidades de potência em uma CCM, dentre elas, o fato de que a presença de microrganismos não exoeletrogênicos e/ou a presença de células que perturbam a condutividade elétrica no biofilme e/ou ocupam sítio de ligação que limitam a transferência de carga, podem reduzir a geração de energia. Outro fator que pode ser um interferente na geração de energia é a difusão de oxigênio na câmara anódica, o que pode ter acontecido ao longo do experimento, durante as alimentações da célula. As densidades de potência e densidades de corrente variam de acordo com inúmeros fatores. Chen, Chen e Chung (2014) utilizaram feltro e tecido de carbono como material anódico em uma CCM ao ar inoculada com microrganismos presente no lodo biológico de esgoto doméstico e obtiveram uma densidade de potência de  $0,0007 \text{ mW cm}^{-2}$ .

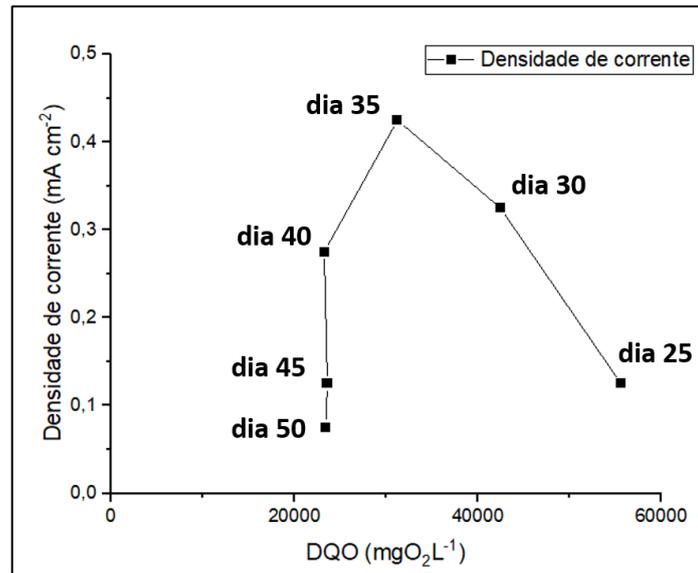
No geral, alguns estudos evidenciam que a utilização de co-cultura pode ter relação com maior geração de energia em uma CCM, fato este que pode ser atribuído aos efeitos sinérgicos e complementares fornecidos pelos microrganismos (SLATE *et al.*, 2019). O estudo desenvolvido por Ishii *et al.* (2004) destaca que para cultura pura de *G. sulfurreducens* em uma CCM obteve-se 20% a menos de geração de energia do que para a CCM inoculada com co-cultura, que por sua vez gerou  $0,06 \text{ mW cm}^{-2}$  de densidade de potência, sob as mesmas condições de experimento.

Yang *et al.* (2017) destacaram o efeito do material anódico na geração de energia em uma CCM em que obtiveram densidade de potência de  $0,11 \text{ mW cm}^{-2}$  utilizando pincel de fibra de carbono como ânodo e densidade de potência de  $0,08 \text{ mW cm}^{-2}$  utilizando tecido de carbono. Slate *et al.* (2019) ressaltam que o tecido de carbono e o feltro de carbono apresentam algumas limitações quando aplicados como materiais anódicos em CCM, sendo uma delas o entupimento dos poros do material de carbono, o que acarreta em morte celular e consequentemente em redução significativa da área superficial eletroquimicamente ativa relacionada com a transferência de carga e geração de energia. Os autores ainda destacam que a produção de energia em CCM com material anódico de tecido ou feltro de carbono pode ser limitante no início do experimento visto que pode ocorrer difusão de oxigênio da câmara catódica para a câmara anódica, inibindo a produção de energia por bactérias exoeletrogênicas, o que destaca a importância de haver um tempo de experimento maior para que se confirme essa hipótese.

Em relação a transição da etapa de aclimação para a etapa de tratamento do experimento desenvolvido no presente trabalho, a redução significativa da geração de energia no dia 25 pode ser explicada também pela introdução de efluente pré tratado, sem diluição no sistema, no dia 20 (início da etapa de tratamento), que aumentou a resistência da solução, bem como representou uma carga orgânica maior em contato com o sistema que já estaria adaptado a uma determinada situação de aclimação (LOGAN, 2009).

O aumento da carga orgânica no meio reacional, em termos de DQO, está associado às variações nas densidades de corrente obtidas (ZHANG *et al.*, 2015). A variação da densidade de corrente e concentração de DQO pode ser observada na Figura 17.

Figura 17- Densidade de corrente versus DQO durante a etapa de tratamento

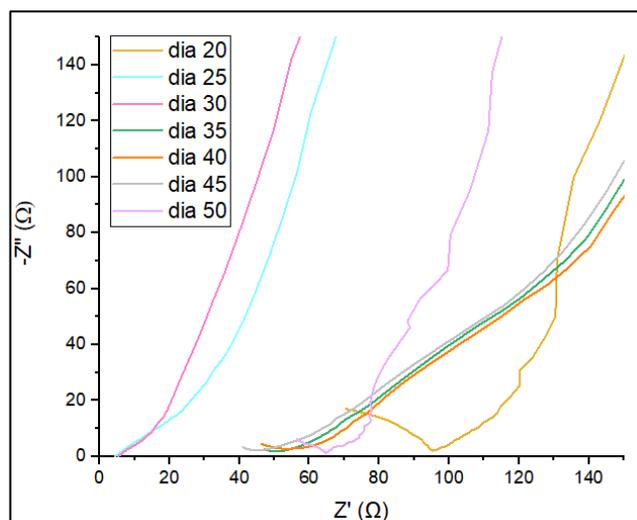


Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Analisando a Figura 17 é possível observar que as maiores densidades de corrente obtidas ao longo da etapa de tratamento, com exceção dos dias 20 e 25, ocorreram em maiores concentrações de DQO. De fato, outros estudos desenvolvidos em CCMs operadas em modo de batelada alimentada apontaram para o fato de que, as concentrações de DQO no meio influenciam diretamente no aumento de densidades de corrente e que, devido a uma combinação de fatores tais como limitações no processo de transferência de massa, aumento das concentrações de oxigênio dissolvido no meio, ocorre redução rápida na densidade de corrente do sistema bem como redução da atuação dos microrganismos na degradação da matéria orgânica, o que acarreta na baixa remoção de DQO do meio (ZHANG *et al.*, 2015).

O presente trabalho analisou a interface da CCM por meio de medições de EIE, durante o tempo de experimento. As curvas obtidas encontram-se na Figura 18.

Figura 18 - Diagramas de Nyquist obtidos em diferentes dias durante a etapa de tratamento



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Os diagramas de Nyquist mostrados na Figura 18 apresentam perfis diferentes conforme evolução do tempo de incubação. Logo no início desta fase de tratamento, no dia 20, observa-se a presença de um semicírculo incompleto, típico perfil do circuito de Randles com um elemento difusional de Warburg, a partir do qual pode-se estimar a resistência da solução em  $50 \Omega$  e de transferência de carga em  $40 \Omega$ .

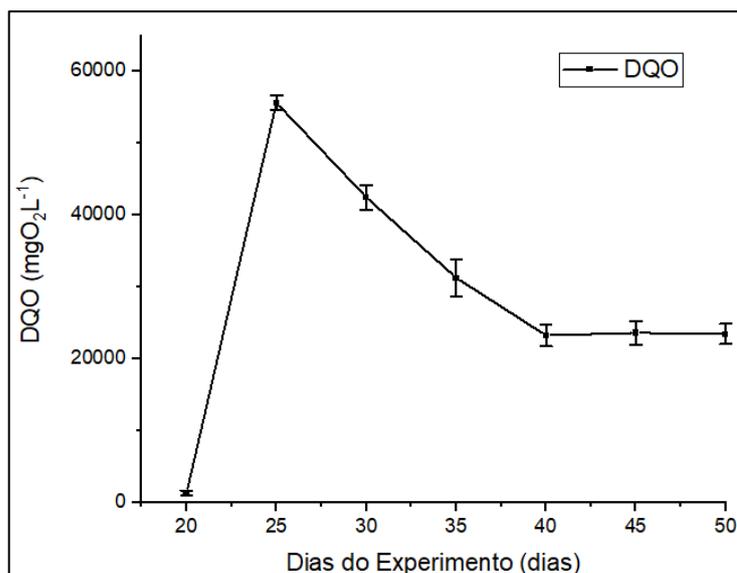
Na medida em que o tempo de incubação aumenta, nota-se alterações nos diagramas de Nyquist, como é possível observar por exemplo, que o semicírculo tende a ficar achatado ou desaparecer, indicando mudanças na interface biofilme/eletrodo, que provavelmente estão associadas ao crescimento e maturação do biofilme. Entretanto, se por um lado o crescimento do biofilme favorece a bioatividade, por outro lado o acúmulo de células mortas e produtos de excreção de células, denominado bioincrustação pode causar diminuição do desempenho eletroquímico das CCMs (BOROLE *et al.*, 2010).

## 5.2 ANÁLISES DA EFICIÊNCIA DO TRATAMENTO DO EFLUENTE NA CCM

A eficiência de tratamento na CCM foi avaliada a partir da remoção de DQO no meio (Figura 19). Foram também analisados ânions por meio de cromatografia, a fim de avaliar a biodegradação do efluente na CCM (Tabela 3).

A Figura 19 apresenta os resultados de DQO, em termos de concentração, obtidos ao longo da etapa de tratamento.

Figura 19- DQO versus Dias do Experimento durante a etapa de tratamento



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

A Figura 19 mostra a variação da concentração de DQO ao longo do tempo da etapa de tratamento, em que os resultados indicam que a DQO na CCM foi reduzida progressivamente, tendo seu maior valor no dia 25 ( $55622 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ ), e seu menor valor no dia 50 ( $23433 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ ). É importante destacar que no dia 20 do experimento a CCM foi alimentada com efluente pré tratado sem diluição, o que acarretou no aumento de sua concentração no meio, no dia 25 do experimento, o que explica um aumento considerável entre os dias 20 e 25 do experimento.

A redução da matéria orgânica da CCM ao longo do tempo, em modo de batelada alimentada é usualmente reportada em termos de eficiência de remoção, considerando as concentrações final e inicial do processo (AHN; LOGAN, 2012). A partir dos dados apresentados, verifica-se que houve uma remoção em termos de DQO de cerca de 76% durante esta etapa do experimento, sendo a DQO do efluente pré tratado, que alimentou a CCM durante todo o experimento, igual a  $98254 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ . A remoção de DQO do meio em uma CCM pode ser relacionada a diferentes fatores, tais como: crescimento dos microrganismos com geração de energia, crescimento de microrganismos aeróbios devido a difusão de oxigênio no meio reacional, área específica dos eletrodos, entre outros. Estudos anteriores, de Zhang *et al.* (2015), utilizaram esgoto doméstico como substrato em uma CCM operada em modo batelada alimentada, com tempo de residência de 2 horas. Os autores obtiveram ao longo de 48 horas de experimento uma remoção de 70%, para uma DQO inicial de  $840 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ , utilizando microrganismos presentes no lodo biológico de uma Estação de Tratamento de Esgoto. Os autores destacaram que existe um grande impacto das concentrações de DQO nas densidades

de potência obtidas para uma CCM alimentada com efluentes: maiores concentrações de DQO acarretam em maiores densidades de corrente (fato observado no presente estudo – Figura 19). Isto indica que manter uma geração de energia alta em uma CCM cujo objetivo também é tratar efluentes é um desafio, em termos de escalas maiores (ZHANG *et al.*, 2015).

A avaliação quanto ao atendimento à legislação ambiental em termos de remoção de DQO, para o estado do Rio de Janeiro, depende da vazão de efluente tratado a ser lançado no corpo receptor. Desta maneira, foram discutidas duas situações hipotéticas, onde foram estimadas as vazões de lançamento do efluente tratado, com concentração de DQO iguais a aquela obtida na CCM após 50 dias de experimento, em um corpo receptor.

De acordo com a DZ 205.R-06, do INEA, para indústrias com geração de efluentes até 3,5m<sup>3</sup>/dia, somente poderão ser lançados nos corpos d'água, direta ou indiretamente, os efluentes com carga de DQO inferior a 3,5 kg/dia. Considerando então que o efluente tratado da CCM, na concentração de DQO obtida no presente trabalho (23433 mg/L) seja hipoteticamente gerado a uma vazão de 3,5 m<sup>3</sup>/dia, ele não atenderia aos padrões constantes na DZ 205.R-06 uma vez que a carga de DQO seria de aproximadamente 82 kg/dia, valor muito superior ao exigido (3,5 kg/dia). Para vazões superiores a 3,5m<sup>3</sup>/dia, para uma indústria de produção de biodiesel, a DZ 205.R-06 limita que a concentração de DQO do efluente tratado seja de 250 mg/L ou de 5,0 kg/dia, desta forma, para uma vazão de 4,0 m<sup>3</sup>/dia, por exemplo, a carga de DQO seria de aproximadamente 94 kg/dia, valor ainda muito superior ao estabelecido na legislação ambiental pertinente a esta tipologia industrial (INEA, 2007).

Desta forma cabe ressaltar que é necessário, para este caso, um pós tratamento para reduzir a DQO a níveis aceitáveis para o lançamento. Kelly e He (2014) utilizaram em uma CCM um efluente de alta carga orgânica, como substrato, em modo de operação por batelada, inoculada com lodo biológico proveniente de uma estação de tratamento de esgoto, e obtiveram após 13 dias uma redução de 54,9% de DQO para a célula, sendo a concentração inicial de 16485 mgO<sub>2</sub>L<sup>-1</sup>, levando os autores a classificarem o substrato utilizado como ótimo para o tratamento via CCM, podendo ser acoplado com outros tipos de tratamento complementares para alcançar os limites adequados de lançamento em corpo receptor.

Para a análise de ânions, o objetivo inicial era verificar a remoção de ânions do efluente pré tratado a partir dos microrganismos utilizados no trabalho e considerando as condições operacionais estabelecidas. Durante a etapa de aclimação foi realizada a alimentação gradativa do efluente pré tratado com solução nutritiva, o que inseriu no meio nutrientes como fosfato dibásico e monobásico, cloreto de amônio e sulfato de magnésio, que não compõem originalmente o efluente pré-tratado. Após a realização das análises verificou-se que a remoção

de fosfato e cloreto foi relativamente baixa durante a etapa de tratamento. Tao *et al.* (2015) apontam que até mesmo a configuração das CCM pode influenciar na remoção de nutrientes do meio. Além disso, condições operacionais e a composição do substrato também podem afetar processos de remoção de nutrientes (NANCHARAI AH; MOHAN; LENS, 2016).

Tabela 3 - Resultados para remoção de ânions ao final do experimento

Parâmetros	Efluente pré-tratado	dia 50	Remoção
$PO_4^{-3}$ (mgL <sup>-1</sup> )	142,6±12,3	116,3±17,2	18,4%
$F^{-1}$ (mgL <sup>-1</sup> )	< 0,658	< 0,658	-
$NO_3^{-}$ (mgL <sup>-1</sup> )	< 0,361	< 0,361	-
$Cl^{-1}$ (mgL <sup>-1</sup> )	58,3±10,8	39,8±8,1	31,2%
$SO_4^{-2}$ (mgL <sup>-1</sup> )	5,03±0,4	3,6±0,7	28,4%

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

A avaliação da eficiência de tratamento na CCM também foi realizada a partir de ensaios de toxicidade aguda realizados no efluente pré tratado e no efluente final, obtido após 50 dias de experimento. Os resultados para a toxicidade aguda para 48 h, com *D. similis* estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 -Resultados obtidos para o teste de toxicidade aguda

	CE <sub>50</sub>
Efluente Pré Tratado	10,36%*
Efluente Tratado	0,49%**

\* Intervalo de confiança (IC) de 95% (limite inferior de 8,59%; limite superior de 12,49%)

\*\* Intervalo de confiança (IC) de 95% (limite inferior de 0,39%; limite superior de 0,62%)

Fonte: Elaborado pelo autor, 2020

Os resultados de toxicidade foram expressos em termos de CE<sub>50</sub> para ambas as amostras analisadas. Os dados obtidos indicam que após o tempo de experimento de 50 dias, a toxicidade do efluente aumentou em relação ao efluente pré tratado.

Para o efluente pré tratado o fator de diluição foi superior a 20, indicando que o mesmo foi tóxico para os microrganismos do teste, em que a concentração de amostra que causou o efeito agudo de imobilidade a 50% dos organismos no tempo de exposição e nas condições do teste, foi de 10,36%. Por outro lado, para o efluente tratado, o fator de diluição encontrado foi superior a 256, indicando que assim como para o efluente pré tratado, ele apresentou toxicidade aos microrganismos durante o teste. Para o efluente tratado a concentração de amostra que causou o efeito agudo de imobilidade a 50% dos organismos no tempo de exposição e nas

condições do teste foi de 0,49%, valor este bem inferior ao encontrado para o efluente tratado, o que comprova o aumento da toxicidade no meio.

Sabe-se que os efeitos potenciais dos reagentes utilizados durante a produção de biodiesel, tais como etanol, metanol, hidróxido de sódio, entre outros, podem influenciar na toxicidade de seu efluente. Estudos anteriores apontam para a influência do hidróxido de sódio e do propanol na alta toxicidade (ensaio de toxicidade aguda, 48 horas) para *D. similis* e do hidróxido de sódio, propanol e metanol para *D. magna*, em ensaios em todas as concentrações de 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8% e 1,0% utilizadas para a condução do teste de toxicidade (DIAS *et al.*, 2015). Na literatura, muitas são as combinações de tipos de tratamento utilizados para o efluente de biodiesel, dentre eles os tratamentos físico-químicos associados a tratamentos biológicos. Bedor (2015) avaliou a influência de salinidade, metanol e glicerol presentes no efluente tratado de biodiesel (tratamento físico-químico seguido de tratamento anaeróbio) na inibição de microrganismos presentes no lodo de um reator UASB de uma ETE e verificou que houve uma inibição do tratamento biológico após determinadas concentrações de cada parâmetro analisado.

Com relação ao aumento de toxicidade no meio, sabe-se que a toxicidade de mistura, tais como efluentes industriais está associada aos efeitos provenientes das interações de seus constituintes tais como os efeitos sinérgicos, em que a toxicidade da mistura é maior do que a soma das toxicidades individuais de seus componentes. Esses efeitos dependem das formas de interação entre os constituintes de uma mistura, onde uma interação química pode afetar a toxicidade de um desses componentes, assim com outros fatores já relatados em estudos anteriores, tais como a possível formação de produtos do metabolismo dos microrganismos utilizados no tratamento biológico, a formação de compostos intermediários no meio e a valores baixos de pH (COSTA *et al.*, 2008; PIZATO *et al.*, 2017).

Para avaliar o atendimento aos padrões ambientais exigidos para o lançamento do efluente no corpo receptor (CONAMA 430/2011), é necessário conhecer as vazões de efluente tratado assim com a vazão média do corpo receptor para que se calcule a CECR e verifique o atendimento ou não atendimento aos limites para o lançamento do efluente tratado.

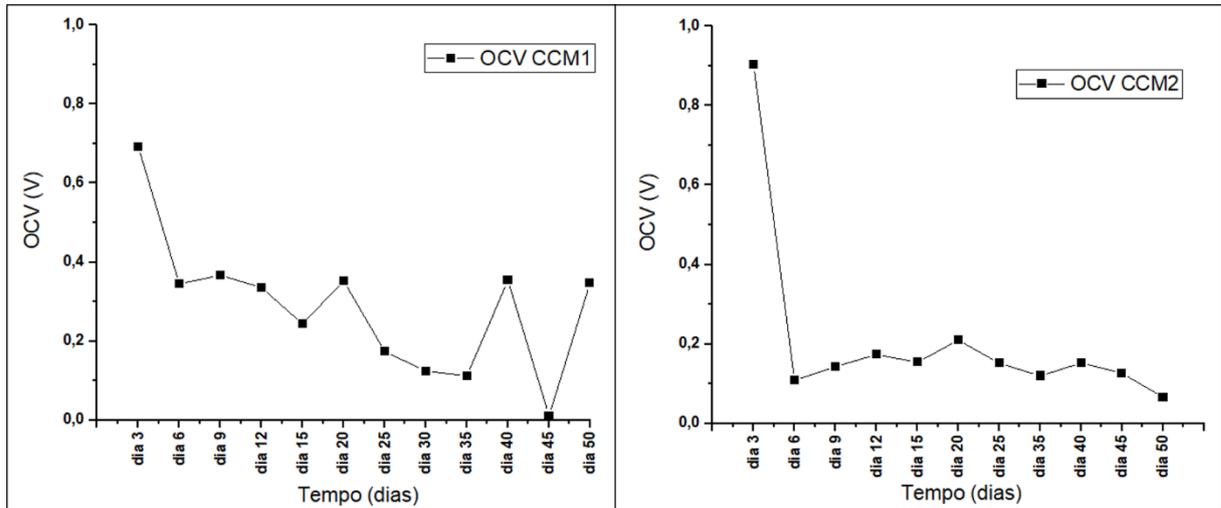
### 5.3 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA CO-CULTURA E ENDÓGENOS SEPARADAMENTE NA GERAÇÃO DE ENERGIA ELÉTRICA NA CCM

Uma questão comumente levantada em estudos de células a combustível microbianas alimentadas com efluentes, principalmente quando a mesma é inoculada com mono ou co-cultura, é a influência de microrganismos endógenos, no desempenho eletroquímico da mesma.

A hipótese é que se apenas os microrganismos endógenos seriam capazes de gerar corrente elétrica ou até se a interação dos endógenos com a co-cultura seria sintrófica ou deletéria. Portanto avaliações do desempenho eletroquímico foram realizadas separadamente, ou seja, ensaios sem a inoculação da co-cultura e ensaios com o efluente esterilizado e inoculado com a co-cultura, muito embora este último não seja aplicável a casos reais, pois seria inviável esterilizar grandes volumes de efluente.

Inicialmente, gráficos de variação de OCV ao longo dos 50 dias de experimento apontam que no terceiro dia de incubação a CCM alimentada com o efluente esterilizado e co-cultura (CCM1) apresentou voltagem em circuito aberto (OCV) de 0,70 V, enquanto que a CCM sem esterilização e sem inoculação, portanto sob ação apenas dos microrganismos endógenos (CCM2), mostrou OCV de 0,90 V (Figura 20), valores aceitáveis em termos de células microbianas alimentadas com efluentes de alta carga orgânica. Por outro lado, com a evolução da incubação (sexto dia) observa-se na Figura 20 que houve uma queda abrupta do OCV da CCM2, que atingiu o valor de apenas 0,10 V, enquanto a queda do OCV fornecido pela CCM1 não foi tão drástica, pois chegou a aproximadamente 0,35 V. A partir do dia 6 nota-se que os valores de OCV fornecidos pela CCM1 foram superiores aqueles apresentados pela CCM2. Este comportamento é um indicativo de maior bioatividade na CCM1, apesar do fato de que apresentar altos valores de OCV não é garantia de ter um bom desempenho eletroquímico, na verdade o ensaio de polarização e por conseguinte de potência, traduz melhor a capacidade de geração de uma CCM (KHANAL, 2008).

Figura 20- Variação da voltagem em circuito aberto (OCV) ao longo de 50 dias de experimento, para a CCM alimentada com o efluente esterilizado e co-cultura (CCM1) e para a CCM sem esterilização e sem inoculação (CCM2)

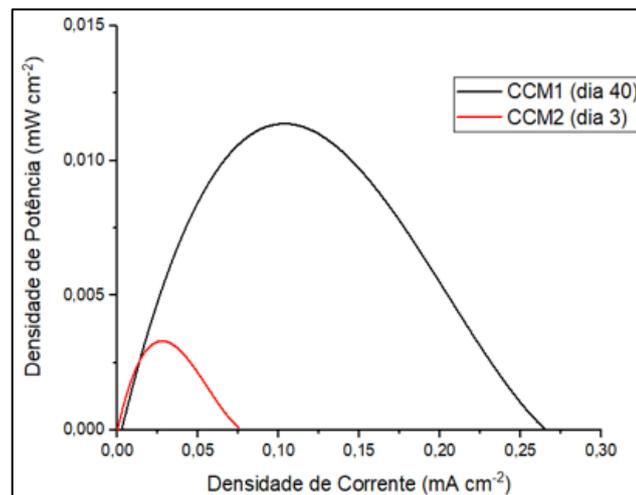


Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Quando avaliado as potências máximas fornecidas pelas duas CCMs ao longo de 50 dias de experimento, Figura 21, é notável a diferença entre a densidade potência máxima gerada pela CCM alimentada com o efluente esterilizado e co-cultura (CCM1),  $0,013 \text{ mWcm}^{-2}$ , e a densidade potência máxima gerada pela CCM sem esterilização e sem inoculação (CCM2),  $0,0035 \text{ mWcm}^{-2}$ , cerca de 4 vezes menor que a fornecida pela CCM1.

A partir do dia 3 não foi possível registrar densidades de potência para a CCM2, pois os valores deviam estar abaixo do limite detecção do equipamento, o que reforça a verificação de praticamente ausência de bioatividade dos microrganismos endógenos (SLATE *et al.*, 2019).

Figura 21- Curvas das maiores densidade de potência obtidas ao longo do experimento, para CCM1 (efluente esterilizado e com co-cultura) e CCM2 (efluente sem inoculação)

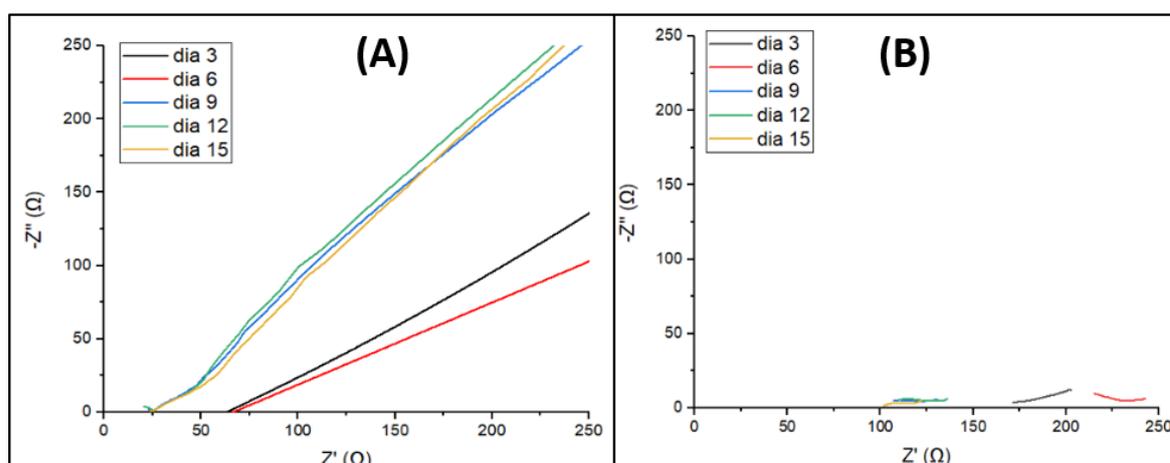


Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Os resultados para as análises de EIE podem auxiliar a entender melhor o comportamento eletroquímico da interface biofilme/eletrodo. Os gráficos do tipo Nyquist para cada CCM, durante as etapas de aclimação e de tratamento encontram-se nas Figuras 22 e 23. No início da fase de aclimação, até o dia 6, ambas as CCMs apresentaram um diagrama de Nyquist simples formado por uma reta, sugerindo a existência de uma interface representada por uma resistência apenas. A partir do dia 9 observa-se que o diagrama começa a apresentar um semicírculo incompleto, que pode ser associado à interface com a presença de biofilme, inclusive pode-se estimar a resistência do substrato e de transferência de carga em 12  $\Omega$  e 13  $\Omega$ , respectivamente para a CCM1 e em torno de 100  $\Omega$  e 125  $\Omega$ , respectivamente para CCM2, o que corrobora com a suposição de haver maior bioatividade na CCM1 (efluente esterilizado e com co-cultura).

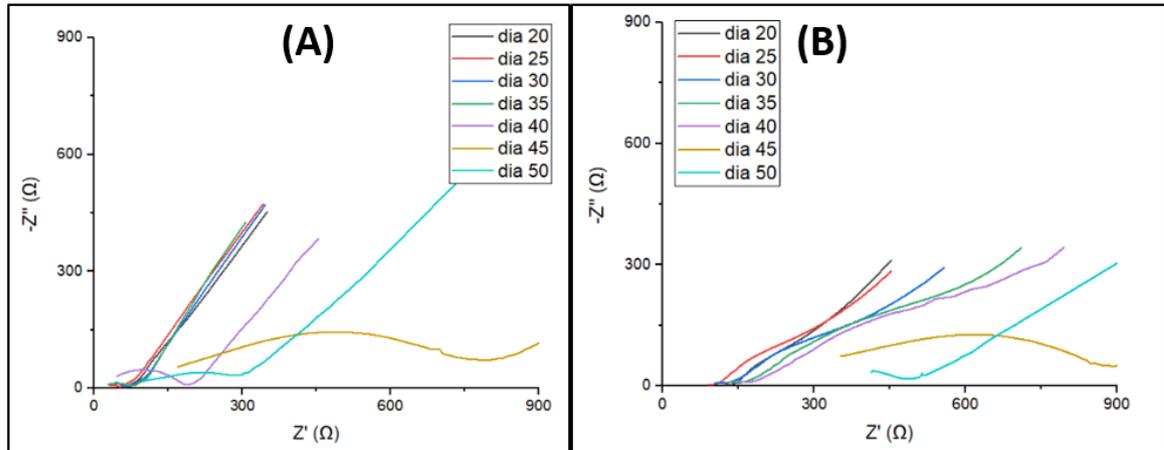
Na etapa de tratamento, observa-se comportamento ligeiramente diferente daquele apresentado na etapa de aclimação: primeiro observa-se que as resistências de transferência de carga aumentaram em ambas as CCMs; segundo, o gráfico de Nyquist da CCM1 apresentou outro perfil típico do circuito de Randles com um elemento difusional de Warburg, nitidamente na medição de EIS do dia 40, ao passo que, para a CCM2 fica mais difícil de identificar o mesmo perfil. Este fato pode estar associado ao aumento da atividade microbiana no eletrodo, ao longo dos dias, que é acompanhada do aumento da espessura do biofilme no eletrodo, causando um componente difusional.

Figura 22- Gráficos de Nyquist da CCM1, efluente esterilizado e com co-cultura (A) e CCM2, sem inoculação (B), durante a etapa de aclimação



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

Figura 23 - Gráficos de Nyquist da CCM1, efluente esterilizado e com co-cultura (A) e CCM2, sem inoculação (B), durante a etapa de tratamento



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019

## 6 CONCLUSÕES

A partir do que foi apresentado e desenvolvido no presente estudo, cujo objetivo consistiu em avaliar a relevância de uma CCM ao ar em termos de geração de bioeletricidade e remoção de poluentes do efluente líquido de biodiesel, concluiu-se que:

- A utilização do consórcio entre as bactérias *S. oneidensis* e *C. butyricum* na CCM alimentada com efluente da produção de biodiesel apresentou bons resultados em termos de geração de energia nas etapas de aclimação e tratamento, tendo gerado no dia 35, 0,0316 mW cm<sup>-2</sup> de densidade de potência, valor ainda baixo se comparado ao valor máximo já registrado na literatura (0,561 mW cm<sup>-2</sup>) porém, um valor superior a outros estudos encontrados também na literatura. Sendo assim, é possível afirmar que a CCM ao ar alimentada com efluente da produção de biodiesel tem potencial para gerar energia elétrica. Em relação a performance bioeletroquímica do sistema conclui-se que a CCM apresentou comportamento observado também em outros estudos, apresentando uma geração máxima de densidade de potência que foi decrescendo ao longo do tempo. Tal comportamento pode ser explicado pelo fenômeno de bioincrustação, que ainda é um desafio em estudos com CCM ao ar, em condições anaeróbicas (ânodo) pois acarreta em baixa transferência de massa.

- A remoção de poluentes do meio em termos de DQO foi de 76%, sendo a concentração final de DQO igual a 23433 mg/L, valor previsto para tratamento anaeróbios (40% a 85%). Com relação ao atendimento a legislação ambiental no estado do Rio de Janeiro, para remoção de DQO, conclui-se que a CCM foi capaz de remover matéria orgânica do efluente porém essa remoção não é suficiente para atender ao limite de lançamento exigido pelo órgão ambiental, para este parâmetro, sendo necessário um pós tratamento antes do lançamento do efluente em um corpo receptor.

- Os efeitos sinérgicos obtidos a partir dos ensaios de toxicidade indicam que houve um aumento na toxicidade do efluente após 50 dias de experimento que pode estar associado a fatores como a formação de produtos secundários do metabolismo das bactérias *S. oneidensis* e *C. butyricum*, a formação de compostos intermediários na CCM e baixos valores de pH.

- Após a avaliação da influência da co-cultura e endógenos separadamente, na geração de energia elétrica na CCM, concluiu-se que a geração de energia em uma CCM ao ar alimentada com efluente pré tratado da produção de biodiesel é pouco influenciada pelos endógenos presentes no efluente do biodiesel, visto que a CCM2 (efluente sem inoculação)

apresentou uma geração de energia muito baixa na etapa de aclimatação, que pode ser devido aos componentes da solução nutritiva acrescentada ao meio, que acarretaram em uma pequena geração de energia devido a condutividade elétrica de alguns de seus componentes.

## 7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

O presente trabalho não teve objetivo de exaurir o tema e, portanto, como expectativa para trabalhos futuros sugere-se:

- Caracterizar o efluente da produção de biodiesel.
- Estudar o aumento da toxicidade aguda na CCM alimentada com efluente da produção de biodiesel, de forma a identificar as substâncias e seus mecanismos de liberação que influenciam diretamente no aumento da toxicidade aguda do efluente tratado.
- Caracterizar e estudar o biofilme por meio de técnicas de microscopia de força atômica a fim de ampliar os conhecimentos a respeito da formação da bioincrustação.
- Estudar a utilização de outros tipos de eletrodos na CCM, visando obter melhores performances eletroquímicas e de tratamento.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *NBR 12713: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com Daphnia spp.* Rio de Janeiro, 2016.
- ABREVAYA, Ximena *et al.* Analytical applications of microbial fuel cells. Part II: toxicity, microbial activity and quantification, single analyte detection and other uses. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 63, p. 591-601, 2015. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez29.capes.proxy.ufrj.br/science/article/pii/S0956566314003200>. Acesso em: 07 jul. 2019.
- AHN, Yongtae; LOGAN, Bruce. A multi-electrode continuous flow microbial fuel cell with separator electrode assembly design. *Applied microbiology and biotechnology*, Alemanha: Springer International, v. 93, n. 5, p. 2241-2248, 2012. Disponível em: <http://web-a-ebscohost.ez29.capes.proxy.ufrj.br/ehost/detail/detail?vid=0&sid=e638b645-9fe3-4863-9d64-d903c2d82e3e%40sdc-v-sessmgr02&bdata=Jmxhbm9cHQtYnImc2l0ZT1laG9zdC1saXZl#db=mdc&AN=22314518>. Acesso em: 10 jul. 2019.
- ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Anuário Estatístico 2019. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/publicacoes/anuario-estatistico/anuario-estatistico-2019>. Acesso em 20 mar. 2020.
- APHA - American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, 2012.
- ARENZON, Alexandre; NETO, Tiago José Pereira; GERBER, Wagner. *Manual sobre toxicidade em efluentes industriais*. Porto Alegre: CEP SENAI, 2011.
- AYGUN, Ahmet; YILMAZ, Tuba. Improvement of coagulation-flocculation process for treatment of detergent wastewaters using coagulant aids. *International Journal of Chemical and Environmental Engineering*, v. 1, n. 2, p. 97-101, 2010. Disponível em: <https://tinyurl.com/y2c8w5gq>. Acesso em: 18 jul. 2019.
- BÁEZ, María Consuelo Díaz *et al.* *Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas: Estandarización, Intercalibración*. Chile: Gabriela Castilho Moralles, 2004. 179 p.
- BEDOR, Priscilla Braga Antunes. *Tratamento de efluente da produção de biodiesel*. 2015. Tese de Doutorado. Programa de Pós Graduação em Tecnologia dos Processos Químicos e Bioquímicos. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <http://epqb.eq.ufrj.br/download/tratamento-de-efluente-da-producao-de-biodiesel.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2020.
- BIFFINGER, Justin. *et al.* Diversifying biological fuel cell designs by use of nanoporous filters. *Environmental science & technology*, Estados Unidos da América: American Chemical Society, v. 41, n. 4, p. 1444-1449, 2007. Disponível em: <http://web-a-ebscohost.ez29.capes.proxy.ufrj.br/ehost/detail/detail?vid=10&sid=e638b645-9fe3-4863->

9d64-d903c2d82e3e%40sdc-v-  
sessmgr02&bdata=Jmxhbm9cHQYnImc2l0ZT1laG9zdC1saXZl#AN=17593755&db=mdc.  
Acesso em: 05 jun. 2019.

BOROLE, Abhijeet *et al.* Understanding long-term changes in microbial fuel cell performance using electrochemical impedance spectroscopy. *Environmental science & technology*, Estados Unidos da América: American Chemical Society, v. 44, n. 7, p. 2740-2745, 2010. Disponível em: <http://web-a-ebscohost.ez29.capes.proxy.ufrj.br/ehost/detail/detail?vid=12&sid=e638b645-9fe3-4863-9d64-d903c2d82e3e%40sdc-v-sessmgr02&bdata=Jmxhbm9cHQYnImc2l0ZT1laG9zdC1saXZl#AN=20222678&db=mdc>. Acesso em: 05 jun. 2019.

BOURDAKOS, Nicholas; MARSILI, Enrico; MAHADEVAN, Radhakrishnan. A defined coculture of *Geobacter sulfurreducens* and *Escherichia coli* in a membrane-less microbial fuel cell. *Biotechnology and bioengineering*, Estados Unidos da América: Wiley, v. 111, n. 4, p. 709-718, 2014. Disponível em: <http://web-a-ebscohost.ez29.capes.proxy.ufrj.br/ehost/detail/detail?vid=4&sid=e638b645-9fe3-4863-9d64-d903c2d82e3e%40sdc-v-sessmgr02&bdata=Jmxhbm9cHQYnImc2l0ZT1laG9zdC1saXZl#AN=24155100&db=mdc>. Acesso em: 05 mai. 2019.

BRASIL. Lei nº 13.263, de 23 de março de 2016. Altera a Lei nº 13.033, de 24 de setembro de 2014, para dispor sobre os percentuais de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado no território nacional. *Diário Oficial da União*, Brasília, 2016.

BRETSCHGER, Orianna *et al.* Comparative microbial fuel cell evaluations of *Shewanella* spp. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, Wiley, v. 22, n. 7-8, p. 883-894, 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/elan.200800016>. Acesso em: 05 jun. 2019.

BRUCE, Peter. *Solid State Electrochemistry*. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. 333 p.

CARVALHO, Liliane; ANDRADE, Adalgisa; BUENO, Paulo Roberto. Espectroscopia de impedância eletroquímica aplicada ao estudo das reações heterogêneas em ânodos dimensionalmente estáveis. *Química Nova*, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 796-804, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/%0D/qn/v29n4/30261.pdf>. Acesso em: 07 jun. 2019.

CEBULLA, Felix *et al.* How much electrical energy storage do we need? A synthesis for the US, Europe, and Germany. *Journal of cleaner production*, v. 181, p. 449-459, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652618301665>. Acesso em: 20 jan. 2019.

CHAUDHURI, Swades; LOVLEY, Derek. Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells. *Nature biotechnology*, Estados Unidos das Américas: Nature Publishing Group, v. 21, n. 10, p. 1229, 2003. Disponível em: <http://web-a-ebscohost.ez29.capes.proxy.ufrj.br/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=4&sid=c62313c8-9293-41b8-b114-76e09da865df%40sdc-v-sessmgr01>. Acesso em: 07 jun. 2019.

CHEN, Chih-Yu; CHEN, Tzu-Yu; CHUNG, Ying-Chien. A comparison of bioelectricity in microbial fuel cells with aerobic and anaerobic anodes. *Environmental technology*, v. 35, n. 3, p. 286-293, 2014. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09593330.2013.826254>. Acesso em: 29 mai. 2019.

CHEN, Shuiliang; PATIL, Sunil A.; SCHRÖDER, Uwe. A high-performance rotating graphite fiber brush air-cathode for microbial fuel cells. *Applied energy*, v. 211, p. 1089-1094, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306261917317269>. Acesso em: 20 dez. 2019

CHENG, Shaoan; LOGAN, Bruce. Increasing power generation for scaling up single-chamber air cathode microbial fuel cells. *Bioresource technology*, v. 102, n. 6, p. 4468-4473, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410020948>. Acesso em: 07 jun. 2019.

CHOI, Seokheun. Microscale microbial fuel cells: Advances and challenges. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 69, p. 8-25, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566315001128>. Acesso em: 12 jul. 2019.

CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente (2011). Resolução nº 430, de maio de 2011. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 13 maio 2011.

COSTA, Carla Regina *et al.* A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Química Nova*, São Paulo, v.31, n.7, p. 1820-1830, set. 2008. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/37449966.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2019.

DAUD, Nurull Muna *et al.* Production of biodiesel and its wastewater treatment technologies: a review. *Process Safety and Environmental Protection*, v. 94, p. 487-508, 2015. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Nurull\\_Daud/publication/267454681\\_Production\\_of\\_biodiesel\\_and\\_its\\_wastewater\\_treatment\\_technologies\\_A\\_review/links/5a2f4d9d0f7e9bfe817032dc/Production-of-biodiesel-and-its-wastewater-treatment-technologies-A-review.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Nurull_Daud/publication/267454681_Production_of_biodiesel_and_its_wastewater_treatment_technologies_A_review/links/5a2f4d9d0f7e9bfe817032dc/Production-of-biodiesel-and-its-wastewater-treatment-technologies-A-review.pdf). Acesso em: 03 jul. 2019.

DE GISI, Sabino; GALASSO, Maurizio; DE FEO, Giovanni. Full-scale treatment of wastewater from a biodiesel fuel production plant with alkali-catalyzed transesterification. *Environmental technology*, v. 34, n. 7, p. 861-870, 2013. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09593330.2012.720717>. Acesso em: 15 jun. 2019.

DIAS, Fernando *et al.* Efeitos De Reagentes Químicos No Efluente Da Indústria De Biodiesel: Contribuição Na Carga Orgânica E Ecotoxicidade. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales. Investigación, desarrollo y práctica*, v. 8, n. 1, p. 1-13. Disponível em: <http://revistas.unam.mx/index.php/aidis/article/view/48442>. Acesso em: 04 jan. 2020.

DU, Zhuwei; LI, Haoran; GU, Tingyue. A state of the art review on microbial fuel cells: a promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnology advances*, v. 25, n. 5, p. 464-482, 2007. Disponível em: <http://132.235.17.4/Paper-gu/MFCreview.pdf>. Acesso em: 21 jun. 2019.

ELMEKAWY, Ahmed *et al.* 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. 2013 – 225, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996914007595>. Acesso em: 02 jul. 2019.

FENG, Yujie *et al.* Treatment of biodiesel production wastes with simultaneous electricity generation using a single-chamber microbial fuel cell. *Bioresource technology*, v. 102, n. 1, p. 411-415, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410009168>. Acesso em: 15 jul. 2019.

GEBREMARIAM, S. N.; MARCHETTI, J. M. Economics of biodiesel production. *Energy Conversion and Management*, v. 168, p. 74-84, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196890418304655>. Acesso em: 15 mar. 2019.

HAJJARI, Masoumeh *et al.* A review on the prospects of sustainable biodiesel production: A global scenario with an emphasis on waste-oil biodiesel utilization. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 72, p. 445-464, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032117300291>. Acesso em: 15 jul. 2019.

HAMILTON, Martin A.; RUSSO, Rosemarie C.; THURSTON, Robert V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science & Technology*, v. 11, n. 7, p. 714-719, 1977. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es60130a004>. Acesso em 20 dez. 2019.

HUANG, Liping; REGAN, John; QUAN, Xie. Electron transfer mechanisms, new applications, and performance of biocathode microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, v. 102, n. 1, p. 316-323, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410010977>. Acesso em: 04 ago. 2019.

HUNT, Kristopher *et al.* Substrate-level phosphorylation is the primary source of energy conservation during anaerobic respiration of *Shewanella oneidensis* strain MR-1. *Journal of bacteriology*, v. 192, n. 13, p. 3345-3351, 2010. Disponível em: <https://jb.asm.org/content/192/13/3345.short>. Acesso em: 16 jul. 2019.

INEA – Instituto Estadual do Meio Ambiente. *Critérios e Padrões para Controle da Toxicidade em Efluentes Líquidos Industriais* – NT213 R-4. Rio de Janeiro: INEA, 1990.

INEA – *Diretriz De Controle De Carga Orgânica Em Efluentes Líquidos De Origem Industrial* – DZ 205 R-6. Rio de Janeiro: INEA, 2007.

ISHII, Shun'ichi *et al.* Comparison of electrode reduction activities of *Geobacter sulfurreducens* and an enriched consortium in an air-cathode microbial fuel cell. *Applied & Environmental Microbiology*, v. 74, n. 23, p. 7348-7355, 2008. Disponível em: <https://aem.asm.org/content/74/23/7348?papetoc=>. Acesso em: 04 ago. 2019.

KELLY, Patrick; HE, Zhen. Understanding the application niche of microbial fuel cells in a cheese wastewater treatment process. *Bioresource technology*, v. 157, p. 154-160, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852414001102>. Acesso em: 02 ago. 2019.

KHANAL, Samir Kumar. *Anaerobic biotechnology for bioenergy production: principles and applications*. Iowa: John Wiley & Sons, 2008. 301 p.

KUMJADPAI, Sasipan *et al.* Management of fatty acid methyl ester (FAME) wastewater by a combined two stage chemical recovery and coagulation process. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, v. 89, n. 2, p. 369-376, 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cjce.20429>. Acesso em 25 ago. 2019.

LIU, Hong; CHENG, Shaoan; LOGAN, Bruce. Power generation in fed-batch microbial fuel cells as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration. *Environmental science & technology*, Estados Unidos da América: American Chemical Society, v. 39, n. 14, p. 5488-5493, 2005. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es050316c>. Acesso em 15 ago. 2019.

LIU, Hong; LOGAN, Bruce. Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environmental science & technology*, Estados Unidos da América: American Chemical Society, v. 38, n. 14, p. 4040-4046, 2004. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es0499344>. Acesso em 20 ago. 2019.

LIU, Hong; RAMNARAYANAN, Ramanathan; LOGAN, Bruce E. Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. *Environmental science & technology*, Estados Unidos da América: American Chemical Society, v. 38, n. 7, p. 2281-2285, 2004. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es034923g>. Acesso em 20 ago. 2019.

LOGAN, Bruce *et al.* Electroactive microorganisms in bioelectrochemical systems. *Nature Reviews Microbiology*, Estados Unidos das Américas: Nature Publishing Group, p. 1, 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41579-019-0173-x>. Acesso em 21 ago. 2019.

LOGAN, Bruce *et al.* Graphite fiber brush anodes for increased power production in air-cathode microbial fuel cells. *Environmental science & technology*, Estados Unidos da América: American Chemical Society, v. 41, n. 9, p. 3341-3346, 2007. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es062644y>. Acesso em 21 ago. 2019.

LOGAN, Bruce *et al.* Impact of ohmic resistance on measured electrode potentials and maximum power production in microbial fuel cells. *Environmental science & technology*, Estados Unidos da América: American Chemical Society, v. 52, n. 15, p. 8977-8985, 2018.

Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.est.8b02055>. Acesso em 21 ago. 2019.

LOGAN, Bruce *et al.* Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environmental science & technology*, Estados Unidos da América: American Chemical Society, v. 40, n. 17, p. 5181-5192, 2006. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es0605016>. Acesso em 17 ago. 2019.

LOGAN, Bruce. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. *Nature Reviews Microbiology*, Estados Unidos das Américas: Nature Publishing Group, v. 7, n. 5, p. 375, 2009. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro2113?draft=journal>. Acesso em: 25 ago. 2019.

LOGAN, Bruce. *Microbial Fuel Cells*. Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2008. 199 p.

MARASSI, Rodrigo José *et al.* High strength bioethanol wastewater inoculated with single-strain or binary consortium feeding air-cathode microbial fuel cells. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, v. 38, n. 2, p. 380-386, 2019. Disponível em: <https://aiche.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ep.12967>. Acesso em: 25 ago. 2019.

NANCHARAI AH, Y. V.; MOHAN, S. Venkata; LENS, P. N. L. Recent advances in nutrient removal and recovery in biological and bioelectrochemical systems. *Bioresource technology*, v. 215, p. 173-185, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852416304321>. Acesso em 21 jan. 2020.

ORCHARD, Bryan; DENIS, Jon; COUSINS, John. Developments in biofuel processing technologies. *World Pumps*, v. 2007 (487), p. 24–28, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0262176207701517>. Acesso em: 25 ago. 2019.

OWSIANIAK, Mikołaj *et al.* Biodegradation of diesel/biodiesel blends by a consortium of hydrocarbon degraders: effect of the type of blend and the addition of biosurfactants. *Bioresource technology*, v. 100, n. 3, p. 1497-1500, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852408007153>. Acesso em: 25 ago. 2019.

PARK, Doo Hyun; ZEIKUS, Gregory. Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation. *Biotechnology and bioengineering*, v. 81, n. 3, p. 348-355, 2003. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bit.10501>. Acesso em: 23 ago. 2019.

PHUKINGNGAM, Darin *et al.* Anaerobic baffled reactor treatment of biodiesel-processing wastewater with high strength of methanol and glycerol: reactor performance and biogas production. *Chemical Papers*, v. 65, n. 5, p. 644-651, 2011. Disponível em: <https://www.degruyter.com/view/j/chempap.2011.65.issue-5/s11696-011-0061-y/s11696-011-0061-y.xml>. Acesso em: 25 ago. 2019.

PIZATO, Everton *et al.* Caracterização de efluente têxtil e avaliação da capacidade de remoção de cor utilizando o fungo *Lasiodiplodia theobromae* MMPI. *Engenharia Sanitaria e*

*Ambiental*, v. 22, n. 5, p. 1027-1035, 2017. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-41522017000501027&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-41522017000501027&script=sci_arttext). Acesso em: 10 jan. 2020.

POTTER, Michael. Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds. *Proceedings of the Royal Society of London*, v. 84, n. 571, p. 260-276, 1911. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/abs/10.1098/rspb.1911.0073>. Acesso em: 03 jun. 2019.

RABAEY, Korneel *et al.* A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency. *Biotechnology letters*, v. 25, n. 18, p. 1531-1535, 2003. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1025484009367>. Acesso em: 24 ago. 2019.

RABAEY, Korneel *et al.* *Bioelectrochemical Systems: From Extracellular Electron Transfer to Biotechnological Application*. Londres: IWA, 2010. 488p.

RABAEY, Korneel *et al.* Tubular microbial fuel cells for efficient electricity generation. *Environmental science & technology*, Estados Unidos da América: American Chemical Society, v. 39, n. 20, p. 8077-8082, 2005. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es050986i>. Acesso em: 24 ago. 2019.

RABAEY, Korneel.; VERSTRAETE, Willy. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *Trends in Biotechnology*, v. 23, p. 291 – 298, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167779905000922>. Acesso em: 24 ago. 2019.

RAMOS, Luiz Pereira *et al.* Tecnologias de produção de biodiesel. *Revista virtual de química*, v. 3, n. 5, p. 385-405, 2011. Disponível em: <http://rvq-sub.s bq.org.br/index.php/rvq/article/view/190>. Acesso em: 14 mai. 2019.

REN, Lijiao; AHN, Yongtae; LOGAN, Bruce E. A two-stage microbial fuel cell and anaerobic fluidized bed membrane bioreactor (MFC-AFMBR) system for effective domestic wastewater treatment. *Environmental science & technology*, Estados Unidos da América: American Chemical Society, v. 48, n. 7, p. 4199-4206, 2014. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es500737m>. Acesso em: 12 mar. 2019.

ROY, Jared *et al.* Catalytic biofilm formation by *Shewanella oneidensis* MR-1 and anode characterization by expanded uncertainty. *Electrochimica Acta*, v. 126, p. 3-10, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468613013443>. Acesso em: 10 ago. 2019.

RUBINGER, Carla Ferreira; *Seleção de métodos biológicos para avaliação toxicológica de efluentes industriais*. Minas Gerais, 2009. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2009. Disponível em:

<http://www.smarh.eng.ufmg.br/defesas/438M.PDF>. Acesso em: 03 jun. 2019.

SANTORO, Carlo *et al.* Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review. *Journal of power sources*, v. 356, p. 225-244, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378775317304159>. Acesso em: 10 ago. 2019.

SCHRÖDER, Uwe, Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency. *Physical Chemistry Chemical Physics*, v. 9, p. 2619–2629, 2007.

Disponível em:

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2007/cp/b703627m/unauth#!divAbstract>.

Acesso em: 10 ago.

SHEN, Yu *et al.* Microbial fuel-cell-based toxicity sensor for fast monitoring of acidic toxicity. *Water Science and Technology*, v. 65, n. 7, p. 1223-1228, 2012. Disponível em:

<https://iwaponline.com/wst/article-abstract/65/7/1223/17047>. Acesso em: 10 ago. 2019.

SILES, J. A. *et al.* Physical–chemical and biomethanization treatments of wastewater from biodiesel manufacturing. *Bioresource technology*, v. 102, n. 10, p. 6348-6351, 2011.

Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852411003129>.

Acesso em: 20 jul. 2019.

SLATE, Anthony *et al.* Microbial fuel cells: An overview of current technology. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 101, p. 60-81, 2019. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032118306920>. Acesso em: 15 ago. 2019.

SOUSA, Marcos Antonio Moura de. *Modelos de circuitos equivalentes para explicar espectros de impedância de dispositivos de efeito de campo*. 2011. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. Disponível em:

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/76/76132/tde-19062013-080945/en.php> . Acesso em: 15 mai. 2019.

SRIRANGSAN, A., ONGWANDEE, M., CHAVALPARIT, O. Treatment of biodiesel wastewater by electrocoagulation process. *Environment Asia*, Tailândia: Society of Higher Education Institutes on Environment, 2009, v. 2, n. 2, p. 15–19, 2009. Disponível em:

<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20103182192>. Acesso em: 14 jul. 2019.

SUEHARA, Ken-ichiro *et al.* Rapid and simple determination of oil and urea concentrations and solids content to monitor biodegradation conditions of wastewater discharged from a biodiesel fuel production plant. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, v. 15, n. 2, p. 89-96, 2007. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1255/jnirs.721>. Acesso em: 20 jul. 2019.

TAO, Qinqin *et al.* Nutrient removal and electricity production from wastewater using microbial fuel cell technique. *Desalination*, v. 365, p. 92-98, 2015. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0011916415001083>. Acesso em: 20 jan. 2020.

VAN GERPEN, Jon. Biodiesel processing and production. *Fuel processing technology*, v. 86, n. 10, p. 1097-1107, 2005. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378382004001924>. Acesso em: 20 ago. 2019.

VELJKOVIĆ, Vlada B.; STAMENKOVIĆ, Olivera S.; TASIĆ, Marija B. The wastewater treatment in the biodiesel production with alkali-catalyzed transesterification. *Renewable and sustainable energy reviews*, v. 32, p. 40-60, 2014. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032114000173>. Acesso em: 03 jun. 2019.

VON SPERLING, Marcos. *Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos*. Belo Horizonte: Editora UFMG, 1996. 443 p.

WATSON, Valerie; LOGAN, Bruce. Power production in MFCs inoculated with *Shewanella oneidensis* MR-1 or mixed cultures. *Biotechnology and bioengineering*, Estados Unidos da América: Wiley, v. 105, n. 3, p. 489-498, 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bit.22556>. Acesso em: 05 jun. 2019.

YANG, Wulin *et al.* Mitigating external and internal cathode fouling using a polymer bonded separator in microbial fuel cells. *Bioresource technology*, v. 249, p. 1080-1084, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852417319491> Acesso em: 03 jun. 2019.

YANG, Wulin *et al.* The impact of new cathode materials relative to baseline performance of microbial fuel cells all with the same architecture and solution chemistry. *Energy & Environmental Science*, v. 10, n. 5, p. 1025-1033, 2017. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2011/ee/c7ee00910k/unauth#!divAbstract>. Acesso em: 03 jun. 2019.

YI, Hana *et al.* Selection of a variant of *Geobacter sulfurreducens* with enhanced capacity for current production in microbial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 24, n. 12, p. 3498-3503, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566309002668>. Acesso em: 03 jun. 2019.

ZHANG, Xiaoyuan *et al.* COD removal characteristics in air-cathode microbial fuel cells. *Bioresource technology*, v. 176, p. 23-31, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852414016022>. Acesso em: 10 jul. 2019.

ZHOU, Minghua *et al.* An overview of electrode materials in microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, v. 196, n. 10, p. 4427-4435, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S037877531100084X>. Acesso em: 03 jun. 2019.