

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

SAMARA SANTOS CORRÊA SILVEIRA

**TRATAMENTO DE EFLUENTE LÁCTEO UTILIZANDO CÉLULA A
COMBUSTÍVEL MICROBIANA COM CATODO SOB INJEÇÃO DE AR**

VOLTA REDONDA

2024

SAMARA SANTOS CORRÊA SILVEIRA

**TRATAMENTO DE EFLUENTE LÁCTEO UTILIZANDO CÉLULA A
COMBUSTÍVEL MICROBIANA COM CATODO SOB INJEÇÃO DE AR**

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

Orientador Prof. Dr. Gilmar Clemente Silva

Volta Redonda, RJ

2024

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

S587t Silveira, Samara Santos Corrêa
Tratamento de efluente lácteo utilizando célula a
combustível microbiana com catodo sob injeção de ar /
Samara Santos Corrêa Silveira. - 2024.
55 f.: il.

Orientador: Gilmar Clemente Silva.
Dissertação (mestrado)-Universidade Federal Fluminense,
Escola de Engenharia Industrial e Metalúrgica de Volta
Redonda, Volta Redonda, 2024.

1. Tratamento de efluente lácteo. 2. Co-Cultura de
bactérias exoeletrogênicas. 3. Célula a Combustível
Microbiana. 4. Remoção de DBO e DQO. 5. Produção
intelectual. I. Silva, Gilmar Clemente, orientador. II.
Universidade Federal Fluminense. Escola de Engenharia
Industrial e Metalúrgica de Volta Redonda. III. Título.

CDD - XXX

SAMARA SANTOS CORRÊA SILVEIRA

**TRATAMENTO DE EFLUENTE LÁCTEO UTILIZANDO CÉLULA A
COMBUSTÍVEL MICROBIANA COM CATODO SOB INJEÇÃO DE AR**

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 27 de maio de 2024

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente



GILMAR CLEMENTE SILVA

Data: 18/07/2024 08:46:57-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Gilmar Clemente Silva – UFF

Orientador

Documento assinado digitalmente



CARLOS EDUARDO DE SOUZA TEODORO

Data: 18/07/2024 09:52:34-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Carlos Eduardo de Souza Teodoro – UFF

Documento assinado digitalmente



RODRIGO JOSE MARASSI

Data: 19/07/2024 10:34:43-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Rodrigo José Marassi – IFRJ

Volta Redonda

2024

Dedico à minha Anna Gildinha (in memoriam),
por me ensinar que estudar é uma das coisas
mais valiosas da vida...

Ao meu marido Fernando e meus filhos
Vinícius, Letícia e Betina, por estarem comigo
independente das circunstâncias...

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe, Anna Gilda, por tudo que fez por mim. Essa conquista é nossa!

Gostaria que estivesse aqui para compartilhar dessa alegria comigo.

Ao professor Gilmar pelos ensinamentos acadêmicos, pelo bom papo e por sempre ter uma boa história para contar. Além da paciência, compreensão, por sua empatia e por ser um ser humano incrível. O meu MUITO OBRIGADA! Quando eu crescer quero ser igual a você!

À minha amiga Vivian, que viabilizou a coleta do efluente estudado.

Aos companheiros de laboratório Álef, Pedro, Thiago, Mateus, Renata e Gabriela.

Aos funcionários da UFF: Alexandre, Everson, Mateus, Emerson e Celso, por serem sempre solícitos e me ajudarem toda vez que precisei.

Aos meus sogros Denise e Paulo, por estarem sempre disponíveis em todas as vezes que precisei.

Aos meus irmãos Leonardo e Jussara, por estarem disponíveis sempre que necessário. À tia Zenara, por acolher o Vinícius com todo carinho. Assim como, às tias do Espaço Kids por ficarem com as minhas meninas para que eu pudesse estar na UFF.

À Thainá por encher minha paciência para que eu fizesse a inscrição para o mestrado de Tecnologia Ambiental na UFF em 2020.

À minha amiga Rafaela e à Stella, por me concederem a carta de recomendação para tentar o ingresso no mestrado.

Ao meu marido Fernando, por acreditar mais em mim do que eu mesma. Pelo companheirismo e incentivo em todos os momentos.

Aos meus filhos: Vinícius, Letícia e Betina, por serem o meu combustível para continuar querendo aprender.

À DEUS por ter feito muito mais do que pedi, pensei ou imaginei!

À CAPES, pela bolsa concedida.

“Tudo é possível ao que crê.”

(Mc 9:23b)

RESUMO

A indústria láctea produz grande quantidade de efluente durante o processamento do leite. Devido à alta carga orgânica, o tratamento aeróbico desse efluente é difícil e custoso. Uma opção relativamente recente para superar estes desafios é a tecnologia de Célula a combustível microbiana (CCM). No presente trabalho nós utilizamos uma CCM com catodo de tecido de carbono/catalisador de platina exposto ao ar com vazão de 3,5 L/min, anodo de tecido de carbono em um volume anódico de aproximadamente 1 L para tratamento de efluente pré-tratamento (substrato) de uma indústria de processamento de leite. A CCM foi inoculada com co-cultura das bactérias exoeletrogênicas *Shewanella putrefaciens* e *Shewanella oneidensis*, foi mantida sob aclimação durante 2 semanas (sob resistência externa, Rext. de 1,0 k Ω , alimentada gradualmente até 500 mL na primeira semana; e Rext. de 0,3 k Ω na segunda semana), seguida da fase de tratamento durante 30 dias (adicionado mais 500 mL de substrato, Rext. de 10 Ω). Após o tratamento, as demandas química e bioquímica de oxigênio foram reduzidos em 76,4% e 82,3%, respectivamente, enquanto as quantidades de sulfato e brometo foram removidas completamente. Por outro lado, as concentrações dos ânions cloreto e nitrato e fosfato aumentaram significativamente. A espectroscopia de impedância eletroquímica mostrou a resistência ôhmica não mudou durante a fase de aclimação, porém a resistência de transferência de carga do anodo diminuiu de 2,4 k Ω para 0,017 k Ω . Embora os resultados alcançados tenham sido promissores indicando, que a CCM é uma tecnologia que pode ser destinada ao tratamento de efluente da indústria láctea, outros estudos devem ser realizados para otimizar a formação do biofilme e avaliar a toxicidade do efluente tratado.

Palavras-chave: Co-cultura exoeletrogênica. Biofilme. Remoção de DQO e DBO.

ABSTRACT

The dairy industry produces a large amount of effluent during milk processing. Due to the high organic load, aerobic treatment of this effluent is difficult and costly. A relatively recent option to overcome these challenges is the Microbial Fuel Cell (MFC) technology. In the present work, we use a CCM with carbon fabric cathode/platinum catalyst exposed to air with a flow rate of 3.5 L/min, carbon fabric anode in an anode volume of approximately 1 L for treating raw effluent (substrate) of a milk processing industry. The CCM was inoculated with co-culture of the exoelectrogenic bacteria *Shewanella putrefaciens* and *Shewanella oneidensis*, maintained under acclimatization for two weeks (under external resistance, Rext., of 1.0 k Ω , gradually fed up to 500 mL in the first week; and Rext. of 0.3 k Ω in the second week), followed by the treatment phase for 30 days (added another 500 mL of substrate, Rext. of 10 k Ω). After treatment, the chemical and biochemical oxygen demands were reduced by 76.4% and 82.3%, respectively, while the amounts of sulphate and bromide were completely removed. On the other hand, the concentrations of chloride, nitrate and phosphate anions increased significantly. Electrochemical impedance spectroscopy showed that ohmic resistance did not change during the acclimation phase, but the anode charge transfer resistance decreased from 2.4 k Ω to 0.017 k Ω . Although the results achieved were promising, indicating that MFC is a technology that can be used to treat effluents from the dairy industry, other studies must be carried out to optimize biofilm formation and evaluate the toxicity of the treated effluent.

Keywords: Exoelectrogenic co-culture. Biofilm. Removal of COD and BOD.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Possíveis reações de oxirredução em células combustíveis microbiológicas	20
Figura 1 – Configuração de uma CCM convencional com câmara dupla	20
Figura 2 – Configuração de uma CCM com câmara única	20
Figura 3 – Representação esquemática da formação de biofilme da <i>Shewanella oneidensis</i> na superfície do eletrodo	22
Figura 4 – Representação esquemática dos mecanismos da transferência de elétrons	23
Figura 5 – Circuito equivalente da interface anódica R(RC)(A). Gráficos de ângulos de circuitos: Nyquist (B) e BODE (C)	25
Figura 6 – Frascos do efluente a ser analisado e tratado pela CCM	27
Figura 7 – Plaqueamento Seriado	29
Figura 8 – Esquema de ativação das co-culturas de <i>Shewanella oneidensis</i> e <i>Shewanella putrefaciens</i> para inoculação na CCM	30
Figura 9 – CCMs funcionando por aproximadamente 30 dias	32
Figura 10 – Circuito equivalente representando a CCM	34
Figura 11 – Análise microbiológica de <i>Shewanella</i> sp (b) no efluente lácteo em agar Luria Bertani, sendo (a) análise do meio ambiente onde foi feito a análise, denominado como branco e c) inoculação da cepa de <i>Shewanella oneidensis</i> e <i>Shewanella putrefaciens</i> em meio de cultura para comparação	36
Figura 12 – Verificação da presença de cloro residual na amostra de efluente	37
Figura 13 – Representação do circuito equivalente usado para modelar e ajustar os diagramas de impedância. R1 representa a resistência do catodo	44
Figura 14 – Diagramas de Nyquist da CCM amostra e da CCM Controle após 3 dias de tratamento	45
Figura 15 – Diagramas de Nyquist da CCM amostra e da CCM Controle após 21 dias de tratamento	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Meio de Cultura Caldo Luria-Bertani Modificado	30
Tabela 2 – Valores de parâmetros físico-químicos típicos de efluentes brutos de laticínios	37
Tabela 3 – Caracterização do efluente pré e pós-tratamento	38
Tabela 4 – Resultados de parâmetros químicos do efluente pós-tratamento	38
Tabela 5 – Caracterização química, bioquímica e parâmetros inorgânicos com efluentes pós-tratamento em 7 dias e 30 dias	39
Tabela 6 – Comparação quantitativa de performance de CCMs usando efluentes reais ou sintéticos como substrato	43
Tabela 7 – Valores dos elementos obtidos dos ajustes com o circuito equivalente	46

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
Br ⁻	Íon Bromo
Ca ²⁺	Íon Cálcio
CCM	Célula a Combustível Microbiana
CIP	Cleaning in Place
CA	Corrente Alternada
CC	Corrente Contínua
Cl ⁻	Íon Cloro
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
°C	Graus Celsius
COV	Carga Orgânica Volumétrica
CV	Coefficiente de Variação
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EC	Eficiência Coulômbica
EIS	Espectroscopia de Impedância Eletroquímica
EPS	Substância Polimérica Extracelular
e ⁻	Elétron
F ⁻	Íon Flúor
Fe	Ferro

g/L	Grama por Litro
h	Hora
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
OD	Densidade Ótica
K ⁺	Íon Potássio
kΩ	Kilo Ohm
LB	Luria-Bertani
mg/L	Miligrama por Litro
mL/L	Mililitro por Litro
Mn	Manganês
nm	Nanômetro
Na ⁺	Íon Sódio
NH ₄ ⁺	Íon Amônio
NO ₃ ⁻	Íon Nitrito
PO ₄ ³⁻	Íon Fosfato
pH	Potencial Hidrogeniônico
Q _v	Vazão volumétrica
RPM	Rotação por Minuto
SO ₄ ²⁻	Íon Sulfato
μS/cm	Micro Siemens por centímetro
Ω	Ohm

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	18
2.1	OBJETIVO GERAL	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
3.1	CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA (CCM)	19
3.2	BACTÉRIAS EXOELETROGÊNICAS.....	21
3.3	FORMAÇÃO DE BIOFILMES ELETROATIVOS A PARTIR DE MICRORGANISMOS EXOELETROGÊNICOS.....	21
3.4	MECANISMOS DE TRANSFERÊNCIAS DE ELETRONS COM ELETRODO SÓLIDO	23
3.5	DESEMPENHO DA CCM USANDO A TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA (EIS)	24
3.6	EFLUENTE LÁCTEO UTILIZADO COMO SUBSTRATO EM CCM	25
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1	COLETA E CARACTERIZAÇÃO PRÉVIA DO EFLUENTE LÁCTEO	27
4.2	PREPARAÇÃO DAS CEPAS BACTERIANAS PARA INOCULAÇÃO.....	29
4.3	CONSTRUÇÃO E MANIPULAÇÃO DA CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA	31
4.4	OPERAÇÃO DA CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA: PREPARAÇÃO DO SUBSTRATO E INOCULAÇÃO	31
4.5	CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE PÓS-TRATAMENTO UTILIZANDO CCM..	33
4.6	AVALIAÇÃO DO BIOFILME POR ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA	33
4.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
5.1	CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DO EFLUENTE PRÉ-TRATAMENTO E PÓS-TRATAMENTO UTILIZANDO CCM.....	35
5.2	AVALIAÇÃO DAS INTERFACES ELETRÓDICAS POR ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA (EIS) DURANTE O TRATAMENTO	43

6	CONCLUSÕES	48
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	49
8	REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

A busca de tecnologias baseadas em energias renováveis com menor impacto ao meio ambiente, fez com que pesquisadores aumentassem os esforços em providenciar energias sustentáveis, devido ao aumento da demanda por energia em todo mundo e a necessidade de controlar emissões de carbono (SCOTT, 2016).

Para proteger o meio ambiente é de suma importância realizar o tratamento adequado das águas residuais. Mas, para que isso aconteça, consome-se bastante energia (LONGO et al., 2016). Sendo assim, o tratamento de águas residuais é caracterizado por um consumo relativamente alto de energia (CAMPANA et al., 2021). Frente a esta perspectiva, as células a combustível microbianas (CCMs) são uma boa alternativa para o tratamento das águas residuais e geração simultânea de energia elétrica (RAMYA & SENTHIL KUMAR, 2022).

As CCMs têm ganhado evidência como uma tecnologia energética alternativa, principalmente quando comparadas com outras tecnologias de tratamento de efluentes, porque não necessitam de qualquer fornecimento externo de energia, e, portanto, são autossuficientes (THULASINATHAN et al., 2021).

A CCM é um sistema onde o microrganismo oxida bioeletroquimicamente a matéria orgânica, podendo converter diretamente, através do metabolismo microbiano, matérias complexas orgânicas e inorgânicas (biodegradáveis), que muitas vezes são poluentes como os efluentes. Este processo é realizado no anodo do dispositivo, liberando elétrons que fluem para o catodo gerando eletricidade (KUBANNEK e KREWER, 2019; DAS, 2018; THULASINATHAN et al., 2021). Segundo Godbole et al. (2023), as CCMs fazem parte da tecnologia verde e geração de bioenergia. Entretanto, a necessidade de alto investimento para sua fabricação em escala industrial, detalhes de operação e baixa geração de potências ainda impõe restrições à aplicação desta tecnologia.

A CCM na configuração mais simples possui dois compartimentos: anódico e catódico. Sendo o anódico, anaeróbio e catódico aeróbio, podendo ser puramente químico (sem a presença de microrganismos). Essas duas câmaras são separadas por uma membrana trocadora de prótons, que possibilita o transporte dos prótons do anodo para o catodo (RACHINSKI et al., 2010; REMOR, 2020).

A transferência de elétrons do anodo para o catodo através de um circuito externo, só acontece nas CCMs, devido a presença de bactérias eletroativas ou exoeletrogênicas, as quais são capazes de formar biofilmes eletroquimicamente ativos, que são substâncias poliméricas extracelulares (proteínas, polissacarídeos, lipídeos e ácidos nucléicos), complexas, orgânicas, e que são importantes em sistemas de tratamentos biológicos. Alguns exemplos dessas bactérias

são a *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp*, *Bacillus cereus*, *Shewanella sp*, *Geobacter spp*, encontradas em diversos ambientes tais como: água doce, sedimentos marinhos. Esses microrganismos podem ser utilizados como culturas puras ou em culturas mistas para degradar resíduos e gerar energia (GODBOLE et al., 2023). Segundo Godbole et al. (2023), *Shewanella oneidensis* e *Geobacter metallireducens* foram as primeiras espécies a serem documentadas como sendo capazes de gerar energia a partir da redução de Mn (IV) e Fe (III) para seu crescimento.

Os biofilmes eletroativos produzidos por microrganismos são os principais atores nos sistemas bioeletroquímicos envolvendo reações eletrocatalíticas mediadas por microrganismos, como acontece nas CCMs. Sendo assim, a presença do biofilme eletroativo na operação das CCMs é fundamental pois ajudam a gerar eletricidade de forma mais eficiente (AFROZ et al., 2021; ANGELEAALINCY et al., 2018).

Para avaliar o comportamento da CCM, pode-se usar espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS, sigla em inglês), durante o crescimento do biofilme no anodo. Possui a vantagem de ser um teste não destrutivo para analisar o processo bioeletroquímico da CCM (RAMASAMY et al., 2008; WANG et al., 2022).

Um resíduo industrial importante é o efluente oriundo da indústria de laticínios, pois é produzido em grandes volumes e tem alta carga orgânica, sendo o soro o principal agente poluidor. Portanto aumentar a eficiência do seu tratamento é um desafio. O grande volume decorre do alto consumo de água com a limpeza de silos, tanques, pasteurizadores, homogeneizadores, tubulações etc. Este efluente tem elevada DQO, DBO, óleos e graxas, nitrogênio, fósforo etc. caracterizando-o como de alta carga orgânica (DANIEL, 2018; DA SILVA et al., 2018).

De acordo Slavov (2017) métodos mecânicos, físico-químicos e biológicos são aplicados no tratamento de águas residuais na indústria láctea, devido a diferença de composição do efluente pelos produtos fabricados e operações tecnológicas aplicadas.

Segundo Brião e Tavares (2007), existem dois focos de minimização da carga do efluente da indústria de laticínios: a redução do volume lançado e a minimização da carga poluente. O primeiro se refere à redução do consumo de água e o segundo refere-se ao tratamento “in plant”, no qual processos são instalados, buscando remover a carga orgânica do efluente e recuperando um concentrado para a reutilização.

Diante do panorama exposto anteriormente, o presente estudo analisou o desempenho de uma CCM projetada com catodo ao ar, canais no anodo, inoculada com co-cultura das

bactérias *Shewanella oneidensis* e *Shewanella putrefaciens* e alimentada com efluente lácteo, oriundo de uma empresa do interior do Estado do Rio de Janeiro.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Construir uma CCM com catodo sob injeção de ar e avaliar a capacidade de tratamento de efluente da indústria láctea.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar comportamento eletroquímico da co-cultura das bactérias *S. oneidensis* e *S. putrefaciens* em efluente lácteo.

Analisar interface dos eletrodos da CCM por meio de espectroscopia de impedância eletroquímica.

Quantificar redução de DBO e DQO depois do tratamento do efluente lácteo na CCM.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

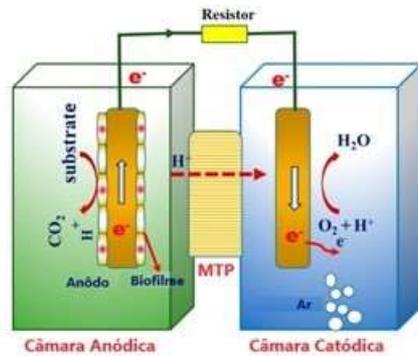
3.1 CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA (CCM)

O primeiro relato sobre a interação entre energia elétrica e processos metabólicos foi no sec. XVIII pelo médico, físico e filósofo italiano Luigi Galvani, que realizou a experiência na qual observou contração das pernas de rãs submetidas à descarga de corrente elétrica, teoria chamada por ele de “eletricidade animal”, surgindo o termo bioeletricidade. Em 1911 foi demonstrada pelo botânico inglês Michael Cressé Potter a produção de energia elétrica a partir de culturas de *E. coli* quando atuavam sobre substrato orgânico. Pela primeira vez, foi relatada uma célula combustível microbiana (RACHINSKI et al., 2010; DE OLIVEIRA, 2018).

Conforme descrito anteriormente, as CCMs são dispositivos bioeletroquímicos que transformam diretamente a energia química das substâncias em energia elétrica, com baixo impacto ambiental (SCOTT, 2016; KOROGLU et al., 2019).

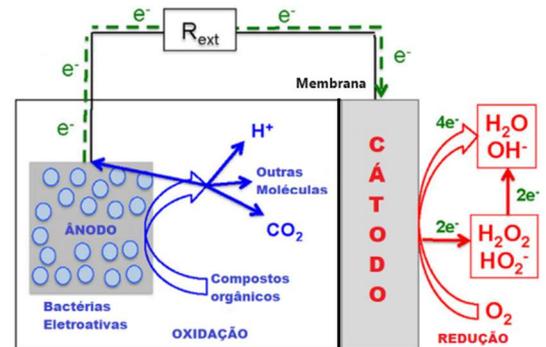
Como demonstrado na Figura 1, na sua configuração mais básica CCM possui duas câmaras: uma anaeróbica, onde fica o anodo e outra aeróbica, onde fica o catodo, separadas fisicamente por uma membrana de troca iônica. A câmara anódica é utilizada para oxidação de substrato pelo microrganismo e os elétrons oriundos do microrganismo passam para o catodo via material condutor elétrico externo (portanto sempre associado a uma resistência). Portanto pode-se considerar o material do anodo como um aceptor de elétrons. Então, do ponto de vista eletroquímico, a câmara anódica consiste em um catalisador (microrganismo) e um eletrodo (anodo), a qual pode ser alimentada por um anólito, meio de cultura ou água residual. Outra configuração relativamente simples é a composta por câmara única, onde o catodo está exposto diretamente ao ar ou uma fonte de gás oxigênio, como mostra a Figura 2 (DAS, 2018; SEVDA & SREEKRISHNAN, 2012; SPEERS & REGUERA, 2015; SCOTT, 2016).

Figura 1 – Configuração de uma CCM convencional com câmara dupla



Fonte: adaptado de RAHMANI et al., (2020)

Figura 2 – Configuração de uma CCM com câmara única



Fonte: Adaptado de SANTORO et al. (2017)

O desempenho da CCM depende de alguns parâmetros como: temperatura, pH, condutividade, concentração do substrato, espécie microbiana a ser utilizada, material do eletrodo e tamanho de sua superfície, material da membrana separadora de prótons, a composição do anólito, o tipo de configuração, tamanho e condições de operação da CCM (COSTA, 2019; SCOTT, 2016). Quando se tem as reações de oxidação e redução conforme mostra a Quadro 1, o desempenho da CCM geralmente é satisfatório.

Quadro 1 – Possíveis reações de oxirredução em Células Combustíveis Microbiológicas

Reação de Oxidação no Anodo	Reações de Redução no Catodo
<p>Acetato:</p> $\text{CH}_3\text{COO}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{HCO}_3^- + 8\text{H}^+ + 8\text{e}^-$	<p>Oxigênio:</p> $\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$
<p>Glicose:</p> $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 6\text{CO}_2 + 24\text{H}^+ + 24\text{e}^-$	<p>Nitrato:</p> $\text{NO}_3^- + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$ $2\text{NO}_3^- + 12\text{H}^+ + 10\text{e}^- \rightarrow \text{N}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$
<p>Glicerol:</p> $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{HCO}_3^- + 17\text{H}^+ + 14\text{e}^-$	<p>Íon Férrico: $\text{Fe}^{+3} + \text{e}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{Fe}^{+2} + 1/2\text{H}_2\text{O}$</p>
<p>Águas Residuais: $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_3\text{N} + 18\text{H}_2\text{O} \rightarrow 9\text{CO}_2 + \text{NH}_4^+ + \text{HCO}_3^- + 50\text{H}^+ + 50\text{e}^-$</p>	<p>Ferrocianeto: $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} + \text{e}^- \rightarrow [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$</p>

Fonte: adaptado de Koroglu et al. (2019)

Segundo Scott (2016) a temperatura e o pH de operação da CCM são os parâmetros que mais influenciam no seu desempenho. Sabendo que o aumento da temperatura melhora a cinética de redução do oxigênio e reduz a resistência interna da célula, podendo levar a maiores densidades de corrente, além de um aumento na taxa de crescimento microbiano, resultando em uma fixação mais rápida no eletrodo. Além disso, sabe-se também que a CCM opera em valores de pH entre 6,0 e 8,0 na câmara anódica e pH neutro ou superior na câmara catódica, pois a atividade microbiana performa bem em torno de pH neutro e diminui em pH mais alto ou mais baixo, podendo haver reduções na corrente e na eficiência coulômbica.

De acordo com Santoro et al. (2017), as CCMs são um sistema bioeletroquímico que combina atividade catalítica biológica com reações eletroquímicas clássicas, mostrando a viabilidade na geração de energia e simultaneamente na degradação de poluentes, sendo uma tecnologia alternativa para limpeza de águas residuais.

3.2 BACTÉRIAS EXOELETROGÊNICAS

Conforme descrito anteriormente, as bactérias capazes de transferir os elétrons oriundos do seu metabolismo para o meio externo são denominadas bactérias exoeletrogênicas ou eletroativas (COSTA, 2019). Normalmente encontra-se as bactérias eletroativas em vários ambientes como: água do mar e água doce, sedimentos do fundo do mar (marinhos) e alimentos em deterioração (terrestres) (LI et al., 2020; MURKHERJEE et al., 2020).

Diversas espécies são consideradas eletroativas tais como a *E.coli*, que foi a primeira bactéria a gerar energia elétrica, *Pseudomonas spp*, *Bacillus spp*, *Rhodospirillum rubrum*, etc (COSTA, 2019). Contudo, observa-se na literatura recente que os microrganismos dos gêneros *Geobacter* e *Shewanella* são os mais estudados como bactérias eletroativas para degradar resíduos e gerar energia elétrica nas CCMs.

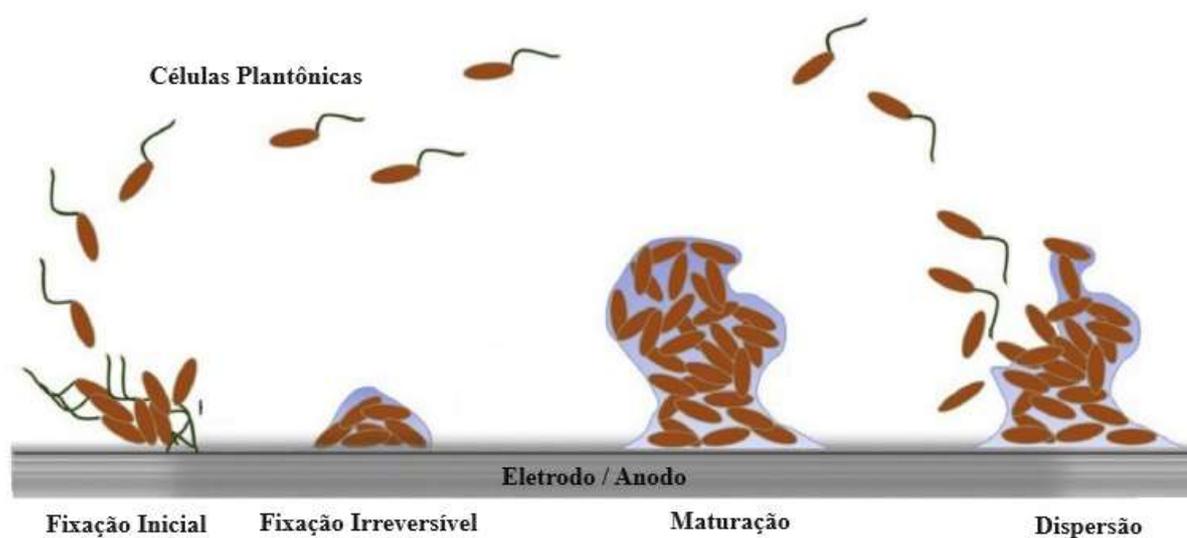
O gênero *Shewanella* contém aproximadamente 70 espécies, são bactérias Gram negativas, anaeróbias facultativas e podem ser encontradas em vários tipos de ecossistemas (MURKHERJEE et al., 2020; RACHINSKI et al., 2010).

3.3 FORMAÇÃO DE BIOFILMES ELETROATIVOS A PARTIR DE MICRORGANISMOS EXOELETROGÊNICOS

O bom desempenho da CCM no processo de biodegradação e geração de corrente elétrica dependem de alguns fatores e um deles é a formação do biofilme microbiano na superfície do eletrodo (PANDIT & DAS, 2018).

Geralmente, durante o seu metabolismo, as bactérias formam biofilmes que na verdade são bactérias envoltas por várias substâncias também conhecidas como EPS (*extra polymer substrate*) produzidas pelas próprias bactérias, que tem a finalidade de proteger a comunidade contra agressões externas. Portanto diversos fatores ambientais influenciam na formação do biofilme, dentre eles destacam-se a temperatura, alterações de pH, características do substrato, quantidade de inóculo, disponibilidade de nutrientes e oxigênio e agentes antimicrobianos (JOHN & LOPES, 2013, DE OLIVEIRA, 2018). Contudo, toda formação de biofilme é um processo dinâmico e é iniciada a partir da fixação células plantônicas, ocorrendo em 4 estágios: sendo o primeiro estágio a fixação das células plantônicas na superfície do eletrodo, podendo ser um processo reversível; no segundo estágio ocorre a fixação irreversível das células microbianas, devido a produção de EPS; o próximo estágio acontece a maturação do biofilme formado, ficando estável, devido sua estrutura tridimensional; o último estágio ocorre o deslocamento e dispersão das células do biofilme, havendo a iniciação de novos biofilmes (COSTA, 2019). A Figura 3 apresenta uma ilustração da formação do biofilme.

Figura 3 – Representação esquemática da formação de biofilme da *Shewanella oneidensis* na superfície do eletrodo



Fonte: Adaptado de Mukherjee et. al (2020)

Em se tratando de CCMs, os biofilmes que crescem nos eletrodos, tem propriedades específicas que os caracterizam como eletroquimicamente ativos (BABAUTA & BEYENAL, 2015).

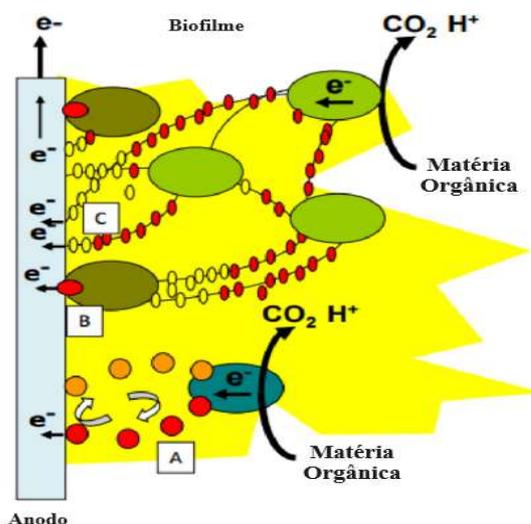
Como no princípio fundamental da CCM está envolvido a condução de elétrons, o material de anodo deve possuir características como: boa condutividade, biocompatibilidade, estabilidade química, resistência a corrosão, resistência mecânica e tenacidade, boa superfície para adesão do biofilme (DAS, 2018). Além disso, como todo eletrodo, o comportamento da interface vai depender de alguns fatores tais como: pH, potencial redox da solução e do biofilme, presença ou não de oxigênio, se for fotossensível, da intensidade de luz, da concentração substrato de carbono e mediadores de difusão no meio (BABAUTA & BEYENAL, 2015).

Por fim, observa-se que o biofilme pode conter múltiplas espécies de bactérias ou microrganismos, neste caso tem-se um consórcio. Geralmente os consórcios são usados quando se deseja muita atividade para degradação de substratos com alta carga orgânica. Por outro lado, quando se deseja um estudo mais aprofundado do comportamento eletroquímico emprega-se cultura pura ou uma co-cultura das bactérias eletroativas.

3.4 MECANISMOS DE TRANSFERÊNCIAS DE ELETRONS COM ELETRODO SÓLIDO

A transferência de elétrons entre a bactéria e a superfície do eletrodo pode acontecer através 2 mecanismos: contato direto e contato indireto conforme Figura 4 (SANTORO et al., 2017).

Figura 4 – Representação esquemática dos mecanismos da transferência de elétrons: (A) transferência indireta via mediadores; (B) transferência direta via enzima citocromo; (C) transferência direta via nanofios



Fonte: Adaptado de SANTORO et al. (2017)

Segundo Rachinski et al. (2010), a transferência direta requer contato físico dos microrganismos com o eletrodo da CCM. Em muitos casos, os microrganismos realizam essa transferência através do biofilme sem mediadores. Exemplos dessas bactérias são: *S. putrefaciens*, *G. sulfurreducens*, *G. metallireducens*, e *R. ferriducens*. Porém, a necessidade do contato físico, pode ser uma limitação para obtenção de densidades de correntes maiores.

O aumento da espessura do biofilme, pode ser um impedimento para que ocorra a transferência de elétrons de forma direta, contudo bactéria pode realizar essa transferência de forma indireta, através de mediadores de elétrons. Esses mediadores podem ser produzidos pela própria bactéria, neste caso a transferência indireta de elétrons é realizada através da oxidação de um subproduto resultante do metabolismo bacteriano, os quais são chamados de mediadores endógenos (CANO, 2023), ou podem ser artificiais, neste caso são adicionados ao meio determinados compostos químicos como quinonas e ferrocianeto que são capazes de atuar como um par redox, portanto agem como intermediários transportando os elétrons até o eletrodo (COSTA, 2019; SANTORO et al. 2017; RACHINSKI et al., 2010).

Afroz et al. (2021) afirmam que somente alguns microrganismos tais como proctobactérias, algumas espécies de algas, leveduras e fungos, conseguem gerar eletricidade sem mediadores de elétrons. Isso porque, muitas bactérias como *S. oneidensis*, *Pseudomonas alcaliphila*, *Pseudomonas aeruginosa* podem produzir seus próprios mediadores, o que pode ajudar no aumento da densidade de potência de uma CCM em comparação a uma CCM em que não foi utilizado o mediador de elétrons, como é o caso da *S. oneidensis*, que produz o mediador quinona (2-amino-3-dicarboxil-1,4-naftoquinona) (SANTORO et al., 2017).

Os nanofios bacterianos foram descobertos em 2005, quando verificou-se que a transferência de elétrons ocorria via conexões condutoras extracelulares entre os microrganismos de forma direta (COSTA, 2019; SANTORO et al., 2017). Segundo Afroz et al. (2021), *G. sulfurreducens* foi um dos primeiros organismos que demonstrou produzir nanofios. Sabe-se também que a *S. oneidensis* pode utilizar os nanofios para a transferência de elétrons para a superfície do eletrodo.

3.5 DESEMPENHO DA CCM USANDO A TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA (EIS)

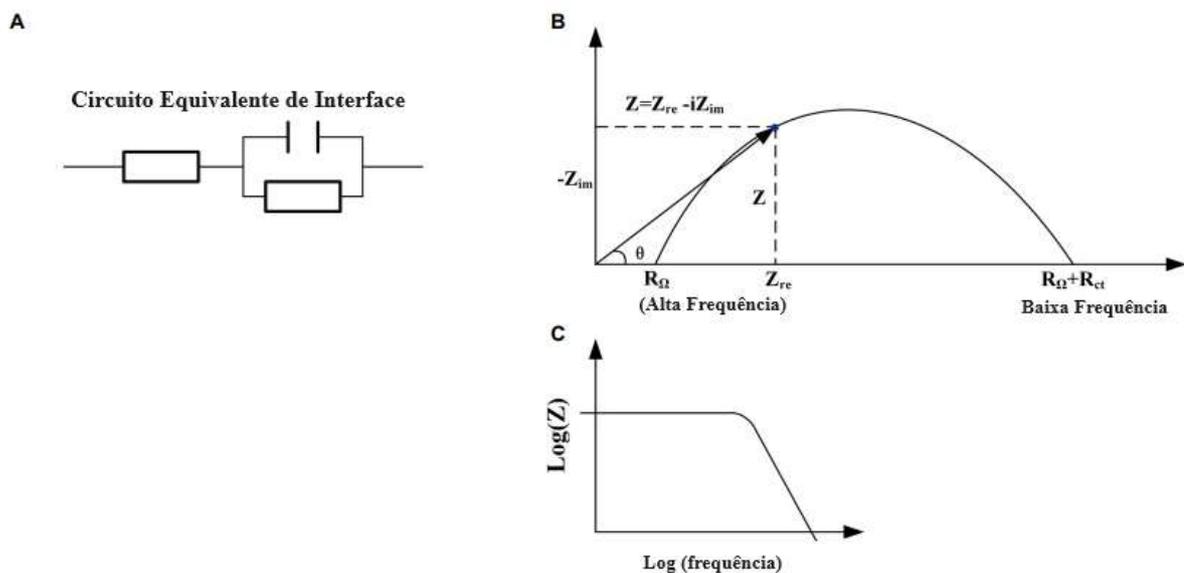
EIS é uma técnica não destrutiva amplamente usado em sistemas eletroquímicos e nos últimos anos se tornou uma importante ferramenta para analisar processos bioeletroquímicos em CCMs (WANG et al., 2022). A técnica permite acessar informações sobre a transferência

de carga, dupla camada elétrica, processos difusionais e limitações ôhmicas para cada componente da CCM (BOROLE et al., 2010).

Basicamente a técnica de EIS consiste em causar uma perturbação no sistema, através da aplicação de um sinal senoidal (tensão *ca* ou corrente *ca*) em uma ampla faixa de frequências e o monitoramento da resposta senoidal (corrente ou tensão, respectivamente) do sistema em direção à perturbação aplicada (LAZANAS & PRODRONIDIS, 2023).

Existem várias maneiras de se representar os resultados de EIS, contudo a mais simples de se representar o gráfico na forma do chamado digrama de Nyquist, onde tem-se a variação da impedância imaginária em função da impedância real, como mostra a Figura 5 (WANG et al., 2022; BOROLE et al., 2010). Este diagrama pode ser relacionado a um circuito, equivalente à interface estudada, então pode-se ajustar o diagrama aos circuitos equivalentes e obter os parâmetros de acordo com cada circuito.

Figura 5 – Circuito equivalente de uma interface tipo R(RC) (A). Gráficos de ângulos de circuitos: Nyquist (B) e Bode (C).



Fonte: Adaptado de WANG et al. (2022)

3.6 EFLUENTE LÁCTEO UTILIZADO COMO SUBSTRATO EM CCM

A indústria de laticínios, é considerada, umas das mais poluentes, entre as indústrias de alimentos, gerando uma grande quantidade de águas residuais, contribuindo para a poluição do meio ambiente. Para cada litro de leite processado, aproximadamente 0,2 L – 10 L de águas residuais são geradas. As características químicas das águas residuais são um fator determinante

para poluição do ambiente aquático, pois elas possuem alta concentração de demanda química de oxigênio (DQO) e demanda biológica de oxigênio (DBO), nutrientes, sódio, cloreto, potássio, ferro, cobre, magnésio, níquel e manganês (VOURCH et al., 2008).

O principal agente poluidor dos laticínios é o soro do leite, relacionado ao grande volume produzido, ao baixo aproveitamento e ao seu potencial poluidor. Mas, a composição dos efluentes gerados vêm de diversas fontes variáveis como: leite diluído, materiais sólidos flutuantes de uma variedade de fontes (principalmente substâncias graxas), detergentes, desinfetantes, lubrificantes e esgoto doméstico. Além de considerar os despejos poluentes gerados durante o processo, tais como: lavagem e higienização de equipamentos (tanques, dornas, centrífugas, pasteurizador-homogeneizador, tubulações etc.), quebra de embalagens contendo leite, perdas nas enchedoras e lubrificação de transportadores, pelo fato de gerarem elevada carga orgânica (HENARES, 2015; KHALAF et al., 2021).

As águas residuais de laticínios enfrentam diversos problemas para o descarte. Assim, descarte de águas residuais impróprias aumentam consideravelmente a DBO dos corpos receptores, portanto há risco da eutrofização das águas dos cursos d'água, além disso pode ter efeitos tóxicos nas águas subterrâneas, que são infiltradas na terra (KHALAF et al., 2021). Então o solo, água e até mesmo o ar são afetados pela poluição gerada pelos laticínios (AHMAD et al. 2019).

Devido à grande variedade de produtos gerados, não sendo descartados simultaneamente nos corpos d'água, os efluentes gerados possuem variações qualitativas e quantitativas quando descartados. Embora, suas águas residuais tenham cor branca, odor desagradável e turbidez característica (SLAVOV et al., 2017), pois os efluentes apresentam elevadas cargas orgânicas e nitrogenadas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 COLETA E CARACTERIZAÇÃO PRÉVIA DO EFLUENTE LÁCTEO

As amostras de efluentes lácteos analisados neste trabalho, foram coletados em uma indústria de leite e derivados na cidade de Barra Mansa / RJ. Este efluente, passou por uma peneira estática, para que materiais sólidos e que forem de dimensões maiores de 1,0 mm ou aqueles fibrosos que estiverem em suspensão ou flutuando ficassem retidos na peneira estática; depois este efluente foi para um tanque de equalização para estabilização do pH com ácido nítrico, devido ao alto consumo de soda cáustica durante a limpeza; e depois em um tanque para ação das bactérias endógenas degradassem a matéria orgânica, para que então, esse efluente possa ser lançado no corpo d'água. Os frascos de coleta dos efluentes eram de polietileno tereftalato (PET) conforme mostra a Figura 6, recebendo tratamento prévio com H₂SO₄ 20% e rinsagem dos frascos com a amostra a ser coletada, para que não tivesse nenhum interferente de ácido na amostra.

Figura 6 – Frascos do efluente a ser analisado e tratado na CCM



Fonte: Próprio Autor

A caracterização prévia do efluente pré-tratamento utilizando CCM, envolveu a realização das análises em triplicata dos seguintes parâmetros: cloro residual livre com kit teste Cloro e pH da CMBAQUA para verificação da presença de cloro na amostra, pH, condutividade, DBO, DQO, íons (Na⁺, NH₄⁺, K⁺, Ca²⁺, F⁻, Cl⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻, SO₄²⁻, Br⁻), *Shewanella sp*, foram realizados em laboratório assim que a amostra chegou ao mesmo. A

amostra foi transportada até o laboratório do Grupo de Eletroquímica e Energia da UFF sob refrigeração para que esta não perdesse suas características originais conforme método 1060C do *Standard Methods for analysis for water and wastewater* (SMWW) (APHA, 2012). Após realização das análises, as amostras foram acondicionadas sob refrigeração a 6°C em refrigerador Consul Frost Free Biplex CRM 33.

Para a determinação de DQO foi adotado o método 5220C (*Closed Reflux, titrimetric Method*), sendo a calibração realizada com ftalato de potássio monobásico (P.A. > 99,5%, Sigma – Aldrich) para a faixa de 0 mgO₂ / L – 1000 mgO₂ / L. A absorvância foi verificada no comprimento de onda de 600 nm, por meio do espectrofotômetro da marca Spectrum modelo SP-2000UV. 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 ao final do experimento, em termos de remoção de DQO está descrito conforme equação abaixo.

$$\eta DQO (\%) = [(DQO_f - DQO_i) / DQO_f] * 100$$

Onde DQO_f é a demanda química de oxigênio final e DQO_i indica a demanda química de oxigênio inicial.

A determinação de DBO utilizou-se o método respirométrico 5210B, usando o sensor BOD EVO System (Velp Scientifica, Usante Velate, Italia), obedecendo também a faixa de 0 mgO₂ / L – 1000 mgO₂ / L. A amostra ficou incubada a 20°C durante 5 dias e o resultado de DBO foi lido diretamente no visor do equipamento, não sendo necessário a realização de cálculo através de equação.

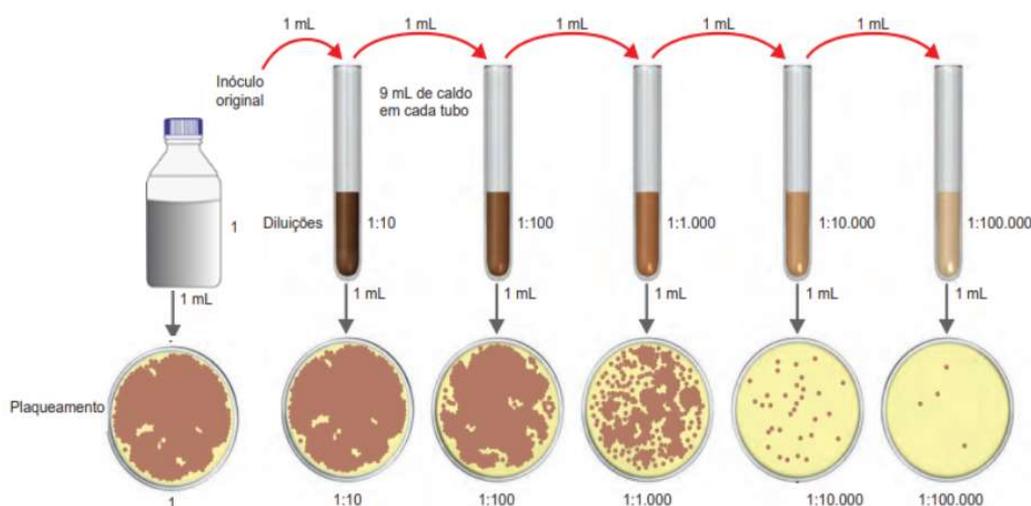
A determinação do pH da solução foi conduzida de acordo com o método 4500 – H⁺, com o pHâmetro (Metrohm). A análise de condutividade foi realizada de acordo com a metodologia 2510, utilizando condutivímetro da marca Tecnal modelo Tec-4MP. Para o ensaio de cromatografia de íons para ânions e cátions foi utilizado o método 4110B por meio de um 940 Vario professional Ion Chromatograph (Metrohm, Herisau, Switzerland).

Para verificação da presença de *S. putrefaciens* e *S. oneidensis*, realizou-se a diluição seriada e contagem em placas do efluente em ágar Luria-Bertani (LB) a 30°C/24h conforme Figura 7, para certificar-se que teria somente contaminação endógena que não incluísse as espécies de *S. putrefaciens* e *S. oneidensis*.

Preparou-se o agar LB, conforme recomendação do fabricante, procedendo de maneira semelhante a preparação do caldo LB (Tabela 1) e ajustando pH a $7,0 \pm 0,3$. Pesou-se o agar LB em balança analítica Mettler Toledo XS 105 dual / range para um volume total de 500 mL.

Os recipientes que continham o meio de cultura foram esterilizados em autoclave Primatec Autoclave Vertical CS a 121°C / 15 minutos. Antes que o meio de cultura atingisse a temperatura ambiente e solidificasse, foi realizada a análise do efluente em capela de fluxo laminar marca Pachane e modelo Pa 420 e incubou-se em Incubadora Shaker Refrigerada Nova Técnica Equipamentos para Laboratório NT 715 a 30°C / 24h.

Figura 7 – Plaqueamento seriado



Fonte: Adaptado de Tortora, Funke & Case (2012)

4.2 PREPARAÇÃO DAS CEPAS BACTERIANAS PARA INOCULAÇÃO

No presente trabalho, utilizou-se as seguintes cepas: *S. putrefaciens* referência 1967 adquirida da Fundação de Pesquisa André Tosello da Coleção de Culturas Tropicais (CCT) e *S. oneidensis* referência 700550 foi comprada do American Type Culture Collection (ATCC).

As cepas de *S. putrefaciens* e *S. oneidensis*, estavam acondicionadas sob refrigeração a 6°C em caldo LB. Para utilização das cepas na CCM, foi necessário repicá-las em caldo LB para garantir a vitalidade das mesmas para o tratamento do efluente. Preparou-se o caldo LB, segundo as instruções do fabricante e sua composição está descrita na Tabela 1. Pesou-se o caldo LB em balança analítica Mettler Toledo XS 105 dual / range para um volume total de 370 mL, ajustando o pH a $7,0 \pm 0,3$, volume este que foi dividido em: 2 tubos de ensaio com 10 mL de caldo LB em cada, 2 Erlenmeyers com 25 mL cada, mais 2 Erlenmeyers com 50 mL cada. Os recipientes que continham o meio de cultura foram esterilizados em autoclave Primatec Autoclave Vertical CS a 121°C / 15 minutos. Após os frascos com meios de cultura atingirem a temperatura ambiente, transferiu-se uma alçada das cepas para os Erlenmeyers com caldo LB

em capela de fluxo laminar marca Pachane e modelo Pa 420 e incubou-se em Incubadora Shaker Refrigerada Nova Técnica Equipamentos para Laboratório NT 715 a 30°C / 24h a 150 rpm.

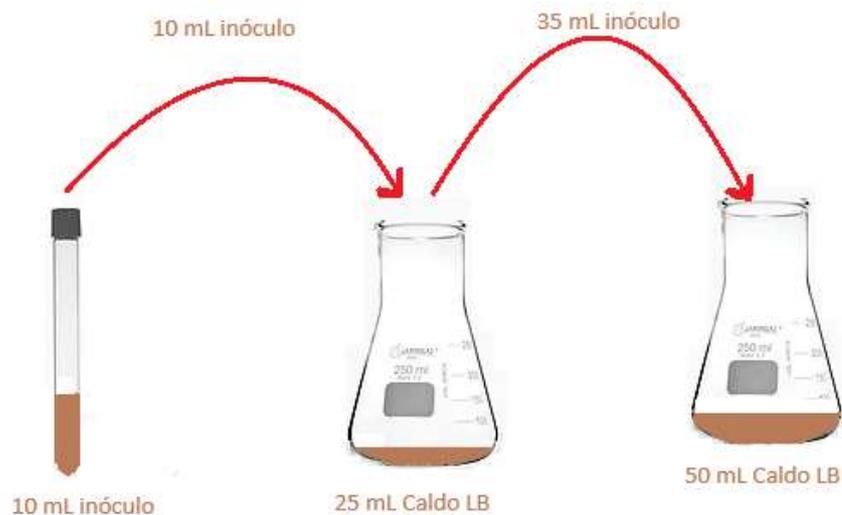
Tabela 1 – Meio de Cultura Caldo Luria-Bertani*

Reagente	Quantidade (g/L)
Triptona	10,0
Extrato de Levedura	5,0
Cloreto de Sódio	10,0
Glicose	10,0
Acetato de Sódio	10,0
Fumarato de Sódio Bibásico	10,0

* modificado segundo Marassi (2016)

Para inoculação das cepas de *S. putrefaciens* e *S. oneidensis* na CCM foi feita uma propagação das mesmas conforme esquema abaixo Figura 8.

Figura 8 – Esquema de ativação das co-culturas de *S. oneidensis* e *S. putrefaciens* para inoculação na CCM



Fonte: Próprio Autor

4.3 CONSTRUÇÃO E MANIPULAÇÃO DA CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA

O protótipo da célula a combustível microbiana de compartimento único foi construído de acrílico com formato cúbico (13 cm x 13 cm x 13 cm), com anodo tridimensional e o catodo fino para exposição ao ar injetado.

Para o eletrodo do catodo foi utilizado o tecido de carbono (144 cm²) com a carga catalisadora de 0,5 mgPt/cm, que normalmente é empregado em CCM. E para o anodo, o material do eletrodo foi tecido de carbono. Os eletrodos do anodo e catodo foram separados pela membrana polimérica Nafion™.

Antes do uso das CCMs, a parte interna das mesmas, o eletrodo e a membrana de Nafion™ foram limpas com H₂O₂ (3%, v/v), e depois com H₂SO₄ 0,5 mol/L por 1 h a 80°C, e finalmente por imersão em água deionizada até o início da operação da CCM.

4.4 OPERAÇÃO DA CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA: PREPARAÇÃO DO SUBSTRATO E INOCULAÇÃO

Foram realizados repiques em caldo LB das cepas de *S. putrefaciens* e *S. oneidensis* a 30° C/18 – 24h a 150 rpm separadamente, para ativação das bactérias, fazendo com as células viáveis que estavam no tubo de ensaio sob refrigeração, crescessem e se desenvolvessem, a partir da oferta de alimento do meio de cultura.

Para transferência dos inóculos para CCM, mediu-se a densidade ótica (OD₆₀₀) para avaliação da absorvância em espectrofotômetro da marca Shimadzu e modelo UV-1800 a um comprimento de onda de 600nm, onde certificou-se que os inóculos das bactérias possuíam 0,1 OD₆₀₀ de células totais, e retirou-se uma alíquota do pré cultivo líquido de bactéria do respectivo ensaio, sendo diluída e homogeneizada em uma câmara de segurança marca Pachane e modelo Pa-420.

Para o tratamento do efluente lácteo, preparou-se 2 CMMs, utilizando ar injetado com um compressor de ar para aquário no catodo a uma vazão de 3,5 L/min., conforme Figura 9, formada de anodo de tecido de carbono, catodo constituído de tecido de carbono, porém com carga de catalisador de platina. A CCM foi inoculada com cepas de *S. oneidensis* e *S. putrefaciens* (50 mL de inóculo de *S. oneidensis* e 50 mL de inóculo de *S. putrefaciens*) na proporção de 1:1 em volume.

Para o abastecimento em batelada da CCM pelo efluente a ser tratado, pode-se calcular a carga orgânica volumétrica pela quantidade de matéria orgânica por unidade de tempo (Kg DQO/dia ou Kg DBO/dia), transportada ou lançada em um corpo receptor, ou sistema de

tratamento de águas residuárias, calculadas através da vazão média diária do efluente, como mostra a equação:

$$COV = Q_v \times DQO \text{ ou } DBO / 1000$$

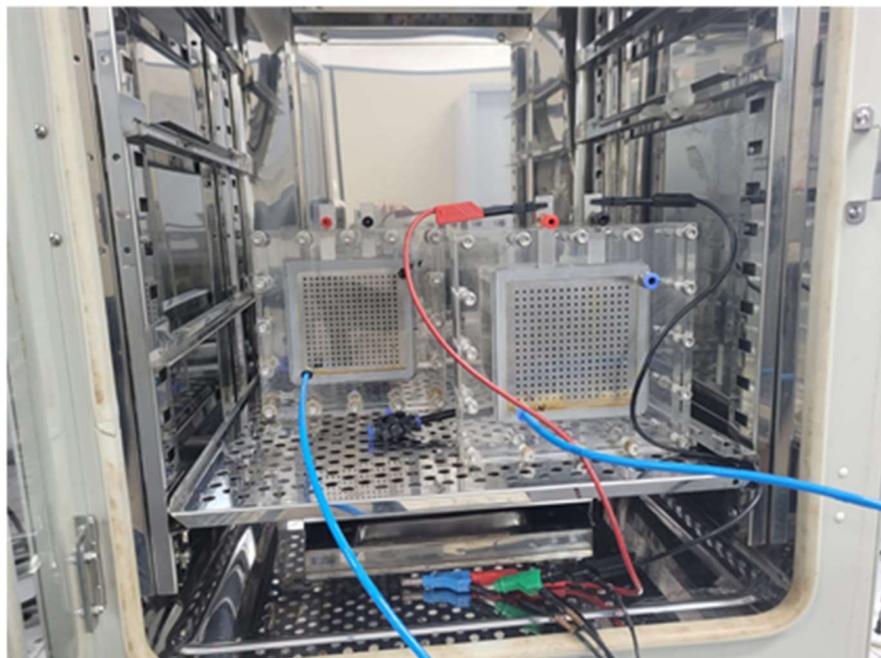
Onde COV é a carga orgânica volumétrica, Q_v indica a vazão de entrada do efluente.

Devido à alta carga orgânica, estabeleceu-se um protocolo de aclimatação, conforme abaixo:

CCM Amostra: colocou-se 100 mL de inóculo das bactérias e 100 mL de efluente. À esta CCM foi adicionado diariamente 100 mL de efluente durante 3 dias, permanecendo sob a resistência externa de 1,0 k Ω por mais 4 dias. Após esse período diminuiu-se a resistência externa de 1,0 k Ω para 300 Ω , permanecendo sob estas resistências durante 7 dias. Ao final deste período adicionou-se 500 mL do efluente e iniciou-se a fase de tratamento sob resistência de 10 Ω durante aproximadamente 30 dias.

CCM Controle: incubou-se em uma estufa a 30 °C, sob resistência externa de 1,0 k Ω durante 7 dias, e partiu-se somente de 900 mL de efluente lácteo. Após esse período diminuiu-se a resistência externa de 1,0 k Ω 200 Ω permanecendo sob esta resistência durante 7 dias. Ao final deste período, iniciou-se a fase de tratamento sob resistência de 10 Ω durante aproximadamente 30 dias.

Figura 9 – CCM com amostra e CCM controle, em estufa mantida a 30 °C, funcionando por aproximadamente 30 dias



Fonte: Próprio Autor

4.5 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE PÓS-TRATAMENTO UTILIZANDO CCM

As CCMs foram incubadas a 30 °C em estufa modelo MCO – 19AIC(UV) sob uma resistência de 10 Ω . Após 7 dias de tratamento na CCM, retirou-se uma alíquota da CCM Amostra e da CCM Controle, separadamente, para realização das análises de íons, para verificação do comportamento das bactérias no efluente lácteo. Para as determinações dos íons para ânions e cátions foi utilizado o método 4110B por meio de um 40 Vario professional Ion Chromatograph (Metrohm, Herisau, Switzerland).

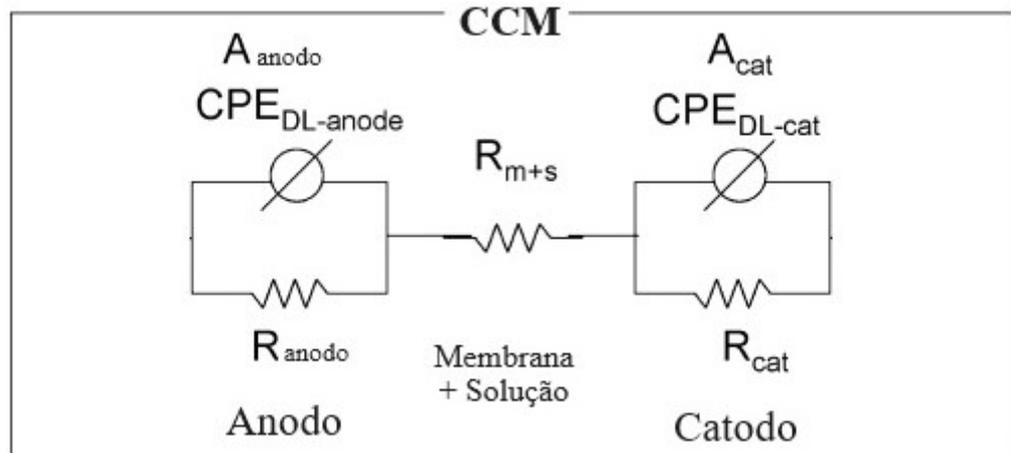
Ainda nas mesmas condições de temperatura, as CCMs (Amostra e Controle), permaneceram incubadas por aproximadamente 30 dias. Ao final deste período retirou-se alíquotas das CCMs (amostra e controle), separadamente para a realização das seguintes análises: pH, condutividade, DBO, DQO, íons (Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} , F^- , Cl^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , Br^-), utilizando os mesmos métodos já mencionados no item 4.1 que tratou da avaliação da eficiência da degradação do efluente tratado.

4.6 AVALIAÇÃO DO BIOFILME POR ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA

Para as análises de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE), foi utilizado um Potenciostato/Galvanostato ModuLab Electrochemical System (Solartron Analytical, Farnborough, UK), equipado com um módulo Frequency Response Analyzer - FRA 300 kHz. Os espectros de impedância foram obtidos num intervalo de frequência de 100 kHz a 5 mHz e com amplitude de potencial da onda de 10 mV. O ajuste e tratamento das curvas do plano complexo mediante modelo de circuito equivalente foi realizado empregando-se o software Zview (Scribners Associates, Southern Pines, NC).

Para a amostra analisada, foi utilizado um circuito equivalente para a CCM que está apresentada na Figura 10.

Figura 10 – Circuito equivalente representando a CCM.



Fonte: Adaptado de Borole et al. (2010)

4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos os experimentos foram realizados em triplicata. O teste estatístico utilizado para comparar as médias foi Análise de Variância (ANOVA), com nível de significância de 5% aplicando Teste de Tukey, a fim de investigar quais médias de tratamento, diferiam entre si ao nível de 95% de confiança, realizadas pelo software SISVAR (FERREIRA, 2019). Para verificação se os dados analisados eram distribuídos normalmente utilizou-se SISVAR (FERREIRA, 2019).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

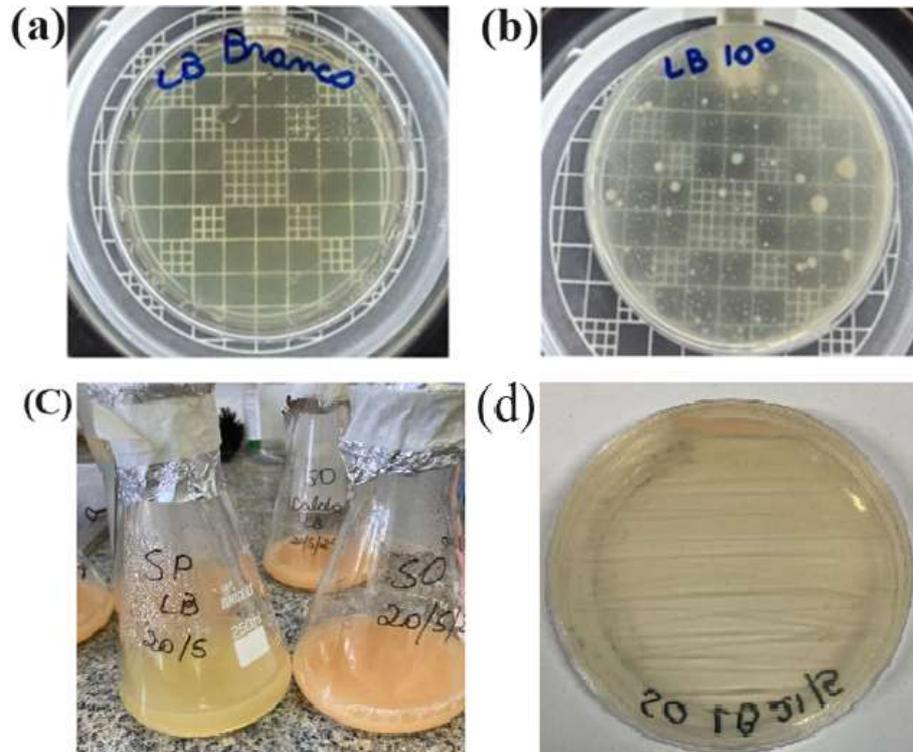
5.1 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DO EFLUENTE PRÉ-TRATAMENTO E PÓS-TRATAMENTO UTILIZANDO CCM

Inicialmente, foi pesquisada as bactérias *S. putrefaciens* e *S. oneidensis* no efluente pré-tratamento a fim de eliminar qualquer hipótese de influência endógena desses microrganismos no tratamento.

Segundo Da Fonseca (2017) em meio de cultura sólido ou líquido de Luria Bertani, sabendo-se que este meio é amplamente utilizado para o cultivo dessas espécies em laboratório, as cepas de *Shewanella putrefaciens* exibem uma cor salmão e colônias arredondadas, quando há crescimento após 24h de incubação a 30 °C. Da Silva et al. (2021), ainda afirma que as colônias das espécies do gênero *Shewanella* são róseas alaranjadas, salmão ou levemente bronzeadas, devido ao acúmulo de citocromo conforme Figura 11(c)(d). Com isso pode-se observar que não houve crescimento das mesmas, conforme mostra a Figura 11 (b), pois as colônias que cresceram no meio de cultura eram brancas. Para certificar que a contaminação oriunda do efluente não era do meio ambiente, onde foi analisado, foi realizado a análise de um controle, simultaneamente a análise do efluente em agar LB conforme mostra Figura 11 (a). Corroborando que a contaminação apresentada era realmente do efluente em análise.

Visto que, os efluentes lácteos são compostos por água de lavagem, resíduos de produtos como leite diluído e soro de leite, materiais sólidos e detergentes e entre outros, justifica-se o crescimento de bactérias na análise de *Shewanella sp*, conforme mostra a Figura 11 (b). Segundo Hayes (1993), a água utilizada na limpeza dos equipamentos, utensílios e instalações pode ser uma importante fonte de microrganismos psicotróficos como *Pseudomonas sp* e bactérias do gênero *Coliformes*. Os resíduos de lácteos em uma indústria são uma ótima fonte para a proliferação de micro-organismos, especialmente se as condições de temperatura e umidade do ambiente forem ideais para o seu desenvolvimento.

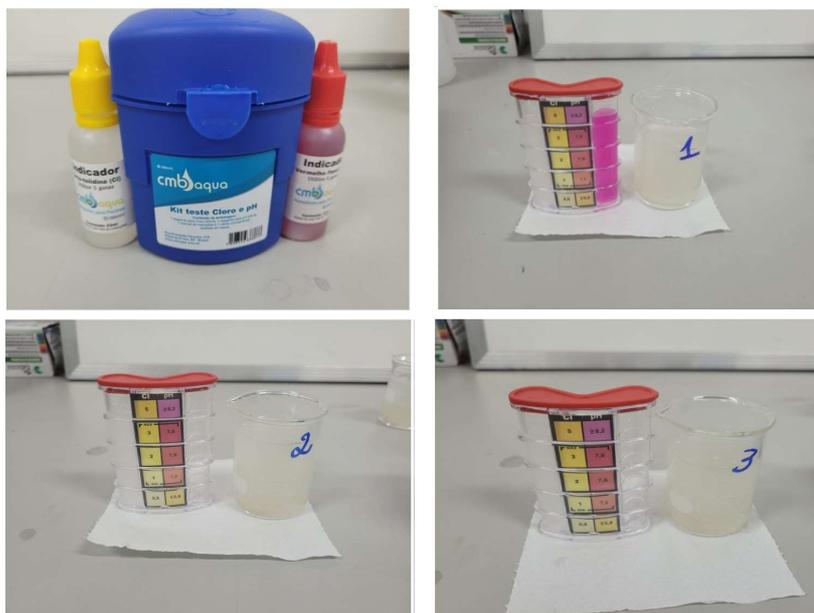
Figura 11 – Análise microbiológica de *Shewanella sp* (b) no efluente lácteo em agar LB, sendo (a) análise do meio ambiente onde foi realizado a análise, denominado como branco e (c) inoculação da cepa de *S. oneidensis* e *S. putrefaciens* em meio de cultura para comparação.



Fonte: Próprio Autor

Também certificou-se que não havia cloro residual na amostra de efluente analisado, conforme mostra a Figura 12, pois a presença do mesmo poderia influenciar nos resultados da análise de DBO.

Figura 12 – Verificação da presença de cloro residual na amostra de efluente



Fonte: Próprio Autor

A matéria orgânica do substrato é a fonte de carbono necessária para o metabolismo dos microrganismos em uma CCM, o efluente lácteo comumente possui alta carga orgânica e sua constituição pode variar em uma ampla faixa. A Tabela 2 apresenta a faixa de concentração de alguns parâmetros físico-químicos de efluentes brutos conforme CETESB (2008).

Tabela 2 – Valores de parâmetros físico-químicos típicos de efluentes brutos de laticínios

Parâmetro	Faixa de Concentração
DQO	500 - 4500 mg/L
DBO ₅	450 - 4790 mg/L
Amônia	10 - 100 mg/L
Nitrogênio	15 - 180 mg/L
Fósforo	20 - 250 mg/L
Sódio	60 - 807 mg/L
Potássio	11 - 160 mg/L
pH	5,3 - 9,4

Fonte: CETESB (2008)

O efluente utilizado neste trabalho é composto por resíduos industriais de leite e derivados (creme de leite, requeijão, queijos, manteiga, doce de leite, achocolatado), misturas provenientes da limpeza CIP (ácido + soda cáustica). Antes de ser coletado, este possui características de pH básico, altas concentrações de íons inorgânicos e alta condutividade, porém de maneira geral enquadra-se na constituição apresentada na Tabela 2.

A eficiência de tratamento na CCM foi avaliada observando-se os valores de DQO, DBO pré e pós-tratamento na CCM. Também foram analisados cátions e ânions pela técnica de cromatografia de íons. A Tabela 3 e 4 apresentam os resultados dos parâmetros analisados pH, condutividade, DBO, DQO, Na⁺, NH₄⁺, K⁺, Ca²⁺, F⁻, Cl⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻, SO₄²⁻, Br⁻ no efluente pré-tratamento e no efluente pós-tratamento após 30 dias.

Tabela 3 – Caracterização do efluente pré e pós-tratamento

Parâmetro	Efluente Pré-Tratamento (T₀)	Efluente Pós-Tratamento (T₃₀)
pH	11,14	8,50
Condutividade (µS/cm)	3003,333	1004,333
DQO (mg/L)	4240	999
DBO (mg/L)	1946,02	344
Na ⁺ (mg/L)	69,8593	451,231
NH ₄ ⁺ (mg/L)	8,2349	11,7901
K ⁺ (mg/L)	5,619	19,2641
Ca ²⁺ (mg/L)	9,5243	26,7448
F ⁻ (mg/L)	0,2793	0,611
Cl ⁻ (mg/L)	80,065	2101,747
NO ₃ ⁻ (mg/L)	0,2155	5,1113
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	13,217	74,452
SO ₄ ²⁻ (mg/L)	18,1833	ND*
Br ⁻ (mg/L)	1,457	ND*

*ND = Não Detectado

Tabela 4 – Resultados de parâmetros químicos do efluente pós-tratamento com análise estatística

Análises	Tratamento	Média	CV (%)
pH	CCM Amostra	8,5 a1	0,01
pH	CCM Controle	9,0 a2	
Condutividade (µS/cm)	CCM Amostra	1004,3 a2	0,46
Condutividade (µS/cm)	CCM Controle	959,3 a1	
DQO (mgO ₂ /L)	CCM Amostra	999 a1	0,81
DQO (mgO ₂ /L)	CCM Controle	886 a2	
DBO (mgO ₂ /L)	CCM Amostra	344 a1	2,64
DBO (mgO ₂ /L)	CCM Controle	389,9 a2	

Médias seguidas de mesma letra e número, não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância

Tabela 5 – Caracterização química, bioquímica e parâmetros inorgânicos no efluente pós-tratamento em 7 e 30 dias

Tratamento	CCM		Média	CV (%)
	Amostra	Controle		
Na ⁺ (7 dias)	226,3 Aa	86 Ab	156,2	
Na ⁺ (30 dias)	451,2 Aa	240,2 Ba	225,6	
Média	338,8	163,1		5,69
NH ₄ ⁺ (7 dias)	19Aa	4,9Bb	11,9	
NH ₄ ⁺ (30 dias)	11,8 Ab	7,9 Ba	9,9	
Média	15,4	12,8		9,52
K ⁺ (7 dias)	16 Aa	5,6 Ab	10,8	
K ⁺ (30 dias)	9,3Bb	10,8 Ba	10	
Média	12,6	8,2		3,4
Ca ²⁺ (7 dias)	12,4 Bb	18,6 Bb	15,5	
Ca ²⁺ (30 dias)	26,7 Aa	25,3 Aa	27,5	
Média	19,6	21,9		7,56
F ⁻ (7 dias)	0,2 Bb	0,7 Aa	0,4	
F ⁻ (30 dias)	0,6 Aa	1,7 Aa	1,1	
Média	0,4	11,8		0,9
Cl ⁻ (7 dias)	1178,9 Aa	92,9 Ab	635,9	
Cl 30 dias	2101,7 Ba	ND	1050,9	
Média	1640,3	46,4		0,89
NO ₃ ⁻ (7 dias)	1,5 Aa	0,9 Bb	1,2	
NO ₃ ⁻ (30 dias)	5,1 Aa	2 Bb	3,6	
Média	3,3	1,4		14,36
PO ₄ ³⁻ (7 dias)	60,5 Ab	10,3 Ba	35,4	
PO ₄ ³⁻ (30 dias)	74,4 Aa	6,1 Bb	40,2	
Média	40,4	8,2		0,67
SO ₄ ²⁻ (7 dias)	ND	45,5a1	22,8	
SO ₄ ²⁻ (30 dias)	ND	16,1a2	8	3,38
Média	---	30,8		
Br ⁻ (7 dias)	ND	ND	---	---
Br ⁻ (30 dias)	ND	ND	---	---

*ND = Não Detectado / Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância; Médias seguidas de mesma letra minúscula, na linha, não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Como se pode observar, os dados foram analisados aplicando a análise de variância (ANOVA) com o teste de Tukey a 95% de confiança, utilizando delineamento inteiramente ao acaso (DIC) para os dados apresentados na Tabela 4 e delineamento inteiramente ao acaso com arranjo em fatorial para os dados apresentados na Tabela 5.

Conforme mostrado nas Tabelas 4 e 5, o coeficiente de variação (CV) para todas as análises realizadas foi menor que 15%, indicando uma menor dispersão em torno dos resultados da média. Segundo Gomes (1990), em igualdade de condições, é mais preciso o experimento com o menor CV. Os dados são mais homogêneos quanto menor o valor do CV: menor ou igual a 15% indicam dados mais homogêneos, menor dispersão; entre 15% e 30% média dispersão; maior de que 30% indicam dados heterogêneos, alta dispersão.

Conforme Tabela 3, pode-se observar que o valor de pH diminuiu de 11,14 para 8,50. De acordo com Ahmad et al. (2019) e Andrade (2011), o pH das águas residuárias e efluentes de laticínios sofrem alterações dependendo dos agentes de limpeza (ácidos e/ou alcalinos) e desinfetantes utilizados, conforme a estratégia de limpeza, podendo variar o pH num amplo intervalo, de 4,7 a 11,0. Os agentes mais utilizados são soda cáustica, ácido nítrico, ácido fosfórico e hipoclorito de sódio. Os ácidos são usados para remoção de depósitos minerais e sanitização, enquanto os detergentes básicos atuam na saponificação de gorduras e remoção de substâncias proteicas. Esse fator, pode explicar o valor relativamente alto de 11,14 para o efluente pré-tratamento, que está fora do padrão segundo Resolução CONAMA 430/11 (BRASIL, 2011) que exige que a faixa de pH esteja entre 5 e 9. Por outro lado, o efluente pós-tratamento na CCM após 30 dias está em conformidade com o preconizado com a mesma Resolução CONAMA 430/11 (BRASIL, 2011), a qual estabelece a faixa de pH entre 5 e 9 para efluentes a serem lançados diretamente em corpos d'água. O que revela um bom desempenho da CCM para este parâmetro.

Na verdade, as CCMs de compartimento duplo funcionam bem em faixas de pH entre 6 e 8 no catodo, e pH neutro ou ligeiramente superior no anodo. Isso ocorre porque a bactéria, na câmara anódica, se desenvolve bem em pH neutro. Sendo que a atividade microbiana diminui quando o pH está mais baixo ou mais alto (Scott, 2016). As análises de condutividade apresentaram os valores de 3003,333 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 1004,333 $\mu\text{S}/\text{cm}$ para o efluente pré e pós-tratamento, respectivamente. De acordo com CETESB, a alta condutividade, níveis superiores a 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$, em efluentes da indústria láctea é principalmente devido ao resíduo de cloreto de sódio proveniente da salga, contudo outros íons presentes no efluente também contribuem para a alta condutividade. Isto implica diretamente no desempenho de uma CCM, pois uma baixa condutividade do substrato resulta em uma maior resistência interna da célula, por outro lado,

altas concentrações de espécies iônicas inorgânicas como potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, fosfato, nitrato, nitrito, amônio e sulfato, resultam em alta condutividade elétrica, tipicamente maior de 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (MARASSI, 2016,2020). A diminuição da condutividade pode estar relacionada com a degradação de substâncias iônicas presentes no efluentes levando e/ou acúmulo destas no biofilme.

A ANOVA nos indica para os parâmetros de pH, condutividade, DQO e DBO, que foram realizados no final do tratamento de 30 dias, que houve diferença nos tratamentos das CCMs (Amostra e Controle). O tratamento na CCM Amostra foi mais eficaz nas análises de pH e DBO, havendo uma maior redução do valor de pH e DBO na CCM Amostra em comparação com a CCM Controle. Em 30 dias de tratamento na CCM Amostra o valor de pH = 8,5 e DBO = 344 mg/L e na CCM Controle pH = 9,0 e DBO ~ 389,9. Segundo Marassi (2020) a degradação do substrato causa a elevação do pH, pois libera íons orgânicos e inorgânicos para o meio, além do consumo de H^+ na reação do cátodo. Com relação aos parâmetros de condutividade e DQO, pode-se observar através da ANOVA, que o tratamento na CCM Controle se mostrou mais eficaz para estes parâmetros.

O íon SO_4^{2-} foi mais reduzido na CCM Amostra em ambos os tempos de tratamento 7 e 30 dias, não sendo detectado pelo equipamento que foi realizada a análise. ANOVA demonstra que há diferença entre os tratamentos realizados. Resultado similar foi observado para o íon Br^- , sendo que a presença deste íon não foi detectada em ambos os tempos de tratamento e ambas as CCMs (Amostra e Controle), não havendo diferença entre os tratamentos para as CCMs em ambos os tempos (7 e 30 dias). Desta forma, conforme Tabela 5, pode-se observar que os valores obtidos para os íons SO_4^{2-} e Br^- diminuíram 100%, pois de acordo com Da Silva et al (2021), as bactérias do gênero *Shewanella* podem crescer em condições anaeróbicas, usando vários compostos sulfurosos como aceptores finais de elétrons. Quanto ao Br^- , como a concentração inicial já era muito pequena (1,457 mg/L), qualquer adsorção, precipitação poderá levar à remoção deste ânion no sobrenadante.

Os resultados observados para íons NH_4^+ , Cl^- , NO_3^- e PO_4^{3-} , demonstraram que houve diferença em 7 dias de tratamento realizado, havendo maior redução desses parâmetros na CCM Controle. Comportamento similar foi observado durante 30 dias de tratamento. Para o íon F^- constatou-se maior redução de sua concentração na CCM Amostra em 7 dias de tratamento, havendo diferença entre os tratamentos da CCM Amostra e CCM Controle. Segundo ANOVA, em 30 dias de tratamento não houve diferença, sendo os resultados iguais estatisticamente. Por outro lado, as concentrações desses ânions aumentaram: amônio 1,4 vezes, cloreto 26 vezes, fluoreto 2 vezes, fosfato 5 vezes e nitrato 23 vezes. Este resultado pode ser atribuído pelo fato

de alguns ânions como fosfato participar do ciclo das pentoses fosfato, durante a religação das redes regulatórias transcricionais no carbono central, durante o metabolismo da *S. oneidensis* MR-1 (FREDRICKISON et al., 2008). Outra explicação, seria que segundo Tiedje (2002), a cepa de *S. oneidensis* MR-1 é uma bactéria que tem uma capacidade extraordinária de utilizar mais de 10 sistemas respiratórios aceptores de elétrons, e durante sua respiração anaeróbica ela pode reduzir o nitrato via nitrito a amônio (NH_4^+), explicando o aumento deste íon em solução (GARCIA et al., 2006).

Segundo a ANOVA, as análises realizadas nas CCMs Amostra e Controle no período de 7 dias de tratamento, demonstrou que não houve diferença nos tratamentos para os parâmetros de Na^+ , K^+ e Ca^{2+} . O tratamento realizado no período de 30 dias, nas CCMs Amostra e Controle, mostrou diferença significativa, havendo redução do teor de K^+ , quando tratado pela CCM Amostra. Contudo, os maiores aumentos relativos foram observados para os cátions, com destaque para o Na^+ , que aumentou mais de seis vezes, também atribuídos à disponibilização. Estudos recentes afirmam que o EPS do biofilme não é formado somente por compostos de polissacarídeos, mas pode ser considerado como uma rede de compostos orgânicos ligados à cátions e pode estar fortemente ligado às células ou indiretamente ligado à superfície celular (CAO et al., 2011a). Além de saber, que o EPS da maioria das bactérias, são capazes de formar complexos organometálicos com cátions multivalentes por meio de interações eletrostáticas (CAO et al., 2011b).

Águas residuárias de laticínios são caracterizadas por apresentarem alta DBO (40 – 48.000 mg/L) e DQO (80 – 95.000 mg/L), constituindo como parâmetros importantes para avaliar a eficiência da estação de tratamento (AHMAD et al., 2019). FIEMG e FEAM (2014) afirmam que a DBO é um dos parâmetros de controle mais utilizado para avaliar a carga orgânica presente nos efluentes líquidos de uma indústria de laticínios, por constituir como um indicador da concentração de matéria orgânica biodegradável nos efluentes.

Sabe-se que, a remoção de DQO ocorre através da extração da energia química contida no efluente pela ação das bactérias eletroativas (SORGATO, 2022). Com isso foi possível alcançar resultados promissores, com taxas de remoção de até 76,4% a partir de uma DQO inicial de 4240 mg/L.

Analisando os resultados para DBO, de acordo com ANOVA com teste de Tukey a 95% de confiança, o tratamento realizado mostrou uma redução de 82,3% (Tabela 4), portanto uma redução considerada significativa considerando que o efluente é de alta carga.

A Tabela 6 mostra a performance de CCMs usando diferentes tipos de efluentes.

Tabela 6 – Comparação quantitativa de performance de CCMs usando efluentes reais ou sintéticos como substrato

Efluente	η_{DBO} (%)	η_{DQO} (%)	Referência
Biodiesel	-	76	Sousa (2020) Rahmani et al. (2020)
Sintético	-	79	
Lácteo	97	96	Marassi et al. (2020)
Lácteo	82	76	Presente estudo

De acordo com Andrade (2011), as características do efluente lácteo podem variar muito, devido a diferença de produtos fabricados em uma mesma indústria, de acordo com a época do ano e as práticas de gestão de águas e efluentes aplicadas em cada indústria. Desta forma, pode-se esperar diferenças significativas nas análises estatísticas realizadas.

5.2 AVALIAÇÃO DAS INTERFACES ELETRÓDICAS POR ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA (EIS) DURANTE O TRATAMENTO

Segundo Wang et al. (2022), a EIS é realizada normalmente, sob uma tensão CA de 5 ou 10 mV em uma faixa de frequência de 100 kHz a 1MHz (ou menor). O diagrama de Nyquist mostra a parte real (resistência) e a parte imaginária (capacitância), obtendo a frequência.

Wang et al. (2022), ainda afirma que uma CCM, geralmente, consiste em um anodo com eletrodo de carbono com biocompatibilidade melhorada, e um catodo, que normalmente é um catodo ao ar com catalisador de platina. Carbono é um material comum de eletrodo com alta capacitância. Sendo o catodo o primeiro fator limitante de performance da CCM para geração de energia.

Com o intuito de entender melhor a formação do biofilme no anodo, empregou-se a técnica de EIS no início e ao final do tratamento. Esta técnica não é invasiva e pode fornecer informações sobre a resistência do meio (neste caso o efluente), de transferência de carga, sobre a natureza da capacitância da interface e dependendo do caso até mesmo sobre mecanismos de formação do biofilme.

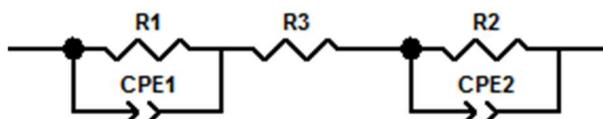
As medições de EIS foram realizadas no potencial em circuito aberto, ou seja, não foi aplicado nem potencial ao sistema, utilizando uma resistência externa de 10 Ω , portanto a medição refletia o momento do biofilme num estado não dinâmico do ponto de vista eletroquímico.

De acordo Wang et al. (2022) a estrutura da interface da CCM é mais complexa que uma interface de eletrodo inorgânico. Para fazer os ajustes nos diagramas utilizou-se um dos

modelos mais simples de interface eletroquímica em CCM, onde tem-se elementos constituídos por uma resistência de transferência de carga (R) em paralelo com a capacitância da dupla camada, ou no caso estudado aqui, um elemento de fase constante (CPE) que basicamente substitui ou corrige a capacitância levando em consideração que a superfície não é homogênea. Este conjunto está em série com a resistência ôhmica ou da solução (efluente), como representado na Figura 13.

Segundo Ramaraja et al. (2008), o crescimento contínuo do biofilme acontece em uma CCM quando é mantida sob carga. Mas, Borole et al. (2010) diz que o desempenho da CCM pode ser afetado pelo acúmulo de células mortas e produtos de excreção de células. O que leva a acreditar que, o crescimento do biofilme tenha sido desacelerado ou até mesmo interrompido, pois as reações bioquímicas foram dificultadas, devido à ausência de um aceitador de elétrons após 14 dias de operação da CCM, onde a resistência externa utilizada foi de 10Ω , simulando um circuito aberto.

Figura 13 – Representação do circuito equivalente usado para modelar e ajustar os diagramas de impedância. R1 representa a resistência do catodo; CPE1, o elemento de fase constante do catodo; R3 a resistência ôhmica; R2 a resistência do anodo e CPE2, o elemento de fase constante do anodo.



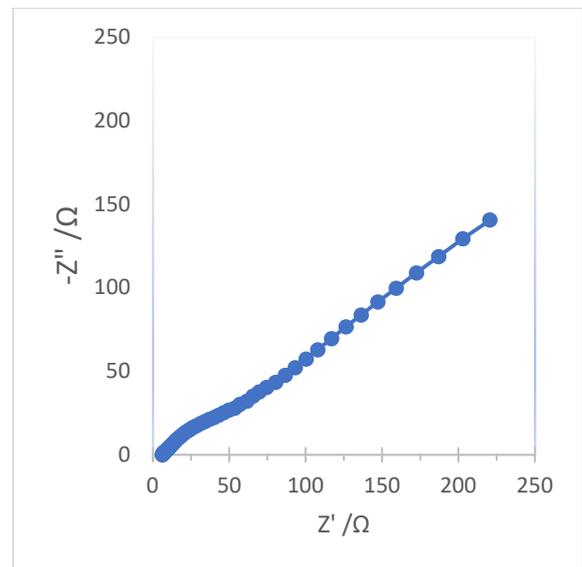
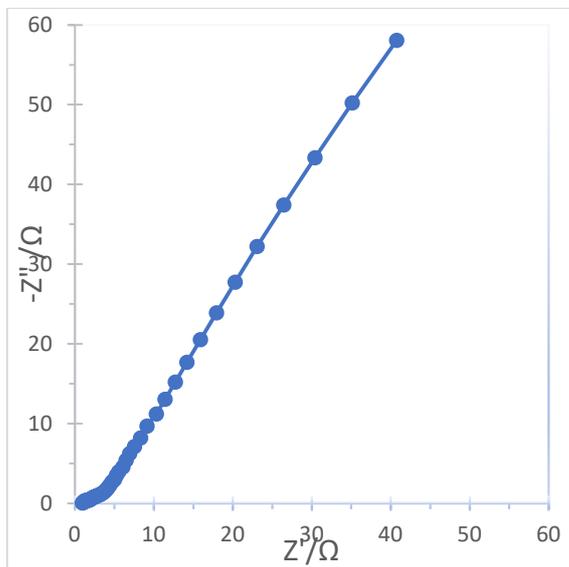
Fonte: ZPlotLab™ Manual, Scribner Associates, Inc. Southern Pines, NC 28387

As Figuras 14a e 14b mostram os diagramas de Nyquist das CCMs amostra e controle respectivamente, após 3 dias de incubação e sob resistência externa de $1,0 \text{ k}\Omega$. Nota-se que em ambos os casos não há formação clara do semicírculo, típico do circuito $R(RC)$, onde Sousa (2020) explica que isto acontece, devido a mudanças na interface do biofilme/eletrodo que estão associadas ao crescimento e maturação do biofilme. Porém percebe-se, que as resistências de transferências de carga da CCM contendo a amostra, de estar da ordem sob resistência externa de $1,0 \Omega$, muito menor que a da CCM controle que por sua vez apresentou resistência de carga da ordem de 100Ω . Isto evidencia a influência do biofilme eletroativo no comportamento eletroquímico do sistema, pois a enfatiza-se que a única diferença entre a CCM controle e a CCM amostra foi a ausência do inóculo.

Figura 14 – Diagramas de Nyquist da CCM com a amostra de efluente (a) e da CCM denominada controle (b), após 3 dias de tratamento, sob resistência externa de 1,0 k Ω .

a) CCM amostra

b) CCM controle



As Figuras 15a e 15b mostram os diagramas de Nyquist das CCMs amostra e controle respectivamente, após 21 dias de incubação, sendo que neste caso sob resistência externa de 300 Ω a CCM amostra e 200 Ω a CCM controle por 14 dias. Verifica-se que após este tempo de incubação o diagrama de Nyquist apresenta um componente indutor (valores positivos no eixo imaginário), contudo foi difícil relacionar este componente com as interfaces estudadas, então ele não foi considerado no circuito equivalente, assim o mesmo circuito foi usado para ajustar todos os diagramas, sabendo que a maioria do gráfico de EIS pode ser montado utilizando vários circuitos; portanto, a escolha do circuito, frequentemente, depende da experiência do pesquisador (WANG et al., 2022). Verifica-se que após 21 dias a CCM amostra continua a apresentar as menores resistências o que sugere boa estabilidade do sistema neste período.

A Tabela 7 sumariza os valores dos elementos obtidos a partir do ajuste associado ao circuito equivalente e os resultados que melhor expressaram o comportamento eletroquímico das bactérias no tratamento de efluente lácteo. Quando comparados os valores entre 3 e 21 dias de tratamento percebe-se que os valores obtidos para a CCM amostra estão mais coerentes que a CCM controle, uma vez que se obteve valores espúrios de R_{cat} após 3 dias e R_{an} após 21 dias. Nota-se também que os valores da resistência ôhmica da CCM amostra permaneceram baixos, reforçando a ideia de estabilidade do sistema.

Figura 15 – Diagramas de Nyquist da CCM com a amostra de efluente (a) e da CCM denominada controle (b), após 21 dias de tratamento, sob resistência externa de 10Ω .

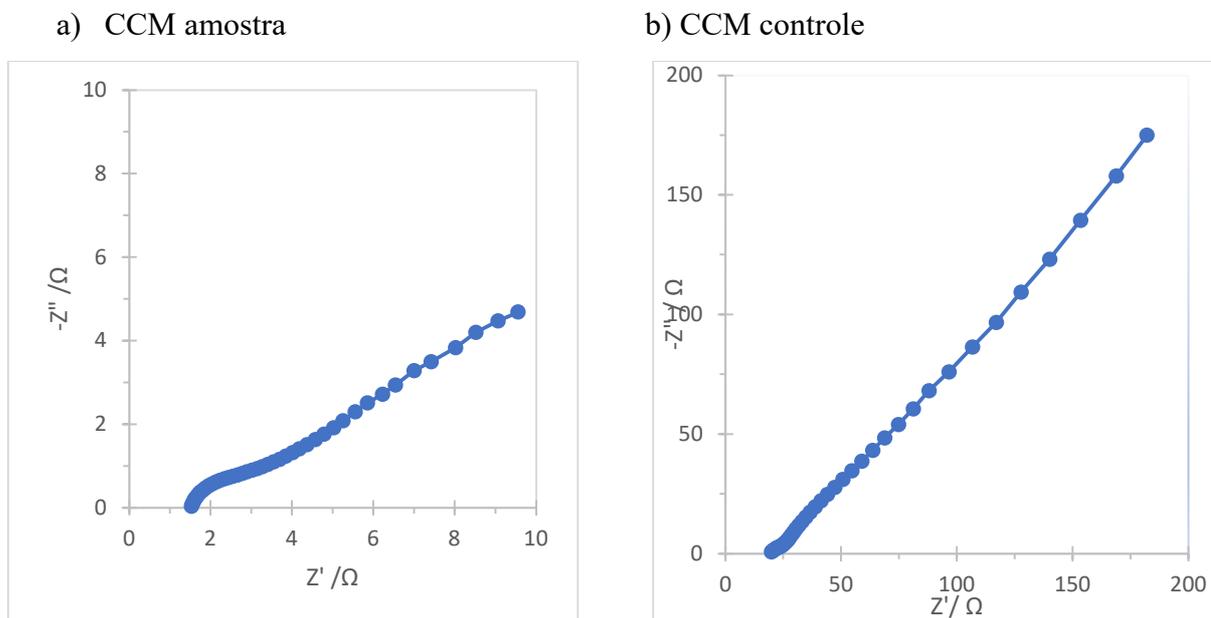


Tabela 7 – Valores dos elementos obtidos dos ajustes de acordo com o circuito equivalente

Tempo de tratamento	CCM	$R_{an.}/\Omega$	$R_{cat.}/\Omega$	$R_{sol.}/\Omega$	CPE_{an}/F	CPE_{cat}/F
3 dias	amostra	0,386	3,29	1,26	1,14	0,732
	controle	5,39	789	5,76	4,84	0,428
21 dias	amostra	0,550	18,5	1,66	4,90	0,504
	controle	9×10^{-7}	335	22,1	5,80	0,630

A CCM amostra apresentou valores de CPE superiores aos da CCM controle, este resultado era de certa forma esperado porque as superfícies eletródicas da CCM amostra apresentam cargas devido à formação do biofilme. Outro detalhe é que quando comparados os CPE amostra entre 3 e 21 dias nota-se que após 21 dias o valor de CPE aumenta cerca de 4 vezes o que corrobora para ideia da atividade do biofilme.

Pode-se observar, que a resistência do anodo da CCM controle diminuiu significativamente quando medida no tempo 3 para 21 de tratamento. De acordo com Ramaraja et al. (2008) a diminuição da resistência da transferência de carga do anodo, que aconteceu no tempo de 21 dias de tratamento na CCM controle, foi induzida pela resistência externa de 200Ω , que era uma resistência menor que a utilizada na CCM amostra neste mesmo período.

Mesmo sabendo que a CCM controle não possui as bactérias eletrogênicas, não se sabe se as bactérias endógenas presentes no efluente lácteo, possui essa característica de eletroatividade. O que não aconteceu na resistência do anodo da CCM amostra nos dias 3 e 21, conforme mostra a Tabela 7, pois houve um aumento dessa resistência, apontando a uma crescente inatividade do biofilme para reações eletroquímicas, indicando que, com 21 dias de tratamento do efluente lácteo utilizando a CCM, o biofilme não tinha mais atividade (RAMARAJA et al. 2008).

De acordo com Borole et al. (2010), o aumento da resistência do anodo, pode acontecer, devido a degradação da membrana ou performance do catodo. O que pode explicar o aumento da resistência do anodo da CCM amostra no dia 21 durante o tratamento do efluente lácteo pela CCM.

Borole et al. (2010) ainda afirma que a impedância do catodo em uma CCM, pode ser maior que a impedância do anodo, em algum momento do tratamento, devido ao acúmulo de cátions no catodo e incrustações na membrana. Conforme mostra a Tabela 7, em que resistência do catodo da CCM amostra aumentou do tempo de 3 dias para o tempo de 21 dias de tratamento. Já a resistência da solução mostrou-se estável nos dias medidos.

6 CONCLUSÕES

A configuração de CCM empregado neste trabalho permitiu altos índices de remoção, das demandas química e bioquímica de oxigênio, os quais foram reduzidos em 76,4% e 82,3%, respectivamente, enquanto as quantidades de sulfato e brometo foram removidas completamente.

O estudo realizado aqui utilizou volumes de efluente da ordem de um litro, e, portanto, foi realizado numa escala de bancada. Devido a pequena quantidade de amostra utilizada, houve uma limitação do acompanhamento do tratamento, através das análises a serem realizadas. Pensando em escala semi-industrial seria necessário escalagem do dispositivo, porém esta escalagem não é linear, de modo que as dificuldades aumentam muito e isto é um dos gargalos para utilização das CCMs em escala industrial, mas em compensação teria um melhor embasamento para conclusões, podendo-se fazer um maior número de análises para respaldar os resultados.

O modelamento da interface eletródica comparando-a a circuitos equivalentes pode levar a diversas estruturas de interface, razão pela qual é necessária avaliação criteriosa dos resultados e se possível testar circuitos que tenham sentido físico com o que se espera da interface. Em geral quanto mais complexa for a interface mais difícil é adequar um circuito, contudo a técnica tem se mostrado promissora nos estudos eletroquímicos das CCMs.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Como a degradação do efluente depende da formação do biofilme, poderia ser estudado outro protocolo de iniciação visando reduzir o tempo de formação desse biofilme;
- Poderia ser feito coulometria para determinar a carga consumida durante o experimento e relacioná-la com a quantidade de degradada;
- Como os diagramas de impedância apresentam uma região linear a baixa frequência, a característica de processo de difusão, poderia ser testado circuitos que incluam componente difusional;
- A energia gerada, embora baixa, poderia ser aproveitada para se combinar com uma célula de eletrólise microbiana para produzir vetores energéticos como hidrogênio ou metano;
- Poderia aplicar o conceito de interespecies no biofilme e o efluente estudados aqui para produção de metano;
- Como o efluente tratado apresentou concentrações consideráveis de amônio e fosfato, poderia ser avaliado a possibilidade de precipitar estruvita mediante adição de resíduo rico em magnésio;
- Embora o sistema tenha removido grande parte da DBO e DQO, poderia ser feito estudos de ecotoxicidade no efluente tratado para saber se há algum efeito tóxico em organismos aquáticos.

8 REFERÊNCIAS

- AFROZ, Abanti Shama; ROMANO, Donato; INGLESE, Francesco; STEFANINI, Cesare. Towards Bio-Hybrid Energy Harvesting in the Real-World: Pushing the Boundaries of Technologies and Strategies Using Bio-Electrochemical and Bio-Mechanical Processes. *Applied Sciences*, v.11, ed.5, 2021.
- AHMAD, Talha; AADIL, Rana Muhammad; AHMED, Haassan; RAHMAN, Ubaid ur; SOARES, Bruna C.V.; SOUZA, Simone L.Q.; PIMENTEL, Tatiana C.; SCUDINO, Hugo; GUIMARÃES, Jonas T.; ESMERINO, Erick A.; FERITAS, Mônica Q.; ALMADA, Rafael B.; VENDRAMEL, Simone M.R.; SILVA, Marcia C.; CRUZ, Adriano G. Treatment and utilization of dairy industrial waste: A review. *Trends in Food Science & Technology*, v.88, p.361-372, 2019.
- ANDRADE, Laura Hamdan de. Tratamento de efluente de indústria de laticínios, por duas configurações de biorreator com membranas e nanofiltração visando o reuso. Belo Horizonte, 231p. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.
- ANGELAALINCY, Maria Joseph; KRISHNARAJ, Rathinam Navanietha; SHAKAMBARI, Ganeshan; ASHOKKUMAR, Balasubramaniam; KATHIRESAN, Shanmugam; VARALAKSHMI, Perumal. Biofilm Engineering Approaches for Improving the Performance of Microbial Fuel Cells and Bioelectrochemical Systems. *Frontiers in Energy Research*, vol.6, n.63, jul.2018.
- APHA - American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, 2012.
- BEYENAL, Haluk; BABAUTA, Jerome T. Biofilm electrochemistry. In: _____. *Biofilms in bioelectrochemical systems: from laboratory practice to data interpretation*. New Jersey: Willey, 2015. 429p. cap.5, p.121-176.
- BEYENAL, Haluk; BABAUTA, Jerome T. Introduction to electrochemically active biofilms. In: _____. *Biofilms in bioelectrochemical systems: from laboratory practice to data interpretation*. New Jersey: Willey, 2015. 429p. cap.1, p.1-36.
- BOROLE, A.B; AARON, D.; HAMILTON, C.Y.; TSOURIS, C. Understanding Long-Term Changes in Microbial Fuel Cell Performance Using Electrochemical Impedance Spectroscopy. *Environmental Science & Technology*, v.44, p.2740-2745, 2010.
- BRASIL. Resolução do CONAMA N° 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução n. 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – Conama. Brasília, DF, 16 maio, 2011.
- BRIÃO, V. B.; TAVARES, C. R. G. Ultrafiltração como processo de tratamento para o reuso de efluentes de laticínios. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 12, n. 2, p. 134-138, 2007. doi:10.1590/S1413-41522007000200004.

CAMPANA, Pietro Elia; MAINARDIS, Matia; MORETTI, Alessandro; COTTES, Mattia. 100% renewable wastewater treatment plants: Techno-economic assessment using a modelling and optimization approach. *Energy Conversion and Management*, v.239, 2021.

CANO, Julio. Célula a combustível microbiana: influência da temperatura e da resistência externa sobre a atividade eletrogênica. São Paulo, 2023, 116f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós – Graduação em Sustentabilidade, Universidade de São Paulo, 2023.

CAO et al. Contribution of Extracellular Polymeric Substances from *Shewanella* sp. HRCR-1 Biofilms to U(VI) Immobilization. *Environmental Science & Technology*, v.45, p.5483-5490, 2011a.

CAO et al. Extracellular polymeric substances from *Shewanella* sp. HRCR-1 biofilms: characterization by infrared spectroscopy and proteomics. *Environmental Microbiology*, v.13, p.1018-1031, 2011b.

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Guia Técnico de Produtos Lácteos – Série P + L. São Paulo, 2008. 95p. Disponível em: < <https://cetesb.sp.gov.br/consumosustentavel/wp-content/uploads/sites/20/2013/11/laticinio.pdf> > .

COSTA, Liziane Nunes. Célula combustível microbiológica para geração de energia e produção de biocompostos. Rio Grande, 2019, 60f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande, 2019.

DA FONSECA, Jennifer Salgado. Geração de energia a partir da degradação de óleos residuais de fritura por *Shewanella oneidensis* em Célula a Combustível Microbiano. Manaus, 2017, 114f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós – Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, Universidade Federal do Amazonas, 2017.

DA SILVA, Neusely; JUNQUEIRA, Valéria Christina Amstalden; SILVEIRA, Neliane Ferraz de Arruda; TANIWAKI, Marta Hiromi; GOMES, Renato Abeilar Romeiro; OKAZAKI, Margarete Midori; IAMANAKA, Beatriz Thie. Manual de métodos microbiológicos de alimentos e água. In: _____. *Pseudomonas spp.* São Paulo: Blucher, 2021. 602p. cap.24, p.461-478.

DA SILVA, Roselir Ribeiro; DE SIQUEIRA, Eduardo Queija; NOGUEIRA, Ina de Souza. Impactos Ambientais de efluentes de laticínios em curso d'água na Bacia do Rio Pomba. *Eng Sanit Ambient*, v.23, n.2, p.217-228 mar./abr.2018. DOI: 10.1590/S1413-41522018138062

DANIEL, Devanir Donizeti. Avaliação de processos biológicos utilizados no tratamento de efluentes de laticínios. Ribeirão Preto, 2018, 62f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia ambiental) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental, Universidade de Ribeirão Preto, 2018.

DAS, Debabrata. Introduction. In: _____. *Microbial fuel cell: a bioelectrochemical system that converts waste to watts*. India: Springer, 2018. 508p. cap.1, p.1-19.

DE OLIVEIRA, Ariadne Helena Pequeno. Fontes alternativas de energia com origem microbiana. Salvador, 2018, 115f. Tese (Doutorado em Engenharia Industrial) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Industrial, Universidade Federal da Bahia Escola Politécnica, 2018.

DE SOUSA, José Tavares; DE OLIVEIRA, Rui; HENRIQUE, Israel Nunes; LOPES, Wilton Silva. Nitrification in a submerged attached growth bioreactor using *Luffa cylindrica* as solid substrate. *African Journal of Biotechnology*, v.7, n.15, p.2702-2706, aug. 2008.

FERREIRA, Daniel Furtado. SISVAR: A COMPUTER ANALYSIS SYSTEM TO FIXED EFFECTS SPLIT PLOT TYPE DESIGNS. REVISTA BRASILEIRA DE BIOMETRIA, [S.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, dec. 2019. ISSN 1983-0823. Disponível em: <<http://www.biometria.ufla.br/index.php/BBJ/article/view/450>>. Data de acesso: 17 de maio de 2024. doi: <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>.

FIEMG – Federação das Indústrias do Estado de Minas Gerais; FEAM – Fundação Estadual do Meio Ambiente. Guia Técnico Ambiental da Indústria de Laticínios. Belo Horizonte, 68p, 2014.

FREDRICKSON et al. Towards environmental system biology of *Shewanella*. *Nature Reviews Microbiology*, v.6, p.592-603, 2008.

GARCIA et al. Respiratory Nitrate Ammonification by *Shewanella oneidensis* MR-1. *Journal of Bacteriology*, v.189, p.657-662, 2007.

GODBOLE, Vaanie; SINGH, Simranjeet; RAMAMURTHY, Praveen C.; NADEEM, A. Khan; BISHT, Manisha; PAL, Manoj Kumar; SINGH, Joginder; KUMAR, Gaurav; ESRAFILI, Ali; YOUSEFI, Mahmood. Electractive microbe communication: a crucial aspect for energy generation in bio-electrochemical systems. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v.11, ed.5, oc.2023.

GOMES, Frederico Pimentel. Curso de Estatística Experimental. In: _____. *Introdução*. Piracicaba: Livraria Nobel S.A., 1990. 468p. cap.1, 1-8p.

HAYES, P. R. Microbiologia e higiene de los alimentos. Zaragoza: Acribia, 1993. 369 p.

HE Z, Huang YL, Manohar AK, Mansfeld F. Effect of electrolyte pH on the rate of the anodic and cathodic reactions in an air-cathode microbial fuel cell. *Bioelectrochemistry*, v.74, p.78e82, 2008.

HENARES, Juliana Ferreira. Caracterização do efluente de laticínio: análise e proposta de tratamento. Campo Mourão, 2015, 51f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Curso Superior de Engenharia de Alimentos – Departamento Acadêmico de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2015.

JOHN, Andressa Maria Salla; LOPES, Bruna Cristina Vieira. Acompanhamento da geração de potencial elétrico por célula combustível microbiana. Curitiba, 2013, 72f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia em Processos Ambientais) – Curso Superior de Tecnologia em Processos Ambientais – Departamento Acadêmico de Química e Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2013.

KHALAF, A.H.; IBRAHIM, W.A.; FAYED, MAI; ELOFFY, M.G. Comparison between the performance of active sludge and sequence batch reactor systems for dairy wastewater treatment under different operating conditions. *Alexandria Engineering Journal*, v.60, p.1433-1445, 2021.

KOROGLU, E. O.; YORUKLU, H.C.; DEMIR, A.; OZKAYA, B. Microbial Electrochemical Technology. In: MOHAN, S.U.; VARJANI, S.; PANDEY, A. *Chapter 3.9 Scale – up Commercialization Issues of the MFCs: Challenges and Implications*. Elsevier, 2018. 1146p. cap.3, p. 565 – 583.

KUBANNEK, Fabian; KREWER, Ulrike. Modeling and parameter identification for a biofilm in a microbial fuel cell. *Chemie Ingenieur Technik*, v.91, n.6, p.856-864, 2019.

KUNDU, Patit Paban; DUTTA, Kingshuk. Progress and recent trends in microbial fuel cells. India: Elsevier, 2018. 464p.

LAZANAS, A.Ch.; PRODRMIDIS, M.I. Electrochemical Impedance Spectroscopy – A Tutorial. *ACS Measurement Science*, v.3, p.162-193, 2023.

LI, Nan; WAN, Yuxuan; WANG, Xin. Nutrient conversion and recovery from wastewater using electroactive bacteria. *Science of the Total Environment*, v.706, 2020.

LIAO, Qiang; ZHANG, Jun; LI, Jun; YE, Dingding; ZHU, Xun; ZHENG, Jili; Zhang, Biao. Electricity Generation and COD removal of microbial fuel cells (MFCs) operated with alkaline substrates. *ScienceDirect*, v.39, p.19349-19354, 2014.

LOGAN, B.E.; HAMELERS, B.; ROZENDAL, R.; SCHÖDER, U.; KELLER, J.; FREGUIA, S.; AELTERMAN, P.; VERSTRAETE, W.; RABAEY, R. Microbial fuel cell: methology and technology. *Environmental & Technology*. V.40, n.17, p.5181 – 5192, 2006.

LONGO, Stefano; D'ANTONI, Benedetto Mirko; BONGARDS, Michael; CHAPARRO, Antonio; CRONRATH, Andreas; FATONE, Francesco; LEMA, Juan M.; MAURICIO-IGLESIAS, Miguel; SOARES, Ana; HOSPIDO, Almudena. Monitoring and diagnosis of energy consumption in wasterwater treatment plants. A state of the art and proposals for improvement. *Applied Energy*, v.179, p. 1251 – 1268, 2016.

MARASSI, R. J.; QUEIROZ, L. G.; SILVA, D. C. V. R.; SILVA, F. T. da; SILVA, G. C.; PAIVA, T. C. B. d. Performance and toxicity assessment of an up-flow tubular microbial fuel cell during long-term operation with high-strength dairy wastewater. *Journal of Cleaner Production*, v. 259, p. 120882, 20 jun. 2020.

MARASSI, Rodrigo José. Caracterização de uma célula aa combustível microbiana alimentada com diferentes efluentes industriais. Volta Redonda, 2016, 97p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) – Programa de Pós-graduação em Tecnologia Ambiental, Universidade Federal Fluminense, 2016.

MUKHERJEE, Manisha; ZAIDEN, Norazean; TENG, Aloysius; HU, Yidan; CAO, Bin. Shewanella biofilm development and engineering for environmental and bioenergy applications. *Current Opinion in Chemical Biology*, v.59, p. 84-92, dec.2020.

PANDIT, Soumya; DAS, Debabrata. Principles of microbial fuel cell for the power generation. In: DAS, Debabrata. *Microbial fuel cell: a bioelectrochemical system that converts waste to watts*. India: Springer, 2018. 508p. cap.2, p.20-41.

RACHINSKI, Silvio; CARUBELLI, Ademir; MANGONI, Ana Paula; MANGRICH, Anotnio S. *Pilhas de combustíveis microbianas utilizadas na produção de eletricidade a partir de rejeitos orgânicos: uma perspectiva de futuros*. Química Nova. Nº 8, p.1773-1778, 2010.

RAHMANI, A. R., NAVIDJOUY, N., RAHIMNEJAD, M., ALIZADEH, S., SAMARGHANDI, M. R., & NEMATOLLAHI, D. Effect of different concentrations of substrate in microbial fuel cells toward bioenergy recovery and simultaneous wastewater treatment. *Environmental Technology*, v.43, p. 1–9, 2022.
<https://doi.org/10.1080/09593330.2020.1772374>

RAMASAMY, Ramaraja P.; REN, Zhiyong; MENCH, Matthew M.; REGAN, John M. Impact of initial biofilm growth on the anode impedance of microbial fuel cells. *Biotechnology and Bioengineering*, v.101, n.1, ed.1, p.101-108, sep.2008.

RAMYA, M.; SENTHIL KUMAR, P. A review on recent advancements in bioenergy production using microbial fuel cells. *Chemosphere*, v.288, 2022.

REMOR, João Pedro. Funcionalização de celulose bacteriana com índigo carmim para aplicação em células combustíveis. Araranguá, 2020, 48f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Energia) – Curso Superior em Engenharia de Energia – Universidade de Santa Catarina, 2020.

SANTORO, Carlo; ARBIZZANI, Catia; ERABLE, Benjamin; IEROPOLUS, Ioannis. Microbial fuel cell: from fundamentals to applications. A review. *Journal of Power Sources*, v.356, p.225 – 244, 2017.

SCOTT, Keith. An introduction to microbial fuel cell. In: SCOTT, Keith; YU, Eileen Hao. *Microbial electrochemical and fuel cells: fundamentals and applications*. Cambridge: Elsevier, 2016. 411p. cap.1, p.3-28.

SEVDA, Surajbhan; SREEKRISHNAN, T.R. Effect of salt concentration and mediators in salt bridge microbial fuel cell for electricity generation from synthetic wastewater. *Journal and Environmental Science and Health*, v.47, p.878-886, 2012.

SLAVOV, A. Kolev. General Characteristics and Treatment Possibilities of Dairy Wastewater – A Review. *Food technology and biotechnology*, v.55, p.14-28, 2017.

SORGATO, Ana Carla. Célula a combustível microbiana: operação em diferentes tempos de detenção hidráulica e extração de energia ativa. Florianópolis, 2022, 129p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, 2022.

SOUSA, Luísa Jardim Faria de Araújo. Geração de energia em uma célula a combustível microbiana alimentada com efluente da produção de biodiesel. Volta Redonda, 2020, 69p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) – Programa de Pós – Graduação em Tecnologia Ambiental, Universidade Federal Fluminense, 2020.

SPEERS, Allison M.; REGUERA, Gemma. Theoretical and practical considerations for culturing *Geobacter* biofilms in microbial fuel cells and other bioelectrochemical systems. In: BEYENAL, Haluk; BABAUTA, Jerome T. *Biofilms in bioelectrochemical systems: from laboratory practice to data interpretation*. New Jersey: Wiley, 2015. 429p. cap.2, p.37-60.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christiane L. **Microbiologia**. 10 Porto Alegre: ArtMed, 2012, 934 p.

THULASINATHAN, Boobalan; EBENEZER, James Obeth; BORA, Abhispa; NAGARAJAN, Arumugan; PUGAZHENDHI, Arivalagani; JAYABALAN, Tamilmani; NAINAMOHAMED, Samsudeen; DOBLE, Mukesh; ALAGARSAMY, Arun. Bioelectricity generation and analysis of anode biofilm metabolites from septic tank wastewater in microbial fuel cells. *International Journal of Energy Research*, v.45, p.17244-17258, 2021.

TIEDJE, James M. *Shewanella* – the environmentally versatile genome. *Nature Biotechnology*, v.20, p. 1093-1094, 2002.

VOURCH, M.; BALANNEC, B.; CHAUFER, B.; DORANGE, G. Treatment of dairy industry wastewater by reverse osmosis for water reuse. *Desalination*, v. 219, p. 190–202, 2008.

WANG, Hui; LONG, Xizi; SUN, Yingying; WANG, Dongqi; WANG, Zhe; MENG, Haiyu; JIANG, Chunbo; DONG, Wen; LU, Nan. Electrochemical impedance spectroscopy applied fuel cells: A review. *Frontiers in Microbiology*, v.13, jul.2022.