

Microbial Fuel Cells

Células de Combustível Microbianas

Hélder Leandro da Silva Teixeira

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Bioengenharia e Nanossistemas

Orientador: Professor Luís Joaquim Pina da Fonseca

Júri

Presidente: Professor Raúl Daniel Lavado Carneiro Martins

Orientador: Professor Luís Joaquim Pina da Fonseca

Vogal: Professor Jorge Humberto Gomes Leitão

Novembro 2015

Agradecimentos

Quero expressar os meus melhores agradecimentos e o meu profundo reconhecimento a todos aqueles que de alguma forma contribuíram, direta ou indiretamente, para a concretização da minha tese:

Ao Professor Luís Fonseca agradeço a orientação científica, o incentivo, a confiança depositada, a disponibilidade e o apoio ao longo de todo o trabalho e durante a escrita da tese e revisão final;

Ao Grupo de Bioengenharia (BERG) agradeço a disponibilização das instalações e de todos os recursos postos à disposição, durante a execução prática deste trabalho;

Aos professores, técnicos, técnicos superiores, e colegas de mestrado e doutoramento do Departamento de Bioengenharia do piso 7 e do piso 8, agradeço toda a colaboração técnica e laboratorial prestada, bem como a amizade, apoio e encorajamento.

Por último, mas o mais importante, agradeço aos meus pais e irmã, pelo apoio e incentivo para que fosse possível a finalização do mestrado (incluindo um obrigado extra ao papa banco). E à minha namorada, Liliana Ribeiro, um obrigado especial, pois começamos juntos uma aventura em Lisboa excecionalmente interessante, devido à sua presença e claro, ao amparamento e incentivo mútuo para que fosse possível concluir com sucesso a nossa formação académica.

Resumo

Comparou-se o desempenho de duas células de combustível microbianas (MFC), uma com elétrodo catódico, sem biomassa (cátodo abiótico) e outra com um elétrodo revestido com biofilme (biocátodo), durante ≈ 200 dias de funcionamento, sempre em descontínuo, com alimentações cíclicas. Nestas experiências, utilizaram-se elétrodos de feltro de carbono e uma membrana de *Nafion* a separar as câmaras de 360mL de volume. O consórcio microbiano misto utilizado era proveniente de uma ETAR e alimentado por efluentes sintéticos.

Realizaram-se testes de controlo avaliando a influência do material utilizado e o efeito do *stress* hidrodinâmico na câmara anódica.

Para o cátodo abiótico obteve-se uma densidade de corrente (DC) de 122mA/m^2 , uma densidade de potência (DP) de 54mW/m^2 e uma tensão de 440mV e para o biocátodo respetivamente de 116mA/m^2 , 48mW/m^2 e 417mV. No cátodo abiótico a eficiência de tratamento do efluente (remoção de COD) foi de 91% e a eficiência coulômbica de 31% e para o biocátodo 93% e 34%, respetivamente.

A fim de melhorar o desempenho da MFC com cátodo abiótico recorreu-se ao permanganato de potássio [$400\mu\text{mol/L}$] e obteve-se uma DC de 242mA/m^2 , com uma DP de 210mW/m^2 e uma tensão de 870mV.

Avaliou-se ainda duas MFCs com cátodo em contato direto com o ar, uma com o elétrodo impregnado com *Ion Jelly* e a outra com uma mistura de *Ion Jelly* e Lacase. Obtendo-se para a primeira uma DC de 104mA/m^2 , DP de 39mW/m^2 e tensão de 375mV (resultados muito promissores) e para a segunda respetivamente de 47mA/m^2 , 8mW/m^2 e 168mV.

Palavras-chave: energia, células de combustível microbianas, biocátodo, permanganato de potássio, *Ion Jelly*, Lacase.

Abstract

We compared the performance of two microbial fuel cell (MFC): a cathodic electrode without biomass (abiotic cathode) and another electrode coated with a biofilm (biocátodo) for ≈ 200 days of operation in batch with cyclical feeds. In these experiments, we used carbon felt electrodes and a Nafion membrane separating the compartments (with 360ml of volume). The mixed microbial consortium used came from a waste water treatment plant and were powered by synthetic effluents.

Control tests allowed to evaluate the influence of the material used and the effect of hydrodynamic stress in the anodic chamber.

For the abiotic cathode the current density (CD) was 122mA/m^2 , the power density (PD) 54mW/m^2 and the voltage 440mV . For the biocathode CD was 116mA/m^2 , PD was 48mW/m^2 and the voltage 417mV . In the abiotic cathode the wastewater treatment efficiency (removal of COD) was 91% and coulombic efficiency 31% and in the biocathode 93% and 34%, respectively.

In order to improve the performance of MFC's we used an abiotic cathode with potassium permanganate [$400\mu\text{mol/L}$] witch obtained a CD of 242mA/m^2 , PD of 210mW/m^2 and a voltage of 870mV .

It also evaluated two MFC's with a cathode in direct contact with air, one with an electrode impregnated with Ion Jelly and the other with a mixture of Ion Jelly and Laccase, were in the first one the CD was 104mA/m^2 , PD was 39mW/m^2 and 375mV of voltage and the second respectively, 47mA/m^2 , 8mW/m^2 and 168mV .

These are promising results, especially for Ion Jelly MFC. More studies are needed.

Keywords: energy, Microbial Fuel Cells, biocathode, potassium permanganate, Ion Jelly, Laccase.

Índice

Agradecimentos	i
Resumo	iii
Abstract	v
Lista de Figuras	ix
Lista de Tabelas	x
Lista de Abreviaturas	xi
1. Introdução	1
1.1 Células de combustível biológicas	1
1.1.1 Células de combustível enzimáticas	1
1.1.2 Células de combustível microbianas.....	2
1.1.2.1 Evolução da MFC	3
1.1.2.2 Estado de arte	5
1.1.2.3 Constituição e funcionamento de uma MFC	8
1.1.2.4 Processos metabólicos	10
1.1.2.5 Mecanismo de transferência de elétrons.....	11
1.1.2.5.1 Nanofios	13
1.1.2.6 Fatores que influenciam os rendimentos das MFCs	13
1.1.2.7 Fatores que influenciam a otimização	14
1.1.2.8 Design de MFCs	14
1.1.2.8.1 Material dos elétrodos.....	16
1.1.2.8.2 Membranas	17
1.1.2.9 Aplicações das MFCs	17
2. Objetivos	19
3. Material e Métodos	20
3.1 MFC Design.....	20
3.2 Descrição do inóculo	21
3.3 Descrição dos efluentes sintéticos	21
3.4 Determinação da produção de energia pela MFC	22
3.4.1 Determinação do COD pelo método de dicromato de potássio.....	24
3.5 Voltametria cíclica	25

3.6	Arranque da <i>Microbial Fuel Cells</i>	26
3.6.1	Teste controlo	26
3.6.2	Biocátodo.....	29
3.6.3	Cátodo abiótico.....	30
3.6.4	Cátodo abiótico com permanganato de potássio	31
3.6.5	Ânodo com soro de leite.....	32
3.6.6	Cátodo arejado	33
	A. Cátodo com eléctrodo de feltro de carbono sem impregnação	34
	B. Cátodo com eléctrodo de feltro de carbono impregnado com <i>Ion Jelly</i>	34
	C. Cátodo com eléctrodo de feltro de carbono impregnado com <i>Ion Jelly</i> e <i>Lacase</i>	36
4.	Resultados e Discussão	37
4.1	Teste controlo	37
4.1.1	Efeito da agitação na câmara anódica	39
4.1.2	Efeito da resistência externa	41
4.2	Efeito de uso de Biocátodo versus cátodo abiótico em MFCs	43
4.2.1	Biocátodo.....	43
4.2.2	Cátodo abiótico.....	44
4.2.3	Análise do Biocátodo versus cátodo abiótico.....	45
4.3	Caracterização eletroquímica do MFC com cátodo abiótico.....	47
4.3.1	Voltametria cíclica	47
4.4	Cátodo abiótico com permanganato de potássio	49
4.5	Ânodo com soro de leite	50
4.6	Cátodo em contato direto com o ar	51
	A. Cátodo com eléctrodo de feltro de carbono sem impregnação	51
	B. Cátodo com eléctrodo de feltro de carbono impregnado com <i>Ion Jelly</i>	52
	C. Cátodo com eléctrodo de feltro de carbono impregnado com <i>Ion Jelly</i> e <i>Lacase</i>	53
5.	Conclusão e trabalho futuro	55
6.	Referências bibliográficas	57
7.	Anexos	61

Lista de Figuras

Figura 1 – Esquema representativo de uma MFC de duas câmaras (adaptado de Sharma, 2010).	8
Figura 2 – Dois tipos de MFC, A: duas câmaras com elétrodos submersíveis; B: câmara única com cátodo exposto ao ar.	15
Figura 3 – Tipos de MFCs utilizados em estudos: A: sistema facilmente construído contendo uma ponte de sal (mostrada pela seta); B: MFC do tipo lote em que as câmaras estão separadas pela membrana (sem um tubo) e mantidos juntos por meio de parafusos; C: semelhante a B, mas com um ânodo com fluxo contínuo (matriz de grafite granular) e colocação aproximada do ânodo-cátodo; D: MFC do tipo <i>photoheterotrophic</i> ; E: MFC de câmara única, sistema de ar-cátodo arejado; F: sistema de duas câmaras de tipo H mostrando as câmaras do ânodo e do cátodo, equipadas para pulverização de gás. (adaptada do Logan, 2008).	16
Figura 4 – A: MFC em forma de H separada por uma membrana de nafion; B: MFC com uma câmara anódica e cátodo em contato direto com o ar.	20
Figura 5 – MFC montada com os efluentes sintéticos e os fios de cobre no ânodo e cátodo (Controlo 1).	27
Figura 6 – Reator com os feltros de carbono e efluentes sintéticos (Controlo 2).	27
Figura 7 – Reator com biomassa e elétrodos distanciados entre si (Controlo 3).	28
Figura 8 – Elétrodos afastados 2,5cm da membrana de <i>Nafion</i> (Controlo 4).	28
Figura 9 – Reator com os elétrodos o mais próximo possível (Controlo 5).	29
Figura 10 – MFC com biocátodo. Na imagem A é possível verificar no compartimento da direita (biocátodo) o biofilme formado. A imagem B é um esboço de uma MFC para melhor compreensão do mecanismo.	30
Figura 11 – MFC com cátodo abiótico. Na imagem A é possível verificar que só a câmara do ânodo (esquerda) contem biomassa, a imagem B representa um esboço da MFC para melhor compreensão do processo.	31
Figura 12 – MFC com permanganato de potássio na câmara do cátodo abiótico, exibindo uma cor avermelhada.	32
Figura 13 – MFC com soro de leite no compartimento anódico.	33
Figura 14 – MFC com a câmara anódica submersa e com o cátodo arejado.	34
Figura 15 – MFC com câmara anódica e cátodo com <i>Ion Jelly</i> arejado.	35
Figura 16 – MFC com uma câmara anódica em anaerobiose e cátodo impregnado com <i>Ion Jelly</i> e <i>Lacase</i>	36
Figura 17 – Comportamento da MFC controlo sem agitação da câmara anódica, ao longo do tempo, A: Cobre + Efluentes Sintéticos + Feltros de Carbono (distância de 10 cm entre elétrodo catódico e o anódico); B: Biomassa + Elétrodos (distância de 10 cm entre si); C: Biomassa + Elétrodos (distância de 5 cm entre si); D: Biomassa + Elétrodos.	38
Figura 18 – Fios de cobre usados na primeira fase do teste controlo, sendo A pertencente ao ânodo e B ao cátodo.	38
Figura 19 – Comparação das MFCs com e sem agitação do meio aquoso da câmara anódica.	39

Figura 20 – Membrana de <i>Nafion</i> utilizada nos testes controlo, onde a cor acastanha representa o biofilme.	41
Figura 21 – A: Curva de polarização geralmente é dividida em três Zonas: (1) a partir da OCV com corrente zero, há uma diminuição acentuada da tensão inicial: nesta zona as perdas de ativação são dominantes, (2) a tensão cai mais lentamente e a queda de tensão é aproximadamente linear com a corrente: nesta zona as perdas óhmicas são dominantes, (3) existe uma queda rápida da tensão em correntes maiores: nesta zona as perdas concentradas (efeitos de transporte de massa) são dominantes (adaptado de Rabaey, 2005). B: gráfico obtido pelos testes realizados em laboratório, verificando a semelhança com a literatura. C: Diferença de potencial e densidade de corrente e potência em função da variação das resistências.	42
Figura 22 – Relação de tensão e tempo na MFC com biocátodo, onde as setas verdes e vermelhas representam o início e fim de um ciclo e as amarelas a injeção de biomassa.	43
Figura 23 – Relação de tensão e tempo na MFC com cátodo abiótico, onde as setas verdes e vermelhas representam o início e fim de um ciclo e as amarelas a injeção de biomassa.	44
Figura 24 – Relação de tensão e tempo nas duas MFCs criadas, com cátodo abiótico e biocátodo, num ciclo de aproximadamente 200 dias.	46
Figura 25 – Voltametria cíclica da MFC com cátodo abiótico, relação de corrente e potencial. A: VC1, elétrodo do cátodo abiótico como contra elétrodo; B: VC2, Platina como contra elétrodo.	48
Figura 26 – Relação de tensão e tempo da MFC com cátodo abiótico e permanganato de potássio.	49
Figura 27 – Curva de polarização: densidade de corrente e densidade de potência em função da diferença de potencial da MFC com permanganato de potássio.	50
Figura 28 – MFC com soro de leite no ânodo.	50
Figura 29 – MFC com soro de leite contaminada por fungos, micróbios patogénicos, esporos, entre outros.	51
Figura 30 – Relação de tensão e tempo na MFC com cátodo impregnado com <i>Ion Jelly</i> , onde as setas verdes e vermelhas representam o início e fim de um ciclo e as amarelas a injeção de biomassa.	53
Figura 31 – Relação de tensão e tempo na MFC com cátodo impregnado com <i>Ion Jelly</i> e <i>Lacase</i> , onde a seta verde representa o início de ciclo e a amarela a injeção de biomassa.	54

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Caracterização do sistema MFC (reactores com 2 compartimentos e com um compartimento) e valores de tensão e potência obtidos, em diversos estudos.	6
Tabela 2 - Diferentes constituições de uma MFC (adapatada de Reddy <i>et al.</i> , 2010).	9
Tabela 3 – Composição química utilizada nas câmaras anódica e catódica.	22

Lista de Abreviaturas

CC	Células combustíveis	
CCB	Células de combustível biológicas	
CCE	Células de combustível enzimáticas	
COD	<i>Chemical oxygen demand</i> (carência química de oxigênio)	
ETAR	Estação de Tratamento de Águas Residuais	
FAS	Solução titulante de sulfato ferroso de amônia	
IL	<i>Ionic Liquid</i> (líquido iônico)	
MFC	<i>Microbial Fuel Cells</i> (células de combustível microbianas)	
OCV	<i>Open Circuit Voltage</i> (corrente em circuito aberto)	
rpm	rotações por minuto	
A	Volume de solução de FAS usados para titular o branco	
B	Volume de solução de FAS usados para titular a amostra	
F	Constante de <i>Faraday</i>	
M	Molaridade da solução de FAS	
Δ COD	Variação de COD	
R	Resistência elétrica externa	Ω
V	Diferença de potencial	V
I	Intensidade de corrente	A
P	Potência	W
DC	Densidade de corrente	A/m^2
DP	Densidade de Potência	W/m^2
E_c	Eficiência coulômbica	%
Q	Caudal volúmico	L/h^1

1. Introdução

O consumo energético tem aumentado exponencialmente a nível global e neste contexto a investigação por alternativas energéticas de fontes renováveis tem sido um dos maiores esforços desenvolvidos por cientistas e investigadores de todo o mundo, pesquisando e desenvolvendo novos processos de obtenção de energia limpa, económica e principalmente sustentável.

Atualmente, a energia elétrica produzida a nível mundial provém essencialmente do carvão, do gás, do petróleo e também da energia nuclear, devido à facilidade de acesso a estes recursos (*International Energy Agency, 2009*). Contudo, todas estas fontes estão associadas a problemas ambientais e limitadas pela sua escassez, o que levou à ascensão das energias renováveis como possível solução para este problema crucial de sustentabilidade energética, como a energia hidroelétrica, solar, eólica e geotérmica. Prevê-se o desenvolvimento, assim como uma maior utilização de outras fontes de energia alternativas como as renováveis, com menor impacto ecológico, e assentes em práticas sustentáveis.

Entre as novas fontes de energia renováveis, as células de combustível (CC) ganharam maior empatia nos últimos anos. Uma CC é um dispositivo eletroquímico capaz de converter energia química em energia elétrica, com uma boa eficiência e baixa emissão de poluentes.

1.1 Células de combustível biológicas

O interesse de obtenção de energia através de células de combustível biológicas (CCBs) tem-se vindo a desenvolver ao longo dos anos e atualmente tem aumentado devido às crises energéticas, económicas e ambientais, por todo o mundo.

O recurso a combustíveis fósseis como o petróleo, o carvão, entre outros, tem aumentado nos últimos anos, resultando numa crise energética, que se vem a observar a nível global. Para solucionar esta crise que cresce exponencialmente, a bioenergia (energia renovável) é considerada como um recurso que permitirá reduzir a dependência energética e o impacto do aquecimento global.

A produção de energia elétrica pelas CCBs é feita através da conversão de energia química em energia elétrica, por meio de reações bioquímicas. As CCBs dividem-se essencialmente em dois grupos: células que utilizam enzimas como catalisadores, conhecidas como células de combustível enzimáticas (CCE) e que utilizam microrganismos, denominadas por células de combustível microbianas (*Microbial Fuel Cells - MFC*). Existem outros tipos de células em investigação, como as células que utilizam fungos (leveduras) ou organelos (citocromos) para a transferência de eletrões, mas o estudo nestes campos ainda é bastante limitado. (Gupta *et al.*, 2011)

1.1.1 Células de combustível enzimáticas

A primeira célula de combustível construída com enzimas purificadas foi apresentada por *Yahiro, Lee e Kimble* em 1964, com a construção de bioânodos com três diferentes tipos de enzimas:

glicose oxidase, aminoácido oxidase e álcool desidrogenase. As enzimas para serem utilizadas numa CCE, devem apresentar alta atividade catalítica sobre os substratos (combustíveis) tanto na forma livre como imobilizada no eletrodo, e a capacidade para transferir ou receber elétrons (direta ou indiretamente) dos materiais utilizados como suportes (Cooney *et al.*, 2008).

Para as enzimas apresentarem alta eficiência no transporte de elétrons, o seu complexo ativo deve estar o mais próximo da superfície enzimática e as enzimas devem ser imobilizadas corretamente no eletrodo, com o seu centro ativo voltado para o suporte. O processo de imobilização necessita de especial atenção, por forma a não ocorrer deformação da estrutura enzimática, pois poderá afetar a atividade catalítica da mesma (Cooney *et al.*, 2008).

No entanto, grande parte das enzimas possui dimensões na faixa de 70-200Å e seus centros ativos estão cercados por grandes cadeias peptídicas, o que dificulta a transferência direta dos elétrons para os eletrodos e, portanto, necessitam de mediadores químicos para este fim (Willner *et al.*, 2008). Mediadores químicos são moléculas orgânicas ou inorgânicas de baixo peso molecular que apresentam características *redox* (reação de oxidação-redução) e são oxidados ou reduzidos em contato com as enzimas e sofrem a reação contrária na superfície do eletrodo. Este tipo de reação é conhecido como transferência mediada por elétrons, e também é observada em células de combustível microbianas (Cooney *et al.*, 2008).

Quanto à produção de corrente e potência, as CCEs apresentam habitualmente um melhor desempenho em comparação com as MFCs. No entanto, uma CCE construída com apenas um tipo de enzimas leva à oxidação parcial dos substratos, específicos para cada enzima, e não permitindo por isso um rendimento eficaz. Outra limitação das CCEs é a utilização de enzimas imobilizadas, que apesar de mais eficientes, apresentam períodos de atividade muito curtos (7-10 dias) e requerem mediadores químicos para estabilizar as moléculas transportadoras de elétrons.

1.1.2 Células de combustível microbianas

As MFC pertencem à classe de CC que recorrem a microrganismos como biocatalisador, em substituição dos catalisadores de metais de elevado custo, utilizados comumente para gerar energia (Logan, 2008; Mostafa Rahimnejad, 2011). A MFC é um biorreator (similar a uma pilha eletroquímica) que recorre a microrganismos específicos para oxidar matéria orgânica e transferir os elétrons resultantes para um ânodo, produzindo uma corrente elétrica num circuito onde o oxigénio é o aceitador dos elétrons do cátodo (Sharma, 2010). Este tipo de dispositivos utiliza biocatalisadores para a transformação direta de energia química em energia elétrica através de reações que envolvem vias bioquímicas. (Sharma, 2010).

A produção de energia elétrica numa MFCs ocorre de forma simples: os microrganismos são colocados numa câmara com matéria orgânica e o seu metabolismo gera elétrons e prótons que são transportados até aos eletrodos, onde vão ocorrer transformações eletroquímicas.

Foram criadas MFCs, com vastas potencialidades no que se refere à produção de eletricidade através da degradação de matéria orgânica de efluentes domésticos ou industriais. Os elétrons,

resultantes do metabolismo dos microrganismos, permitem sustentar um circuito elétrico externo, gerando eletricidade e estabelecendo-se desta forma, como uma fonte renovável alternativa.

Esta tecnologia abrange diversas áreas, partindo dos conceitos de biologia celular de transporte eletrônico intra e extracelular e produção de energia elétrica, passando pela engenharia dos materiais eletroquímicos, que são necessários para uma maior eficiência, com o melhor aproveitamento dos elétrons gerados. As MFCs podem ser descritas por meio de parâmetros eletroquímicos tais como: densidade de corrente, densidade de potência e diferença de potencial; e ainda através de parâmetros biológicos, como a taxa de redução de oxigênio (Logan, 2008).

O conceito da utilização de microrganismos como catalisadores em células de combustível tem vindo a ser explorado desde os anos 70, assim como várias possibilidades de aplicações industriais e domésticas. (Reddy *et al.*, 2010; Gupta *et al.*, 2011).

A maior importância no estudo das MFCs é a possibilidade de transformar resíduos industriais, domésticos, urbanos, entre outros, com elevada quantidade de matéria orgânica em energia elétrica, com um aproveitamento elevado dos elétrons extraídos dos compostos orgânicos. Estes reatores podem ser autossustentáveis e renováveis, quando inoculados com microrganismos que efetuam a degradação de compostos orgânicos transformando energia química em energia elétrica com a transferência de elétrons entre os elétrodos (Reddy *et al.*, 2010; Lovley, 2006).

As MFCs têm períodos de atividade de maior durabilidade em relação às CCEs, podendo chegar aos cinco anos e os substratos são completamente oxidados, permitindo a sua aplicação em resíduos urbanos e industriais para a produção de energia elétrica (Cooney *et al.*, 2008).

Graças a estas características, é possível que estas células sejam utilizadas futuramente em pequenos dispositivos eletrônicos (telemóveis, computadores portáteis, etc.) e até mesmo em grande escala, no tratamento de águas residuais (Lovley, 2006). O efluente resultante das estações de tratamento de águas residuais, ETARs, poderão torna-se numa forma de exploração desta tecnologia. A degradação de matéria orgânica contida nesses efluentes, de enorme valor energético, permite atingir um elevado grau de sustentabilidade, reduzindo o impacto ambiental, enquanto simultaneamente se produz energia. Esta tecnologia é indiscutivelmente renovável, já que a existência de resíduos humanos e industriais é praticamente infinita. Por estas razões, o investimento na investigação de MFCs para a produção de energia, torna-se na melhor opção atualmente disponível.

1.1.2.1 Evolução da MFC

O primeiro relato científico relacionado com organismos e eletricidade foi atribuído a *Luigi Galvani* que, em 1790, realizou uma experiência na qual observou a contração das pernas de rãs submetidas a uma descarga de corrente elétrica (Logan, 2008; Rachinski, 2010). Desta observação surgiu o termo bioeletricidade.

O princípio da célula de combustível foi descoberto pelo cientista suíço *Christian Friedrich Schönbein* em 1838 e foi publicado na edição de janeiro de 1839 na revista "*Philosophical Magazine*" (Logan, 2008). Com base neste trabalho, a primeira célula de combustível foi desenvolvida pelo

cientista galês *Sir William Grove*, tendo um primeiro esboço sido publicado em 1843 (Logan, 2006; 2008) Mas foi apenas em 1932 que o engenheiro britânico *Francis Bacon Thomas* desenvolveu uma MFC de sucesso (Verstraete, 2005). Vinte e sete anos depois, em 1959, *Bacon* e seus colegas, criaram uma MFC de cinco quilowatts capaz de alimentar uma máquina de soldar (Logan, 2008).

Em 1911 *Michael Cresse Potter*, professor de botânica, demonstrou a libertação de energia elétrica através da bactéria *Escherichia coli*. Em 1931 *Cohen*, baseando-se na ideia de *Potter*, construiu uma célula de combustível biológica capaz de produzir tensão de aproximadamente 35 volts e com uma corrente elétrica de 2 mA.

Nos anos 1960 as CCBs tornaram-se mais populares devido ao interesse pela *National Aeronautics and Space Administration* (NASA), num projeto com objetivo de gerar eletricidade com a degradação de resíduos orgânicos produzidos durante as viagens espaciais (Logan, 2003, Lovley, 2006).

Em 1962 *Rohrback* projetou uma célula de combustível microbiana na qual a *Clostridium butyricum* foi usada como catalisador na geração de hidrogénio através da fermentação da glicose (Logan, 2003).

Em 1963, já algumas células de combustível biológicas estavam comercialmente disponíveis, eram utilizadas como fonte de energia para rádios recetores e luzes sinalizadoras em alto mar, no entanto não alcançaram sucesso comercial e foram desaparecendo do mercado (Lovley, 2006).

Durante a crise do petróleo na década de 80, renovou-se o interesse no desenvolvimento das MFCs. Poucos anos depois, *Bennetto* concretizou notáveis contribuições no campo das MFCs, tendo desenvolvido células de combustível microbianas mais eficientes recorrendo a diversos microrganismos e sistemas mediadores. Estes sistemas basearam-se em compostos químicos como quinonas e ferricianeto, que de necessitar de reposição constante dos mediadores e de matéria orgânica, devido ao rápido consumo derivado da atividade dos microrganismos.

As primeiras células de combustível para tratamento de águas residuais domésticas foram apresentadas em 1991 (Rabaey e Verstraete, 2005) e desde então que esta área se tem destacado, com o desenvolvimento da utilização de MFCs em larga escala para a conversão de esgotos e outros resíduos orgânicos em eletricidade aumentam a eficiência da transferência de eletrões, mas que por outro lado, apresentavam a desvantagem, porém a exequibilidade destas aplicações é ainda limitada (Reddy et al., 2010).

O mais importante avanço nas MFCs ocorreu em 1999, quando se reconheceu cientificamente que não era necessário adicionar mediadores ao processo.

Uma das aplicações mais interessantes das MFCs é na indústria automóvel. A *General Motors Ballard Power Systems*, um dos principais fabricantes de células de combustível, desenvolveu um veículo movido por uma MFC, que usa o glicerol como substrato, com apoio da *Ford Motor Company* e da *DaimlerChrysler*. Após dois anos de investigação e desenvolvimento, a *DaimlerChrysler* exibiram três autocarros, em Chicago e Vancouver (1998-2000), movidos a MFCs, que principiaram em uso público em nove cidades em toda a União Europeia em 2004.

As MFCs usadas nos autocarros foram fabricadas pela *Ballard Power Systems* no Projeto CUTE da UE (*Clean Urban Transport for Europe*) e o projeto tem como propósito de reduzir a poluição e os ruídos.

Atualmente estão a ser realizados vários estudos nesta área, por forma a reconhecer quais as condições do meio ideais para a atividade microbiana máxima, sem recurso a mediadores. Em 2006 *Chaudhuri* e *Lovley* averiguaram que a *Rhodospirillum rubrum* pode recuperar até 83% dos eletrões provenientes da oxidação da glicose na presença de Fe^{3+} , sem uso de mediadores.

Ainda com todos estes avanços, as MFCs continuam longe de ser uma alternativa viável de energia renovável, pois trata-se de uma tecnologia que não está suficientemente desenvolvida a ponto de gerar quantidades substanciais de energia com uma boa relação custo/benefício, mas trata-se de uma investigação que corre no rumo certo.

1.1.2.2 Estado de arte

Este tópico aborda os vários trabalhos que têm sido realizados com MFCs, realçando a similaridade com o estudo aqui apresentado e mostrando que a execução desta tecnologia é variável e de natureza diversificada.

Na tabela 1 descreve-se resumidamente os trabalhos desenvolvidos na investigação das MFCs, indicando como foi desenvolvido o biorreator (tipo de membrana utilizada, número de câmaras, referência ao equipamento recorrido, substrato presente e dimensão das células). O objetivo principal é a comparação e compreensão dos valores obtidos de geração de energia, destacando a diferença de potencial e a potência conseguida por m^2 (área de eletrodo – cátodo).

A tabela 1 apresenta vários estudos realizados de forma experimental no desenvolvimento das MFCs, com o intuito de otimizar os biorreatores, obtendo assim o máximo de produção de energia. O objetivo é então tornar as MFCs o mais eficiente possível, como fonte de energia elétrica, eliminando resíduos (matéria orgânica) de forma a reduzir o impacto ambiental.

A maioria das MFCs criadas recorre a uma membrana seletiva de H^+ e o funcionamento mais usual consiste num biorreator de dois compartimentos independentes, onde os fluídos de cada um estabelecem trocas catiónicas através da membrana (*Kim et al.*, 2007). Por outro lado, apenas alguns estudos testaram uma condição de total aerobiose, visto que é a condição oposta, de anaerobiose, a que favorece uma maior produção de eletrões em solução aquosa e que possibilita assim uma maior geração de energia (tabela 1).

Operar em contínuo versus descontínuo tem sido uma questão de menor relevo na performance das MFCs. Os desenvolvimentos atuais incidem essencialmente no estudo das condições de operação, tais como a presença ou ausência de O_2 e a procura da estirpe microbiana ideal ou o conjunto de microrganismos ou o tipo de substrato/meio que promove a maior produção de eletrões. Contudo, como o objetivo a longo prazo dos estudos será a aplicação à escala industrial, o funcionamento ótimo do biorreator em contínuo é decisivo (*Reddy et al.*, 2010; *Silvio Rachinski, et al.*, 2010) e o recurso ao processo descontínuo acaba por estar relacionado com estudos experimentais a curto prazo apenas.

O tipo de elétrodos usados para obter o máximo de eficiência da MFC é também um foco em estudo. Algumas investigações recorrem à platina impregnada na superfície do carbono, para obter resultados máximos, porém verifica-se que esta não é a opção mais utilizada pelos investigadores, visto que não é a mais viável em termos económicos.

Relativamente ao substrato utilizado, registam-se variações na sua composição, isto é, nos estudos são avaliados diferentes compostos com objetivo de enriquecer o meio de substâncias que favoreçam o normal funcionamento do metabolismo dos microrganismos utilizados, potenciando a geração de energia. Nas MFCs com águas residuais a dificuldade para escolher o efluente sintético ideal aumenta, pela elevada quantidade de microrganismos existentes, levando à rápida degradação da matéria orgânica e diminuído o tempo de vida do reator. Vários estudos utilizam uma única estirpe, controlando assim o tipo de efluente e mantendo todas as variáveis estáveis, aumentando desta forma a performance da MFC (Logan, 2008; Mostafa Rahimnejad, 2011).

Tabela 1 – Caracterização do sistema MFC (reatores com 2 compartimentos e com um compartimento) e valores de tensão e potência obtidos, em diversos estudos.

Caraterização do sistema	Valores		Bibliografia
	Tensão (mV)	Potência (mW/m ²)	
MFC com membrana; operação em descontínuo; 2 compartimentos de 320mL/cada: ânodo anaeróbico, cátodo aeróbico, elétrodos feltro de carbono (2,5 cm x 4,5 cm). Substrato: NH ₄ Cl 0,31 g/L; KCl 0,13 g/L; NaH ₂ -PO ₄ •H ₂ O 2,69 g/L; Na ₂ HPO ₄ 4,33 g/L.	298	38	Kim <i>et al.</i> , 2007
MFC com membrana; operação em semi-descontínuo; 2 compartimentos de 700mL/cada: ânodo anaeróbico, cátodo aeróbico; elétrodos de feltro de carbono (5 cm x 5 cm). Substrato: NH ₄ Cl 0,5 g/L; KH ₂ PO ₄ 0,25 g/L; K ₂ HPO ₄ 0,25 g/L; MgCl ₂ 0,3 g/L; CoCl ₂ 25 mg/L; ZnCl ₂ 11,5 mg/L; CuCl ₂ 10,5 mg/L; CaCl ₂ 5 mg/L; MnCl ₂ 15 mg/L; glicose 3 g/L.	304	129	Mohan <i>et al.</i> , 2007
MFC com membrana; operação em descontínuo; 2 compartimentos de 250mL/cada: ânodo anaeróbico e cátodo aeróbico; elétrodos de papel	293	40	Min <i>et al.</i> , 2005

de carbono (2,5 cm x 4,5 cm), cátodo contem 1mg/cm ² de Pt (20% da área superficial). Substrato: acetato de sódio 1,64 g/L; NH ₄ Cl 0,31 g/L; NaH ₂ PO ₄ •H ₂ O 4,22 g/L; KCl 0,13 g/L; Na ₂ HPO ₄ 2,75 g/L.			
MFC com membrana e carbono ativado; operação em contínuo; 2 compartimentos 400mL/cada: ânodo anaeróbico e cátodo aeróbico; Eléttodos de carbono ativado (26,5 cm x 16,5 cm) Substrato: glicose 187 mg/L; NH ₄ Cl 38,2 mg/L; NaH ₂ PO ₄ 7,7mg/L; NaCl 986mg/L.	660	315	Deng <i>et al.</i> , 2009
MFC com membrana; Operação em contínuo; 2 MFC de 1 único compartimento em série; ânodo: escovilhão de carbono com 0,22m ² de área superficial, cátodo: placa de carbono com 0,5mg Pt/cm ² ; Substrato: efluente do sedimentador primário de uma ETAR.	490	422	Ahn <i>et al.</i> , 2009
MFC com membrana; Operação em descontínuo; 2 compartimentos 310mL/cada: ânodo anaeróbico e cátodo aeróbico; eléttrodo de feltro de carbono (4 cm x 4 cm); Substrato: NH ₄ Cl 1,05 g/L; KCl 0,1g/L; NaH ₂ PO ₄ •H ₂ O 4,90 g/L; Na ₂ HPO ₄ 9,15 g/L; NaHCO ₃ 2,5 g/L.	470	153	Ren, <i>et al.</i> , 2008
MFC com membrana; Operação em descontínuo; 2 compartimentos: ânodo 150mL anaeróbico com eléttrodo de feltro de carbono (8cm x 8cm), cátodo 300mL aeróbico com eléttrodo de feltro de carbono (3,5 cm x 3,5 cm); Substrato: acetato de potássio e solução de <i>Hoagland</i> .	253	67	Strik <i>et al.</i> , 2008

1.1.2.3 Constituição e funcionamento de uma MFC

Uma MFC converte a energia química armazenada nos compostos orgânicos em energia elétrica através de reações catalíticas operadas por microrganismos, que agregados em biofilmes, crescem em condições anaeróbicas sobre os elétrodos (Sharma, 2010).

A Figura 1 mostra um esquema geral de uma MFC com duas câmaras, anódica à esquerda e catódica à direita, separadas por uma membrana seletiva H^+ e um circuito elétrico externo, onde se processa a aquisição dos valores de diferença de potencial e intensidade de corrente, bem como a ligação, que fecha o circuito elétrico, entre ânodo e cátodo. Estes dispositivos utilizam biocatalisadores para a transformação direta de energia química em energia elétrica, através de reações que envolvem vias bioquímicas. (Sharma, 2010; Logan, 2008; Mostafa Rahimnejad, 2011).

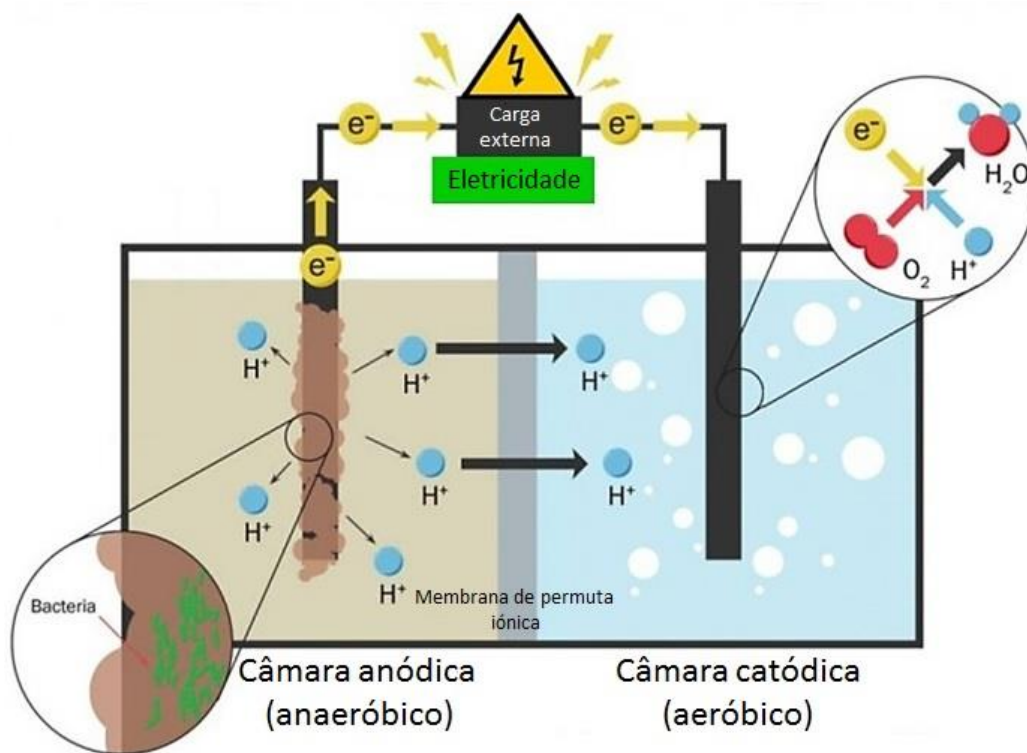


Figura 1 – Esquema representativo de uma MFC de duas câmaras (adaptado de Sharma, 2010).

Os microrganismos colonizam o ânodo e oxidam os substratos e gerando elétrons e prótons, e produção de dióxido de carbono. Ao contrário da combustão direta, os elétrons são recebidos pelo ânodo e transportados até ao cátodo através de um circuito externo. Os prótons, por sua vez são transferidos para a câmara catódica através da membrana de troca de prótons, onde se combinam com os elétrons e o oxigênio para formarem água. A geração de corrente elétrica é possível por existir uma diferença de potencial eletroquímico entre os elétrodos que é convertida em corrente elétrica. Este processo requer que a oxidação dos compostos orgânicos ocorra no ânodo sem a presença de oxigênio ou outro aceitador final de elétrons que não seja o ânodo, enquanto o cátodo é mantido em soluções arejadas ou até mesmo exposto diretamente ao ar (Logan 2008; Franks, 2010).

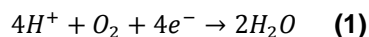
A comunidade bacteriana que constitui o biofilme numa MFC contém bactérias que produzem elétrons com a degradação da matéria orgânica. Estes grupos de bactérias desenvolvem um *pili* condutor, conectado aos citocromos da membrana externa que permitem a transferência de elétrons para aceitadores de elétrons mais distantes (Logan, 2008).

As MFCs têm sido testadas em diversas configurações como mostra a tabela abaixo (tabela 2). Quanto à caracterização dos elementos da célula de combustível, o cátodo é na maioria dos casos um composto de carbono impregnado com um metal de propriedades catalíticas. O recurso ao metal nesta situação, facilita a transferência dos elétrons, como a platina (Pt) sobre uma superfície de papel de carbono (Min *et al.*, 2005).

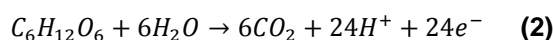
Tabela 2 - Diferentes constituições de uma MFC (adaptada de Reddy *et al.*, 2010).

Itens	Material
Ânodo	Grafite, feltro de grafite, papel de carbono, tecido de carbono, platina, platina preta, carbono vítreo reticulado
Cátodo	Grafite, feltro de grafite, papel de carbono, tecido de carbono, platina, platina preta, carbono vítreo reticulado
Câmara anódica	Vidro, acrílico, policarbonato
Câmara catódica	Vidro, acrílico, policarbonato
Sistema de permuta iônica	Membrana de troca iônica: <i>Nafion</i> , <i>Ultrez</i> , <i>polyethylene</i> , ponte salina, septo de porcelana, eletrólito
Catalisadores	Platina, platina preta, dióxido de manganês, ferro (III), polianilina, mediador de elétrons imobilizado sobre ânodo

A presença de prótons (H^+), imprescindíveis à redução de oxigênio na solução aquosa da câmara catódica, equação redox (1), provém da degradação da matéria orgânica, equação redox (2), atravessando a membrana que separa os dois compartimentos (Min *et al.*, 2005).



Quando os microrganismos degradam o material orgânico, por exemplo a glicose, em condições aeróbicas estes produzem dióxido de carbono e água. No entanto, quando o oxigênio não está presente (condições anaeróbicas), estes produzem dióxido de carbono, prótons e elétrons, como descrito na equação 2 (Min *et al.*, 2005; Rachinski *et al.*, 2010).



Os elétrons produzidos são capturados pelo eletrodo anódico e transportados para o cátodo através de um circuito externo. Os prótons gerados migram para o compartimento aeróbico (câmara

catódica) onde se combinam com oxigênio para formar água, equação (1) (Reddy *et al.*, 2010). De um modo geral, a reação na célula microbiana consiste na decomposição do substrato a dióxido de carbono e água, com a produção simultânea de eletricidade como produto (Rabaey e Verstraete, 2005, Logan, 2008).

As MFCs distinguem-se das outras tecnologias utilizadas atualmente na produção de energia a partir de matéria orgânica, devido às seguintes características (Rabaey e Verstraete, 2005):

- Elevada eficiência de conversão direta de energia;
- Grande capacidade de adaptação a diferentes ambientes e fontes de carbono;
- Atuação de forma eficaz à temperatura ambiente ou a temperaturas baixas;
- Ausência de tratamento dos gases;
- Ausência de necessidade de ventilação;
- Possível aplicação em localizações sem infraestruturas elétricas.

1.1.2.4 Processos metabólicos

Na produção de energia elétrica por MFCs é necessário compreender as vias metabólicas subjacentes ao fluxo de elétrons e prótons. Além da influência do tipo de substrato, o potencial do ânodo também pode condicionar o metabolismo. O potencial do ânodo vai determinar o metabolismo bacteriano. Se a corrente da MFC aumenta, o potencial no ânodo diminui, obrigando as bactérias a entregar os elétrons através de complexos mais reduzidos. O potencial do ânodo irá influenciar o potencial redox do transportador de elétrons final e assim, influenciar o metabolismo. Os vários tipos de vias que podem ser distinguidas com base no potencial do ânodo são: mecanismo oxidativo de elevado potencial redox; mecanismo oxidativo de potencial redox médio a baixo; e fermentação (Rabaey e Verstraete, 2005).

Para potenciais anódicos elevados, as bactérias podem usar a cadeia respiratória do metabolismo oxidativo. Neste caso os elétrons são transportados através de NADH desidrogenase, ubiquinona, coenzima Q ou citocromo (Rabaey e Verstraete, 2005; Kim *et al.*, 2004).

Processos que usam a fosforilação oxidativa têm sido utilizados regularmente em MFCs, com eficiências energéticas até 65%, usando consórcios bacterianos com *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium* e *Rhodoferrax ferrireducens* (Rabaey e Verstraete, 2005).

Caso o potencial do ânodo diminua na presença de aceptadores de elétrons alternativos tal como o sulfato, os elétrons irão reagir com esses componentes. Se não existir nenhum aceptador alternativo de elétrons a fermentação será o processo principal, enquanto o potencial eletroquímico do ânodo permanece baixo. Os organismos comumente utilizados como geradores de produtos de fermentação são: *Clostridium*, *Alcaligenes* e *Enterococcus* (Rabaey e Verstraete, 2005).

Uma MFC quando operada a baixa resistência externa, gera inicialmente baixa corrente durante o crescimento da biomassa, tendo assim um elevado potencial anódico que resulta na seleção de microrganismos anaeróbios e aeróbios facultativos. O crescimento da cultura vai proporcionar também o aumento do *turnover* metabólico e da corrente elétrica (Rabaey e Verstraete, 2005). Numa fase inicial a produção de energia neste sistema é baixa, pois a utilização dos

microrganismos anaeróbios estritos está ainda impedida pelo potencial redox do ânodo e possivelmente pela intrusão de oxigênio através da membrana (Rabaey e Verstraete, 2005). Por sua vez, quando é utilizada numa fase inicial uma elevada resistência, o potencial do ânodo é baixo, assim como os níveis de corrente, o que levará à seleção de microrganismos aeróbios facultativos e anaeróbios estritos, limitando as possibilidades na seleção do consórcio bacteriano (Rabaey e Verstraete, 2005).

Em testes com uma MFC, independentemente da fonte de alimentação, o objetivo é sempre maximizar a produção de energia e, por conseguinte, obter a máxima densidade de corrente em condições de potencial máximo. A tensão em circuito aberto (*Open Circuit Voltage* – OCV) só é conseguida na condição de resistência infinita. Reduzindo a resistência infinita através da colocação de uma resistência externa, a tensão irá diminuir (comparando com o OCV) e assim aumentar a corrente, a fim de maximizar a produção de energia. (Logan, 2008; Rabaey e Verstraete, 2005).

A composição bacteriana da MFC poderá então ser determinada pelo meio ou previamente selecionada pelo investigador.

1.1.2.5 Mecanismo de transferência de eletrões

Os microrganismos podem transferir os eletrões para o ânodo através de três mecanismos (Rabaey e Verstraete, 2005, Logan 2003, Rachinski, *et al.*, 2010):

- Transferência direta para o elétrodo;
- Mediadores externos à célula (introduzidos no meio, como o ferricianeto de potássio e a tionina);
- Mediadores produzidos pela própria bactéria.

A transferência indireta de eletrões requer a utilização de mediadores, quer sejam eles internos como externos à bactéria e a transferência direta requer o contato físico dos microrganismos com o ânodo e em muitos casos, os microrganismos chegam a formar um biofilme sobre a superfície do ânodo (Rabaey e Verstraete, 2005, Rachinski, *et al.*, 2010).

Algumas espécies de bactérias já utilizadas em MFCs produzidas em laboratório são: *Shewanella putrefaciens*, *Geobacter sulfurreducens*, *Geobacter metallireducens* e *Rhodospirillum rubrum* e são microrganismos capazes de gerar corrente elétrica sem mediadores.

Habitualmente estas baterias são encontradas em sedimentos marinhos/fluviais, esgotos e culturas mistas existentes em ETARs (Rabaey e Verstraete, 2005, Logan 2003, Rachinski, 2010).

As bactérias capazes de gerar corrente elétrica sem mediadores, possuem enzimas redox electroquimicamente ativas nas membranas, que transferem os eletrões para materiais externos (como o elétrodo), sem a necessidade de compostos químicos exógenos para acompanhar a transferência. No entanto a transferência direta tem como principal limitação a necessidade de contato físico entre o elétrodo e os microrganismos para a obtenção de densidades de correntes maiores (Logan, 2008; Lovley, 2006). Como exemplo, densidades de corrente baixas da ordem de 3

A/cm² foram citadas para uma MFC baseada na formação de biofilme de microrganismos redutores de Fe(III) *Rhodoferrax ferrireducens* (Logan, 2008; Rachinski, 2010).

Existem outras espécies de bactérias que são incapazes de realizar esta transferência direta, devido, por exemplo, ao aumento na espessura do biofilme e podem então realizar um mecanismo de transferência indireta, através de mediadores eletroquímicos. Estes mediadores podem ser naturais (produzidos pelas próprias bactérias) ou artificiais (posteriormente introduzidos no meio) (Rachinski, 2010).

Os mediadores são responsáveis por captar os elétrons da célula e quando este fenômeno ocorre os mediadores passam a um estado “reduzido”. É através do contato direto dos mediadores com os elétrodos que estes transferem os elétrons e retornam ao seu estado oxidado ou “estado natural” e o ciclo de transferência de elétrons é reiniciado.

Na otimização de uma MFCs, justifica-se a utilização de mediadores artificiais, que podem incluir, o vermelho neutro, o 2-6 dissulfato-antraquinona (AQDS), a tionina, o ferricianeto de potássio, o violeta de metilo, entre outros e que vão então aumentar a eficiência do transporte de elétrons. (Rachinski, 2010). No entanto estes mediadores possuem como desvantagens: o elevado custo, a necessidade de reposição nas células e a geração de resíduos tóxicos, muito prejudiciais a nível ambiental (Rachinski, 2010; Sharma, 2010).

Assim, a transferência direta de elétrons da cadeia respiratória do microrganismo para o elétrodo, sem recurso a mediadores, tem sido a opção mais preferida e investigada.

Numa MFCs sem mediador eletroquímico, os elétrons são conduzidos ao elétrodo através das pilosidades que os microrganismos possuem, particularmente as bactérias.

Neste contexto, a possibilidade dos microrganismos formarem biofilmes é determinante (Reddy *et al.*, 2010). Os biofilmes são comunidades biológicas com um elevado grau de organização, onde as bactérias formam comunidades estruturadas, coordenadas e funcionais. Estas comunidades biológicas encontram-se embebidas em matrizes poliméricas produzidas por elas próprias. O desenvolvimento do biofilme proporciona, aos microrganismos que o constituem, importantes benefícios, tais como:

- Aumento da concentração de nutrientes na interface líquido-biofilme, onde a matriz polimérica favorece a adsorção de moléculas de nutrientes;
- Proteção contra fatores ambientais: oscilações de pH, concentrações de sais, desidratação, forças de tensão de corte, substâncias químicas agressivas, bactericidas, antibióticos, predadores, bactérias líticas e metais pesados, permitindo a sobrevivência em ambientes hostis;
- Estabelecimento de relações simbióticas;

A relevância dos biofilmes é significativa quer na natureza, quer em processos tecnológicos, contudo na maioria das situações, a adesão de microrganismos a superfícies sólidas é indesejável pois, de uma maneira geral, está associada à deterioração das superfícies e/ou ambiente circundante (Reddy *et al.*, 2010; Silvio Rachinski, *et al.*, 2010).

1.1.2.5.1 Nanofios

No contexto dos biofilmes, surgem os nanofios bacterianos ou microbianos, que são apêndices ou prolongamentos formados pelas bactérias e têm como função a condução elétrica.

Em 2005, Gorby mostrou através de estudos por *Scanning tunneling microscope* (STM) a ocorrência de “prolongamentos” condutores para as espécies *Geobacter* e *Shewanella*. Assim demonstrada a existência de nanofios, que foi o termo criado por Gorby para *G. Sulfurreducens*, utilizando outras técnicas de detecção (Gorby *et al*, 2005).

Os nanofios são utilizados para transferir elétrons para recetores elétricos extracelulares (por exemplo Fe^{3+} e óxidos) e podem anexar o ferro, mas não reduzi-lo. Além disso, os nanofios podem facilitar a transferência de elétrons de longo alcance através da espessura do biofilme (Logan, 2008). A espécie *Pelotomaculum thermopropionicum* é também capaz de produzir minúsculas terminações condutoras que se assemelham a apêndices filiformes (Logan, 2008).

Em culturas mistas, estas terminações podem conectar bactérias fermentativas a bactérias metanogênicas (*M. Thermoautotrophicus*), facilitando assim, a transferência de elétrons entre as bactérias fermentativas, que necessitam de recuperar esses elétrons para regenerar o NADH intracelular (Logan, 2008). Normalmente, as bactérias fermentativas transferem os elétrons na formação de hidrogênio, ou através da produção de outras espécies reduzidas. Entretanto, a existência de terminações condutivas possibilita a transferência de elétrons diretamente de um microrganismo a outro.

A compreensão plena do método de transferência de elétrons é ainda insuficiente para perceber como as bactérias colonizam a superfície dos elétrodos e mantêm MFCs viáveis (Logan, 2008).

1.1.2.6 Fatores que influenciam os rendimentos das MFCs

A potência de uma MFC depende dos processos biológicos e eletroquímicos que nela decorrem (Rabaey e Verstraete, 2005; Logan, 2008; Gupta *et al.*, 2011), tais como:

- Taxa de conversão de substrato - depende da quantidade de células bacterianas, da cinética bacteriana (crescimento específico das bactérias e afinidade para o substrato), da eficiência da membrana para o transporte de prótons e do potencial da MFC;
- Sobrepotenciais no ânodo - os parâmetros que influenciam são a superfície do elétrodo, as características eletroquímicas do elétrodo, o potencial do elétrodo e a cinética juntamente com o mecanismo de transferência de elétrons e a corrente da MFC (o potencial de um circuito aberto de uma MFC é ≈ 750 mV).
- Sobrepotenciais no cátodo - à semelhança das perdas observadas no ânodo, o cátodo pode apresentar perdas significativas de potencial e embora sejam utilizados mediadores para contrariar esse efeito, para que um cátodo seja sustentável este deverá ser exposto ao ar.
- Desempenho da membrana de troca de prótons – a maioria dos estudos utilizam membranas *Nafion*, no entanto os melhores resultados foram obtidos com a membrana *Ultrex* (*Membranes Internacional*).

- Resistência interna da MFC - depende da resistência dos elétrodos assim como da resistência da membrana (a Nafion possui a menor resistência). Para uma operação mais otimizada, o ânodo e o cátodo devem estar tão próximos quanto possível. Por sua vez, a migração de prótons também influencia significativamente a resistência, pelo que uma agitação adequada da célula poderá minimizar essas perdas.
- Equilíbrio do pH - para uma boa eficiência energética é necessário que o pH se encontre em equilíbrio no ânodo e no cátodo. Um pH baixo pode levar a dois efeitos negativos. Primeiro, o metabolismo microbiano pode ser interrompido em baixos valores de pH, levando a uma queda na densidade de corrente. Segundo, o baixo pH resultará no aumento no potencial de oxidação do substrato. Para que o pH não baixe é possível adicionar uma solução tampão mantendo-o próximo de 7.
- Variações de temperatura – as oscilações de temperatura fazem mudar a cinética, a termodinâmica, a natureza e distribuição das comunidades microbianas. Na maioria dos estudos as temperaturas baixas diminuíram a eficiência energética. Quando existe a variação de temperatura numa MFC a composição do biofilme do ânodo muda de forma correspondente à temperatura, sendo o ideal manter uma temperatura constante.

1.1.2.7 Fatores que influenciam a otimização

A otimização biológica das MFCs implica a seleção de consórcios bacterianos adequados e a adaptação das bactérias às condições do reator. Contudo, a otimização tecnológica pode ocorrer através da adição de mediadores redox solúveis, onde apenas os mediadores de baixo potencial, -300mV ou mais reduzidos, são selecionados, pois permitem um elevado *turnover* bacteriano (Gupta *et al.*, 2011; Reddy *et al.*, 2010).

Uma outra otimização possível é a melhoria dos materiais do ânodo, através do revestimento com catalisadores químicos. Investigadores mostraram que elétrodos cerâmicos modificados com manganês adquiriram densidades de potência até 788 mW/m² (Gupta *et al.*, 2011).

Por último, o aumento da superfície do ânodo permite uma menor densidade de corrente (diminuindo o sobrepotencial de ativação) e uma superfície maior do biofilme. O aumento da área do eletrodo deverá ser compatível com o consórcio bacteriano, evitando que os poros fiquem obstruídos pelas bactérias.

1.1.2.8 Design de MFCs

A construção e análise de MFC requer o conhecimento de várias áreas científicas, como Engenharia; Biologia; Eletroquímica; entre outras; e podem ser construídas utilizando uma variedade de materiais e numa diversidade de configurações. Estes sistemas são operados sob uma pluralidade de condições que incluem as diferenças de temperatura, pH, recetor de eletrões, área de superfície do eletrodo, o tamanho do reator e modo de operação com o tempo (Logan, 2008). Com este princípio, novas configurações podem ser construídas, tornando a MFC mais eficaz e adaptada para

diferentes aplicações. Os materiais utilizados podem afetar a densidade de potência, bem como a configuração MFC, diminuindo a resistência interna.

As configurações das MFCs são divididas em dois tipos: de duas câmaras e de câmara única, como mostra a figura 2.

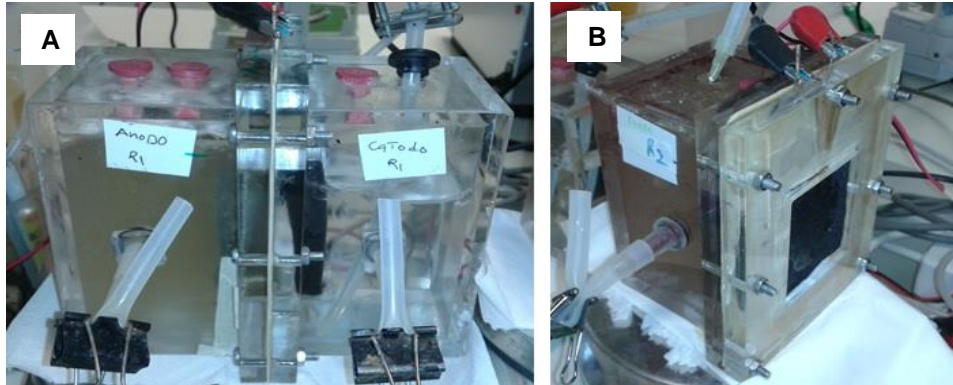


Figura 2 – Dois tipos de MFC, **A**: duas câmaras com elétrodos submersíveis; **B**: câmara única com cátodo exposto ao ar.

A MFC padrão recorre a duas câmaras (uma anódica e outra catódica) separadas por uma membrana de permuta de protões ou uma ponte salina que permita que os protões possam fluir do ânodo para o cátodo e ao mesmo tempo obstrui a difusão de oxigénio proveniente da câmara catódica para a anódica. Duas câmaras MFC são normalmente operadas em descontínuo, com diversas fontes de carbono (por exemplo, glucose e soluções de acetato ou de águas residuais) para gerar bioeletricidade. Os compartimentos podem assumir diversos projetos como mostra a figura 3. (Logan, 2008).

O tipo H é o mais comumente utilizado e consiste em duas garrafas ligadas por um tubo que contém uma membrana de permuta catiónica ou uma ponte salina, figura 3F. Na configuração H, a membrana é fixada no meio dos tubos de ligação do frasco. Recorre-se a sistemas em forma de H apenas para parâmetros de investigação, tais como examinar a produção de energia usando novos materiais, ou tipos de comunidades microbianas. Os dois compartimentos de uma MFC podem ser mantidos juntos por meio de parafusos e separados pela membrana como mostra a figura 3B.

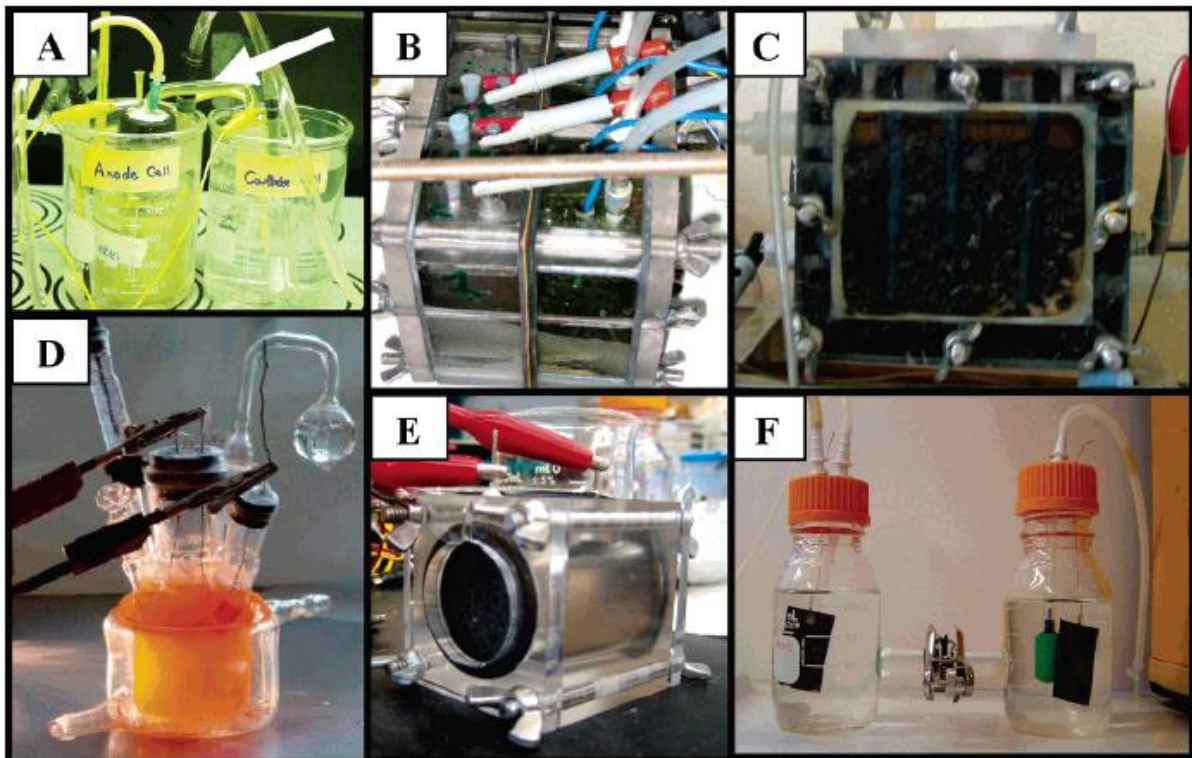


Figura 3 – Tipos de MFCs utilizados em estudos: **A**: sistema facilmente construído contendo uma ponte de sal (mostrada pela seta); **B**: MFC do tipo lote em que as câmaras estão separadas pela membrana (sem um tubo) e mantidos juntos por meio de parafusos; **C**: semelhante a B, mas com um ânodo com fluxo contínuo (matriz de grafite granular) e colocação aproximada do ânodo-cátodo; **D**: MFC do tipo *photoheterotrophic*; **E**: MFC de câmara única, sistema de ar-cátodo arejado; **F**: sistema de duas câmaras de tipo H mostrando as câmaras do ânodo e do cátodo, equipadas para pulverização de gás. (adaptada do Logan, 2008).

Numa MFC quando o cátodo é oxigenado, não é essencial coloca-lo em água ou numa câmara separada, este poderá estar em contacto direto com o ar, figuras 2C e 3E, tanto na presença, como na ausência de uma membrana. (Logan, 2008)

Estudos mostram que é possível obter densidades de energia mais elevadas quando o cátodo em meio aquoso é substituído por um cátodo com um elétrodo em contato direto com o ar (Parks, 2003; Logan 2006, 2008). Na configuração mais simples, o ânodo e o cátodo são colocados nos extremos de um tubo e separados por uma placa plana, estando o ânodo num meio aquoso e cátodo exposto ao ar (Figura 3E).

1.1.2.8.1 Material dos elétrodos

O material para o ânodo deve idealmente caracterizar-se como um bom condutor elétrico, não ser corrosivo, possuir uma grande área superficial, apresentar alta porosidade, ser um material no qual a bactéria possa se desenvolver e realizar conexões elétricas, viável economicamente e fácil de fazer ou obter em tamanhos industriais (Logan, 2008).

Os ânodos utilizados numa MFC podem ser compostos por carbono, grafite e em menor quantidade por metais. O material do ânodo afeta a formação do biofilme e da transferência de

eletrões. Grafite e carbono são os materiais frequentemente utilizados, pois possuem grande área superficial, estabilidade química e biocompatibilidade e são considerados materiais com boa condutividade elétrica (Logan, 2008).

Não é comum utilizar metais no ânodo, apesar da alta condutividade elétrica, pois pode ocorrer corrosão em função da ação bacteriana, aumentando a toxicidade do meio. O aço inoxidável, o titânio revestido por platina, a platina e o ouro são os metais de eleição, mas os seus custos são muito elevados (Logan, 2008).

O material para o cátodo deve possuir as mesmas características do ânodo, com exceção da acomodação bacteriana, uma vez que raramente se utiliza bactérias no cátodo. O material utilizado no ânodo e no cátodo não tem de ser necessariamente o mesmo.

1.1.2.8.2 Membranas

Membranas, ou separadores, são utilizados em MFCs de duas câmaras, como método para separação dos meios aquosos. Estas precisam ser permeáveis aos prótons, de modo a que os prótons do ânodo possam migrar para o cátodo. Porém, as membranas possuem desvantagens como o elevado custo e a geração de resistência interna, que diminui o potencial gerado pela MFC (Logan, 2008).

Há três tipos de membranas: troca de cátions (CMI-7000), troca de aniões (AMI-7001) e as bipolares. Os materiais mais utilizados são o *Nafion* (membrana de troca de cátions), uma opção válida, simples e econômica (Logan, 2008).

1.1.2.9 Aplicações das MFCs

As MFCs evidenciam ser a chave para a geração de energia por longos períodos de tempo graças à elevada capacidade dos microrganismos regenerarem e assim, continuarem a operar por mais tempo (Logan, 2009). Mas o potencial das MFCs não reside apenas na geração de eletricidade, é possível a sua aplicação, em grande escala, no tratamento de águas residuais e, em pequena escala, em aplicações como biossensores.

- **Produção de energia elétrica**

A produção de energia na forma de eletricidade é a aplicação mais intuitiva das MFCs. Conforme já foi citado, estas células podem funcionar como fonte de energia auto-sustentável, por longos períodos de tempo em áreas remotas, fornecendo energia elétrica para pequenos aparelhos, como antenas de rádio, telemóveis, computadores portáteis, entre outros. Para contornar o problema de tensões e correntes baixas, podem ser utilizados componentes elétricos como condensadores, entre outros, mantendo assim o funcionamento de dispositivos durante um período de tempo maior (Logan, 2008).

- **Sensores ambientais**

O conteúdo de material orgânico numa solução é normalmente avaliado em função da quantidade de oxigênio, avaliando a carência química de oxigênio (COD). Estes métodos são utilizados para a avaliação da qualidade de águas e esgotos por serem económicos e aplicáveis a uma ampla faixa de amostras. O princípio das MFCs pode ser aplicado à construção de biossensores para a determinação rápida da detenção de oxigênio, com os microrganismos a atuar como sensores e a corrente elétrica ou potencial gerado como indicador (Silvio Rachinski, *et al.*, 2010).

- **ETARS**

As possíveis aplicações para esta tecnologia passam pela instalação em ETARS, suprimindo a necessidade de comprar energia a entidades externas, criando assim um sistema de auto-sustentabilidade no tratamento de águas residuais. No futuro, a instalação destas células poderá ainda passar para o uso doméstico, dimensionando assim casas autossustentáveis, recorrendo a um sistema MFCs no tratamento das águas residuais provenientes da habitação (Logan, 2008).

- **Dispositivos Biomédicos**

O recuso a dispositivos de baixo consumo energético é impreterível e estes são cada vez mais implantados no corpo humano. Estes dispositivos necessitam de fontes de energia e no corpo humano existem substratos que podem ser usados nestes equipamentos. As CCEs em miniatura desenvolvidas por *Heller* visam preencherem essa necessidade, e devido ao seu curto tempo de vida, poderiam ser descartadas após uma utilização (Heller, 2010). Os dispositivos alimentados por estas células poderiam ser sensores em tempo real, autónomos e em pequena escala, capazes de medir a temperatura do corpo e transmissão local (para identificar pontos de inflamação), de pressão (para encontrar bloqueio fluido) ou determinar se de o indivíduo carece de determinados componentes/mediadores ou se estão em excesso (como a glicose no sangue).

2. Objetivos

Avaliar comparativamente diferentes MFCs, utilizando uma cultura mista bacteriana proveniente de uma ETAR, de forma a compreender e otimizar as condições do seu funcionamento, com objetivo de aumentar a produção de energia elétrica, testando vários efluentes sintéticos, diferentes tipos de cátodos e agentes oxidantes.

Objetivo Específicos

Testar o material utilizado na construção das MFCs, analisando a sua interferência com o meio e a influência na geração de energia elétrica, verificando o *stress* hidrodinâmico (ex: agitação) no compartimento anódico, através de testes controlo.

Detetar outras variáveis com influência na produção de energia, especialmente, a agitação do meio, a temperatura, o tipo de fornecimento de oxigénio por borbulhação de ar na câmara catódica ou cátodo exposto diretamente ao ar e a resistência externa.

Criar diferentes tipos de MFCs descritas na literatura, com o menor custo possível, por forma a compreender a sua preponderância na produção de energia elétrica, nomeadamente:

- MFC com dois compartimentos, um ânodo e um cátodo abiótico (volume de 360mL cada);
- MFC com dois compartimentos, um ânodo e um biocátodo (volume de 360mL cada);
- MFC com dois compartimentos, um ânodo e um cátodo abiótico com permanganato de potássio como agente oxidante (volume de 360mL cada);
- MFC com dois compartimentos, um ânodo com soro de leite como efluente e um cátodo abiótico (volume de 360mL cada);
- MFC com um único compartimento anódico de 360mL e cátodo em contacto direto com ar;
- MFC com um único compartimento anódico de 360mL e cátodo impregnado com *Ion Jelly* em contacto direto com ar;
- MFC com um único compartimento anódico de 360mL e cátodo impregnado com *Ion Jelly* e lacase em contacto direto com ar.

Detetar para cada uma das MFCs a densidade de corrente e de potência, medida através da diferença de potencial adquirida pelo multímetro digital aplicado nos elétrodos das MFCs.

Formar conclusões plausíveis relativamente à melhor MFC conseguida neste trabalho experimental, de acordo com os valores de produção de energia detetados e gerar recomendações ou sugestões de melhoramento da tecnologia.

3. Material e Métodos

3.1 MFC Design

Existem diversas configurações possíveis para as MFCs, numa fase inicial do trabalho optou-se pelo *design* de duas câmaras construídas em forma de "H", que consiste em duas câmaras que comunicam mas estão separadas por uma membrana, figura 4A. A chave para este *design* é selecionar uma membrana que permita a permuta de prótons entre as câmaras e evite o oxigénio de atingir a câmara anódica.

O biorreator construído para este trabalho laboratorial apresenta dois compartimentos, cada câmara possui um volume 360mL. O reator foi construído com polimetil-metacrilato, material termoplástico rígido, transparente e incolor (mais conhecido como vidro acrílico) e foi selecionado pela facilidade de manuseamento a nível laboratorial e também tendo em conta a sua resistência à corrosão (figura 4).

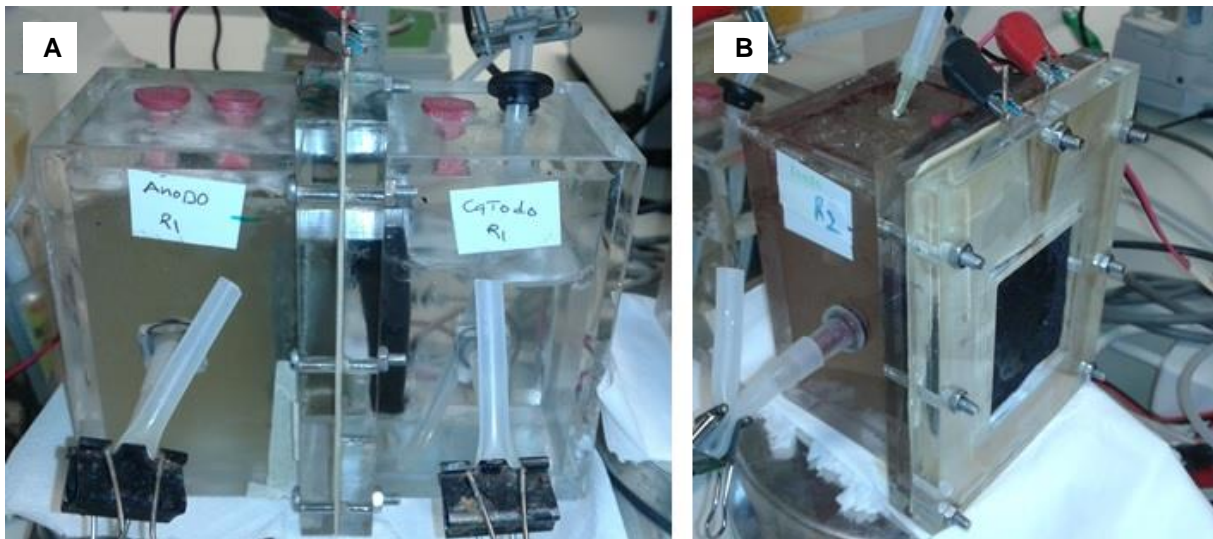


Figura 4 – **A:** MFC em forma de H separada por uma membrana de *Nafion*; **B:** MFC com uma câmara anódica e cátodo em contato direto com o ar.

A existência de duas secções distintas foi determinante no que diz respeito ao funcionamento do ânodo e do cátodo em meios aquosos distintos e separados por uma membrana seletiva a H^+ - membrana de *Nafion* com uma espessura de 0,180 mm da empresa *Alfa Aesar*, *A Johnson Matthey*. O interior de cada câmara albergava um eléctrodo de feltro de carbono da empresa *Alfa Aesar*, *A Johnson Matthey*, com uma área de 36 cm^2 (6 cm x 6 cm) com uma espessura de 5 mm. Recorreu-se a fios de cobre para contato com os eléctrodos, ligados a uma resistência fixa de $1\text{ k}\Omega$, que estava localizada numa posição intermédia entre o cátodo e o ânodo.

Na segunda parte do trabalho laboratorial foi montada uma MFC sem câmara catódica como mostra a figura 4B, estando o eléctrodo em contato direto com o ar.

O compartimento anódico, durante todos os ensaios, esteve sobre condições de anaerobiose, com agitação (≈ 1000 rpm) e continha uma solução aquosa composta pelo efluente sintético e o inóculo de biomassa proveniente de uma ETAR.

Todas as extremidades da MFC foram bem isoladas por forma a promover a eficiência de geração e orientação dos eletrões. O objetivo passou por ter um meio isolado e com uma quantidade significativa de oxigénio, assim os eletrões ao serem capturados e em combinação com os catiões H^+ provenientes do metabolismo microbiano, formariam água no ânodo (Logan, 2008; Mostafa Rahimnejad, 2011).

Nesta fase do teste experimental o compartimento catódico foi alimentando de forma contínua com ar, através de um pequeno compressor de ar da marca *ELITE - 801, Holf C. Nagen, UK Ltd.*, mantendo o meio sempre em aerobiose. A solução aquosa ao ser borbulhada de forma constante facilitava a dissolução do oxigénio, mantendo constante a quantidade de aceitadores de eletrões.

Foram também realizadas outras experiências com diferentes efluentes sintéticos e agentes oxidantes para testar o aumento da eficiência da MFC.

3.2 Descrição do inóculo

Uma elevada quantidade de microrganismos em meio aquoso, a que se chama inóculo, proveniente de uma estação de tratamento de águas residuais (ETAR de Chelas), foi utilizado para colonizar a MFC. Escolheu-se o sedimentador primário na unidade da ETAR para recolha do inóculo. Escolha que se baseou no facto de nesta fase do tratamento a água residual não se encontrar demasiado concentrada, quer em termos de matéria orgânica quer em microrganismos, ao contrário do tanque de lamas.

Segundo a literatura, a concentração do inóculo do sedimentador primário é o ideal para se testar em laboratório. Se a amostra derivasse do tanque de lamas, poderia conter microrganismos patogénicos e por outro lado, seria necessário uma MFC de maiores dimensões devido ao efluente sintético ser consumido muito mais rapidamente. Não haveria então a adaptação gradual necessária para criar as condições ideais para a produção de energia no processo da MFC (Deng *et al.*, 2009).

A principal questão operacional neste estudo centrava-se na existência de uma concentração significativa de microrganismos na amostra, para que estes se multiplicassem, se adaptassem ao meio e gerassem eletrões, por oxidação da matéria orgânica, como é próprio do seu metabolismo. Assim, recorreu-se a um inóculo que hospedava uma grande diversidade de microrganismos e permitiu-se a ocorrência de uma seleção natural do mesmo, diminuindo custos de produção.

3.3 Descrição dos efluentes sintéticos

Os efluentes sintéticos usados neste trabalho, como meios de crescimento da biomassa e fonte de matéria orgânica para a produção de energia elétrica, consistiu numa composição química específica, descrita na Tabela 3, testada e avaliada anteriormente por forma a satisfazer as necessidades metabólicas do consórcio de microrganismos produtores de energia da MFC, cuja

composição foi desenvolvida por *Venkata Ramanaiah* (co-orientador deste trabalho). O pH das soluções aquosas foi constantemente analisado e utilizou-se soluções tampão com o objetivo de as manter o mais próximo possível de pH 7.

Tabela 3 – Composição química utilizada nas câmaras anódica e catódica.

Compostos químicos	Ânodo	Biocátodo	Cátodo abiótico	Ânodo com soro de leite
CH ₃ COONa (Acetato de sódio)	0,82g/L	---	---	---
KH ₂ PO ₄ (Fosfato monopotássico)	5,751g/L	5,751g/L	5,751g/L	---
K ₂ HPO ₄ (Fosfato dipotássico)	10,04g/L	10,04g/L	10,04g/L	---
NH ₄ Cl (cloreto de amónia)	1,06g/L	---	---	---
Na ₂ CO ₃ (Carbonato de sódio)	---	1,05g/L	---	---
H ₂ O (Água destilada)	270mL	270mL	270mL	---
Soro de leite (esterilizado) com pH 7	---	---	---	270mL
Inóculo	90mL	90mL	---	90mL

A composição química da solução sintética específica para cada componente (ânodo, biocátodo, cátodo e ânodo com soro de leite) foi calculada para uma diluição para um litro de água destilada e posteriormente foi armazenada numa câmara frigorífica. Sempre que havia a necessidade de utilizar os efluentes ou a biomassa, estes eram retirados da refrigeração e repousavam duas horas para que atingissem a temperatura ambiente do laboratório e só depois eram utilizados.

3.4 Determinação da produção de energia pela MFC

Os dados foram recolhidos por um sistema de aquisição de dados, com o propósito de monitorizar a geração de energia e alterações/perturbações do sistema, a partir da leitura dos valores de diferença de potencial (tensão) e intensidade da corrente elétrica. O equipamento usado na monitorização foram os seguintes:

- Multímetro digital *Keithley* Modelo 2700/7700 (com 20 canais), para a aquisição de sinais elétricos;
- Computador equipado com *software* fornecido pela *Keithely* para a deteção do sinal da placa; Em cada ciclo, os valores da diferença de potencial da MFC foram adquiridos em intervalos de 5 minutos e gravados num ficheiro de Excel (.xlsx).

Diversos artigos científicos sobre MFC apontam para a impossibilidade de adquirir dados fiáveis através de resistências internas dos dispositivos de aquisição de leitura de sinal (Logan, 2006;

Mostafa Rahimnejad, 2011; Luciana Peixoto, 2013). Assim, neste trabalho, recorreu-se a uma resistência externa fixada em 1000Ω , para que o multímetro digital obtivesse com maior precisão o valor da intensidade de corrente e uma DP maior, visto que a resistência interna do multímetro seria insuficiente para adquirir valores uniformes e estáveis. A literatura refere ainda outra vantagem para a utilização de uma resistência externa, a remoção de ruídos ou interferências electrostáticas, evitando a oscilação dos dados lidos (Logan, 2006, 2008).

A intensidade de corrente foi calculada pela Lei de Ohm - equação 3:

$$V_{MFC} = R_{ext} * I \quad (3)$$

Segunda a equação 3, R_{ext} é a resistência elétrica externa do sistema (Ω), V_{MFC} é a diferença de potencial elétrico da MFC em volts (V) e I a intensidade da corrente elétrica (A). A obtenção de energia (W) depende da diferença de potencial, bem como da intensidade de corrente elétrica gerada pela MFC, a partir de ambas é possível obter a potência do sistema - equação 4:

$$P = V_{MFC} * I \quad (4)$$

Através da aplicação das leis fundamentais da eletrónica deteta-se os valores de potência produzida pelo sistema em estudo.

A densidade de corrente (DC) expressa em A/m^2 foi determinada segundo a equação 5:

$$DC = \frac{I}{A_{\hat{a}nodo}} \quad (5)$$

Onde $A_{\hat{a}nodo}$ corresponde à área superficial projetada do ânodo (m^2) e I a intensidade corrente (A). A densidade de potência (DP) expressa em W/m^2 foi calculada pela potência e pela área de superfície projetada ($A_{\hat{a}nodo}$) do ânodo – equação 6:

$$DP = \frac{P}{A_{\hat{a}nodo}} \quad (6)$$

A potência máxima está dependente da resistência interna (R_{int}) do sistema. Assim, se uma MFC possuir uma resistência interna muito elevada, a sua potência será baixa. A potência máxima que pode ser gerada relaciona-se com a voltagem do circuito aberto (*Open Circuit Voltage* – OCV), segundo a equação 7 (Logan, 2008).

$$P_{m\acute{a}x} = \frac{OCV^2 * R_{ext}}{(R_{int} + R_{ext})^2} \quad (7)$$

A Eficiência Coulômbica (E_C) é definida como a razão entre o número de Coulombs efetivamente transferido para o ânodo e o total de Coulombs produzidos, logo expressa em percentagem (%), considerando que todo o substrato oxidado produza eletrões – equação 8 – sendo

M a massa molecular do oxigénio (32g O₂/mol O₂), I a intensidade de corrente, F a constante de Faraday, b o número de eletrões transferidos por mole de oxigénio (4), q o caudal volúmico (L/s) e ΔCOD (g O₂/L) a variação da carência química de oxigénio.

$$E_c = \frac{MI}{Fbq\Delta COD} \quad (8)$$

3.4.1 Determinação do COD pelo método de dicromato de potássio

Para calcular a eficiência coulômbica é necessário a determinação da carência química de oxigénio (*Chemical oxygen demand* – COD). O COD é usado como uma medida do oxigénio equivalente à fração orgânica da amostra suscetível de ser oxidada pela ação de um composto químico de forte poder oxidante (Logan, 2008). Desta forma, é possível relacionar o valor de COD com a quantidade de matéria orgânica contida num efluente. O método da análise de COD correlaciona com igual precisão e proporcionalidade o desaparecimento de matéria orgânica e o surgimento de energia elétrica no sistema, sem ocasionar qualquer tipo de interferência (Logan, 2008). Sendo este um método de monitorização de efluentes e existindo diferentes tipos de sub-métodos dentro da técnica de COD, neste trabalho selecionou-se o método do refluxo com dicromato de potássio. A escolha deveu-se essencialmente ao elevado poder oxidante do químico, à sua aplicabilidade a uma grande variedade de amostras e à facilidade de manuseamento do mesmo.

A análise COD com dicromato de potássio consiste numa titulação, sendo a solução titulante sulfato ferroso de amónia (FAS). As amostras para análise de COD provieram do compartimento anódico e catódico da MFC no início e no final de cada ciclo. As amostras foram analisadas em duplicado, para ambos os compartimentos, por forma a minimizar erros associados aos equipamentos e nesse sentido, realizou-se também um teste em branco, que continha apenas água destilada de volume igual ao da amostra.

Este valor foi tido como referência para a realização dos cálculos de COD em cada uma das amostras, como demonstra a equação 9.

$$COD = \frac{(B-A)*M*8000}{V_{amostra}} \quad (9)$$

Onde A é o volume de FAS utilizado na titulação do branco e B na titulação da amostra, M é a concentração de FAS (0,10M), 8000 é a massa molar do oxigénio (32000 mgO₂ / 4e⁻) e V é o volume da amostra (1,5 ml). A partir da fórmula de COD podemos inferir da sua proporcionalidade direta com a matéria orgânica existente no efluente e titulada com o sulfato ferroso de amónia. Os valores de COD são ideais quando se aproximam de zero, isto significa que as fontes de carbono foram totalmente consumidas.

3.5 Voltametria cíclica

Dos diversos métodos dinâmicos em química eletroanalítica, a voltametria cíclica (VC) é dos mais versáteis, exceto em situações de química analítica pura (por exemplo, na determinação de constantes de estabilidade). Essa versatilidade, combinada com a facilidade de medida de parâmetros de interesse, faz com que ela seja largamente utilizada nomeadamente em química orgânica, química inorgânica ou bioquímica, no estudo de processos de adsorção, de transferência eletrônica em elétrodos semicondutores e em muitos outros tipos de processos dependentes do potencial (Guedes da Silva, 1998).

Esta técnica é de grande importância no campo da eletroquímica para obter informação muito rapidamente sobre as reações químicas associadas com processos de transferência de elétrons, em particular para estudos de processos redox, propriedades eletrocatalíticas, entre outros. Não tem a mesma relevância para determinações quantitativas, mas serem testes relativamente simples e é possível obter um conjunto importante de informações (Guedes da Silva, 1998).

A VC consiste no varrimento de potencial de um eletrodo de trabalho o qual se encontra mergulhado numa solução em repouso, medindo-se a corrente resultante. Dado ser impossível medir potenciais absolutos, o potencial deste eletrodo é medido relativamente a um eletrodo de referência (eletrodo saturado de calomelanos, eletrodo normal de hidrogênio, eletrodo de prata/cloreto de prata, etc.). O potencial aplicado entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência pode ser considerado um sinal de excitação e a corrente resultante pode ser tida como um sinal de resposta (Guedes da Silva, 1998).

Neste caso, o sinal de excitação compreende um varrimento linear de potencial no sentido positivo desde um valor inicial (E_1) até um valor considerado como um potencial de retorno (E_{r1}). A este valor a direção do varrimento de potencial é invertida, ocorrendo então um novo varrimento linear de potencial, agora no sentido inverso, até um valor final (E_f) que pode, ou não, coincidir com o valor inicial (E_i). Este ciclo pode ser repetido; então, E_f é, de facto, um novo potencial de retorno (E_{r2}). Esta variação à descrição global de um varrimento de potencial pode dar informações importantes relativas ao mecanismo do processo de eletrodo. A velocidade do varrimento do potencial, $v = dE / dt$ ($V s^{-1}$) é uma variável extremamente importante pois é ela que determina a escala de tempo da experiência (Guedes da Silva, 1998).

Para a análise VC recorreu-se ao potenciostato *CHI 440B* da *CHI Instruments, EUA*, o eletrodo de feltro de carbono do compartimento anódico, como eletrodo de referência, um eletrodo de $Ag/AgCl$ (*ER-1B, BAS, Japão*) e um contra-eletrodo de platina da *Bioanalytical Systems, West Lafayette, modelo: 4230, EUA*. A velocidade de varredura utilizada foi de $0,01 mV/s$.

Antes das experiências eletroquímicas, a câmara onde se realizou a VC e o compartimento anódico da MFC, foram colocados em anaerobiose, por arejamento durante 30 minutos de N_2 e mantendo sempre a integridade do sistema.

3.6 Arranque da *Microbial Fuel Cells*

Os ensaios experimentais com as MFCs foram operados em descontínuo (*batch*) e ambos os compartimentos da MFC estavam ligados eletricamente, através do circuito externo ligado aos elétrodos do ânodo e do cátodo, como referido anteriormente. A MFC foi operada à temperatura ambiente do laboratório, aproximadamente 25°C. Os dados foram adquiridos em intervalos de 5 minutos. Antes de se iniciar os biorreatores realizaram-se testes de controlo com o objetivo de verificar se os componentes, como os elétrodos, os fios de cobre e os efluentes sintéticos, por si só interferiam na geração de energia.

3.6.1 Teste controlo

Este teste consiste na colocação da membrana de *Nafion* (7 cm x 7 cm) dentro de um recipiente com água destilada durante 12 horas, por forma a aumentar a sua elasticidade. Após lavagem dos reatores com água destilada, inicia-se o processo de montagem da MFC, que tem como intenção isolar o ânodo do cátodo através da membrana de *Nafion*. Esta membrana é colada nas extremidades para eliminar qualquer fuga e contacto entre os meios reacionais existentes nas duas câmaras.

Previamente ao teste, adiciona-se água destilada numa das câmaras por forma a verificar a existência de fugas. Com a MFC apta para o teste, as soluções com efluente sintético são colocadas nos respetivos compartimentos, o fio de cobre é disposto em cada câmara e ligado a um multímetro (figura 5), com o objetivo de analisar a sua interferência e oxidação com o meio (Controlo 1).

Após alguns dias de aquisição de dados iniciou-se a segunda fase de controlo (Controlo 2), onde os fios de cobre foram cravados no interior dos feltros de carbono e inseridos a uma distância, entre si, de aproximadamente 10 cm, como mostra a figura 6 e procedeu-se então à aquisição de novos dados.

Na terceira etapa do processo, foram adicionados 90mL de biomassa na câmara anódica e os efluentes sintéticos, de ambas as câmaras, foram renovados (Controlo 3). O ânodo esteve durante 30 minutos a ser borbuhlado com azoto, com objetivo de substituir o oxigénio (O₂) dissolvido por azoto (N₂), tornando assim a câmara anódica anaeróbica. Cada elétrodo foi mantido a uma distância de 5 cm da membrana de *Nafion*, por forma a verificar se a distância entre o ânodo e o cátodo influenciava a aquisição dos eletrões (figura 7). Com o decorrer do tempo ocorreu então a formação do biofilme sobre o elétrodo anódico.

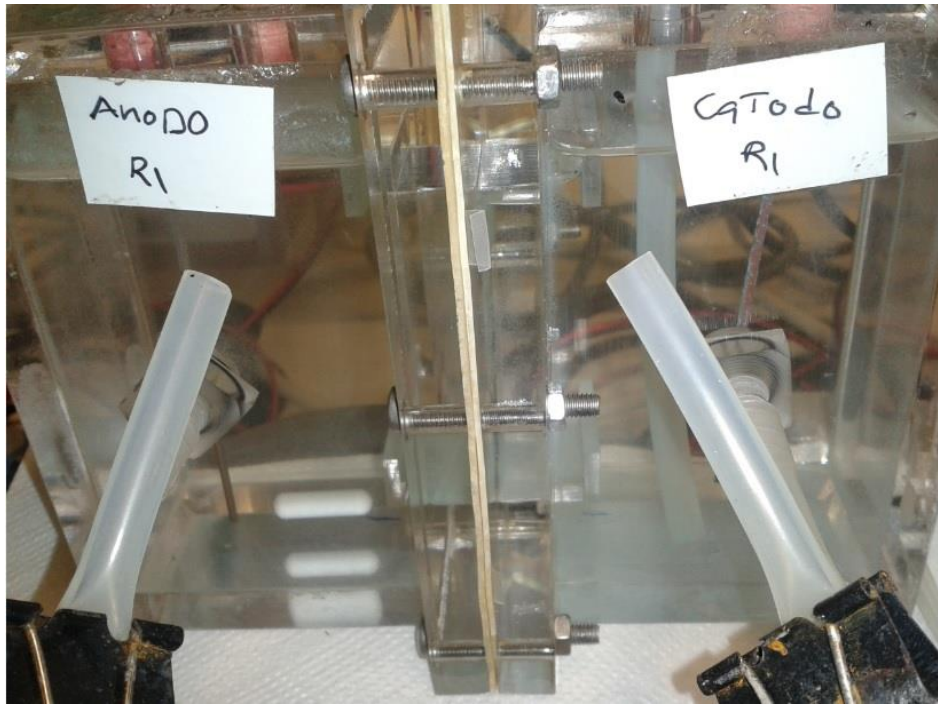


Figura 5 – MFC montada com os efluentes sintéticos e os fios de cobre no ânodo e cátodo (Controlo 1).

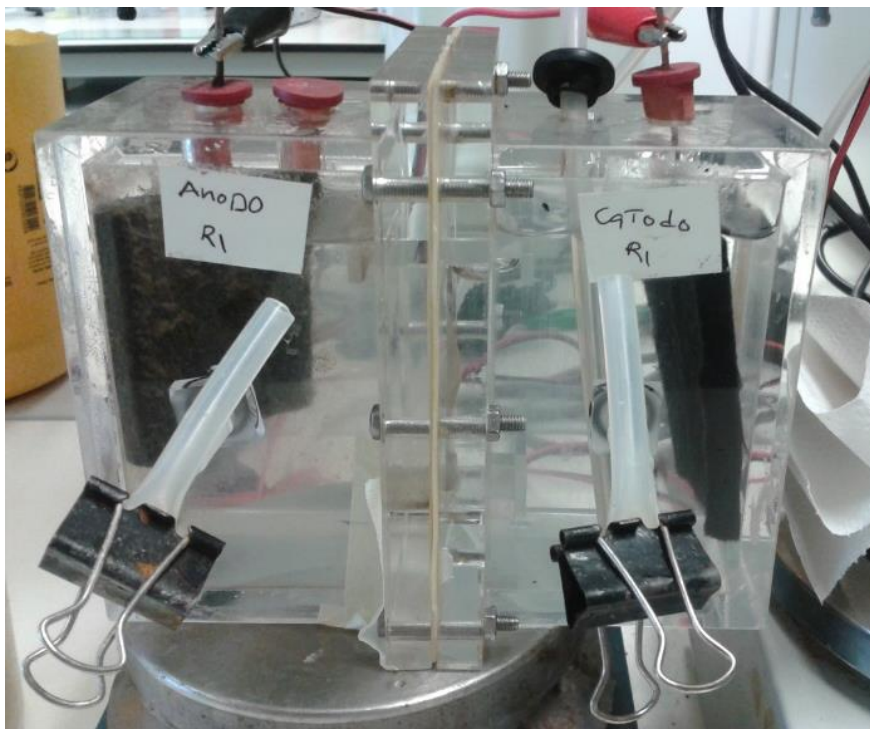


Figura 6 – Reator com os feltros de carbono e efluentes sintéticos (Controlo 2).

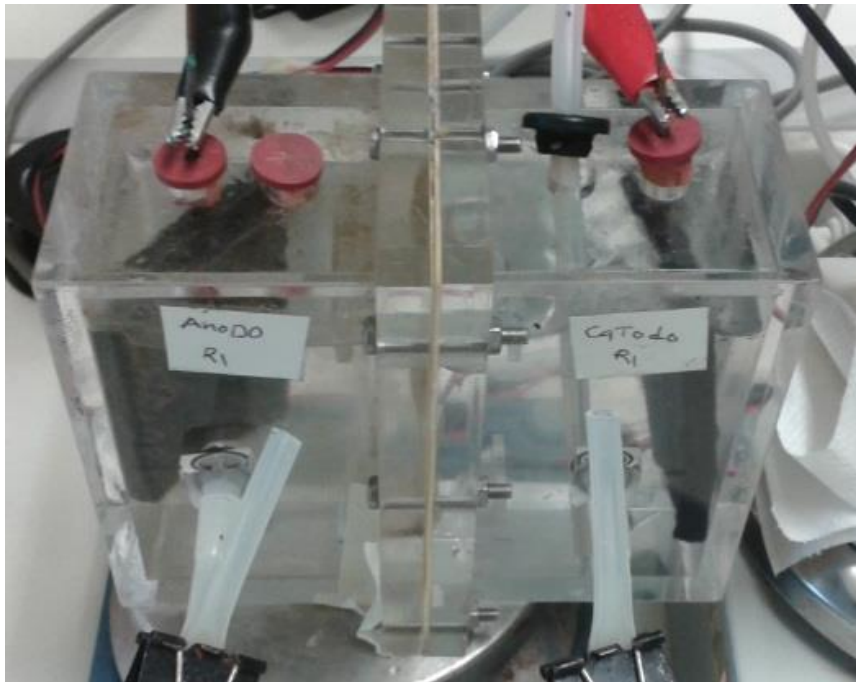


Figura 7 – Reator com biomassa e elétrodos distanciados entre si (Controlo 3).

Ao fim de 10 dias, tempo médio necessário para que o consórcio de microrganismos forme um biofilme, foi possível verificar o elétrodo impregnado pelo biofilme. A figura 8 mostra a aproximação dos elétrodos à membrana para uma distância de 2,5 cm (Controlo 4).

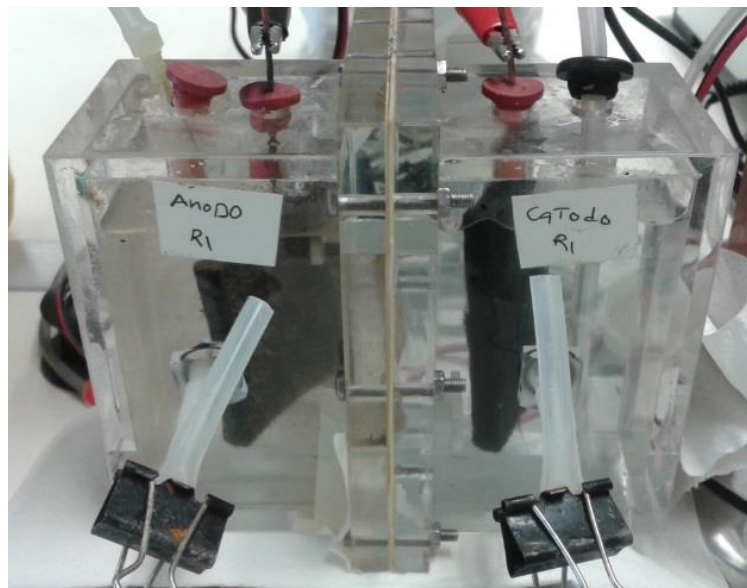


Figura 8 – Elétrodos afastados 2,5cm da membrana de *Nafion* (Controlo 4).

Com os dados adquiridos e registados, a penúltima fase do teste controlo (Controlo 5) focou-se em aproximar os elétrodos o mais possível um do outro (inferior a 0,5 cm), figura 9. Foram adicionados 90mL de biomassa e renovaram-se os efluentes, mantendo sempre o ânodo em

condições de anaerobiose. Por fim, o último objetivo consistiu em averiguar se a agitação na câmara anódica seria relevante para a produção de energia (Controlo 6), tendo sido por isso realizados três ciclos, de consumo e alimentação da fonte de carbono no efluente sintético, sempre sem agitação.

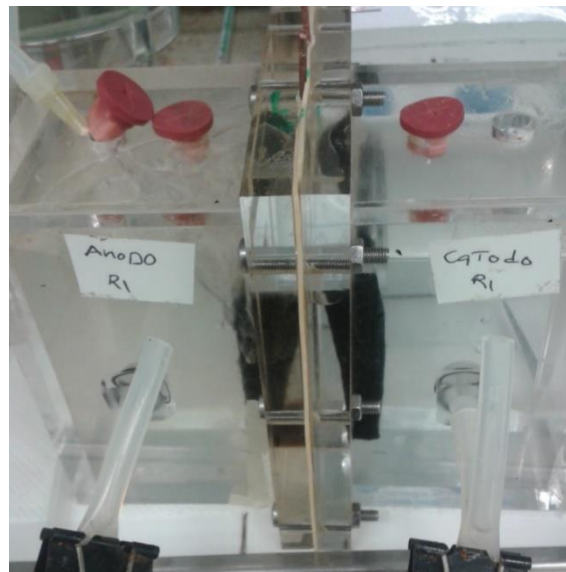


Figura 9 – Reator com os elétrodos o mais próximo possível (Controlo 5).

Em todos os ensaios a câmara anódica manteve-se em anaerobiose e o cátodo foi arejado com um compressor de ar mantendo-se constante a concentração de oxigénio dissolvido por saturação com o arejamento da câmara catódica.

Vários artigos referem a necessidade de recurso a uma resistência externa de 1000Ω , por forma a maximizar a DP na MFC. (Larminie, 2003; Larminie, 2004; Rahimnejad, 2011; Logan, 2008) Por esse motivo realizou-se ainda um teste controlo com o estudo da polarização na MFC em eficiência máxima, onde se avaliou o desempenho de diferentes resistências externas, nomeadamente 20Ω ; 220Ω , 560Ω , 820Ω , 1000Ω e 5000Ω .

3.6.2 Biocátodo

Nesta etapa procedeu-se à montagem de uma MFC com um biocátodo com o cátodo (elétrodo de feltro de carbono) impregnado por um biofilme. As câmaras do ânodo e cátodo foram inoculadas com o mesmo consórcio misto de microrganismos, com o ânodo em anaerobiose e o cátodo em aerobiose, figura 10. Às câmaras do ânodo e do cátodo foram adicionados os efluentes sintéticos, verificando regularmente se o pH das soluções aquosas permanecia neutro (próximo do pH 7).

O ânodo possuía uma única fonte de carbono, a solução de acetato de sódio a 10mM , à qual se adicionou uma solução tampão de fosfato a 50mM e cloreto de amónia a 2mM , como fonte de nutrientes. Por outro lado, no cátodo, a fonte de carbono utilizada foi o carbonato de sódio a 3mM e a uma concentração de solução tampão fosfato semelhante ao ânodo. Os tampões ácido-base

utilizados têm como finalidade manter um valor de pH praticamente constante, quando adicionados a diferentes meios.

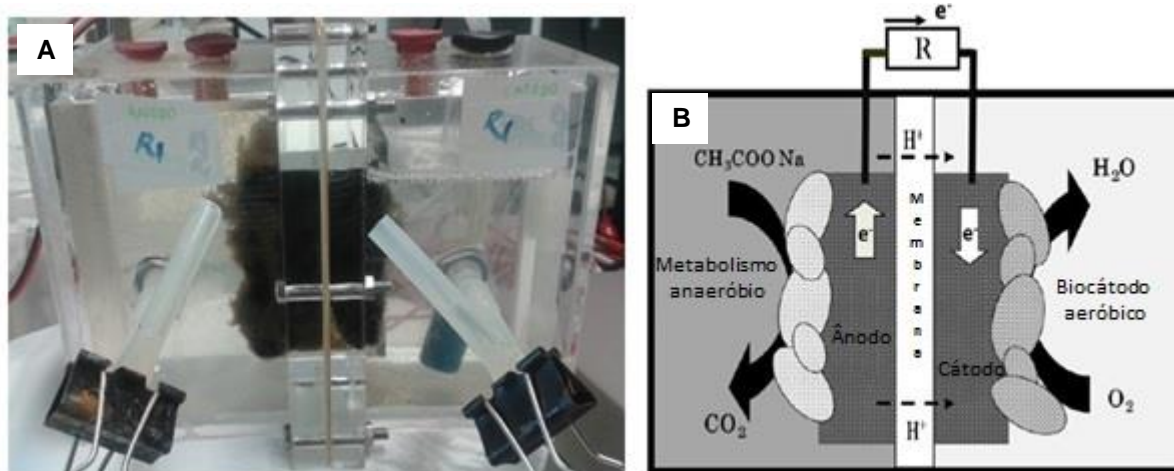


Figura 10 – MFC com biocátodo. Na imagem A é possível verificar no compartimento da direita (biocátodo) o biofilme formado. A imagem B é um esboço de uma MFC para melhor compreensão do mecanismo.

Antes de acrescentar os efluentes sintéticos à MFC, foi necessário confirmar se o pH do efluente estava efetivamente neutro e ainda adicionar 90mL de biomassa a ambas as câmaras. O compartimento anódico foi preenchido com 270mL de efluente e borbulhado com N_2 durante 30 minutos, criando um microambiente anaeróbico. Na câmara do biocátodo adicionou-se um volume de 270mL de efluente e este foi borbulhado de ar continuamente, através de um compressor de ar para manter constante a quantidade de aceitadores de eletrões.

A solução aquosa do meio era sempre renovada quando a diferença de potencial diminuía dos 90mV. Assim, quando a MFC alcançava o seu fim de ciclo, os 90mV, a agitação e o compressor de ar eram interrompidos durante 20 minutos, tempo necessário para que a biomassa de ambas as câmaras fosse depositada. Após repouso, um volume residual de aproximadamente 100mL de biomassa depositada era preservada, em ambas as câmaras e iniciava-se um novo ciclo com a adição de 270mL de efluente nos dois compartimentos iniciando assim um novo ciclo.

No início e no final de cada ciclo eram retiradas amostras de 10mL da solução aquosa para posteriores análises e comparação de resultados.

3.6.3 Cátodo abiótico

Neste ensaio o *design* da MFC foi idêntico ao trabalho anterior, diferindo apenas no tipo de cátodo utilizado, que neste caso não foi inoculado com biomassa, figura 9. O compartimento anódico foi inoculado com 90mL de biomassa e 270mL de efluente sintético que continha uma fonte de carbono - acetato de sódio a 10mM; e uma fonte de nutrientes - solução tampão de fosfato a 50mM e cloreto de amónia a 2mM; tendo sido mantido em condições de anaerobiose. Na câmara do cátodo

abiótico foram adicionados 360mL de uma solução tampão fosfato a 50mM e este foi continuamente borbulhado por um compressor de ar.

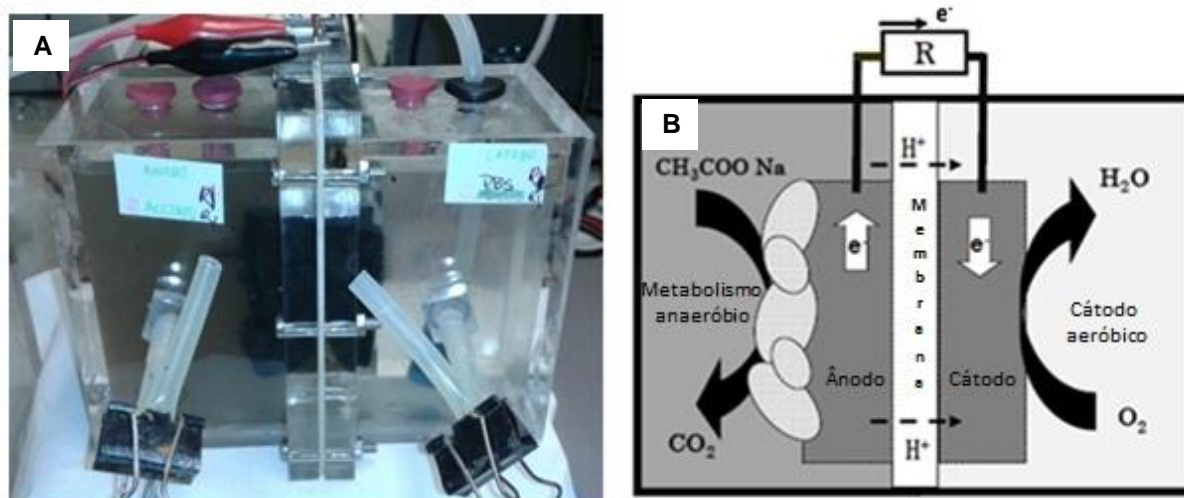


Figura 11 – MFC com cátodo abiótico. Na imagem A é possível verificar que só a câmara do ânodo (esquerda) contém biomassa, a imagem B representa um esboço da MFC para melhor compreensão do processo.

Antes da adição do efluente foram verificados os valores de pH das soluções – necessariamente neutras. O ambiente anaeróbico na câmara anódica foi obtido após 30 minutos a borbulhar com N_2 . E o cátodo, por sua vez, possuiu borbulhação contínua de ar, de forma a manter constante a quantidade de aceptadores de eletrões.

A realimentação ou nova adição de efluentes era realizada sempre que a MFC atingia o fim de ciclo. Com a tensão próxima dos 90mV, a agitação e a bomba de ar eram interrompidas durante 20 minutos. Após repouso, 100mL do meio aquoso de biomassa depositada era preservada e a MFC realimentada com 270mL de novo efluente, enquanto no cátodo abiótico o meio era totalmente renovado com 360mL de efluente, iniciando-se assim um novo ciclo. São retiradas amostras de 10mL da solução aquosa, do início e fim de ciclo, para posteriores análises e comparação de resultados.

3.6.4 Cátodo abiótico com permanganato de potássio

Tal como referido anteriormente, todos os sistemas de MFCs foram testados sem qualquer mediador de transporte de eletrões ou agentes oxidantes nos compartimentos do ânodo e cátodo. Os mediadores de eletrões artificiais são essenciais para acelerar a transferência de eletrões na superfície do ânodo. Todavia a utilização destes mediadores pode contaminar o meio de cultura que contém a biomassa. Assim, por forma a testar o desempenho da MFC com mediadores, neste trabalho recorreu-se à utilização de permanganato de potássio, com uma concentração de 400 $\mu\text{mol/L}$, como agente oxidante no cátodo abiótico. Como se pode verificar na figura 12, a adição do permanganato de potássio confere uma avermelhada ao efluente do cátodo.



Figura 12 – MFC com permanganato de potássio na câmara do cátodo abiótico, exibindo uma cor avermelhada.

3.6.5 Ânodo com soro de leite

O soro de leite é um resíduo agroindustrial com baixo valor comercial e tornou-se num forte agente de poluição ambiental, quando descarregado descartado sem tratamento prévio no solo e em rios. Quimicamente possui inúmeros componentes na sua composição que apresentam diversas propriedades funcionais e bioativas, despertando interesse na sua utilização como substrato alternativo para elaboração de meios de cultura com baixo custo e minimizando ainda os problemas ambientais.

Recorreu-se então, ao soro de leite como substrato na geração de eletricidade na MFC, através da sua degradação, numa cultura mista de microrganismos proveniente de uma ETAR, sem recurso a mediadores.

A MFC teve o mesmo *design* utilizado anteriormente, contendo duas câmaras separadas por uma membrana de *Nafion*, figura 13. No compartimento anódico foram adicionados 90mL de biomassa e 270mL de soro de leite como efluente sem diluição. A câmara foi borbulhada com N_2 durante 30 minutos criando um ambiente anaeróbico. No cátodo abiótico adicionaram-se 360mL de uma solução tampão fosfato a 50mM e a câmara foi borbulhada continuamente por um compressor de ar.



Figura 13 – MFC com soro de leite no compartimento anódico.

O soro de leite, derivado do leite gordo do dia e sem diluição, foi autoclavado a 121°C durante 15 minutos e após arrefecimento à temperatura ambiente, centrifugou a 11.000 rpm em tubos esterilizados durante 15 minutos para remover os sólidos agregados. O sobrenadante soro de leite foi refrigerando durante 12 horas.

Antes de ser usado como meio de crescimento para os microrganismos, foi necessário o ajuste do pH a neutro, com uma solução de NaOH (1M), visto que o seu pH era ácido (pH 4,8). A lactose contida no soro de leite tratado foi utilizada como fonte de carbono.

3.6.6 Cátodo arejado

Um dos objetivos principais deste trabalho era executar um biorreator o mais económico possível. Nesse sentido, eliminou-se a câmara catódica e por sua vez, o borbulhamento de ar foi eliminado, assim como os efluentes sintéticos. O eletrodo catódico ficou em contacto direto com o ar e com a membrana de *Nafion*, como mostra a figura 14.

Nesta experiência laboratorial a configuração da MFC permitiu testar três cátodos distintos (5cm x 6cm, área de superfície de 30cm²):

- Cátodo com eletrodo de feltro de carbono sem impregnação;
- Cátodo com eletrodo de feltro de carbono impregnado com *Ion Jelly*;
- Cátodo com eletrodo de feltro de carbono impregnado com *Ion Jelly* e *Lacase*.

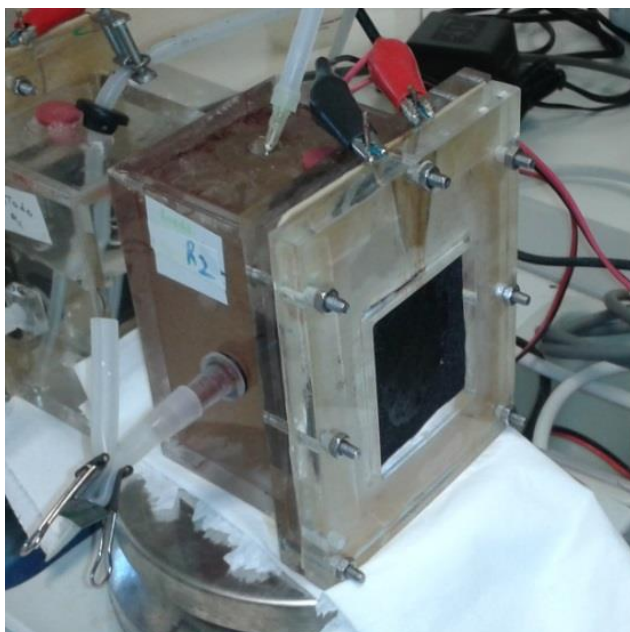


Figura 14 – MFC com a câmara anódica submersa e com o cátodo arejado.

A. Cátodo com elétrodo de feltro de carbono sem impregnação

A câmara anódica foi colocada em anaerobiose com 90mL de biomassa e 270mL de efluente sintético com acetato de sódio a 10mM, como fonte de carbono e uma solução tampão de fosfato a 50mM e cloreto de amónia a 2mM, como fonte de nutrientes. O elétrodo de feltro de carbono do cátodo não possuía qualquer tipo de impregnação, figura 14.

B. Cátodo com elétrodo de feltro de carbono impregnado com *Ion Jelly*

A câmara anódica deteve as mesmas condições descritas anteriormente em A, mas neste caso o elétrodo de feltro de carbono do cátodo foi impregnado com *Ion Jelly*, figura 15.

O *Ion Jelly* consiste num material polimérico condutor transparente e flexível, que combina a versatilidade química de um sal orgânico – líquido iónico; com a versatilidade morfológica de um biopolímero natural e barato – gelatina (Pedro Vidinha, 2008; Rui Carvalho, 2012). Este composto visa o uso de baterias de filme fino para dispositivos eletrónicos, que podem ser impressas em qualquer tipo de superfície.

Ion Jelly é uma tecnologia patenteada e fundamenta-se na reticulação de líquidos iónicos (*Ionic Liquids* – ILs) com gelatina que resulta num gel viscoso que pode ser moldado num filme e que solidifica por arrefecimento abaixo dos 35°C. (Pedro Vidinha, 2008; Rui Carvalho, 2012; Couto, 2012)

O resultado desta combinação é então um polímero condutor transparente, leve e flexível, que se adapta eficazmente a uma grande variedade de superfícies. Algumas das propriedades fundamentais do *Ion Jelly* são uma boa condutividade iónica (10^{-4} S cm⁻¹); alta estabilidade até 180°C; estabelecimento de pontes de hidrogénio estáveis entre o IL e a gelatina iónica; grande janela

eletroquímica e biocompatibilidade. O *Ion Jelly* pode ser aplicado em dispositivos eletroquímicos, tais como baterias, células de combustível, a janelas electrocrómicas ou células fotovoltaicas (Cordas, 2008, Rui Carvalho, 2012; Couto, 2012).

O IL empregado para preparar o hidrogel foi o [bmim][N(CN)₂], 1-butyl-3-methylimidazolium dicianamida [bmim][N(CN)₂] fornecido pela *IoLiTec*, empresa Alemã. Este IL foi escolhido já que preserva a sua forma e estrutura gelatinosa em contacto com o ar e uma vez que não é demasiado viscoso, facilitando assim o seu manuseamento. (Rui Carvalho, 2012)

Na preparação de filmes finos poliméricos de *Ion Jelly* funcionais com [bmim][N(CN)₂], a temperatura utilizada foi 40°C. Para as soluções foram adicionados 10,4 ou 5,2mL de água destilada ou, alternativamente, uma solução tampão de fosfato de sódio (0,1M; pH 7,0) e agitadas durante 10 minutos. Foram transferidos 7mL para uma folha de acetato e colocado numa *K101 Control Coater*, da *RK Print Ltd.* (equipamento que reveste uma variedade de superfícies com filmes finos - utilizada para controlo de qualidade), equipado com uma faca de fundição regulamentado para criar filmes de 1mm de espessura. (Rui carvalho, 2012)

O elétrodo de feltro de carbono revestido com um filme fino foi primeiramente deixado à temperatura ambiente durante uma hora e posteriormente maturado a uma humidade controlada, numa câmara fechada com uma solução aquosa saturada de cloreto de sódio, até atingir uma atividade de água (a_w) de 0,76. O elétrodo catódico impregnado com *Ion Jelly* foi retirado da câmara de maturação após 3 dias. (Rui Carvalho, 2012) O filme fino criado sobre o elétrodo apresentou na sua forma final uma superfície viscosa, ideal para aumentar a superfície de contato com a membrana de *Nafion* e auxiliar a difusão dos catiões H⁺.

A figura 15 mostra uma MFC de uma única câmara anódica com um elétrodo catódico impregnado com *Ion Jelly* pressionado contra a membrana de *Nafion*. Os dados foram recolhidos em intervalos de tempo de 5 minutos.

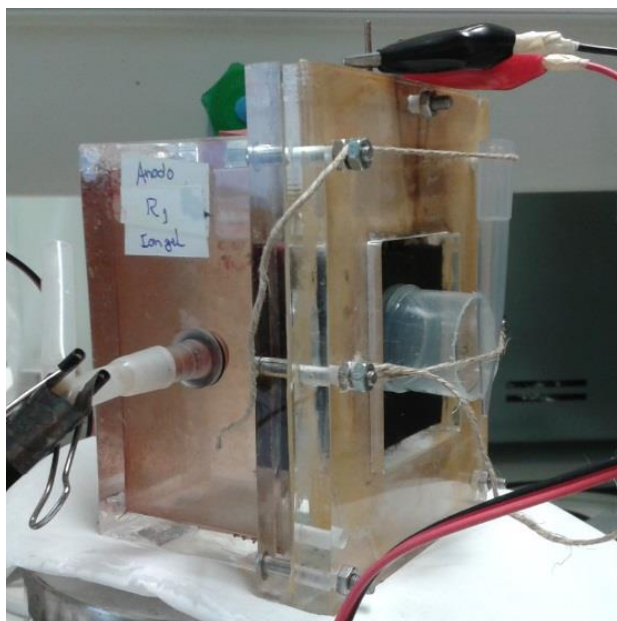


Figura 15 – MFC com câmara anódica e cátodo com *Ion Jelly* arejado.

C. Cátodo com elétrodo de feltro de carbono impregnado com *Ion Jelly* e *Lacase*

Levando em consideração as propriedades e vantagens do *Ion Jelly*, que fornece um ambiente estável e favorável para as enzimas, aplicou-se numa MFC, *Ion Jelly* e *Lacase* - enzima do tipo oxidase que contém cobre (Pedro Vidinha, 2008, Rui Carvalho, 2012). A enzima oxido-redutora foi empregue com o objetivo de estudar a catálise na transferência direta de eletrões, durante a redução de O_2 , numa MFC com cátodo em contacto direto com o ar.

Procedeu-se à montagem de uma MFC com câmara anódica anaeróbia, onde se adicionou 90mL de biomassa e 270mL de efluente sintético, borbulhada durante 30 minutos com N_2 . Na figura 16 visualiza-se a MFC com o elétrodo catódico impregnado com *Ion Jelly* e *Lacase*.

O cátodo foi pressionado contra a membrana de *Nafion* para amplificar a área de contacto de superfícies. Os dados foram recolhidos em intervalos de tempo de 5 minutos.

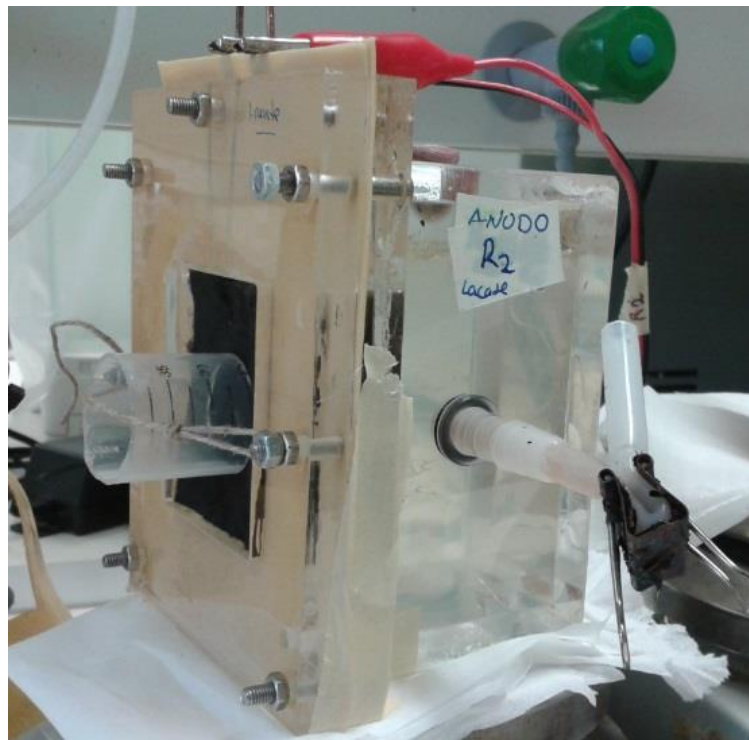


Figura 16 – MFC com uma câmara anódica em anaerobiose e cátodo impregnado com *Ion Jelly* e *Lacase*.

4. Resultados e Discussão

Este trabalho teve como objetivo estudar o comportamento das MFCs à temperatura ambiente, avaliando a sua produção de energia através da degradação de matéria orgânica. A principal vantagem detetada neste processo é efetivamente a facilidade de produção em pequena escala, com experiências laboratoriais de pequena ou longa duração e materiais relativamente económicos. Neste trabalho, foram criadas diversas versões de MFCs e comparadas entre si, no que diz respeito à geração de energia. Criaram-se MFCs com cátodo abiótico, biocátodo, cátodo em contacto com o ar, com recurso a permanganato de potássio, a soro de leite e ainda com uma novidade neste campo, o desenvolvimento de um novo elétrodo com *Ion Jelly*.

4.1 Teste controlo

Primeiramente foram realizados testes de controlo com o intuito do conhecer os efeitos do material usado na construção das MFCs.

A figura 17 representa um gráfico da evolução do teste controlo ao longo do tempo, de acordo com as experiências realizadas nomeadamente quanto ao posicionamento dos eléttodos, utilização de biomassa, presença ou ausência de agitação, descritas em A (Controlo 1 e 2), B (Controlo 3), C (Controlo 4) e D (Controlo 5). A secção A apresenta os resultados obtidos nos primeiros 10 dias, onde se pode verificar que os materiais utilizados, como o fio de cobre com os eléttodos de feltro de carbono, com distância de 10cm entre si e os efluentes sintéticos, não promovem qualquer tipo de produção de energia elétrica.

Os fios de cobre usados no compartimento anódico e catódico e testados antes de serem cravados nos feltros de carbono apresentaram uma ligeira corrosão. A corrosão detetada pela camada com um tom de azul esverdeado era mais evidente no cátodo, como mostra a figura 18. Este facto deve-se ao cobre não reagir com água, mas reagir lentamente com o oxigênio atmosférico. Assim, no caso do fio de cobre do ânodo, como este meio estava em anaerobiose, a corrosão foi quase insignificante (figura 18A).

Ao décimo primeiro dia, figura 17B, adicionou-se biomassa na câmara anódica e esta foi colocada em anaerobiose (borbulhada 30 minutos com N₂) com novos efluentes. Os eléttodos nesta fase mantêm a distância de 10 cm entre si, com objetivo de aumentar a área do biofilme para o dobro no ânodo, sendo que este esteve em agitação. A formação e criação do biofilme sobre o eléttodo teve uma duração média de aproximadamente 10 dias, onde se verificou que a uniformidade não é uma característica significativa na morfologia do biofilme. Analisando o gráfico, do dia 11^o ao 15^o, é possível verificar uma diferença de potencial de 10mV, provavelmente derivado à atividade microbiana em adaptação às condições do meio. Após o dia 15^o até ao 25^o não se detetou nenhuma voltagem.

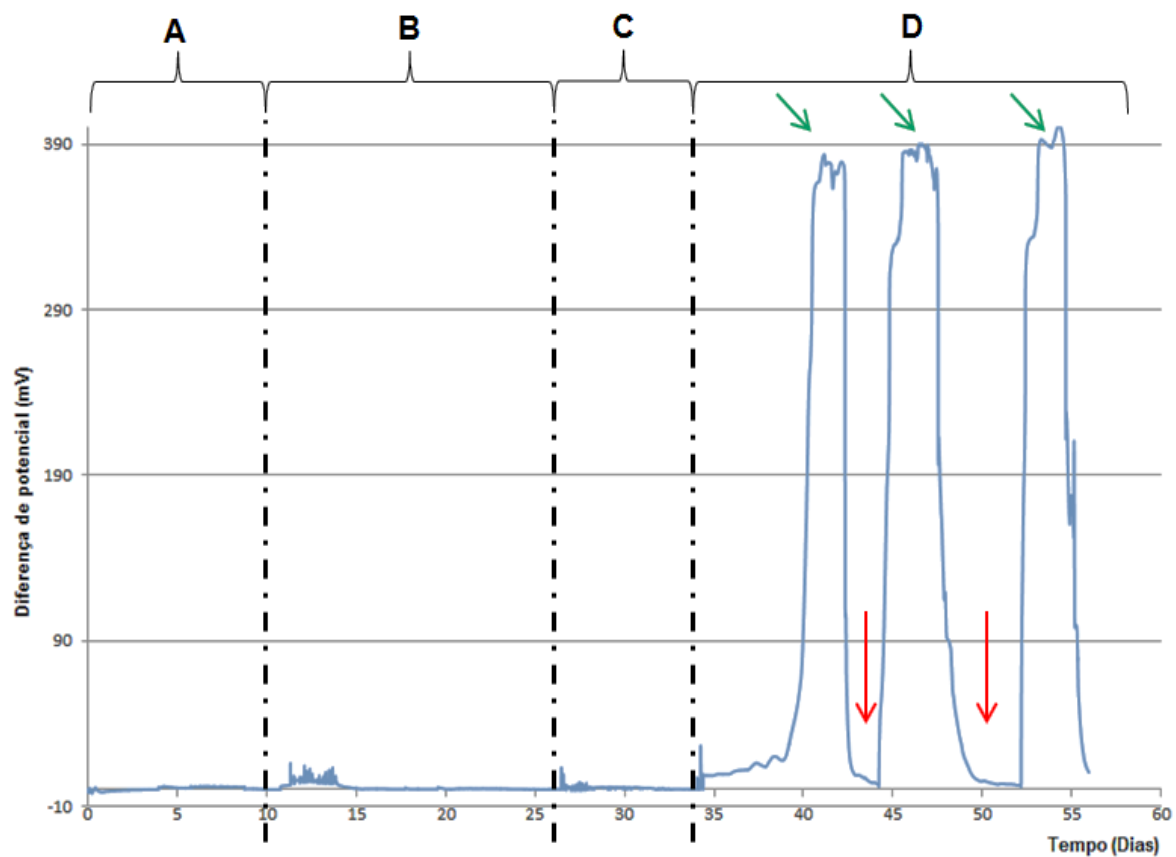


Figura 17 – Comportamento da MFC controle sem agitação da câmara anódica, ao longo do tempo, **A:** Cobre + Efluentes Sintéticos + Filtros de Carbono (distância de 10 cm entre elédrodo catódico e o anódico); **B:** Biomassa + Elédrodos (distância de 10 cm entre si); **C:** Biomassa + Elédrodos (distância de 5 cm entre si); **D:** Biomassa + Elédrodos.

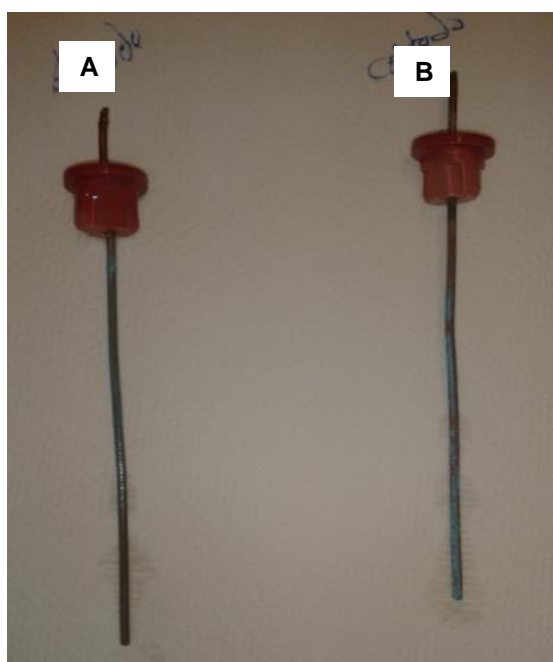


Figura 18 – Fios de cobre usados na primeira fase do teste controle, sendo A pertencente ao ânodo e B ao cátodo.

Como se pode verificar na figura 17C, os ligeiros picos de alterações de voltagem detetados no dia 26º, correspondem à aproximação dos elérodos. Estes são mantidos a uma distância de 5cm entre eles, sempre nas mesmas condições de anaerobiose. Estas alterações detetadas não representam uma modificação substancial e verifica-se de imediato uma estabilização de voltagem.

Ao avaliar o gráfico a partir do dia 34º, figura 17D, verifica-se um aumento instantâneo na diferença de potencial, atingindo valores de tensão de 382mV em 6 dias após a aproximação dos elérodos.

Com esta análise conclui-se que a aproximação dos elérodos, o mais possível, facilita o transporte de eletrões quando não há agitação na câmara anódica e portanto esta deverá ser a metodologia utilizada na construção da MFC. Estes resultados coincidem com os obtidos pelos testes realizados por Logan em 2008, num *design* de MFC idêntico mas com elérodos de carbono ativado.

Os valores apresentados na figura 17D, no início do dia 34º evidenciam os perfis de produção de eletricidade sem a agitação (rpm) do meio anaeróbio do ânodo. As setas a verde e a vermelho mostram o início e o fim de cada ciclo, respetivamente. O início de ciclo começa quando a MFC atinge uma tensão constante e termina quando desce para uma tensão mínima. Quando a MFC atinge valores baixos de tensão o efluente sintético de cada compartimento é renovado, iniciando assim o próximo ciclo.

4.1.1 Efeito da agitação na câmara anódica

Nesta fase foram realizados dois ensaios, um com agitação e outro na ausência de agitação no compartimento anódico. Para assegurar que os resultados fossem o mais fiável e comparável possível, cada teste admitiu 90mL de biomassa.

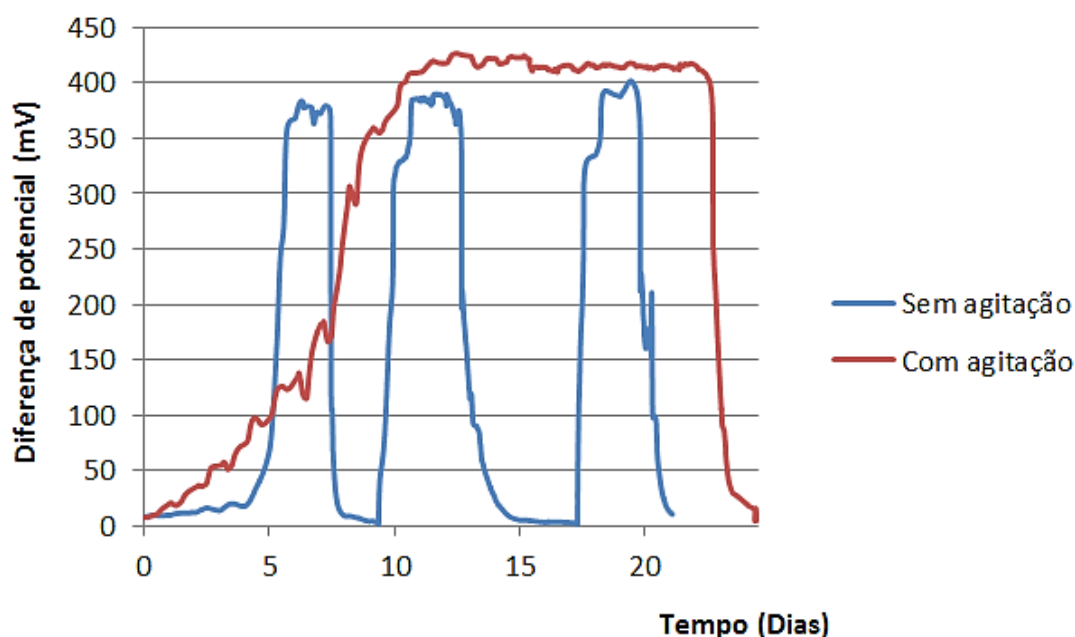


Figura 19 – Comparação das MFCs com e sem agitação do meio aquoso da câmara anódica.

Os valores apresentados na figura 19 mostram os perfis de produção de eletricidade em condições de agitação (a vermelho) e sem agitação (a azul) do compartimento anódico.

Esta experiência iniciou-se pelo estudo sem agitação, que foi executado em 3 ciclos, onde cada um teve uma fase estável de produção de eletricidade, em média, de 3 dias e no qual a diferença de potencial rondou em média os 385mV, com um pico máximo de 402mV.

No teste com recurso a agitação, a velocidade de agitação testada foi de aproximadamente 1000rpm. O ciclo obtido com agitação teve uma fase estável de produção de eletricidade, de aproximadamente 20 dias e a diferença de potencial atingiu os 428mV. A velocidade utilizada é considerada ótima por vários estudos (alguns dos quais referidos na tabela 1), visto que induzem uma maior geração energética, favorecendo o crescimento e desenvolvimento dos agentes microbianos, bem como o encaminhamento de eletrões presentes no meio, para a superfície do elétrodo e, logo, o seu consumo e oxidação no biofilme ocorre com a transferência de eletrões do ânodo pelo circuito externo com geração de eletricidade.

Estes resultados mostram que o fator de agitação distribui melhor a matéria orgânica presente na câmara anódica fazendo-a chegar ao maior número de microrganismos (aumento de biomassa) e gerando eletricidade quase constante durante 15 dias ($\approx 400\text{mV}$). Uma homogeneização eficiente do substrato no efluente sintético faz com que os microrganismos se adaptem e cresçam promovendo a formação mais rápida do biofilme, extremamente decisivo na renovação de matéria orgânica e, logo, maior produção de eletrões pelo sistema de MFCs (Logan, 2008).

O oposto ocorre no ensaio sem agitação, em que no mesmo espaço de tempo o biorreator sem agitação teve de ser realimentado 3 vezes (de 4 / 5 dias) pois houve quebra do fluxo de matéria orgânica ao biofilme e deixou de ocorrer a sua oxidação e geração de eletricidade. A outra hipótese é a matéria orgânica ter sido aparentemente consumida mais rapidamente, por microrganismos depositados no fundo do reator, em processos metabólicos que não conduzem à produção de energia elétrica.

A observação dos dados indica claramente que uma agitação promove uma geração de diferença de potencial e que esta é significativamente superior relativamente à MFC sem agitação, tal como outros estudos verificaram (Logan, 2008). No entanto, a eficiência de tratamento do efluente não foi afetada nos testes sem agitação, a remoção do COD foi quase sempre superior a 87%.

Para melhor compreender a produção energética, é possível relacionar a potência (equação 4) com a área de superfície do elétrodo do ânodo, verificando-se uma DP (equação 6) de 51 e 41 mW/m^2 , para a experiência com e sem agitação, respetivamente. Resumidamente, a agitação apresenta uma eficiência de produção de energia elétrica de 85% (comparando a produção de energia em relação ao tempo dos ciclos) relativamente à ausência e uma DP 19% superior.

Uma distribuição eficiente do substrato faz com que os microrganismos se adaptem e cresçam uniformemente em todo o meio aquoso do ânodo, promovendo igualmente a formação do biofilme, que é extremamente decisivo no que diz respeito à produção de eletrões a fornecer ao sistema da MFC (Logan, 2008).

A membrana de *Nafion* foi também examinada para o teste controlo. Com a análise da figura 20, é possível verificar que a membrana se encontra revestida com biofilme. Este agregado

microbiano da MFC ao longo do tempo continua a crescer, levando a uma ligeira redução da permuta dos cátions H^+ . Este processo ocorre essencialmente devido ao espessamento do biofilme, que acaba por dificultar a permuta iónica.

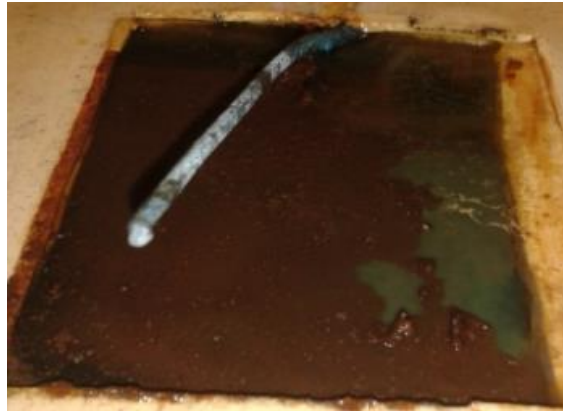


Figura 20 – Membrana de *Nafion* utilizada nos testes controlo, onde a cor acastanha representa o biofilme.

4.1.2 Efeito da resistência externa

Vários artigos referem a necessidade de recurso a uma resistência externa de 1000Ω , por forma a maximizar a DP na MFC (Rahimnejad 2011; Moham, 2007; Logan, 2008; Deng, 2009) Assim realizou-se ainda um teste controlo com estudo de polarização, onde se avaliou o desempenho de diferentes resistências externas (20Ω ; 220Ω ; 560Ω ; 820Ω ; 1000Ω ; 5000Ω) integradas no circuito externo da MFC. Ao adicionar a nova resistência externa aos elétrodos, aguardou-se em todos os testes, 30 minutos (Logan, 2008) por forma a atingir o equilíbrio no sistema interno da MFC e de seguida realizaram-se as medições.

Uma curva de polarização representa a diferença de potencial em função da densidade da corrente e é obtida através da variação da resistência exterior. Quando é utilizada uma resistência exterior variável para obter uma curva de polarização, a corrente e os valores de diferença de potencial devem ser obtidos somente quando as condições de estado pseudo-estacionário tiverem sido atingidas (Logan, 2008) No estado de equilíbrio da MFC, foram determinadas as curvas de polarização, apresentadas na figura 21. Com a MFC na sua eficiência máxima, foi medida a tensão do circuito em aberto (OCV), voltagem máxima que pode ser obtida num sistema de resistência infinita. A MFC no teste controlo atingiu uma OCV de $498mV$. Assim, para a resistência de 5000Ω verificou-se que a voltagem cai para $422mV$, com uma DC de $28mA/m^2$ e DP de $12mW/m^2$. Para a resistência de 1000Ω a voltagem volta a descer para os $374mV$, com uma DC de $125mA/m^2$ e DP de $47mW/m^2$. Com resistência de 820Ω a voltagem reduz novamente, atingindo os $272mV$, com uma DC de $111mA/m^2$ e DP de $30mW/m^2$. Na resistência de 560Ω a voltagem foi de $212mV$, com uma DC de $127mA/m^2$ e DP de $27mW/m^2$. Para resistência de 220Ω a voltagem cai para os $114mV$, com uma DC de $174mA/m^2$ e DP de $20mW/m^2$. E verifica-se que com a resistência de 20Ω a voltagem atinge o valor mais baixo, de $8mV$, com uma DC de $129mA/m^2$ e DP de $1mW/m^2$.

Com este teste controlo, conclui-se então que a DP máxima foi atingida com a resistência externa de 1000Ω (figura 21C) e sendo o objetivo prioritário aumentar a potência máxima de saída numa MFC, esta resistência foi a selecionada para a realização das experiências laboratoriais. Outros estudos coincidem com os resultados obtidos e referem esta resistência ($1K\Omega$) como a ideal na obtenção de potência máxima (Rahimnejad 2011, Logan 2008).

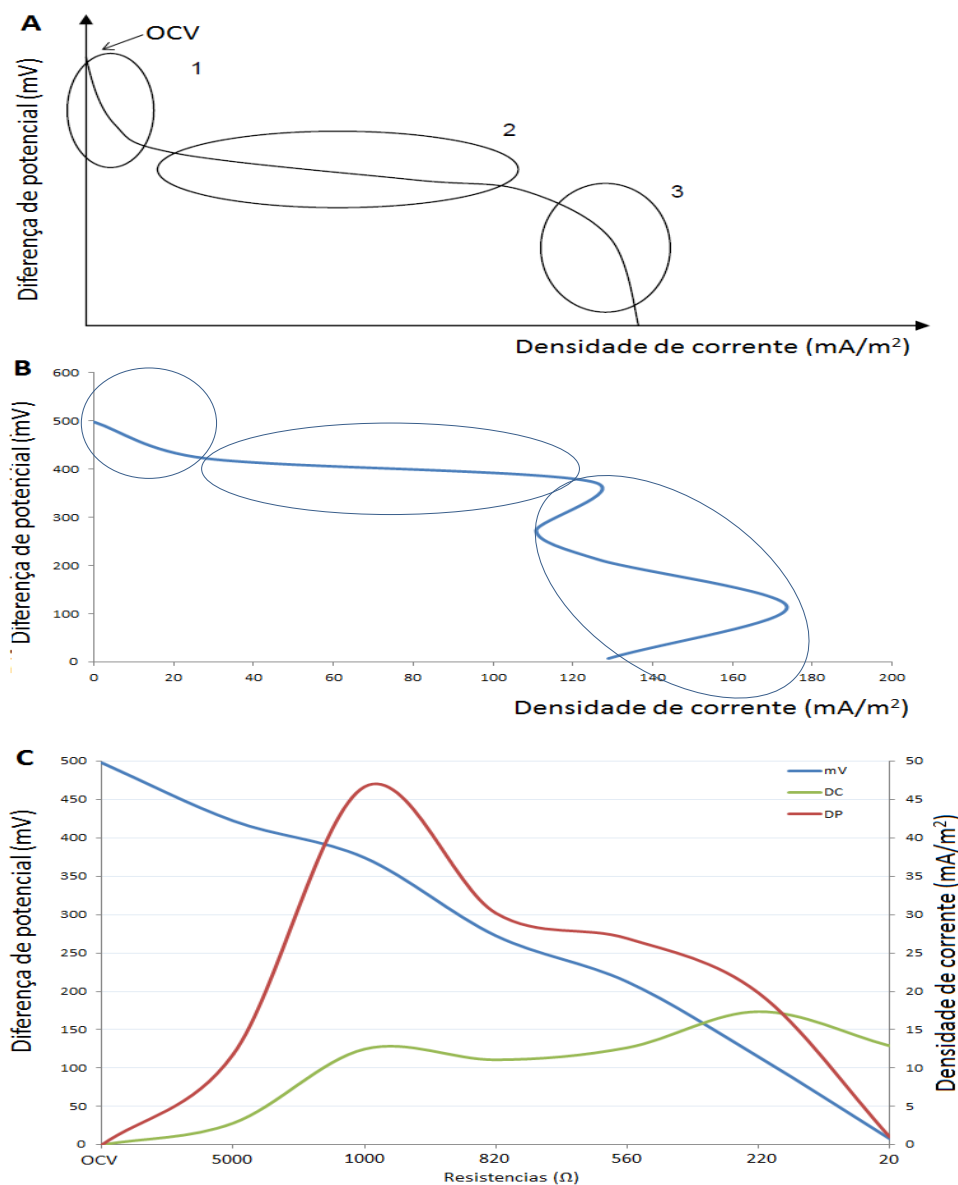


Figura 21 – **A**: Curva de polarização geralmente é dividida em três Zonas: (1) a partir da OCV com corrente zero, há uma diminuição acentuada da tensão inicial: nesta zona as perdas de ativação são dominantes, (2) a tensão cai mais lentamente e a queda de tensão é aproximadamente linear com a corrente: nesta zona as perdas óhmicas são dominantes, (3) existe uma queda rápida da tensão em correntes maiores: nesta zona as perdas concentradas (efeitos de transporte de massa) são dominantes (adaptado de Rabaey, 2005). **B**: gráfico obtido pelos testes realizados em laboratório, verificando a semelhança com a literatura. **C**: Diferença de potencial e densidade de corrente e potência em função da variação das resistências.

4.2 Efeito de uso de Biocátodo versus cátodo abiótico em MFCs

4.2.1 Biocátodo

A MFC com o biocátodo foi operada ao longo de aproximadamente 195 dias, o que correspondeu a um total de 11 ciclos *fed-batch*, figura 22. As setas verdes e vermelhas apresentam respectivamente o início e o fim de cada ciclo. Um novo ciclo inicia sempre que a MFC atinge uma tensão constante e termina assim que desce para uma tensão mínima, este acontecimento ocorre naturalmente devido ao consumo do substrato (fonte de carbono) na MFC. Quando a MFC atingia valores baixos de tensão (setas vermelhas), o efluente sintético de cada compartimento era renovado, iniciando assim o próximo ciclo.

As setas amarelas indicam a injeção de biomassa em ambos os compartimentos. Realizou-se este procedimento sempre que se verificou que a realimentação com efluentes sintéticos por si só, não era suficiente para recuperar a produção de eletricidade pela MFC.

A última seta verde, apresentada na figura 22, representa o último ciclo realizado nesta experiência laboratorial. A tensão máxima neste ciclo foi de 76mV, valor mais baixo do processo, que justifica a importância e necessidade de injeção de biomassa na MFC.

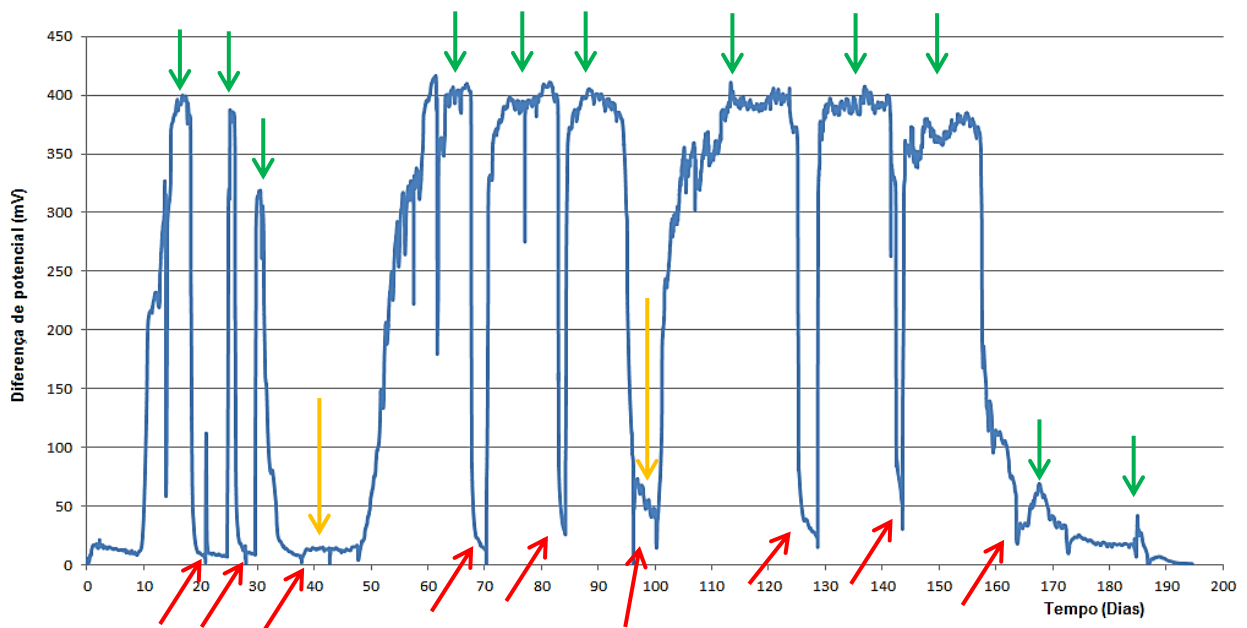


Figura 22 – Relação de tensão e tempo na MFC com biocátodo, onde as setas verdes e vermelhas representam o início e fim de um ciclo e as amarelas a injeção de biomassa.

Na apreciação da figura 22, é possível examinar um excelente desempenho da MFC na produção de bioeletricidade, com uma comunidade microbiana mista. Obteve-se então uma voltagem máxima de 417mV, tendo as densidades de potência atingido máximos de 48mW/m^2 e a densidade de corrente 116mA/m^2 .

Analisou-se o OCV da MFC, onde a voltagem máxima obtida com a resistência infinita foi de 534mV. As fases estáveis de produção de eletricidade corresponderam, em média, a 13 dias, sendo que o maior ciclo atingiu os 25 dias (entre o dia 100 e dia 125).

4.2.2 Cátodo abiótico

No caso da MFC idêntica à anterior mas com um cátodo abiótico, esta foi operada ao longo de aproximadamente 230 dias, correspondendo a um total de 12 ciclos *fed-batch*, apresentada na figura 23. As setas a verde e a vermelho mostram o início e o fim de cada ciclo, respetivamente. Tal como na MFC apresentada anteriormente, um novo ciclo inicia sempre que a MFC atinge uma tensão constante e termina assim que desce para uma tensão mínima, sendo que este acontecimento ocorre naturalmente devido ao consumo de substrato na MFC. Quando a MFC atingia valores baixos de tensão (setas vermelhas), o efluente sintético de cada compartimento era renovado, iniciando assim o próximo ciclo.

As setas amarelas indicam a injeção de biomassa em ambos os compartimentos, procedimento que se verificou necessário sempre que a realimentação com efluentes sintéticos por si só, não foi suficiente.

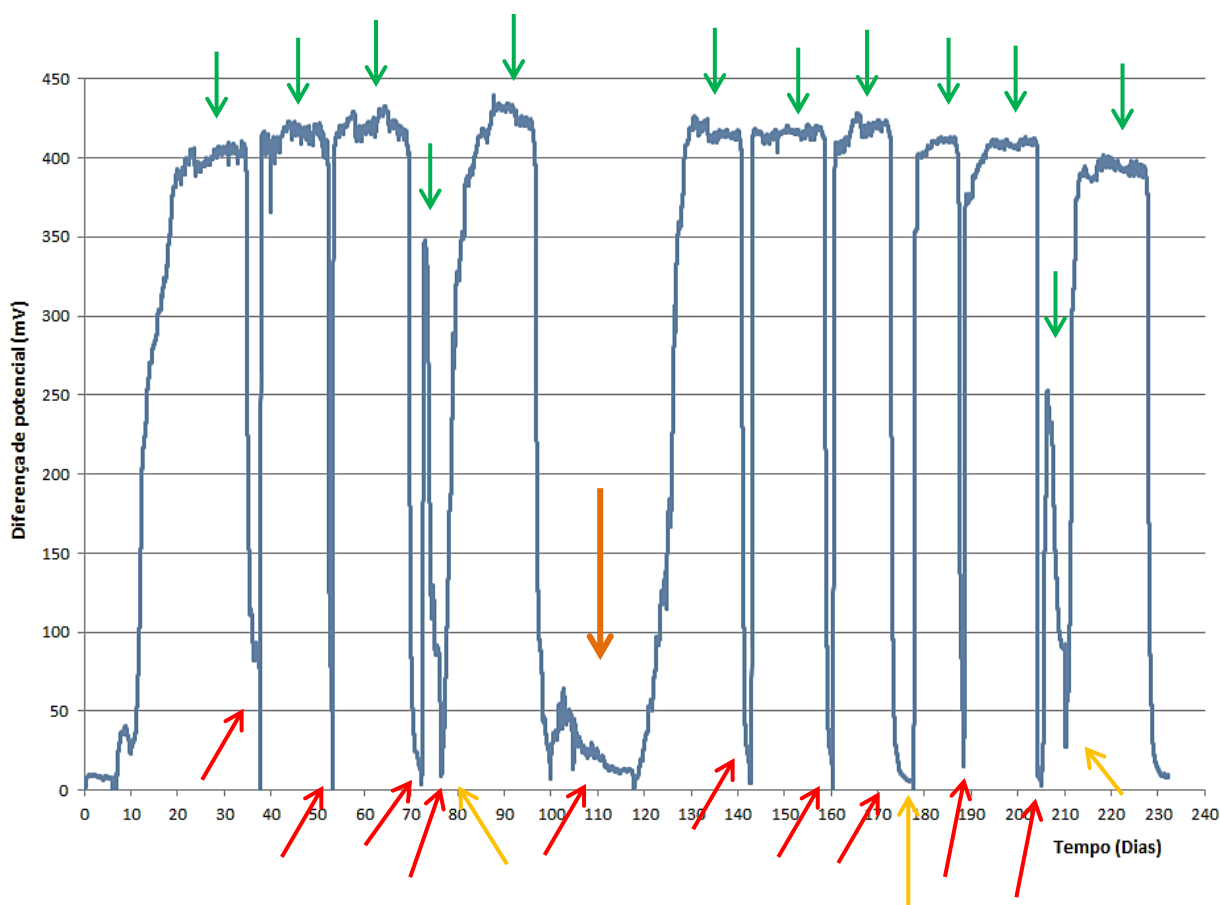


Figura 23 – Relação de tensão e tempo na MFC com cátodo abiótico, onde as setas verdes e vermelhas representam o início e fim de um ciclo e as amarelas a injeção de biomassa.

A seta laranja presente na figura 23 aponta para a ausência de um pico de produção elétrica expectável no cátodo abiótico. Esta situação ocorreu devido a um período de pausa académica no Instituto Superior Técnico (IST), que impossibilitou o acesso ao laboratório experimental. Assim, do dia 100 ao dia 121, não se verificou um pico exponencial de produção elétrica por carência de realimentação com efluentes sintéticos. Este procedimento foi efetuado posteriormente no dia 122 e como se pode verificar na figura 23, os microrganismos mesmo em condições de *stress*, proliferaram apenas com esta realimentação, sem necessidade de adição de novo inóculo de biomassa.

Na análise geral da figura 23, verifica-se um excelente desempenho da MFC na produção de energia elétrica, com uma comunidade microbiana mista. Obteve-se então uma voltagem máxima de 440mV, tendo as densidades de potência atingido máximos de 54mW/m² e a densidade de corrente 122mA/m².

Analisou-se o OCV da MFC, onde a voltagem máxima obtida com a resistência infinita foi de 561mV. Os ciclos tiveram uma estabilidade de produção de bioeletricidade, em média, de 15 dias, sendo que o maior ciclo atingiu os 20 dias (entre o dia 77 e o 97).

4.2.3 Análise do Biocátodo versus cátodo abiótico

A figura 24 apresenta uma sobreposição dos resultados de diferença de potencial, obtidos nos diferentes cátodos analisados (biocátodo e cátodo abiótico), para uma melhor comparação e análise. Numa primeira instância é possível verificar de imediato melhores resultados de produção de energia para o cátodo abiótico (apresentado a azul), com valores superiores de voltagem obtida. Observava-se claramente ainda que o biocátodo (apresentado a vermelho) teve um arranque mais lento, comprovando a necessidade de crescimento do biofilme, em ambos os compartimentos, como fator essencial para a troca iónica de catiões H⁺.

A câmara anódica em condições de anaerobiose exige uma seleção do consórcio microbiano, prevalecendo os microrganismos anaeróbicos restritos e facultativos (Rabaey, 2005; Logan, 2008; Rachinski, 2010). Por sua vez, a câmara do biocátodo esteve em condições de borbulhação, logo o consórcio microbiano selecionado pelo meio foi aeróbicos restritos e alguns anaeróbicos facultativos (Logan, 2008; Sharma,2010). No caso do cátodo abiótico como não existiu biomassa não ocorreu a formação de biofilme sobre o eletrodo, o que tornou a MFC mais rápida na geração de eletrões.

Alguns estudos apontam que o rendimento da MFC nunca consegue atingir efetivamente o seu máximo devido a uma pequena parcela de O₂, presente no compartimento catódico, que consegue atravessar a membrana de *Nafion* e difunde-se no meio eletrolítico anódico (Logan, 2008; Rachinski, 2010; Reddy,2010).

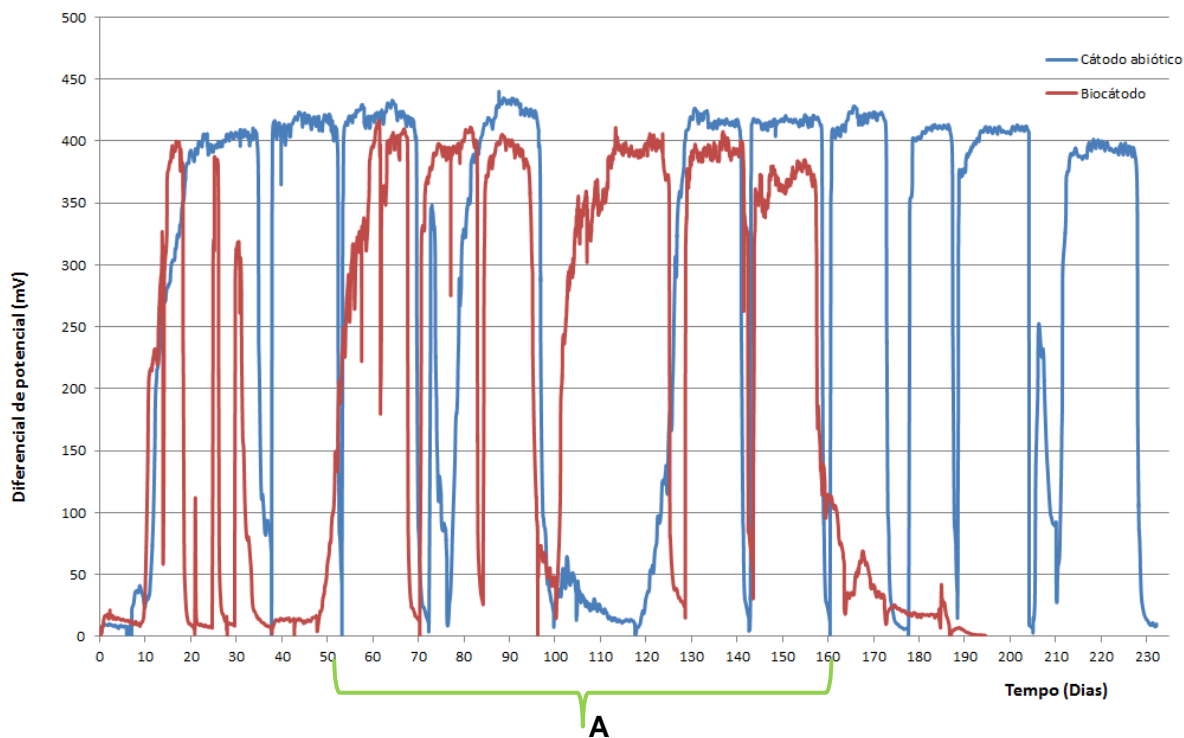


Figura 24 – Relação de tensão e tempo nas duas MFCs criadas, com cátodo abiótico e biocátodo, num ciclo de aproximadamente 200 dias.

Pela análise da figura 24, pode-se apurar que as MFCs em estudo são capazes de gerar energia elétrica durante três ciclos com 90mL de biomassa, sendo apenas necessário o processo de realimentação com efluentes sintéticos. Verificou-se que o primeiro ciclo, logo após a adição de biomassa foi sempre superior em ambas as MFCs.

A zona A identificada na figura 24 aponta os dias onde ocorreu maior produção de energia elétrica, com diferenças de potenciais mais elevadas para ambas as MFCs e ciclos com maior estabilidade e duração de produção de bioeletricidade. Esta ocorrência deve-se ao início do verão em Portugal, altura em que ocorre mudanças de temperatura e assim, a temperatura ambiente do laboratório aumentou. Este incidente permitiu atestar que a temperatura tem influência no comportamento microbiano, tal como é descrito por outros estudos (Logan, 2008).

Verifica-se o gráfico figura 24 que os ciclos em ambos os reatores a partir de determinado tempo começam a produzir uma menor diferença de potencial, isto pode ser derivado a uma formação de biofilme sobre a membrana de *Nafion*, figura 32 em anexo, dificultando a passagem de H^+ para o compartimento catódico.

Com as amostras recolhidas no início e no final de cada ciclo para ambas as MFCs, foi calculada a eficiência de remoção de COD e a eficiência coulômbica (CE%) do sistema. A eficiência de tratamento do efluente para cátodo abiótico foi de 91% e a CE% de 31%, para o biocátodo 93% e 34%, respetivamente. Com estes dados confirma-se que ambas as MFCs tiveram uma eficiência de tratamento do efluente semelhante, porém o biocátodo revelou-se mais eficiente que o cátodo abiótico, tal como é indicado por vários autores (Guodong Zhanga, 2012; Liu-Jing Wei, 2012).

A eficiência de remoção de COD foi superior a 90%, para ambas as MFCs, resultados que se podem considerar como bastante promissores comparativamente a outros estudos. (Guodong Zhanga, 2012; Liu-Jing Wei, 2012; Logan, 2008)

Quanto à eficiência coulômbica, que rondou os 30%, pode-se dizer que foi bastante satisfatória. Outros estudos encontraram valores próximos (Guodong Zhanga, 2012; RACHINSKI, 2010; Peixoto, 2013)

Conclui-se assim, que se por um lado o objetivo da criação da MFC for para a degradação da matéria orgânica por parte do consórcio de microrganismos, o biocátodo é o método de eleição (93% vs. 91%). Por outro lado, se o objetivo da MFC for exclusivamente a produção de energia elétrica (o mais comum), verifica-se que o cátodo abiótico deverá ser a preferência visto que a produção estável de energia ocorre mais cedo (dia 11 vs. dia 52) e a voltagem média produzida é superior (398mV vs. 346mV, considerando a produção de energia como estável, na escala dos 200mV).

4.3 Caracterização eletroquímica do MFC com cátodo abiótico

4.3.1 Voltametria cíclica

A (VC) é uma ferramenta que permite determinar os pontos de funcionamento de um eletrodo ou de uma MFC. Este procedimento baseia-se na variação do potencial do eletrodo, pela aplicação de uma diferença de potencial, tendo como base um eletrodo de referência, que mantém o potencial constante e medindo a corrente resultante (Logan, 2008).

Esta técnica permitiu conhecer o comportamento redox do eletrodo, através da observação do número e da reversibilidade das oxidações e reduções que ocorreram durante cada ciclo (Rachinski, 2010; Peixoto, 2013; Logan, 2008).

Foram realizados duas VCs, o primeiro ensaio (VC1) o ânodo foi usado como o eletrodo de trabalho, o cátodo como contra eletrodo e o eletrodo de prata como o eletrodo de referência (onde estava mergulhado o eletrodo de referência), originando o gráfico 25A. O segundo ensaio (VC2), o contra eletrodo foi substituído pelo eletrodo de platina, mantendo a restante configuração, figura 25B.

Conforme se observa na figura 25, o voltamograma do meio de cultura bacteriana mista exhibe um aumento de potencial com máximo de 800mV, para os diferentes contra eletrodos, e intensidade de corrente de 0,07 A para o contra eletrodo de platina e 0.13 A para o contra eletrodo do cátodo abiótico. Este comportamento verifica-se devido à oxidação espontânea de alguns constituintes minerais do meio de cultura.

As setas verdes indicam os picos de oxidação e as azuis o picos de redução. Os picos de oxidação apresentados correspondem à transferência de elétrons por mecanismos diversificados, responsáveis pela transferência direta e indireta de elétrons para os eletrodos (Logan, 2008; Peixoto, 2013). Com os resultados deste voltamograma é possível comprovar a importância da transferência direta na produção de intensidade de corrente. E por outro lado, a relevância da formação de biofilme na superfície do eletrodo, que aumenta significativamente a intensidade dos picos de oxidação à medida que este cresce. No presente trabalho permitiu reforçar a importância da transferência direta de elétrons e da formação de biofilme eletroativo na superfície do eletrodo.

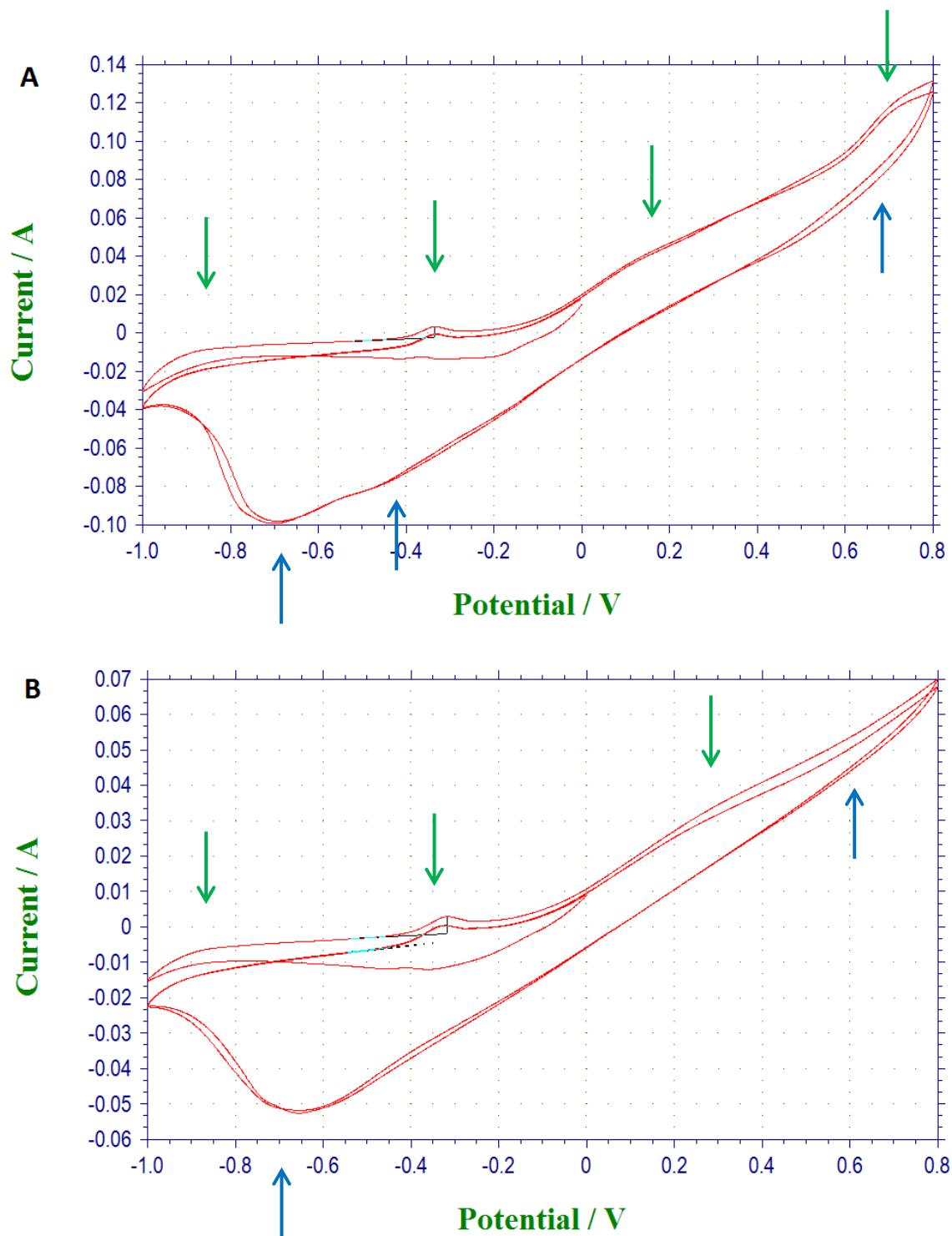


Figura 25 – Voltametria cíclica da MFC com cátodo abiótico, relação de corrente e potencial. **A:** VC1, eletrodo do cátodo abiótico como contra eletrodo; **B:** VC2, Platina como contra eletrodo.

4.4 Cátodo abiótico com permanganato de potássio

Tal como já foi descrito, por forma a melhorar a reação de redução e por conseguinte, o desempenho de MFC com o cátodo abiótico, foi adicionado uma concentração de 0,4mM de permanganato de potássio ao compartimento catódico.

A figura 26 expõem um ciclo de 19 dias para uma MFC com permanganato de potássio, com apenas uma adição de biomassa e efluente sintético. Os resultados apresentados revelam uma melhoria notável na geração de energia elétrica em relação à MFC sem adição do agente oxidante.

Verificou-se um excelente desempenho da MFC na produção de energia elétrica, com uma comunidade microbiana mista, tendo-se obtido uma diferença de potencial máxima de 870mV, voltagem quase 50% superior em relação ao cátodo abiótico sem permanganato de potássio e apresentou uma OCV de 970mV.

A figura 27 apresenta a DP e a DC, em função do aumento da tensão, para a MFC com permanganato de potássio, com valores de 210 mW/m² e 242 mA/m², respetivamente.

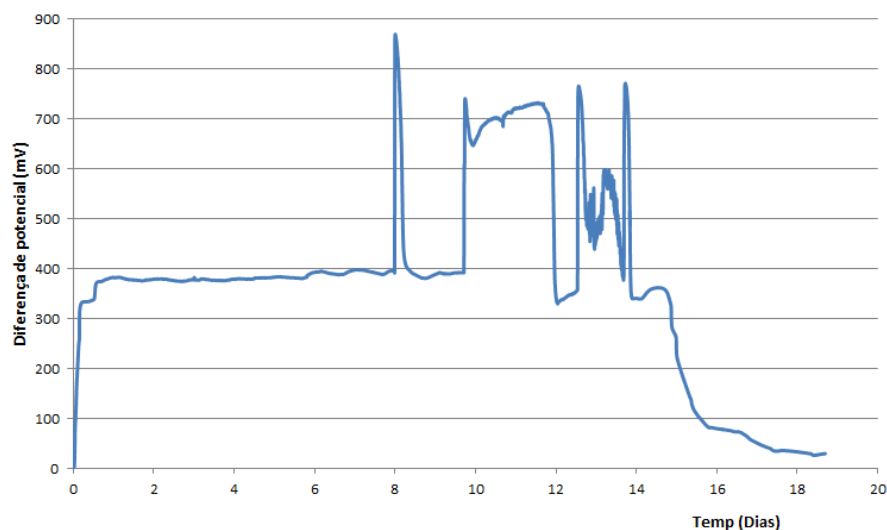


Figura 26 – Relação de tensão e tempo da MFC com cátodo abiótico e permanganato de potássio.

Recorrendo às mesmas condições que o autor *Mostafa Rahimnejad* (2011) verificou-se que neste trabalho experimental, foi possível obter mais 37% de DP (210 mW/m² vs. 133mW/m²) para a MFC com permanganato de potássio, atingindo assim o objetivo de aumentar a potência de saída.

Pode-se concluir que a reação catódica é um dos principais fatores que limita a produção de energia nas MFCs (*Mostafa Rahimnejad*, 2011; Logan 2008) e que apesar do recurso a agentes mediadores encarecer o processo, estes são potenciadores de melhores resultados e por isso a sua utilização deverá ser equacionada.

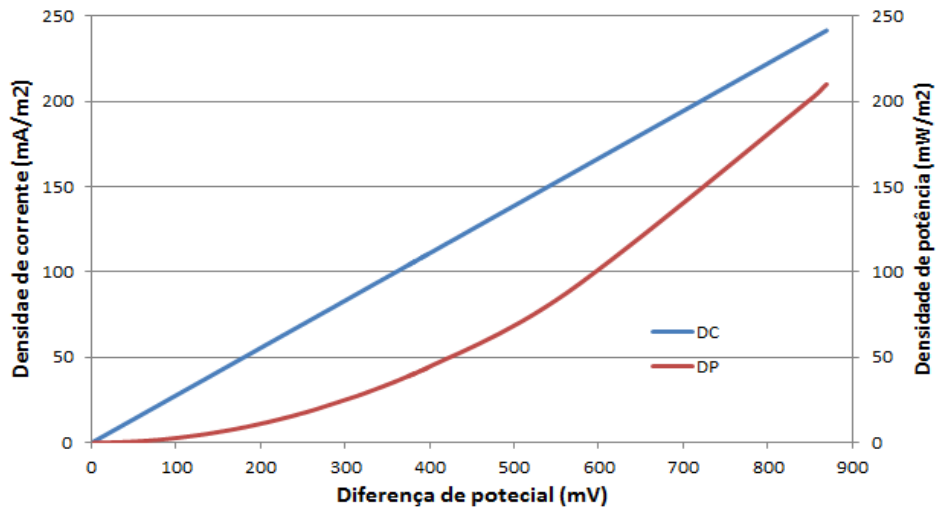


Figura 27 – Curva de polarização: densidade de corrente e densidade de potência em função da diferença de potencial da MFC com permanganato de potássio.

4.5 Ânodo com soro de leite

A MFC com soro de leite no compartimento anódico foi operada durante aproximadamente 22 dias, com apenas uma adição de biomassa e efluente sintético. Os microrganismos foram capazes de utilizar o carboidrato (principalmente lactose) existente no soro para a geração de bioeletricidade.

Na análise da figura 28 verifica-se um débil desempenho da MFC na produção de energia elétrica, com uma comunidade microbiana mista. Obteve uma voltagem máxima de 53mV, onde as densidades de potência atingiram máximos de 1mW/m² e uma densidade de corrente de 14mA/m².

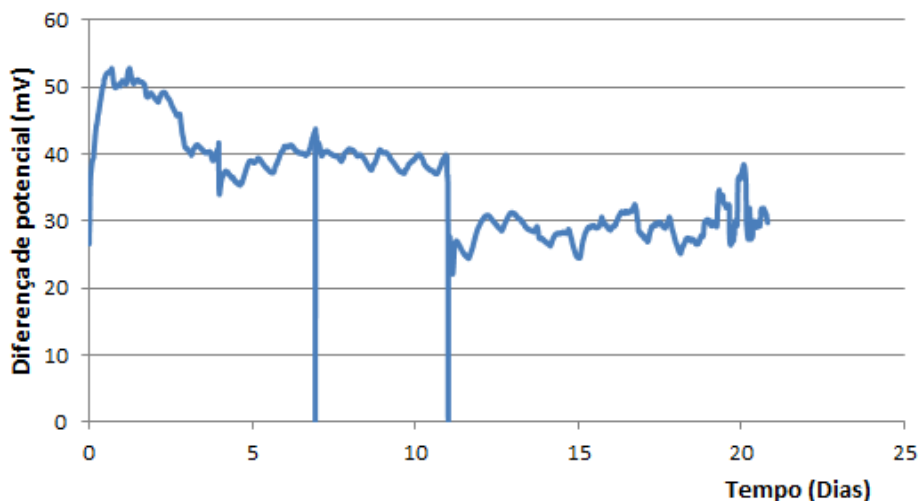


Figura 28 – MFC com soro de leite no ânodo.

Este estudo teve como fundamento trabalhos de outros autores, nomeadamente *Aishwarya DD.*, 2011 e *Nasirahmadi S.*, 2011, aos quais se realizaram algumas alterações. Ambos os estudos

utilizaram uma MFC de *design* idêntico ao que foi criado neste trabalho, um consórcio microbiano igualmente misto e soro de leite, sendo que todo o material a que recorreram para o estudo foi esterilizado.

Nesta experiência laboratorial, apenas o soro de leite foi esterilizado, visto que este passo é dispendioso e um dos objetivos seria obter uma MFC com o menor custo possível. Assim, uma vez que o consórcio microbiano utilizado não foi esterilizado, com o decorrer do tempo o compartimento anódico ficou contaminado, figura 29 e a MFC foi necessariamente autoclavada para eliminar riscos de toxicidade no local experimental. Situação que explica os baixos valores de voltagem máxima obtidos (53mV vs. 360mV para *Aishwarya DD.*, 2011; vs. 400mV para *Nasirahmadi S.*, 2011).



Figura 29 – MFC com soro de leite contaminada por fungos, micróbios patogénicos, esporos, entre outros.

4.6 Cátodo em contato direto com o ar

O objetivo de criar uma MFC com cátodo em contato direto com o ar baseou-se na criação de uma MFC económica e assim sendo, o compartimento catódico foi removido, expondo o elétrodo ao contacto direto com o ar, como mostra a figura 14 do capítulo Material e Métodos.

A. Cátodo com elétrodo de feltro de carbono sem impregnação

A MFC com elétrodo catódico de feltro de carbono em contato direto com o ar, sem impregnação, não obteve resultados positivos de produção de energia isto foi devido ao elétrodo estar completamente seco.

As propriedades físicas e químicas do feltro de carbono dependem do seu carácter hidrofílico e por isso este necessita de um meio aquoso para completar o circuito. Com o elétrodo em contato direto com ar, apesar de ocorrer produção de catiões na câmara anódica, não existe transferência

dos mesmos para o cátodo. Esta experiência nunca foi produzida ou descrita por outros estudos. O objetivo neste trabalho laboratorial foi meramente de controlo.

B. Cátodo com eléctrodo de feltro de carbono impregnado com *Ion Jelly*

Com a avaliação da figura 30, deteta-se um excelente desempenho da MFC com o eléctrodo catódico impregnado com *Ion Jelly*, na produção de bioeletricidade, com um total de 3 ciclos *fed-batch*.

Para esta MFC obteve-se uma voltagem máxima de 375mV, uma DP de 39mW/m² e uma DC de 104mA/m², o OCV foi de 498mV. A fase estável de produção de eletricidade constante correspondeu a um total de 14 dias (entre o dia 7 ao dia 20).

As setas verdes e vermelhas expõem respetivamente o início e o fim de cada ciclo, respetivamente. O início de ciclo começa quando a MFC atinge uma tensão constante e termina quando desce para uma tensão mínima. Tal como nas experiências anteriores, quando a MFC atinge valores baixos de tensão, o efluente sintético de cada compartimento é renovado (setas vermelhas), iniciando-se o próximo ciclo. As setas amarelas indicam a injeção de biomassa no compartimento anódico, que se verificou como necessário, quando a realimentação com efluentes sintéticos não foi o suficiente para a ocorrência de um novo ciclo.

Uma vez que o *Ion Jelly* utilizado se degrada em contacto com a água (Pedro Vidinha, 2008; Rui Carvalho, 2012), para esta experiência foi necessário calcular a água produzida pelo cátodo. Foi possível manter a integridade do feltro de carbono visto que a produção de água foi residual não perturbando ou degradando o filme de *Ion Jelly*.

Esta foi uma experiência inovadora, pois tal como referido anteriormente, este material nunca foi aplicado numa MFC. Os resultados de DP conseguidos não ficam muito distantes dos valores obtidos para o cátodo abiótico e para o biocátodo, sendo necessário considerar ainda que o eléctrodo utilizado na experiência com *Ion Jelly* era de menores dimensões (6cmx5cm MFC *Ion Jelly* vs. 6cmx6cm MC cátodo abiótico e biocátodo).

Este estudo continua em desenvolvimento, sendo que os resultados apresentados representam apenas os dados recolhidos até à data de entrega desta tese.

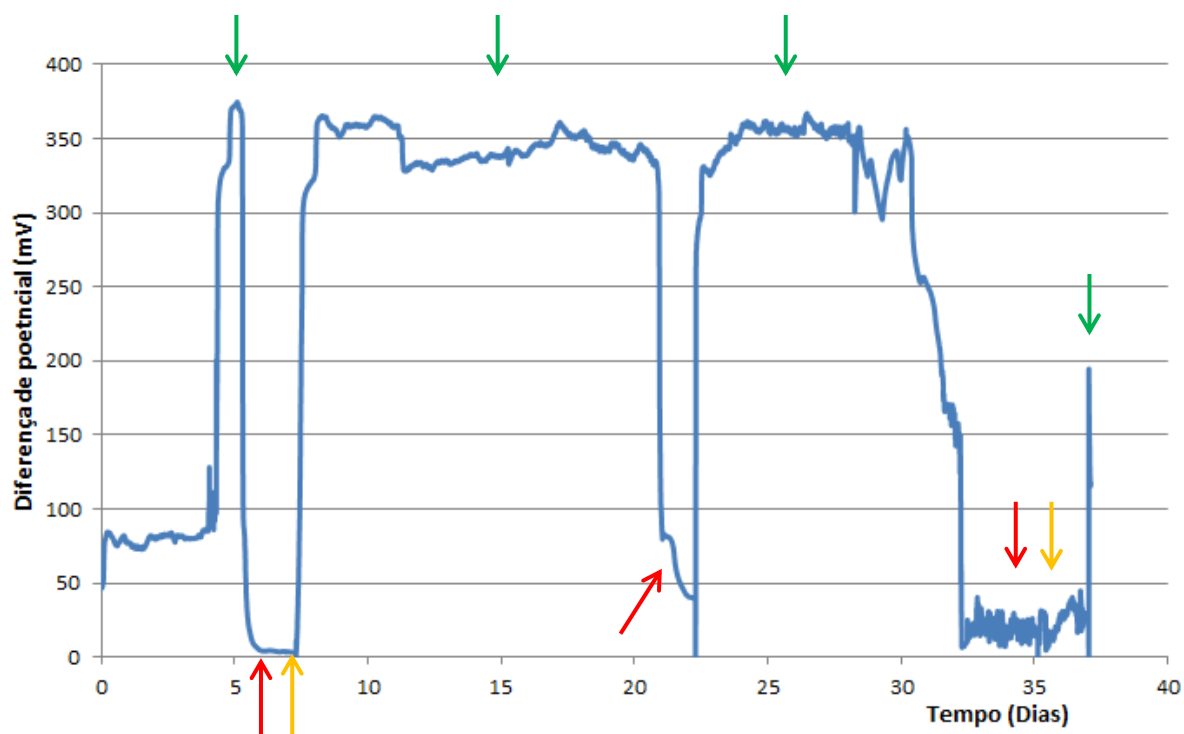


Figura 30 – Relação de tensão e tempo na MFC com cátodo impregnado com *Ion Jelly*, onde as setas verdes e vermelhas representam o início e fim de um ciclo e as amarelas a injeção de biomassa.

C. Cátodo com elétrodo de feltro de carbono impregnado com *Ion Jelly* e *Lacase*

Na figura 31 evidenciam-se os resultados obtidos para uma MFC com *Ion Jelly* e *Lacase* na produção de bioeletricidade. Para esta experiência obteve-se uma voltagem máxima de 168mV, uma DP de 8mW/m² e uma DC de 47mA/m².

A seta verde assinala a voltagem máxima adquirida quando foi colocado o elétrodo na MFC, que quase de imediato caiu drasticamente. Durante o período de 9 dias, aguardou-se pelo aumento de tensão associado a um ciclo, no entanto, este nunca ocorreu e foi então necessário adicionar biomassa à MFC. Seria expectável a ocorrência de valores de tensão muito superiores aos obtidos, uma vez que era suposto a utilização da *Lacase* permitiria oxidar o oxigénio do meio e por isso acelerar a transferência de eletrões na superfície do ânodo.

Os resultados desmotivadores podem derivar de vários fatores, como a reutilização de um elétrodo usado no cátodo abiótico, visto que a impregnação do *Ion Jelly* e *Lacase* foi realizada no elétrodo utilizado na experiência da MFC com o cátodo abiótico. Situação que não ocorreu na experiência anterior da MFC com *Ion Jelly*, à qual se recorreu a um feltro de carbono novo.

Outra variável possivelmente interferente foi a impregnação do *Ion Jelly* e *Lacase* sobre a superfície do elétrodo, que não ficou viscosa como se pretendia e que poderá por isso ter diminuído a adesão à membrana de *Nafion*, dificultando assim, a permuta iónica. Por outro lado, essa situação poderá ter ocorrido, devido ao tempo de maturação do *Ion Jelly* e *Lacase* de 3 dias e descrito na

literatura como necessariamente 4 dias, podendo por isso, ter ido insuficiente. Uma outra variável pode ser a incompatibilidade com a própria lacase.

Este estudo continua em desenvolvimento, sendo que os resultados apresentados representam apenas os dados recolhidos até à data de entrega desta tese.

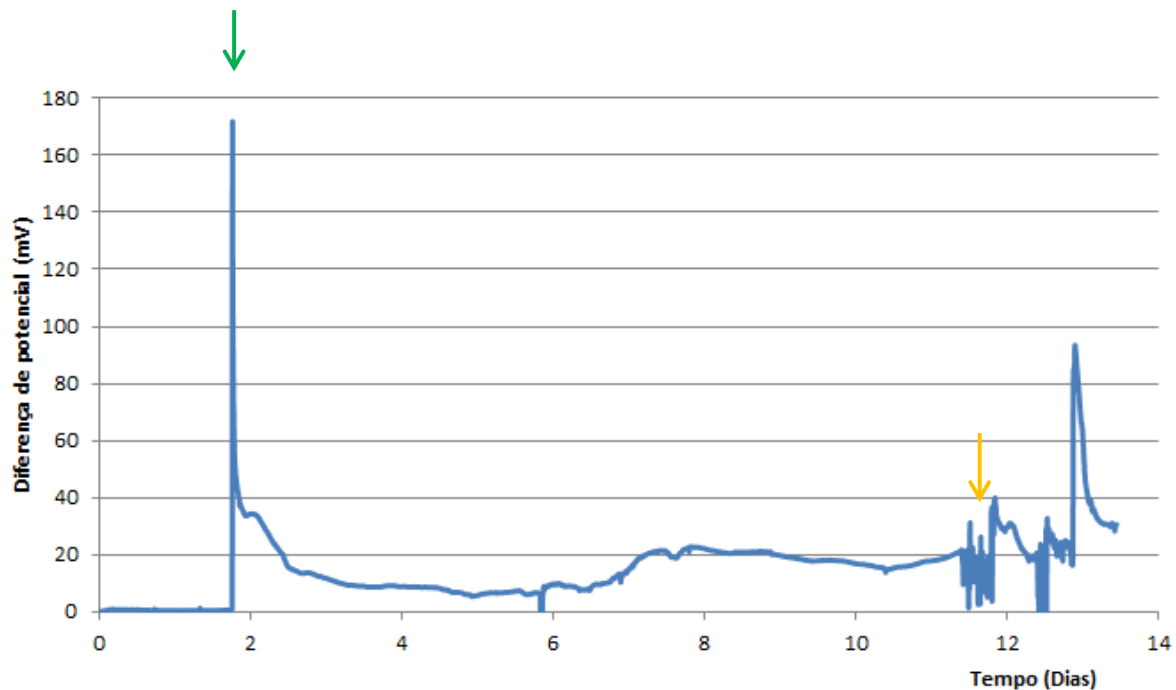


Figura 31 – Relação de tensão e tempo na MFC com cátodo impregnado com *Ion Jelly* e *Lacase*, onde a seta verde representa o início de ciclo e a amarela a injeção de biomassa.

5. Conclusão e trabalho futuro

Uma MFC consiste num biorreator que produz energia elétrica pela oxidação de matéria orgânica, operando em duas secções: uma câmara anódica em anaerobiose e uma câmara catódica em aerobiose, divididas por uma membrana seletiva a cations H^+ . A produção de energia elétrica ocorre de forma simples, os microrganismos geram elétrons e prótons que são captados pelos eletrodos.

O objetivo deste trabalho foi criar diferentes tipos de MFCs, com o menor custo possível, avaliando a sua produção de energia através da degradação de matéria orgânica. Assim, criaram-se MFCs, com feltros de carbono e membrana de *Nafion* e cátodo abiótico; biocátodo; cátodo em contacto com o ar; com recurso a permanganato de potássio, a soro de leite e ainda com uma novidade neste campo, o desenvolvimento de um novo eletrodo com *Ion Jelly* e *Ion Jelly* com *Lacase*.

A câmara anódica continha um consórcio de microrganismos provenientes de uma ETAR, alimentados por efluentes sintéticos.

Realizaram-se testes controlo para avaliar a influência do material utilizado e o efeito do *stress* hidrodinâmico. Nos quais se verificou que a agitação induz maior geração de energia (potência), pela distribuição eficiente do substrato, relativamente à MFC sem agitação. A membrana de *Nafion* foi também examinada num teste controlo, onde se verificou que espessamento do biofilme dificulta a permuta iónica, diminuindo por consequente a potência da MFC.

Foi ainda investigada a resistência externa ideal para as MFCs em estudo, com objetivo de aumentar a potência máxima de saída, tendo-se concluído que resistência de 1000Ω seria a mais indicada, uma vez que atingiu nos testes a DP de potência mais elevada.

Todas as experiências foram realizadas numa MFC com ânodo anaeróbico, por borbulhação com N_2 e com agitação.

Na experiência das MFCs com cátodo abiótico e com biocátodo, verificou-se que estas são capazes de gerar energia elétrica durante três ciclos com 90mL de biomassa, sendo apenas necessário o processo de realimentação com efluentes sintéticos.

Para o cátodo abiótico obteve-se uma DP de $54mW/m^2$ e uma tensão de 440mV e para o biocátodo $48mW/m^2$ e 417mV, respetivamente.

A eficiência de tratamento do efluente no cátodo abiótico e biocátodo apresentou-se dentro dos parâmetros expectáveis e com resultados bastante promissores comparativamente a outros estudos. Ainda que esta MFC tivesse um arranque mais lento, comprovando a necessidade de crescimento do biofilme, obteve COD superior.

A fim de melhorar o desempenho de MFC com cátodo abiótico foi usado como agente oxidante, permanganato de potássio. Para esta MFC obteve-se com uma DP de $210mW/m^2$ e uma tensão de 870mV, voltagem quase 50% superior em relação ao cátodo abiótico sem permanganato de potássio. Concluiu-se então que a reação catódica é um dos principais fatores que limita a produção de energia nas MFCs e que apesar do recurso a agentes mediadores encarecer o processo, estes são potenciadores de melhores resultados e por isso a sua utilização deverá ser equacionada.

Para a MFC com soro de leite, os resultados obtidos não atingiram o expectável, pressupondo-se que relacionado com a ausência de esterilização do material.

Nas duas MFCs de cátodo arejado, uma com o elétrodo impregnado com *Ion Jelly* e a outra com uma mistura de *Ion Jelly* e *Lacase*, obteve-se uma DC de 104mA/m^2 , DP de 39mW/m^2 e tensão de 375mV e para o *Ion Jelly* e *Lacase*, 47mA/m^2 , 8mW/m^2 e 168mV , respetivamente.

Os resultados de DP na MFC com *Ion Jelly* não ficam muito distantes dos valores obtidos para o cátodo abiótico e para o biocátodo, sendo necessário considerar ainda que o elétrodo utilizado nesta experiência era de menores dimensões ($6\text{cm}\times 5\text{cm}$ MFC *Ion Jelly* vs. $6\text{cm}\times 6\text{cm}$ MC cátodo abiótico e biocátodo).

Seria expectável que os resultados de DP, DC e tensão na MFC com *Ion Jelly* e *Lacase* fossem superiores aos obtidos, uma vez que a utilização da *Lacase* permitiria oxidar o oxigénio do meio e por isso acelerar a transferência de eletrões na superfície do ânodo. No entanto possivelmente devido à reciclagem do elétrodo utilizado na experiência ou a uma insuficiente impregnação do *Ion Jelly* com *Lacase*, os resultados obtidos não atingiram as expectativas.

Este estudo possui algumas limitações como a dimensão do cátodo, referida noutros estudos como influenciadora da DP. Estudos demonstraram que recorrendo a um cátodo 14 vezes superior ao ânodo, é possível obter DP superiores (Fan, 2008).

A própria duração do estudo pode ser considerada um fator limitante, como no caso da MFC com *Ion Jelly*, onde se verificaram valores promissores, mas cuja duração não permitiu atingir o seu potencial máximo.

Assim verifica-se que com o uso de material económico foi possível obter resultados satisfatórios em comparação com estudos com outros estudos, tabela 4 e 5 encontradas nos anexos, que utilizaram matérias com características que potenciam as MFCs.

Futuramente seria importante compreender ou detetar qual a estirpe específica predominante nas MFCs criadas nesta experiência laboratorial, por forma a tornar essa variável controlável e contrariar a variabilidade comparativa nos estudos.

São necessários mais estudos nesta área, uma vez que a tecnologia MFC possui vastas potencialidades no que se refere à produção de eletricidade através da degradação de matéria orgânica de efluentes domésticos ou industriais e diversas aplicabilidades em pequena e grande escala.

6. Referências bibliográficas

- Bideau, J., Viaub, L., Vioux, A. (2011), *Ionogels, ionic liquid based hybrid materials*. Chemical Society Reviews, 40:907-925.
- Cooney, M. J.; Svaboda, V.; Lau, C.; Martin, G.; Minteer, S. D. (2008) *Enzyme catalyzed biofuel cell*. Energy & Environmental Science, v. 1, p. 320-337.
- Call, D.F, Merrill, M.D, Logan, B.E. *High Surface Area Stainless Steel Brushes as Cathodes in Microbial Electrolysis Cells*, Environmental Science and Technology, 43:2179–2183, 2009.
- Chang, I.S., Jang, J.K., Gil, G.C., Kim, M., Kim, H.J., Cho, B.W., Kim, B.H. (2004), *Continuous determination of biochemical oxygen demand using microbial fuel cell type biosensor*. Biosensors and Bioelectronics, 19: 607-613.
- Carvalho, R.N.L., Almeida, R.M., Moura, J.J.G., Cordas, C.M., Lourenço, N.M.T., Fonseca, L.P. (2012) *Cytochrome c3 and Hydrogenase immobilization on Ion Jelly® films: building an electronic transfer chain*. Poster session presented at: PROSTAB 2012 – 9th International Conference on Protein Stabilization, May 2-4, Lisbon, Portugal.
- Cordas, C.M., Lourenço, N.M.T., Vidinha, P., Afonso, C.A.M., Barreiros, S., Fonseca, L.P., Cabral, J.M.S. (2009) *New conducting biomaterial based on Ion Jelly® technology for development of a new generation of biosensors*. New Biotechnology, 25:S138-S139.
- Deng, Q., Li, X., Zuo, J., Ling, A., Logan, B., *Power generation using an activated carbon fiber felt cathode in an upflow microbial fuel cell*, Journal of Power Sources, Volume 195, Issue 4, 15 February 2010, Pages 1130–1135.
- Gil, G.C., Chang, I.S., Kim, B.H., Kim, M., Jang, J.K. Park, H.S., Kim, H.J. (2003), *Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell*. Biosensors and Bioelectronics, 18: 327-/334.
- Gupta, G., Sikarwar, B., Vasudevan, V., Boopathi, M., Kumar, O., Singh, B. e Vijayaraghavan, R. (2011) *Microbial fuel cell technology: a review on electricity generation*. Journal of cell and tissue research, 11(1): 2631-2654.
- Heller A. *Electrochemistry in Diabetes management*. Accounts of Chemical Research, 43: 963-973, 2010.
- Kim, J., Cheng, S., Logan, B., Oh, S., *Power generation using different cation, anion, and ultrafiltration membranes in microbial fuel cells*, Environ. Sci. Technol., 41 (3), pp 1004–1009, 2007.

Kim, N., Choi, Y., Jung, S., Kim, S., (2000b) *Effect of initial carbon sources on the performance of microbial fuel cells containing Proteus vulgaris*. *Biotechnology and Bioengineering*, 70: 109–114.

Lourenço, N.M.T., Österreicher, J., Vidinha, P., Barreiros S., Afonso, C.A.M., Cabral, J.M.S., Fonseca, L.P. (2011) *Effect of gelatin–ionic liquid functional polymers on glucose oxidase and horseradish peroxidase kinetics*, *Reactive and Functional Polymers*, 71: 489-495.

Lovley, D. R. (2006) *Bug juice: harvesting electricity with microorganisms*. *Nature Reviews Microbiology*, v. 4, p. 497-508.

Lovley D. R. – *Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches*. *Current Opinion on Biotechnology* 2006, V.17, p. 327 – 332.

Logan, B. E., *Microbial Fuel Cells*. 1st edition. JohnWiley & Sons, Inc. 2008. ISBN 978-0-470-23948-3.

Logan, B.E. (2009) *Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells*. *Nature Reviews Microbiology*, 7:375-381.

Logan, B.E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., Aelterman, P., Verstraete, W., Rabaey, K. (2006) *Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology*, *Environmental Science and Technology*, 40: 5181–5192.

Larminie, J., Dicks, A. (2003). *Fuel Cell Systems Explained, Second Edition*. Wiley, UK.

Liu, H., Ramnarayanan, R., Logan, B.E.(2004a), *Production of Electricity during Wastewater Treatment Using a Single Chamber Microbial Fuel Cell*. *Environmental Science & Technology*, 38: 2281-2285.

Liu, H., Logan, B.E.(2004b), *Electricity Generation Using an Air-Cathode Single Chamber Microbial Fuel Cell in the Presence and Absence of a Proton Exchange Membrane*. *Environmental Science &Technoogy*, 38, 4040-4046.

Liu, H., Cheng, S.A., Logan, B.E. (2005) *Power generation in fed-batch microbial fuel cells as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration*. *Environmental Science and Technology* 39: 5488–5493.

Liu, H., Cheng, S., Huang, L., Logan, B.E. (2008) *Scale up of a singlechamber microbial fuel cell through optimization of the anode to cathode area ratio*. *Journal of Power Sources*, 179:274–279.

Min, B, Cheng, S, Logan, B, *Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells*, *Water Research*, Volume 39, Issue 9, May 2005, Pages 1675–1686.

Mohan, S., Mohanakrishna, G., Reddy, B., Saravanan, R., Sarma, P., Bioelectricity generation from chemical wastewater treatment in mediatorless (anode) microbial fuel cell (MFC) using selectively enriched hydrogen producing mixed culture under acidophilic microenvironment, *Biochemical Engineering Journal* 2008.

Newman, D.K., Kolter, K. (2000), *A role for excreted quinines in extracellular electron transfer*. *Nature*, 405: 94–97.

Peixoto L., Martins G., et al., células de combustível microbianas: um processo inovador para produção de energia e tratamento de águas residuais em sistemas descentralizados. *Zonas costeiras* 2013, Moçambique.

Palmore, G.T.R., Whitesides, G.M. (1994), *Microbial and enzymatic biofuel cells*. Em: Himmel, E. (Ed.), *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*, vol 566. American Chemical Society: 271–290.

Palmore, G.T.R., Bertschy, H., Bergens, S.H., Whitesides, G.M. (1998), *A methanol/dioxygen biofuel cell that uses NAD⁺-dependent dehydrogenases as catalysts: application of an electro-enzymatic method to regenerate nicotinamide adenine dinucleotide at low overpotentials*. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 443: 155–161.

Rachinski, S., Carubelli, A., Mangoni, A. P. e Mangrich A. S. *Pilhas de combustíveis microbianas utilizadas na produção de eletricidade a partir de rejeitos orgânicos: uma perspectiva de futuro*. Vol. 33, No. 8, 1773-1778, 2010.

Rahimnejad M., Ghoreyshi A. A., Najafpour G., Jafary T., *Power generation from organic substrate in batch and continuous flow microbial fuel cell operations*. Biotechnology Research Lab., Faculty of Chemical Engineering, Noshirvani University, Babol, Iran. *Applied Energy* 88 (2011).

Rabaey, K., Boon, N., Siciliano, S.D., Verhaege, M., Verstraete, W. (2004a), *Biofuel Cells Select for Microbial Consortia That Self-Mediate Electron Transfer*. *Applied and Environmental Technology*, 70: 5373-5382.

Rabaey, K., Verstraete, W. (2005), *Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation*. *Trends in Biotechnology*, 23: 291-298.

Reguera, G., Nevin, K.P., Nicoll, J.S., Covalla, S.F., Lovley, D.R. (2006), *Requirement for pili 'nanowires' for optimal current production in Geobacter-powered microbial fuel cells*. Abstracts of the General Meeting of the American Society for Microbiology. Q143.

Reddy L. V., Kumar S. P., Wee Y., *Microbial Fuel Cells (MFCs) - a novel source of energy for new millennium*, 2010.

Reguera, G., Steinberg, L., McCarthy, K.D., Mehta, T., Nicoll, J.S., Tuominen, M.T., Lovley, D.R., *Extracellular electron transfer via microbial nanowires*, 2005, Nature 435, 1098-1101.

Rabaey, K e Verstraete, W. (2005) *Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation*. *Trends in Biotechnology*, 23(6): 291-298.

Reddy, L.V., Kumar, S.P. e Wee, Y-J (2010) *Microbial fuel cells (MFCs) – a novel source of energy for new millennium* in Méndez-Vilas, A. (Ed.) Current Research, Technology and Education Toipcs in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, pag. 956-964.

Strik, D., Timmers, R., Helder, M., Steinbusch, K., Hamelers, H. E Buisman, C. (2011) Microbial solar cells: applying photosynthetic and electrochemically active organisms. *Trends in Biotechnology*, 29(1): 41-49.

Strik, D., Hamelers, H., Snel, J., Buisman, C., Green electricity production with living plants and bacteria in a fuel cell, *International Journal of Energy Research* 2008.

Sharma, V., Kundu, P. P., Biocatalysts in microbial fuel cells. *Enzyme and Microbial Technology* 179–188, 2010.

Tender, L.M., Gray, S.A., Grovemanb, E., Lowy, D.A., Kauffmand, P., Melhado, J., Tyce, R.C., Flynn, D., Petrecca, R., Dobarro, J. (2008) *The first demonstration of a microbial fuel cell as a viable power supply: powering a meteorological buoy*. *Journal of Power Sources*, 179:571– 575.

Wu, X., Zhao, F., Varcoe, J.R., Thumser, A.E., Avignone-Rossa, C., Slade, R.C.T. (2009) *A one-compartment fructose/air biological fuel cell based on direct electron transfer*. *Biosensors and Bioelectronics*, 25: 326–331.

7. Anexos



Figura 32 – Biofilme formado entre o eletrodo do compartimento anódico e a membrana de *Nafion*.

Tabela 4 – Valores obtidos para as diferentes MFCs desenvolvidas no trabalho laboratorial.

MFC	OCV (mV)	Tensão (mV)	DP (mW/m ²)	DC (mA/m ²)	Área (cm ²)
Biocátodo	534	417	48	116	36
Cátodo abiótico	561	440	54	122	36
KMnO ₄	970	870	210	242	36
<i>Ion Jelly</i>	498	375	39	104	30
<i>Ion Jelly e Lacase</i>	-	168	8	47	30
Soro de leite	-	53	1	14	36

Tabela 5 – Valores de tensão e DP e áreas de diversos estudos.

Autor	<i>Kim</i>	<i>Moham</i>	<i>Min</i>	<i>Deng</i>	<i>Ren</i>	<i>Strik</i>
Tensão (mV)	298	304	293	660	470	253
DP (mW/m ²)	38	129	40	315	153	67
Área (cm ²)	11	25	11	437	16	16