

Jhony Tiago Teleken

**MODELAGEM MATEMÁTICA DA GERAÇÃO DE CORRENTE
ELÉTRICA EM UMA CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIANA
INOCULADA COM MICRO-ORGANISMOS MARINHOS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi.

Coorientadores: Prof. Dr. Fabrício Butierres Santana e Prof^a. Dr^a. Christiane Saraiva Ogrodowski.

Florianópolis
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Teleken, Jhony Tiago

Modelagem matemática da geração de corrente elétrica em
uma célula combustível microbiana inoculada com micro-
organismos marinhos / Jhony Tiago Teleken ; orientador,
Bruno Augusto Mattar Carciofi - Florianópolis, SC, 2013.
105 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia de Alimentos.

Inclui referências

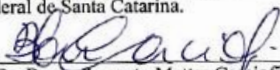
1. Engenharia de Alimentos. 2. célula combustível
microbiana. 3. cinética de geração de corrente elétrica. 4.
sedimento marinho. I. Carciofi, Bruno Augusto Mattar. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-
Graduação em Engenharia de Alimentos. III. Título.

**“MODELAGEM MATEMÁTICA DA GERAÇÃO
DE CORRENTE ELÉTRICA EM UMA CÉLULA
COMBUSTÍVEL MICROBIANA INOCULADA
COM MICRO-ORGANISMOS MARINHOS.”**

Por

Jhony Tiago Teleken

Dissertação julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Alimentos**, área de Concentração de **Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos**, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.



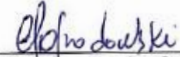
Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi

Orientador




Prof. Dr. Fabrício Butieres Santana

Coorientador



Prof. Dr. Christiane Saraiva Ogradowski

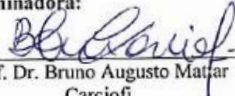
Coorientadora




Prof. Dr. João Borges Laurindo

Cordenador

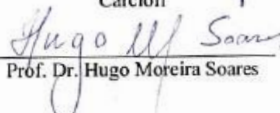
Banca Examinadora:



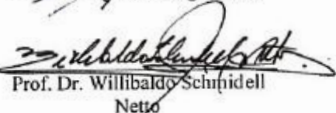
Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar
Carciofi



Prof. Dr. Agenor Furigo Junior



Prof. Dr. Hugo Moreira Soares



Prof. Dr. Willibaldo Schmidell
Netto

Florianópolis, 27 de março de 2013.

Em especial a minha Família.

AGRADECIMENTOS

À Deus por tudo.

Ao Prof. Dr. Bruno, meus mais sinceros agradecimentos. Você é um exemplo de profissional e uma pessoa incrível. Obrigado pelos conhecimentos transmitidos sempre com muita paciência e pelas oportunidades que você tem me oferecido. A sua amizade eu levarei por toda minha vida.

Aos meus coorientadores Prof. Dr. Fabrício e Prof^a. Dr^a. Christiane, pela oportunidade, apoio e ideias que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho. Mas obrigado especialmente por todo o esforço investido para que a minha participação no projeto de pesquisa se tornasse uma realidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, pelo apoio ao longo destes dois últimos anos, sobretudo aos professores que fazem parte do corpo docente e que de certo modo contribuíram para minha formação profissional.

Ao Laboratório de Propriedades Físicas de Alimentos (PROFI), que ofereceu totais condições e suporte para realização deste trabalho.

A Escola de Química e Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande, especialmente ao Laboratório de Controle Ambiental (LCA) pelo suporte no desenvolvimento experimental desta pesquisa.

À Companhia Estadual de Geração e Transmissão de Energia Elétrica (CEE-GT), pelo fomento deste trabalho e concessão de bolsa de estudos.

À CAPES-Brasil, pela concessão de bolsa de estudos.

Aos professores Agenor Furigo Junior, Hugo Moreira Soares e Willibaldo Schmidell Netto por terem aceitado avaliar este trabalho.

À todos os amigos do Laboratório PROFI que estiveram ao meu lado ao longo desta caminhada, sobretudo o Daniel, o Juca, o Leno, a Jaque, a Barbara e o Gustavo. Vocês tornavam o laboratório um local de trabalho agradável, harmonioso e muito divertido.

À todos os colegas do Laboratório LCA, por onde passei um curto período de tempo e fui muito bem recebido.

À Juliana de Sá pelo suporte neste trabalho.

Ao meu amigo e mestre Prof. Weber, um dos grandes responsáveis pela minha paixão à pesquisa.

Aos meus pais, Jorge e Deonici, muito obrigado pelo amor, carinho e apoio, sempre incondicional, ao longo de toda minha vida. Vocês são os verdadeiros merecedores desta vitória.

Aos meus irmãos, Junior e Joel, os meus melhores amigos.
Ao amor da minha vida, Cícera.

RESUMO

Células combustíveis microbianas (CCM) são dispositivos eletroquímicos que exploram a habilidade de algumas espécies de micro-organismos utilizarem eletrodos como aceptores finais de elétrons em seu metabolismo. A CCM opera de modo semelhante a uma célula combustível química, na qual a eletricidade é proveniente de uma reação de oxirredução, entretanto, no sistema biológico a reação é catalisada por micro-organismos. O interesse nesta tecnologia está associado à possibilidade de empregar diferentes compostos, inclusive efluentes domésticos e industriais, na geração de energia elétrica. Embora a CCM seja considerada uma tecnologia promissora a sua aplicação ainda é inviável devido às baixas densidades de correntes elétricas obtidas. Neste contexto, a modelagem matemática pode auxiliar na investigação e compreensão dos fenômenos envolvidos e consequentemente contribuir para o aprimoramento destes sistemas. Assim o objetivo deste trabalho foi modelar a cinética de geração de corrente elétrica de uma célula combustível microbiana inoculada com micro-organismos marinhos. Para tal fim foi empregado um modelo matemático composto por um sistema de equações diferenciais, no qual o metabolismo microbiano foi descrito pela relação de Nerns-Monod e o mecanismo de transferência de elétrons extracelular (TEE) de acordo com a Lei de Ohm. Os dados experimentais foram obtidos em uma CCM de dois compartimentos, um ânodo e um cátodo, separados por uma membrana catiônica. O ânodo foi inoculado com sedimento de origem marinha em condições de anaerobiose e alimentado com acetato, enquanto que, o cátodo foi alimentado com ferrocianeto de potássio. Em ambos os compartimentos foram empregadas placas de grafite como eletrodos, as quais estavam conectadas externamente por uma resistência elétrica. Durante a operação do sistema, o compartimento do ânodo foi operado alternadamente pelos regimes de batelada sequencial e contínuo. Os resultados ilustram que em menos de quatro dias de operação a geração de corrente elétrica já havia atingido um valor estável, comprovando a capacidade exoeletrogênica das comunidades de micro-organismos presentes no sedimento marinho. Observou-se que estes micro-organismos desenvolviam-se preferencialmente aderidos a superfície dos eletrodos na forma de um biofilme e que utilizavam um mecanismo direto de transferência eletrônica extracelular (nanofios ou citocromos) para estabelecer o contato elétrico com o eletrodo. De maneira geral a modelagem matemática da cinética de geração de corrente elétrica foi possível, sendo que o modelo apresentou a capacidade de descrever os

resultados, de corrente em função do potencial elétrico, obtidos nas análises de voltametria cíclica nos diferentes dias de operação do reator. O modelo forneceu valores de parâmetros com significado físico e biológico o que possibilitou investigar o papel da condutividade do biofilme na geração da corrente elétrica e também o efeito das condições operacionais sobre a geração de corrente. As simulações das curvas de polarização foram pouco exatas, contudo, constatou-se que os resultados apresentavam o mesmo comportamento e ordem de grandeza dos dados experimentais. A incorporação de novas resistências elétricas no modelo pode contribuir para a melhora nas predições e este é um desafio ainda a ser vencido.

Palavras-chave: célula combustível microbiana, sedimento marinho, cinética de geração de corrente elétrica.

ABSTRACT

Microbial fuel cells (MFC) are electrochemical devices that exploit the ability of some microorganisms using an electrode which serves as the sole electron acceptor. The MFC is like an electrochemical cell, which is a dispositive that uses a redox reaction to produce electricity. However, bioelectrochemical systems are devices that use bacteria as the catalysts to redox reaction. MFC are an important form to produce bioenergy because they offer the possibility of extracting electrical current from a wide range of complex organic wastes. Although MFC show to be promising as a strategy for converting waste organic matter into electricity, their low power outputs have limited practical applications. In this context, mathematical modeling can assist the investigation and understanding of the phenomena involved and, consequently, contributes to the improvement of the system. The aim of this study was to describe the kinetics of generation of electrical current in a microbial fuel cell (MFC) by a mathematical model. The model is composed by a system of differential equations. The bacterial metabolism was described by Nernst-Monod relationship and the extracellular electrons transfer (EET) was modeled according to Ohm's law. Experimental data were obtained in a dual-chamber MFC, in which the anode and the cathode compartments were separated by a membrane. The anode chamber was inoculated with marine sediment under anaerobic conditions, and it was fed with acetate, while the cathode chamber was fed with ferrocyanide. Graphite electrodes were utilized in each chamber, which were connected by external electrical resistance. The anode chamber was alternately operated by two operational regimes: sequential batch and continuous. The results showed that the stable electrical current was reached in less than four days, proving the exoelectrogenic ability of the microorganisms presents in the marine sediment. It was observed that the exoelectrogenic microorganisms grew attached to the electrode as a biofilm and they use a direct EET mechanism (nanowires or cytochromes) to establish electrical contact with the electrode. Overall, the mathematical model was able to describe the data of kinetics of generation of electrical current. The model was fitted to the data of electrical current versus electrical potential of voltammetry cyclic analyses. The physical and biological model parameters allowed the investigation of the role of the biofilm conductivity on generation of electric current and the effect of operational regimes on generation of electric current. The simulations for polarization curves had low accuracy however their results showed a

similar trend that was seen for the experimental data. Incorporating further consideration of resistance electric in the model could help to improve the exactness of the model prediction and this is a challenge to be overcome.

Keywords: microbial fuel cell, marine sediment, kinetics of generation of electrical current.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Evolução do consumo mundial de combustíveis primários. Os resultados ilustrados são normalizados em relação a milhões de toneladas de petróleo. Fonte: <i>STATISTICAL REVIEW OF WORLD ENERGY BP</i> , 2012.....	28
Figura 2.1 - Representação esquemática de um processo de obtenção de energia através do consumo de matéria orgânica. Fonte Marzzoco e Torres, 2007.	32
Figura 2.2 - Representação esquemática do mecanismo direto de transferência de elétrons (a) via citocromos associados à superfície externa da membrana celular e (b) através da condução por meio de nanofios. Fonte: Rinaldi et al., 2008.	35
Figura 2.3 - Representação esquemática do mecanismo de transferência de elétrons através do emprego de mediadores químicos. Fonte: Rinaldi et al., 2008.....	37
Figura 2.4 - Representação esquemática da estrutura e princípio de funcionamento de uma CCM de dois compartimentos. Fonte: Rabaey e Verstraete, 2005.	39
Figura 2.5 - Sobrepotenciais elétricos durante a transferência de elétrons em uma CCM. (1) Potencial elétrico do DE (<i>EDE</i>). (2) ddp necessária para que transferência eletrônica ocorra relacionando: (i) à reação biológica; (ii) ao mecanismo de TEE e (iii) à reação de transferência eletrônica entre o TEE e o eletrodo. (3) Potencial elétrico observado no ânodo. 4. Resistência elétrica externa e resistência ao fluxo iônico. 5. Potencial observado no cátodo: (iv) ddp necessária para que a reação de transferência de elétrons entre o eletrodo-AE ocorra. 6. Potencial elétrico do AE (<i>EAE</i>). Fonte: Rabaey e Verstraete, 2005.....	45
Figura 2.6 - Representação esquemática das principais origens de sobrepotencial do compartimento anódico. <i>EDE</i> é o potencial elétrico do DE; <i>EM</i> é o potencial elétrico das proteínas presentes na membrana celular (AE insolúvel); <i>Einterface</i> é o potencial elétrico na interface do eletrodo. Fonte: Torres et al., 2010.	53
Figura 3.1 - Representação esquemática da CCM experimental.....	60
Figura 3.2 - Regime operacional da CCM ao longo dos duzentos e oitenta dias de operação. Legenda: ● <i>Start up</i> , ■ Contínuo, ■ Batelada sequencial 5 g L ⁻¹ de DQO, □ Batelada sequencial 10 g L ⁻¹ de DQO...	61
Figura 3.3 - Representação esquemática do compartimento anódico para o modelo de Marcus, Torres e Rittmann (2007).....	65

Figura 3.4 - Representação esquemática do domínio matemático sobre o biofilme discretizado para a solução numérica do modelo.	69
Figura 3.5 - Fluxograma do Método de Newton para sistemas não lineares utilizado para a resolução numérica do modelo. Sendo $l=J$ o número total de pontos utilizados para descrever o modelo na forma discreta e K o número total de interações do método.....	71
Figura 3.6 - Fluxograma do procedimento para estimativa dos parâmetros (EKA e C) do modelo com TEE (Equações (3.3) e (3.9), (3.10), (3.11) e (3.12)).	74
Figura 4.1 - Resultados operacionais da CCM: (a) Evolução temporal da densidade da corrente elétrica (linha contínua) e da concentração de sólidos suspensos totais (●) e indicação do processo em regime contínuo (linhas pontilhadas); (b) Densidade da corrente elétrica gerada pela CCM nos primeiros 16 dias de operação; (c) Densidade da corrente elétrica gerada próximas ao primeiro processo de operação em regime contínuo.	77
Figura 4.2 - Análises de voltametria cíclica para o efluente do processo em regime contínuo realizadas em: (a) velocidades de escaneamento de 0,2, 1, 5 e 10 $mV s^{-1}$; e (b) na velocidade de 1 $mV s^{-1}$ após 0, 6, 12 e 18 horas de início do processo.	80
Figura 4.3 - Efeito da velocidade de escaneamento na resposta das análises de VC realizadas na CCM.	81
Figura 4.4 - Análise de voltametria cíclica realizada na CCM com a velocidade de escaneamento de 0,2 $mV s^{-1}$ destacando as regiões com geração de corrente elétrica catódica e anódica.	83
Figura 4.5 - Ajuste da equação de Nernst-Monod (j_{cal} , Equação 3.4) aos dados experimentais (j_{exp}).	84
Figura 4.6 - Simulação da influência do parâmetro C (resistência do mecanismo de TEE) no comportamento j vs E_{anodo} da CCM. Dados paramétricos utilizados na simulação: $j_{max} = 0,8 A m^{-2}$ e $EKA = -0,465 V$	85
Figura 4.7 - Voltametrias cíclicas da CCM realizadas na velocidade de escaneamento de 0,2 $mV s^{-1}$. Pontos representam os dados experimentais e as linhas contínuas representam o modelo matemático ajustado (Sistema de Equações (3.10), (3.11), (3.12) e (3.13)). (a) VC realizado no 161º dia, 10 dias após CON3; (b) VC realizado no 182º dia, 12 dias após CON4; (c) VC realizado no 195º dia, 4 dias após CON5; (d) VC realizado no 206º dia, 15 dias após a CON5; (e) VC realizando no 220º dia, 12 dias após CON6; (f) VC realizado no 226º dia, 18 dias	

após CON6; (g) VC realizado no 256º dia, 10 dias após CON7; (h) VC realizado no 275º dia, 7 dias após a CON8.	86
Figura 4.8 - Valores de EKA obtidos pelo ajuste do sistema de Equações (3.10), (3.11), (3.12) e (3.13) aos dados experimentais de VC para cada ciclo (três ciclos por análise) em oito momentos entre o 161º e o 275º dia de operação da CCM.	88
Figura 4.9 - Valores do parâmetro C estimados pelo ajuste do sistema de Equações (3.10), (3.11), (3.12) e (3.13) aos dados experimentais de VC para cada ciclo (três ciclos por análise) em oito momentos entre o 161º e o 275º dia de operação da CCM.	89
Figura 4.10 - Resistência ôhmica da CCM para os circuitos 1 (●) e 2 (■) obtidas pelo ajuste da Equação 3.2 aos dados experimentais das curvas de polarização.....	89
Figura 4.11 - Relação entre os parâmetros $kbio$ e Lf obtida pelo ajuste do modelo matemático aos dados experimentais da CCM (linha contínua) comparado aos valores destes parâmetros disponíveis na literatura (linhas pontilhadas). A região hachurada compreende o intervalo de valores de cada parâmetro.	90
Figura 4.12 - Simulação das curvas de polarização em diferentes dias de operação do reator: (a) dia 154, 4 dias após CON3 (b) dia 167, 17 dias após a CON3; (c) dia 177, 6 dias após a CON4; (d) dia 188, 17 dias após a CON4; (e) dia 196, 4 dias após a CON5; (f) dia 209, 17 dias após a CON5.	93
Figura 4.13 - Simulação das curvas de polarização em diferentes dias de operação do reator: (g) dia 216, 3 dias após a CON6; (h) dia 230, 17 dias após a CON6; (i) dia 244, 31 dias após a CON6; (j) dia 252, 5 dias após a CON7; (k) dia 265, 18 dias após a CON7; (l) dia 272, 3 dias após a CON8.	94
Figura 4.14 - Simulação da influência dos parâmetros $EKAe$ $jmax$ no comportamento das previsões de j vs $Eanodo$ da curva de polarização da CCM.	95

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abreviatura/ sigla	Descrição
AE	Aceptor de elétrons
CCM	Célula combustível microbiana
CEM	Célula de eletrólise microbiana
CE	Contra eletrodo
CON	Regime de operação contínuo
ddp	Diferença de potencial elétrico
DE	Doador de elétrons
EPH	Eletrodo padrão de hidrogênio
ER	Eletrodo de referência
ET	Eletrodo de trabalho
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
MDF	Método das diferenças finitas
SBR	Regime de operação em batelada sequencial
SST	Sólidos suspensos totais
VC	Voltametria cíclica

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Descrição	Unidade
AR_{anodo}	Área superficial do ânodo	$[m^2]$
AR_T	Área da seção transversal perpendicular ao fluxo iônico	$[m^2]$
C	Parâmetros definido como k_{bio}/L_f	$[S m^{-2}]$
D_M	Coefficiente de difusão do mediador	$[m^2 s^{-1}]$
E_{AE}^0	Potencial padrão do AE no ânodo	$[V]$
E_{anodo}	Potencial elétrico do ânodo	$[V]$
E_{bio}	Diferença de potencial elétrico entre o DE e o AE no metabolismo microbiano	$[V]$
$E_{biofilme}$	Potencial elétrico do biofilme	$[V]$
E_{catodo}	Potencial elétrico do cátodo	$[V]$
E_{emf}	Diferença de potencial elétrico teórico entre o ânodo e o cátodo	$[V]$
E_{emf}^0	Diferença de potencial elétrico entre o ânodo e o cátodo no estado padrão	$[V]$
$E_{interface}^0$	Potencial elétrico padrão da reação que ocorre na interface do eletrodo	$[V]$
E_{KA}	Potencial elétrico do ânodo para que $j = 0,5j_{max,ap}$	$[V]$
E_M	Potencial elétrico do AE insolúvel	$[V]$
F	Função vetorial	$[-]$
F	Constante de Faraday	$[C mol^{-1}]$

f_a	Fração volumétrica de biomassa ativa no biofilme	[-]
$f e^0$	Eficiência de Coulomb	[-]
f_i	Indicador da equação que compõe o sistema de equações não lineares	[-]
G	Energia livre de Gibbs específica	[J mol ⁻¹]
G^0	Energia livre de Gibbs específica no estado padrão	[J mol ⁻¹]
i	Contador numérico (indicador de passo na coordenada espacial)	[-]
I	Contador numérico (indicador de passo para $z = L_f$)	[-]
I	Corrente elétrica	[A]
j	Densidade da corrente elétrica	[A m ⁻²]
j	Contador numérico, $i=j$ (indicador de passo no Método de Newton para sistemas não lineares)	[-]
j_{cal}	Densidade da corrente calculada pelo modelo	[A m ⁻²]
j_{exp}	Densidade da corrente obtida experimentalmente	[A m ⁻²]
j_{max}	Densidade de corrente elétrica máxima	[A m ⁻²]
j_0	Densidade de corrente elétrica de intercâmbio do sistema	[A m ⁻²]
J	Matriz Jacobiana	[-]
J	Contador numérico, $i=J$ (indicador de passo no Método de Newton para sistemas não lineares)	[-]
J_{DE}	Fluxo de DE no biofilme	[g m ⁻² d ⁻¹]
k	Contador numérico (indicador de passo de	[-]

iteração no método de Newton para sistemas não lineares)

K	Contador numérico (indicador do número total de passos de iteração no método de Newton para sistemas não lineares)	[-]
k_c, k_a	Constante da velocidade de reação de oxirredução	[m s ⁻¹]
k_{bio}	Condutividade elétrica do biofilme	[S m ⁻¹]
k_l	Condutividade elétrica do eletrólito	[S m ⁻¹]
K_{eq}	Constante de equilíbrio químico da reação	[-]
$K_{S_{DE}}$	Concentração de DE para $q_{DE} = 0,5q_{DEmax}$	[g m ⁻³]
$K_{S_{AE}}$	Concentração de AE para $q_{AE} = 0,5q_{AEmax}$	[g m ⁻³]
l	Distância entre os eletrodos	[m]
L_f	Espessura do biofilme	[m]
n	Número de moles de elétrons por mol da molécula envolvida na reação	[mol mol ⁻¹]
n	Indicador do número de dados experimentais	[-]
N	Indicador do número total de dados experimentais	[-]
P	Potência	[W]
q	Carga elétrica	[C]
q_{DE}	Velocidade de utilização do DE	[g m ⁻³ s ⁻¹]
q_{DEmax}	Velocidade específica máxima de utilização de DE	[g g ⁻¹ s ⁻¹]
r, r_a, r_c	Velocidade da reação de oxidação ou de redução na superfície do eletrodo	[mol m ⁻² s ⁻¹]

R	Constante ideal dos gases	$[\text{J mol}^{-1}\text{K}^{-1}]$
R_{ext}	Resistência elétrica externa	$[\Omega]$
R_{ion}	Resistência elétrica iônica	$[\Omega]$
R_{ohm}	Resistência ôhmica	$[\Omega]$
$RMSE$	Raiz do erro quadrado médio	$[\text{A m}^{-2}]$
R^2	Coefficiente de determinação	$[-]$
S_{AE}	Concentração de AE	$[\text{g m}^{-3}]$ ou $[\text{mol m}^{-3}]$
S_{AE}^0	Concentração de AE no estado padrão	$[\text{g m}^{-3}]$ ou $[\text{mol m}^{-3}]$
S_{DE}	Concentração de DE	$[\text{g m}^{-3}]$ ou $[\text{mol m}^{-3}]$
S_M	Concentração de mediador	$[\text{g m}^{-3}]$ ou $[\text{mol m}^{-3}]$
t	Tempo	$[\text{s}]$
t_f	Tempo de duração da operação em batelada	$[\text{s}]$
T	Temperatura	$[\text{K}]$
v_{anodo}	Volume de solução no compartimento anódico	$[\text{m}^3]$
V_{cel}	Diferença de potencial elétrico real entre o ânodo e o cátodo	$[\text{V}]$
X_A	Concentração de biomassa ativa	$[\text{g m}^{-3}]$
z	Direção cartesiana	$[-]$
z_i	Posição na direção cartesiana z	$[\text{m}]$
α	Constante do modelo de Butler-Volmer	$[-]$

γ_s	Número de moles de elétrons por grama de DE	[mol g ⁻¹]
Δ	Variação da propriedade (final – inicial)	[-]
η	Potencial elétrico no biofilme definido como $E_{biofilme} - E_{K_A}$	[V]
η^*	Potencial elétrico do ânodo definido como $E_{anodo} - E_{K_A}$	[V]
$\boldsymbol{\eta}$	Variável vetorial	[-]
η_{ativ}	Sobrepotencial elétrico de ativação	[V]
η_{conc}	Sobrepotencial elétrico de concentração	[V]
η_{ohmic}	Sobrepotencial elétrico ôhmico	[V]
ξ	Coordenada espacial definida como z/L_f	[-]
ρ_f	Massa específica do biofilme	[g m ⁻³]

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	27
1.1 OBJETIVOS	29
1.1.1 Objetivo geral	29
1.1.2 Objetivos específicos	29
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	31
2.1 METABOLISMO MICROBIANO E FLUXO DE ELÉTRONS	31
2.2 MICRO-ORGANISMOS EXOELETROGÊNICOS	33
2.3 MECANISMO DE TRANSFERÊNCIA ELETRÔNICA EXTRACELULAR.....	34
2.3.1 Compostos associados à membrana celular	35
2.3.2 Nanofios	35
2.3.3 Mediadores	36
2.4 CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIANA	37
2.4.1 Reações de oxirredução e a célula eletroquímica	38
2.4.2 Funcionamento da célula combustível microbiana	38
2.4.2.1 Compartimento anódico	39
2.4.2.2 Membrana íon seletiva	40
2.4.2.3 Compartimento catódico	40
2.5 PARÂMETROS ELÉTRICOS E ANÁLISES ELETROQUÍMICAS	41
2.5.1 Corrente elétrica e eficiência de coulomb	41
2.5.2 Diferença de potencial elétrico (ddp).....	42
2.5.3 Potência.....	47
2.5.4 Análise de voltametria cíclica.....	47
2.5.5 Curva de polarização	48
2.6 MODELAGEM MATEMÁTICA EM CCM.....	49
2.6.1 Sobrepotencial intracelular	53
2.6.2 Sobrepotencial extracelular	56
3 MATERIAIS E MÉTODOS	59
3.1 INÓCULO E MEIO DE CULTIVO	59
3.2 SISTEMA EXPERIMENTAL	59
3.3 CONDIÇÕES OPERACIONAIS	60
3.4 ANÁLISE QUÍMICA	62
3.5 ANÁLISES ELETROQUÍMICAS	62
3.5.1 Densidade da corrente elétrica.....	62
3.5.2 Voltametria cíclica (VC).....	62
3.5.3 Curva de polarização	64
3.6 MODELAGEM MATEMÁTICA.....	65
3.6.1 Solução numérica	69
3.6.2 Estimativa de parâmetros	72
3.6.3 Simulação das curvas de polarização	75
3.6.4 Análises estatísticas	75

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	76
4.1 CONDIÇÕES OPERACIONAIS	76
4.2 IDENTIFICAÇÃO DO MECANISMO DE TEE	78
4.3 PARÂMETROS FÍSICOS E CINÉTICOS	87
4.4 SIMULAÇÃO DAS CURVAS DE POLORIZAÇÃO	92
5 CONCLUSÕES	96
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

1 INTRODUÇÃO

A demanda energética mundial surge na atualidade como um problema social dos mais preocupantes. Por um lado, os limites dos recursos que representam as fontes de energia tradicionais implicam uma busca de alternativas. Por outro lado, as principais fontes de energia são vinculadas a graves problemas ambientais.

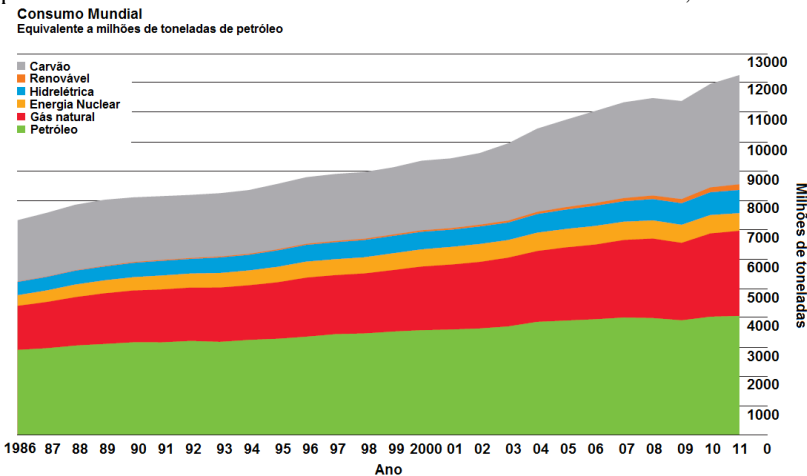
Até o presente momento, o crescimento econômico e industrial tem sido sustentado pelo uso de combustíveis fósseis. Entretanto, as projeções para o crescimento populacional (mais de 7 bilhões de habitantes em 2011, segundo a ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU) - BRASIL, 2011), as mudanças climáticas e os danos ambientais obrigam mudanças na atual matriz energética mundial.

No ano de 2011, o consumo mundial de energia cresceu cerca de 2,5%, menos da metade do crescimento observado em 2010, mas ainda próximo à taxa histórica média. O petróleo ocupou a primeira posição como fonte de energia (33,1%), seguido pelo carvão mineral (30,3%), o gás natural (23,7%) e, finalmente, as energias renováveis (8%) e a energia nuclear (4,9%) (*STATISTICAL REVIEW OF WORLD ENERGY BP*, 2012). O comportamento ilustrado na Figura 1.1 explicita o crescimento na demanda energética.

O desenvolvimento de novas tecnologias para geração de energia, visando ao uso de fontes de energia renováveis e/ou sustentáveis e o aproveitamento eficiente dos combustíveis fósseis tem sido vista como uma alternativa. Neste contexto, novas opções têm surgido principalmente no campo da bioenergia, em destaque para as Células Combustíveis Microbianas (CCM). O crescente interesse nesta tecnologia está apoiado em duas habilidades que vão ao encontro aos atuais anseios da sociedade: geração de energia em paralelo ao tratamento de efluentes.

Uma CCM opera de modo semelhante a uma célula combustível química, onde a eletricidade é proveniente de uma reação de oxirredução. Entretanto, a CCM emprega micro-organismos como catalisadores da reação. A principal vantagem do dispositivo biológico comparado ao sistema convencional é a possibilidade de empregar diversos compostos como combustíveis, inclusive efluentes domésticos e/ou industriais (LOGAN, 2008).

Figura 1.1 - Evolução do consumo mundial de combustíveis primários. Os resultados ilustrados são normalizados em relação a milhões de toneladas de petróleo. Fonte: *STATISTICAL REVIEW OF WORLD ENERGY BP, 2012*.



Embora a CCM seja considerada uma tecnologia promissora, a sua aplicação comercial ainda é inviável. Um dos principais obstáculos para o seu emprego são as baixas densidades de corrente elétrica gerada (PANT et al., 2010). Neste sentido, o foco de muitas das pesquisas tem sido no desenvolvimento de novos materiais para os eletrodos, em melhorias nos projetos arquitetônicos e na otimização das condições operacionais. Outro aspecto importante que afeta o desempenho dos reatores, e que tem sido amplamente estudado, é a grande diversidade de micro-organismos que pode ser utilizada em células combustíveis microbianas.

Micro-organismos capazes de gerar eletricidade em CCM são classificados como exoeletrogênicos. Estes micro-organismos estão presentes naturalmente em sedimentos aquáticos e lodos de estações de tratamento de efluente. Tais ambientes abrigam uma vasta diversidade de micro-organismos, tanto exoeletrogênicos como não exoeletrogênicos. Em CCM inoculadas com tais fontes, uma diversidade de micro-organismos atua de forma sinérgica no consumo de matéria orgânica e geração de corrente elétrica. Acredita-se que diferentes micro-organismos são capazes de estabelecer o contato eletrônico uns com os outros, assim, micro-organismo necessariamente não exoeletrogênicos também podem contribuir para a geração energia

(PHAM; AELTERMAN; VERSTRAETE, 2009; LOGAN; REGAN, 2006).

Uma maneira para melhorar o desempenho de uma CCM é identificar as principais resistências elétricas do sistema e então proceder, se possível, com ações que busquem reduzi-las. A modelagem matemática pode auxiliar neste procedimento, uma vez que, pode ser usada para a otimização da operação e/ou concepção do sistema, para a compreensão e identificação das principais resistências envolvidas, além de consistir de uma ferramenta rápida, econômica e confiável (quando os modelos forem racionalmente concebidos) (PICIOREANU et al., 2007; RODRIGUEZ; PREMIER, 2010).

O interesse em CCM tem crescido enormemente nos últimos anos. Os resultados de uma pesquisa na base de dados Scopus em Fevereiro de 2013, com a palavra chave *microbial fuel cell*, indicaram um aumento exponencial a partir do ano de 2006 no número de artigos científicos publicados. Entretanto, apesar do crescente aumento, a grande maioria relata trabalhos experimentais para a compreensão dos aspectos biológicos, eletroquímicos e a avaliação do desempenho da CCM nas mais diversas configurações. A utilização da modelagem matemática no estudo dos fenômenos envolvidos na CCM ainda é escassa na literatura e, portanto, é um campo de pesquisa de interesse.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi descrever o fluxo eletrônico de uma Célula Combustível Microbiana de dois compartimentos, inoculada com uma cultura mista oriunda do sedimento marinho do estuário da Lagoa dos Patos - RS, utilizando a modelagem matemática da cinética de respiração dos micro-organismos e do mecanismo de transferência eletrônica extracelular.

1.1.2 Objetivos específicos

Para alcançar o objetivo geral, este trabalho teve os seguintes objetivos específicos:

- Concepção e operação de uma célula combustível microbiana de dois compartimentos, inoculada com sedimento marinho oriundo do estuário da Lagoa dos Patos - RS;

- Identificação do mecanismo de transferência de elétrons extracelular (TEE) empregado pela biomassa exoeletrogênica;
- Aplicação de um modelo matemático na descrição da geração de corrente elétrica para micro-organismos exoeletrogênicos sob a forma de biofilmes aderidos a superfície dos eletrodos;
- Estimação dos parâmetros cinéticos e físicos do biofilme exoeletrogênico utilizando a modelagem matemática associada às análises de voltametria cíclica;
- Simulação das curvas de polarização empregando os parâmetros do modelo estimados com a partir dos resultados das análises de voltametria cíclica;

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 METABOLISMO MICROBIANO E FLUXO DE ELÉTRONS

Para manterem-se vivos e desempenharem diversas funções biológicas, os micro-organismos dependem de um fornecimento constante de energia. Qualquer organismo vivo é constituído por um sistema estável de reações químicas e processos físico-químicos mantidos afastados do equilíbrio. Como a manutenção deste estado contraria a tendência termodinâmica natural de atingir o equilíbrio, o desequilíbrio só pode ser mantido a custo de energia retirada do meio ambiente (MARZZOCO; TORRES, 2007; LEHNINGER; NELSON; COX, 2011).

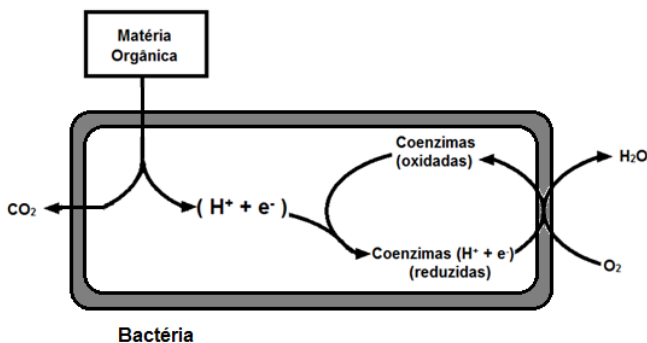
No curso da evolução biológica, as células desenvolveram mecanismos eficientes para capturar energia do Sol ou extraí-la de compostos passíveis de oxidação e transferi-la para os processos metabólicos que dela necessitam. Nesta seção, será abordado de forma simplificada o processo de obtenção de energia química envolvendo reações de oxidação, uma vez que compõem etapa fundamental para o funcionamento de CCM.

O metabolismo microbiano heterotrófico é dividido em duas etapas, o catabolismo e o anabolismo. O catabolismo refere-se às reações de degradação que ocorrem quando o micro-organismo oxida o doador de elétrons (DE), produzindo energia sob a forma de adenosina trifosfato (ATP) e compostos intermediários que serão utilizados nas reações anabólicas. O anabolismo refere-se às reações biossintéticas que utilizam aqueles compostos e a energia química (na forma de ATP) produzida nas reações catabólicas para geração de compostos celulares necessários na manutenção e no crescimento celular (LEHNINGER; NELSON; COX, 2011).

De forma simplificada, a Figura 2.1 ilustra o processo de obtenção de energia por um micro-organismo a partir da oxidação de um composto orgânico genérico. Os prótons (H^+) e elétrons (e^-) derivados da oxidação deste DE, composto com baixo potencial eletroquímico, são recebidos por coenzimas na forma oxidada. Nas reações biológicas, coenzimas, tais como a nicotinamida-adenina-dinucleotídeo (NAD^+), nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato ($NADP^+$) e flavina-adenina-dinucleotídeo (FAD^+), são capazes de receber dois elétrons por molécula passando assim à sua forma reduzida ($NADH$, $NADPH$ e $FADH$). Para manutenção do processo é vital que as coenzimas sejam periodicamente reoxidadas, e isto é alcançado pela transferência dos prótons e elétrons

para um aceptor final (AE), composto com alto potencial eletroquímico, este podendo ser um composto intermediário da reação de oxidação (fermentação) ou mesmo um composto externo à célula (respiração). A energia derivada do fluxo de H^+ e e^- é utilizada para sintetizar ATP, a partir da adenosina difosfato (ADP) e fosfato inorgânico (HPO_4^{2-}). É a energia química do ATP que será diretamente usada para promover os processos biológicos (LEHNINGER; NELSON; COX, 2011). Portanto, pode-se afirmar que o metabolismo microbiano é sustentado pelo fluxo de elétrons entre um DE (baixo potencial elétrico) e um AE (alto potencial elétrico).

Figura 2.1 - Representação esquemática de um processo de obtenção de energia através do consumo de matéria orgânica. Fonte Marzzoco e Torres, 2007.



A quantidade de energia obtida pelos micro-organismos está diretamente associada à diferença de potencial entre o doador e o aceptor de elétrons. A quantidade máxima de energia é mensurada em termos da diferença de energia livre de Gibbs específica ($J mol^{-1}$) (Equação (2.1)),

$$\Delta G = -nFE_{bio} \quad (2.1)$$

na qual n é o número de moles de elétrons por mol da molécula envolvida na reação ($mol mol^{-1}$), F a constante de Faraday (definida como a quantidade de carga em um mol elétrons) ($C mol^{-1}$) e E_{bio} é a diferença de potencial elétrico entre o DE e o AE (V).

As resistências ao transporte de elétrons entre o DE e o AE reduzem a velocidade de obtenção de energia (HEIJNEN, 1999). Assim, os micro-organismos, dentro de sua capacidade, buscam maximizar a quantidade de energia obtida pela seleção de um AE com alto potencial elétrico. Frequentemente, AE solúveis estão ausentes em muitos

ambientes, nestes casos, os micro-organismos podem mudar seu metabolismo para a fermentação ou usar um AE insolúvel se for possível. No último caso, os micro-organismos transportam os elétrons para fora da célula para alcançar a redução do AE. Este processo é chamado de transferência eletrônica extracelular (TEE) e está presente naturalmente em micro-organismos que utilizam minerais contendo óxidos de ferro e magnésio como aceptores externos. Em uma CCM, o eletrodo anódico atua como um acceptor de elétrons insolúvel (RABAEY, 2010).

2.2 MICRO-ORGANISMOS EXOELETROGÊNICOS

Micro-organismos com a habilidade de estabelecer o contato eletroquímico com eletrodos insolúveis, sem o apoio de compostos artificiais, são classificados como exoeletrogênicos (LOGAN; REGAN, 2006). O contato elétrico é estabelecido por meio de diferentes mecanismos de TEE, seja através do contato direto: por meio de compostos presentes na membrana celular microbiana (citocromos) e estruturas poliméricas condutoras sintetizadas pelo micro-organismo (nanofios); ou de forma indireta: utilizando um carreador solúvel (mediadores) (SCHÖDER, 2007). Uma discussão detalhada sobre os mecanismos de TEE é encontrada no item 2.3 do presente texto.

Por muitos anos, acreditou-se que os micro-organismos necessitavam inerentemente de um sistema de transporte de elétrons artificial para que efetivamente fossem capazes de utilizar um eletrodo como AE. Por muito tempo realizaram-se estudos utilizando culturas microbianas puras na presença de mediadores artificiais para suportar o metabolismo microbiano na presença de eletrodos. Cepas de *Escherichia coli* e *Proteus vulgaris* são exemplos de algumas destas culturas (BENNETTO et al., 1985; DELANEY et al., 1984; TANAKA; VEJA; TAMAMUCHI, 1983; THURSTON et al., 1985).

No entanto, as velocidades de transferência de elétrons obtidas, utilizando culturas puras e mediadores artificiais, são irrelevantes comparadas àquelas observadas atualmente. Recentemente, pesquisadores têm demonstrado que ambientes anaeróbios como, sedimentos aquáticos (marítimo e pluvial), solos, efluentes e lodos de estações de tratamento são ricas fontes de micro-organismos exoeletrogênicos (LOGAN; REGAN, 2006; LOVLEY, 2006; DU; LI; GU, 2007). Utilizando tais fontes como inóculo em reatores anaeróbios na presença de eletrodos, é observada a geração de corrente elétrica em paralelo a formação de biofilmes sobre a superfície destes eletrodos.

Análises moleculares das comunidades de bactérias presentes nestes biofilmes revelam que não há um único micro-organismo dominante e sim uma complexa diversidade de bactérias compostas principalmente pelos filos Protobactéria e Firmicutes (LOGAN; REGAN, 2006)

Apesar da grande diversidade de micro-organismos há uma clara predominância da classe delta (δ) do filo Proteobactéria, e dentro desta classe a família *Geobacteraceae*, em reatores inoculados com sedimentos aquáticos. Bond et al. (2002), analisando, através da sequência genética 16SrDNA, as comunidades microbianas que se desenvolvem aderidas aos eletrodos de reatores inoculados com sedimento marinho, constataram que aproximadamente 71% delas pertenciam a classe δ -Protobactéria, e destas, 70% pertenciam à família *Geobacteraceae*. Em um sistema semelhante, Tender et al. (2002) observaram proporções similares, 76% da comunidade microbiana consistia especificamente da classe δ -Protobactéria, das quais 59% pertenciam à família *Geobacteraceae*. Em um estudo comparando diferentes sedimentos aquáticos (marinho, fluvial e de pântano salino), Holmes et al. (2004) constataram que micro-organismos da família *Geobacteraceae* ocupavam a posição dominante entre praticamente todos os reatores avaliados independente do sedimento.

Atualmente, *Geobacter sulfurreducens* e *Shewanella oneidensis* são as espécies de micro-organismos, pertencentes ao filo Proteobactéria, mais investigadas e utilizadas como modelo em pesquisas científicas de micro-organismos exoeletrogênicos.

2.3 MECANISMO DE TRANSFERÊNCIA ELETRÔNICA EXTRACELULAR

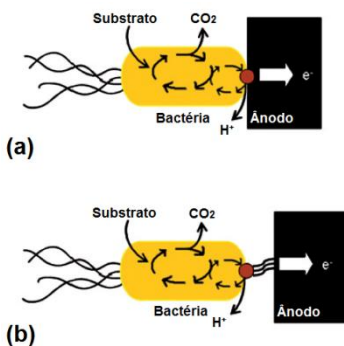
Para que o micro-organismo utilize um eletrodo como AE ele necessita de um sistema de transporte físico extracelular. Numerosos estudos tem confirmado a existência de três diferentes mecanismos de TEE (SCHÖDER, 2007):

- a) Transferência por meio de compostos eletroquimicamente ativos presentes na membrana celular microbiana;
- b) Através de estruturas condutoras produzidas pelo micro-organismo, conhecidas como nanofios;
- c) Transportados por espécies químicas solúveis (mediadores), produzidos pelo micro-organismo ou adicionadas ao meio de reação.

2.3.1 Compostos associados à membrana celular

A transferência de elétrons para o ânodo pode ser feita de forma direta ou indireta. A transferência direta requer o contato físico entre o micro-organismo e o eletrodo. Ela é possível graças à existência de um conjunto de proteínas associadas à membrana celular capazes de transportarem os elétrons do interior do micro-organismo para o meio extracelular. Essas proteínas, identificadas como citocromos principalmente do tipo-c, são especialmente encontradas em bactérias metal-redutores das espécies *Geobacter*, *Shewanella* e *Rhodospirillum rubrum*. Esta classe de micro-organismos é capaz de produzir ATP em condições anaeróbicas, empregando como agentes oxidantes óxidos minerais (Fe(III) e Mn(IV)). Em condições ambientais, esses minerais são insolúveis, limitando o desenvolvimento do micro-organismo aderido à superfície do AE (SCHÖDER, 2007). Um eletrodo pode convenientemente assumir o papel do acceptor (Figura 2.2 (a)).

Figura 2.2 - Representação esquemática do mecanismo direto de transferência de elétrons (a) via citocromos associados à superfície externa da membrana celular e (b) através da condução por meio de nanofios. Fonte: Rinaldi et al., 2008.



2.3.2 Nanofios

Investigações científicas recentes revelaram que bactérias metal redutoras podem empregar um segundo mecanismo de TEE direto. A proposta consiste no transporte por meio de um sólido condutor que faz parte da matriz extracelular do biofilme. Os trabalhos de Reguera et al. (2005) e Gorby et al. (2006) fornecem evidências de que determinadas cepas de *Geobacter sulfurreducens* e *Shewanella oneidensis* sintetizam

estruturas (semelhante às pili) que conectam eletricamente as bactérias ao eletrodo anódico (Figura 2.2 (b)). Estas estruturas são denominadas nanofios.

A descoberta dos nanofios suporta a hipótese de que há o desenvolvimento de biofilmes eletroquimicamente ativos mais espessos sobre a superfície do eletrodo, ou seja, micro-organismos localizados mais distantes do eletrodo também participam da geração de corrente elétrica e não apenas a monocamada de bactérias em contato direto (DEBABOV, 2008; SCHRÖDER, 2007).

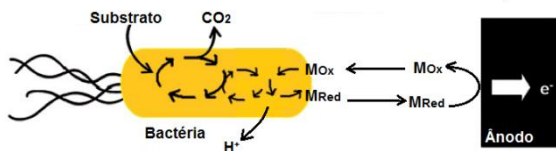
Ishii et al. (2005), com o cultivo de *Peletomaculum thermopropionicum* e *Metanothermobacter thermoautotrophicus*, observaram o surgimento de terminações que conectavam ambas as cepas. A existência de terminações condutivas interespecíficas possibilitaria a transferência de elétrons diretamente de um micro-organismo a outro. Ou seja, uma bactéria necessariamente não eletroativa poderia descarregar seus elétrons em uma célula eletroquimicamente ativa e assim contribuir para a produção de eletricidade em um reator com eletrodos, sem a necessidade de mediadores exógenos.

2.3.3 Mediadores

A membrana celular microbiana é constituída por uma dupla camada lipídica não condutora, a qual separa o citoplasma, local de geração metabólica dos elétrons, dos aceptores finais. A menos que a membrana celular apresente proteínas (citocromos) e/ou outras estruturas condutoras (nanofios), o micro-organismo é incapaz de transferir os elétrons para o eletrodo (LOVLEY, 2006).

Mediadores são compostos químicos passíveis de reações reversíveis de oxidação e redução e, desta forma, capazes de transportar elétrons entre dois sítios de reações eletroquímicas. A Figura 2.3 esquematiza a forma de atuação do mediador. O composto na forma oxidada (M_{Ox}) difunde em direção ao interior do micro-organismo captando os elétrons das coenzimas, passando à forma reduzida (M_{Red}). Em seguida, difunde para fora da célula até atingir o eletrodo, onde descarrega-os, reestabelecendo o estado oxidado. O processo é cíclico e mantido até a completa exaustão do substrato disponível para os micro-organismos.

Figura 2.3 - Representação esquemática do mecanismo de transferência de elétrons através do emprego de mediadores químicos. Fonte: Rinaldi et al., 2008.



Uma grande variedade de compostos, tais como Tionina, Fe(III)EDTA, 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (HQN) e corantes orgânicos como o vermelho de tolúeno (neutral red) e o azul de metileno, foram estudados em combinação com os micro-organismos para avaliar a sua eficiência como mediadores (TANAKA; VEJA; TAMAMUSHI, 1983; BENNETTO et al., 1985; THURSTON et al., 1985; PARK; ZEIKUS, 2000; LEE et al., 2002; BABANOVA; HUBENOVA; MITOV, 2011).

Além dos mediadores adicionados ao meio de reação, alguns micro-organismos podem usar seus próprios metabólitos como carreadores de elétrons (mediadores endógenos). No entanto, há uma grande dificuldade na identificação destes compostos, entre os quais estão as picioninas produzidas por *Pseudomonas aeruginosa* (RABAEY et al., 2004) e as flavinas produzidas por cepas de *Shewanella oneidensis* (MARSILI et al., 2008a).

Evidências indicam que um determinado micro-organismo pode empregar mais de um mecanismo de TEE, como é o caso de algumas cepas de *S. oneidensis* que são capazes de produzir nanaofios (GORBY et al., 2005) e mediadores (MARSILI et al., 2008a). Identificar o sistema de transporte de elétrons em uma CCM é de fundamental importância na modelagem do sistema, uma vez que a produção de corrente elétrica no dispositivo é geralmente limitada pelas reações que ocorrem no ânodo e grandes perdas de potencial estão relacionadas aos mecanismos de TEE (TORRES et al., 2010).

2.4 CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIANA

Em uma célula combustível microbiana (CCM), os micro-organismos transferem os elétrons produzidos pela oxidação da matéria orgânica para um eletrodo (ânodo). Os elétrons são subsequentemente conduzidos através de uma resistência elétrica até um segundo eletrodo (cátodo), onde se combinam aos cátions ou prótons e aceptores finais

através de uma reação de redução. A CCM pode ser considerada um híbrido de reator biológico e eletroquímico.

2.4.1 Reações de oxirredução e a célula eletroquímica

Em uma reação de oxirredução, os elétrons são transferidos de um reagente para o outro. O agente redutor é um doador de elétrons (DE), enquanto o agente oxidante é um acceptor de elétrons (AE). A transferência eletrônica é estabelecida devido à diferença de potencial elétrico que existe entre os compostos. Os elétrons são transferidos do composto com menor potencial elétrico (agente redutor) para o de maior potencial elétrico (agente oxidante) (SKOOG et al., 2006).

Um aspecto singular das reações de oxirredução é poderem ser conduzidas em células eletroquímicas, onde o agente redutor e o agente oxidante são fisicamente separados um do outro. Em uma célula eletroquímica, dois condutores (eletrodos) conectados por uma resistência elétrica são imersos em diferentes soluções eletrolíticas, mantidas separadas para evitar a reação direta entre os reagentes (agente redutor e oxidante). O modelo mais comum para separar as soluções, e manter o contato elétrico entre ambas, é o emprego de uma ponte salina. Nesta configuração, para que a reação aconteça, os elétrons fluem através de um circuito externo e o fluxo iônico proveniente da ponte salina completa a reação, mantendo a neutralidade eletrônica em ambos os compartimentos (SKOOG et al., 2006).

Um determinado composto é oxidado no ânodo, enquanto outro é reduzido no cátodo. A diferença de potencial elétrico (ΔE) entre os compartimentos promove o fluxo eletrônico (corrente elétrica), o qual é observado enquanto a reação for termodinamicamente favorável, ou seja, enquanto a diferença da energia livre de Gibbs desenvolvida na célula possuir valor negativo (SKOOG et al., 2006).

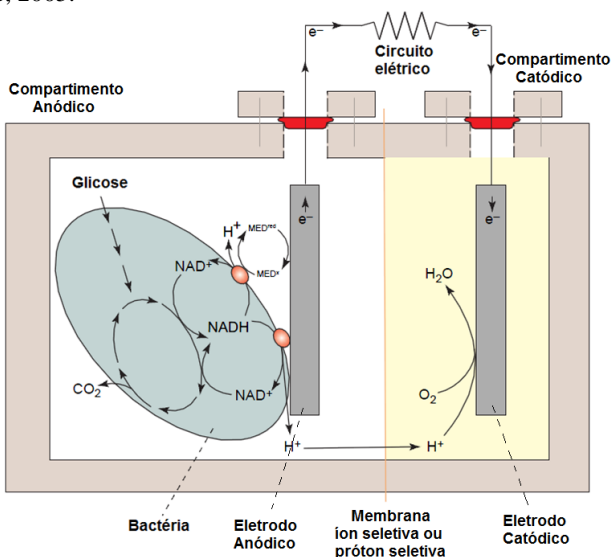
2.4.2 Funcionamento da célula combustível microbiana

A CCM é um dispositivo semelhante a uma célula eletroquímica clássica, exceto pelo emprego de micro-organismos como catalisadores da reação de oxidação do DE. A energia elétrica é gerada quando o micro-organismo transfere os elétrons para um circuito externo, introduzido antes da etapa de redução do acceptor final (LOGAN; REGAN, 2006). A CCM consiste basicamente de dois compartimentos: um ânodo e um cátodo, separados por uma membrana íon seletiva (ou uma ponte salina) e conectados externamente por um circuito elétrico. A

Figura 2.4 ilustra a representação esquemática de uma típica CCM de dois compartimentos.

No compartimento do ânodo, o micro-organismo oxida a matéria orgânica gerando prótons, elétrons e dióxido de carbono (oxidação completa). Os elétrons são transferidos para o eletrodo (AE no metabolismo microbiano), e os íons liberados no meio. Os elétrons transferidos então fluem para o eletrodo catódico através do circuito externo como resultado da ddp existente entre as enzimas da cadeia respiratória microbiana e o AE final no compartimento catódico. O fluxo eletrônico no circuito externo é acompanhado por igual fluxo de prótons no eletrólito e permeando a membrana que separa os compartimentos, mantendo a neutralidade da solução. No cátodo, os prótons e elétrons se combinam ao AE final em uma reação de redução, finalizando o processo (LOGAN, 2008).

Figura 2.4 - Representação esquemática da estrutura e princípio de funcionamento de uma CCM de dois compartimentos. Fonte: Rabaey e Verstraete, 2005.



2.4.2.1 Compartimento anódico

O compartimento do ânodo, mantido em condição anaeróbia, é constituído essencialmente por um eletrodo insolúvel, micro-

organismos, uma fonte de combustível em solução (matéria orgânica e/ou inorgânica) e meio de cultivo.

Os eletrodos atuam como AE na respiração microbiana e para isso devem conter as seguintes características: alta condutividade, biocompatibilidade e estabilidade química em solução. O carbono é o material mais versátil na construção dos eletrodos, estando disponível como placas, hastes e grânulos de grafite, na forma de material fibroso (como feltro, tecido, papel e espuma de carbono) ou como carbono vítreo (LOGAN et al., 2006). Para melhorar a eficiência na transferência eletrônica, outros compostos podem ser incorporados a estes eletrodos, tais como o Mg(IV), Fe(III) (PARK; ZEIKUS, 2003) e a platina (SCHRÖDER; NIEßEN; SCHOLZ, 2001).

Materiais biodegradáveis têm sido empregados como fonte combustível. Estes variam desde compostos puros, tais como acetato e glicose, às misturas complexas de materiais orgânicos, incluindo efluentes domésticos, de origem animal e industrial (PANT et al., 2010). A fonte e a concentração do substrato estão intimamente relacionadas às densidades da corrente elétrica obtidas na CCM.

2.4.2.2 Membrana íon seletiva

Esta membrana semipermeável separa fisicamente o ânodo e o cátodo, mantendo o contato elétrico entre ambos, permitindo a passagem de prótons (H^+) da câmara anódica para a catódica, enquanto restringe a difusão de oxigênio ou qualquer outro aceptor para o ânodo. A difusão do oxigênio para o compartimento anódico resultaria na oxidação do substrato sem a transferência de elétrons para o eletrodo. A membrana Nafion (Dupont Co., EUA) é comumente utilizada, no entanto, outras membranas, como por exemplo a Ultrex CMI-7000 (Membranes International Incorp., EUA), também são adequadas para aplicações em CCM (LOGAN et al., 2006).

2.4.2.3 Compartimento catódico

Os eletrodos empregados na câmara catódica são semelhantes aos anódicos: grafite sólido, material fibroso ou carbono vítreo. Em uma CCM de duas câmaras, conforme ilustrada na Figura 2.4, o AE encontra-se solubilizado/dissolvido em solução. Oxigênio e ferrocianeto de potássio são comumente empregados como AE. O oxigênio apresenta o maior potencial padrão ($1,229 V_{vs} EPH$, EPH = eletrodo padrão de hidrogênio), apesar disso, o ferrocianeto (potencial redox $0,36 V_{vs}$

EPH) apresenta um melhor desempenho, gerando densidades de corrente maiores (LOGAN et al., 2006). Esse resultado está associado à disponibilidade do acceptor na superfície do eletrodo. Como a concentração de saturação de oxigênio em água é muito baixa, a disponibilidade do mesmo na superfície do eletrodo, comparada a uma solução saturada de ferrocianeto, é muito menor. Contudo, o ferrocianeto precisa ser quimicamente reoxidado e, portanto, pode não ser viável em grandes sistemas de fluxo contínuo.

Em uma CCM de câmara única, o cátodo é simplesmente o eletrodo em contato direto com o ar. Lui e Logan (2004) construíram o cátodo conectando a membrana diretamente a um eletrodo flexível de tecido de carbono contendo platina (Pt) como catalisador. Ambos, eletrodo e membrana, foram prensados a 1780 kPa e temperatura de 140 °C por 3 minutos para garantir sua união.

A platina é principalmente empregada no eletrodo catódico como catalisador da reação de redução do oxigênio. Uma alternativa a platina (metal nobre) foi desenvolvida por Park e Zeikus (2003) cátodos com Fe(III) ou Mn(IV) incorporados ao grafite. Outra abordagem é o emprego de compostos como o Fe e Co. Esses materiais atuam como mediadores entre o cátodo e o oxigênio (RINALDI et al., 2008). Algumas espécies de microrganismos também podem ser utilizadas como catalisadores no cátodo, neste caso, o eletrodo passa a ser o DE no metabolismo microbiano (LOVLEY, 2006).

2.5 PARÂMETROS ELÉTRICOS E ANÁLISES ELETROQUÍMICAS

2.5.1 Corrente elétrica e eficiência de coulomb

Quando um circuito elétrico é submetido a uma diferença de potencial elétrico entre suas extremidades, campos elétricos atuam no interior do material, exercendo força sobre os elétrons, fazendo-os se mover, estabelecendo uma corrente elétrica. Se uma quantidade de carga dq (C) atravessa um plano hipotético no intervalo de tempo dt (s), então, a corrente elétrica I (A) que atravessa esse plano é definida como apresentado na Equação (2.2) (HALLIDAY; RESNICK; WALKER, 2012).

$$I = \frac{dq}{dt} \quad (2.2)$$

É possível relacionar a quantidade de carga que flui através do circuito elétrico com a cinética da reação de oxirredução que ocorre no

eletrodo como apresentado na Equação (2.3) (BARD; FAULKNER, 2001).

$$j = rnF \quad (2.3)$$

na qual j é a densidade da corrente elétrica (Ampère por unidade de área superficial do eletrodo) (A m^{-2}), r é a velocidade da reação de oxidação ou redução ocorrendo na superfície do eletrodo ($\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$), n é o número de moles de elétrons por mol da molécula envolvido na reação (mol mol^{-1}) e F é a constante de Faraday, definida como a quantidade de carga em um mol de elétron (C mol^{-1}).

A quantidade de carga transferida é uma informação muito importante na determinação da eficiência de Coulomb (fe^0). Ela é um dos principais parâmetros de avaliação de desempenho da CCM, pois expressa a fração de carga transferida para o circuito *versus* a quantidade total disponível no DE. Para um reator operando em batelada o fe^0 pode ser calculado de acordo com a Equação (2.4) (LOGAN, 2008).

$$fe^0 = \frac{\int_0^{t_f} I dt}{F\gamma_s v_{anodo} \Delta S_{DE}} \quad (2.4)$$

na qual t_f é o tempo de duração da operação em batelada (s), γ_s é a quantidade total de moles de elétrons que pode ser oxidada por grama de DE (mol g^{-1}), v_{anodo} é o volume de solução no compartimento anódico (m^3), S_{DE} (g m^{-3}) é a concentração mássica do DE (g m^{-3}) e ΔS_{DE} é a quantidade de DE consumida no tempo t_f .

A corrente elétrica produzida por uma CCM é determinada pela ddp, V_{cel} (V), medida nas extremidades de uma resistência elétrica externa conhecida, R_{ext} (Ω), conforme a lei de Ohm (Equação (2.5)).

$$I = \frac{V_{cel}}{R_{ext}} \quad (2.5)$$

Para que diferentes configurações de CCM pudessem ser comparadas, tornou-se comum a normalização da corrente elétrica por alguma característica do sistema. Geralmente a corrente é normalizada pela área superficial do eletrodo anódico (LOGAN, 2008).

2.5.2 Diferença de potencial elétrico (ddp)

Em uma célula combustível biológica e/ou química a eletricidade é gerada somente quando a reação global for termodinamicamente

favorável. A tendência de a reação ocorrer pode ser avaliada em termos da variação da energia livre de Gibbs específica, ΔG (J mol^{-1}), conforme apresenta a Equação (2.6) (SKOOG et al., 2006).

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln K_{eq} \quad (2.6)$$

na qual ΔG^0 é a variação da energia livre de Gibbs específica no estado padrão (J mol^{-1}), R é constante dos gases ideais ($\text{J mol}^{-1}\text{K}^{-1}$), T é a temperatura absoluta do sistema (K), e K_{eq} é a constante de equilíbrio químico da reação, definida como a relação da atividade química entre os produtos pelos reagentes, na potência de seus respectivos coeficientes estequiométricos.

Para cálculos envolvendo células combustíveis, é mais conveniente avaliar a energia livre de Gibbs em termos da diferença de potencial elétrica, ou força eletromotriz desenvolvida no sistema, E_{emf} (V), a qual é definida como diferença de potencial elétrico entre o ânodo e o cátodo. Essas grandezas estão correlacionadas através da seguinte expressão (SKOOG et al., 2006):

$$\Delta G = -nFE_{emf} \quad (2.7)$$

e no estado padrão por,

$$\Delta G^0 = -nFE_{emf}^0 \quad (2.8)$$

na qual E_{emf}^0 é a força eletromotriz no estado padrão (V).

Substituindo as Equações (2.7) e (2.8) na Equação (2.6) é obtida a expressão para o cálculo teórico da ddp máxima desenvolvida na célula. A Equação (2.9) é conhecida como Equação de Nernst.

$$E_{emf} = E_{emf}^0 - \frac{RT}{nF} \ln K_{eq} \quad (2.9)$$

A reação de oxirredução que ocorre em uma célula combustível pode também ser analisada em termos de suas semi-reações, neste caso, as reações que ocorrem no ânodo e no cátodo são inicialmente analisadas separadamente. Para isso, é necessário determinar o potencial padrão de cada meia-célula. Esse potencial é mensurado contra um eletrodo de referência (SKOOG et al., 2006). O eletrodo padrão de hidrogênio (EPH) tem sido empregado em todo o mundo como eletrodo de referência. Por convenção, o potencial do eletrodo padrão de hidrogênio é definido como o valor zero. Como consequência, qualquer potencial desenvolvido em uma célula consistindo em um eletrodo padrão de hidrogênio e algum outro eletrodo é atribuído inteiramente ao outro eletrodo (SKOOG et al., 2006).

Na CCM é comum o emprego do eletrodo de cloreto de prata como padrão (Ag/AgCl) devido à facilidade de uso. Para converter o potencial elétrico obtido com eletrodo de Ag/AgCl para o potencial no EPH deve-se adicionar 0,222 V ao potencial obtido com o eletrodo de Ag/AgCl (SKOOG et al., 2006).

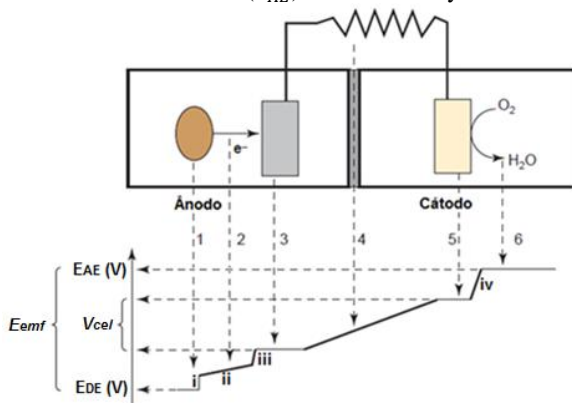
Para obter o potencial teórico da meia-célula nas condições específicas de processo, utiliza-se a Equação (2.9), o potencial padrão da semi-reação e a concentração das diferentes espécies químicas envolvidas na semi-reação. Definidas as diferenças de potencial elétrico do ânodo (E_{anodo}) e do cátodo (E_{catodo}), a ddp máxima da célula combustível é calcula,

$$E_{emf} = E_{catodo} - E_{anodo} \quad (2.10)$$

Na Equação (2.10) o termo negativo advém da convenção da IUPAC, a qual define que o potencial de um eletrodo deve descrever as semi-reações escritas como reduções (SKOOG et al., 2006).

Entretanto, a ddp observada em uma célula combustível, V_{cel} , é sempre menor que aquela predita pelos cálculos de E_{emf} . A diferença entre a E_{emf} e V_{cel} é conhecida como sobrepotencial elétrico. O sobrepotencial elétrico é a ddp necessária para superar todas as resistências associadas à transferência de cargas durante a reação de oxirredução na célula combustível (Figura 2.5) (RABAEY; VERSTRAETE, 2005).

Figura 2.5 - Sobrepotenciais elétricos durante a transferência de elétrons em uma CCM. (1) Potencial elétrico do DE (E_{DE}). (2) ddp necessária para que transferência eletrônica ocorra relacionando: (i) à reação biológica; (ii) ao mecanismo de TEE e (iii) à reação de transferência eletrônica entre o TEE e o eletrodo. (3) Potencial elétrico observado no ânodo. 4. Resistência elétrica externa e resistência ao fluxo iônico. 5. Potencial observado no cátodo: (iv) ddp necessária para que a reação de transferência de elétrons entre o eletrodo-AE ocorra. 6. Potencial elétrico do AE (E_{AE}). Fonte: Rabaey e Verstraete, 2005.



Os sobrepotenciais elétricos na CCM são comumente divididos em: sobrepotenciais relacionados ao metabolismo microbiano, sobrepotenciais de ativação (η_{ativ}), sobrepotenciais ôhmicos (η_{ohmic}) e sobrepotenciais de transferência de massa (η_{conc}) (RISMAMI-YAZDI et al., 2008; LOGAN, 2008). A Equação (2.11) mostra como os sobrepotenciais do ânodo e do cátodo coletivamente limitam o desempenho da célula combustível.

$$V_{cel} = E_{emf} - [(\eta_{ativ} + \eta_{ohmic} + \eta_{conc})_{anodo} + (\eta_{ativ} + \eta_{ohmic} + \eta_{conc})_{catodo}] \quad (2.11)$$

Em uma CCM, o eletrodo anódico atua como o acceptor final de elétrons do metabolismo microbiano e seu potencial elétrico determina a quantidade de energia obtida pela bactéria. Quanto maior a diferença de potencial elétrico entre o substrato e o eletrodo, maior é o ganho energético do metabolismo microbiano, mas, em contrapartida, menor é a ddp (V_{cel}) atingida pelo dispositivo. Assim, para maximizar a ddp da CCM, o potencial do ânodo deve ser mantido o menor possível, sem afetar a respiração. Caso contrário, a fermentação do substrato será

energeticamente favorável, limitando a geração de corrente elétrica (LOGAN et al., 2006; LOGAN, 2008).

Para que uma reação de oxidação ou redução ocorra, uma quantidade mínima de energia é necessária. Essa barreira energética é denominada de energia de ativação. Na CCM, os sobrepotenciais de ativação ocorrem durante a transferência de elétrons entre o mecanismo de TEE e o eletrodo (ânodo), ou do eletrodo para um composto químico (cátodo) (LOGAN et al., 2006, LOGAN, 2008, RISMAMI-YAZDI et al., 2008). Algumas estratégias empregadas para diminuir os sobrepotenciais por ativação incluem o aumento da temperatura de operação do sistema, o aumento da área dos eletrodos, a incorporação de catalisadores aos eletrodos e a utilização de mediadores artificiais (LOGAN et al., 2006; LOGAN, 2008; RISMAMI-YAZDI et al., 2008).

O sobrepotencial ôhmico representa a ddp necessária para a promoção do processo de transporte de cargas (prótons e elétrons) no sistema. Os sobrepotenciais ôhmicos incluem a resistência ao fluxo de elétrons através do eletrodo e suas interconexões e a resistência ao fluxo de íons através da membrana e nos eletrólitos da CCM. O η_{ohmic} é comumente bem descrito pela lei de Ohm (LOGAN et al., 2006; LOGAN, 2008; RISMAMI-YAZDI et al., 2008; ROZENDAL et al., 2008).

Normalmente o sobrepotencial ôhmico é dominado pelas resistências iônicas, uma vez que a condutividade de muitos eletrólitos, como efluentes domésticos ou industriais, é em muitas ordens de grandeza menor que a condutividade elétrica dos materiais dos eletrodos. A resistência ôhmica do eletrólito, R_{ion} (Ω), pode ser expressa pela Equação (2.12) (RISMAMI-YAZDI et al., 2008; ROZENDAL et al., 2008)

$$R_{ion} = \frac{l}{AR_T k_l} \quad (2.12)$$

na qual l é a distância entre os eletrodos (m), AR_T é a área da seção transversal perpendicular ao fluxo iônico (m^2), e k_l é a condutividade elétrica do eletrólito ($S m^{-1}$).

A redução dos sobrepotenciais ôhmicos pode ser alcançada reduzindo a distância entre os eletrodos de ambos os compartimentos e promovendo o aumento da condutividade iônica do eletrólito pela adição de sal e/ou soluções tampão. Uma opção é o emprego de CCM de compartimento único, minimizando assim a resistência iônica, uma vez que os eletrodos são arranjados muito próximos um do outro sendo separados apenas pela membrana catiônica. A membrana também é um

componente que interfere no processo, devendo-se optar por pequenas espessuras e elevadas áreas de transferência (LOGAN et al., 2006, LOGAN, 2008, RISMAMI-YAZDI et al., 2008; ROZENDAL et al., 2008).

Para micro-organismo exoeletrogênicos que utilizam um sistema direto de TEE, a resistência ao transporte de elétrons através do biofilme, por exemplo, pode contribuir com o sobrepotencial ôhmico.

Os sobrepotenciais de concentração ocorrem principalmente em altas densidades de corrente, onde os fenômenos de transferência de massa coordenam o processo. Quando a CCM é operada em altas densidades de corrente (baixa R_{ext}) há a formação de gradientes de concentração das espécies eletroativas sobre a superfície dos eletrodos. Estes gradientes de concentração resultam no aumento do potencial elétrico anódico ou na redução do potencial elétrico catódico. Limitações no transporte de massa associadas ao fluxo de substrato para o biofilme também são classificadas como sobrepotenciais de concentração (LOGAN et al., 2006; LOGAN, 2008; RASMAMI-YAZDI et al., 2008).

2.5.3 Potência

Há várias formas para analisar o desempenho de uma CCM. As mais utilizadas são as avaliações da potência e da eficiência de Coulomb (LOGAN, 2008). A potência P (W) pode ser calculada pela Equação (2.13).

$$P = IV_{cel} \quad (2.13)$$

Analogamente à densidade da corrente, a potência também pode ser normalizada por alguma característica do reator, pelo mesmo motivo mencionado anteriormente.

2.5.4 Análise de voltametria cíclica

A voltametria cíclica (VC) é uma técnica eletroquímica amplamente utilizada no estudo de reações eletroquímicas. Para realizar uma análise de VC é necessário um conjunto de eletrodos compostos por: um eletrodo de trabalho (ET), um eletrodo de referência (ER) e um contra eletrodo (CE). O método consiste em, a partir de um potencial inicial, variar o potencial do ET com velocidade de varredura constante até um potencial final e então retornar, à mesma velocidade, ao valor inicial. Um potenciostato é utilizado para controlar a ddp entre o ET e o

ER, e mensurar a corrente elétrica que flui do ET para o CE para cada potencial aplicado. A medida experimental consiste de gráficos de geração de corrente em função do potencial, conhecidos como voltamogramas (BARD; FAULKNER, 2001).

Quando o potencial do ET é mudado, dois tipos diferentes de corrente podem fluir: corrente capacitiva e corrente faradaica. A corrente faradaica é relacionada à reação de oxirredução que ocorre na superfície do ET. Ao alterar o potencial do eletrodo, a densidade de cargas na interface eletrodo/eletrólito também é alterada, provocando assim um fluxo transiente de corrente. Este fluxo de cargas não está relacionado a qualquer reação de oxirredução, sendo considerada como corrente de fundo da resposta de interesse ou corrente capacitiva. Para altas velocidades de escaneamento (ou seja, mudanças rápidas do potencial elétrico do ET) observam-se altas contribuições de corrente capacitiva na resposta, dificultando assim a verificação do sinal estudado. Quando a corrente elétrica é gerada (ou seja, reação de oxidação) chama-se de corrente anódica e quando a corrente elétrica é consumida (ou seja, reação de redução) chama-se de corrente catódica (BARD; FAULKNER, 2001).

2.5.5 Curva de polarização

Para obter uma curva de polarização é necessário um conjunto de resistores com valores conhecidos. Os diferentes resistores são utilizados na conexão elétrica entre o ânodo e o cátodo da célula eletroquímica, e com o suporte de um multímetro mensura-se a ddp desenvolvida no dispositivo para cada uma das resistências. Os valores de ddp são tomados quando o processo atinge o estado estacionário (ddp constante) e transformados em valores de corrente elétrica de acordo com a Lei de Ohm (Equação (2.5)). A medida experimental consiste de gráficos de geração de corrente elétrica em função da ddp, conhecidos como curvas de polarização.

A curva de polarização pode geralmente ser dividida em três zonas: (i) ddp máxima na densidade de corrente igual a zero, havendo uma diminuição acentuada da ddp com o aumento da corrente: nesta zona os sobrepotenciais por ativação são dominantes; (ii) a ddp cai de forma mais lenta sendo razoavelmente linear com a corrente: nesta zona os sobrepotenciais ôhmicos são dominantes, esta região segue a lei de Ohm; (iii) há uma rápida queda da ddp em altas densidades de corrente: zona dominada pelos sobrepotenciais de concentração (LOGAN et al., 2006).

Muitos trabalhos têm empregado a voltametria cíclica e a curva de polarização como as principais técnicas eletroquímicas na análise de CCM. Marsili et al. (2008a), Marsili et al. (2008b), Marsili, Sun e Bond (2010) e Jain et al. (2012) utilizaram estas análises no estudo de células eletroquímicas contendo cepas de *Shewanella* e *Geobacter*. Nestes trabalhos pode-se avaliar e caracterizar o desenvolvimento e a contribuição da biomassa aderida e do material suspenso na geração de corrente elétrica pelo dispositivo. Bond e Lovley (2003) utilizaram curvas de polarização para justificar que o material solubilizado em um reator inoculado com *G. sulfurreducens* não interferia no processo de geração de corrente. Torres et al. (2008) e Lee, Torres e Rittmann (2009) utilizaram análises de VC do biofilme anódico para modelar a cinética de respiração microbiana.

2.6 MODELAGEM MATEMÁTICA EM CCM

Células combustíveis microbianas são sistemas complexos. Processos biológicos, eletroquímicos e de transferência de massa apresentam uma forte interação, afetando o desempenho dispositivo. A investigação destas inter-relações contribui significativamente para o aprimoramento do sistema e a modelagem matemática é considerada uma opção muito interessante para este processo (PICIOREANU et al., 2007; RODRIGUEZ; PREMIER, 2010). Entretanto, até o momento um pequeno número de trabalhos, sobre modelagem matemática aplicada a CCM, está disponível na literatura.

Os modelos disponíveis na literatura para o processo de geração de energia elétrica na CCM se diferenciam de acordo com o número de espécies e componentes considerados importantes, com o nível de detalhamento de cada componente, em particular do biofilme, e pelas diferentes abordagens para modelar o mecanismo de transferência eletrônica.

No trabalho publicado por Zhang e Halme (1995), os pesquisadores formularam e validaram um modelo matemático para uma CCM de dois compartimentos, inoculada com micro-organismos oriundos de sedimentos marinhos do mar Báltico. A CCM consistia de três eletrodos catódicos dispostos paralelamente e separados do eletrodo anódico por uma membrana íon seletiva. Em ambos os compartimentos foram empregados eletrodos de grafite. Oxigênio solubilizado em água foi utilizado como AE no compartimento catódico. No compartimento anódico foi adicionado o composto 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (HNQ), o qual atua como mediador. O sistema era alimentado com uma solução

que incluía na formulação uma fração de carne de peixe como fonte de carbono e DE. As resistências (sobrepotencias) incluídas na descrição matemática do sistema consistem nas reações biológicas e eletroquímicas restritas ao compartimento anódico. A primeira é descrita por uma relação do tipo Monod e a segunda por uma reação cuja cinética é de primeira ordem. As limitações relacionadas aos processos de transferência de massa e à cinética das reações catódicas foram desconsideradas.

Picioreanu et al. (2007) apresentaram um modelo com formação de biofilme e com biomassa suspensa. Os processos bioeletroquímicos desenvolvidos no compartimento anódico foram integrados a um modelo IBM (*individual-based model*) para o biofilme e aos balanços de massa e de carga das espécies químicas envolvidas. A cinética eletroquímica é modelada baseada na equação de Butler-Volmer aplicada a um carreador eletrônico solúvel, assumido como único responsável pela transferência de elétrons para o ânodo. O transporte do mediador entre o micro-organismo e o eletrodo é modelado pela Lei de Fick e a cinética biológica segue uma relação do tipo modelo de Monod limitada pelas concentrações de DE e de mediador. O modelo fornece uma descrição multidimensional (2 D e 3 D) da formação e estrutura do biofilme, sendo capaz de prever resultados de densidade de corrente elétrica. A validação do modelo foi realizada utilizando-se os dados experimentais do trabalho de Bond e Lovley (2003). Neste, uma CCM de dois compartimentos foi inoculada com uma cultura pura de *G. sulfurreducens* e alimentada com acetato. Idênticas hastes de grafite foram utilizadas como eletrodos em ambos os compartimentos. No compartimento catódico oxigênio era fornecido como AE, borbulhando-se constantemente ar em água. Para estudar a cinética de desenvolvimento da biomassa, o potencial elétrico do ânodo foi mantido fixo em +200 mV vs Ag/AgCl com a utilização de um potenciostato. Picioreanu et al. (2007) utilizaram os dados experimentais de geração de corrente elétrica, obtidos com o potencial anódico fixo, na validação do modelo.

Picioreanu et al. (2008) estenderam o modelo proposto em 2007 incluindo novas cinéticas biológicas no equacionamento do fenômeno. As simulações numéricas deste modelo fornecem informações sobre o efeito que diferentes micro-organismos anaeróbios, presentes no ânodo, provocam na geração de corrente elétrica pela CCM.

Marcus, Torres e Rittmann (2007) propuseram um modelo para CCM com formação de biofilme no ânodo (1D). A principal consideração do modelo é que microrganismos ativos empregam um

sistema condutivo de transporte eletrônico. O biofilme é considerado uma extensão do eletrodo caracterizado por um coeficiente de condutividade. O fluxo de elétrons através do biofilme é modelado pela Lei de Ohm. Diferentemente ao modelo proposto por Picioreanu et al. (2007), no qual a biomassa ativa é limitada pela disponibilidade de substrato e de mediadores, Marcus, Torres e Rittmann (2007) propõem a limitação pela concentração de substrato e pelo potencial elétrico local no interior do biofilme. A cinética da reação biológica é descrita pela expressão de Nernst-Monod já as cinéticas das reações catódicas não são consideradas. O modelo cinético de Nernst-Monod foi posteriormente avaliada por Torres et al. (2008) e Lee, Torres e Rittmann (2009). Em ambos os trabalhos foram empregadas culturas puras de *G. sulfurreducens* em células combustíveis de dois compartimentos. Foram empregadas células de eletrólise microbiana (CEM), nas quais acetato era fornecido como DE. No compartimento catódico de uma CEM prótons e elétrons se combinam gerando hidrogênio (H_2). O potencial do ânodo era controlado por meio de um potenciostado. O modelo foi capaz de descrever adequadamente a limitação da cinética de geração de corrente em função do potencial elétrico e da concentração de DE. No entanto o desenvolvimento do biofilme não foi avaliado.

Picioreanu et al. (2010) propuseram o modelo para uma CCM com adição de mediador e ausência de biofilme. A estrutura do modelo, comparada ao modelo de Picioreanu et al. (2007) não considera a formação de biofilme e nem o crescimento da biomassa suspensa. A única limitação à transferência de massa está relacionada à fina camada de líquido estagnado na superfície do eletrodo. As cinéticas das reações biológicas e eletroquímicas no ânodo foram descritas pelas equações de Monod e Butler-Volmer, respectivamente. Um estudo de caso do modelo foi realizado a partir de dados experimentais disponíveis na literatura. Os parâmetros do modelo foram estimados a partir do trabalho de Delaney et al. (1984). Nesse trabalho, uma CCM de dois compartimentos foi inoculada como uma cultura pura de *Proteus vulgaris*. Ao reator foi adicionado tionina, como mediador, e glicose como DE. O eletrodo do compartimento anódico consistia de carbono vítreo reticulado e no compartimento catódico uma folha de platina. No cátodo foi utilizado ferrocianeto de potássio como AE. O modelo foi capaz de gerar adequadas previsões sobre a geração da corrente elétrica na CCM.

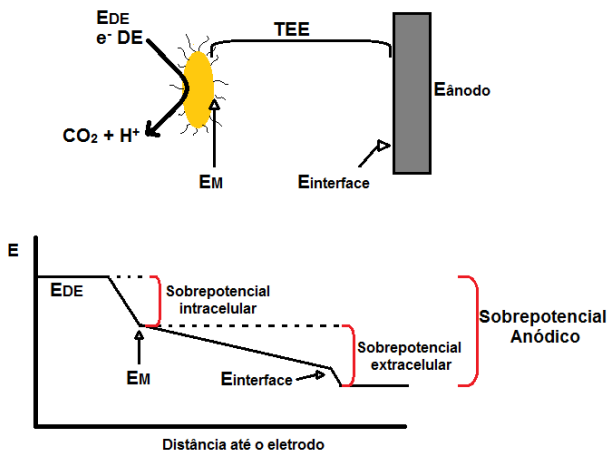
Zeng et al. (2010) modelaram uma CCM de dois compartimentos considerando o compartimento anódico e catódico como reatores CSTR, ou seja, negligenciando a formação de gradientes de concentração de

qualquer espécie química. O compartimento anódico foi inoculado com lodo ativado de uma estação de tratamento de efluentes e alimentado continuamente com acetato. Feltros de grafite foram empregados como eletrodos em ambos os compartimentos, porém, os eletrodos catódicos receberam uma camada de platina como catalisador. Água saturada de ar alimentava constantemente o cátodo. O modelo foi caracterizado por duas reações, uma referente ao ânodo e a outra ao cátodo. As cinéticas de ambas as reações foram descritas como funções da concentração de substrato (acetato no ânodo e oxigênio no cátodo) e dos sobrepotenciais de cada eletrodo respectivamente. Elas consistem do produto entre uma relação do tipo Monod e de Butler-Volmer. O modelo descreve os sobrepotenciais dos eletrodos como variáveis de estado e relaciona-os com a corrente e as cinéticas das reações através de um balanço de carga, assumindo constante a capacitância dos eletrodos. O modelo também inclui o transporte de íons através da membrana.

Pinto et al. (2010) propuseram um modelo que descreve a competição entre bactérias exoeletrogênicas e metanogênicas em uma CCM de compartimento único sem membrana. A CCM foi inoculada com lodo anaeróbio e alimentada continuamente com acetato. O eletrodo anódico consistia de feltro de grafite e o cátodo de um eletrodo de difusão gasosa. Ambos os eletrodos ficavam muito próximos, separados apenas por um tipo de tecido (Associated Brands LP, J-Cloth, EUA), com o cátodo ficando exposto diretamente ao ar. O modelo considera que as bactérias responsáveis pela geração de corrente elétrica só se desenvolvem aderidas ao eletrodo anódico e as metanogênicas se desenvolvem aderidas e suspensas no meio da reação. As limitações relacionadas aos fenômenos de transferência de massa foram negligenciadas e a geração de corrente elétrica é limitada exclusivamente pelas cinéticas das reações biológicas. As cinéticas biológicas são descritas por relações do tipo Monod.

Os sobrepotenciais elétricos considerados importantes na modelagem matemática de CCM estão associados especialmente às reações que ocorrem no compartimento anódico (ZHANG; HALME, 1995; PICIOREANU et al., 2007; TORRES; MARCUS; RITTMANN, 2007; PICIOREANU et al., 2008; PICIOREANU et al., 2010, PINTO et al., 2010; RODRIGUEZ; PREMIER, 2010). A Figura 2.6 ilustra os principais sobrepotenciais do ânodo e suas respectivas origens (NOLL, 2006; TORRES et al., 2010).

Figura 2.6 - Representação esquemática das principais origens de sobrepotencial do compartimento anódico. E_{DE} é o potencial elétrico do DE; E_M é o potencial elétrico das proteínas presentes na membrana celular (AE insolúvel); $E_{interface}$ é o potencial elétrico na interface do eletrodo. Fonte: Torres et al., 2010.



A Figura 2.6 expõe que os sobrepotenciais estão relacionados a reações de origem intra e extracelular. O sobrepotencial intracelular está associado ao metabolismo microbiano ($E_{DE} - E_M$), enquanto os sobrepotenciais de origem extracelular estão associados ao mecanismo de TEE ($E_M - E_{interface}$) e à reação de redução que ocorre na superfície do eletrodo ($E_{interface} - E_{anodo}$). Porém, existem vários outros tipos de sobrepotencial extracelular, além destes ilustrados na figura acima como, por exemplo, os sobrepotenciais relacionados aos mecanismos de transporte de massa e carga no interior do reator, que também podem interferir na geração de corrente e muitas vezes são incluídas através de equações de conservação junto ao equacionamento do fenômeno.

2.6.1 Sobrepotencial intracelular

Na oxidação de um DE, os microrganismos geram compostos intracelulares reduzidos na forma de carreadores de elétrons. Para gerar energia, esse carreador é oxidado pela transferência de seus elétrons para o sistema de TEE, o qual os descarrega a um aceptor final.

Quando a concentração de DE é a etapa limitante do processo, a densidade da corrente pode ser escrita usando uma equação do tipo Monod, Equação (2.14) (RITTMANN; McCARTY, 2001).

$$q_{DE} = q_{DEmax} X_A \frac{S_{DE}}{S_{DE} + K_{S_{DE}}} \quad (2.14)$$

na qual q_{DE} é a velocidade de utilização de substrato ($\text{g m}^{-3} \text{s}^{-1}$) (velocidade de consumo de DE por unidade de volume de solução no reator), q_{DEmax} é a velocidade específica máxima de utilização de substrato ($\text{g g}^{-1} \text{s}^{-1}$), S_{DE} é a concentração mássica de substrato (g m^{-3}), $K_{S_{DE}}$ é a concentração mássica de substrato (g m^{-3}) para $q_{DE} = 0,5q_{DEmax}X_A$, e X_A é a concentração mássica de biomassa ativa no volume de reação (g m^{-3}).

A Equação (2.14) pode ser adaptada para biomassa na forma de biofilme, sendo a velocidade de utilização do substrato expressa como o fluxo de substrato para o biofilme (Equação (2.15)) (RITTMANN; McCARTY, 2001).

$$J_{DE} = q_{DEmax,ap} \rho_f L_f f_a \frac{S_{DE}}{S_{DE} + K_{S_{DE},ap}} \quad (2.15)$$

na qual J_{DE} é o fluxo de substrato para o biofilme ($\text{g m}^{-2} \text{s}^{-1}$), $q_{DEmax,ap}$ é a velocidade específica máxima aparente de utilização de substrato ($\text{g g}^{-1} \text{s}^{-1}$), $K_{S_{DE},ap}$ é a concentração mássica aparente de substrato (g m^{-3}) para atingir $J_{DE} = 0,5q_{DEmax,ap}\rho_f L_f f_a$, f_a é a fração volumétrica de biomassa ativa no biofilme, ρ_f (g m^{-3}) e L_f (m) são a massa específica e a espessura do biofilme, respectivamente.

Os parâmetros cinéticos da Equação (2.15) são denominados aparentes, pois há a formação de gradientes de substrato no interior do biofilme que não são considerados na equação.

A velocidade de utilização do substrato nas Equações (2.14) e (2.15) é proporcional à velocidade na qual os elétrons são transferidos para o AE na respiração. No caso de um biofilme anódico, o fluxo de elétrons para o eletrodo é equivalente à densidade da corrente elétrica j (A m^{-2}) gerada no dispositivo (Equação (2.16)) (LEE; TORRES; RITTMANN, 2009).

$$j = F \gamma_s f e^0 J_{DE} = F \gamma_s f e^0 q_{DEmax,ap} \rho_f L_f f_a \frac{S_{DE}}{S_{DE} + K_{S_{DE},ap}} \quad (2.16)$$

na qual γ_s é a quantidade total de moles de elétrons que poderia ser oxidada por grama de DE (mol g^{-1}), F é a constante de Faraday (C mol^{-1}) e $f e^0$ é a eficiência de Coulomb.

O valor de j atinge um máximo quando $S_{DE} \gg K_{S_{DE},ap}$,

$$j_{max,ap} = \gamma_s f e^0 q_{DEmax,ap} \rho_f L_f f_a \quad (2.17)$$

na qual $j_{max,ap}$ é a densidade máxima da corrente elétrica (A m⁻²).

Substituindo a Equação (2.17) na Equação (2.16),

$$j = j_{max,ap} \frac{S_{DE}}{S_{DE} + K_{S_{DE},ap}} \quad (2.18)$$

A Equação (2.18) descreve um comportamento do tipo modelo de Monod em termos da densidade da corrente como uma forma representativa de limitação na geração de corrente elétrica apenas pela disponibilidade de substrato no reator (TORRES; MARCUS; RITTMANN, 2007; LEE; TORRES; RITTMANN, 2009).

Se a corrente elétrica for limitada pela disponibilidade do acceptor de elétrons, ela também pode ser modelada por uma relação do tipo Monod quando a bactéria utiliza um AE solúvel (mediadores). Neste caso, a relação é semelhante àquela descrita pela Equação (2.18), porém, em função da concentração do carreador na forma reduzida, como ilustrado na Equação (2.19) (PICIOREANU et al., 2007).

$$j = j_{max,ap} \frac{S_{AE}}{K_{S_{AE},ap} + S_{AE}} \quad (2.19)$$

na qual S_{AE} é a concentração mássica do acceptor de elétrons (g m⁻³).

No entanto, a Equação (2.19) não pode ser utilizada para descrever a resposta da corrente quando o acceptor de elétrons consiste de um sólido insolúvel (material que compõe o biofilme). Marcus, Torres e Rittmann (2007) consideram o biofilme um sólido condutor no qual os elétrons fluem do microrganismo para o eletrodo devido a um gradiente de potencial elétrico desenvolvido em seu interior. Para referenciar o biofilme como um AE e distingui-lo de um tradicional acceptor solúvel, o potencial elétrico do biofilme foi relacionado a uma concentração de AE utilizando a equação de Nernst.

$$E_M = E_{AE}^0 - \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{S_{AE}^0}{S_{AE}} \right) \quad (2.20)$$

na qual E_M é o potencial elétrico do AE insolúvel (V), E_{AE}^0 é o potencial elétrico padrão de redução do AE-anódico (V), R é a constante ideal dos gases (J mol K⁻¹), T é a temperatura (K), n é o número de moles de elétrons por mol de molécula envolvido na reação (mol mol⁻¹), S_{AE} é a concentração molar de AE (mol m⁻³) e S_{AE}^0 é a concentração molar padrão de AE-anódico (mol m⁻³).

Por convenção, foi assumido $n = 1$ e definido E_{KA} como o potencial elétrico quando $S_{AE} = K_{S_{AE},ap}$ e $j = 0,5j_{max,ap}$, assim:

$$E_{KA} = E_{AE}^0 - \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{S_{AE}^0}{K_{S_{AE},ap}} \right) \quad (2.21)$$

Substituindo as Equações (2.20) e (2.21) na Equação (2.19), obtém-se,

$$j = j_{max,ap} \left(\frac{1}{1 + \exp \left[-\frac{F}{RT} (E_M - E_{KA}) \right]} \right) \quad (2.22)$$

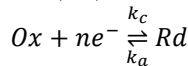
A Equação (2.22) é conhecida como modelo de Nernst-Monod. Qualitativamente, o potencial elétrico do ânodo-biofilme é análogo à concentração do AE, aceitando os elétrons da bactéria (MARCUS; TORRES; RITTMANN, 2007).

2.6.2 Sobrepotencial extracelular

Os principais processos cinéticos envolvidos nos sobrepotenciais de origem extracelular são o transporte de elétrons da bactéria para a superfície do ânodo e a reação eletroquímica na interface carreador eletrônico/eletrodo.

Experimentos têm demonstrado que as cinéticas de reações que ocorrem na interface solução/eletrodo são fortemente afetadas pelo potencial elétrico do eletrodo. Em células combustíveis, as cinéticas das reações de interface são frequentemente descrita pelo modelo de Butler-Volmer (BARD; FAULKER, 2001).

O modelo de Butler-Volmer é derivado de uma reação reversível ocorrendo na interface eletrodo/solução, onde uma espécie química, nas formas oxidada (Ox) e reduzida (Rd), troca n elétrons com o eletrodo.



Ambas as direções da reação ocorrem simultaneamente com velocidades, r_c e r_a ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), proporcionais à concentração de reagentes, $[Ox]$ e $[Rd]$ (mol m^{-3}) na superfície do eletrodo, conforme apresentado nas Equações (2.23) e (2.24).

$$r_c = k_c [Ox] \quad (2.23)$$

$$r_a = k_a [Rd] \quad (2.24)$$

na qual k_a e k_c são as constantes da velocidade da reação (m s^{-1}).

Nesta reação, os elétrons são consumidos e liberados simultaneamente, portanto, a corrente líquida de transferência eletrônica é dada pela diferença entre o consumo e a geração de elétrons.

$$j = nF(k_c[Ox] - k_a[Rd]) \quad (2.25)$$

No modelo de Butler-Volmer, as constantes de velocidade da reação variam com a temperatura e o potencial elétrico do eletrodo, sendo bem descritas por relações do tipo Arrhenius. A Equação (2.26) ilustra o modelo de Butler-Volmer (BARD; FAULKER, 2001).

$$j = j_0 \left\{ \exp \left[-\frac{\alpha nF(E_{anodo} - E_{interface}^0)}{RT} \right] - \exp \left[\frac{(1 - \alpha)nF(E_{anodo} - E_{interface}^0)}{RT} \right] \right\} \quad (2.26)$$

na qual j_0 é a densidade de corrente de intercâmbio do sistema – grandeza característica da reação e do material do eletrodo (A m^{-2}), $E_{interface}^0$ é o potencial padrão da reação ocorrente na interface do eletrodo (V) e α é uma constante cujo valor varia entre 0 e 1.

O valor de α está relacionado à simetria da barreira da energia de ativação da reação, sendo $\alpha = 0,5$ uma aproximação usualmente assumida nos estudos eletroquímicos (BARD; FAULKER, 2001).

O modelo de Butler-Volmer é válido para ambas os compartimentos, ânodo e cátodo, em uma célula combustível (BARD; FAULKER, 2001). Nos modelos propostos por Piciooreanu et al. (2007) e Zeng et al. (2010), as cinéticas das reações que ocorrem na superfície do eletrodo foram baseadas na equação de Butler-Volmer.

Embora os mediadores aumentem a atividade bacteriana por unidade de área superficial do eletrodo, a distância entre o micro-organismo e o ânodo torna-se um fator limitante (PICIOREANU et al., 2007). O transporte do mediador entre a bactéria e o eletrodo ocorre predominantemente por difusão. Desta forma, é possível descrever a densidade da corrente elétrica com a utilização da Lei de Fick quando o fluxo do mediador na direção do eletrodo é a etapa limitante do processo. A Equação (2.27) descreve a densidade da corrente elétrica em termos do fluxo difusivo molar do mediador para um sistema unidirecional com propriedades físicas constantes.

$$j = nF \frac{D_M \Delta S_M}{\Delta z} \quad (2.27)$$

na qual D_M é o coeficiente de difusão do mediador no meio ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$), Δz é a distância de transporte e ΔS_M é a diferença de concentração molar do mediador (mol m^3).

A Lei de Fick também pode ser empregada para contabilizar as perdas de potencial relacionadas às concentrações de substrato no interior de biofilmes, como demonstram os modelos de Marcus, Torres e Rittmann (2007) e Picioreanu et al. (2007).

No mecanismo de transferência através de um sólido condutor, a velocidade de transferência de elétrons do micro-organismo para o eletrodo é restrita pela condutividade da matriz do biofilme. Marcus, Torres e Rittmann (2007) empregaram a Lei de Ohm para modelar o mecanismo de TEE através do biofilme. A Equação (2.27) descreve o fluxo eletrônico em um sólido condutor para um sistema unidirecional.

$$j = -k_{bio} \frac{\Delta E_{biofilme}}{\Delta z} \quad (2.28)$$

na qual k_{bio} é a condutividade elétrica do biofilme (S m^{-1}) e $\Delta E_{biofilme}$ é a diferença de potencial elétrico no interior do biofilme (V).

A Equação (2.28) descreve que fluxo eletrônico do microrganismo para o eletrodo é proporcional a uma diferença na atividade de elétrons ao longo da espessura do biofilme

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 INÓCULO E MEIO DE CULTIVO

Sedimento de origem marinha coletado no estuário da Lagoa dos Patos, litoral sul do Brasil, estado do Rio Grande de Sul, foi utilizado como inóculo para a CCM.

O meio de cultivo empregado era composto de NaHCO_3 ($2,5 \text{ g L}^{-1}$), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($0,1 \text{ g L}^{-1}$), KCl ($0,1 \text{ g L}^{-1}$), NH_4Cl ($1,5 \text{ g L}^{-1}$), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ($0,6 \text{ g L}^{-1}$), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ($1,87 \text{ g L}^{-1}$), NaCl ($0,1 \text{ g L}^{-1}$), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($0,1 \text{ g L}^{-1}$), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($0,1 \text{ g L}^{-1}$), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($0,005 \text{ g L}^{-1}$), $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($0,001 \text{ g L}^{-1}$) e extrato de levedura ($0,05 \text{ g L}^{-1}$).

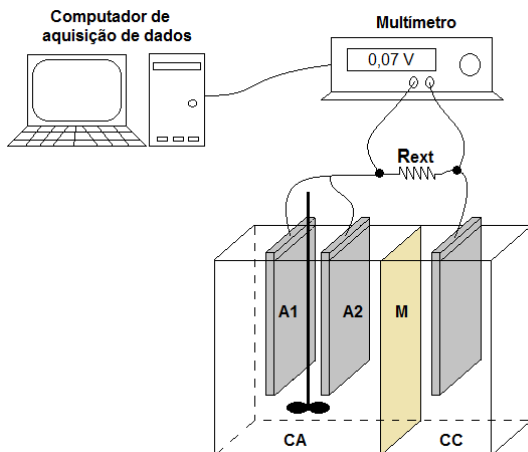
Como fonte de energia (DE) e carbono, utilizou-se o íon acetato (CH_3COO^-) nas concentrações de 5 g L^{-1} e 10 g L^{-1} de DQO. A massa dos componentes do meio de cultivo foi mensurada em balança analítica (Gehaka, AG220S, Brasil).

3.2 SISTEMA EXPERIMENTAL

O volume total da CCM foi de 2,5 L, sendo 60% destinado ao compartimento anódico (1,5 L) e 40% dedicados ao compartimento catódico (1 L), ambos os compartimentos foram separados por uma membrana catiônica (Membranes International Incorp., CMI-7000S, EUA).

O compartimento anódico foi mantido em limitação de oxigênio e sob agitação constante por meio de um impelidor a 300 rpm, mantendo o sistema homogêneo e evitando a sedimentação da biomassa. Neste compartimento, foram introduzidos dois eletrodos anódicos a 5 e a 10 cm da membrana. Os eletrodos foram conectados em paralelo ao eletrodo catódico, localizado na câmara catódica, a 5 cm da membrana. Os eletrodos eram compostos de placas de grafite com área superficial de 115 cm^2 cada. A Figura 3.1 ilustra a configuração da CCM, na qual as siglas CA e CC indicam o compartimento anódico e o compartimento catódico, respectivamente, a sigla M indica a membrana catiônica e as siglas A1 e A2 indicam os dois eletrodos anódicos posicionados a 10 e a 5 cm da membrana catiônica.

Figura 3.1 - Representação esquemática da CCM experimental.



No compartimento catódico adicionou-se uma solução de ferrocianeto de potássio ($K_3Fe(CN)_6$), com concentração de 50 mM, como acceptor final dos elétrons. Um circuito elétrico externo, com resistência (R_{ext}) de 1 k Ω , conectava os eletrodos de ambos os compartimentos da CCM. A diferença de potencial elétrico (ddp) foi medida em multímetro digital de bancada (Icel, MD6680, Brasil) com auxílio de um *software* (Icel, UT803 versão 1.00, Brasil) para aquisição e registro dos dados em um terminal computador a cada 60 s. A temperatura do sistema foi mantida a 35 °C pelo acondicionamento da CCM em câmara termostatazada (Eletrolab, modelo EL101/2, Brasil).

3.3 CONDIÇÕES OPERACIONAIS

A CCM foi inoculada com a suspensão obtida pela mistura da suspensão de sedimento marinho com de meio de cultivo a 5 g L⁻¹ de DQO na proporção 2:1. A concentração inicial de sólidos suspensos totais (SST) foi de 43,5 g L⁻¹. Durante dois dias, a CCM foi operada em modo batelada (período de *start up*) e na sequência foram iniciados os ciclos operacionais compostos alternadamente pelos regimes de batelada sequencial (*sequential batch reactor*) (SBR) e contínuo (CON).

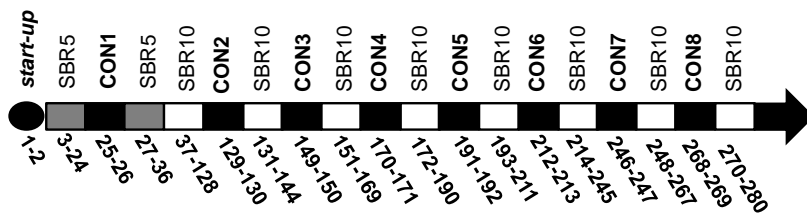
No regime de batelada sequencial era realizado o reciclo parcial de células oriundas da renovação diária de 0,3 L do fluido anódico. Os ciclos de alimentação de 24 h realizados durante o regime de SBR foram realizados, por meio da renovação do efluente anódico, conforme

procedimentos descritos a seguir: alimentação de 0,3 L de meio de cultivo, contendo 75% dos sólidos presentes no efluente retirado do reator (0,2 h); mistura e reação química para conversão bioeletroquímica (23 h); remoção do efluente do reator (0,2 h); separação dos sólidos suspensos no efluente do reator (0,6 h). Este último procedimento foi realizado em centrífuga (Hitachi, modelo CR22 GIII, Japão), com velocidade de rotação ajustada em 18.800 g. Parte dos sólidos (75%) obtidos pela centrifugação eram suspensos na solução de alimentação e retornavam ao sistema, reestabelecendo o volume de líquido no reator. Durante o procedimento de renovação do meio de cultivo a agitação no compartimento era temporariamente interrompida.

O regime contínuo (CON) foi realizado com diferentes vazões de meio de cultivo durante 24 horas. O procedimento foi realizado com o emprego de uma bomba peristáltica (Milan, BP-200, Brasil) conectada ao compartimento anódico. Nos duzentos e oitenta dias de operação, o reator foi operado em modo contínuo por oito vezes, nas vazões de alimentação de $2,70 \text{ L d}^{-1}$ (CON1), $2,50 \text{ L d}^{-1}$ (CON2), $1,77 \text{ L d}^{-1}$ (CON3), $2,77 \text{ L d}^{-1}$ (CON4), $2,50 \text{ L d}^{-1}$ (CON5), $4,60 \text{ L d}^{-1}$ (CON6), $9,66 \text{ L d}^{-1}$ (CON7) e $17,43 \text{ L d}^{-1}$ (CON8). Após cada regime contínuo, retomava-se a operação em regime de batelada sequencial na CCM.

A Figura 3.2 apresenta uma linha de tempo que ilustra os ciclos operacionais utilizados na CCM ao longo dos duzentos e oitenta dias de operação. Durante as duas primeiras etapas de batelada sequencial, a concentração do íon acetato na solução de alimentação foi 5 g L^{-1} de DQO (SBR5), e as demais foram conduzidas na concentração de 10 g L^{-1} de DQO (SBR10).

Figura 3.2 - Regime operacional da CCM ao longo dos duzentos e oitenta dias de operação. Legenda: ● *Start up*, ■ Contínuo, ■ Batelada sequencial 5 g L^{-1} de DQO, □ Batelada sequencial 10 g L^{-1} de DQO.



O compartimento catódico foi operado em regime de batelada sequencial, por meio da renovação total da solução de ferrocianeto de

potássio. O compartimento catódico era esvaziado e seu volume reestabelecido com a nova solução na concentração de 50 mM. Durante a operação da CCM foram realizadas no total, vinte e três renovações da solução catódica, as quais ocorreram nos dias: 8, 13, 20, 22, 44, 55, 70, 90, 105, 118, 132, 146, 157, 167, 177, 188, 199, 209, 220, 230, 244, 254 e 265 do experimento.

3.4 ANÁLISE QUÍMICA

Os sólidos suspensos foram obtidos através de filtração em membrana de acetato de celulose (0,45 μm) e posterior secagem por 15 minutos a potência de 180 W, de acordo com metodologia apresentada por Olsson e Nielsen (1997).

3.5 ANÁLISES ELETROQUÍMICAS

Análises de voltametria cíclica (VC), curvas de polarização e a medida da corrente elétrica gerada pela CCM durante a operação foram os procedimentos eletroquímicos empregados na identificação do mecanismo de TEE e na caracterização da cinética de respiração microbiana do inóculo de origem marinha.

3.5.1 Densidade da corrente elétrica

A densidade da corrente elétrica j (A m^{-2}) foi determinada pela Equação (3.1), através da medida da ddp (V_{cel}) desenvolvida pela CCM (V) no circuito elétrico com resistência conhecida R_{ext} (Ω).

$$j = \frac{1}{AR_{anodo}} \left(\frac{V_{cel}}{R_{ext}} \right) \quad (3.1)$$

na qual AR_{anodo} é a área total dos eletrodos anódicos ($AR_{anodo} = A1 + A2 = 0,023 \text{ m}^2$).

3.5.2 Voltametria cíclica (VC)

As análises de VC foram realizadas na CCM concebida para o estudo do biofilme e em uma célula eletroquímica para o estudo do material suspenso em solução. O material suspenso em solução consistia do efluente dos processos de lavagem.

Todas as análises foram realizadas empregando-se um potenciostato (Metrohm, PGSTAT 101, Suíça) e eletrodo de Ag/AgCl

KCl 3M (Metrohm, 6.0726.100, Suíça) como eletrodo de referência (ER). Nas análises de CV realizadas na CCM foram empregados o eletrodo A2 e o eletrodo do compartimento catódico como eletrodo de trabalho (ET) e contra eletrodo (EC), respectivamente. O eletrodo A2 foi selecionado por estar mais próximo ao EC (menor resistência ôhmica).

No estudo do material suspenso, as análises foram conduzidas em uma célula eletroquímica com três eletrodos e volume útil de 40 mL. Nesta célula foi empregado um eletrodo de carbono vítreo (Metrohm, OD = 6 mm, ID = 1,6 mm, QA017, Suíça) como ET e um eletrodo de platina (Metrohm, 6.0331.000, Suíça) como EC. Os parâmetros selecionados para a realização da técnica foram: $E_{\text{inicial}} = -0,6 \text{ V}$ (vs Ag/AgCl), $E_{\text{final}} = 0,0 \text{ V}$ (vs Ag/AgCl), tempo de equilíbrio de 5 s, velocidades de escaneamento de 0,2, 1, 2,5, 5 e 10 mV s^{-1} e 3 ciclos por análise. Para as análises de VC do material suspenso, foram utilizados os mesmos parâmetros, exceto a taxa de escaneamento de 2,5 mV s^{-1} .

O intervalo de -0,6 a 0,0 V (em relação ao eletrodo padrão de hidrogênio -0,378 a 0,222 V vs EPH) foi selecionado a fim de evitar injúrias às células decorrentes de elevados potenciais de redução ou oxidação e, ao mesmo, tempo garantir a avaliação do processo de oxidação de interesse. Esta faixa de trabalho é semelhante àquela empregada em estudos com alguns microrganismos da espécie *Geobacter* e *Shewanella* (-0,558 a 0,242 V vs EPH) (MARSILI et al., 2008a; MARSILI et al., 2008b, MARSILI; SUN; BOND, 2010).

Em uma análise de VC o potencial elétrico do ET é modificado a uma determinada velocidade e esta tem efeito sobre a corrente elétrica mensurada em cada potencial. A corrente elétrica resultante é constituída por duas componentes, uma corrente faradaica (relativa à reação de oxirredução) e uma corrente capacitiva (corrente transiente provocada por mudanças de carga na interface eletrodo-solução). Para altas taxas de escaneamento, elevadas correntes capacitivas podem ser geradas, sobrepondo-se significativamente ao sinal de interesse. Geralmente, em eletrodos cobertos por biofilmes, a corrente capacitiva mascara a corrente faradaica. Desta forma, as baixas velocidades de escaneamento selecionadas buscaram reduzir os efeitos da corrente capacitiva na resposta da análise (HARNISCH; FREGIA, 2012). Segundo LaBelle e Bond (2010), em análises de VC em CCM o potencial elétrico é alterado em velocidades de 1 a 10 mV s^{-1} .

Em velocidades de escaneamento lentas, por hipótese, para cada potencial aplicado a velocidade da reação de oxidação estabelece o estado estacionário, refletindo, na resposta fisiológica da biomassa (comportamento catalítico do biofilme) em cada condição.

As análises de VC empregadas para a modelagem da cinética microbiana foram realizadas a partir do 160º dia de operação do sistema, garantindo-se o completo desenvolvimento do biofilme exoeletrogênico sobre o eletrodo. Apenas as análises de VC nas velocidades de escaneamento que revelavam o comportamento catalítico do biofilme foram utilizadas na modelagem. Oito conjuntos de análises de VC (em diferentes velocidades) foram realizados. Os dias do experimento em que se procederam as análises foram: 161, 182, 195, 206, 220, 226, 256 e 276.

Os regimes contínuos no reator eram conduzidos em períodos de 24 horas. Durante a operação, amostras de efluente (40 mL) eram coletadas e conduzidas para a célula eletroquímica na qual foram realizadas as análises de VC do material suspenso. Amostras de efluente eram obtidas nos intervalos de tempo de 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21 horas após o início do regime contínuo.

3.5.3 Curva de polarização

As curvas de polarização foram geradas através da variação da resistência externa do circuito, empregando-se resistores na faixa de 5 a 35.000 Ω . Cada resistência (R_{ext}) era mantida na CCM o tempo suficiente para que a ddp desenvolvida no dispositivo estabilizasse. A diferença de potencial elétrico (ddp) foi medida em multímetro digital de bancada (Icel, MD6680, Brasil) e as leituras de ddp eram tomadas apenas após a estabilização de seu valor.

Este procedimento foi realizado para: a) circuito 1, que compreende o eletrodo A1 e o eletrodo catódico; b) circuito 2, que compreende o eletrodo A2 e o eletrodo catódico. A densidade da corrente elétrica foi determinada pela Equação 3.1.

Foram realizadas no total 24 curvas de polarização, sendo doze delas para o circuito 1 e doze para o circuito 2. Os dias em que se procederam as análises foram: 154, 167, 177, 188, 196, 209, 216, 230, 244, 252, 265 e 272.

As resistências ôhmicas (R_{ohm}) dos circuitos foram estimadas, através da análise gráfica da curva de polarização na região de queda constante da ddp em função corrente, Equação 3.2 (LOGAN, 2006).

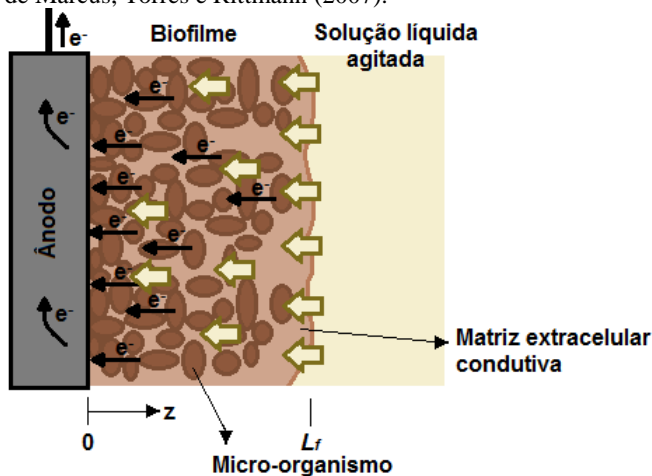
$$R_{ohm} = \frac{\Delta V_{cel}}{\Delta I} \quad (3.2)$$

3.6 MODELAGEM MATEMÁTICA

A modelagem matemática da cinética de respiração microbiana sob a influência do potencial elétrico do ânodo foi baseada na proposta de Marcus, Torres e Rittmann (2007). O compartimento anódico e os componentes conceitualmente importantes considerados no modelo estão representados esquematicamente na Figura 3.3.

O biofilme é considerado composto de micro-organismos ativos e de biomassa inerte (matriz extracelular), desenvolvendo-se perpendicularmente à superfície do eletrodo e utilizando um sistema condutivo como mecanismo de TEE. O substrato presente na solução líquida agitada difunde para o interior do biofilme (setas amarelas), sendo consumido pelos micro-organismos exoletrogênicos dando origem aos elétrons que serão transportados para o ânodo através do material extracelular que compõe o biofilme (setas pretas). A hipótese de que os micro-organismos possam utilizar um sólido condutor como mecanismo de TEE é suportado principalmente pela descoberta de que alguns micro-organismos utilizam nanofios como mecanismo de transferência de elétrons (REGUERA et al., 2005; GORBY, et al., 2006).

Figura 3.3 - Representação esquemática do compartimento anódico para o modelo de Marcus, Torres e Rittmann (2007).



Para modelar a cinética microbiana foi utilizado o modelo de dupla limitação de Nernst-Monod, o qual descreve que a velocidade de

utilização do doador de elétrons é limitada tanto pela disponibilidade de substrato quanto pelo potencial elétrico no interior do biofilme (MARCUS; TORRES; RITTMANN, 2007). Para a biomassa aderida, a cinética microbiana é expressa como o fluxo de DE para o interior do biofilme de acordo com a Equação (3.3).

$$J_{DE}(z) = q_{max}\rho_f f_a L_f \left[\frac{S_{DE}(z)}{S_{DE}(z) + K_{DE,ap}} \right] \left\{ \frac{1}{1 + \exp\left[-\frac{F}{RT}\eta(z)\right]} \right\} \quad (3.3)$$

na qual, $J_{DE}(z)$ é o fluxo mássico de DE em uma dada posição espacial no interior do biofilme ($\text{g m}^{-2} \text{s}^{-1}$), q_{max} é a velocidade específica máxima de consumo do DE ($\text{g g}^{-1} \text{s}^{-1}$), ρ_f é a massa específica do biofilme (g m^{-3}), f_a é a fração volumétrica de biomassa ativa, L_f é a espessura do biofilme (m), $\eta(z) = E_{biofilme}(z) - E_{K_A}$, $E_{biofilme}(z)$ é o potencial elétrico em uma dada posição espacial do biofilme (V), E_{K_A} potencial elétrico do biofilme (V) para que $J_{DE} = 0,5q_{max}\rho_f f_a L_f$, $S_{DE}(z)$ é a concentração mássica do DE (g m^{-3}) em uma dada posição espacial do biofilme, K_{DE} é a concentração mássica de DE (g m^{-3}) para que $J_{DE} = 0,5q_{max}\rho_f f_a L_f$, F é a constante de Faraday (C mol^{-1}), R é a constante universal dos gases ($\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$) e T é a temperatura do sistema (K).

Os experimentos de voltametria cíclica e as curvas de polarização, empregados para a modelagem da cinética microbiana, eram realizados sempre após os períodos de alimentação diária (10 g L^{-1} de DQO em 20% do volume do ânodo), ou seja, em concentrações iniciais do íon acetato de aproximadamente 32,3 mM no compartimento anódico. Em reatores com formação de biofilmes de *Geobacteraceae*, quando a concentração do íon acetato é maior que 5 mM, acetato adicional não tem qualquer efeito sobre a taxas de geração de corrente (LaBELLE; BOND, 2010). Torres et al. (2008), para garantir que a concentração de DE não representasse um fator de limitação na geração da corrente, mantinham a concentração de acetato no reator acima de 22 mM. No trabalho apresentado por Lee et al. (2009), para minimizar os efeitos da limitação de substrato, foi utilizado uma concentração de 10 mM. Marsili et al. (2008b) mostraram que a corrente elétrica era somente afetada em concentrações de acetato menores que 3 mM.

Essas observações suportam a hipótese de que a geração de corrente elétrica nas análises de VC e curva de polarização do reator não foi limitada pela oferta de DE, mas apenas pelo potencial elétrico aplicado ao ânodo. Assim, na Equação (3.3), o termo referente à

limitação de DE, $\left(\frac{S_{DE}}{S_{DE}+K_{S_{DE}}}\right)$, foi aproximado para a unidade, e os efeitos provocados pela limitação ao transporte de massa foram desconsiderados.

A velocidade de utilização de DE microbiana é proporcional à velocidade na qual os elétrons são transferidos para o AE na respiração. No caso de um biofilme anódico, o fluxo de elétrons para o AE (eletrodo) é equivalente à densidade da corrente elétrica (LEE; TORRES; RITTMANN, 2009). Considerando desprezível o efeito do transporte eletrônico ao longo do biofilme, a cinética microbiana pode ser então analisada em termos da densidade da corrente através da Equação (3.4).

$$j = F\gamma_s f e^0 q_{max} \rho_{fa} f_a L_f \left[\frac{1}{1 + \exp\left(-\frac{F}{RT} \eta^*\right)} \right] = j_{max} \left[\frac{1}{1 + \exp\left(-\frac{F}{RT} \eta^*\right)} \right] \quad (3.4)$$

na qual $\eta^* = E_{anodo} - E_{K_A}$, E_{anodo} é o potencial elétrico do ânodo (V), γ_s é a quantidade total de moles de elétrons que poderia ser oxidada por grama de DE (mol g^{-1}), $f e^0$ é a fração de elétrons transferida para o eletrodo e j_{max} é a densidade de corrente elétrica máxima gerada pelo biofilme (A m^{-2}).

No entanto, se o transporte de elétrons através do biofilme afetar a geração de corrente elétrica a Equação (3.4) não pode ser empregada na sua forma original. Para obter o fluxo de elétrons no biofilme foi utilizada a Lei de Ohm descrita pela Equação (3.5) para um sistema unidirecional (MARCUS; TORRES; RITTMANN, 2007),

$$j(z) = -k_{bio} \frac{d\eta(z)}{dz} \quad (3.5)$$

na qual k_{bio} é a condutividade elétrica da biomassa aderida (S m^{-1}).

Quando a k_{bio} desempenha papel importante na limitação da geração da corrente elétrica, há a formação de gradientes de potencial elétrico no interior do biofilme. A distribuição espacial de cargas foi descrita pelo balanço diferencial de acordo com a Equação (3.6).

$$\frac{dj(z)}{dz} + F\gamma_s f e^0 q_{max} \rho_{fa} f_a \left\{ \frac{1}{1 + \exp\left[-\frac{F}{RT} \eta(z)\right]} \right\} = 0 \quad (3.6)$$

na qual o primeiro termo descreve a variação na densidade da corrente através da extensão do biofilme e o segundo termo representa a geração de elétrons devido ao metabolismo microbiano (termo fonte).

Combinando as Equações (3.5) e (3.6), e substituindo $F\gamma_s f e^0 q_{max} \rho_f a f_a = j_{max}/L_f$, obteve-se a expressão que descreve o gradiente de potencial elétrico no interior do biofilme (Equação (3.7)).

$$\kappa_{bio} \frac{d^2 \eta(z)}{dz^2} - \frac{j_{max}}{L_f} \left\{ \frac{1}{1 + \exp \left[-\frac{F}{RT} \eta(z) \right]} \right\} = 0 \quad (3.7)$$

A solução única da Equação (3.7) requer duas condições de contorno: o potencial elétrico é constante na interface ânodo/biofilme (Equação (3.8)) e a ausência de fluxo eletrônico na interface biofilme/solução (Equação (3.9)):

$$z = 0, \quad \eta = V_{\hat{a}nodo} \quad (3.8)$$

$$z = L_f, \quad \kappa_{bio} \frac{\partial \eta}{\partial z} = 0 \quad (3.9)$$

na qual $V_{\hat{a}nodo}$ é definido em relação ao E_{KA} , $V_{\hat{a}nodo} = E_{\hat{a}nodo} - E_{KA}$.

Assim, considerando o efeito do mecanismo de TEE, a cinética microbiana pode ser analisada em termos da densidade da corrente pelo sistema formado pelas Equações (3.5), (3.7), (3.8) e (3.9).

Definindo-se a coordenada espacial adimensional $\xi \in [0,1]$ como $\xi = z/L_f$ e rearranjando as equações na nova coordenada, obtêm-se o sistema de Equações (3.10), (3.11), (3.12) e (3.13) na qual C é um parâmetro definido como a razão k_{bio}/L_f , sendo que $C^{-1} = L_f/k_{bio}$ pode ser interpretado como uma resistência do biofilme à transferência de elétrons.

$$j = -C \left(\frac{d\eta}{d\xi} \right)_{\xi=0} \quad (3.10)$$

$$C \frac{d^2 \eta}{d\xi^2} - j_{max} \left[\frac{1}{1 + \exp \left(-\frac{F}{RT} \eta \right)} \right] = 0 \quad (3.11)$$

$$\eta_{\xi=0} - V_{\hat{a}nodo} = 0 \quad (3.12)$$

$$C \frac{d\eta}{d\xi} \Big|_{\xi=1} = 0 \quad (3.13)$$

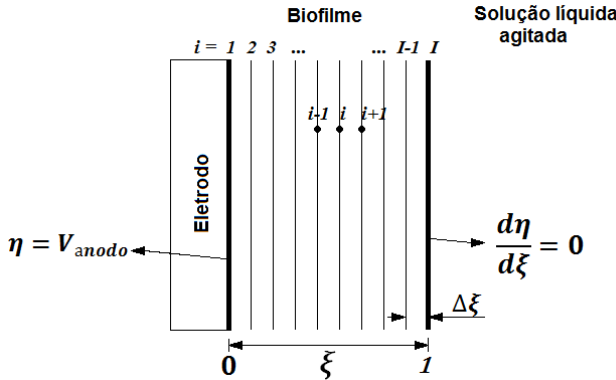
3.6.1 Solução numérica

A solução do sistema de equações baseou-se no Método das Diferenças Finitas (MDF), o qual utiliza a aproximação das derivadas da função incógnita do modelo, $\eta(\xi)$, por equações das diferenças em um intervalo finito ($\Delta\xi$). Estas aproximações foram obtidas pelo truncamento no segundo termo da expansão em série de Taylor das respectivas derivadas (PATANKAR, 1980).

O domínio matemático do modelo foi redefinido e transformado em um conjunto discreto de valores da variável dependente (η) em valores pré-determinados da variável independente (ξ). Seja $\eta(\xi)$ a função definida no intervalo $0 \leq \xi \leq 1$ e este intervalo representado pelo conjunto $\xi = 0, \xi_1, \xi_2, \dots, 1$. Desse modo, a representação discreta de $\eta(\xi)$ é $\eta_i = (n(0), n(\xi_1), n(\xi_2), \dots, n(1))$ onde o valor $\eta(\xi_i)$ é representado por η_i .

O intervalo discretizado (malha computacional) foi representado por cinquenta pontos com um espaçamento fixo ($\Delta\xi$) de 1/49 entre cada. A Figura 3.4 ilustra a malha computacional utilizada.

Figura 3.4 - Representação esquemática do domínio matemático sobre o biofilme discretizado para a solução numérica do modelo.



Para o cálculo do gradiente de potencial elétrico e do fluxo de elétrons entre o biofilme e o eletrodo, o sistema de equações não lineares, apresentado na forma discretizada pelas Equações (3.14) (biofilme, $1 < i < I$), (3.15) (interface ânodo/biofilme, $i = 1$) e (3.16) (interface biofilme/solução, $i = I$), foi solucionado pelo método de Newton para sistemas não lineares (BURDEN; FAIRES, 2011).

$$-\eta_{i+1} + 2\eta_i - \eta_{i-1} + \Delta\xi^2 \frac{j_{max}}{C} \left\{ \frac{1}{1 + \exp\left[-\frac{F}{RT}\eta_i\right]} \right\} = 0 \quad (3.14)$$

$$\eta_1 - V_{anodo} = 0 \quad (3.15)$$

$$-2\eta_{l-1} + 2\eta_l + \Delta\xi^2 \frac{j_{max}}{C} \left\{ \frac{1}{1 + \exp\left[-\frac{F}{RT}\eta_l\right]} \right\} = 0 \quad (3.16)$$

Neste método para sistemas não lineares, é gerada uma sequência de iterações $(\eta_1^k, \eta_2^k, \eta_3^k, \dots, \eta_{l-1}^k, \eta_l^k)$ que converge para a solução contanto que a aproximação inicial $(\eta_1^1, \eta_2^1, \eta_3^1, \dots, \eta_{l-1}^1, \eta_l^1)$ esteja suficientemente próxima da solução $(\eta_1, \eta_2, \eta_3, \dots, \eta_{l-1}, \eta_l)$ e que a matriz Jacobina do sistema exista. A estrutura iterativa para a aplicação do método é representada pela Equação (3.17).

$$\boldsymbol{\eta}^{(k+1)} = \boldsymbol{\eta}^{(k)} - \mathbf{J}(\boldsymbol{\eta}^{(k)})^{-1} \mathbf{F}(\boldsymbol{\eta}^{(k)}) \quad (3.17)$$

na qual \mathbf{k} é o contador iterativo do método, $\boldsymbol{\eta}$ é o vetor com l componentes, $\mathbf{F}(\boldsymbol{\eta})$ é a função vetorial de variável vetorial e $\mathbf{J}(\boldsymbol{\eta})$ é a matriz Jacobiana de $\mathbf{F}(\boldsymbol{\eta})$, isto é,

$$\boldsymbol{\eta} = (\eta_1, \eta_2, \eta_3, \dots, \eta_{l-1}, \eta_l) \quad (3.18)$$

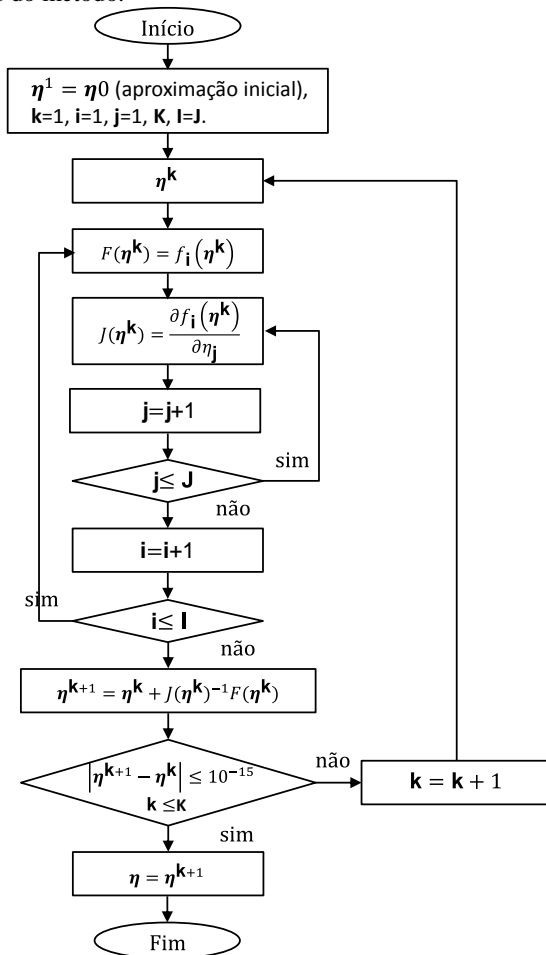
$$\mathbf{F}(\boldsymbol{\eta}) = (f_1(\boldsymbol{\eta}), f_2(\boldsymbol{\eta}), f_3(\boldsymbol{\eta}), \dots, f_{l-1}(\boldsymbol{\eta}), f_l(\boldsymbol{\eta})) \quad (3.19)$$

$$\mathbf{J}(\boldsymbol{\eta}) = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1(\boldsymbol{\eta})}{\partial \eta_1} & \frac{\partial f_1(\boldsymbol{\eta})}{\partial \eta_2} & \dots & \frac{\partial f_1(\boldsymbol{\eta})}{\partial \eta_l} \\ \frac{\partial f_2(\boldsymbol{\eta})}{\partial \eta_1} & \frac{\partial f_2(\boldsymbol{\eta})}{\partial \eta_2} & \dots & \frac{\partial f_2(\boldsymbol{\eta})}{\partial \eta_l} \\ \vdots & \vdots & \dots & \vdots \\ \frac{\partial f_l(\boldsymbol{\eta})}{\partial \eta_1} & \frac{\partial f_l(\boldsymbol{\eta})}{\partial \eta_2} & \dots & \frac{\partial f_l(\boldsymbol{\eta})}{\partial \eta_l} \end{bmatrix} \quad (3.20)$$

nas quais $f_1(\boldsymbol{\eta}), f_2(\boldsymbol{\eta}), \dots, f_i(\boldsymbol{\eta}), \dots, f_l(\boldsymbol{\eta})$ equivalem a cada uma das l equações que compõe o sistema de Equações (3.14), (3.15) e (3.16).

A resolução numérica do modelo foi realizada no *software* Matlab (MatchWorks, 7.13, EUA) e o critério de convergência assumido foi que $|\boldsymbol{\eta}^{(k)} - \boldsymbol{\eta}^{(k-1)}| < 10^{-15}$. A Figura 3.5 esquematiza o algoritmo para o método de Newton implementado no *software* para a resolução do modelo.

Figura 3.5 - Fluxograma do Método de Newton para sistemas não lineares utilizado para a resolução numérica do modelo. Sendo $I=J$ o número total de pontos utilizados para descrever o modelo na forma discreta e K o número total de interações do método.



Após o cálculo do gradiente de potencial elétrico no interior do biofilme, foi possível calcular a corrente elétrica gerada pela biomassa, discretizando a Lei de Ohm (Equação (3.21)).

$$j = -C \frac{(\eta_2 - \eta_1)}{\Delta \xi} \quad (3.21)$$

3.6.2 Estimativa de parâmetros

As equações que descrevem a cinética de geração de corrente elétrica em função do potencial do ânodo (sem considerar o mecanismo de TEE: Equação (3.4); e considerando este mecanismo: Equações (3.10), (3.11), (3.12) e (3.13)) foram ajustadas aos dados experimentais de j vs E_{anodo} para as análises de VC realizadas na CCM. A velocidade de escaneamento utilizada foi de $0,2 \text{ mV s}^{-1}$ na direção de escaneamento do E_{anodo} de $-0,6$ até $0,0 \text{ V vs Ag/AgCl}$.

O modelo matemático utilizado neste trabalho contempla apenas a geração de corrente, ou seja, o fluxo de elétrons ocorrendo do substrato para o eletrodo (respiração) e não o contrário (GREGORY; BOND; LOVLEY, 2004), assim, a porção da corrente catódica foi normalizada em zero para todos os cálculos.

Os parâmetros do modelo cinético, sem o mecanismo de TEE (Equação (3.4)), j_{max} e E_{KA} , foram estimados pelo ajuste do modelo aos dados experimentais através da função *fit* da ferramenta *curve fitting tool* do Matlab (MatchWorks, 7.13, EUA).

O modelo considerando o mecanismo de TEE teve os parâmetros cinéticos E_{KA} e C , estimados pela minimização do valor da raiz do erro quadrado médio (*RMSE*, Equação (3.22)) (BOX; HUNTER; HUNTER, 1978) obtido entre os dados de densidade de corrente elétrica observados experimentalmente (j_{exp}) e os dados calculados pelo modelo (j_{cal}) para cada valor de potencial elétrico no ânodo.

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N [j_{exp}(n) - j_{cal}(n)]^2} \quad (3.22)$$

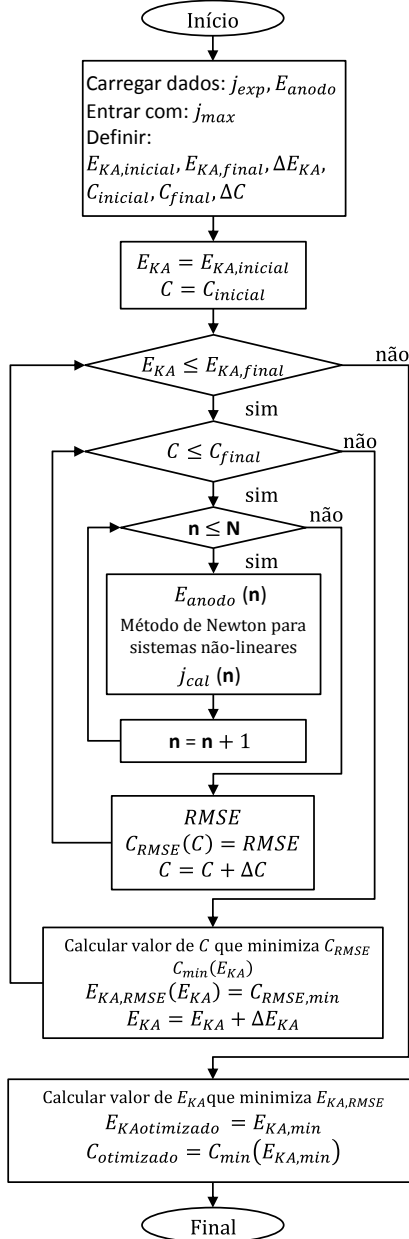
na qual n é o contador para os dados experimentais e N é o número total de dados experimentais.

No procedimento de minimização foi selecionado um intervalo de valores para os parâmetros E_{KA} e C . O intervalo de E_{KA} ($-0,6$ a $0,0 \text{ V vs Ag/AgCl}$) compreendeu a extensão de potencial elétrico utilizado nas análises de VC e o intervalo de C (1 a 10 S m^2), foi selecionado através de simulações prévias que mostravam que para valores de $C > 10$ a contribuição condutiva já não interferia significativamente na resposta. O procedimento de cálculo é exaustivo gerando resultados de densidade de corrente para cada combinação de valores dos parâmetros. O binômio de valores de E_{KA} e C que minimizava o *RMSE* era então selecionado. O valor do parâmetro j_{max} utilizado para o modelo com o mecanismo de

TEE foi determinado pelo ajuste do modelo sem o mecanismo de TEE. O algoritmo criado para o processo de otimização dos parâmetros foi implementado no *software* Matlab (MathWorks, 7.13, EUA) e está esquematizado no fluxograma ilustrado na Figura 3.6.

Nesta figura, $E_{KA, inicial}$ e $E_{KA, final}$ definem os limites de valores de E_{KA} ; $C_{inicial}$ e C_{final} definem o intervalo de valores de C ; ΔE_{KA} e ΔC são os incrementos para cada passo de cálculo das respectivas variáveis; $C_{RMSE}(C)$ é o vetor de valores de $RMSE$ para cada valor de C em um determinado valor de E_{KA} ; C_{min} é o vetor de valores de C que minimizam o valor de $RMSE$ para cada valor de E_{KA} ; $E_{KA, RMSE}$ é o vetor dos valores mínimos de $RMSE$ para cada valor de E_{KA} ; $E_{KAotimizado}$ é o valor de E_{KA} que apresenta o menor $RMSE$ do vetor $E_{KA, RMSE}$; e $C_{otimizado}$ é o valor de C_{min} correspondente ao $E_{KAotimizado}$.

Figura 3.6 - Fluxograma do procedimento para estimativa dos parâmetros (E_{KA} e C) do modelo com TEE (Equações (3.3) e (3.9), (3.10), (3.11) e (3.12)).



3.6.3 Simulação das curvas de polarização

O modelo matemático composto pelas Equações (3.10), (3.11), (3.12) e (3.13) (considerando o mecanismo de TEE) foi empregado para simular as curvas de polarização do circuito 2. Os parâmetros do modelo, j_{max} , E_{K_A} e C , foram estimados pelos ajustes deste mesmo modelo aos dados experimentais das análises de VC.

Os valores de V_{cel} foram utilizados considerando que, no cátodo, o potencial elétrico (E_{catodo}) foi igual ao potencial elétrico padrão do ferrocianeto de potássio versus o eletrodo padrão de cloreto de prata (0,138 V vs Ag/AgCl) (SKOOG et al., 2006).

3.6.4 Análises estatísticas

Para avaliar o desempenho do modelo no ajuste aos dados experimentais, foram utilizados dois indicadores estatísticos: *RMSE* (Equação (3.22)) e o coeficiente de determinação (R^2 , Equação (3.23)) (BOX; HUNTER; HUNTER, 1978).

O coeficiente R^2 avalia a fração de variação sobre a média que é explicada pelo modelo. Este fator varia de 0 a 1 e quanto mais próximo de 1 for o seu valor, melhor é a explicação dos valores experimentais pelo modelo proposto.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{n=1}^N [j_{exp}(n) - j_{cal}(n)]^2}{\sum_{n=1}^N [j_{exp}(n) - \overline{j_{cal}}]^2} \quad (3.23)$$

sendo,

$$\overline{j_{cal}} = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N j_{cal}(n) \quad (3.24)$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

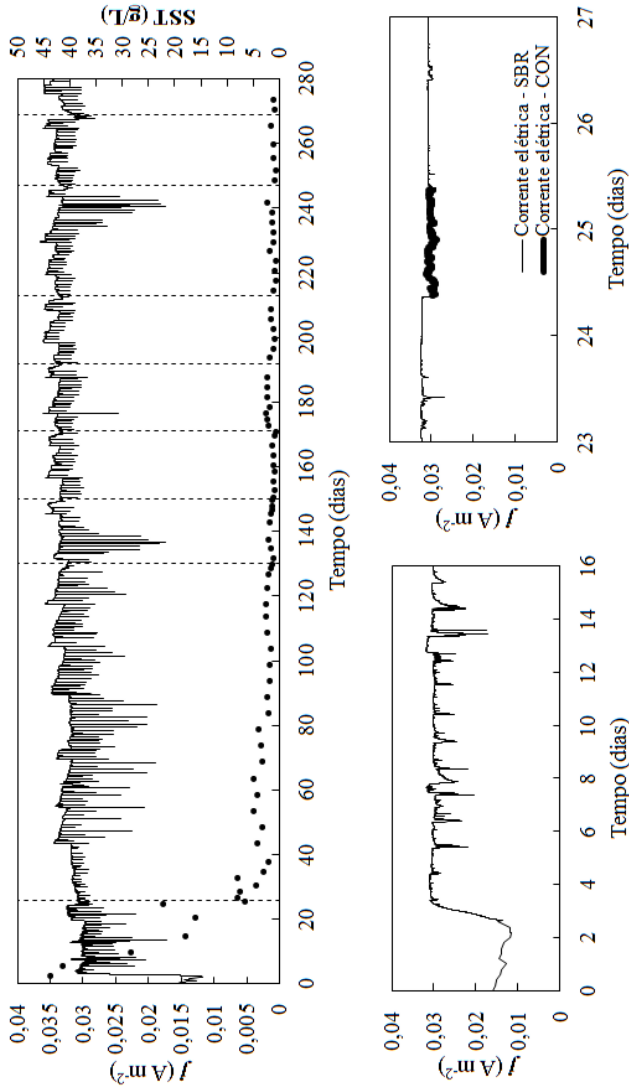
4.1 CONDIÇÕES OPERACIONAIS

A Figura 4.1 apresenta a evolução temporal da densidade de corrente e da concentração de sólidos suspensos totais na CCM para o procedimento operacional cíclico composto por: batelada sequencial, contínuo e retomada de batelada sequencial. A Figura 4.1 (a) apresenta j vs t e SST vs t para os 280 dias de operação do reator, indicando os dias em que foram realizadas as operações em regime contínuo. As Figura 4.1(b) e 4.1(c) apresentam j vs t para os primeiros 16 dias do experimento e durante a primeira operação em regime contínuo, respectivamente.

Após os dois primeiros dias de operação em regime de batelada, iniciou-se a operação em batelada sequencial (SBR). Observa-se na Figura 4.1(b) um aumento temporal na geração de energia elétrica, obtendo, antes do quarto dia de operação, um valor de j próximo aos valores máximos observados durante toda a operação do reator (maior que $0,3 \text{ A m}^{-2}$). Essa densidade de corrente elétrica manteve-se estável ao longo dos dias subsequentes. Segundo Marsili et al. (2008b), a manutenção da geração de corrente elétrica caracteriza a fase de saturação da biomassa sobre o ânodo.

Na operação em SBR, uma fração do volume de líquido do compartimento anódico era removida e, em seguida, renovada com o meio de cultivo novo. Quando o meio de cultivo era removido do reator, observaram-se quedas na geração de corrente elétrica, a qual retornava aos valores anteriores à troca quando o volume de líquido no ânodo era reestabelecido (Figura 4.1(a) e 4.1(b)). Acredita-se que estas quedas sejam o resultado da exposição do ânodo com o ar. Na presença do ar, a biomassa desvia o fluxo de elétrons do eletrodo para o O_2 buscando aumentar a velocidade de obtenção de energia na forma de ATP. Segundo Heijen (1999), a velocidade de obtenção de energia por um micro-organismo está associada à diferença de potencial elétrica entre o DE e o AE e às resistências envolvidas no transporte eletrônico. Assim, o O_2 tornava-se o AE preferencial do biofilme quando os eletrodos ficavam expostos ao ar. Além disto, a ausência do contato com meio de cultivo pode esgotar o substrato disponível.

Figura 4.1 - Resultados operacionais da CCM: (a) Evolução temporal da densidade da corrente elétrica (linha contínua) e da concentração de sólidos suspensos totais (●) e indicação do processo em regime contínuo (linhas pontilhadas); (b) Densidade da corrente elétrica gerada pela CCM nos primeiros 16 dias de operação; (c) Densidade da corrente elétrica gerada próximas ao primeiro processo de operação em regime contínuo.



As operações em regime contínuo foram conduzidas em períodos de 24 horas. Durante esta operação, observou-se a manutenção da geração de corrente em valores bem próximos aos valores dos dias que antecederam à operação, conforme pode ser visualizado na Figura 4.1(a) e, em detalhe, na Figura 4.1(c). Estes resultados indicam que o material suspenso não interfere diretamente na geração da corrente elétrica.

A concentração de SST (Figura 4.1(a)) apresentou redução gradual durante os primeiros 40 dias de operação, permanecendo em valores inferiores a 5 g L^{-1} durante a sequência do experimento. A primeira operação em regime contínuo foi realizada apenas no dia 25-26, mas a concentração de SST já estava caindo significativamente, resultado do reciclo parcial de sólidos na operação em regime de batelada sequencial. A segunda operação em regime contínuo foi realizada no dia 129-130, quando a concentração de SST já estava aproximadamente constante. Esta operação não teve efeito sobre a concentração de sólidos no reator, resultado idêntico aquele obtido nas operações subsequentes em regime contínuo mesmo com o aumento da vazão de alimentação. Estes resultados indicam que estas operações não contribuíram para a seleção da biomassa exoeletrogênica.

4.2 IDENTIFICAÇÃO DO MECANISMO DE TEE

Na investigação do mecanismo de TEE empregado por micro-organismos em células bioeletroquímicas, é comum a análise das variações na geração de corrente como resposta à renovação do meio de cultivo no compartimento anódico (BOND; LOVLEY, 2003; MARSILI et al., 2008a, MARSILI et al., 2008b, JAIN et al., 2012).

No trabalho realizado por Marsili et al. (2008a), a renovação do meio cultivo provocou reduções na geração de corrente elétrica na ordem de 70% em relação ao valor inicial, a qual era reestabelecida, aproximadamente, 72 horas após o término deste procedimento. Jain et al. (2012), obtiveram uma resposta semelhante, com reduções na ordem de 60% para esse mesmo procedimento. Nestes trabalhos, as células eletroquímicas foram inoculadas com *Shewanella odeinensis* (MARSILI et al., 2008a) e *Shewanella loihica* (JAIN et al., 2012). Em ambos os casos, as reduções na corrente elétrica foram atribuídas à presença de flavinas e derivados de quinonas solubilizados no meio, os quais subsidiavam o transporte de elétrons entre o micro-organismo e o eletrodo. Quando o meio de reação era substituído, estes compostos precisavam ser novamente metabolizados, o que resultava no atraso na regeneração da corrente, conforme observado por estes autores.

Bond e Lovley (2003) conduziram a operação de uma CCM inoculada com *Geobacter sulfurreducens* até o estabelecimento de um regime estacionário para a geração de corrente elétrica. Na sequência, estes pesquisadores substituíram subitamente o meio de cultivo por outro sem DE, resultando em uma queda na geração de corrente elétrica. Quando o DE foi adicionado novamente à CCM, a corrente elétrica foi rapidamente reestabelecida, retornando aos valores anteriores à operação sem DE. No trabalho realizado por Marsili et al. (2008b), também utilizando como inóculo *G. sulfurreducens*, a substituição do meio de cultivo contendo o DE não alterou os valores da densidade de corrente elétrica gerada. Em ambos, os resultados sugerem que os micro-organismos presentes não necessitavam, além do DE, de outras substâncias presentes no meio de cultivo para a geração de corrente elétrica, caracterizando ausência de mediadores.

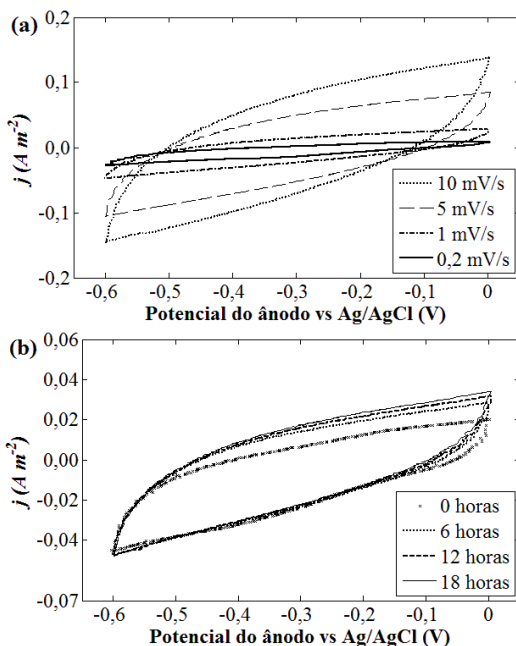
No presente trabalho, durante os procedimentos de renovação do meio nos regimes de SBR e CON, a corrente elétrica gerada pela CCM apresentou resultados semelhantes aos obtidos por Bond e Lovley (2003) e por Marsili et al. (2008b). Ou seja, a densidade de corrente elétrica não foi influenciada pela substituição do meio de cultivo (Figura 4.1). Estes resultados fornecem indícios de que a biomassa na CCM utiliza um mecanismo direto de TEE, semelhantemente às CCM inoculadas com *G. sulfurreducens*. Micro-organismos da espécie *G. sulfurreducens* utilizam comprovadamente mecanismos diretos de TEE, seja por meio de proteínas presentes na membrana celular e/ou através da produção de pili condutivo que conectam a bactéria ao eletrodo (BOND; LOVELEY, 2003; REGUERA et al., 2006; SCHÖDER, 2007; LOVLEY, 2012).

As análises de voltametria cíclica (VC) realizadas com os efluentes dos processos em regime contínuo são apresentadas na Figura 4.2 e confirmam a hipótese de um mecanismo direto de TEE no reator do presente trabalho. Não foi observada a presença de picos de corrente elétrica anódica ou catódica, característicos da presença de compostos passíveis de reações de oxirredução (BARD; FAULKNER, 2001), em nenhuma das velocidades de escaneamento (Figura 4.2(a)), entre 0,2 e 10 mV s^{-1} , e em diferentes intervalos de tempo desde o início da operação em regime contínuo (Figura 4.2(b)). Marsili et al. (2008a) investigaram o mecanismo de TEE de cepas de *S. odeinensis*, constatando a presença de picos de corrente elétrica nas análises de VC do efluente do seu reator, resultado da presença de flavinas que atuam como o principal mecanismo de TEE deste micro-organismo.

Os registros de maiores amplitudes da corrente elétrica nas análises de VC para as maiores da velocidade de escaneamento (Figura 4.2(a)) são resultado do aumento da contribuição da corrente capacitiva na resposta da análise (HARNISCH; FREGUIA, 2012). Os resultados da VC pouco variaram com o decorrer da operação em regime contínuo (Figura 4.2(b)), e a geração de corrente elétrica na CCM manteve-se na mesma intensidade (Figura 4.1(c)). Estes resultados são similares àqueles apresentados por Torres et al. (2008) no estudo do estabelecimento de biofilme de *G. sulfurreducens* sobre o eletrodo anódico, no qual os autores constataram a ausência de compostos eletroativos em suspensão na célula combustível com base nos resultados da análise de VC.

Assim, acredita-se que os micro-organismos exoeletrogênicos da CCM do presente trabalho estão dispostos na forma de biofilme aderido à superfície dos eletrodos anódicos e empregam um sistema condutivo como principal mecanismo de TEE.

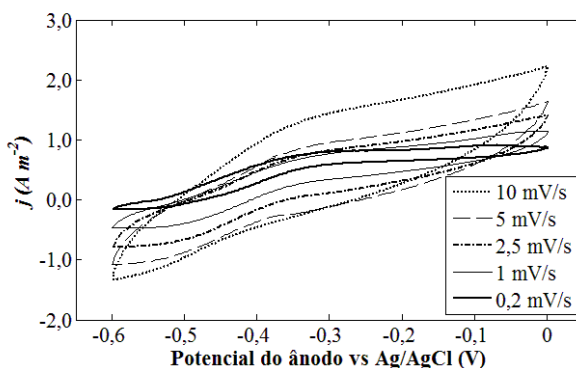
Figura 4.2 - Análises de voltametria cíclica para o efluente do processo em regime contínuo realizadas em: (a) velocidades de escaneamento de 0,2, 1, 5 e 10 mV s^{-1} ; e (b) na velocidade de 1 mV s^{-1} após 0, 6, 12 e 18 horas de início do processo.



As análises de VC do eletrodo de trabalho coberto por biofilme na CCM iniciaram após o 160º dia de operação, sempre realizadas posteriormente aos procedimentos de alimentação para garantir que eram conduzidas em excesso de DE. Os resultados das análises revelaram diferenças de estruturas nos ciclos para as velocidades de escaneamento de 0,2, 1, 2,5, 5 e 10 mV s^{-1} , com um achatamento da corrente e sinuosidades acentuadas para as menores velocidades de escaneamento, conforme ilustrado na Figura 4.3. A diferença entre as estruturas dos ciclos indica uma dinâmica lenta do processo (BARD; FAULKNER, 2001), característica de biofilmes microbianos (HARNISCH; FREGUIA, 2012).

Os resultados demonstraram que na velocidade de escaneamento de 0,2 mV s^{-1} , as condições estavam dentro de uma escala de tempo suficiente para sustentar a catálise microbiana, revelada pelo perfil sigmoide da geração de corrente em função do potencial elétrico. Por hipótese, nesta velocidade, para cada potencial aplicado, a velocidade de transferência eletrônica atingiu um estado estacionário, refletindo a informação fisiológica sobre a respiração microbiana na condição imposta. Resultados de análises de VC com formato sigmoide são característicos de biofilmes microbianos, em especial daqueles que utilizam mecanismos diretos de TEE, como é o caso dos biofilmes de *G. sulfurreducens* (MARSILI et al., 2008b; TORRES et al., 2008; SRIKANTH et al., 2008; LEE et al., 2009; RICHTER et al., 2009; MARSILI; BOND; SUN, 2010).

Figura 4.3 - Efeito da velocidade de escaneamento na resposta das análises de VC realizadas na CCM.



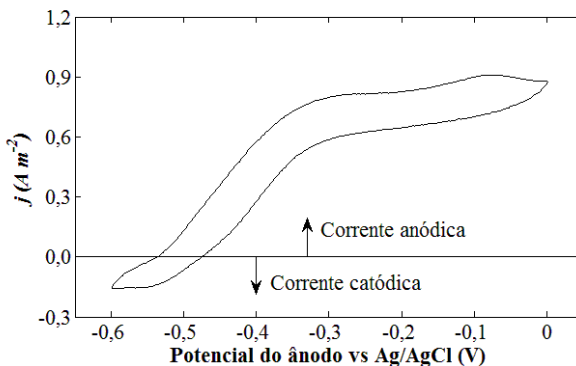
Para biofilmes que utilizam mediadores como principal mecanismo de TEE, as respostas das análises de VC ilustram uma tendência de aumento linear da corrente em função do potencial elétrico (LaBELLE; BOND, 2010; BOND, 2010). Neste caso, o aumento do potencial resulta no aumento na velocidade da reação de oxirredução entre o mediador e o eletrodo, formando gradientes de concentração (mediador nos estados oxidado e reduzido) na superfície do eletrodo (BARD; FAULKNER, 2001). Consequentemente, a difusão dos mediadores em direção ao eletrodo limita a geração de eletricidade (TOREES et al., 2010). Marsili et al. (2008a) confirmaram este comportamento em biofilmes de *S. odeinensis*. Para biofilmes na qual os mecanismos direto e indireto de TEE tem participação efetiva na respiração microbiana, a curva da análise de VC é caracterizada por duas ondas justapostas, uma delas relacionada ao mecanismo direto e a outra ao indireto, conforme a proposta de Jain et al. (2012) ao investigarem o mecanismo de TEE empregado por biofilmes de *S. loihica*.

A Figura 4.4 destaca o resultado da análise de VC utilizando o eletrodo da CCM na velocidade de escaneamento de $0,2 \text{ mV s}^{-1}$. A presença de corrente elétrica anódica somente é verificada para valores de potencial elétrico acima da região próxima a $-0,5 \text{ V}$, a qual aumenta até um potencial próximo a $-0,3 \text{ V}$. Nesta região, a capacidade das bactérias em gerar elétrons é limitada pela resistência eletrônica imposta pelo mecanismo de TEE. Quando o potencial do eletrodo foi elevado acima de $-0,3 \text{ V}$, a corrente elétrica anódica apresentou comportamento assintótico, resultado da limitação das reações de origem intracelular envolvidas na oxidação do acetato. Enquanto a transferência eletrônica extracelular pode ser acelerada pelo aumento da força elétron motriz (aumento do potencial elétrico do ânodo), as reações intracelulares apresentam velocidades máximas características (LaBELLE; BOND, 2010; BOND, 2010).

Para valores de potencial elétricos menores que $-0,5 \text{ V}$ observa-se a presença de uma corrente elétrica catódica. Srikanth et al. (2008) e Richter et al. (2009) também observaram este fenômeno e acreditam ser o resultado da reação de redução de algum componente presente no meio, catalisado pelos microrganismos que compõe o biofilme. Algumas espécies de *Geobacter* têm a habilidade de aceitarem os elétrons do eletrodo. Gregory, Bond e Lovley (2004) demonstraram que um eletrodo posicionado em um potencial elétrico suficientemente negativo poderia atuar como um doador de elétrons. Estes autores utilizaram uma célula combustível de duas câmaras inoculada com sedimento aquático

(pluvial) e com cultura pura (*G. sulfurreducens* e *G. metallireducens*) e observaram que o nitrato era reduzido a nitrito, havendo consumo de corrente elétrica e enriquecimento de bactérias na superfície dos eletrodos.

Figura 4.4 - Análise de voltametria cíclica realizada na CCM com a velocidade de escaneamento de $0,2 \text{ mV s}^{-1}$ destacando as regiões com geração de corrente elétrica catódica e anódica.



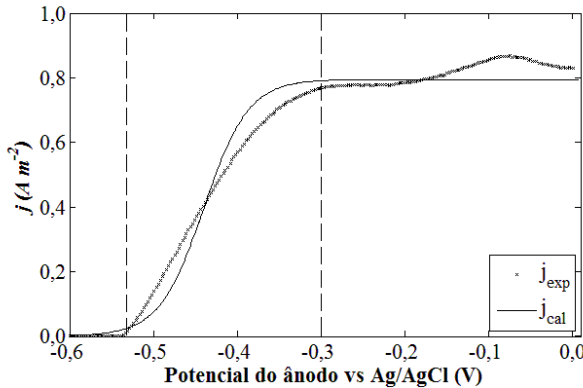
Segundo Torres et al. (2008), quando o perfil sigmóide revelado pelas análises de VC pode ser descrito por uma equação do tipo Nernst-Monod (Equação 3.4), o mecanismo de TEE não interfere na geração de corrente (biofilme é altamente condutivo), ou seja, a geração de corrente elétrica é limitada principalmente pelas reações de origem intracelular. A Figura 4.5 ilustra o ajuste da Equação 3.4 ao conjunto de dados experimentais da análise de VC na velocidade de escaneamento de $0,2 \text{ mV s}^{-1}$ para o 161º dia do experimento. Resultados similares foram obtidos para os ajustes dos dados experimentais de VC, na velocidade de $0,2 \text{ mV s}^{-1}$, nos demais dias de análise.

Na região em que ocorre o incremento no valor da corrente elétrica, delimitada pelas linhas pontilhadas na Figura 4.5, a evolução temporal dos valores calculados e dos valores experimentais apresentam comportamento com moderada divergência. Esta região é caracterizada pela resistência ao transporte de elétrons (associada ao mecanismo de TEE), pela reação catódica e, em menor importância, pelas resistências ao fluxo iônico através do eletrólito e permeação pela membrana (LaBELLE; BOND, 2010).

O compartimento catódico foi operado com solução de ferrocianeto de potássio, assim, a resistência envolvida na reação

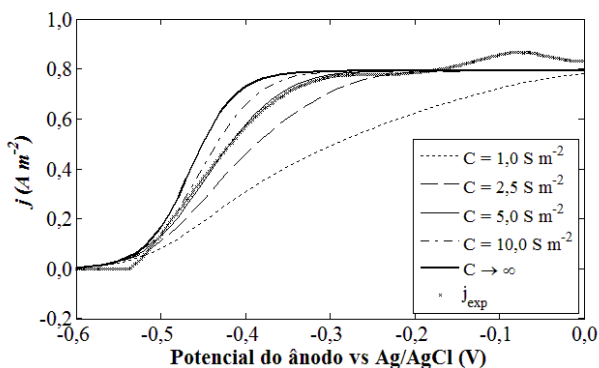
catódica pode ser desconsiderada, uma vez que o ferrocianeto apresenta um baixo sobrepotencial quando reage com eletrodos de carbono, resultando em um potencial do cátodo próximo ao seu potencial de circuito aberto (LOGAN, 2006). As resistências envolvidas ao fluxo e permeação iônica também foram desconsideradas. Tais simplificações são comumente empregadas na modelagem de CCM (ZANG; HALME, 1995; PICIOREANU et al., 2007; MARCUS; TORRES; RITTMANN 2007; PINTO et al., 2010). Assim, a principal resistência considerada na cinética de geração de energia elétrica foi relacionada às reações de origem anódica: à resistência intracelular e ao mecanismo de TEE.

Figura 4.5 - Ajuste da equação de Nernst-Monod (j_{cal} , Equação 3.4) aos dados experimentais (j_{exp}).



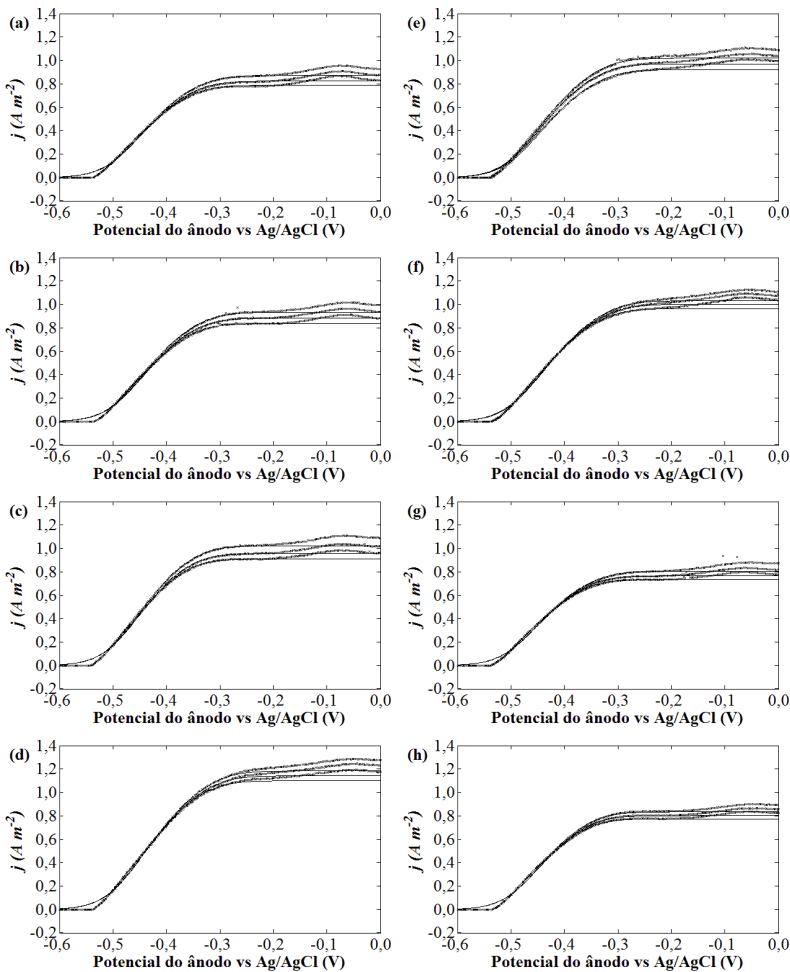
A Figura 4.6 apresenta a simulação do modelo matemático que considera o mecanismo de TEE e a cinética microbiana (Equações (3.9), (3.10), (3.11) e (3.12)) na geração da corrente elétrica. Nesta figura, avaliou-se a sensibilidade do modelo em relação ao parâmetro C (razão entre a condutividade elétrica e a espessura do biofilme).

Figura 4.6 - Simulação da influência do parâmetro C (resistência do mecanismo de TEE) no comportamento j vs E_{anodo} da CCM. Dados paramétricos utilizados na simulação: $j_{max} = 0,8 \text{ A m}^{-2}$ e $E_{K_A} = -0,465 \text{ V}$.



O modelo matemático considerando o efeito do mecanismo de TEE (ajustes apresentados na Figura 4.7) foi capaz de descrever melhor os dados experimentais quando comparado ao modelo matemático que considera apenas a cinética microbiana. Os ajustes obtiveram coeficiente R^2 superior a 0,988 e o $RMSE$ inferior a 0,048 para todos os casos. A partir destes ajustes foi possível a obtenção dos valores dos parâmetros j_{max} , E_{K_A} e C para todas as análises de VC, os quais são apresentados e discutidos na seção subsequente.

Figura 4.7 - Voltametrias cíclicas da CCM realizadas na velocidade de escaneamento de $0,2 \text{ mV s}^{-1}$. Pontos representam os dados experimentais e as linhas contínuas representam o modelo matemático ajustado (Sistema de Equações (3.10), (3.11), (3.12) e (3.13)). (a) VC realizado no 161º dia, 10 dias após CON3; (b) VC realizado no 182º dia, 12 dias após CON4; (c) VC realizado no 195º dia, 4 dias após CON5; (d) VC realizado no 206º dia, 15 dias após a CON5; (e) VC realizando no 220º dia, 12 dias após CON6; (f) VC realizado no 226º dia, 18 dias após CON6; (g) VC realizado no 256º dia, 10 dias após CON7; (h) VC realizado no 275º dia, 7 dias após a CON8.

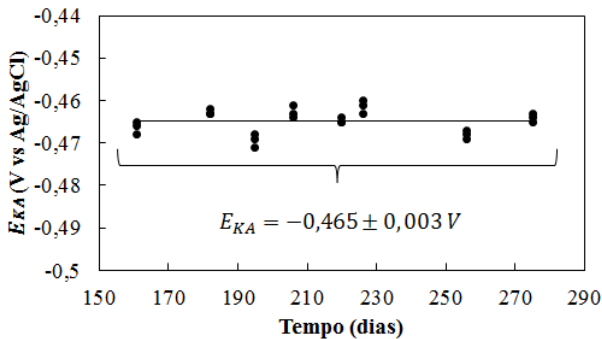


4.3 PARÂMETROS FÍSICOS E CINÉTICOS

Os parâmetros cinéticos j_{max} e E_{K_A} são característicos do sistema, portanto, dependem do DE, AE e da comunidade microbiana em questão. Os valores do parâmetro cinético j_{max} obtidos pelo ajuste da Equação 3.4 para os diferentes dias de análise apresentaram valor médio de $0,954 \text{ A m}^{-2}$ e desvio padrão igual a $0,118 \text{ A m}^{-2}$ (19,7% do valor médio). j_{max} é um parâmetro cinético que expressa a velocidade máxima na qual o micro-organismo conduz o seu processo metabólico. A manutenção dos valores do parâmetro em torno de um valor médio (baixo desvio padrão) caracteriza o pleno desenvolvimento do biofilme sobre a superfície do eletrodo. Torres et al. (2008) e Marsili, Sun e Bond (2010), mostraram que a densidade máxima da corrente elétrica de análises de VC aumenta durante o desenvolvimento do biofilme, atingindo um valor estável quando a microbiota está completamente estabelecida sobre o eletrodo. Nos trabalhos apresentados por Torres et al. (2008) e Lee, Torres e Rittmann (2009), utilizando células eletroquímicas inoculadas com culturas puras de *G. sulfurreducens* e alimentadas com acetato, os valores de j_{max} estiveram na ordem de grandeza de 10^1 A m^{-2} . Já Richter et al. (2009), obtiveram valores de j_{max} entre 1 a $2,6 \text{ A m}^{-2}$ para cepas de *G. sulfurreducens* naturais e geneticamente modificadas. Os valores estimados para o parâmetro cinético E_{K_A} (Figura 4.8) apresentaram desvio padrão igual a $0,003\text{V}$, o qual corresponde a menos de 1% do valor médio deste parâmetro ($-0,465 \text{ vs Ag/AgCl}$, ou $-0,243 \text{ V vs EPH}$). Essa baixa amplitude entre os valores obtidos para esse parâmetro também são indicativos que o biofilme estava completamente desenvolvido no momento destas análises. Nos trabalhos realizados por Torres et al. (2008), Srikanth et al. (2008), Marsili et al. (2008b) e Marsili, Sun e Lovley (2010), empregando culturas puras de *G. sulfurreducens* e acetato, foram obtidos valores de E_{K_A} de aproximadamente $-0,372 \text{ V vs Ag/AgCl}$ ($-0,15 \text{ V vs EPH}$). Richter et al. (2009), observaram uma significativa diferença entre os valores desse parâmetro, para as cepas geneticamente modificadas. Para a cepa mutante em que o gene responsável pela expressão da proteína PilA foi deletado (responsável pela produção de nanofios) foram obtidos valores de potencial na ordem de $-0,442 \text{ vs Ag/AgCl}$ ($-0,22 \text{ V vs EPH}$). Quando o gene de outras proteínas também associadas ao mecanismo de TEE foram deletadas valores entre $-0,132 \text{ V}$ e $-0,352 \text{ V vs Ag/AgCl}$ foram obtidos. Para a cultura natural E_{K_A} foi de aproximadamente $-0,372 \text{ V vs Ag/AgCl}$.

A CCM do presente trabalho foi inoculada com uma cultura mista de micro-organismo de origem marinha. Segundo Logan e Regan (2006), biofilmes de comunidades mistas, incluem tanto diferentes micro-organismos exoeletrogênicos, quanto micro-organismos fermentadores e algumas espécies capazes de respirar utilizando um acceptor alternativo que não seja o eletrodo ou mesmo em simbiose com outro micro-organismo, essas presenças podem conduzir à diferença do comportamento da CCM do presente trabalho em relação aos valores obtidos com a cultura pura. Os micro-organismos que apresentam os menores valores de E_{KA} podem ser favorecidos na competição com outras culturas que possuem velocidades de transferência de elétrons semelhantes ou maiores, mas requerem um maior potencial do AE (BOND, 2010).

Figura 4.8 - Valores de E_{KA} obtidos pelo ajuste do sistema de Equações (3.10), (3.11), (3.12) e (3.13) aos dados experimentais de VC para cada ciclo (três ciclos por análise) em oito momentos entre o 161° e o 275° dia de operação da CCM.



Os valores estimados para o parâmetro físico C (k_{bio}/L_f) são apresentados na Figura 4.9. Seus valores mantiveram-se próximos a um valor médio de $4,746 \text{ S m}^{-2}$ durante todas as análises (desvio padrão < 9%). Conforme descrito por Torres et al. (2010), a condutividade elétrica é uma característica física inerente à composição do biofilme e, deste modo, o valor de C seria alterado se a espessura ou a composição do biofilme variassem entre as medidas.

As resistências ôhmicas da CCM para os circuitos 1 e 2, calculados pela Equação 3.2, são apresentadas na Figura 4.10. Os valores destas resistências mantiveram-se próximas a 50Ω e 30Ω ,

respectivamente. A pequena amplitude entre os valores ao longo do tempo é outro indicativo de que o reator opera em um regime estacionário para o biofilme (AELTERMAN et al., 2006).

Figura 4.9 - Valores do parâmetro C estimados pelo ajuste do sistema de Equações (3.10), (3.11), (3.12) e (3.13) aos dados experimentais de VC para cada ciclo (três ciclos por análise) em oito momentos entre o 161º e o 275º dia de operação da CCM.

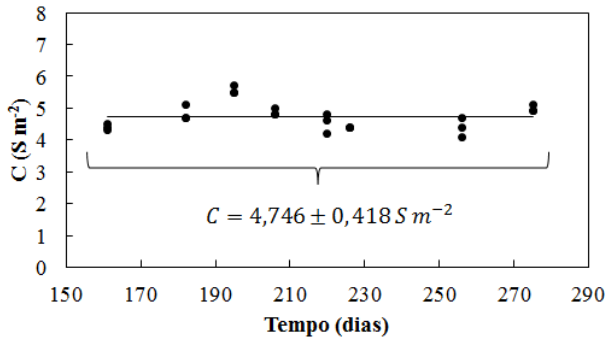
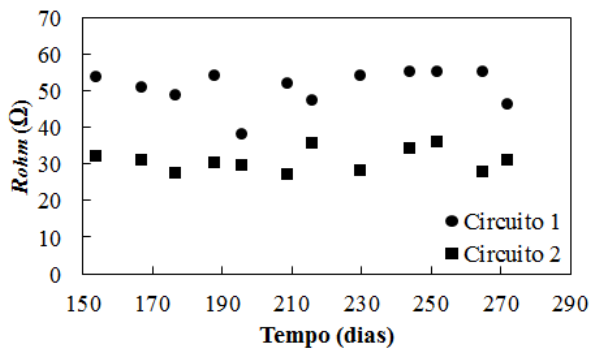


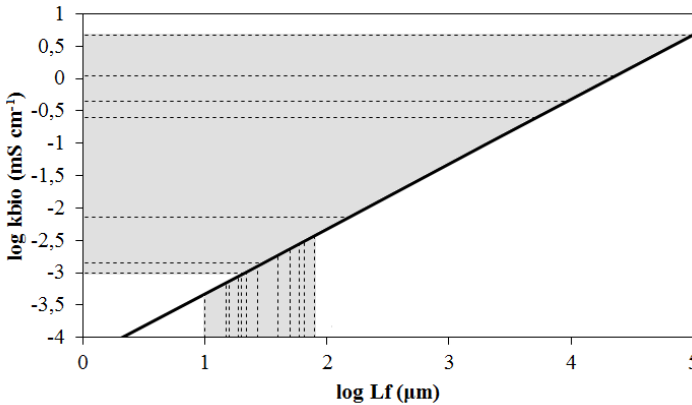
Figura 4.10 - Resistência ôhmica da CCM para os circuitos 1 (●) e 2 (■) obtidas pelo ajuste da Equação 3.2 aos dados experimentais das curvas de polarização.



A Figura 4.11 compara os possíveis valores dos parâmetros L_f e k_{bio} encontrados neste trabalho aos valores disponíveis na literatura (Tabela 4.1). Os valores reportados para a espessura dos biofilmes em CCM estão em uma estreita faixa, entre 10 e 79 μm . Entretanto, para o parâmetro k_{bio} são apresentados valores com maior amplitude, com a ordem de grandeza entre 10^{-3} e 10^0 mS cm^{-1} . A região hachurada no gráfico apresentado na Figura 4.11 destaca estes intervalos dos parâmetros L_f e k_{bio} disponíveis na literatura. Considerando que a

espessura do biofilme do presente trabalho não extrapola os valores relatados na literatura (ordem de grandeza de $10^1 \mu\text{m}$), estima-se que a condutividade elétrica da CCM em avaliação é da ordem de grandeza de $10^{-3} \text{ mS m}^{-1}$.

Figura 4.11 - Relação entre os parâmetros k_{bio} e L_f obtida pelo ajuste do modelo matemático aos dados experimentais da CCM (linha contínua) comparado aos valores destes parâmetros disponíveis na literatura (linhas pontilhadas). A região hachurada compreende o intervalo de valores de cada parâmetro.



Malvankar et al. (2011), constaram que cepas de *G. sulfurreducens* que produziam as maiores densidades de corrente elétrica apresentavam biofilmes com as maiores condutividades elétricas, demonstrando uma relação entre esta densidade e a rede de nanofios produzida pela bactéria. Na CCM do presente trabalho, as densidades de corrente elétrica foram menores do que as obtidas pelas culturas puras de *G. sulfurreducens*, podendo indicar uma menor quantidade de nanofios no biofilme da CCM, expresso pelo baixo valor do k_{bio} estimado. Em biofilmes formados por complexas comunidades de micro-organismos, nem todas as bactérias têm a capacidade de estabelecerem sozinhas o contato elétrico com o eletrodo, em muitos casos, estas bactérias operam em simbiose com outras bactérias para completar seu metabolismo (SUMMERS et al., 2010). Ou seja, no biofilme em estudo, cultura mista, pode haver uma fração de bactérias que sintetizam seu próprio mecanismo de TEE e outra fração que opera em simbiose. Assim, a rede de pili deve ser menor quando comparada ao biofilme composto pela cultura pura de micro-organismos exoeletrogênicos.

Tabela 4.1 - Uma revisão sobre a espessura e a condutividade de biofilmes de micro-organismos exoeletrotrogênicos.

Fonte bibliográfica	Biomassa	DE	AE	L_f (μm)	k_{bio} (mS cm^{-1})
MALVANKAR, TOUMINEN; LOVLEY (2012)	<i>G. sulfurreducens</i> cepa DL-1	acetato	ouro	50	0,45
	<i>G. sulfurreducens</i> cepa KN400			40	4,63
	<i>G. sulfurreducens</i> cepa BEST			60	1,09
MALVANKAR et al., (2012)	Lodo de biodigestor anaeróbio	acetato	ouro	50,3	0,25
El-NAGGAR et al. (2010) ^a	<i>S. oneidensis</i> cepa MR-1	lactato	-	-	$1,0 \times 10^{-3}$
MORITA et al. (2011) ^b	Agregados celulares (25% <i>Geobacter</i>)	-	-	-	$7,2 \times 10^{-3}$
	Agregados celulares	etanol	fumarato	-	$1,4 \times 10^{-3}$
SUMMERS et al. (2010) ^c	constituídos por <i>G. sulfurreducens</i> e <i>G. metallireducens</i>				
MARSILI et al. (2008b)	<i>G. sulfurreducens</i> PCA	acetato	carbono vítreo	15	-
TORRES et al. (2008)	<i>G. sulfurreducens</i>	acetato	grafite	79	-
LEE et al. (2009)	<i>G. sulfurreducens</i>	acetato	grafite	66	-
MARSILI; BOND; LOVLEY (2010)	<i>G. sulfurreducens</i> cepa PCA	acetato	grafite	20	-
		acetato	grafite	27	-
SPEERS; REGUERRA (2012)	<i>G. sulfurreducens</i> cepa PCA	metanoato	grafite	22	-
		lactato	grafite	16	-
		H ₂	grafite	10	-
		acetato+	grafite	27	-
		metanoato	grafite	19	-
		lactato+			
		acetato			

^a Bactérias cultivadas em limitação de AE (oxigênio). A condutividade refere-se apenas ao nanofio produzido pela bactéria.

^b Agregados de células obtidos em reator UASB que convertiam efluente de cervejaria em metano.

^c Consórcio de bactérias, constituído por *G. sulfurreducens* e *G. metallireducens*, cultivados com etanol como DE e fumarato como AE. *G. metallireducens* não é capaz de reduzir o fumarato ($\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_4^{2-}$) e *G. sulfurreducens* não é capaz de oxidar o etanol.

4.4 SIMULAÇÃO DAS CURVAS DE POLARIZAÇÃO

As curvas de polarização foram simuladas utilizando os valores dos parâmetros obtidos pelos ajustes apresentados nas seções anteriores deste trabalho: $j_{max} = 0,954 \text{ A m}^{-2}$, $E_{K_A} = -0,465 \text{ V}$ e $C = 4,746 \text{ S m}^{-2}$.

As Figura 4.12 e Figura 4.13 apresentam as curvas geradas pelo modelo matemático e os dados experimentais. Verifica-se que todas as simulações apresentaram previsões na mesma ordem de grandeza dos dados obtidos experimentalmente. As curvas de polarização, concebidas entre os dias 154 e 272 da operação da CCM, apresentaram um comportamento semelhante entre si. Embora exista considerável diferença entre os valores fornecidos pelo modelo matemático e aqueles experimentais, o modelo foi capaz de reproduzir o comportamento da corrente elétrica em função do E_{anodo} das curvas de polarização. Ou seja, a região inicial de incremento na geração de corrente elétrica (-0,7 a -0,4 V vs Ag/AgCl), seguida pela região de saturação, caracterizada pela maior variação entre os dados experimentais (> -0,4 vs Ag/AgCl).

Figura 4.12 - Simulação das curvas de polarização em diferentes dias de operação do reator: (a) dia 154, 4 dias após CON3 (b) dia 167, 17 dias após a CON3; (c) dia 177, 6 dias após a CON4; (d) dia 188, 17 dias após a CON4; (e) dia 196, 4 dias após a CON5; (f) dia 209, 17 dias após a CON5.

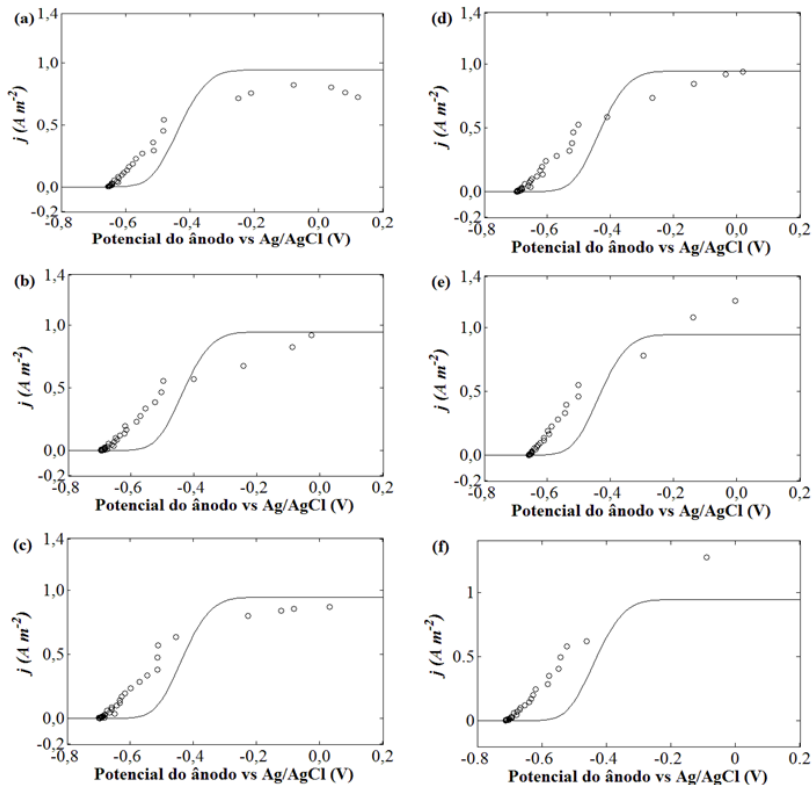
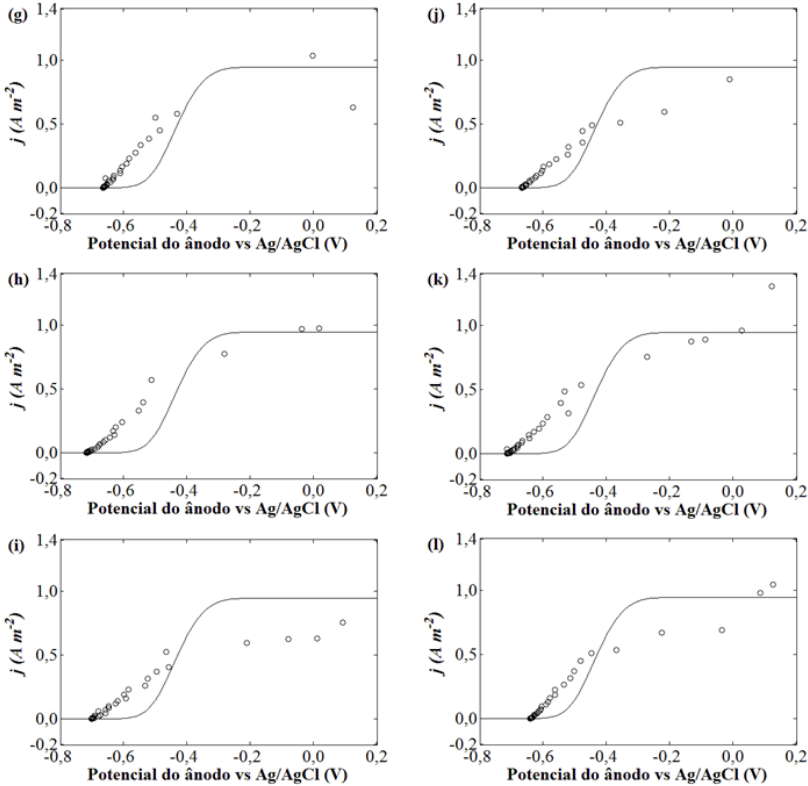
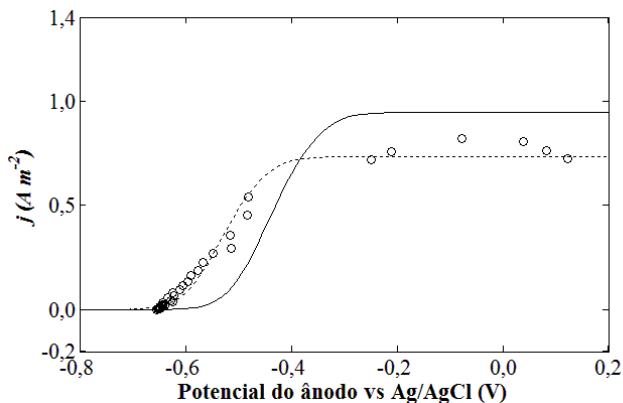


Figura 4.13 - Simulação das curvas de polarização em diferentes dias de operação do reator: (g) dia 216, 3 dias após a CON6; (h) dia 230, 17 dias após a CON6; (i) dia 244, 31 dias após a CON6; (j) dia 252, 5 dias após a CON7; (k) dia 265, 18 dias após a CON7; (l) dia 272, 3 dias após a CON8.



Os valores fornecidos pelo modelo matemático, em geral, apresentam um deslocamento dos valores de potencial elétrico do ânodo para produzir uma mesma corrente elétrica quando comparado aos dados experimentais. A Figura 4.14 ilustra os resultados da simulação da curva de polarização com os valores de E_{K_A} e j_{max} corrigidos ($E_{K_A} = -0,550$ V e $j_{max} = 0,740$ A m⁻²) para ajustar-se aos dados experimentais (deslocamento do modelo, linha pontilhada). Os valores do parâmetro estatístico *RMSE* foi alterado de 0,1341 para a simulação inicial, para 0,0467 para a simulação com os parâmetros corrigidos.

Figura 4.14 - Simulação da influência dos parâmetros E_{K_A} e j_{max} no comportamento das previsões de j vs E_{anodo} da curva de polarização da CCM.



Assim, embora o modelo matemático tenha apresentado um mesmo comportamento que se aproxima à curva de polarização experimental e valores com a mesma ordem de grandeza, o mesmo necessita de incrementos para melhor descrição da CCM. A consideração de outros fenômenos existentes e um maior investimento na determinação dos parâmetros podem gerar previsões mais exatas.

5 CONCLUSÕES

O sedimento marinho coletado no estuário da Lagoa dos Patos, RS, mostrou ser uma interessante fonte de micro-organismos exoeletrogênicos. A célula combustível inoculada com o sedimento foi capaz de gerar energia elétrica em paralelo ao consumo de matéria orgânica em solução (acetato). Com menos de quatro dias de operação a microbiota exoeletrogênica já estava estabelecida no reator, o que se traduziu no resultado da geração de corrente elétrica, a qual atingiu um valor máximo e manteve-se aproximadamente estável ao longo dos demais dias de operação do sistema. Apesar de a CCM ter sido operada com meio de cultivo sintético, a possibilidade de geração de eletricidade a partir de uma fonte orgânica ilustra a potencialidade da técnica para um possível processo no qual haja o tratamento de efluentes com simultânea geração de energia.

A comunidade de micro-organismos exoeletrogênicos presente no sedimento desenvolveu-se preferencialmente aderida à superfície dos eletrodos na CCM, utilizando um mecanismo direto de transferência eletrônica extracelular (citocromos e nanofios). A característica da biomassa em utilizar um mecanismo direto de TEE possibilita a operação da CCM em modo contínuo uma vez que o material solubilizado no meio de reação mostrou não afetar a respiração microbiana. Os resultados das análises eletroquímicas identificaram a ausência de mediadores no reator.

A modelagem da cinética de geração de corrente elétrica foi possível, sendo que o modelo de Marcus, Torres e Rittmann (2007) apresentou a capacidade de descrever os resultados, de corrente elétrica em função do potencial elétrico, obtidos nas análises de voltametria cíclica. Além disso, o modelo forneceu valores de parâmetros com significado físico e biológico o que possibilitou investigar o papel da condutividade do biofilme na geração da corrente elétrica como também o efeito das condições operacionais sobre a geração da corrente elétrica.

As simulações das curvas de polarização foram pouco exatas, contudo, o modelo apresentou o comportamento que se aproxima aos dados experimentais e valores na mesma ordem de grandeza. A discrepância entre os resultados simulados e os experimentais indica que o modelo necessita ainda de incrementos, a incorporação de outras resistências elétricas, buscando considerar outros fenômenos existentes no sistema, pode contribuir para a maior exatidão de suas previsões.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AELTERMAN, P.; RABAEY, K.; PHAM, H.T.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. Continuous electricity generation at high voltages and currents using stacked microbial fuel cells. **Environmental Science and Technology**, 40, 2006, 3388-3394.

BABANOVA, S., HUBENOVA, Y., MITOV, M. Influence of artificial mediators on yeast-based fuel cell performance. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. 112, 2011, 379-387.

BARD, A.J., FAULKNER, L.R. *Electrochemical Methods Fundamentals and applications*. New York: John Wiley & Sons, 2001.

BENNETTO, H.P., DELANEY, G.M., MASON, J.R., ROLLER, S.D., STIRLING, J.L., THURSTON, C.F. The sucrose fuel cell: efficient biomass conversion using a microbial catalyst. **Biotechnology Letters**. 7, 1985, 699-704.

BOND, D.R., HOLMES, D.E., TENDER, L.M., LOVLEY, D.R. Microorganisms that harvest energy from marine sediments. **Science**. 295, 2002, 483-485.

BOND, D.R., LOVLEY, D.R. Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes. **Applied and Environmental Microbiology**. 69, 2003, 1548-1555.

BOND, R.D. Electrodes as Electron Acceptors, and the Bacteria Who Love Them. In: BARTON, L.L., MANDL, M., LOY, A. *Geomicrobiology: Molecular and Environmental Perspective*. London: Springer, 2010, 385-400.

BOX, G.E.P., HUNTER, W.G., HUNTER, J.S. *Statistics for experimenters: An introduction to design, data analysis, and model building*. New York: John Wiley & Sons, 1978.

BURDEN, R.L., FAIRES, J.D. *Numerical analysis*. 9^a ed. Australia: Brooks/Cole, 2011.

DEBABOV, V. G., Electricity from Microorganisms. **Microbiology**. 77, 2008, 123-131.

DELANEY, G.M., BENNETTO, H.P., MASON, J.R., ROLLER, S.D., STIRLING, J.L., THURSTON, C.F. Electron-transfer coupling in microbial fuel cells. 2. Performance of fuel cells containing selected microorganism-mediator-substrate combinations. **Journal of Chemical and Technology and Biotechnology**. 34, 1984, 13-27

DU, Z., LI, H., GU, T. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. **Biotechnology Advances**. 25, 2007, 467-482.

EL-NAGGAR, M. Y., WANGER, G., LEUNG, K. M., YUZVINSKY, T. D., SOUTHAM, G., YANG, J., LAU, W. M., NEALSON, K. H., GORBY, Y. A. Electrical transport along bacterial nanowires from *Shewanella oneidensis* MR-1. **PNAS Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 107, 2010, 18127-18131.

GORBY, Y., YANINA, S., McLEAN, J. S., ROSSO, K.M., MOYLES, D., DOHNALKOVA, A., BEVERIDGE, T.J., CHANG, I.S., KIM, B.H., KIM, K.S., CULLEY, D.E., REED, S.B., ROMINE, M.F., SAFFARINI, D.A., HILL, E.A., SHI, L., ELIAS, D.A., KENNEDY, D.W., PINCHUK, G., WATANABE, K., ISHII, S., LOGAN, B., NEALSON, K.H., FREDRICKSON, J.K. Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. **PNAS Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 103, 2006, 11358-11363.

GREGORY, K., BOND, D.R., LOVLEY, D.R. Graphite electrodes as electron donors for anaerobic respiration. **Environmental Microbiology**. 6, 2004, 596-604.

HALLIDAY, D.; RESNICK, R.; WALKER, J. Fundamentos de física 3: eletromagnetismo. 9ª ed. Rio de Janeiro: LCT, 2012.

HARNISCH, F., FREGUIA, S. A basic tutorial on cyclic voltammetry for the investigation of electroactive microbial biofilms. **Chemistry an Asian Journal**. 7, 2012, 466-475.

HEIJENEN, J.J. Bioenergetics of Microbial Growth. In: FLICKINGER, M.C., DREW, S.W. Bioprocess technology: fermentation, biocatalysis and bioseparation. New York: John Wiley & Sons, 1999.

HOLMES, D.E., BOND, D.R., O'NEIL, R.A., REIMERS, C.E., TENDER, L.R. LOVLEY, D.R. Microbial communities associated with electrodes harvesting electricity from a variety of aquatic sediments. **Microbial Ecology**. 48, 2004, 178-190.

ISHII, S., KOSAKA, T. HORI, K., HOTTA, Y., WATANABE, K. Coaggregation facilitates interspecies hydrogen transfer between *Pelotomaculum thermopropionicum* and *Methanothermobacter thermautotrophicus*. **Applied and Environmental Microbiology**. 72, 2005, 7838-7845.

JAIN, A., ZHANG, X., PASTORELLA, G., CONNOLLY, J., O., BARRY, N., WOOLLEY, R., KRISHNAMURTHY, S., MARSILI, E. Electron transfer mechanism in *Shewanella loihica* PV-4 biofilms formed at graphite electrode. **Bioelectrochemistry**. 87, 2012, 28-32.

LaBELLE, E., BOND, D.R. Cyclic voltammetry for the study of microbial electron transfer at electrodes. . In: RABAEY, K., ANGENENT, L., SCHRÖDER, U., KELLER, J. *Bioelectrochemical Systems: from extracellular electron transfer to biotechnological application*. London: IWA Publishing, 2010, 137-148.

LEE, S.A., CHOI, Y., JUNG, S. KIM, S. Effect of initial carbon sources on the electrochemical detection of glucose by *Gluconobacter oxydans*. **Bioelectrochemistry**. 57, 2002, 173-178.

LEE, H., TORRES, C.I., RITTMANN, B.E. Effects of substrate diffusion and anode potential on kinetic parameters for anode-respiring bacteria. **Environmental Science and Technology**. 43, 2009. 7571-7577.

LEHNINGER, A.L., NELSON, D.L., COX, M.M. *Princípios de Bioquímica*. Tradução: Fabiana Horn. Porto Alegre: ARTMED, 2011.

LOGAN, B.E., HAMELERS, B., ROZENDAL, R. SCHRODER, U., KELLER, J., FREGUIA, S., AELTERMAN, P., VERSTRAETE, W.,

RABAEY, K. Microbial fuel cells: methodology and technology. **Environmental Science & Technology**. 40, 2006, 5181-5192.

LOGAN, B. E., REGAN, J.M. Electricity-producing bacterial communities in microbial fuel cells. **TRENDS in Microbiology**. 14, 2006, 512-518.

LOGAN, B. E. *Microbial Fuel Cells*. New Jersey: Wiley & Sons, 2008.

LOVLEY, D. R. Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches. **Current Opinion in Biotechnology**. 17, 2006, 327-332.

LOVLEY, D. Electromicrobiology. **Annual review microbiology**. 66, 2012, 391-409.

LUI, H., LOGAN, B. E. Electricity generation using an air-cathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. **Environmental Science and Technology**. 38, 2004, 4040-4046.

MALVANKAR, N. S., VARGAS, M., NEVIN, K. P., FRANKS, A. E., LEANG, C., KIM, B. C., INOUE, K., MESTER, T., COVALLA, S. F. JOHNSON, J. P., ROTELLO, V. M., TOUMINEN, M. T., LOVLEY, D. R. Tunable metallic -like conductivity in microbial nanowire networks. **Nature Nanotechnology**. 6, 2011, 573-579.

MALVANKAR, N. S., TOUMINEN, M. T., LOVLEY, D. R. Biofilm conductivity is a decisive variable for high-current-density *Geobacter sulfurreducens* microbial fuel cells. **Energy e Environmental Science**. 5, 2012, 5790-5797.

MALVANKAR, N. S., LAU, J. NEVIN, K. P., FRANKS, A. E., TUOMINEN, M. T., LOVLEY, D. L. Electrical conductivity in a mixed-species biofilm. **Applied and Environmental Microbiology**. 78, 2012, 5967-7971.

MARCUS, A.K., TORRES, C.I., RITTMANN, B.E. Conduction-Based Modeling of the Biofilm Anode of a Microbial Fuel Cell. **Biotechnology and Bioengineering**. 98, 2007, 1171-1182.

MORITA, M., MALVANKAR, N. S., FRANKS, A. E., SUMMERS, Z. M., GILOTEAUX, L., ROTARU, A. E., ROTARU, C., LOVLEY, D. R. Potential for direct interspecies electron transfer in methanogenic wastewater digester aggregates. **Mbio.** 2, 2011.

MARSILI, E., BARON, D.B., SHIKHARE, I.D., COURSOLE, D., GRALNICK, J.A., BOND, D.R. *Shewanella* secretes flavins that mediate extracellular electron transfer. **PNAS Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.** 105, 2008a, 3968-3973.

MARSILI, E., ROLLEFSON, J. B., BARON, D. B., HOZALSKI, R. M., BOND, D. R. Microbial biofilm voltammetry: direct electrochemical characterization of catalytic electrode-attached biofilms. **Applied and Environmental Microbiology.** 74, 2008b, 7329-7337.

MARSILI, E., SUN, J., BOND, D. Voltammetry and growth physiology of *Geobacter sulfurreducens* biofilms as a function of growth stage and imposed electrode potential. **Electroanalysis.** 22, 2010, 865-874.

MARZZOCCO, A., TORRES, B.B. *Bioquímica Básica*. Rio de Janeiro: Guanabarra Koogan, 2007.

NOLL, K. Microbial fuel cell. In: SAMMES, N. *Fuel Cell Technology*. London: Springer, 2006, 277-296.

OLSSON, L., NIELSEN, J. On-line and in situ monitoring of biomass in submerged cultivations. **Trends in Biotechnology.** 15, 1997, 517 -523.

Organização das Nações Unidas Brasil [internet]. População de 7 bilhões demanda investimentos nos jovens, afirma Relatório do UNFPA. [Acesso em: 26 de outubro de 2011]. Disponível em: <http://www.onu.org.br/populacao-de-7-bilhoes-demanda-investimentos-adicionais-nos-jovens-afirma-relatorio-do-nfpa/>.

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

PARK, D.H., ZEIKUS, G. Electricity generation in microbial fuel cells using neutral red as an electronophore. **Applied and Environmental Microbiology**. 66, 2000, 1292-1297.

PARK, D.H., ZEIKUS, J.G. Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation. **Biotechnology and Bioengineering**. 81, 2003, 348-355.

PATANKAR, S.V. Numerical heat transfer and fluid flow. New York: Routledge, 1980.

PHAM, H.T, AELTERMAN, P., VERSTRAETE, W. Bioanode performance in bioelectrochemical systems: recent improvements and prospects. **TRENDS in Biotechnology**. 27, 2009, 168-178.

PICIOREANU, C., HEAD, I.M., KATURI, K.P., Van LOOSDRECHT, M.C.M., SCOTT, K. A computational model for biofilm-based microbial fuel cells. **Water Research**. 41, 2007, 2921-2940.

PICIOREANU, C., KATURI, K.P., HEAD, I.M., van LOOSDRECHT, M.C.M., SCOTT, K. Mathematical model for microbial fuel cells with anodic biofilms and anaerobic digestion. **Water Science & Technology – WST**. 57, 2008, 965-971.

PICIOREANU, C. KATURI, K.P., van LOOSDRECHT, M.C.M., HEAD, I.M., SCOTT, K. Modelling microbial fuel cells with suspended cells and added electron transfer mediator. **Journal Applied Electrochemical**. 40, 2010, 151-162.

PINTO, R.P., SRINIVASAN, B., MANUEL, M.F., TARTAKOVSKY, B. A two-population bio-electrochemical model of a microbial fuel cell. **Bioresource Technology**. 101, 2010, 5256-5265.

RABAEY, K., BOON, N., SICILIANO, S.D., VERHAEGE, M., VERSTRAETE, W. Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate electron transfer. **Applied and Environmental Microbiology**. 70, 2004, 5373-5382.

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

RABAEY, K. Bioelectrochemical Systems: a new approach towards environmental and industrial biotechnology. In: RABAEY, K., ANGENENT, L., SCHRÖDER, U., KELLER, J. *Bioelectrochemical Systems: from extracellular electron transfer to biotechnological application*. London: IWA Publishing, 2010, 1-13.

REGUERA, G., NEVIN, K.P., NICOLL, J.S., COVALLA, S.F., WOODARD, T.L., LOVLEY, D.R. Biofilm and nanowire production leads to increased current in *Geobacter sulfurreducens* fuel cells. **Applied and Environmental Microbiology**. 72, 2006, 7345-7348.

RICHTER, H., NEVIN, K.P., JIA, H., LOWY, D.A., LOVLEY, D.R., TENDER, L.M. Cyclic voltammetry of biofilms of wild type and mutant *Geobacter sulfurreducens* on fuel cell anodes indicates possible roles of OmcB, OmcZ, type IV pili, and protons in extracellular electron transfer. **Energy & Environmental Science**. 2, 2009, 506-516.

RINALDI, A., MECHERI, B., GARAVAGLIA, V., LICOC CIA, S., Di NARDO, P., TRAVERSA, E. Engineering materials and biology to boost performance of microbial fuel cells: a critical review. **Energy & Environmental Science**. 1, 2008, 417-429.

RISMANI-YAZDI, H., CARVER, S.M., CHRISTY, A.D., TOUVINEN, O.H. Cathodic limitations in microbial fuel cells: an overview. **Journal of Power Sources**. 180, 2008, 683-694.

RITTMANN, B. E., McCARTY, P. L. Environmental Biotechnology: Principles and Applications. New York: McGraw Hill, 2001.

RODRÍGUEZ, J., PREMIER, G.C. Towards a mathematical description of bioelectrochemical systems. In: RABAEY, K., ANGENENT, L., SCHRÖDER, U., KELLER, J. *Bioelectrochemical Systems: from extracellular electron transfer to biotechnological application*. London: IWA Publishing, 2010, 423-446.

ROZENDAL, R.A., HAMELERS, H.V.M., RABAEY, K., KELLER, J., BUISMAN, C.J. Towards practical implementation of bioelectrochemical wastewater treatment. **TRENDS in biotechnology**. 26, 2008, 450-459.

SCHRÖDER, U., NIEßEN, J. SCHOLZ. A generation of microbial fuel cells with current outputs boosted by more than one order of magnitude. **Angewandte Chemie International Edition**. 42, 2001, 2880-2883.

SCHÖDER, U. Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency. **Physical Chemistry Chemical Physics**. 9, 2007, 2619-2629.

SKOOG, D.A., WEST, D.M., HOLLER, F.J., CROUCH, S.R. Introdução a Eletroquímica. In: *Fundamentos de química analítica*. Tradução: Marco Tadeu Grassi. São Paulo: Pioneira, 2006, Cap 18, 464-492.

SPEEARS, A., REGUERA, G. Electron donors supporting growth and electroactivity of *Geobacter sulfurreducens* anode biofilms. **Applied and Environmental Microbiology**. 78, 2012, 437-444.

SRIKANTH, S., MARSILI, E., FLICKINGER, M.C., BOND, D. R. Electrochemical Characterization of *Geobacter sulfurreducens* cells immobilized on graphite paper electrodes. **Biotechnology and Bioengineering**. 99, 2008, 1065-1073.

Statistical Review of World Energy 2012 BP [internet] BP Statistical Review of World Energy June 2012. [Acesso em: 10 de setembro de 2012]. Disponível em: http://www.bp.com/assets/bp_internet/globalbp/globalbp_uk_english/reports_and_publications/statistical_energy_review_2011/STAGING/local_assets/pdf/statistical_review_of_world_energy_full_report_2012.pdf

SUMMERS, Z. M., FOGARTY, H., E., LEANG, C., FRANKS, A. E., MALVANKAR, N. S., LOVLEY, D. R. Direct Exchange of electrons within aggregates of an evolved syntrophic coculture of anaerobic bacteria. **Science**. 330, 2010, 1413-1415.

TANAKA, K., VEGA, C.A., TAMAMUSHI, R. Thionine and ferric chelate compounds as coupled mediators in microbial fuel cells. **Bioelectrochemistry and bioenergetics**. 11, 1983, 289-297.

TENDER, L.M., REIMERS, C.E., STECHER III, H.A., HOLMES, D.E., BOND, D.R., LOWY, D.A., PILOBELLO, K., FERTIG, S.J., LOVLEY, D.R. Harnessing microbially generated power on the seafloor. **Nature Biotechnology**. 20, 2002, 821-825.

THURSTON, C.F., BENNETTO, H.P., DELANEY, G.M., MASON, J.R., ROLLER, S. D., STIRLING, J.L. Glucose metabolism in a microbial fuel cell. Stoichiometry of product formation in a thionine-mediated *Proteus vulgaris* fuel cell and its relation to coulombic yields. **Journal of General Microbiology**. 131, 1985, 1393-1401.

TORRES, I.C.; MARCUS, A.K.; RITTMANN, B.E. Kinetics of consumption of fermentation products by anode-respiring bacteria. **Applied microbial and cell physiology**. 77, 2007, 689-697.

TORRES, C.I., MARCUS, A.K., PARAMESWARAN, P., RITTMANN, B.E. Kinetic Experiments for evaluating the Nernst-Monod Model for Anode Respiring Bacteria (ARB) in biofilme anode. **Environmental Science and Technology**. 42, 2008, 6593-6597.

TORRES, C.I., MARCUS, A.K., LEE, H.S., PARAMESWARAN, P., KRAJMALNIK-BROWN, R., RITTMANN, B. E. A kinetic perspective on extracellular electron transfer by anode-respiring bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**. 34, 2010, 3-17.

ZENG, Y., CHOO, Y.F., KIM, B.H., WU, P. Modelling and simulation of two-chamber microbial fuel cell. **Journal of Power Sources**. 195, 2010, 79-89.

ZHANG, X.C., HALME, A. Modeling of a microbial fuel cell process. **Biotechnonology Letters**. 17, 1995, 809-814.