

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ARTES, CIÊNCIAS E HUMANIDADES**

JULIO CANO

**Célula a combustível microbiana: influência da temperatura e da
resistência externa sobre a atividade eletrogênica**

**SÃO PAULO
2023**

JULIO CANO

Célula a combustível microbiana: influência da temperatura e da resistência externa sobre a atividade eletrogênica

Dissertação de mestrado

Dissertação apresentada à Escola de Artes, Ciências e Humanidades da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências pelo Programa de Pós-graduação em Sustentabilidade.

Área de concentração: Ciência e Tecnologia
Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Antunes Nolasco

São Paulo
2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Escola de Artes, Ciências e Humanidades,
com os dados inseridos pelo(a) autor(a)
Brenda Fontes Malheiros de Castro CRB 8-7012; Sandra Tokarevicz CRB 8-4936

Cano, Julio

Célula a combustível microbiana: influência da temperatura e da resistência externa sobre a atividade eletrogênica / Julio Cano; orientador, Marcelo Antunes Nolasco. -- São Paulo, 2023.

116 p: il.

Dissertacao (Mestrado em Ciencias) - Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade, Escola de Artes, Ciências e Humanidades, Universidade de São Paulo, 2023.

Versão corrigida

1. Bioeletroquímica. 2. Bioenergia. 3. Eletricidade. 4. Biomassa. 5. Sustentabilidade. 6. ODS. I. Nolasco, Marcelo Antunes, orient. II. Título.

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

A Comissão Julgadora de Defesa de Dissertação reuniu-se na Sala 330 da Escola de Artes, Ciências e Humanidades da Universidade de São Paulo, no dia 05 de dezembro de 2022, às 13h, para arguir, o(a) aluno(a) Julio Cano, do Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade, referente à dissertação “Célula a combustível microbiana: influência da temperatura e da resistência externa sobre a atividade eletrogênica”. A sessão iniciou-se com a apresentação da dissertação pelo(a) aluno(a), seguida de arguição pelos julgadores, que decidiram pela Aprovação (aprovação/reprovação) da Dissertação de Mestrado, conforme avaliação a seguir:

Prof./a. Dr./a. Marcelo Antunes Nolasco Presidente	Resultado: Aprovado	_____	(assinatura)
Prof./a. Dr./a. Valeria Reginatto Spiller	Resultado: Aprovado	_____	(assinatura)
Prof./a. Dr./a. Eduardo Delloso Penteadó	Resultado: Aprovado	_____	(assinatura)

São Paulo, 05 de dezembro de 2022.

Ferramenta utilizada para participação remota: Google Meet.

Comentários: Versão Revisada.

*Dedico essa dissertação aos meus pais, Elisabete e Carlos e aos meus irmãos Vitor e Bruno,
que sempre estiveram ao meu lado.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais que sempre me apoiaram e incentivaram a correr atrás dos meus objetivos, além de acreditarem em mim e serem compreensíveis, mesmo quando precisei estar em fins de semana no laboratório.

Agradeço ao meu irmão Vitor que auxiliou no projeto como aluno de pós-doutorado que me ajudou nas etapas mais desafiadoras do mestrado, mas nunca perdeu a confiança e sempre foi otimista e confiante mesmo quando eu duvidei de mim, ajudando-me sempre que era necessário. Também agradeço ao meu irmão mais velho Bruno pelo apoio e pelas caronas principalmente durante o período de pandemia da Covid 19.

Agradeço a minha amiga Amanda Moreira Moreno, pelos momentos de leveza, que me ajudou a manter os pés no chão quando precisei. Além de compartilhar experiências de vida e momentos gratificantes.

Agradeço a Sabrina pelo apoio ainda na iniciação científica como estagiária – treinamento técnico da Fapesp e posteriormente como mestranda. Agradeço também a Verena com discussões interessantes sobre bioeletroquímica.

Agradeço a Luiza Cotti, Milla de Araújo, Yussrra Abdul Ghani e Anny Eli pelas discussões produtivas, pelo auxílio no laboratório e pelas conversas que fizeram o trabalho parecer mais leve. Agradeço a professora Renata Colombo e a todos os meus professores, pois cada um foi parte fundamental na minha trajetória para que eu me tornasse quem eu sou hoje.

Ao Engenheiro Bruno, que me auxiliou no programa de aquisição de dados de temperatura no sistema de monitoramento on-line e na confecção do sistema de temperatura.

Aos técnicos de laboratório Rodrigo, Geison, Ervin e principalmente o Renato, pelo seu apoio nas mais diversas demandas do projeto e do laboratório como um todo.

À equipe da secretaria de pós-graduação pelo suporte. Ao Lindon do setor de apoio à projetos (EAIP) com as compras de insumos para a pesquisa e toda a burocracia em relação às notas fiscais do projeto.

Agradeço a Fapesp (2019/27180) pela bolsa de mestrado concedida. Agradeço pelo Auxílio regular Fapesp (17/24524-0) programa BIOEN concedido ao meu orientador que permitiu a execução do projeto de pesquisa. Agradeço aos membros da banca examinadora: Prof. Eduardo Delloso Penteado e a Prof. Valeria Reginatto Spiller pelas sugestões e recomendações para a melhoria do projeto. Agradeço ao meu orientador, Prof. Marcelo Antunes Nolasco, por todo o apoio, desde quando iniciei meu primeiro projeto como estudante de graduação sob sua orientação.

Agradeço a todos os que não foram citados, mas contribuíram de alguma forma para esta pesquisa.

RESUMO

Cano, J. **Célula a combustível microbiana: influência da temperatura e da resistência externa sobre a atividade eletrogênica**. 2023. n 116. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pósgraduação em Sustentabilidade, Escola de Artes, Ciências e Humanidades, Universidade de São Paulo, 2023. Versão Revisada.

A célula a combustível microbiana (CCM) é uma tecnologia que possibilita a conversão de matéria orgânica em energia elétrica. Este projeto teve como objetivo analisar a influência da temperatura para remoção de matéria orgânica e geração de energia em conjunto da otimização da resistência aplicada ao circuito externo (R_{ext}). O estudo foi realizado com uma CCM tubular, em escala de bancada, no tratamento de efluente sintético simulando vinhaça de usinas de produção de bioetanol. Seis protótipos de CCMs foram construídas e operadas sob fluxo contínuo, estudadas em 3 condições/fases. A fase 1 configurou-se como a partida, ajustes e padronização de todas as unidades. A fase 2 com redução da R_{ext} de 300 Ω para 22,5 Ω , em condição mesofílica (25,5°C) e termofílica (55,2°C). Para ambas as fases as CCMs foram alimentadas com efluente sintético com 5 gDQO/L. Para a fase 3 foi elevada a concentração de matéria orgânica (MO), assim os reatores passaram a operar com 20 gDQO/L com a finalidade de avaliar o efeito da carga orgânica sobre a eficiência coulombiana (EC) e a tensão da CCM. A avaliação da eficiência de tratamento da água residuária foi realizada mediante análise de parâmetros físico-químicos e eletroquímicos. Para determinação da resistência interna (R_{int}) foram utilizadas as curvas de polarização e a espectroscopia de impedância eletroquímica. Os resultados da fase 1 indicaram que as unidades operadas como réplicas possuíam comportamento semelhante, com potencial total acima de 600 mV, com densidade de potência entre 2,7 – 3,5 W/m³ e R_{int} abaixo de 13 Ω . A redução da R_{ext} na fase 2 resultou em aumento da densidade de corrente, com valores médios de até 38,6 ± 4,21 A/m³ e 14,69 ± 3,38 de EC. As CCMs operadas a 55°C apresentaram remoção 1,8 vezes maior de MO em relação as unidades mesofílicas. No entanto foi observado uma resistência interna elevada, associado a saturação do oxigênio dissolvido no cátodo. Para a fase 2 a condição mesofílica a 22,5 Ω apresentou maior eficiência para parâmetros de resistência interna e EC. Na fase 3 a elevação da concentração de MO permitiu as CCMs alcançarem os maiores valores de densidade de potência entre as fases anteriores CCM a 55°C com 22,5 Ω com valor de 14,4 ± 2,36 W/m³. As unidades mesofílicas apresentaram menor remoção de MO e geração de energia, com limitações associadas a resistência de difusão relacionada ao crescimento de biofilme causado pela elevação de MO. Portanto na terceira fase a configuração de maior eficiência em termos de geração de energia foi identificada nas CCMs termofílicas.

Palavras-chave: Bioeletroquímica. Bioenergia. Eletricidade. ODS. Biomassa. Sustentabilidade.

ABSTRACT

Cano, J. **Microbial fuel cell: influence of temperature and external resistance on electrogenic activity**. 2023. n 116. Dissertation (Master's) – Graduate Program in Sustainability, School of Arts, Sciences and Humanities, University of São Paulo, 2023. Revised version.

The microbial fuel cell (MFC) is a technology that enables the conversion of organic matter into electrical energy. Thus, this project aimed to analyze the influence of temperature for the removal of organic matter and energy generation together with the optimization of the resistance applied to the external circuit (R_{ext}). The study was carried out with a tubular MFC, in bench scale, applied to the treatment of synthetic effluent simulating vinasse from bioethanol production. Six MFC prototypes were built and operated under continuous flow, studied in 3 conditions/phases. Phase 1 is configured as the startup, adjustments and standardization of all units. Phase 2 with R_{ext} reduction from 300 Ω to 22.5 Ω , in mesophilic (25.5°C) and thermophilic (55.2°C) conditions. For both phases, the MFCs were fed with synthetic effluent with 5 gCOD/L. For phase 3, the concentration of organic matter (OM) was increased, so the reactors started to operate with 20 gCOD/L with the functionality to evaluate the effect of the organic load on the Coulomb efficiency (CE) and the tension of the MFC. The evaluation of the wastewater treatment efficiency was carried out through the analysis of physical-chemical and electrochemical parameters. For internal resistance (R_{int}) polarization curves and electrochemical impedance spectroscopy were used. Phase 1 results indicated that the units operated as replicated had similar behavior, with total potential above 600 mV, with power density between 2.7 – 3.5 W/m³ and R_{int} below 13 Ω . R_{ext} reduction in phase 2 resulted in increased current density, with average values up to 38.6 ± 4.21 A/m³ and 14.69 ± 3.38 CE. MFCs operated at 55°C demonstrated 1.8 times greater OM removal compared to mesophilic units. However, a high internal resistance was observed, associated with the saturation of oxygen stored in the cathode. For phase 2, the mesophilic condition at 22.5 Ω showed greater efficiency for internal resistance and CE parameters. In phase 3, the intensification of the OM concentration allowed the MFCs to reach the highest values of power density among the previous MFC phases at 55°C with 22.5 Ω with a value of 14.4 ± 2.36 W/m³. Mesophilic units showed lower OM removal and energy generation, with limitations associated with diffusion resistance related to biofilm growth caused by OM emission. Therefore, in the third phase, the most efficient configuration in terms of energy generation was identified in thermophilic MFCs.

Keywords: Bio-electrochemistry. Bioenergy. Electricity. SDG. Biomass. Sustainability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Princípio do funcionamento de uma CCM com duas câmaras separadas por uma membrana de troca de prótons.....	7
Figura 2 - Visão geral e esquemática dos mecanismos transferência de elétron: direta e mediada.....	10
Figura 3 - Comparação de potência entre a CCM e outras tecnologias de geração de energia estacionária.....	14
Figura 4 - Etapas envolvidas na transferência de elétrons da bactéria para o ânodo	15
Figura 5 - Materiais da CCM empregados no estudo. 5 A: (1) Grade de inox preenchida de CAG (2) câmara anódica preenchida de CAG vista por cima (3) Tampa da câmara anódica. 5-B (A) mangueira de polietileno para passagem de líquido (B) mangueira de aeração.	26
Figura 6 - Estrutura interna da CCM e elementos que compõem o reator.	27
Figura 7 - “A” representa o suporte de membrana com 105,6 cm ² e “B” com 228 cm ² com a câmara catódica inserida dentro do tubo de PVC.	28
Figura 8 - Esquema de montagem dos componentes da CCM tubular com (1) carcaça do filtro; (2) malha de inox externa; (3) suporte para MTP; (4) malha de inox interna; (5) tampa do suporte de MTP; (6) folha de silicone para vedação; e (7) tampa da carcaça de	29
Figura 9 - Visão geral dos seis reatores montados (6 CCMs).	30
Figura 10 - Configuração da alimentação no ânodo (efluente sintético) e cátodo (PBS).	33
Figura 11 – Reator R3. Detalhe: as 3 saídas em diferentes alturas para coleta de amostras ...	34
Figura 12 - Fluxograma da configuração de operação das 3 fases do monitoramento	38
Figura 13 – Remoção de matéria orgânica durante a partida das CCMs	42
Figura 14 – Resistência interna referente à 1º e a 2º curva de polarização	46
Figura 15 – Primeira e segunda curvas de densidade de potência e polarização e efetuadas para as unidades R2, R4, R6.....	47
Figura 16 – Valores de impedância das unidades R1, R3, R4, R5 e R6.	49
Figura 17 - Variação da tensão pela influência da temperatura.....	53
Figura 18 - Elevação da corrente após alteração da resistência externa e aumento da alcalinidade – I; início da fase 2 - II; aumento da alcalinidade do substrato. CCM; M, MR, T, TR.....	56
Figura 19 – Densidade de potência volumétrica (A) e EC (B) durante a fase 2 de operação .	61
Figura 20 – Influência da temperatura e da R_{ext} na remoção de matéria orgânica.....	62
Figura 21 – Influência da temperatura e da R_{ext} na EC.....	64
Figura 22 – Influência da temperatura no potencial anódico	65

Figura 23 – Final da operação - Curva de polarização (A) e densidade de potência registradas (B) – Fase 2.....	67
Figura 24 – Influência da temperatura e da R_{ext} na taxa de remoção	69
Figura 25 - Estratificação da remoção de matéria orgânica da unidade MR (22,5 Ω) durante as fases de operação.....	71
Figura 26 - Concentração de proteínas da câmara anódica – Topo – Meio - Base	73
Figura 27 - Eficiência coulombiana fase 2 e fase 3.....	75
Figura 28 - Curva de polarização final (A) e densidade de potência registradas (B) – Fase 377	
Figura 29 - Resistência Interna das CCMs nas Fases 2 e 3 de operação.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características e propriedades da vinhaça de diferentes matérias-primas.....	5
Tabela 2 - Características do CAG utilizado na CCM*.	25
Tabela 3 - Composição do efluente sintético.....	31
Tabela 4 – Configuração da fase 1 de operação.	33
Tabela 5 - Características de operação da fase 2.	36
Tabela 6 - Características de operação da fase 3.	37
Tabela 7 - Parâmetros (e frequência) analisados na câmara anódica e da câmara catódica dos reatores.....	39
Tabela 8 - Configurações para obtenção das curvas de impedância:	41
Tabela 9 – Concentração final e remoção matéria orgânica da câmara anódica.....	43
Tabela 10 – Geração de energia, EC e densidade de potência das CCMs.....	44
Tabela 11 – Resistência interna e densidade de potência	45
Tabela 12 - Comparação entre este estudo com CCM usando GAC e/ou com design baseado em um ânodo tubular, incluindo R_{int} e densidades de potência.....	49
Tabela 13 - Variáveis de operação de cada reator da fase 2 (5 gDQO /L) e 3 (20 gDQO/L) .	50
Tabela 14 - Taxa de carregamento orgânico (TCO) e remoção de matéria orgânica da câmara anódica na fase 2.....	51
Tabela 15 - Influência da temperatura na tensão e na eficiência coulombiana	52
Tabela 16 - Influência da temperatura na densidade de potencia máxima e na resistência interna dos reatores.	54
Tabela 17 - Valores do pH na Fase 1 – Fase 2 inicial – Fase 2 após ajuste	58
Tabela 18 - Remoção de matéria orgânica da câmara anódica por DQO e COT – relação DQO/COT.	59
Tabela 19 - Tensão total e potencial do ânodo na operação dos reatores mesofílicos	60
Tabela 20 – Resistências dos reatores mesofílicos durante a fase 2.....	60
Tabela 21 - Influência da temperatura e da R_{ext} na remoção de matéria orgânica.	63
Tabela 22 - Influência da temperatura e da R_{ext} na geração de energia e na densidade de potência.....	64
Tabela 23 - Comparação fase 1 e fase 2 - Influência da temperatura e da R_{ext} na densidade de potência máxima e no PCA	66
Tabela 24 - Remoção de matéria orgânica da câmara anódica por DQO e COT	68
Tabela 25 - Influência da temperatura e da R_{ext} na relação DQO/COT – Fase 2 e 3	69
Tabela 26 - Concentração de proteínas na câmara anódica - Topo, Meio, Base.....	72

Tabela 27 -Tensão, EC, densidade de corrente e potência adquiridas na fase 3 de monitoramento.....	74
Tabela 28 - Densidade de potência máxima adquirida pela curva de polarização dos reatores na fase 2 e 3	76
Tabela 29 - Remoção de matéria orgânica (DQO) – Fase 1	97
Tabela 31 - Potencial anódico fase 1	97
Tabela 32 – Eficiência Coulombiana – Fase 1	98
Tabela 33 – Concentração DQO (g/L) Fase 1 - 3.....	99
Tabela 34 – Tensão – ânodo: fase 1 – fase 2 e fase 3.....	99
Tabela 35 – Corrente - fase 1, fase 2 e fase 3.....	100
Tabela 36 – Eficiência coulombiana fase 1, fase 2 e fase 3	101

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

CCM – Célula a combustível microbiana

CCM – CM - Célula a combustível microbiana – controle mesofílico

CCM – M (22,5 Ω) - Célula a combustível microbiana – mesofílico

CCM – MR (22,5 Ω) - Célula a combustível microbiana – mesofílica com redução da área de membrana

CCM – CT- Célula a combustível microbiana - controle termofílico

CCM – T (22,5 Ω) - Célula a combustível microbiana – termofílica

CCM – T2 (22,5 Ω) - Célula a combustível microbiana – termofílica dois

CCM – TR (22,5 Ω) - Célula a combustível microbiana – termofílica com redução da área de membrana

DQO - Demanda química de oxigênio

EC – Eficiência Coulômbiana

GAC - Carvão ativado granular

MO – Matéria orgânica

MTP - Membrana de troca de prótons

OD - Oxigênio dissolvido

ODS - Objetivos do Desenvolvimento Sustentável

ONU - Organização das Nações Unidas

PCA - Potencial de circuito aberto

PVDF - polivinilideno

PVC - Policloreto de vinila

SDG: Sustainable Development Goals

TCO – Taxa de carregamento orgânico

TEE - Transferência extracelular de elétrons

TDH - Tempo de detenção hidráulica

R_{ct} - Resistência de transferência de carga

R_d - Resistência à difusão

R_e - Resistência eletrolítica

$R_{e_{xt}}$ - Resistência externa

$R_{i_{nt}}$ - Resistência interna

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. VINHAÇA: CARACTERÍSTICAS E APROVEITAMENTO	3
3. CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA	7
3.1 Mecanismo de transferência de elétron para um eletrodo sólido	8
3.2 CCM para o tratamento de águas residuárias	10
3.2.1 CCM para o tratamento de vinhaça	11
3.3 Variáveis Operacionais.....	13
3.3.1 Material dos eletrodos	15
3.3.2 Membrana de troca de prótons	17
3.3.4 Variação da resistência externa	20
3.3.5 Influência da temperatura na comunidade microbiana e na eficiência da CCM	21
4. OBJETIVO GERAL	23
4.2 Objetivos específicos:	23
5. MATERIAIS E MÉTODOS	24
5.1 Contexto do desenvolvimento da pesquisa	24
5.2 Configurações das CCMs	25
5.3 Água residuária sintética	30
5.4 Inóculo	31
5.5 Fases de operação dos reatores	32
5.5.2 Fase 1 – padronização dos reatores	33
5.5.3 Fase 2 - Avaliação da R_{ext} para promoção da atividade eletrogênica termofílica	34
5.5.4 Fase 3 - Avaliação da elevação concentração de matéria orgânica	36
5.6 Métodos empregados para análise dos dados obtidos.....	39
5.6.1 Coleta de amostras e parâmetros físico-químicos	39
5.6.2 Parâmetros eletroquímicos	39
5.6.3 Curva de polarização e impedância	40
5.6.5 Análise da concentração de proteínas	41
5.7 Análise estatística	42
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
6.1. Fase 1 - Padronização dos reatores	42
6.1.2 Oxidação de matéria orgânica	42
6.1.3 Geração de energia	44
6.1.3.2 Impedância	48
6.2 Avaliação da performance das Fases 2 e 3	50
6.3. Fase 2 - influência da temperatura na remoção de matéria orgânica.....	51
6.2.2 Fase 2 - influência da temperatura na geração de energia.....	52

6.4. Fase 2 - influência da alteração da resistência externa.....	54
6.5 Influência da alteração da resistência externa na remoção de matéria orgânica.....	58
6.6 Influência da alteração da resistência externa na geração de energia.....	59
6.7 Fase 2 - influência da alteração da resistência externa e da elevação da temperatura combinados .	62
6.7.1 Oxidação da matéria orgânica	62
6.7.2 Influência da alteração da resistência externa e da elevação da temperatura combinados para conversão de matéria orgânica em energia	63
6.8 Fase 3 - influência do aumento da carga orgânica	68
6.8.1 Efeito da elevação da carga orgânica para oxidação da matéria orgânica	68
6.8.2 Influência da estratificação de matéria orgânica na concentração para proteínas na coluna do Reator.....	70
6.8.3 Influência da carga orgânica na geração de energia.....	74
7. CONCLUSÕES	80
REFERÊNCIAS	82
ANEXO	97

1. INTRODUÇÃO

O acentuado crescimento populacional, a urbanização e industrialização resultaram no aumento da geração de Gases de Efeito Estufa – GEE, na demanda por ampliação em sistemas de tratamento de águas residuárias e no consumo de energia. Portanto abordagens intersetoriais a exemplo da *Water-Wastes-Energy Nexus* são cada vez mais importantes (GUVEN *et al.*, 2018; alinhadas aos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável da ONU (ANASTAS *et al.*, 2021). A energia elétrica é indispensável ao bem estar humano, para o desenvolvimento social e econômico. Por sua vez, o uso de energia a partir de combustíveis fósseis acarreta diversos problemas associados à emissão de gases do efeito estufa. De acordo com o Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas, anualmente são emitidos 42 Gt de dióxido de carbono decorrente do uso de hidrocarbonetos como fonte energética (IPCC, 2020).

Além das questões relacionadas às mudanças climáticas, os depósitos de combustíveis fósseis são alternativas limitadas física e economicamente, pois são necessários milhões de anos para a formação destas reservas. Não menos importante, a velocidade de extração e consumo de combustíveis fósseis impossibilita a renovação do mesmo, tornando um recurso finito (MARTINS, *et al.*, 2015).

Atualmente os esforços e avanços para a necessária transição energética baseada em fontes de energia limpa e renovável orientadas às metas de descarbonização da economia estão gradualmente se ampliando dada a emergência climática (TAVARES, 2020; URAZGALIEV, *et al.*, 2021). A demanda pela utilização de energia renovável é um dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS): ODS 7 - Energia limpa e acessível (ENGELBERTH *et al.*, 2021). É, portanto, relevante a introdução de fontes de energia de baixo carbono na matriz energética nacional, com o intuito de diminuir a dependência de combustíveis fósseis (CARVALHO *et al.*, 2006; EMBRAPA, 2018). Logo, se faz necessária a diversificação dos meios de produção de energia e a transição progressiva para uma economia de baixo carbono com uma maior utilização de fontes alternativas, limpas e renováveis (PROGYSIS *et al.*, 2011; TAVARES, 2020; URAZGALIEV, *et al.*, 2021).

A produção de etanol proveniente da cana de açúcar é um setor relevante para o país na produção de energia limpa e renovável (CAMARGO *et al.*, 2022). O Brasil ocupa uma posição privilegiada na produção de biocombustíveis, principalmente devido à grande extensão territorial, onde faz uso de 7 milhões de hectares para o cultivo de matéria prima para a produção de etanol (FUESS, 2017).

Porém para cada um 1 litro de etanol são produzidos em média 13 litros de vinhaça gerada a uma temperatura acima de 80°C (FUESS, 2017). A vinhaça também é conhecida pelos nomes vinhoto, tiborna ou restilo e é caracterizada como efluente de destilarias com alto poder poluente e alto valor como fertilizante (ALMEIDA e COLOMBO, 2021). A vinhaça, como subproduto da produção do etanol, tem grande potencial energético, pois apresenta uma composição com elevada concentração de moléculas químicas (PAZUCH *et al.*, 2017). Geralmente a vinhaça *in natura* é utilizada para a fertirrigação, o que, apesar dos benefícios gerados pela adubação, quando praticada por longos períodos pode causar salinização e o desbalanceamento de nutrientes do solo (ALMEIDA e COLOMBO, 2021; FUESS, 2017). Além disso, a mesma pode acumular no solo e mover-se deste para as águas superficiais e os lençóis freáticos, causando eutrofização ou ainda ser liberado na atmosfera pela volatilização de amônia ou produção de óxido nitroso, que se caracteriza como um gás de efeito estufa (GAMBOA *et al.*, 2011).

Com isso, além dos impactos ambientais decorrentes de questões energéticas, o desenvolvimento (agro)industrial e o crescimento da população têm contribuído para o lançamento crescente de águas residuárias *in natura* com alta carga poluidora (PAULO, *et al.*, 2019; SILVA, 2019). Essa prática leva a diversos problemas ambientais e de saúde pública, como a contaminação de águas, a eutrofização e a disseminação de doenças (CANO *et al.*, 2020; CAMPOS e NOLASCO, 2021).

Aliando a necessidade de diversificação de novas formas de geração de energia em conjunto ao tratamento de águas residuárias, as estações de tratamento de águas residuárias passam a ser concebidas como recuperadora de recursos, isto é, biorrefinarias com potencial de produção de produto(s) de valor agregado, a exemplo da energia (NOLASCO, 2014; MENESES- JACOMÉ *et al.*, 2015). Uma tecnologia que se encontra alinhada a essa perspectiva é a célula à combustível microbiana (CCM). Esta consiste em um sistema bioeletroquímico que converte energia química em energia elétrica, principalmente pela ação de microrganismos. A CCM é uma tecnologia promissora para contribuir com a redução do déficit de energia e controle da poluição dos recursos hídricos, uma vez que pode gerar eletricidade enquanto realiza o tratamento de águas residuárias simultaneamente (CHEN *et al.*, 2015). Atualmente busca-se prover um maior desempenho na performance dos parâmetros das CCMs, seja pela configuração, escolha dos materiais, ou adequação do reator para o desenvolvimento de comunidades de microrganismos mais aptos para remoção de matéria orgânica e geração de energia (LOGAN, 2008; ROSSI e LOGAN, 2020).

A otimização da resistência do circuito externo ($R_{\text{ext}} = R_{\text{int}}$) se destaca, ao regular a disponibilidade do ânodo como um acceptor de elétrons estando diretamente relacionado com a transferência extracelular de elétrons (TEE) (LIU, *et al.*, 2017). Além disso, também é responsável pelo crescimento da comunidade microbiana desenvolvida no reator favorecendo os microrganismos exoeletrogênicos (responsáveis pela TEE) (MEI *et al.*, 2017).

Outro fator relevante que influencia tanto o desenvolvimento da comunidade microbiana quanto a geração de energia e a remoção de matéria orgânica é a temperatura da CCM (LOGAN, 2008). A operação de CCMs para o tratamento de efluentes gerados em altas temperaturas ($\sim 55^{\circ}\text{C}$) pode ser vantajosa para a oxidação de matéria orgânica. Isso ocorre devido à maior velocidade de reação de degradação de matéria orgânica por microrganismos em condições termofílicas, (FU *et al.*, 2015). Com isso, a operação na condição termofílica é uma forma promissora de se obter resultados de geração de energia mais eficientes. Quando somada à operação em resistência ótima, esta vantagem pode ser ainda maior quanto ao desempenho das CCMs.

Portanto, o presente projeto teve como objetivo a elevar o desempenho de uma CCM em escala de bancada com remoção de matéria orgânica no tratamento da vinhaça e na produção de eletricidade simultaneamente sob condições operacionais mesofílicas e termofílicas com resistência externa ótima. Espera-se que o desenvolvimento desse projeto contribua com o estabelecimento de critérios que permitam aumento da robustez da tecnologia e eficiência, agregando valor ao resíduo, contribuindo para a redução de impactos ambientais e promovendo a sustentabilidade ambiental.

2. VINHAÇA: CARACTERÍSTICAS E APROVEITAMENTO

A produção de etanol como biocombustível aumentou nos últimos anos, com a produção brasileira registrando um crescimento de 11,1 % no ano de 2019 (BEN, 2020), com uma produção de 38 bilhões de litros (UNICA, 2020) correspondendo a 30% da produção mundial. O etanol é considerado um dos principais combustíveis automotivos, possuindo grandes vantagens em relação a outras fontes de energia, devido a sua variedade de opções de matérias primas utilizadas em sua produção e pelo caráter menos poluidor em relação a outros combustíveis como a gasolina (FUESS, 2017).

O etanol de primeira geração é produzido principalmente a partir das matérias-primas: cana-de-açúcar, milho, beterraba e trigo, as quais são ricas em carboidratos fermentáveis (sacarose), amido, celulose e inulina (ALMEIDA e COLOMBO, 2021). A

produção de etanol a partir da sacarose encontrada na cana-de-açúcar possibilitou a elevação positiva de indicadores econômicos, energéticos e ambientais, resultado do alto rendimento agroindustrial do Brasil, com produção média de 65 t/ha de cana-de-açúcar (BERNAL *et al.*, 2017).

Decorrente do alto teor de açúcar de fácil fermentação bem como nutrientes minerais e orgânicos, domínio da técnica de plantio e sua transformação industrial, a cana-de-açúcar é considerada a matéria prima mais adequada para a produção de bioetanol (RODIONOVA, *et al.*, 2016; TYAGE *et al.*, 2019; JESWANI, *et al.*, 2020). A sacarose contida na cana-de-açúcar apresenta-se como um carboidrato que pode ser facilmente digerida pelas leveduras durante o processo de fermentação (GAMBOA *et al.*, 2011). Após a fermentação, o líquido resultante é centrifugado e destilado para separação do álcool, o resíduo do final desse processo é denominado, então, vinhaça (PAZUCH *et al.*, 2017).

Portanto, a vinhaça é um resíduo da destilação do processo fermentativo da produção do etanol, caracterizando por sua acidez (pH: 3,5 a 5), corrosividade, coloração marrom escura, odor intenso, temperatura acima de 80°C, com composição rica em matéria orgânica na forma de ácidos orgânicos, além de nutrientes em concentrações elevadas, como potássio, sulfato, nitrogênio e fósforo (CHRISTOFOLETTI *et al.*, 2013; FUESS e GARCIA 2015; PAZUCH *et al.*, 2017). Essas características são parcialmente provenientes do processo de preparo da matéria prima para fermentação (adição de ácido sulfúrico, elevada temperatura) (BARRERA *et al.*, 2016; FUESS, 2017). No entanto, a composição da vinhaça é variável e dependente da matéria prima utilizada no processo de produção do etanol, como demonstrado na Tabela 1 (HOARAU, 2018).

Fatores que influenciam a composição da vinhaça da cana-de-açúcar são as características do solo de cultivo, variedade da cana, período da safra e o processo industrial envolvido na produção do etanol (SANTOS 2010; ALMEIDA e COLOMBO, 2021). A incorporação da água de lavagem da cana e a água de outros processos, por exemplo, contribuem para a diluição da vinhaça (WILKIE *et al.*, 2000)

Tabela 1 – Características e propriedades da vinhaça de diferentes matérias-primas

Parâmetro	Matéria prima						
	Melaço de cana*	Caldo de cana*	Milho*	Beterraba*	Uva (vinho)**	Agave (tequila)**	Sorgo**
pH	3,9–4,3	4,04	3,3–4	5,35	3-4,2	3,4	4,5
DQO g/L	104–134,4	26 -30,4	59,4–64,5	91,1	26-50,2	55,2-66,3	79,9
DBO g/L	46,1–96	16,7	26,9–43,1	44,9	14,54-16,3	20,6	46
N g/L	1,66–4,2	0,63	0,546–0,755	3,57	0,1 – 0,6	na	0,8
S g/L	3,24–3,42	1,35	2,99	3,71	0,12	0,78-0,88	3,5-3,72
P g/L	0,22–3,03	0,13	0,228–1,170	0,16	0,065- 0,118	0,041	1,99
K g/L	9,6–17,47	1,95	na	10,0	0,18-0,8	0,24-0,34	na

Hoarau (2018)* Gamboa (2011) **

A alta concentração de matéria orgânica da vinhaça é decorrente de açúcares residuais que não foram convertidos na fermentação, compostos orgânicos intermediários, além de uma fração residual de etanol não recuperado na destilação (FUESS, 2017; PAZUCH *et al.*, 2017). Os compostos mais frequentemente encontrados na vinhaça são os ácidos orgânicos, representados pelo oxalato, lactato, acetato, malato, butirato, citrato, carboidratos e fenóis (GAMBOA *et al.*, 2011). A vinhaça também apresenta compostos tóxicos como melanoidinas e derivados fenólicos de baixa degradabilidade com potencial de ocasionar efeitos adversos aos microrganismos e plantas, levando a inibição da germinação de sementes (GAMBOA *et al.*, 2011; FITZGIBBON, *et al.*, 1998).

Devido a seu alto potencial poluidor resultante principalmente da quantidade elevada de matéria orgânica e do pH ácido, se faz necessário buscar uma alternativa de tratamento ou de reaproveitamento deste resíduo (VITTI, 2019). Dessa forma, as alternativas geralmente empregadas para o aproveitamento da vinhaça são fertirrigação e produção de levedura (CHRISTOFOLETTI *et al.*, 2013).

Das opções apresentadas a fertirrigação apresenta maior potencial de utilização em larga escala (FUESS *et al.*, 2017). Adicionalmente, devido à presença de nutrientes como o cálcio e potássio, os baixos custos e a simplicidade do manejo, a utilização da vinhaça como fertilizante *in natura* disposto diretamente no solo é amplamente empregado no Brasil (PAZUCH *et al.*, 2017).

Porém a disposição direta da vinhaça no ambiente por longos períodos pode ocasionar efeitos adversos ao solo, água subterrânea, vida aquática, além de afetar a produtividade da lavoura (BERNAL *et al.*, 2017; FUESS, 2017). Devido à utilização excessiva de fertilizantes, a salinização do solo pode ocorrer pelo acúmulo de potássio e acarretar em desbalanceamento de nutrientes no solo, além da redução da alcalinidade e lixiviação de metais que não são absorvidos pelas plantas (HOARAU, 2018; PAZUCH *et al.*, 2017).

A fertirrigação da vinhaça *in natura* resulta em perdas consideráveis de energia, que poderiam ser convertidas em maior ganho econômico, pois uma fonte de energia excedente é depositada no solo (PAZUCH *et al.*, 2017). Assim, considera-se que embora a fertirrigação seja uma técnica antiga e economicamente viável, a mesma apresenta limitações ambientais, por conta de sua composição, sendo necessário, portanto, o tratamento prévio à disposição no solo (GAMBOA *et al.*, 2011; FUESS, 2017). Adicionalmente, os altos valores de DQO e DBO presentes na vinhaça, indicam a presença de substrato orgânico biodegradável com potencial de aplicação em processos biotecnológicos para recuperação energia (FUESS, 2017)

A produção de energia pode ocorrer na forma de biometano e hidrogênio, ao se utilizar a digestão anaeróbia ou diretamente na forma de eletricidade nos sistemas bioeletroquímicos (FERRAZ Jr *et al.*, 2016; PAZUCH *et al.*, 2017). No entanto, a composição do biogás apresenta diversos compostos como o sulfeto de hidrogênio, que precisam ser removidos para manutenção da eficiência da conversão em bioenergia e eletricidade (SUN *et al.*, 2016).

A vinhaça apresenta algumas características favoráveis para geração de energia em sistemas bioeletroquímicos, como a alta concentração de matéria orgânica, presença de lignina em sua composição, que inibe a metanogênese e serve como mediador redox (SAKDARONNARONG *et al.*, 2015; PANDEY *et al.*, 2016), e alta condutividade decorrente da elevada concentração de potássio, sódio e sulfato, que auxiliam a transferência de carga (LIU *et al.*, 2004). Logo, o potencial de poluição da vinhaça pode ser reduzido ao se considerar alternativas para seu uso, assim se transformando em ganhos ambientais na geração de energia (OTTONI *et al.*, 2018).

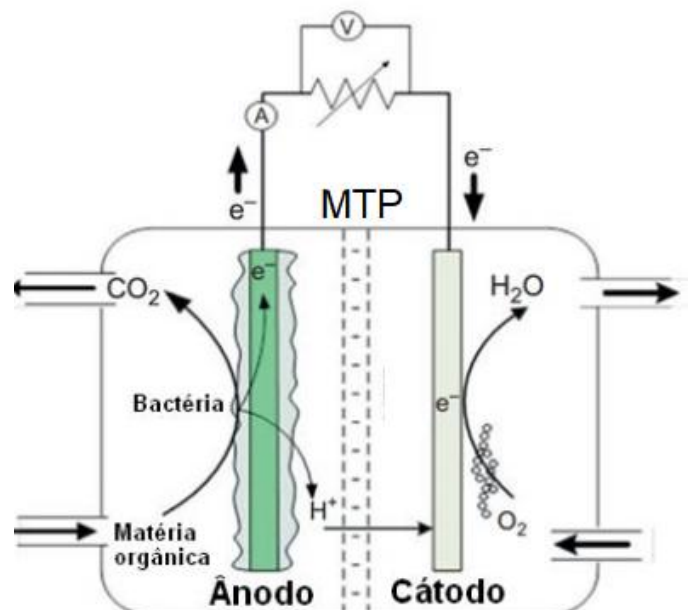
Dessa forma, os sistemas bioeletroquímicos estão sendo avaliados como alternativa para tratamento de resíduos agroindustriais e recuperação de energia simultaneamente. A seguir são apresentadas as características e fundamentos do funcionamento de sistemas bioeletroquímicos com foco na célula a combustível microbiana.

3. CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA

A CCM é um sistema bioeletroquímico que converte energia química de um substrato em eletricidade mediante atividade metabólica das bactérias que atuam como biocatalisadores (LOGAN, 2008; CHENG, *et al.*, 2018). As CCMs utilizam bactérias exoeletrogênicas que possuem a capacidade de transferir elétrons para o exterior de sua membrana onde podem aderir a um eletrodo (AL-MAMUM e BAWWAIN, 2015). As CCMs típicas caracterizam-se por serem um sistema bioeletroquímico, no qual os produtos finais são eletricidade, H_2O e CO_2 (ALCARAZ-GONZALEZ *et al.*, 2022).

As CCMs (Figura 1 - Princípio do funcionamento de uma CCM com duas câmaras separadas por uma membrana de troca de prótons.) geralmente consistem em dois compartimentos, o anódico e o catódico, separados por uma membrana de troca de prótons. A câmara anódica deve estar em condições anaeróbias, de modo que as bactérias estejam separadas do oxigênio (AL-MAMUM e BAWWAIN, 2015). Dessa forma as bactérias exoeletrogênicas oxidam o substrato disponível enquanto armazenam energia intracelularmente na forma de ATP, liberando CO_2 enquanto transferem elétrons para um eletrodo (ânodo) (KOOK *et al.*, 2021). O desenvolvimento da comunidade microbiana é possibilitado pela energia recuperada da diferença de potencial entre seu doador de elétrons e o acceptor final de elétrons (SUN *et al.*, 2016).

Figura 1 - Princípio do funcionamento de uma CCM com duas câmaras separadas por uma membrana de troca de prótons.



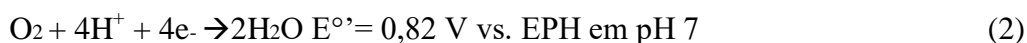
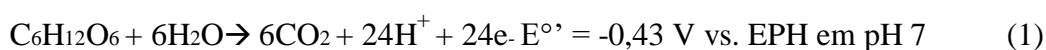
Adaptado de (Bajracharya, 2015)

O circuito externo instalado na CCM possibilita que as cargas negativas (elétrons)

migram para a câmara catódica, com a corrente podendo ser medida por um multímetro (Figura 1). Os prótons migram do ânodo para o cátodo, através do sistema de transferência de prótons (usualmente uma membrana de troca protônica - MTP), onde são consumidos por um acceptor de elétrons (normalmente oxigênio), em uma reação de redução, fechando o circuito (ZHANG e HE, 2012; SAKDARONNARONG *et al.*, 2015). Assim, o fluxo de elétrons e a diferença de potencial geram a corrente e a voltagem respectivamente (AL MAMUM e BAWWAIN, 2015, CANO, 2020; CANO *et al.*, 2021).

As condições necessárias para que um acceptor de elétrons seja utilizado em uma CCM incluem um alto potencial redox, cinética de reação rápida e ser economicamente e amplamente disponível (HE *et al.*, 2015). Com isso diversos aceptores de elétrons podem ser utilizados no cátodo, como: Fe(III), Mn(IV), ferricianeto, permanganato, dicromato, sulfato e nitrato (AL-MAMUM e BAWWAIN, 2015; SUN *et al.*, 2016). Porém, diferentes aceptores de elétrons podem exibir propriedades fisico-químicas diferentes podendo afetar a eficiência da geração de eletricidade (UCAR, 2017). O oxigênio é uma opção de uso como acceptor de elétrons na câmara catódica pela alta disponibilidade, pelo seu alto potencial redox e por não ser tóxico (AL MAMUM e BAWWAIN, 2015).

A redução do oxigênio permite em condições típicas um potencial catódico padrão de +0,82 V vs eletrodo padrão de hidrogênio (EPH) (LOGAN, 2008). Sendo assim, considerando a glicose como substrato orgânico, destacamos as meias reações de oxirredução que caracterizam o sistema CCM (BAJRACHARYA *et al.*, 2016):



Com o circuito externo é possível mensurar a corrente elétrica pelo fluxo de elétrons entre câmaras. A reação global da CCM pode ser expressa mediante a conversão de matéria orgânica biodegradável para dióxido de carbono, com a geração de eletricidade no processo (SANTORO *et al.*, 2017).

3.1 Mecanismo de transferência de elétron para um eletrodo sólido

A CCM por ser um sistema bioeletroquímico é fortemente dependente de comunidades microbianas (MEI *et al.*, 2017). A CCM converte matéria orgânica em eletricidade, transferindo elétrons para o circuito com o auxílio de bactérias. Essas bactérias

possuem maneiras distintas de transferir elétrons para o eletrodo (SANTORO *et al.*, 2017) sendo elas:

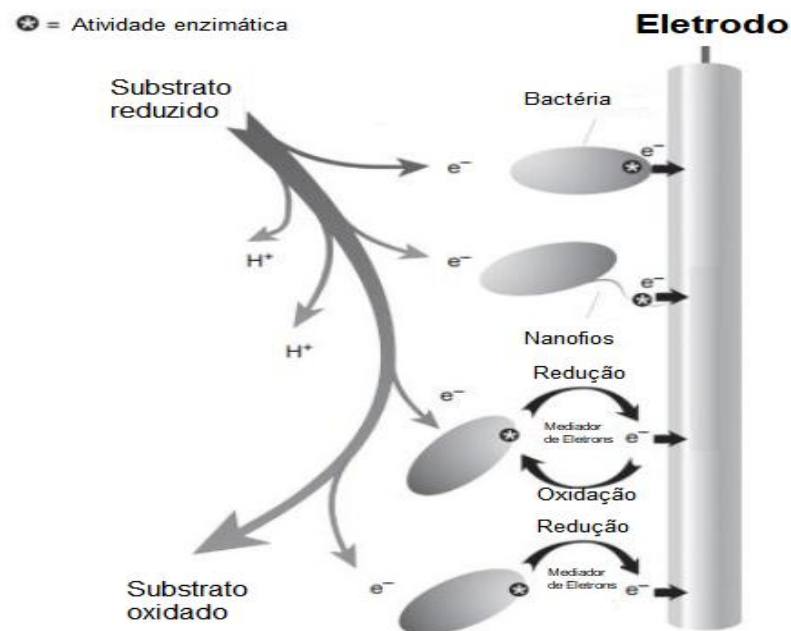
1- Transferência direta que, por meio do contato físico da membrana celular dos microorganismos com o eletrodo possibilita a transferência de elétrons do interior da célula para a superfície do ânodo (KONDAVEETI, 2018). Apesar da simplicidade da transferência direta, a necessidade do contato físico pode se tornar um fator limitante, reduzindo a geração de corrente (RACHINSKY *et al.*, 2010). Dessa forma, as bactérias do gênero *Geobacter*, *Rhodospirillum rubrum* e *Shewanella* utilizam proteínas como o citocromo do tipo-C para possibilitar a transferência direta para um acceptor de elétrons sólido (PHILIPS *et al.*, 2015). O eletrodo anódico também funciona como uma alternativa viável para um acceptor de elétrons sólido e são utilizados por diversos microorganismos (KONDAVEETI, 2018; PHILIPS *et al.*, 2015). Como a transferência direta necessita de contato físico as correntes máximas que podem ser obtidas, considerando apenas a primeira camada do biofilme eletricamente ativas, seriam de $0,6 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, $3 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ e $6,5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ para *Shewanella putrefaciens*, *Rhodospirillum rubrum* e *Geobacter sulfurreducens*, respectivamente (KONDAVEETI, 2018). Porém as espécies *Geobacter sp.* e *Shewanella sp.* podem produzir pili, condutores ou nanofios, filamentos moleculares que são eletroquimicamente ativos (KRIEG *et al.*, 2018). Os nanofios facilitam a transferência de elétrons da parede celular ao permitir que os micro-organismos mais distantes consigam utilizar o acceptor de elétrons (KONDAVEETI, 2018).

2- A transferência de elétrons se dá por via indireta, intermediada por mediadores que atuam como intermediários entre a membrana celular e o ânodo (HERNANDEZ-FERNANDEZ, *et al.*, 2015). Os mediadores de elétrons servem como um acceptor, quando o elétron passa pela membrana celular para o mediador, este se reduz; e, quando o mediador entra em contato com a superfície do ânodo, ele se oxida e transfere o elétron para o eletrodo (Figura 2) (PHILIPS, *et al.*, 2015). Os mediadores artificiais são compostos químicos externos às células, como tionina, ferricianeto de potássio, que são introduzidos no meio em que as bactérias se encontram (RACHINSKI, *et al.*, 2010; HODGSON *et al.*, 2016). A utilização de mediadores externos está sendo evitada devido à necessidade constante de reposição destes nas CCMs, quanto pela geração de resíduos tóxicos (RACHINSKI, *et al.*, 2010; HODGSON *et al.*, 2016). Para contornar o uso dos mediadores artificiais, substâncias sintetizadas naturalmente são utilizadas como transportadores de elétrons (TASKAN, 2015). Os mediadores endógenos originam-se dos próprios microrganismos. Assim os mediadores endógenos como os derivados de fenazina, flavinas e quinonas são exemplos de mediadores produzidos pelas bactérias eletrogênicas *Shewanella oneidensis* e *Lactococcus lactis*, que

facilitam a disposição em um aceptor de elétrons sólidos sem a geração de resíduos tóxicos (PHILIPS *et al.*, 2015; HODGSON *et al.*, 2016). Além disso, também podem ser utilizados mediadores naturalmente presentes em efluentes, como em resíduos da indústria têxtil que durante a degradação aeróbica de compostos como naftaleno-2-sulfonato (2NS), as bactérias *Sphingomonas xenophaga* produzem mediadores redox que aumentam significativamente a capacidade da cepa de reduzir azocorantes sob condições anaeróbicas (KECK, *et al.*, 2002)

Bactérias do gênero *Shewanella* e *Geobacter* são usualmente encontradas em uma CCM, logo são também as mais estudadas (SANG e CHOI *et al.*, 2016). No entanto, a comunidade microbiana observada em estudos com a CCM é diversa, com novas espécies sendo identificadas como exoeletrogênicas.

Figura 2- Visão geral e esquemática dos mecanismos transferência de elétron: direta e mediada



Adaptado de PHILIPS *et al.*, (2015)

3.2 CCM para o tratamento de águas residuárias

A primeira aplicação da CCM para o tratamento de águas residuárias é datada da década de 1990 (LOGAN, 2008). Desde então o tratamento de águas residuárias pelas CCMs vem sendo explorados por diversos estudos (BUITRON, *et al.*, 2017; HAN e LOGAN, 2018). No Brasil, foi avaliada a aplicação de uma CCM alimentada com esgoto doméstico em escala de bancada aplicada ao tratamento de esgoto sanitário, simulando um reator anaeróbio

seguido de um reator aeróbio, alcançando uma eficiência média de 70% em termos de DQO e densidade de potência de até 11 mW (MARCON, 2015). Esse estudo relata a existência de uma grande lacuna no desenvolvimento de CCMs em escala real, e que se faz necessário explorar outras variáveis e fenômenos que ainda não foram completamente estudados.

Passos *et al.*, (2016) estudaram consórcios de anaeróbios microrganismos com lodo secundário obtido em uma estação de tratamento de esgoto. Os microrganismos foram cultivados em um biorreator de 250 mL contendo um tecido de carbono. O reator foi alimentado com meio contendo acetato. A densidade de potência aumentou a partir do 15º dia de operação, atingindo um valor de 13,5 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ após 24 dias de operação, e permaneceu estável até o fim do processo. No início da operação da CCM, a densidade de potência foi baixa, provavelmente devido ao lento crescimento e adesão do microrganismo (PASSOS *et al.*, 2016).

Rossi *et al.*, (2022) operou uma CCM que consistia em tanque de PVC de 1400 L (incluindo entrada e saída, 850 L de eletrólito ativo ocupado por módulos de ânodo e cátodo), 2,4 m de comprimento por 1,2 m de largura por 0,7 m de altura. O substrato foi processado com TDH de 12 h, através de uma sequência de 17 módulos de ânodo e 16 módulos de cátodo. A CCM foi operada por mais de seis meses para caracterizar completamente o desempenho eletroquímico e de tratamento de efluentes. A potência produzida ao longo de seis meses pela CCM foi em média $0,46 \pm 0,35$ W com uma corrente de $1,54 \pm 0,90$ A. Observou-se também valores de eficiência coulombiana de 9% e remoção aproximada de $49 \pm 15\%$ de DQO. Ao final do estudo a CCM operou com um consumo mínimo de energia de apenas 0,13 Wh/L, que é mais de 50% inferior ao do tratamento convencional de águas residuais (ROSSI *et al.*, 2022). O estudo piloto apresentado aqui fornece uma perspectiva para a implementação de CCM, integrado à infraestrutura do tratamento de águas residuais já existente.

3.2.1 CCM para o tratamento de vinhaça

Além do esgoto doméstico, a CCM vem sendo submetida a diversos efluentes para avaliação de eficiência do tratamento e geração de energia (SUN *et al.*, 2016). Efluentes como esgoto doméstico, efluentes industriais e agroindustriais vêm sendo estudados para a aplicação em CCMs (SAKDARONNARONG *et al.*, 2015; CORBELLA, *et al.*; 2019). A vinhaça por apresentar características já citadas que favorecem geração de energia em sistemas bioeletroquímicos vem sendo aplicada ao nas CCMs para o tratamento de matéria

orgânica e geração de energia. Sakdaronnarong *et al.*, (2015), por exemplo, relataram o tratamento da vinhaça de cana-de-açúcar por um CCM com volume total de 4L, configurado com câmara anódica preenchida com carvão ativado granular com barra de grafite inserida como coletor de corrente, separada de outra barra de grafite (cátodo) por um separador *Nafion* 117. Usando lignina (0,1 mol/L) como mediador, com resistência externa de 560 Ω , densidade de potência de até 93 W/m² e foi conseguida a remoção de 81% de DQO em 6 dias.

No estudo em que de MA *et al.*, (2018) operou uma CCM de câmara única para o tratamento de vinhaça, os resultados demonstraram que a tensão e a corrente de saída, atingiram 0,29 V e 1,4 mA respectivamente, com resistência externa de 200 ohms. A remoção de COT e DQO alcançou valores superiores a 50% e 70%, respectivamente.

É necessário destacar que devido a grande concentração de matéria orgânica na vinhaça, os compostos não são necessariamente removidos simultaneamente e que a concentração da mesma pode influenciar na operação da CCM (OTTONI *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2017).

Para o estudo de Ottoni *et al.*, (2017), avaliou a possível aplicação de CCM de câmara dupla separada por uma MTP (*Nafion* 117) para o tratamento de vinhaça. Foi utilizado como eletrodo tecido de carbono em ambos os compartimentos (ânodo e cátodo), sendo aderido a uma tela metálica e conectado a uma resistência de 500 Ω . O compartimento anódico foi preenchido com vinhaça sintética (melaço) e inoculado com cultura pura de bactérias redutoras de sulfato enquanto compartimento catódico foi preenchido com meio sintético. Foi identificado o perfil de consumo dos açúcares que compõem a vinhaça sintética durante o processo o consumo dos monossacarídeos ocorreu entre o 7º e o 14º dias, enquanto o consumo de sacarose ocorreu entre o 8º e o 21º dias. Foi observado valores de DQO próximo a 58,8% e densidade de corrente de 330 mW/m². Os autores concluem que a tecnologia CCM se apresenta como altamente promissora para o tratamento da vinhaça. No entanto, mais estudos sobre a configuração e operação do CCM são necessários.

Santos *et al.* (2017), operaram uma CCM com volume útil de 900 ml, separadas por uma MTP do tipo *Nafion* 117 com ânodo feito de feltro de grafite e cátodo constituído por uma grade de aço inoxidável para o tratamento de vinhaça. Foram utilizadas diversas concentrações de matéria orgânica em termos de DQO (variando de 1 a 17g DQO/L) para análise de remoção e geração de energia. Com a concentração de 6,7g obteve-se um valor de remoção de 83% com 0,8 V de voltagem e densidade de potência de 80 W/m³. Porém, quando operado a 10g DQO/L apresentou uma tensão de 0,6 V, porém com remoção de 92%. No entanto, ao se utilizar 17g DQO/L a densidade de potência decaiu para 5 W/m³ e a eficiência

de remoção de DQO foi reduzida para 49%. Santos *et al.*, (2017) conclui que a alta concentração de matéria orgânica produziu um estado de saturação da solução eletrolítica, aumentando a densidade das partículas coloidais em até $1,72 \text{ g/cm}^3$ e prejudicando a transferência de elétrons e prótons.

Li *et al.*, (2020) investigou uma CCM que foi então usada para tratar vinhaça de resíduos alimentares diluída 100 vezes, adicionando celulose bacteriana de potássio (P) e cobre (Cu) como catalisador para e acelerar o consumo do substrato. O bioânodo foi operado com feltro e carbono, com utilização de um cátodo de ar. A potência máxima alcançada foi de $572,16 \text{ mW/m}^2$. A remoção de matéria orgânica em termo de DQO na vinhaça para P e Cu foi de 26% e 64,5%, respectivamente. O estudo destaca que os catalisadores tem origem de matérias-primas baratas, feito com reação *in situ* e sem componentes de alto custo. Por fim o catalisador à base de celulose bacteriana tem a vantagem de custo reduzido e da capacidade de geração de energia comparável a outras CCMs

Embora diversos trabalhos tenham sido dedicados ao tratamento anaeróbio termofílico da vinhaça em reatores convencionais, pesquisas que avaliaram o efeito da temperatura no tratamento de vinhaça em CCM ainda são pouco conhecidas.

Penteado (2016) avaliou uma CCM em escala de laboratório (volume útil de 120 mL), com pérolas de vidro em substituição à membrana de troca protônica, para o tratamento de vinhaça em condições termofílicas. Com o fluxo sequencial entre as câmaras anódica e catódica, obteve-se eficiência média de DQO 23% e 43%, para TDH de 8h e 24h, respectivamente. No entanto, a atividade eletrogênica dos microrganismos não apresentou alterações significativas, uma vez que a eficiência coulombiana média foi de 0,05% e 0,08% para TDH de 8 e 24h, respectivamente. As baixas eficiências coulombianas foram relacionadas a ausência de uma membrana de troca protônica, o que permitiu a difusão do oxigênio do cátodo para o ânodo

3.3 Variáveis Operacionais

Apesar dos avanços em relação ao estudo de variáveis acerca do funcionamento da CCM, ainda existem fatores limitantes para o funcionamento desses biorreatores em escala real (MARCON, 2015). A Figura 3 compara a CCM com outras tecnologias em termos de potência. Verifica-se que CCM ainda é considerada um sistema de baixa produção de energia devido à limitações termodinâmicas decorrentes da natureza das reações bioquímicas,

conforme apresentado no item 3. Portanto, a densidade de potência alcançada atualmente pela CCM ainda não é alta o suficiente para aplicações industriais (GONZALEZ, *et al.*, 2016).

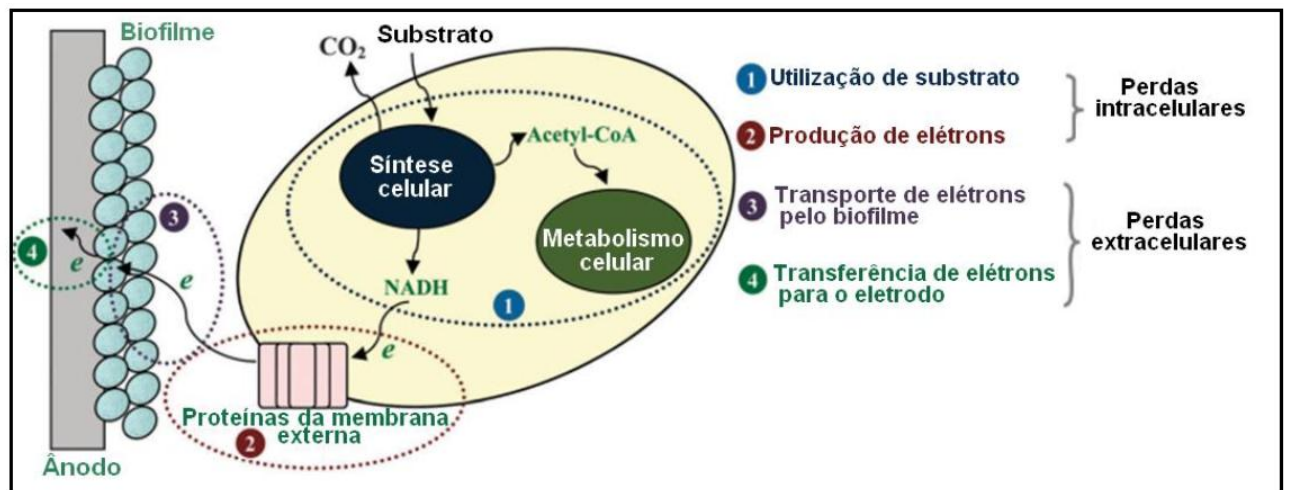
Figura 3- Comparação de potência entre a CCM e outras tecnologias de geração de energia estacionária



Adaptado de Sun *et al.*, 2016

A baixa produção de energia da CCM pode ser explicada pelos perdas energéticas a partir de fenômenos apresentados na Figura 4; (i) o próprio metabolismo e crescimento microbiano, (ii) para resistências ôhmicas associadas à transferência de elétrons da CCM, (iii) para o eletrodo e (iv) para o transporte de massa no biofilme (KONDAVEETI, 2018; DUMITRU e SCOTT, 2016). Além das resistências associadas ao ânodo e cátodo, o eletrólito e a membrana podem impor resistências que diminuem o fluxo de cargas, reduzindo o potencial da CCM, afetando a eficiência de recuperação de energia (DUMITRU e SCOTT, 2016; SUN *et al.*, 2016).

Figura 4- Etapas envolvidas na transferência de elétrons da bactéria para o ânodo



Adaptado de SUN *et al.* (2016).

Um maior desempenho do sistema pode ser alcançado a partir da maior compreensão dos processos bioeletroquímicos e da determinação da influência da condição de operação na eficiência do tratamento e geração de energia (AL-MAMUM E BAWWAIN, 2015). Dentre as características operacionais consideradas de interesse para melhoria da relação custo-benefício da CCM, encontra-se o material do eletrodo, o tipo de membrana e as condições de operação como a temperatura e a resistência externa (SHABANI, 2020; MEI *et al.*, 2017).

3.3.1 Material dos eletrodos

Um fator determinante para a operação da CCM são os materiais utilizados como eletrodo. O eletrodo contribui com os valores de densidade de potência do sistema, influencia a adesão do biofilme, a transferência de elétrons e a oxidação do substrato (SARATALE *et al.*, 2017). A escolha do eletrodo é um dos desafios para tornar a CCM economicamente viável além de ser um grande limitador para a geração de energia, reduzindo perdas ôhmicas, perdas por ativação e por transferência de massa (HAN-YI *et al.*, 2019; YAQOOD *et al.*, 2020;).

As perdas ôhmicas são decorrentes dos componentes da CCM e suas conexões, além da resistência do transporte de íons no eletrólito e através da MTP (JANICEK, 2015). Essas perdas podem ser contornadas com a redução do espaçamento do eletrodo e utilização de materiais com alta condutividade (JUANAREMA, 2019).

A redução da transferência de massa que ocorre devido à presença de biofilmes não condutivos no ânodo, é um fator limitante para a densidade de corrente (CHENG, *et al.*,

2018). Porém, pode ser contornada com a utilização de eletrodos tridimensionais que permite uma transferência de massa mais eficiente (CHENG, *et al.*, 2018; DUMITRU e SCOTT, 2016). Os eletrodos tridimensionais são indicados devido à presença de poros que contribuem para o crescimento interno do biofilme, impedindo que as bactérias bloqueiem a superfície como ocorre com eletrodos bidimensionais, como em tecido de carbono (DUMITRU e SCOTT, 2016). Além disso, os eletrodos tridimensionais possuem uma maior área de superfície de contato do eletrodo, auxiliando no aperfeiçoamento na transferência de elétrons entre a comunidade microbiana e o ânodo (JUANAREMA, 2019). Essas características contribuem com a redução das perdas por ativação que ocorrem devido à energia necessária para iniciar as reações de oxidação e redução no eletrodo, durante a transferência dos elétrons (JUANAREMA, 2019; YAMASHITA *et al.*, 2016).

A compreensão da transferência de massa, perdas ôhmicas e por ativação possibilita a identificação de eletrodos que contribuam com uma resistência interna reduzida, permitindo assim uma maior passagem do fluxo de elétrons do ânodo ou cátodo (YAQOOD *et al.*, 2020).

Com base na literatura, as características do eletrodo necessárias para a utilização na CCM são: alta rugosidade superficial, estabilidade química, boa condução elétrica, biocompatibilidade, estabilidade, durabilidade (ABBAS *et al.*, 2021; YAQOOD *et al.*, 2020). Diversos materiais metálicos já foram utilizados como eletrodo, sendo um dos mais utilizados o aço inoxidável (ABBAS *et al.*, 2021; PAPILLON *et al.*, 2021; SARATALE *et al.*, 2017). No entanto apesar do aço inoxidável ser um bom condutor de eletricidade existe a possibilidade da ocorrência de oxidação do aço inox pelas bactérias redutoras de sulfato. Segundo Marangoni *et al.*, (2013), as bactérias redutoras de sulfato podem ser encontradas nos componentes metálicos mesmo os que não possuem nenhuma corrosão. A oxidação do aço inox pode acarretar na desagregação da liga de cromo e ser prejudicial à comunidade microbiana do reator levando a efeitos negativos na estrutura e função do biofilme (SANTORO *et al.*, 2017).

Outro tipo de eletrodo utilizado são os de origem carbonácea como material papel carbono, grafeno, feltro de carbono, fibra de carbono, carbono vítreo reticulado e formas grafiticas semelhantes (SARATALE *et al.*, 2017; YAQOOD *et al.*, 2020). Dentre os materiais utilizados destaca-se o carvão ativado granular (CAG) considerado como um material capacitivo (JUANARENA, 2020). Sua característica como material capacitivo no ânodo promove o armazenamento de elétrons nos poros, resultando em um ânodo com capacidade de armazenamento de carga, o que possibilita a geração de densidade de correntes mais elevadas (BORSJE *et al.*, 2016; JUANARENA, 2020). Além disso, a área superficial elevada

permite que a adesão de bactérias e a transferência de elétrons sejam eficientes, resultando em ganhos na geração de energia (TEE *et al.*, 2017; YAQOOD *et al.*, 2020; JUANARENA, 2020).

Li *et al.* (2010), operou uma CCM com tecido de carbono e outra com CAG como eletrodo anódico e obteve 2,5 vezes mais densidade de potência para a unidade com CAG. Esse experimento demonstrou como a área elevada de superfície do CAG facilitou a formação de biofilme em torno do eletrodo anódico, aumentando a oxidação do substrato orgânico. Além disso, ao combinar os processos da CCM com o uso de CAG é possível obter uma elevada eficiência de tratamento de águas residuárias, devido à capacidade de adsorção do CAG.

Para os autores Matsena *et al.*, (2021) que operaram CCMs de dupla câmara com membrana *Nafion* 117, o CAG foi utilizado em adição ao tecido de carbono. Isso foi feito cortando o tecido de carbono e depositando o CAG dentro do tecido de carbono formando um invólucro. O tamanho de partícula do CAG de 0,6–1,1 mm resultou em um aumento no desempenho da CCM produzido uma tensão de 507,5 mV e densidade de potência máxima de 1287,7 mW/m³. Por outro lado, embora o CAG com tamanho de partículas de 0,45-0,6 mm, possuir maior área de superfície disponível para fixação da comunidade microbiana, observou-se desempenho inferior, com tensão de 217,1 mV e densidade de potência máxima de 235,4 mW/m³. Isso ocorreu possivelmente pela falta de uma superfície com maior porosidade para a fixação dos microrganismos, apontando um limite para o diâmetro da partícula de CAG que pode ser reduzida (MATSENA *et al.*, 2021).

A escolha do material do eletrodo neste projeto se deu pelos materiais de fácil acessibilidade, e alta condutividade e avaliados em estudos anteriores pelo grupo de pesquisa. Esses eletrodos são responsáveis pelos valores de resistência interna obtida pela CCM, além da redução das perdas por ativação e ôhmicas.

3.3.2 Membrana de troca de prótons

A MTP é considerada como um dos componentes mais importantes e limitantes no desempenho de uma CCM, sendo determinante na eficiência do transporte de prótons em direção ao cátodo (LIAOA *et al.*, 2011; DHARMALINGAN *et al.*, 2019). Para sustentar a corrente, para cada elétron produzido, um próton equivalente deve ser transportado para o cátodo através do eletrólito (CHAE *et al.*, 2008). Dentre as características procuradas para a utilização de MTPs nas CCMs estão: baixa resistência interna, elevada condutividade

protônica, durabilidade, biocompatibilidade, estabilidade química, não ser suscetível a incrustação ou entupimento e de baixo custo (OLIOT *et al.*, 2016).

Uma dificuldade no uso de membranas em uma CCM de câmara dupla é o efeito do desequilíbrio do pH entre o ânodo e o cátodo. Esse desequilíbrio consiste na baixa eficiência do transporte de prótons causando a elevação do pH na câmara catódica e a redução do pH anódico devido ao acúmulo de prótons (DHARMALINGAN *et al.*, 2019; SHABANI, 2020). Logo, o desequilíbrio do pH pode contribuir com a baixa eficiência das reações de oxidação e redução, afetando a geração de energia da CCM. Outro fator que influencia no desempenho da CCM associada a uma característica da membrana é a permeabilidade ao oxigênio, resultando na difusão do oxigênio da câmara catódica para a anódica (CHAE *et al.*, 2008; DHARMALINGAN *et al.*, 2019). Consequentemente, isso pode diminuir o desempenho das CCMs por conta da perda de substrato devido à respiração bacteriana aeróbia (CHAE *et al.*, 2008).

Dentre as membranas mais utilizadas em sistemas bioeletroquímicos, a membrana de nome comercial – *Nafion* é um polímero que apresenta domínios hidrofílicos e hidrofóbicos, onde cuja composição é semelhante ao politetrafluorcarbono, possuindo uma organização parcialmente cristalina, responsável pela estabilidade morfológica do polímero. Na cadeia principal, encontram-se ligados cadeias laterais de perfluoroeter terminadas com um grupo ácido sulfônico, os quais são responsáveis pela característica hidrofílica e, consequentemente, pela hidratação e mobilidade protônica na membrana (PERLES, *et al.*, 2018)

A *Nafion* apresenta características como alta permeabilidade, elevada condutividade protônica, estabilidade eletroquímica em condições oxidantes e ácidas, resistência e flexibilidade quando comparadas a outras membranas. (LI *et al.*, 2020; DHARMALINGAN *et al.*, 2019). Características essas que são desejadas para a concepção de uma CCM. Apesar dessas características, a *Nafion* assim como outras MTPs também apresenta difusão de oxigênio, com potencial de causar a redução no desempenho da CCM (KOOK *et al.*, 2019). Entre as membranas *Nafion* as mais utilizadas são as 117 e 212 que possuem 175 e 50 μm de espessura, respectivamente (PERON, *et al.*, 2010). Essa diferença na espessura pode afetar a condutividade de prótons e o desempenho dos sistemas de células de combustível. A menor espessura da membrana pode levar a um valor de condutividade de prótons mais alto por outro lado permite maior permeabilidade oxigênio (PERON, *et al.*, 2010).

Flores *et al.*, (2016) compararam o desempenho de CCMs de câmara dupla operadas com membranas de baixo custo em escala de laboratório. Os reatores foram inoculados com bactérias redutoras de sulfato como biocatalisador e lixiviado de fermentação de resíduos

orgânicos como substrato. As CCMs foram operadas com as membranas: *Nafion* 117, agarose M6, agarose M2. As resistências internas das membranas avaliadas foram similares, porém as membranas M6 e M2 apresentam custo 2,5 - 6 vezes mais barata que a *Nafion*, sem a necessidade da utilização de reagentes como peróxido de hidrogênio e ácido sulfúrico para a ativação da membrana. No entanto, em termos de densidade de potência a membrana *Nafion*, apresentou um valor 40% superior em relação às M2 e M6.

Fan *et al.* (2020) usando água residuária de melão como efluente, feltro de carbono como eletrodo, operou uma CCM de 500 ml para avaliar o desempenho da membrana *Nafion* 117 modificada com fluoreto de polivinilideno (PVDF) e acetona. Os resultados mostraram que a membrana modificada com PVDF e acetona melhorou a estabilidade da potência de saída do CCM. Apresentando tensão estável do CCM acima de 0,21 V, 96% maior que ao se utilizar a membrana *Nafion* 117 sem modificações.

Outro fator a ser considerado é a área da membrana, Oh e Logan (2006) avaliaram se a área da membrana era um fator de alteração na geração de energia. Operando 3 CCMs de câmara dupla, com eletrodo de papel carbono e acetato como efluente. As câmaras foram separadas por uma membrana *Nafion*117, com áreas 3,5, 6,2 ou 30,6 cm². No estudo descobriram que quando as áreas de superfície do cátodo e do ânodo são iguais à área de superfície da MTP, a densidade de potência adquirida é semelhante. As 3 CCMs apresentaram quando normalizado para a área de superfície do ânodo uma média de 168 ± 5 mW/m². O estudo por fim sugere que sistemas que possuem MTP com área maior em relação a área do eletrodo, seriam capazes de demonstrar densidades de potências maiores do que aqueles com áreas semelhantes.

Vilas Boas *et al.* (2015) operou CCMs de câmara dupla com uma membrana *Nafion* 212 (com áreas distintas 25 e 42,3 cm²) para o tratamento de efluentes de laticínios. A CCM com maior área da membrana (42,3 cm²) apresentou um aumento na resistência interna (16,19 Ω), quando comparado a membrana de 25 cm² com 8,794 Ω. O artigo relaciona o resultado apresentado como consequência da maior quantidade de biofilme aderido a membrana (0,97 e 1,62 mg/mL para 25 e 42,3 cm² respectivamente). Uma vez que um biofilme mais denso pode levar a maior resistência interna devido a redução da transferência de massa do reator.

Apesar das limitações apresentadas na utilização da membrana, a *Nafion* continua sendo a mais utilizada devido as propriedades físico-químicas elevadas favoráveis.

3.3.4 Variação da resistência externa

A CCM, por ainda se tratar de uma tecnologia em estágio de desenvolvimento, apresenta diversos desafios que necessitam ser equacionados ou aprimorados (BUITRON, *et al.*, 2017; NETO *et al.*, 2018). Um dos fatores a se investigar para o aprimoramento da CCM é o controle da resistência do circuito externo para modulação da atividade microbiana interior da CCM, visando aumento da geração de energia. A otimização da resistência se destaca, ao regular a disponibilidade do ânodo como um acceptor de elétrons, estando diretamente relacionado com a TEE (LIU *et al.*, 2016).

A resistência externa geralmente é fixada para o enriquecimento de uma comunidade microbiana eletricamente ativa (PREMIER *et al.*, 2011). No entanto, a mesma pode limitar a produção de energia uma vez que a resistência externa aplicada é geralmente maior do que o valor ótimo (quando resistência externa = resistência interna) (SANG *et al.*, 2016). Dessa forma, mudanças na resistência externa afetam a tensão, o potencial anódico, a corrente, a estrutura e morfologia do biofilme, o metabolismo microbiano, a remoção de matéria e a eficiência coulombiana da CCM (MIDYUROVA, 2019).

Para identificar o valor de resistência externa mais adequada é comumente utilizada a curva de polarização. Esta permite quantificar o valor máximo de densidade de potência que pode ser alcançada pela CCM em função da tensão e corrente (LIU *et al.*, 2016). Dessa forma ao se utilizar diferentes valores de resistência externa pode-se obter uma curva de polarização em um gráfico de potencial *versus* corrente, assim sendo possível identificar a potência máxima da CCM (LOGAN, 2008). A resistência externa que leva à maior densidade de potência pode ser considerada como uma resistência interna ótima.

No estudo de Buitron *et al.*, (2017), a operação da CCM foi dividida em 4 etapas (preenchimento, reação, dreno, tempo ocioso) formando um ciclo no qual um sistema automatizado foi utilizado para determinar o fim da operação e um novo ciclo. As CCMs foram construídas em acrílico com volume de útil 250 mL. O reator foi inoculado com 30% de esgoto doméstico e 70% de uma solução sintética contendo acetato de sódio 20 mM. Os autores utilizaram duas CCMs, a primeira com resistência externa variando de 0 - 50 k Ω , obtendo menor tempo de partida, em 4 dias com densidade de corrente e densidade de potência de 33 mA/m² e 4,4 mW/m² respectivamente. A segunda CCM operando em condição de resistência fixa de 1500 Ω , apresentou resultados de densidade de corrente de 25,7 mA/m² e densidade de potência de 3,7 mW/m², com tempo de partida de 8 dias. Os resultados obtidos

pela operação das 2 unidades demonstraram que a estratégia de variação da resistência externa foi efetiva para reduzir o tempo de inicialização da CCM.

Katuri *et al.*, (2011), investigaram a influência da resistência externa na composição da comunidade microbiana do biofilme anódico. As CCMs de câmara dupla foram separadas pela membrana *Nafion* e com ânodo de placa de grafite inoculadas com esgoto sanitário. Os reatores foram operados em diferentes resistências 0,1 k Ω , 1 k Ω , 10 k Ω , 25 k Ω e 50 k Ω , com valores de densidade de corrente de 273,6; 129,7; 24,5; 13,4; 7,8 em mA/m² respectivamente. Os autores identificaram pela análise da comunidade microbiana que o número de bandas detectadas com o número de espécies decaiu de 27 para 15 conforme a densidade de corrente era elevada. Dessa forma as comunidades desenvolvidas na câmara anódica eram diferentes das identificadas no inóculo, indicando que houve seleção para organismos que colonizam ânodos sob diferentes resistências externas.

A compreensão do desenvolvimento e dinâmica de comunidades microbianas sob influência da R_{ext} é fundamental para modular as reações no interior da CCM, visando aprimoramento do desempenho do sistema.

3.3.5 Influência da temperatura na comunidade microbiana e na eficiência da CCM

Por se tratar de um sistema bioeletroquímico, a CCM é dependente da comunidade microbiana, portanto, determinadas características podem levar a uma maior eficiência tanto na remoção de matéria orgânica quanto na tensão da CCM (MATSENA *et al.*, 2021). As CCMs termofílicas são consideradas potencialmente mais eficientes que as mesofílicas em relação ao desempenho, crescimento microbiano, velocidade de reação, tipos de substrato passíveis de tratamento (DOPSON *et al.*, 2015; SEKAR *et al.*, 2017, DESSI, *et al.*, 2018). Além de serem adequadas para o tratamento de resíduos de alta temperatura, também são adequados para o tratamento de efluentes complexos que podem incluir proteínas, gorduras, carboidratos (TREMOULI *et al.*, 2021). No entanto, as comunidades microbianas normalmente possuem muito menos diversidade do que os consórcios mesofílicos, portanto, são consideradas menos resilientes e mais vulneráveis a potenciais perturbações do processo (CARBALLA *et al.*, 2011).

Apesar das bactérias usualmente encontradas em CCM mesofílicas serem do gênero *Shewanella* e *Geobacter* (LOGAN, 2008), a comunidade microbiana observada em estudos com CCM pode ser bem diversificada. Porém, para as CCM termofílicas há pouco conhecimento acerca dos grupos microbianos exoeletrogênicos que atuam nestas condições

(YADAV *et al.*, 2021). Apesar disso já foram identificadas em temperaturas acima de 50 °C, os microrganismos *Thermicanus*, *Alicybacillus*, *Thermincola*, *Coprothermobacter* (WRIGHTON *et al.*, 2008) *Peptococcaceae*, *Thermaceae*, *Caloramator* (FU *et al.*, 2013; DAI *et al.*, 2017), *Thermoanaerobacter* (LUSK *et al.*, 2015) *Thermincola*, *Tepidiphilus*, *Ureibacillus* (DESSI *et al.*, 2021), *Calditerrivibrio nitroreducens* (FU *et al.* 2013), *Thermicola patens* (WRIGHTON *et al.*, 2011), *Thermanicola ferriaica* (PARAMESWARAN *et al.*, 2013)

Para Fu *et al.*, (2015), a comunidade microbiana termofílica de 55 °C apresentou um melhor desempenho com geração média de tensão elétrica de 74,8 mV quando comparado com a unidade mesofílica (25°C) com geração de 24,9 mV. Esse aumento na geração de energia nas unidades termofílicas está relacionado com a condutividade iônica superior em relação às mesofílicas, devido à maior mobilidade de íons da solução, diminuindo a resistência interna e aumentando a transferência de carga (FU *et al.*, 2015; CARBALLA *et al.*, 2011).

Enquanto que para Dessi *et al.*, (2018), o resultado obtido para o efluente de xilose pela CCM termofílico (55° C) foi de 0,2 W/m³, menor quando comparado à mesofílica (37°C) que foi de 1,1 W/m³. O reator mesofílico apresentou uma comunidade dominada pela *Geobacteraceae* enquanto no termofílicos a produção de energia foi prejudicada pela competição de microrganismos. Segundo estudo de Dessi *et al.*, (2018) a limitação da CCM termofílica pode estar associada a baixa capacidade de oxidação dos subprodutos da xilose e pelo consumo de elétrons por parte das bactérias oxidantes de hidrogênio e de arqueas metanogênicas. As arqueas metanogênicas foram responsáveis por 38% da comunidade encontrada, reduzindo a disponibilidade de elétrons para geração de energia. Além disso, os microrganismos aeróbios, detectados entre a comunidade aderida à membrana, competiram com os microrganismos exoeletrogênicos anaeróbios.

Outro fator que pode diminuir a geração de energia em sistemas CCM é a limitação cinética. Essas perdas de ativação ocorrem durante a transferência de elétrons de bactérias células para a superfície do ânodo, e durante o início da redução do oxigênio na câmara catódica (LOGAN, 2008; DUMITRU e SCOTT, 2015). As perdas de ativação podem ser observadas comparando o potencial de circuito aberto (PCA) do sistema com o potencial teórico esperado para as reações (SCOTT, 2015). No estudo de Cano *et al.*, (2021) foram operados 4 reatores com câmara dupla separada por uma MTP com temperaturas distintas (25, 35 e 55 °C). As CCMs foram construídas utilizando carvão ativado granular (CAG) como eletrodo em reatores destinados ao tratamento de vinhaça sintética, com recirculação no

cátodo. Tanto a CCM a 35°C quanto a CCM a 55°C apresentaram os menores PCAs anódicos quando à CCM em 25°C. No entanto, as CCMs (35° e 55°) também apresentaram potencial de circuito aberto (PCA) do ânodo mais negativo, significando que o aumento da temperatura (55°C) foi mais favorável para a oxidação do substrato no ânodo (CANO *et al.*, 2021).

Desta forma o controle de temperatura em condições termofílicas é um fator relevante para o melhor desempenho da CCM tanto para o desenvolvimento da comunidade microbiana quanto para a geração de energia e redução da resistência interna (TEE *et al.*, 2017). Aliada à redução da resistência externa, este projeto de pesquisa buscou compreender a influência da temperatura e identificar seus efeitos na eficiência da CCM.

4. OBJETIVO GERAL

- Avaliar a potencialidade de aplicação de CCMs no tratamento de águas residuárias para a geração simultânea de energia elétrica, a partir da otimização da resistência externa em condições mesofílicas e termofílicas.

4.2 Objetivos específicos:

- (1) Avaliar as propriedades eletroquímicas e geração de energia do sistema;
- (2) Avaliar o efeito da temperatura ambiente e a 55 °C (termofílica) no tratamento de água residuária sintética simulando a vinhaça e na geração de eletricidade;
- (3) Analisar a influência da alteração da resistência externa na eficiência coulombiana;
- (4) Avaliar o efeito da alteração da resistência externa e da temperatura combinados;
- (5) Avaliar o efeito da variação da concentração de matéria orgânica na geração de eletricidade em condição mesofílica e termofílica.
- (6) Avaliar a área de membrana adotada para o reator e sua influência na resistência interna.

4.2.1. Perguntas de pesquisa relacionadas aos objetivos (1 a 6) do estudo

- **Objetivos 1 a 4:** Qual o efeito isolado e combinado da resistência externa e da temperatura no desempenho do sistema?
- **Objetivo 5:** Uma maior concentração de matéria orgânica na água residuária, pode favorecer a geração de energia?
- **Objetivo 6:** Qual o efeito da área da membrana de troca protônica no desempenho do sistema em condições de maior geração de corrente?

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Contexto do desenvolvimento da pesquisa

Este projeto de pesquisa teve início a partir de minha iniciação científica nos anos de 2017 a 2019 e estava inserido em um projeto de pesquisa de maior envergadura que incluía uma pesquisa de doutorado, já finalizada no âmbito do PPG Sustentabilidade pela Escola de Artes, Ciências e Humanidades da Universidade de São Paulo (EACH-USP). Os resultados foram publicados no artigo científico: “*Electricity generation influenced by nitrogen transformations in a microbial fuel cell: assessment of temperature and external resistance*” de autoria de CANO *et al.*, (2021).

O artigo relata o desenvolvimento de CCMs de câmara dupla avaliados pela conversão de matéria orgânica em eletricidade sob diferentes temperaturas, ambiente ($\sim 25^{\circ}\text{C}$) com resistências externas de 300 ou 13 Ω e temperaturas de 35 e 55 $^{\circ}\text{C}$ com resistências de 300 Ω . O estudo também demonstrou como a atividade eletrogênica combinada com reações que envolvem o nitrogênio na câmara catódica influenciaram o desempenho do ânodo e do cátodo afetando a eficiência do tratamento.

Com o encerramento do doutorado o experimento foi mantido ativo para preservação da comunidade microbiana eletroativa, e o modelo dos reatores, as membranas *Nafion* utilizadas foram reaproveitadas do estudo para o projeto de pesquisa de mestrado aqui apresentado. Além disso, também foram considerados os dados gerados que contribuiriam para compreender os processos físico-químicos que ocorrem na CCM, além de possibilitar o estudo das variáveis a serem exploradas, como a temperatura, resistência externa e concentração de matéria orgânica.

Sendo assim o experimento deste mestrado foi instalado em escala de bancada, no Laboratório de Saneamento e Tecnologias Ambientais – LabSanTec, situado no Conjunto Multidisciplinar de Pesquisa da EACH-USP, São Paulo/SP. A seguir são apresentados os aspectos metodológicos do presente projeto e as 3 fases experimentais.

5.2 Configurações das CCMs

A CCM para esse estudo foi adaptada de CANO (2020) e CANO *et al.*, (2021), com alterações que permitissem a maior desempenho no funcionamento do reator e da coleta de amostra e aprofundamento da sua caracterização em aspectos não considerados anteriormente.

A estrutura principal do reator consiste em uma carcaça de filtro de água comercial em formato cilíndrico de 1 L, feito de resina de estireno acrilonitrilo. Esse polímero é caracterizado por sua resistência térmica e química, rigidez, dureza superficial e isolamento elétrico elevado.

A CCM é composta por uma câmara anódica tubular e uma câmara catódica separadas por uma membrana de troca protônica (*Nafion* 117). Duas câmaras, cátodo (interna) e ânodo (externa), foram preenchidas em média com $117\text{g} \pm 1,16$ e $136\text{g} \pm 17,05$ respectivamente do carvão ativado granular (CAG), de origem mineral, com diâmetro médio de 4 mm, caracterizando-se como o eletrodo (Tabela 2).

Tabela 2 - Características do CAG utilizado na CCM*.

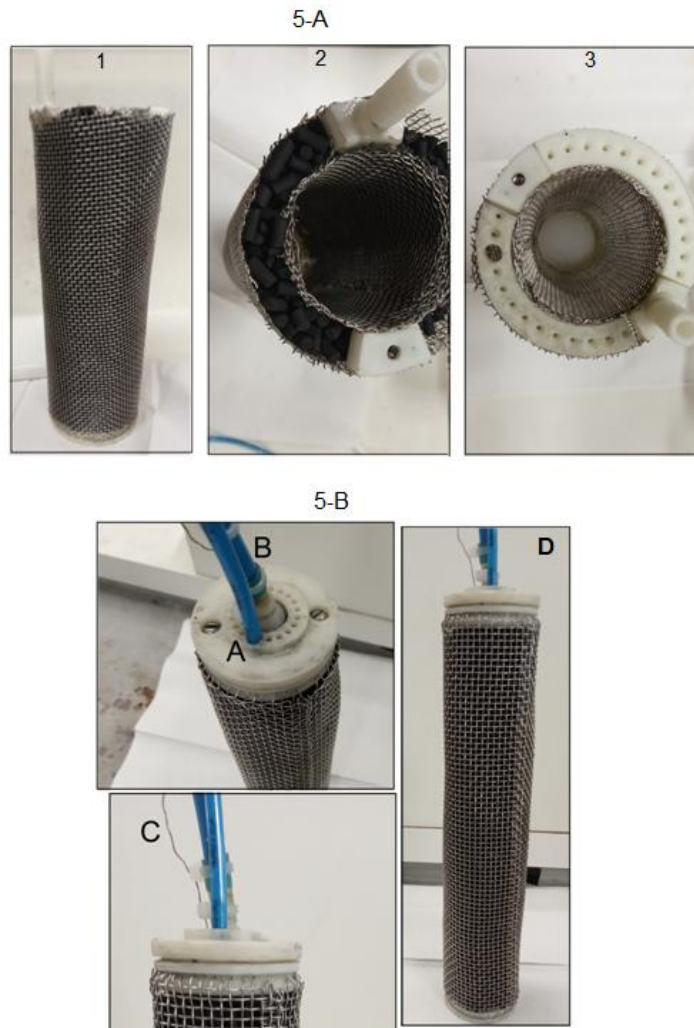
Especificações	
Origem	Mineral betuminoso
Aspecto	Granular
pH	9,2
Densidade Aparente (g/cm³)	0,48 - 0,52
Cinzas Totais (%)	6 máx.
Umidade em massa (%)	6,0 máx.
Área Superficial (BET) (m²/g)	1000 mín.
Dureza (%)	99
Adsorção de benzeno 0,1g/100g	32

*(De acordo com o Boletim Técnico da empresa Urassunga)

Antes do preenchimento, o CAG foi peneirado em malha padronizada de 2 mm, para evitar a presença de grânulos inferiores ao padrão desejado. A lavagem do CAG foi feita em um ciclo de 2 min em ultrassom na temperatura de 50°C, por 5 vezes (Zou *et al.*, 2008) e secagem em estufa na temperatura de 80°C, com o intuito de promover a remoção de compostos adsorvidos.

Após lavagem, o CAG foi inserido na CCM dentro em um recipiente permeável, facilitando sua retirada do reator quando necessário, para isso, foi utilizado uma malha de aço inoxidável envolvendo ambas as câmaras como coletor/distribuidor de corrente (figura 5- 5-A).

Figura 5 - Materiais da CCM empregados no estudo. 5 A: (1) Grade de inox preenchida de CAG (2) câmara anódica preenchida de CAG vista por cima (3) Tampa da câmara anódica. 5-B (A) mangueira de polietileno para passagem de líquido (B) mangueira de aeração.



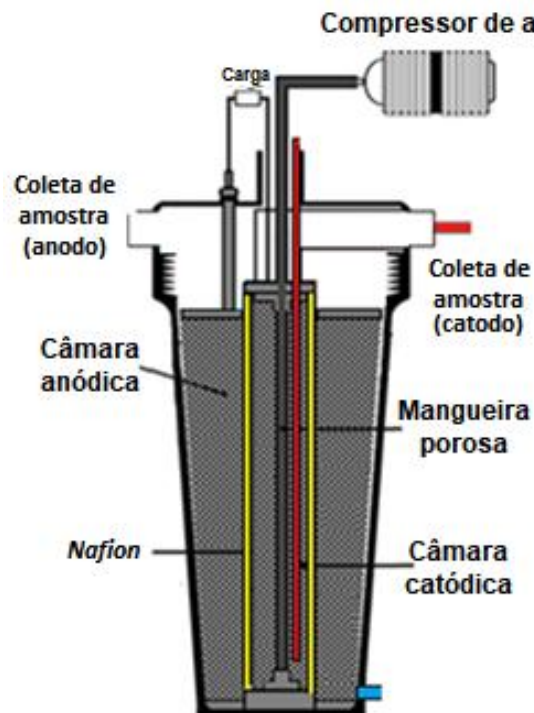
A malha de aço inoxidável utilizada foi a AISI 304 (Central Mesh, contendo cerca de 18,5% de Cr e 10% de Ni) malha 10 com diâmetro do fio de 0,56 mm. Tanto as malhas anódicas quanto as catódicas foram reaproveitadas do estudo anterior. Antes de serem utilizadas no experimento foi realizada uma limpeza em ultrassom para remoção de qualquer biomassa que pudesse estar agregada ao aço inox.

A malha de inox catódica possui um encaixe para tampa confeccionada em acrilonitrilo-butadieno-estireno (ABS), mantendo a malha fixa por meio de dois parafusos de inox atarraxados por uma porca de inox. A tampa possui orifícios para a inserção de componentes necessários como do eletrodo de temperatura e para o parafuso que permite o contato elétrico entre ânodo e cátodo.

As duas câmaras foram conectadas a uma resistência externa por um fio de inox que

conecta a câmara anódica e catódica permitindo o fluxo de elétrons. A aeração do reator foi controlada com rotâmetros instalados nos reatores para o controle da vazão de ar insuflado, mantido em 2 L por minuto (LPM). A câmara catódica foi mantida com aeração utilizando-se um compressor de ar (Boyu ACQ-008) e distribuída por toda câmara por uma mangueira porosa instalada no centro do cátodo. Na figura 6 apresenta-se o layout da estrutura interna da CCM com a câmara anódica e catódica separadas pela membrana de troca de prótons.

Figura 6 - Estrutura interna da CCM e elementos que compõem o reator.



A membrana *Nafion* 117, responsável pela separação das câmaras e pela passagem de cargas H^+ foi fixada diretamente no suporte de PVC de 50 cm. Neste projeto foram utilizadas áreas distintas para a membrana protônica: 4 membranas com 228 cm^2 e outras 2 de $105,6\text{ cm}^2$.

As membranas de 228 cm^2 foram reaproveitadas do experimento anterior, de acordo com CANO *et al.* (2021), bem como sua colagem, que foi fixada diretamente no suporte de PVC com auxílio de adesivo epóxi a base de silicone depois uma camada de resina epóxi (Araldite® Profissional) para fixação da membrana e posteriormente a fita kapton (DuPont), reduzindo o contato do epóxi com o líquido.

Para as membranas com área de $105,6\text{ cm}^2$ foram feitos 16 furos no suporte de PVC com área de $6,6\text{ cm}^2$ cada. A membrana *Nafion* foi cortada em 16 pedaços e fixada com cola

epóxi diretamente no PVC e depois utilizada fita *kapton*. Essa redução da área da membrana visa reduzir custos do reator além de aumentar a resistência física do suporte reduzindo os riscos de falha na operação por conta de danos na membrana (Figura 7).

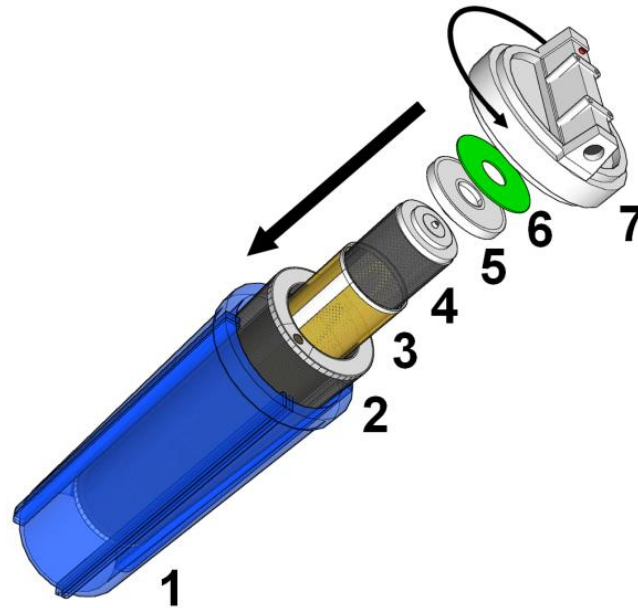
Figura 7- “A” representa o suporte de membrana com 105,6 cm² e “B” com 228 cm² com a câmara catódica inserida dentro do tubo de PVC.



Antes da colagem das membranas no PVC foi realizada a limpeza e ativação das membranas de 105,6 cm², adotando-se a metodologia apresentada por Matos (2008) e Bonifácio (2013), com a seguinte sequência de etapas de 1 hora a 80°C: limpeza em peróxido de hidrogênio 3% (volume), limpeza em água destilada, limpeza e ativação em ácido sulfúrico 0,5 Mol/L. Após ativação, as membranas foram mantidas em água destilada até manipulação.

A montagem da CCM bem como seus componentes seguiu como descrito em CANO *et al.*, (2021), com a vedação da parte superior da membrana e da câmara catódica feitas com uma tampa plástica fixada com silicone no tubo suporte, e uma folha de silicone cortada no mesmo formato da tampa. Na figura 8 é possível observar a ordem dos componentes dos reatores utilizados na montagem.

Figura 8 - Esquema de montagem dos componentes da CCM tubular com (1) carcaça do filtro; (2) malha de inox externa; (3) suporte para MTP; (4) malha de inox interna; (5) tampa do suporte de MTP; (6) folha de silicone para vedação; e (7) tampa da carcaça de



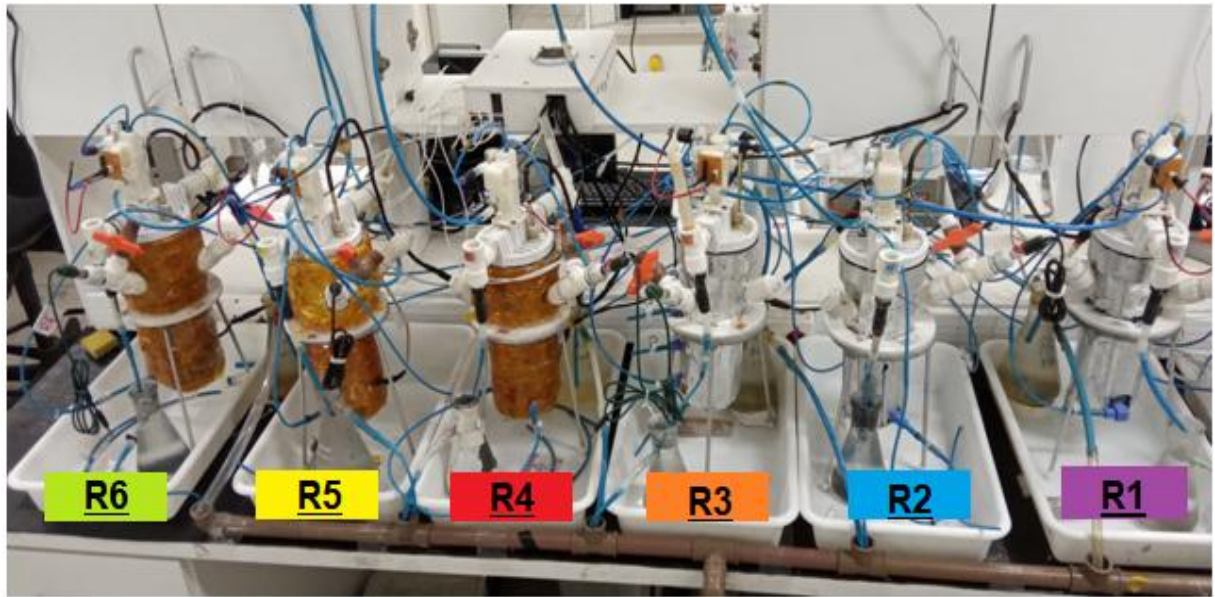
(CANO *et al.*, 2021)

O volume total do reator, sem os componentes internos, é de 1 L. O volume útil, após preenchimento com carvão ativado e demais componentes é de 430 mL e 184 mL para a câmara a anódica e catódica, respectivamente.

Para o aquecimento das CCMs foi utilizado um traço térmico em cabo de silicone de 3,5 mm de diâmetro e 4 metros de comprimento, com potência constante de 30 W/m (Ibrel) enrolado por toda extensão do reator (CANO *et al.*, 2021). O isolamento térmico consiste no revestimento do reator por uma lamina de fibra de vidro coberta por fita kapton.

Para o monitoramento e controle da temperatura foi utilizado um sensor de temperatura, LM35, colocado entre a camada de isolamento e o traço térmico (CANO *et al.*, 2021). Para monitoramento da temperatura interna também foi utilizado um sensor de temperatura LM35 isolado, por um fino tubo capilar de plástico para não entrar em contato direto com o substrato. O sensor foi inserido por um orifício na tampa do reator, possibilitando o monitoramento da temperatura da câmara anódica. Os reatores sem aquecimento foram revestidos com fita alumínio, para impedir a entrada de luz no interior dos reatores. A figura 9 ilustra os reatores em funcionamento durante o período de *start up* montados na bancada do laboratório.

Figura 9 - Visão geral dos seis reatores montados (6 CCMs).



5.3 Água residuária sintética

Optou-se por utilizar uma água residuária sintética na câmara anódica com características semelhantes à vinhaça (do caldo da cana-de-açúcar) em termos de composição e concentração, absoluta e relativa, do substrato orgânico. Na tabela 3 está apresentada a composição da água residuária sintética semelhante a vinhaça, onde pode ser observado a ausência do sulfato (modificado de Godoi *et al.*, 2017) No estudo anterior de CANO *et al.*, 2021, observou-se corrosão das grades de inox ao se alimentar a CCM com concentrações elevadas de sulfato. Além do objetivo desta dissertação ter como foco a câmara anódica o que torna relevante ter uma condição na qual o sulfato não atue como acceptor de elétrons.

Tabela 3 - Composição do efluente sintético

	Composição	Solução estoque (g/L)	Dosagem para 5 gDQO/L	Dosagem para 20 gDQO/L	DQO/ TOC
Substratos orgânicos	Sacarose (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	-	2,630 g	10,520 g	2,66
	Etanol (CH ₃ CH ₂ OH)	-	0,925 ml	4,62 ml	4
	Ácido acético (CH ₃ COOH)	-	0,410 ml	2,05 ml	2,67
	Ácido propiônico (C ₂ H ₅ COOH)	-	0,14 ml	0,7 ml	3,11
	Ácido butírico (C ₃ H ₇ COOH)	-	0,18 ml	0,9 ml	3,33
	Fenol (C ₆ H ₅ OH)	6,5	0,26 ml	1,3 ml	3,11
Bicarbonato de sódio	Bicarbonato de sódio (NaHCO ₃)	-	2	8	-
Solução de metais	Cloreto férrico (FeCl ₃ .6H ₂ O)	7,56	11,34	-	-
	Cloreto de manganês (MnCl ₂ .4H ₂ O)	1,55	2,33	-	-
	Cloreto de zinco (ZnCl ₂)	0,14	0,21	-	-
	Cloreto de cobre (CuCl ₂ .2H ₂ O)	0,13	0,2	-	-
Solução de amônia	Cloreto de amônio (NH ₄ Cl ₂)	222,64	1669,8	-	-
Solução de Nutrientes I	Cloreto de cálcio hidratado (CaCl ₂ .2H ₂ O)	61,14	366,84	-	-
	Cloreto de sódio (NaCl)	41,41	248	-	-
	Cloreto de magnésio hexa-hidratado (MgCl ₂ .6H ₂ O)	84,02	504,12	-	-
Solução de Nutrientes II	Cloreto de Potássio (KCl)	106,5	71,1	-	-
	Fosfato monopotássico (KH ₂ PO ₄)	7,11	1,065	-	-

Fonte: (Modificado de GODOI *et al.*, 2017).

Para fornecer condições adequadas para o crescimento bacteriano a água residuária sintética foi suplementada com micronutrientes, adaptado de Torres (1992).

5.4 Inóculo

A biomassa enriquecida com microrganismos eletroativos, utilizada como inóculo, foi obtida a partir de 3 CCMs utilizadas no experimento anterior (CANO 2020; CANO *et al.*, 2021). Após a finalização do experimento anterior, as CCMs foram mantidas em operação por 463 dias, alimentados com efluente sintético contendo 5g DQO /L (o mesmo utilizado nesse

projeto), com resistência externa de 300 Ω . Após esse período, $83,35\text{g} \pm 0,02$ de CAG com biofilme aderido foi retirado e utilizado como inóculo em cada CCM. Para determinar a quantidade específica de biomassa inoculado do CAG foi utilizado o método de Bradford adaptado de Herzberg (2006) para determinação de proteínas totais com a leitura da amostra sendo realizada no equipamento de espectrofotometria. Dessa forma foi obtido um total de 27,15g de proteínas inoculados em cada reator. Além disso, também foi realizado a extração de DNA seguindo o método do fabricante (PowerSoil® DNA Isolation) de uma amostra de 1,03 mg de CAG resultando em uma concentração de 271 ng/uL de DNA pelo equipamento de NanoDrop por espectrofotometria (faixas A260/280). No entanto para esta dissertação não foram realizados o sequenciamento de DNA.

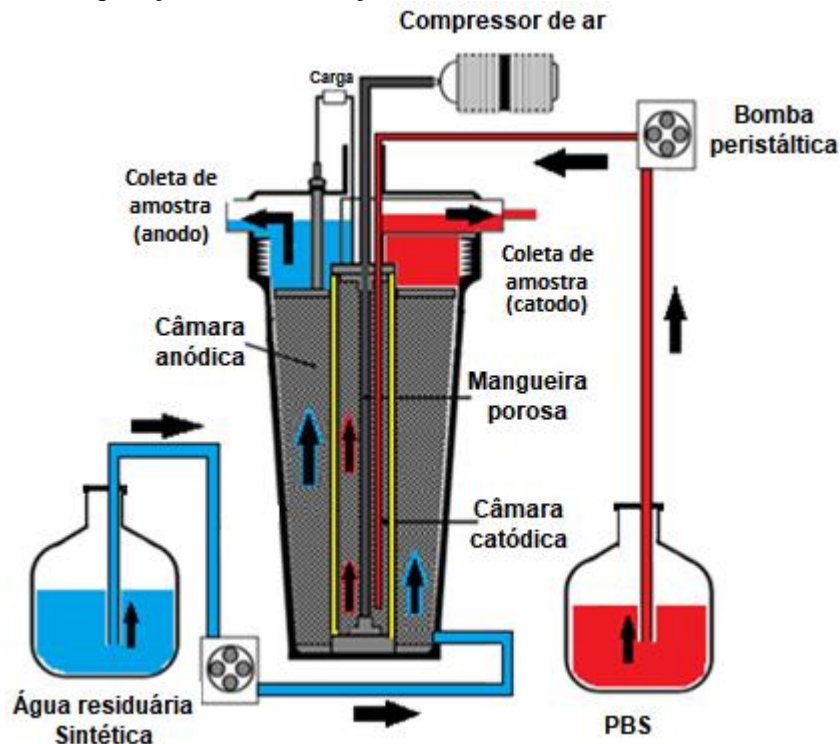
Após inoculação, a câmara anódica foi mantida por um período de 24 horas com efluente sintético (5 gDQO/L) após esse período o foi iniciado a operação contínua com vazão de 0,363 L/d. Enquanto a câmara catódica, sem inóculo, foi preenchida com PBS (pH 7) com aeração de 2 LPM, sem alteração em relação à fase de monitoramento.

5.5 Fases de operação dos reatores

A avaliação da CCM para o presente projeto foi dividida em três etapas de operação. Cada etapa é caracterizada por uma estratégia operacional, buscando-se avaliar a aplicação da CCM para diferentes objetivos e perguntas de pesquisa, seja para remoção de efluentes com alta carga orgânica ou para o aumento da geração de energia.

5.5.1 Partida dos reatores

Na primeira etapa, foram mantidos em operação 6 reatores (R1, R2, R3, R4, R5 e R6) com alimentação em fluxo contínuo em temperatura ambiente e com resistência externa 300 Ω . A câmara anódica foi alimentada com água residuária sintética enquanto a catódica com solução de tampão de fosfato (100 mM, pH 7,0) (Figura 10) sem adição de um catalisador.

Figura 10 - Configuração da alimentação no ânodo (efluente sintético) e cátodo (PBS).

5.5.2 Fase 1 – padronização dos reatores

Essa fase tem início com o término do período de partida dos sistemas onde foram capazes de alcançar a estabilidade em termos de geração de energia e eficiência de tratamento. Dessa forma, a primeira fase teve como objetivo demonstrar que as 6 unidades em operação possuíam comportamento de réplicas, antes que as variáveis dos estudos fossem empregadas nas fases posteriores. Na tabela 4 é possível observar as configurações da fase de operação.

Tabela 4– Configuração da fase 1 de operação.

Câmara anódica		Alimentação		Temperatura	Resistência Externa (Ω)	TDH		Nafion (cm^2)
Unidade	DQO (g/L)	Vazão (mL/d)	Ano			Cat		
Fase 1	R1			Ambiente ($25.5 \pm 2,2 \text{ }^\circ\text{C}$)*	300	33,36 (h)	14,16 (h)	228
	R2							228
	R3	5	308					105,6
	R4							228
	R5							228
	R6							105,6

*média da temperatura interna dos reatores

Os reatores R3 e R6 apesar de apresentarem as mesmas características de operação em relação às outras CCMs, se diferenciam em suas configurações por possuírem uma área de membrana *Nafion* reduzida (105,6 cm²).

A unidade R3 possui mais um diferencial em relação às outras, 3 pontos de coletas de amostras na carcaça do reator foram utilizados para determinar a remoção no decorrer da coluna do reator. Os pontos de coleta podem ser vistos na figura 11, sendo eles “1” a 6 cm em relação à tampa, “2” a 12 cm, “3” a 18 cm.

Esses pontos permitiram a coleta de amostra e posterior caracterização da remoção do substrato em diferentes alturas da CCM, o ponto de maior remoção de matéria orgânica (figura 11). Os dados de remoção de matéria orgânica por DQO, gerados nessa etapa na unidade R3 serviram também como controle para comparação com os dados gerados na fase subsequente entre as condições de resistência de 300 e 22,5 Ω .

Figura 11 – Reator R3. Detalhe: as 3 saídas em diferentes alturas para coleta de amostras.



5.5.3 Fase 2 - Avaliação da R_{ext} para promoção da atividade eletrogênica termofílica

Na segunda fase experimental as unidades R1, R2 e R3 foram operadas em temperatura ambiente. Enquanto que as unidades R4, R5, e R6 foram operadas a 55°C. Nessa

fase, buscou-se o desenvolvimento de comunidades microbianas adaptadas às condições de temperatura mesofílica e termofílica.

Na segunda fase de operação a resistência externa foi reduzida de 300Ω para $22,5 \Omega$ (tomando como base os valores de resistência interna adquiridas pela curva de polarização na fase 1 de monitoramento) para as unidades mesofílicas, R1 e R3, e termofílicas, R5 e R6. A alteração da unidade R1 teve como objetivo comparar a condição de trabalho em 300Ω e com resistência modificada, além de possibilitar um controle para a unidade R3 (com menor área de membrana), auxiliando na determinação do efeito da área de membrana no desempenho do sistema. Ambos os reatores mesofílicos tiveram seus resultados analisados em conjunto dos reatores termofílicos, para determinar a influência da temperatura, da alteração da resistência e da influência da área da membrana.

A unidade R4 serviu como controle para os reatores em temperatura de $55 \text{ }^\circ\text{C}$ sendo mantida com R_{ext} de 300Ω . Logo, as unidades R5 e R6 tiveram suas resistências externas alteradas para $22,5 \Omega$, possibilitando a comparação entre as unidades aquecidas e as mesofílicas.

Logo para a segunda e terceira fase as CCMs receberam nomes distintos que sintetizam as características estudadas nos reatores:

- R2: controle mesofílico (-CM - 300Ω);
- R1: mesofílico com resistência otimizada (M - $22,5 \Omega$);
- R3: mesofílico com área da membrana reduzida e com resistência externa otimizada – (MR - $22,5 \Omega$);
- R4: controle termofílico (CT - 300Ω);
- R5: termofílica com resistência otimizada (T - $22,5 \Omega$);
- R6: termofílica com área da membrana reduzida e com resistência externa otimizada – (TR - $22,5 \Omega$).

A tabela 5 sintetiza as configurações dos reatores para a fase 1 de operação.

Tabela 5 - Características de operação da fase 2.

Câmara anódica						
Alimentação		Temperatura (C°)	Resistência Externa (Ω)	TDH		Nafion (cm ²)
Unidade	DQO (g/L)			Vazão	Ano	
CCM - CM			300			228
CCM - M		Ambiente	22,5			228
CCM - MR		(22,4 ± 3,9°C)*	22,5			105,6
	5	308		33,36	14,16	
CCM - CT		mL/d	300	(h)	(h)	228
CCM - T		(55,2 ± 0,9°C)	22,5			228
CCM - TR			22,5			105,6

*média da temperatura interna dos reatores

Após 111 dias de operação ocorreu superaquecimento da unidade R5 - CCM T (22,5 Ω), devido a um defeito no sistema de aquecimento. Esse evento resultou na descontinuidade da operação da CCM T (22,5 Ω), não sendo possível coletar amostras do carvão do ânodo. O aquecimento elevado apenas afetou a unidade CCM T (22,5 Ω), não influenciando as demais CCMs.

Tendo em vista a necessidade de realizar o estudo de temperatura termofílica, uma nova carcaça de CCM foi configurada para a condição de aquecimento, Com isso o ânodo e o cátodo da unidade R2 foram transferidos para essa nova CCM com controle de temperatura. Esse reator recebeu passou a receber o nome de unidade CCM T2 (22,5 Ω), e operou em condições idênticas a unidade CCM T (22,5 Ω) por um período de 70 dias para estabilização termofílica e a 22,5 Ω. Posteriormente foi iniciado a fase 3.

5.5.4 Fase 3 - Avaliação da elevação concentração de matéria orgânica

Para a terceira fase de operação, as CCMs foram operadas com o aumento da concentração de matéria orgânica até atingirem o valor de 20g DQO/L. Nessa fase, buscou-se realizar um tratamento com uma concentração semelhante a vinhaça real e com isso verificar se a maior concentração de matéria orgânica poderia gerar uma limitação para os reatores com membrana reduzida.

Cujo a finalidade era avaliar o efeito da variação da concentração de matéria orgânica na geração de energia em condição mesofílica e termofílica. A Tabela 6 apresenta a

configuração para a terceira fase experimental.

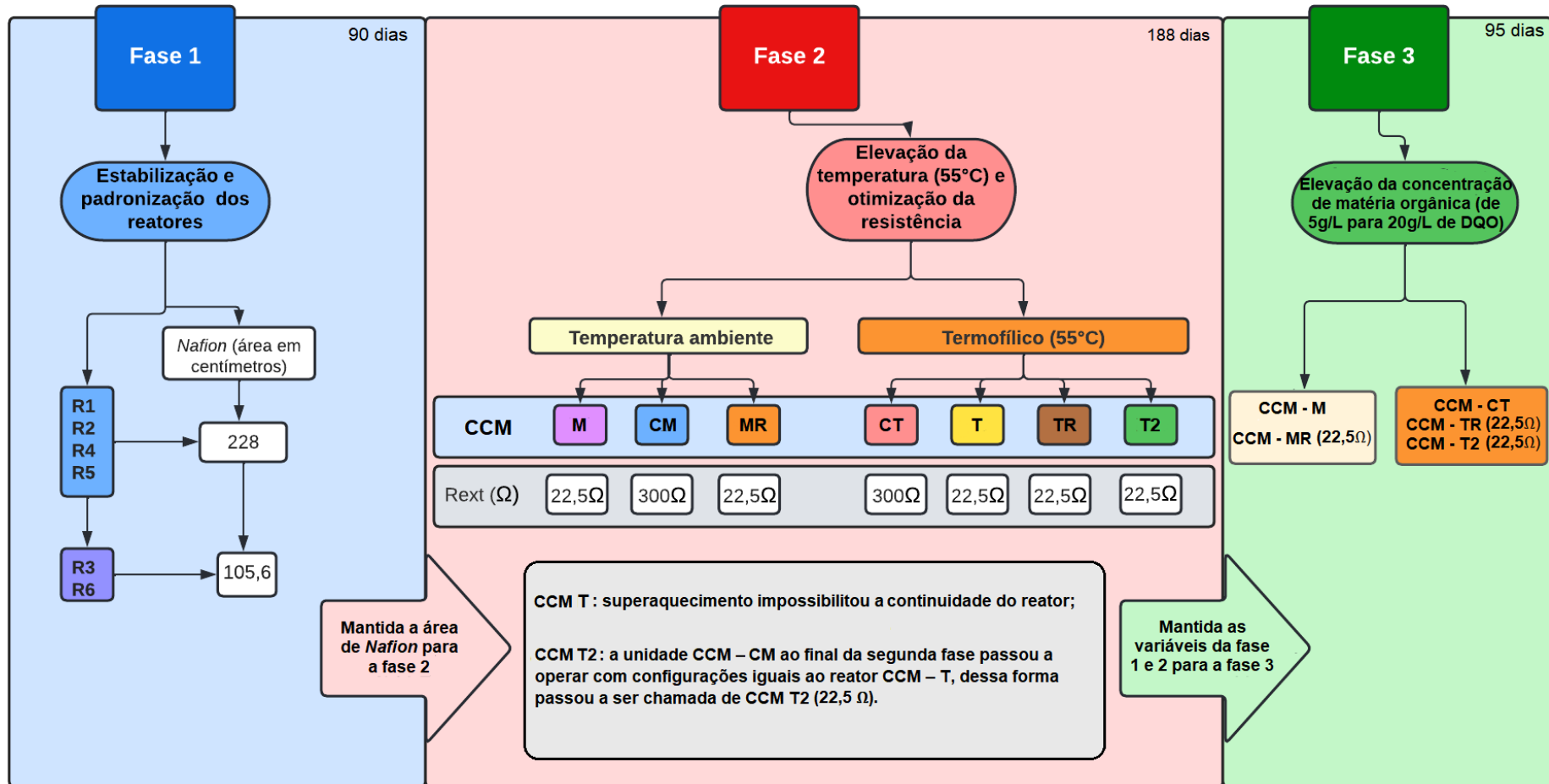
Tabela 6- Características de operação da fase 3.

Câmara anódica							
Alimentação			Temperatura (C°)	Resistência Externa (Ω)	TDH		Nafion (cm²)
Unidade	DQO (g/L)	Vazão			Ano	Cat	
CCM - M			Ambiente	22,5			228
CCM - MR	20	308 mL/d	(27,8 ± 2,6 °C)*	22,5	33,36 (h)	14,16 (h)	105,6
CCM - CT			Termofílico	300			228
CCM - TR			(55,5 ± 0,7 °C)	22,5			105,6
CCM - T2				22,5			228

*média da temperatura ambiente interna dos reatores

Imagem a seguir mostra um fluxograma da configuração de operação de cada fase e a duração em dias (Figura 12).

Figura 12 - Fluxograma da configuração de operação das 3 fases do monitoramento



5.6 Métodos empregados para análise dos dados obtidos

5.6.1 Coleta de amostras e parâmetros físico-químicos

Foram coletadas amostras 2 vezes por semana na saída das câmaras catódica e anódica. Após a coleta, as estas foram submetidas às análises físico-químicas (APHA, 2020) que permitiram estabelecer a eficiência do tratamento do reator. Para isso, o efluente sintético não tratado e as amostras coletadas nas saídas dos reatores foram analisados para DQO e Carbono Orgânico Total (COT). A eficiência de remoção foi calculada utilizando-se a seguinte equação (VON SPERLING, 2014):

$$E = \frac{C_e - C_s}{C_e} \times 100 \quad (4)$$

Tendo como E = eficiência de remoção (%); C_e = concentração na entrada; C_s = concentração na saída. A tabela 7 apresenta variáveis que foram analisadas com base nos protocolos do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2020).

Tabela 7- Parâmetros (e frequência) analisados na câmara anódica e da câmara catódica dos reatores.

Parâmetro	Método	Frequência
Oxigênio dissolvido	Luminescência	1x por Semana
pH	Eletrométrico	2x por semana
Condutividade	Eletrométrico	2x por semana
DQO	Refluxo fechado	2x por Semana
Alcalinidade	Titulação	1x por Semana
Temperatura	Termômetro	2x por dia
Carbono Orgânico Total	Combustão de alta temperatura	2x por semana

5.6.2 Parâmetros eletroquímicos

A avaliação da geração de energia da CCM foi monitorada diariamente, para isso o multímetro digital (True RMS- Profissional Hikari HM-2030) foi usado para adquirir os dados do potencial elétrico total da célula.

O potencial do ânodo foi monitorado mediante a utilização de um eletrodo de referência (Ag/AgCl, KCl 3M, assumindo +0,210 V vs EPH a 25°C), inserido no mesmo meio eletrolítico do ânodo da CCM, ambos conectados ao voltímetro.

Com os dados de tensão adquiridos foi possível calcular a corrente, conforme a Lei

de Ohm. A partir deste valor, calculou-se a densidade de potência normalizada para o volume da CCM empregando-se a equação a seguir:

$$P = \frac{U \times I}{V} \quad (5)$$

Onde, P é densidade de potência (mW/m³); V é o volume útil da CCM (m³); U é tensão (mV); e I é corrente (mA). As densidades de corrente foram normalizadas para o volume anódico líquido (0,43 L). A eficiência coulombiana de conversão de matéria orgânica foi obtida utilizando-se as equações descritas por Logan (2008):

$$C_e (\text{alimentação contínua}) = \frac{8I}{Fq\Delta DQO} \quad (6)$$

Sendo o valor 8 a constante usada para a DQO; o ΔDQO (mg/L) é a variação de concentração de DQO no tempo; F como constante de Faraday (A/mol); L o volume de líquido (L) no ânodo; e q é a vazão (m³/s). As razões de DQO/COT foram usadas neste estudo como uma indicação do estado de oxidação médio do carbono em compostos orgânicos, indicando um estado de maior oxidação do carbono orgânico (APHA, 2020).

5.6.3 Curva de polarização e impedância

Para as curvas de polarização realizadas nas CCMs a resistência externa foi desconectada (circuito aberto) por pelo menos 30 min, com a tensão de circuito aberto e medindo seu valor até que uma tensão estável fosse observada (WATSON e LOGAN, 2011; KOOK, *et al.*, 2020). Na segunda fase de operação os reatores com resistência reduzida tiveram um período de 24 horas em circuito aberto para a estabilização da tensão. Com isso foram utilizados valores de uma ampla faixa de potenciais para determinação dos pontos e obtenção da curva de polarização que permite quantificar o valor máximo de densidade de potência que pode ser alcançada pela CCM em função da tensão (WATSON e LOGAN, 2011; FUGINAGA *et al.*, 2021). Com isso, foi utilizada uma caixa de resistores com as seguintes resistências (Ω): 2160, 974, 552, 464, 329, 260, 219, 148, 100, 82, 74, 57, 47, 40, 34, 28, 23, 16, 11, 6,4.

Com a curva de polarização foi possível determinar a resistência interna, possibilitando a padronização da resistência externas a serem adotadas nos reatores R1, R3, R5 e R6 na segunda fase experimental. Além disso, com a curva de polarização foram obtidos dados referentes a densidade de potência máxima e densidade de corrente. Os resultados obtidos foram utilizados para avaliar a eficiência dos reatores termofílicos e mesofílicos além dos reatores com menor área de membrana.

Para quantificar e analisar a resistência interna foi utilizado o equipamento: Potenciostato/Galvanostato PGSTAT204 (módulo FRA32M – Metrohm) em uma faixa de frequência de 100 kHz – 100 mHz com amplitude de 10 mv (He *et al.*, 2006). Para isso foram utilizadas três configurações para obtenção das curvas de impedância (tabela 8):

Tabela 8 - Configurações para obtenção das curvas de impedância:

Configuração	Eletr. de trabalho	Eletr. de referência	Eletr. contra
1	Ânodo	Cátodo	Cátodo
2	Cátodo	Eletrodo de Ag / AgCl	Ânodo
3	Ânodo	Eletrodo de Ag / AgCl	Cátodo

Utilizando o software do potenciostato NOVA 2.1 foi gerado o dado da parte real (Z_{re}) e da parte imaginária (Z_{im}) permitindo a construção do gráfico de Nyquist. A impedância eletroquímica permitiu determinar a resistência de cada componente da CCM. Com a resistência adquirida foi possível analisar a interação dos componentes e dos parâmetros empregados, permitindo a identificação de fatores que possam limitar a geração de energia.

Para avaliar os dados de impedância obtidos, foi utilizado um circuito equivalente para representar os componentes das reações e sua seleção teve por base o estudo de CCM de câmara dupla com e carvão ativado (He *et al.*, 2006).

5.6.5 Análise da concentração de proteínas

Foi utilizado para a quantificação do biofilme o método de quantificação proteínas de Bradford adaptado de Herzberg *et al.*, (2006). Após a abertura do reator uma amostra de CAG foi coletada e inserida em 10 mL de solução de NaOH (2 M) para hidrólise a 60 °C por 10 minutos. Após um intervalo de 10 min em temperatura ambiente a amostra foi filtrada em porosidade de 0,45 µm e posteriormente aplicado o método de Bradford.

5.7 Análise estatística

Todos os dados usados na comparação entre os reatores foram testados quanto à normalidade pelo Kolmogorov-Smirnov para n amostral maior que 30 e Shapiro Wilk para n amostral menor que 30. Para os dados que não apresentaram normalidade, as medianas foram testadas pelo método não paramétrico Mann-Whitney ($\alpha=0,05$). Para os dados que apresentarem distribuição normal será calculado o anova e posteriormente o test “t” de student. Os resultados obtidos em cada teste são apresentados no material suplementar. O software Jamovi 2.22 (2021) foi usado para testes estatísticos.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Fase 1 - Padronização dos reatores

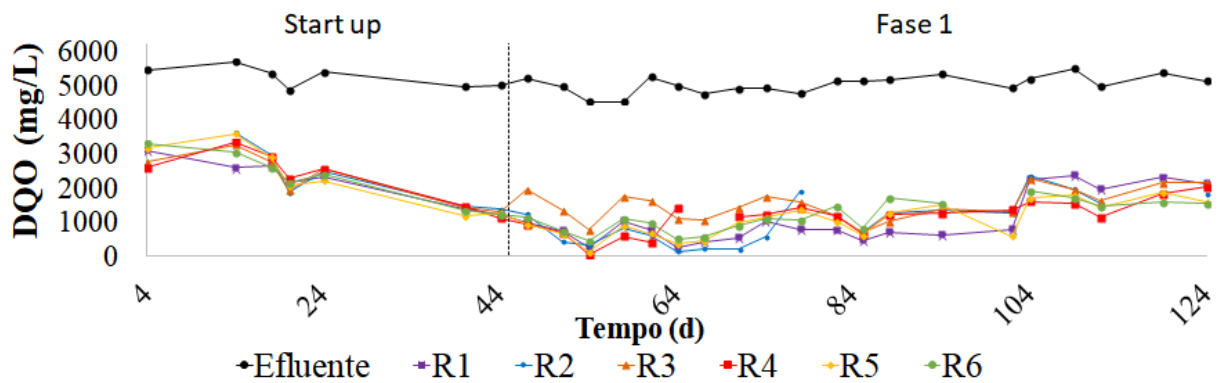
Os dados apresentados para esta primeira fase tiveram como objetivo demonstrar que os reatores apresentam comportamento de réplicas com as câmaras anódicas não apresentando diferenças significativas em termo de resistência interna e contribuição para a geração de eletricidade e remoção de matéria orgânica.

6.1.2 Oxidação de matéria orgânica

Na primeira fase experimental, a concentração média do substrato preparado foi de 5063 ± 281 mgDQO/L para um período de 126 dias de operação e monitoramento do reator.

A remoção elevada de matéria orgânica nos primeiros dias de operação pode estar associada a elevada capacidade de adsorção pelo carvão ativado (BORSJE *et al.*, 2016; TEE *et al.*, 2017). Como pode ser observado na Figura 13, na fase inicial de operação (a partir do 44º dia) obteve-se remoção de matéria orgânica superior a 90%, no entanto, após esse período ocorreu uma variação nos valores de DQO do efluente tratado. Essa variação pode estar relacionada à adaptação da comunidade microbiana em relação à quantidade de matéria orgânica disponível. Desta forma, a estabilização do reator ocorreu próxima ao 70º dia, com remoções em torno de 70 - 78%. Segundo Obata *et al.*, (2020), o desenvolvimento de uma comunidade microbiana bem estabelecida pode levar até 80 dias.

Figura 13 – Remoção de matéria orgânica durante a partida das CCMs.



Para os dados de saída, as CCMs R1, R2, R4, R5, R6 apresentaram valores de remoção na faixa 74 a 77% de matéria orgânica (em termos de DQO/L) na câmara anódica. Exceto na unidade R3 que apresentou uma remoção de $70,62 \pm 8,8\%$ (Figura 13). Apesar do valor mais reduzido da unidade R3 estatisticamente todas as CCMs foram consideradas réplicas com $p > 0,001$ (os valores da comparação de cada CCM pode ser encontrado no tópico “material suplementar”).

Tabela 9– Concentração final e remoção matéria orgânica da câmara anódica

Reator	(DQO mg L ⁻¹)	(DQO %)
Efluente sintético	5063 ± 281	-
R1	1132 ± 698	77 ± 14,87
R2	1022 ± 691	77 ± 14,25
R3	1489 ± 449	70 ± 8,83
R4	1328 ± 346	73 ± 6,52
R5	1279 ± 461	74 ± 8,49
R6	1314 ± 411	74 ± 7,44

A remoção de matéria orgânica quando comparada foi inferior a CCM controle de Cano *et al.*, (2021), que alcançou 98%, isso pode estar relacionado com o desenvolvimento da comunidade microbiana. Com a inoculação provinda das CCMs de Cano *et al.*, (2020) isso pode ter favorecido o crescimento de bactérias de grupos específicos especializados na degradação de compostos orgânicos específicos, como acetato. Dessa forma, parte dos compostos orgânicos presentes originalmente no efluente sintético não foi removido eficientemente. Quando comparado a relação DQO/COT do substrato $3,45 \pm 38$ com os valores obtidos pelos reatores que vão de 3,15 – 3,21, indicam que o grau de oxidação do carbono orgânico é diferente – logo os compostos não foram proporcionalmente oxidados.

Segundo CHAE *et al.*, (2009) e CHEN *et al.*, (2020), para substratos orgânicos

complexos, a oxidação da matéria orgânica pode ser favorecida pela maior diversidade de espécies de bactérias. Nesse sentido, determinadas espécies são responsáveis por converterem as moléculas do substrato orgânico em moléculas menores e menos complexas para posteriormente serem consumidas também por outros grupos microbianos (CHAE *et al.*, 2009).

6.1.3 Geração de energia

A seguir são apresentados os resultados referentes ao monitoramento das CCMs em termos de geração de energia. Mediante a coleta de dados foi construída uma tabela que expressa as médias e desvios padrões do potencial atingido pelos reatores. As CCMs tiveram sua tensão semelhante, acima de 600 mV, com exceção de unidade R2 que obteve o valor mais reduzido entre as CCM. As unidades R1, R3 e R5 obtiveram seus valores de tensão mais elevada principalmente devido ao valor no cátodo, em relação às unidades R2, R4 e R6 que apresentaram no decorrer do estudo maior resistência interna. Além disso, a densidade de potência também se manteve semelhante entre valores de 2,6 e 3,5 W/m³. Outro dado relevante para o entendimento das CCMs é a eficiência coulombiana (Tabela 10) que apresentou valores próximos ou superiores ao estudo de Cano *et al.*, (2021), com 1,30 ± 0,2%, Capodaglio *et al.*, (2013), com 0,8 – 1,9%, Zhao *et al.*, (2013), com 0,58 – 1,71%.

Tabela 10 – Geração de energia, EC e densidade de potência das CCMs

CCM	Potencial total (mV)	Ânodo	Cátodo	EC (%)	Densidade de potência (W/m ³)
		(mV vs. SHE)	(mV vs. SHE)		
R1	669,8 ± 26,3	- 243,1 ± 24	425 ± 19,6	1,48 ± 0,26	3,5 ± 0,39
R2	562,7 ± 68,6	- 205 ± 69,4	353 ± 65	1,26 ± 0,25	2,4 ± 0,6
R3	645,9 ± 20	- 240,2 ± 42,3	405,7 ± 40,5	1,51 ± 0,22	3 ± 0,47
R4	624,4 ± 21,2	- 254,7 ± 10,9	369,6 ± 28	1,30 ± 0,2	2,6 ± 0,68
R5	647,6 ± 19,4	-251,2 ± 22,7	396,4 ± 20,7	1,40 ± 0,2	3,3 ± 0,17
R6	618,3 ± 30,2	- 236,2 ± 8,3	373,1 ± 33	1,32 ± 0,17	2,7 ± 0,4

Com os reatores estabilizados foi realizada a curva de polarização para identificação

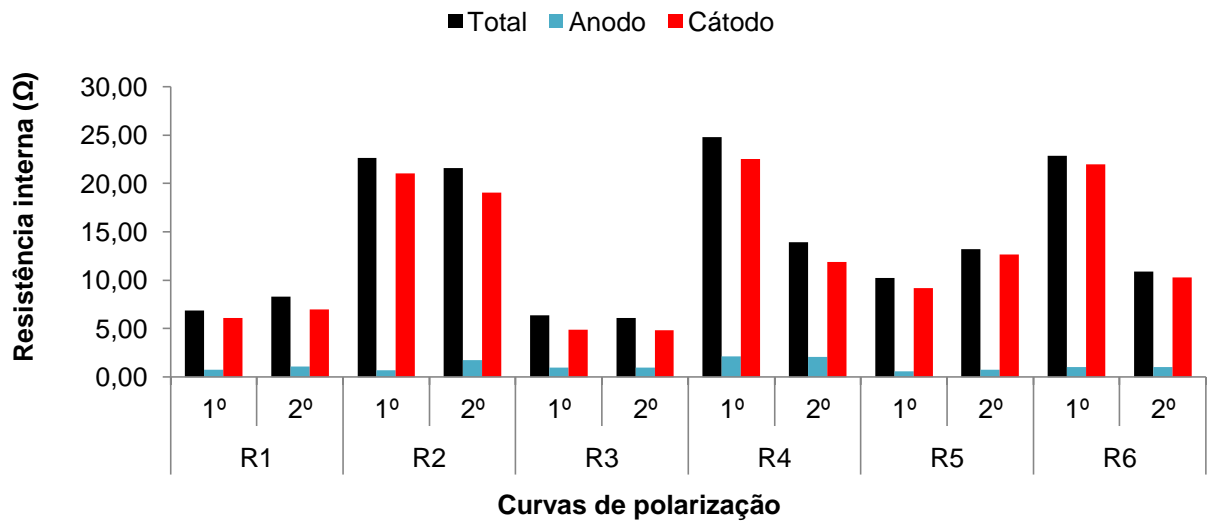
da resistência interna e máxima densidade de potência, os resultados adquiridos foram sintetizados na Tabela 11. A primeira fase contou com duas curvas de polarização para cada CCM, a primeira realizada entre o 70° ao 88° dia e a segunda realizada do 105° ao 122° dia de operação. A primeira curva permitiu identificar um valor elevado de resistência interna e reduzido para a densidade de potência das unidades R2, R4 e R6.

Tabela 11– Resistência interna e densidade de potência

CCM	1º curva de polarização				2º curva de polarização			
	Resistência interna (Ω) Total	Ano.	Cat.	Dens. de potência máx. W/m ³	Resistência interna (Ω) Total	Ano.	Cat.	Dens. de potência máx.W/m ³
R1	6,86	0,77	6,09	44,38	8,33	1,11	6,97	40,63
R2	22,64	0,69	21,9	12,8	21,6	1,77	19,07	9,8
R3	6,24	0,99	4,90	47,45	6,08	0,95	4,83	48
R4	24,79	2,29	22,50	11,91	13,94	2,05	11,86	20,93
R5	10,25	0,59	9,20	30,14	13,192	0,77	12,66	21,30
R6	22,85	1,04	21,97	11,58	10,91	1,02	10,31	25,06

Considerando que o valor de R_{int} elevada se deu pela câmara catódica das unidades R2, R4, R6, foram realizados dois procedimentos para possibilitar a adequação da resistência, permitindo maior padronização em relação aos demais reatores. Dessa forma o procedimento se deu pela substituição da mangueira porosa de aeração, pois foi identificado que as mangueiras estavam danificadas, causando alterações no tamanho de bolha e vazão de ar em diferentes pontos.

Após a troca das mangueiras de aeração e estabilização dos reatores foi realizada uma segunda curva de polarização na qual os valores da resistência interna das unidades R4 e R6 foram reduzidas para 10,91 Ω e 13,19 Ω respectivamente (Figura 14). No entanto, a unidade R2 mesmo após a troca da mangueira continuou a apresentar resistência interna elevada na câmara catódica, isso pode estar relacionado ainda com alguma característica singular da mangueira aeração da unidade R2 ou outro fator não identificado.

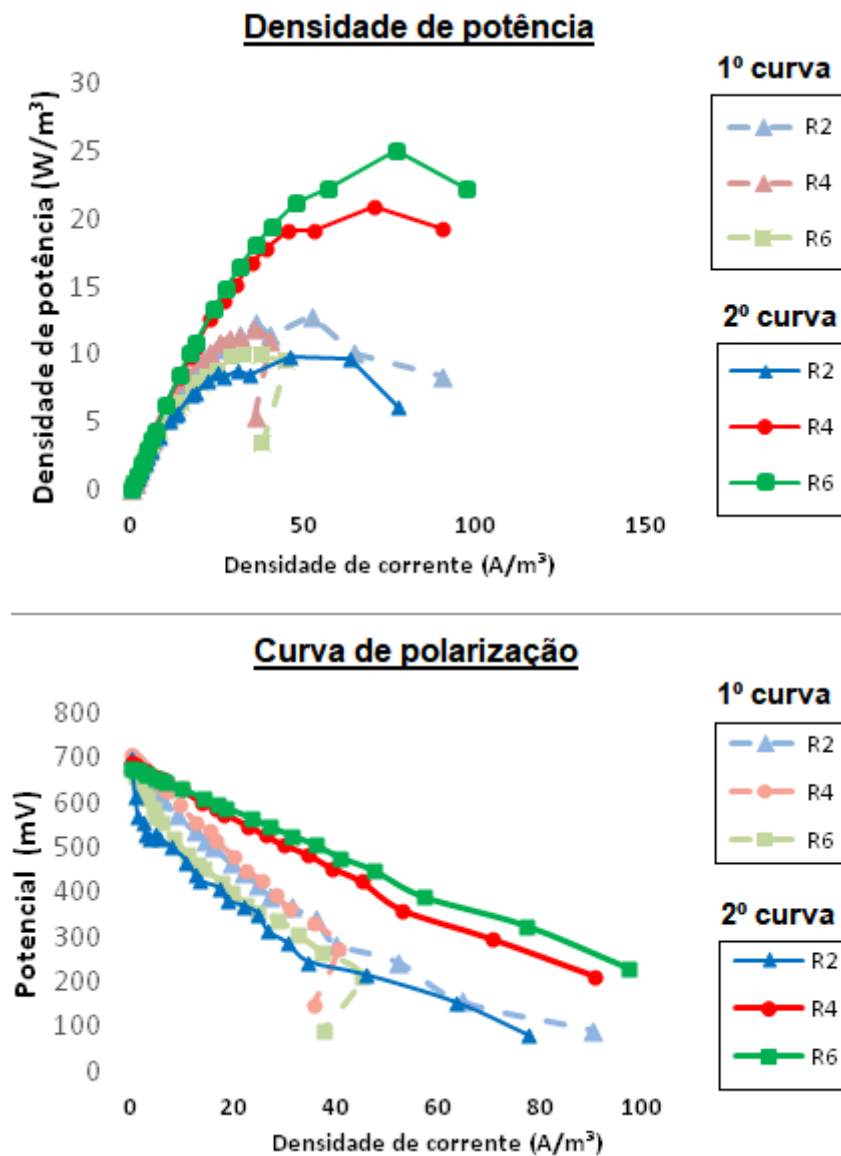
Figura 14– Resistência interna referente à 1º e a 2º curva de polarização

No entanto, a unidade R2 mesmo após a troca da mangueira continuou a apresentar resistência interna elevada na câmara catódica. Isso pode estar relacionado ainda com alguma característica singular, pela curva de polarização (Figura 15) a limitação da unidade R2 pode estar associado a perda por ativação, indicado pela queda é maior no início da curva de polarização. Para as unidades R1, R3, R4, R5, R6 a resistência interna após os ajustes efetuados, demonstrou valores próximos aos relatos da literatura que utilizaram CAG como eletrodo como o de Tee *et al.*, (2017) de 23,3 Ω.

Ao final da primeira curva de polarização (Figura 15) das CCMs R4 e R6, ambas apresentam uma queda nos valores de densidade de potência, demonstrando que um fator limitante esta relacionado à transferência de massa (YANG *et al.*, 2021). Esta queda estava associada a tensão catódica, que indica limitações relacionadas a transferência de massa por oxigênio, que pode ter sido causado pelo defeito encontrado nas mangueiras de aeração.

As unidades R4 e R6 obtiveram assim uma densidade de potência elevada, com 20,93 e 25,06 W/m³ respectivamente, aproximadamente 2x vezes maior do que a apresentada na primeira curva de polarização. Esses valores são superiores ao obtido por Li *et al.*, (2017), de 22,1 W/m³, com uma CCM preenchida com CAG com uma barra de grafite como coletor de corrente.

Figura 15– Primeira e segunda curvas de densidade de potência e polarização e efetuadas para as unidades R2, R4, R6.



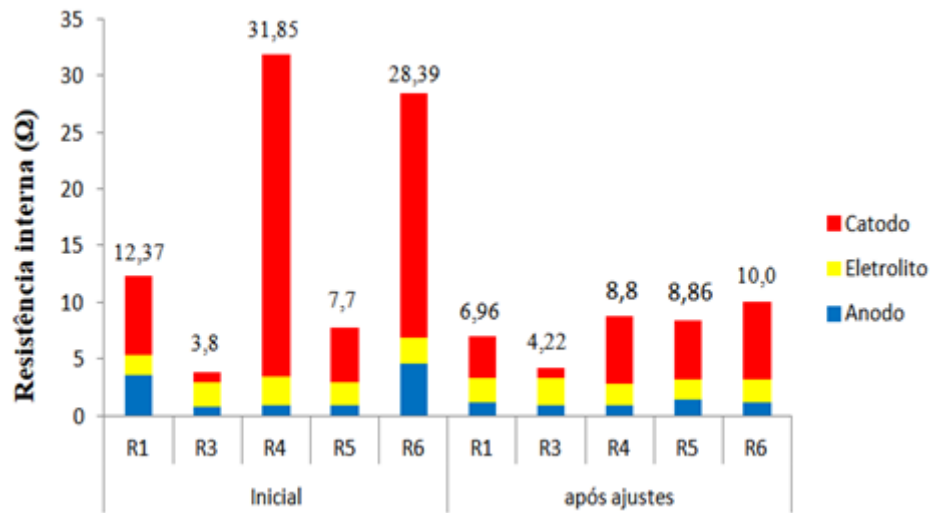
Os dois reatores de densidade de potência mais elevadas - R3 e R1 foram os que ao longo da primeira fase apresentaram maior estabilidade e os maiores valores de potencial de geração de energia. Logo, dos 6 reatores 5 apresentaram uma resistência interna reduzida e uma densidade de potência acima de 20 W/m³. Além disso, também apresentaram uma eficiência de remoção pelos dados obtidos por DQO (Tabela 9) e de conversão de matéria orgânica obtida pela eficiência coulombiana (Tabela 10) estatisticamente similares. Desta forma sendo consideradas réplicas com $p > 0,001$, com exceção a relação R1-R6 com $p < 0,001$ (os valores da comparação de cada CCM pode ser encontrado no tópico “material suplementar”).

Outro fator relevante é que, para as condições de operação da fase 1, a área de membrana reduzida das unidades R3 e R6 não foi um fator limitante para a densidade de potência e nem para a eficiência coulombiana do reator.

6.1.3.2 Impedância

Os dados de impedância por espectroscopia são apresentados graficamente com os valores de resistência interna adquirida (Figura 16). Dessa forma o circuito elétrico adotado para caracterização eletroquímica se mostrou adequado com *fitting* (circuito equivalente) acompanhando os dados obtidos. Logo, foram realizadas duas análises de impedância uma inicial e outra após ajustes na mangueira de aeração. No entanto, as curvas foram adquiridas para os reatores R1, R3, R4, R5 e R6, exceto para a unidade R2 que não apresentou o semicírculo completo, devido a elevada resistência da câmara catódica. O estudo tem como foco o ânodo e o mesmo se demonstrou estável para valor de tensão e remoção de matéria orgânica, dessa forma, foi possível em fases posteriores utilizá-lo como base para comparação com outros reatores.

Os reatores R1, R3, R5 apresentaram uma resistência interna total do sistema de 12,32 Ω , 3,8 Ω e 7,7 Ω respectivamente em sua fase inicial. Enquanto que as unidades R4 e R6 apresentaram valores de 31,85 Ω e 28,39 Ω . Dessa maneira foram realizadas adequações na câmara catódica como mencionado no tópico anterior e obtido os valores ao final da primeira fase que demonstram redução da R_{int} . A resistência adquirida após os ajustes ao final da primeira fase demonstra condições internas semelhantes dos reatores, principalmente para a unidade R6 que tiveram uma redução significativa em sua resistência catódica e anódica.

Figura 16 – Valores de impedância das unidades R1, R3, R4, R5 e R6.

Ao observar os dados da tabela 12 nota-se que o fator de maior limitação para as CCMs foi à resistência da câmara catódica seguida do eletrólito e *Nafion* mesmo que reduzido. Dessa forma é possível afirmar que a configuração do reator, com os materiais condutivos escolhidos conforme a literatura apresentada auxiliou na geração de energia e redução R_{int} (Tabela 12).

Tabela 12 - Comparação entre este estudo com CCM usando GAC e/ou com design baseado em um ânodo tubular, incluindo R_{int} e densidades de potência

Autores	CCM	Substrato	Material do ânodo	Densidade de potência (W/m^3)	R_{int} Total (Ω)
Tee <i>et al.</i> (2017)	Tubular	Óleo de palma	CAG	0,005	23,3
Wu <i>et al.</i> (2016)	Empilhado	Água residuária doméstica + Acetato	Grafite	50,9	0,2
Lu <i>et al.</i> (2017)	Tubular	Água residuária de cervejaria	Tecido de carbono	22,1	22,1
Cano <i>et al.</i> , (2021)	Tubular	Sintético	CAG	41,3	8,65
He <i>et al.</i> (2016)	Empilhado	Sintético	CAG	32	2,14
Wang <i>et al.</i> , (2022)	Câmara dupla	Sintético	Placa de grafite	-	47,1
Wang <i>et al.</i> , (2018)	Câmara dupla	Glicose + água residuária sintética	Feltro de carbono	-	60
Este estudo	Câmara dupla	Sintético	CAG	11,30 – 42,51*	4,22 – 10*

*Após ajuste das mangueiras de aeração

Além disso, a área de membrana da unidade R3 e R6 não foi um fator limitante para a resistência dos reatores e nem para a eficiência coulombiana. Logo, considerando os dados obtidos em relação à área de membrana reduzida para essa primeira fase de operação, os valores foram similares aos reatores com maior área de membrana. Isso indica que o *layout* do conduto de PVC utilizado para colagem da membrana possibilitou maior resistência física do suporte, quando comparada a membrana de maior área, sem prejudicar a transferência das cargas positivas nas condições de operação da primeira fase. Os resultados adquiridos nesta fase são relevantes para entender os efeitos da redução da R_{int} e elevação da temperatura que serão analisados nas fases posteriores.

6.2 Avaliação da desempenho das Fases 2 e 3

Na segunda fase experimental três unidades foram operadas em temperatura ambiente enquanto outras três foram operadas a 55 °C, em conjunto também foram alterados resistências externas para 22,5 Ω . Enquanto que para a terceira fase as variáveis de configuração foram mantidas, sendo apenas alterada a carga orgânica utilizada (Tabela 13).

Tabela 13 - Variáveis de operação de cada reator da fase 2 (5 gDQO /L) e 3 (20 gDQO/L)

Temperatura	Unidade	Resistência externa Ω	Nafion (cm²)
Mesofílico	CCM - CM	300	228
	CCM - M	22,5	228
	CCM - MR	22,5	105,6
Termofílico 55 (°C)	CCM – CT	300	228
	CCM – T	22,5	228
	CCM – TR	22,5	105,6
	CCM – T2	22,5	228

6.3. Fase 2 - influência da temperatura na remoção de matéria orgânica

O reator operado em condição termofílica (CCM – CT) apresentou remoção mais elevada quando comparado ao reator de controle mesofílico (CCM -CM) (Tabela 14).

Tabela 14 - Taxa de carregamento orgânico (TCO) e remoção de matéria orgânica da câmara anódica na fase 2.

Amostra	Taxa de remoção (kgDQO /m ³ .d)	Concentração de DQO (mg/L)	Remoção DQO (%)	Concentração de COT (mg/L)	Remoção COT (%)
Substrato	-	5009 ± 294	-	1494 ± 204	-
CCM - CM	1,69 ± 0,27	3024 ± 431,40	45 ± 7,31	916 ± 219,3	31 ± 17
CCM - CT	1,87 ± 0,68	2423,24 ± 591	51 ± 11,63	791,94 ± 243,65	41 ± 6,7

Diferente do estudo de Patil *et al.*, (2010), onde a menor eficiência de remoção de matéria orgânica em condições termofílicas se deu pela desnaturação de enzimas de alguns microrganismos que levou ao desprendimento do biofilme, reduzindo a concentração de microrganismos ativos e, conseqüentemente, o consumo de matéria orgânica e a eficiência de remoção. Isso pode ser explicado pelo tempo de monitoramento dos reatores termofílicos na fase 2 (188 dias). Esse período teria sido suficiente para que uma comunidade microbiana termofílica se desenvolvesse. Assim os microrganismos estavam adaptados às condições termofílicas, apresentando estabilidade na remoção de matéria orgânica e possibilitando maior atividade das bactérias termofílicas para a degradação do substrato.

A taxa de carregamento orgânico (TCO) típica aplicada a uma CCM varia entre 0,05 e 2 kgDQO/m³.d (SCOTT e YU, 2015). Em uma CCM de dupla câmara usada para tratamento de águas residuárias municipais, foram obtidas taxas de eficiência de remoção de DQO superiores a 90% para TCO entre 0,43 e 0,72 kgDQO/m³.d; no entanto, a taxa de remoção diminuiu para 70% quando o TCO de 0,87 kgDQO /m³.d foi aplicado (YE *et al.*, 2019). No presente estudo, taxas médias de remoção de DQO a 45 - 51% foram obtidas com base na aplicação de TCO variando de 3,60 ± 0,21 kgDQO/m³.d, essa taxa de carregamento são comparáveis às aplicadas para sistemas de tratamento de águas residuais domésticas de alta taxa carregamento orgânico, como lodo ativado (JIANLONG *et al.*, 2000).

6.2.2 Fase 2 - influência da temperatura na geração de energia

A CCM de controle mesofílico (CM) manteve suas configurações de operação da 1ª fase para 2ª fase e elevação e maior estabilidade, com valor da fase 1 de $519 \pm 69,5$ (total) e $-231 \pm 28,7$ mV (ânodo) enquanto que para fase 2 foram de $570 \pm 32,5$ (total) e $-255 \pm 32,5$ mV (ânodo). Assim, quando comparado com a CCM de controle termofílico (CT) é possível observar a contribuição da temperatura na tensão do reator possibilitou um aumento de 22,25% na tensão anódica do reator (Tabela 15).

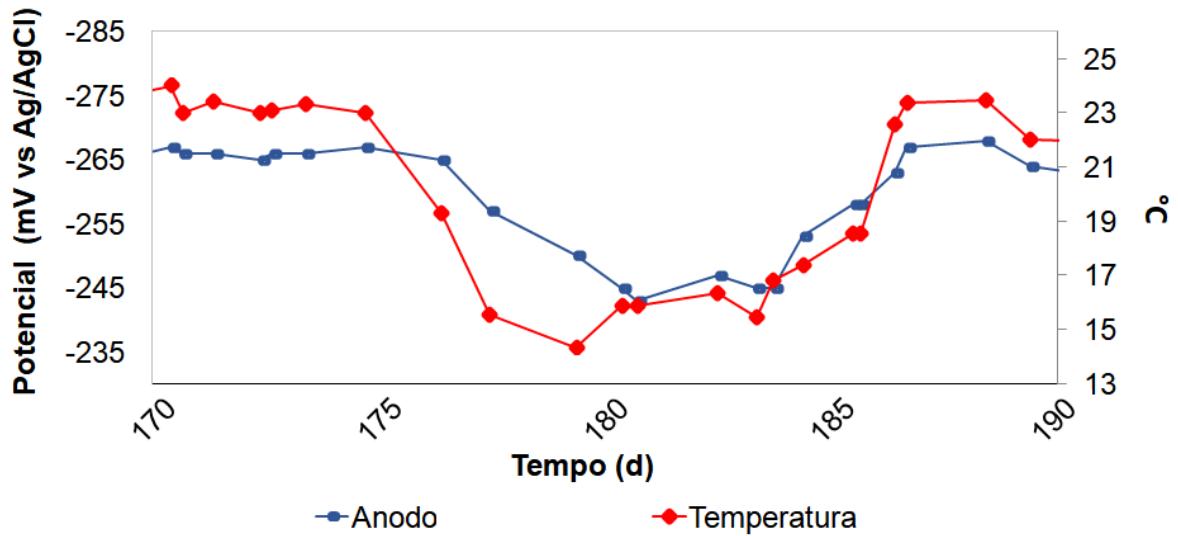
Tabela 15 - Influência da temperatura na tensão e na eficiência coulombiana
Fase 2

Amostra	Tensão Total (mV)	Tensão do ânodo (mV vs. SHE)	EC (%)
CCM - CM	$570,3 \pm 32,5$	$-255,1 \pm 15,2$	$1,5 \pm 0,32$
CCM - CT	$659,8 \pm 49$	$-328 \pm 24,75$	$2,18 \pm 0,41$

Essa diferença provocada pela temperatura pode ser justificada pela maior eficiência da condição termofílica que são consideradas potencialmente mais eficientes que as mesofílicas em relação ao desempenho, crescimento microbiano, velocidade de reação, (DOPSON *et al.*, 2015; SEKAR *et al.*, 2017, DESSI, *et al.*, 2018). Além disso, é possível observar que a EC do reator termofílico foi 46% maior quando comparado ao reator mesofílico. Logo a maior remoção de matéria orgânica na unidade termofílica resultou em uma maior disponibilidade de elétrons para o reator. O ganho da elevação da temperatura resultou uma maior conversão da matéria orgânica em energia. Quando comparado a literatura, percebemos que em estudos como Cano *et al.*, (2021) e Tee *et al.*, (2017) a elevação da temperatura a 55°C resultou em valores menores de EC quando comparado a CCMs as mesofílicas dos respectivos estudos.

Além da contribuição da temperatura descrita acima, outro fenômeno foi observado na unidade CM durante a fase 2 (Figura 17). Como este reator não tinha sistema de aquecimento, a temperatura dentro do ânodo variou devido às mudanças de temperatura causadas pela temperatura do ambiente. Quando a unidade CM apresentou potencial anódico estável (-480 ± 2 mV), foi possível observar a influência da variação de temperatura em um na tensão anódica, apresentando redução em seus valores. O mesmo comportamento não foi encontrado em outras CCMs mesofílicas operadas com R_{ext} de $22,5 \Omega$ possivelmente porque outros fatores tiveram maior influência sobre a tensão nestes reatores, como a redução da resistência externa.

Figura 17- Variação da tensão pela influência da temperatura ambiente.



A análise da curva de polarização mostrou que a temperatura termofílica contribuiu com a redução da resistência interna em 1,3 vezes em relação a CCM - CM, principalmente devido à menor resistência associada ao cátodo. Isto implica que a temperatura exerceu uma influência positiva sobre o cátodo. Em contrapartida, não foi apresentado grandes diferenças no desempenho anódico, ambas as CCMs exibiram valores de resistência anódica semelhantes.

Em termos de densidade de potência máxima obtida pela curva de polarização, durante o período a CCM CT (controle termofílico) demonstrou um valor 52,75% maior em relação a unidade mesofílica, no entanto a unidade CCM CT dentre as unidades foi a que apresentou ainda na primeira fase limitações relacionadas a resistência catódica pela menor concentração de oxigênio dissolvido. Em unidades termofílicas o nível de temperatura pode afetar a saturação do oxigênio no interior do reator, sendo necessário elevação da concentração de oxigênio na câmara catódica (YASRI *et al.*, 2019).

Logo a elevação da temperatura quando comparada a operação mesofílica resultou em uma condição de maior geração de energia e menor resistência interna (Tabela 16) para a câmara anódica. Os resultados obtidos ajudam a compreender o papel da temperatura no ânodo de uma CCM de câmara dupla, que ainda são pouco pesquisadas em condições termofílicas.

Tabela 16 - Influência da temperatura na densidade de potência máxima e na resistência interna dos reatores.

CCM	Densidade de potência máxima (W/m ³)	Fase 2		
		Total (Ω)	Ânodo (Ω)	Cátodo (Ω)
CM	10,53 ± 0,79	22,6 ± 0,73	1,35 ± 0,09	20,9 ± 5,19
CT	22,09 ± 2,9	13,07 ± 4,76	1,6 ± 11,2	12,3 ± 0,39

6.4. Fase 2 - influência da alteração da resistência externa

Nas CCMs, a R_{ext} controla a relação entre a tensão da célula e a corrente elétrica, determinando a energia disponível para os microrganismos com energia obtida sendo proporcional ao número de elétrons transferidos para o eletrodo (AELTERMAN *et al.*, 2008). A R_{ext} controla a tensão e corrente de uma CCM, porém outros elementos influenciam a velocidade das reações no ânodo e no cátodo. Na maioria dos estudos de CCM, esses fatores não são apresentados. Sabe-se que o pH é crucial para a geração de energia da CCM. O anólito acidificado pode diminuir a atividade eletrogênica e por consequência, afetar o desempenho da transferência de elétrons no ânodo, enquanto o aumento do pH no cátodo afeta a reação de redução de oxigênio devido a disponibilidade de prótons (LOGAN, 2008; ZHUANG *et al.*, 2010; BAJRACHARYA *et al.*, 2015).

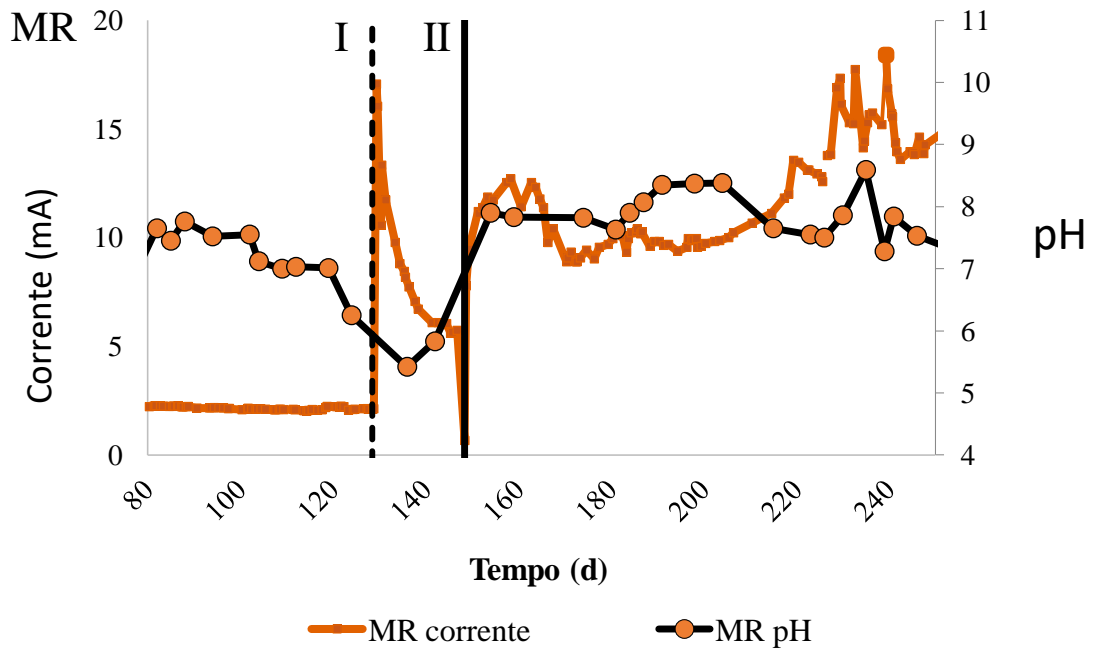
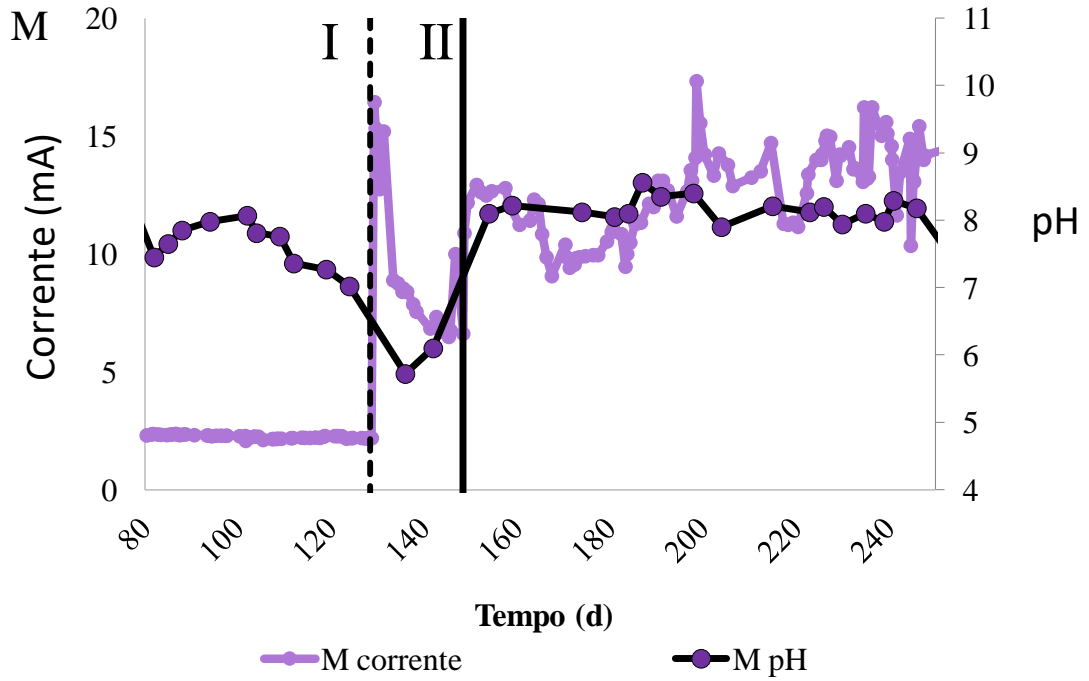
Assim, no início da segunda fase experimental, a maior atividade eletrogênica das CCMs a 22,5 Ω consumiu mais alcalinidade na câmara do ânodo em comparação ao reator operado com R_{ext} de 300 Ω. As CCMs com R_{ext} de 22,5 Ω apresentaram inicialmente uma elevação substancial da corrente de valores de 2 A/m³ para valores acima de 10 A/m³ sendo estatisticamente diferentes com nível de significância ($p < 0,001$). Após cerca de 10 dias, as densidades de corrente reduziram-se para um patamar entre 4 a 8 mA/m³, sendo acompanhadas pela queda de pH na câmara anódica (Figura 18). Devido ao alto consumo de alcalinidade na câmara anódica, o pH do ânodo foi menor, enquanto o pH na câmara catódica se manteve estável devido a capacidade tamponante da solução de tampão de fosfato. Após a estabilização, os reatores apresentaram valores de corrente entre 11 – 16,5 mA próximos aos valores obtidos no estudo de Cano *et al.*, (2021) de $15 \pm 2,95$ mA.

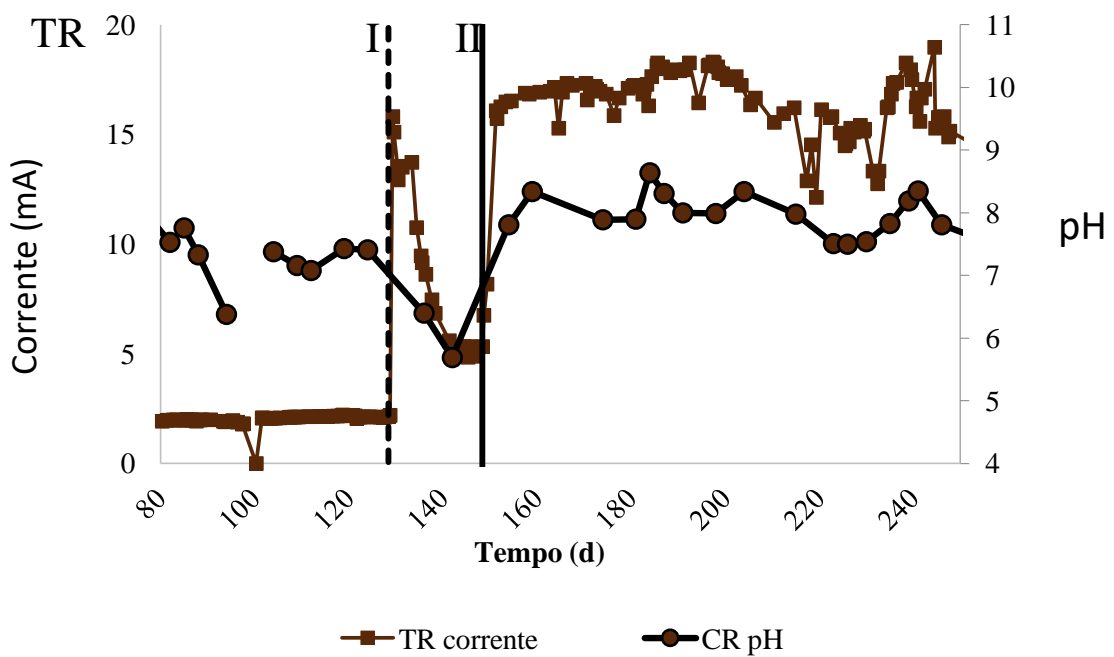
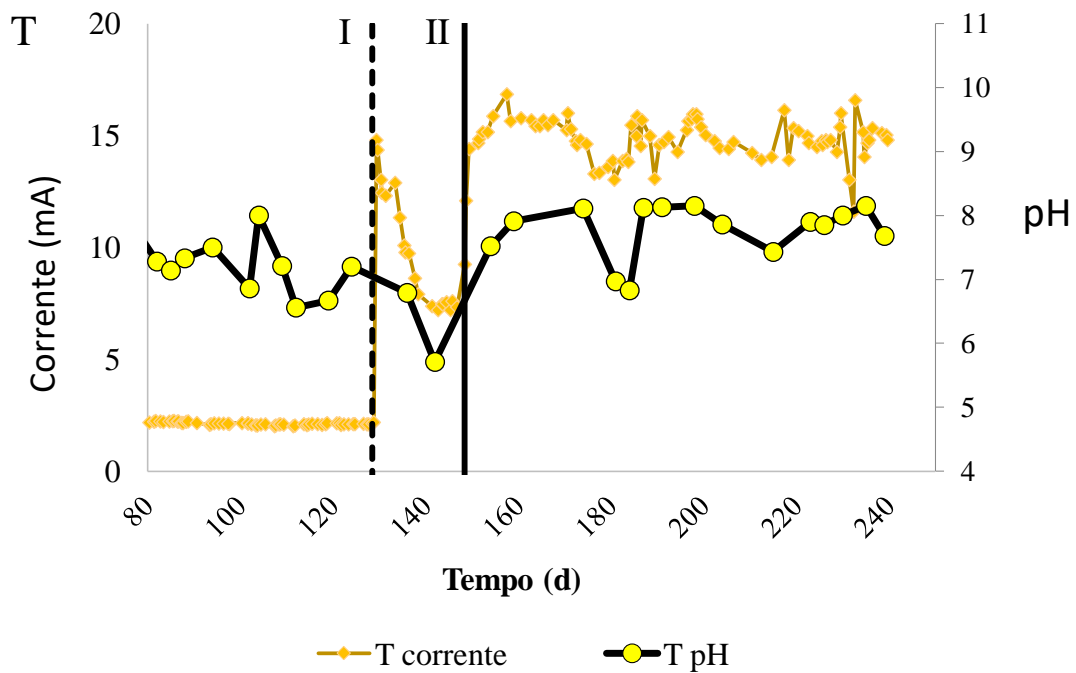
É possível observar que o aumento da corrente foi mais acentuado nas CCM termofílicas a 22,5 Ω (TR e T), indicando uma estabilização mais rápida da geração de corrente. Isso pode estar relacionado à capacidade de degradação da matéria orgânica em temperaturas elevadas.

Os reatores TR e MR (22,5 Ω), que operaram com menor área de membrana *Nafion*,

apresentaram valores inferiores de corrente quando comparados às CCMs com maior área de membrana membrana: T e M ($22,5 \Omega$) respectivamente. Esses resultados apontam para uma maior acidez do pH por conta do acúmulo de cargas positivas (H^+), criando assim um ambiente desfavorável para comunidade microbiana formada e por consequência redução da geração de corrente e remoção de matéria orgânica. O que explica o desempenho inferior dos sistemas que apresentam sistema MTP de menor área (TR e MR) é a menor capacidade de transferência de prótons do ânodo para o cátodo. Ressalta-se que entre as CCMs com membrana reduzida unidade MR ($22,5 \Omega$) foi a mais afetada pela acidez do pH, a mesma apresentou valores de corrente de $9,7 \pm 0,67$ mA durante o período, mesmo após a alteração da alcalinidade (Figura 18). Apenas depois do 200º dia ocorreu um aumento gradual da corrente até alcançar valores de $16 \pm 2,16$. Possivelmente a comunidade microbiana foi mais afetada para o reator mesofílico o que fez com fosse necessário um tempo maior para o restabelecimento da comunidade microbiana resultando de corrente comparável às demais CCMs.

Figura 18 - Elevação da corrente após alteração da resistência externa e aumento da alcalinidade – I; início da fase 2 - II; aumento da alcalinidade do substrato. CCM; M, MR, T, TR





Para solucionar e normalizar a geração de corrente foi necessário elevar a concentração de alcalinidade (2X) no efluente sintético, como forma de balancear o pH da câmara anódica, assim o sistema voltou a apresentar aumento da corrente (Tabela 17).

Tabela 17 - Valores do pH na Fase1 – Fase 2 inicial – Fase 2 após ajuste

Ω	Amostra	Fase 1	Fase 2 inicial	Fase 2 após ajuste da alcalinidade
		pH		
	Substrato	7,00 ± 0,22	7,07 ± 0,39	7,92 ± 0,33
22,5	CCM - M	7,59 ± 0,65	5,91 ± 0,27	8,13 ± 0,39
300	CCM - CT	7,29 ± 0,71	6,06 ± 0,8	8,24 ± 0,40
22,5	CCM - MR	7,20 ± 0,64	5,62 ± 0,8	7,77 ± 0,50
300	CCM - CT	7,44 ± 0,47	6,11 ± 0,4	8,13 ± 0,74
22,5	CCM - T	7,42 ± 0,46	5,85 ± 0,26	7,79 ± 0, 42
22,5	CCM - TR	7,29 ± 0,65	5,84 ± 0,5	8,03 ± 0,38

No estudo de Karma *et al.*,(2020), avaliou-se a operação de uma CCM de câmara dupla para o tratamento de efluente em várias faixas de pH (5 a 8) e o biofilme gerado pelo consórcio microbiano se adaptou a um ambiente ligeiramente alcalino para a produção de eletricidade. Enquanto que Marashi e Kariminia (2015) obtiveram maior geração de energia para CCM para o tratamento de águas residuais de ácido tereftálico purificado em pH alcalino, devido à inativação de bactérias acidogênicas e metanogênicas em favor da maior atividade de bactérias eletrogênicas. Onde os valores de densidade de potência foram de 12 mW/m² (pH 8,5), superior a 7,5 mW/m² para pH a neutro (7) e 4.3 mW/m² para pH ácido (5,4). Mediante ao exposto e aos dados gerados na segunda e terceira fase o pH mais alcalino para os reatores controlados (300 Ω) não foi um fator de interferência para a operação, sendo estatisticamente semelhante com $p < 0,001$ (ver material suplementar).

6.5 Influência da alteração da resistência externa na remoção de matéria orgânica

As taxas de remoção de matéria orgânica foram de 44,81 ± 7,02% e 47,12 ± 9,68% para as CCM M (22,5) e MR (22,5) respectivamente (Tabela 18), estes valores foram próximos ao reator controle com 45 ± 7,31 e estatisticamente semelhantes ($p > 0,001$). Isso é um indicativo que a alteração da resistência externa não contribuiu para o aumento da remoção de matéria orgânica. Potrykus *et al.*, (2021) destaca em seu estudo que quando a resistência externa é aumentada de 120 para 3300 Ω ocorre uma redução da remoção de matéria orgânica (de 200 mg/L para 100 mg/L). O estudo associa essa relação com metabolismo não eletrogênico observado em resistências externas mais elevadas.

Assim, a remoção máxima de poluentes das águas residuais foi obtida ao operar com a maior resistência externa. No entanto, essas condições operacionais não permitem que o sistema atinja a maior geração de eletricidade.

Tabela 18- Remoção de matéria orgânica da câmara anódica por DQO e COT – relação DQO/COT.

Amostra	Concentração de DQO (mg/L)	Remoção DQO (%)	Concentração de COT (mg/L)	Remoção COT (%)	DQO/COT
Substrato	5009 ± 294	-	1494 ± 204	-	3,20 ± 0,27
CCM - CM	3024 ± 431,40	45 ± 7,31	916 ± 219,3	31 ± 17	3,08 ± 1,19
CCM – M (22,5 Ω)	2739,32 ± 386	44,81 ± 7,02	1058,16 ± 144,8	30,32 ± 9,95	2,80 ± 0,43
CCM – MR (22,5 Ω)	2405,23 ± 687,71	47 ± 9,68	969 ± 248	36,88 ± 17,9	2,79 ± 0,81

No presente estudo os valores de remoção não foram significativamente diferentes quando operados a 22,5 Ω. Quando observada a relação DQO/COT das CCMs com resistência externa a 22,5 Ω observa-se valores abaixo da relação DQO/COT do substrato (Tabela 18). Essa condição é um indicativo de que os compostos orgânicos residuais eram diferentes em relação à unidade operada com 300 Ω (LO, 1996). Possivelmente os microorganismos das unidades a 22,5 Ω estavam consumindo preferencialmente compostos orgânicos distintos em relação a unidade a 300 Ω. Essa distinção pode ter contribuído para o consumo de uma parcela do substrato orgânico, porém não expressando diferença significativa em termos de porcentagem de remoção por DQO.

6.6 Influência da alteração da resistência externa na geração de energia

Como esperado da fase 1 para fase 2 a tensão total dos reatores com R_{ext} de 22,5 Ω reduziram como já era esperado (Tabela 19). Dessa forma, em circuito fechado, o CCM – CM (controle mesofílico) obteve a maior tensão (significativamente maior, valor de $p < 0,001$) com densidade de corrente de $4,41 \pm 0,27$ A/m³.

Tabela 19 - Tensão total e potencial do ânodo na operação dos reatores mesofílicos

Ω	Amostra	Tensão Total (mV)	Potencial do ânodo (mV vs. SHE)
300	CCM - CM	570,3 \pm 32,5	-255,1 \pm 15,2
22,5	CCM - M	284 \pm 46,75	-122 \pm 38
22,5	CCM - MR	317 \pm 47,8	-177,4 \pm 18,64

Nas mesmas condições, exceto pela R_{ext} à 22,5 Ω Às CCMs M e MR obtiveram tensão menor, porém apresentaram uma corrente 6,96 e 8,75 vezes maior, respectivamente (Tabela 20).

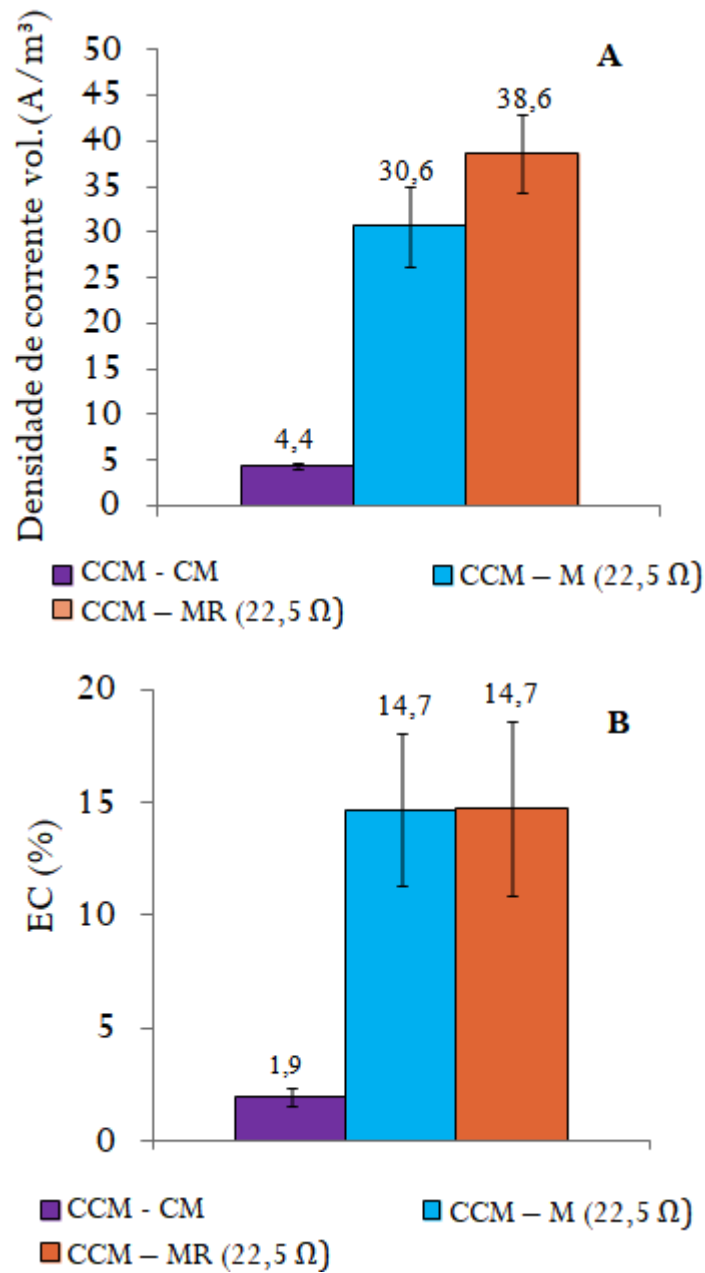
Tabela 20 – Resistências dos reatores mesofílicos durante a fase 2.

Ω	Amostra	Resistência Total (Ω)	Resistência Anódica (Ω)	Resistência Catódica (Ω)
300	CCM - CM	22,60 \pm 5,72	1,32 \pm 0,09	20,9 \pm 5,19
22,5	CCM - M	6,9 \pm 0,75	0,57 \pm 0,29	6,16 \pm 0,83
22,5	CCM - MR	10,13 \pm 1,15	4,83 \pm 1,4	5,84 \pm 0,35

Assim, em circuito fechado, as CCMs à 22,5 Ω obtiveram valores de densidade de potência (Figura 19 A) significativamente maiores (valor de $p < 0,001$) em comparação a unidade controle.

O aumento da corrente observado para a CCM M e MR resultou em valores EC cerca de 7,49 e 7,5 vezes maior respectivamente (p valor $< 0,001$) quando comparada a CCM CM (Figura 19 B), isso implica que o reator produziu mais energia durante a operação normal devido à maior conversão do substrato em eletricidade. Da mesma forma, Suzuki *et al.*, (2018) relataram CE superior de $21 \pm 15\%$ com base na aplicação de R_{ext} de 10 Ω em comparação com $18 \pm 8\%$ alcançado com 1000 Ω . Buitrón *et al.*, (2017) também mostraram que manter o R_{ext} sempre próximo ao R_{int} levou a maiores densidades de potência, em torno de 1,18 vezes, em comparação com um R_{ext} alto e fixo de 1500 Ω .

Figura 19 – Densidade de potência volumétrica (A) e EC (B) durante a fase 2 de operação



Durante a operação 2, o R_{int} variou até 10,8% e 11,3 % em relação ao primeiro valor de resistência interna (R_{int}) obtido pelas CCM M e MR respectivamente. Os valores de R_{int} obtidos variaram 30% para a CCM CM. Isso implica que as unidades a 22,5 Ω esteve sempre próximo da condição ótima ($R_{ext} = R_{int}$), enquanto o R_{ext} de 300 Ω foi substancialmente maior que a R_{int} . Os valores de resistência interna contribuem com os valores adquiridos tanto por EC quanto por densidade de corrente. Ressalto que os valores obtidos de resistência total obtido entre as unidades foram semelhantes, porém os elementos que contribuíram para isso

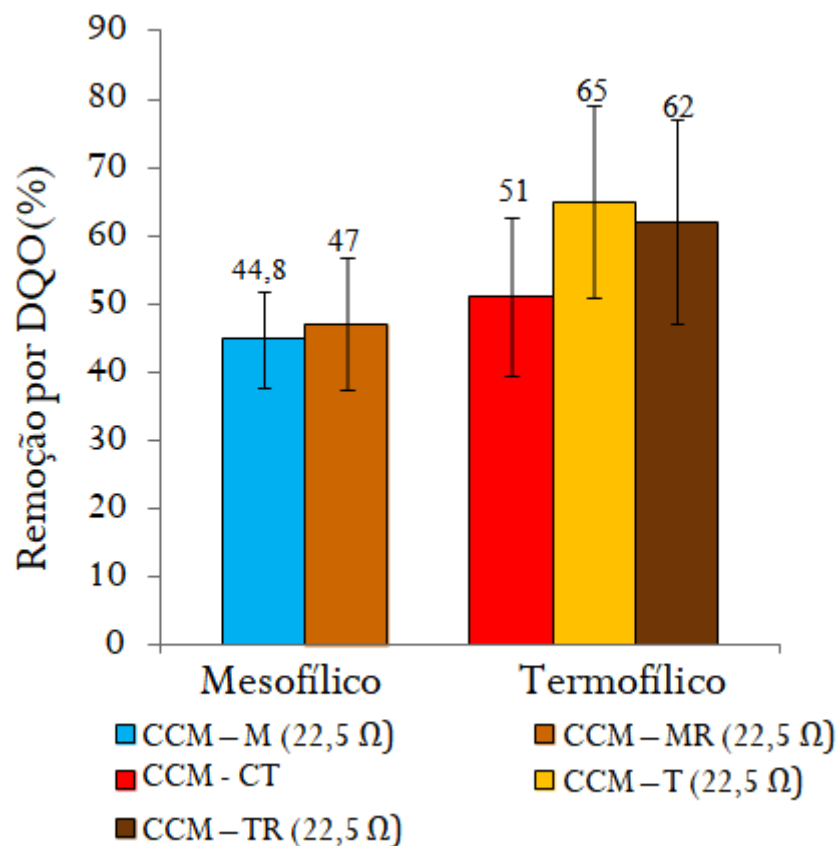
foram distintos. A CCM MR apresentou limitações anódicas 8,47 vezes maiores, isso pode estar relacionado com o maior impacto da acidez do pH na câmara anódica, tendo influenciado na atividade eletrogênica.

6.7 Fase 2 - influência da alteração da resistência externa e da elevação da temperatura combinados.

6.7.1 Oxidação da matéria orgânica.

Na segunda fase de operação os reatores termofílicos com resistência à 22,5 Ω demonstraram valores de remoção de matéria orgânica acima de 60% (Figura 20). Em relação a taxa de remoção de matéria orgânica.

Figura 20 – Influência da temperatura e da R_{ext} na remoção de matéria orgânica



Na relação DQO/COT não foi observado diferença significativa entre as CCMs indicando que a redução da R_{ext} e a elevação da temperatura não acarretou na remoção seletiva de compostos orgânicos no substrato. A estratégia de operação da termofílica com R_{ext} a 22,5 Ω demonstrou ser eficiente para remoção de matéria orgânica (Tabela 21).

Tabela 21 - Influência da temperatura e da R_{ext} na remoção de matéria orgânica.

Amostra	DQO/ COT	Concentração de DQO (mg/L)	Concentração de COT (mg/L)
Substrato	3,20 ± 0,27	5009 ± 294	1494 ± 204
CCM – M (22,5 Ω)	2,80 ± 0,43	2739,32 ± 386	1058,16 ± 144,8
CCM – MR (22,5 Ω)	2,79 ± 0,81	2405,23 ± 687,71	969 ± 248
CCM - CT	3,16 ± 1,18	2614,96 ± 584,03	791,94 ± 243,65
CCM – T (22,5 Ω)	2,99 ± 0,74	1474, 73 ± 646	468,71 ± 218,92
CCM – TR (22,5 Ω)	2,85 ± 1,13	1901,11 ± 896	686,03 ± 317

6.7.2 - Influência da alteração da resistência externa e da elevação da temperatura combinados para conversão de matéria orgânica em energia.

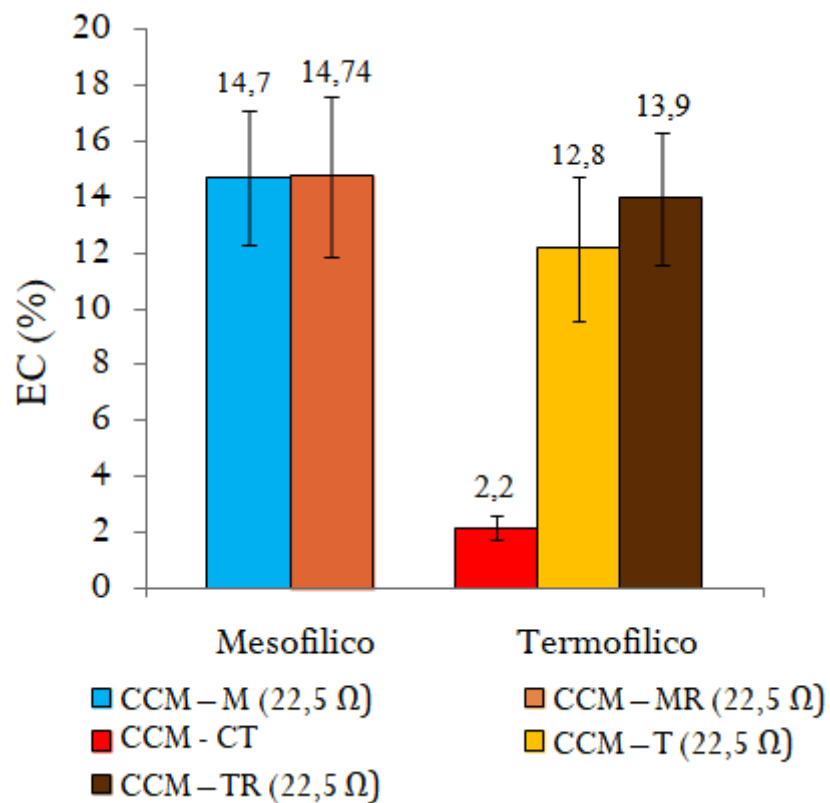
A geração de energia obtida das CCM T e TR foram superiores em relação às unidades mesofílicas, com potencial anódico da CCM TR apresentando valor de 1,6 vezes maior e 2,4 vezes maior quando comparado às unidades M e MR (Tabela 22). Quando observados os valores de EC observa-se uma elevação do desempenho dos reatores com 22,5 Ω. Esse desempenho foi próximo ao obtido por Cano *et al.*, (2021) em condições mesofílicas com EC de 12%. Os reatores termofílicos à 22,5 Ω (T e TR) na fase 2 apresentaram um desempenho maior na remoção de matéria orgânica, resultando diretamente na redução da EC quando comparada aos reatores mesofílicos à 22,5 Ω (M e MR).

Tabela 22 - Influência da temperatura e da R_{ext} na geração de energia e na densidade de potência

Ω	Amostra	Tensão Total (mV)	Densidade de potência (W/m^3)
300	CCM - M	578 ± 33	$2,6 \pm 0,29$
22,5	CCM - M	$284 \pm 46,75$	$8,6 \pm 2,4$
22,5	CCM - MR	$317 \pm 47,8$	$10,8 \pm 3,2$
300	CCM - CT	$659,8 \pm 49$	$3,4 \pm 0,55$
22,5	CCM - T	$327,7 \pm 33,45$	$11,6 \pm 1,36$
22,5	CCM - TR	$360,6 \pm 44,67$	$13,7 \pm 3,2$

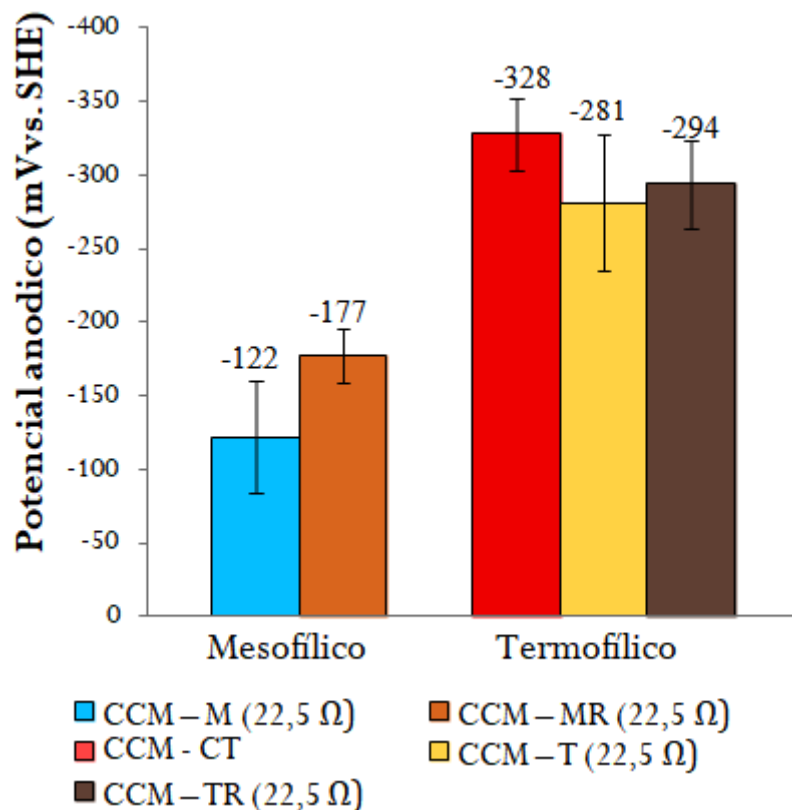
Esse fenômeno ocorre devido a uma parcela da matéria orgânica oxidada não ter sido convertida em elétrons (LOGAN, 2008). No entanto a elevação da EC em relação aos valores da primeira fase, menores que 1,5%, representam maior atividade eletrogênica no ânodo, indicando maior desenvolvimento das comunidades microbianas responsáveis pela geração de energia (MEI *et al.*, 2017).

Figura 21 – Influência da temperatura e da R_{ext} na EC



É importante ressaltar que as CCMs TR e T apresentaram valores significativamente ($p > 0,001$) semelhantes em relação às unidades mesofílicas a $22,5 \Omega$. Isso indica que a mesma quantidade de matéria orgânica na operação resultou em uma maior conversão em energia pela resistência a $22,5 \Omega$ e a 55°C em relação a unidade controle (CT). Desta forma as unidades termofílicas a $22,5 \Omega$ foram tão eficientes quanto as unidades mesofílicas quando analisado o potencial anódico (Figura 22).

Figura 22 – Influência da temperatura no potencial anódico



Para a densidade de potência registrada no decorrer da operação, todas as unidades tiveram um aumento expressivo quando comparadas a fase 1 ($2,7 - 3,5 \text{ W/m}^3$). Para a fase 2 a unidade CCM TR com resistência reduzida apresentou valores semelhantes.

Em termos de densidade de potência máxima obtida pela curva de polarização, durante a fase 1 os reatores R1 e R3 (CCM – M e MR respectivamente) apresentaram valores expressivamente maiores em relação às fases posteriores, porém isso foi causado principalmente por diferenças no potencial do cátodo. Enquanto que na fase 2 os PCA do ânodo foram mais relevantes (maior quando comparado a fase 1), o que resultou na maior contribuição da densidade de potência (Tabela 23).

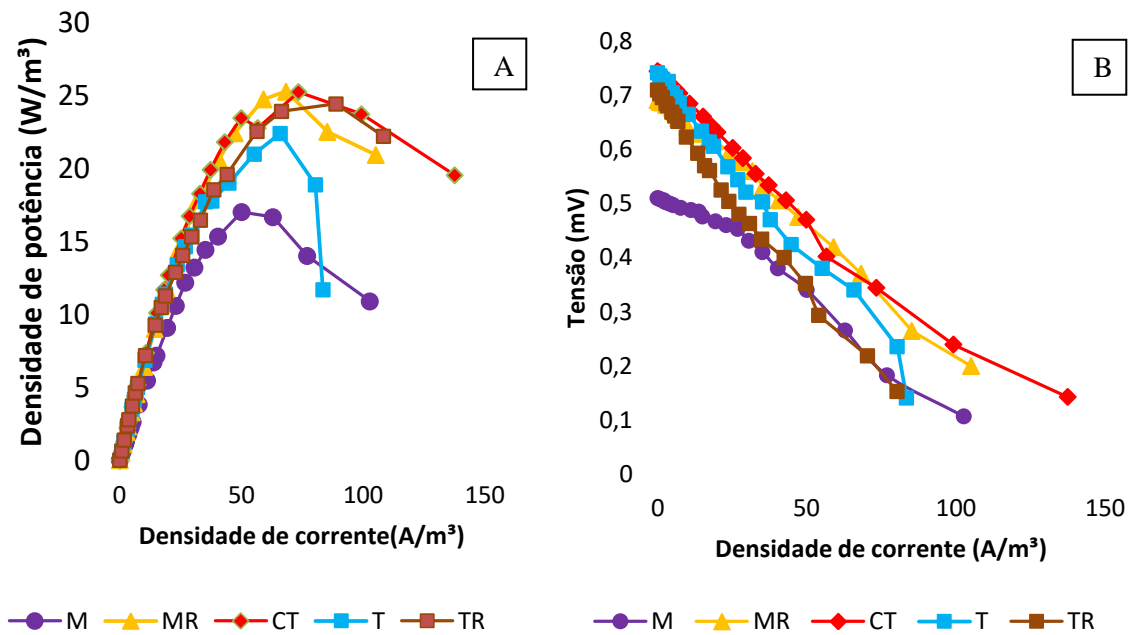
Durante a fase 2, a densidade de potência foi semelhante tanto para as unidades termofílicas quanto para as mesofílicas. Porém a redução da resistência externa possibilitou o aumento da densidade de potência, principalmente para os reatores termofílicos quando comparado à fase anterior (Tabela 23). No estudo de Rismani-Yazdi *et al.* (2011) também foi alcançado maiores densidades de potência com menor R_{ext} de 20 Ω (66 mW/m^2) à 249 Ω (57,5 mW/m^2), 480 Ω (27 mW/m^2) e 1000 Ω (47 mW/m^2). Os reatores com resistência externa alcançaram maior densidade de potência por contribuição dos valores anódicos, demonstrando assim que a redução da resistência externa em conjunto da elevação da temperatura foi benéfica para o desenvolvimento de um ânodo mais eficiente.

Tabela 23 - Comparação fase1 e fase 2 - Influência da temperatura e da R_{ext} na densidade de potência máxima e no PCA

Ω	CCM	Fase 1		Fase 2	
		Densidade de potência máxima (W/m^3)	PCA Ânodo (mV vs Ag/AgCl)	Densidade de potência máxima (W/m^3)	PCA Ânodo (mV vs Ag/AgCl)
22,5	M	42,51 \pm 3,87	-0,22 \pm 0,03	21,90 \pm 5	-0,31 \pm 0,05
22,5	MR	47,73 \pm 0,39	-0,25 \pm 0,03	25,23 \pm 6,67	-0,33 \pm 0,14
300	CT	16,42	-0,24 \pm 0,01	22,09	-0,42 \pm 0,11
22,5	T	11,30 \pm 7,07	-0,24 \pm 0,02	22,4	-0,33
22,5	TR	18,32 \pm 9,53	-0,25 \pm 0,02	20,04 \pm 3,53	-0,43 \pm 0,12

Quando observada a curva de polarização ao final da operação é possível verificar que a densidade de corrente para os reatores termofílicos com 22,5 Ω não apresentaram limitações devido à transferência de massa ao contrário da unidade T. Enquanto que a CCM MR apresentou valores semelhantes às unidades termofílicas a 22,5 Ω . Isso indica que: para valores de densidade de potência máxima, a temperatura não foi um fator de grande influência quando em 22,5 Ω . A unidade CCM M apresentou menor valor em sua densidade de potência máxima, no entanto quando considerado a média adquirida no período os valores se assemelham às demais unidades com R_{ext} reduzido (Figura 23).

Figura 23 – Final da operação - Curva de polarização (A) e densidade de potência registradas (B) – Fase 2



A estratégia da operação em temperatura a 55°C em conjunto da R_{ext} a $22,5 \Omega$ também resultou na alteração das resistências internas dos reatores (BUISTRON *et al.*, 2017; POTRYKUS *et al.*, 2021). As CCMs termofílicas à $22,5 \Omega$ apresentaram redução de aproximadamente 50% da resistência da câmara anódica quando comparado a primeira fase de operação, característico da otimização da resistência, no entanto demonstraram elevação da resistência catódica como relatadas em outros estudos (YASRI *et al.*, 2019; BAJRACHARY *et al.*, 2015). É importante ressaltar que a unidade MR demonstrou maior resistência anódica possivelmente devido ao maior impacto causado pelo pH como mencionado em tópicos anteriores.

Portanto a estratégia de redução da resistência interna e conjunto da elevação da temperatura se beneficiou principalmente pela EC, demonstram maior eficiência associada ao ânodo, porém maiores limitações associadas a solubilidade do oxigênio na câmara catódica quando comparado com reatores mesofílicos.

6.8 Fase 3 - influência do aumento da carga orgânica

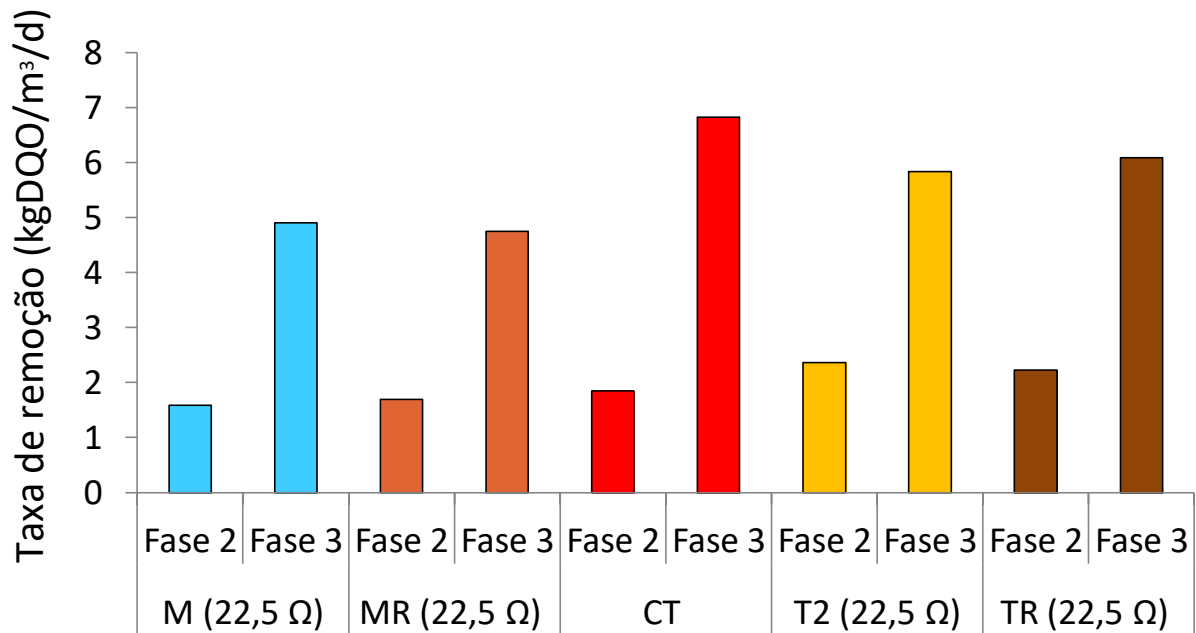
6.8.1 Efeito da elevação da carga orgânica para oxidação da matéria orgânica

Para a terceira fase de operação, as CCMs foram submetidas gradualmente à elevação da concentração de matéria orgânica de 5 para 20 gDQO/L, como é possível observar pela tabela 24. Desta forma os reatores apresentaram uma eficiência de remoção de DQO menor que 50%. No entanto, a redução da eficiência de tratamento não foi proporcional ao aumento da concentração de matéria orgânica.

Tabela 24- Remoção de matéria orgânica da câmara anódica por DQO e COT

Fase 3				
Amostra	Concentração de DQO (mg/L)	Remoção DQO (%)	Concentração de COT (mg/L)	Remoção COT (%)
Substrato	20185 ± 514	-	6722 ± 639	-
CCM – M (22,5 Ω)	13384 ± 1373	33,01 ± 6,87	464,69 ± 715	30 ± 8,02
CCM – MR (22,5 Ω)	13600 ± 1304,14	32,73 ± 6,8	4629,69 ± 613	30,76 ± 8,68
CCM - CT	10845 ± 1240	47 ± 16	4066,37 ± 493	38 ± 6,38
CCM – T2 (22,5 Ω)	11555,46 ± 1196	40,81 ± 6,72	4173,15 ± 433,94	32,13 ± 8,68
CCM – TR (22,5 Ω)	11680,75 ± 885	42,5 ± 4,62	4693,67 ± 412,14	32,31 ± 4

Quando observada a taxa de carregamento orgânico (TCO) o substrato passou a apresentar valores de $3,6 \pm 0,21$ para $14,46 \pm 0,42$ (da fase 2 para fase 3). Todas as unidades também apresentaram elevação nos valores da taxa de remoção, no entanto esse aumento foi maior para os reatores termofílicos que apresentaram valores acima de $5 \text{ kgDQO/m}^3 \cdot \text{d}$. Isso mostra que as CCMs com concentração de 20 gDQO/L, estavam em condição de operação limite, pois a taxa de remoção não aumentou na mesma proporção que a taxa de alimentação (Figura 24). Outros estudos também demonstraram que o aumento da TCO pode resultar na redução do consumo de matéria orgânica. Para Kõiv *et al.*, (2016) o aumento do TCO de $0,015 \text{ kg DQO/m}^3 \cdot \text{d}$ para $0,5 \text{ kg DQO/m}^3 \cdot \text{d}$ resultou em uma redução de 95% para 65% de remoção de matéria orgânica (em termos de DQO).

Figura 24 – Influência da temperatura e da R_{ext} na taxa de remoção

Quando comparada a fase 2 com a fase 3, a redução da relação DQO/COT (Tabela 25) sugere que compostos orgânicos facilmente oxidáveis podem ter sido consumidos (MORELLO *et al.*, 2018). Sendo um indicativo que os compostos orgânicos residuais eram diferentes em relação a outras fases do trabalho. Isso pode indicar que o aumento da carga orgânica resultou na degradação de compostos mais simples (CHEN *et al.* 2020). Com a maior quantidade de compostos orgânicos de maior degradabilidade, possibilitaria o aumento da geração de energia. (CHEN *et al.*, 2020, CHAE *et al.*, 2009).

Tabela 25 - Influência da temperatura e da R_{ext} na relação DQO/COT – Fase 2 e 3

Amostra	Fase 2	Fase 3
	DQO/COT	DQO/COT
Substrato	3,20 ± 0,27	3,14 ± 0,4
CCM – M (22,5 Ω)	2,80 ± 0,43	2,92 ± 0,41
CCM – MR (22,5 Ω)	2,79 ± 0,81	3,03 ± 0,67
CCM - CT	3,16 ± 1,18	2,70 ± 0,44
CCM – T2 (22,5 Ω)	2,99 ± 0,74	2,74 ± 0,4
CCM – TR (22,5 Ω)	2,85 ± 1,13	2,5 ± 0,31

Apesar da redução da remoção em termos percentuais, é relevante apontar que as CCMs termofílicas continuaram a apresentar maior remoção de matéria orgânica. Além disso, a maior concentração de substrato resultou em alterações do comportamento do reator, principalmente para câmara anódica. Essas alterações são discutidas nos tópicos seguintes onde será abordada a influência do aumento da carga orgânica e do biofilme.

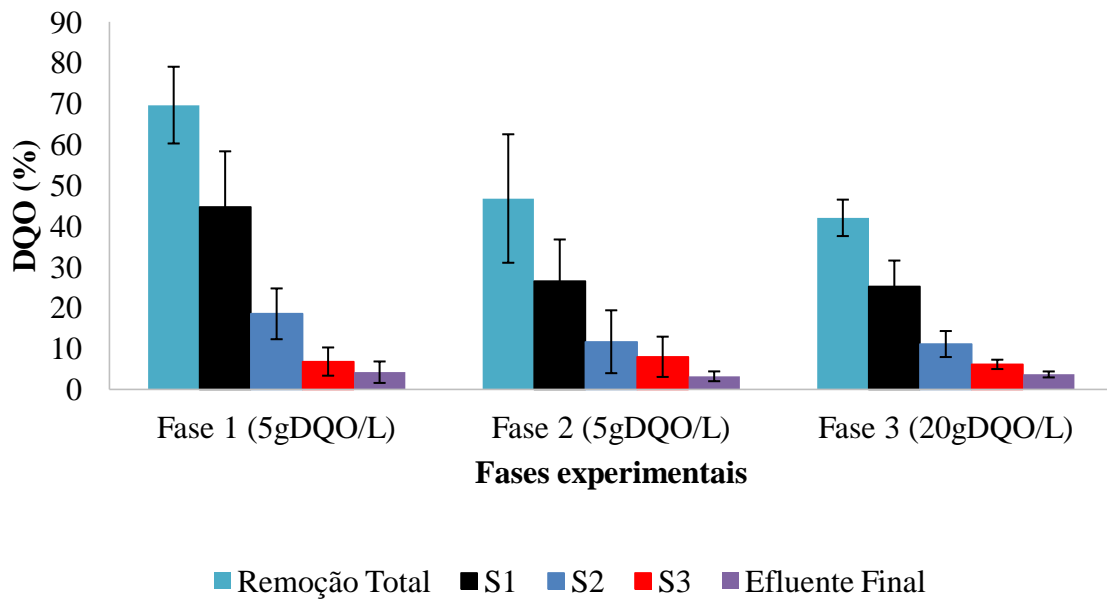
6.8.2 Influência da estratificação de matéria orgânica na concentração para proteínas na coluna do Reator

A concentração de proteínas aderidas ao ânodo foi obtida ao final do experimento para avaliar se o inóculo se adaptou às condições da CCM e relacioná-lo com o desempenho da remoção de matéria orgânica. A concentração de proteínas do cátodo também foi estudada para auxiliar na avaliação da vedação e desempenho do reator. Além disso, foi identificado que a maior concentração de proteínas obtidas pelas CCMs corresponde a remoção de matéria orgânica na coluna do reator.

A estratificação da remoção de matéria orgânica ao longo da coluna anódica foi obtida pela CCM – MR (22,5 Ω). No primeiro ponto (S1) a matéria orgânica removida foi em média 56% (Fase 1) e 39% (Fase 2), posteriormente, o ponto S2 apresentou uma remoção global de 61% (Fase 1) e 47% (Fase 2). Para o ponto S3 foi obtido o valor 65% (Fase 1) e 50% (Fase 2) de remoção. Na saída do reator da câmara anódica foi obtido em média 69% (Fase 1) e 52% (Fase 2). A mesma tendência foi observada na Fase 3 com 25,23%, 11,1%, 6,12%, 42,45% para S1, S2 S3 e para a saída final do reator respectivamente.

Dessa forma, é possível identificar que a maior parte da matéria orgânica foi removida ainda no ponto inicial do reator (S1) (Figura 25). Isso pode implicar em um crescimento de grupos microbianos distintos do na coluna do reator, como podemos ver no estudo de Cano *et al.*, (2021) as CCMs apresentaram maior abundância relativa de *Geobacter* (bacteria exoeletrogenica) com R_{ext} de 13 Ω de 32,4 % na parte inferior da coluna, que foi reduzida para 19,7 % no meio e ainda para 16,8% no topo. Essa abundância relativa indica o crescimento de uma cultura mista de microorganismos que pode contribuir com a remoção de matéria orgânica, mas também com o crescimento de microorganismos não-eletrogênicos.

Figura 25 - Estratificação da remoção de matéria orgânica da unidade MR (22,5 Ω) durante as fases de operação



Como podemos verificar na tabela 26, a concentração de proteínas foi maior na base do reator. Como a alimentação do reator era em fluxo ascendente, a base da coluna anódica era a primeira a receber a matéria orgânica mais concentrada. Isso corrobora com os dados que indicam a maior concentração de proteínas, contendo uma concentração de comunidades bacterianas responsáveis pela conversão de matéria orgânica em energia, na “base” seguida pelo “meio” do reator.

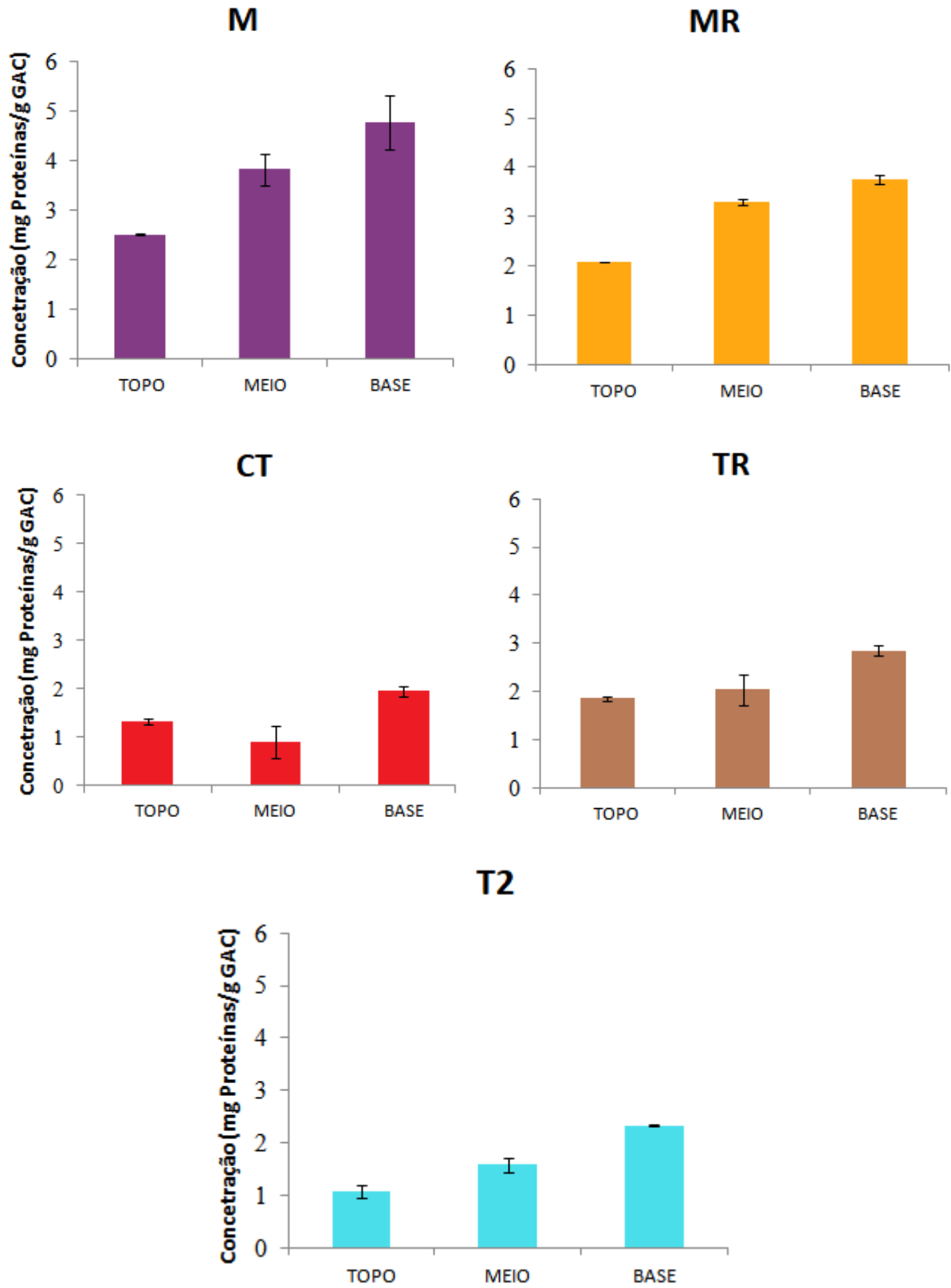
Tabela 26 - Concentração de proteínas na câmara anódica - Topo, Meio, Base

Ω	CCM	Amostra	Ânodo	Cátodo
			mg proteínas/g CAG	mg proteínas/g CAG
22,5	M	TOPO	2,52 ± 0,002	0,979
		MEIO	3,827 ± 0,32	
		BASE	4,78 ± 0,54	
22,5	MR	TOPO	2,08	0,345
		MEIO	2,6 ± 0,05	
		BASE	2,65 ± 0,09	
300	CT	TOPO	1,33 ± 0,04	0,312
		MEIO	0,9 ± 0,03	
		BASE	1,96 ± 0,107	
22,5	TR	TOPO	1,86 ± 0,05	0,212
		MEIO	2,04 ± 0,33	
		BASE	2,849 ± 0,106	
22,5	T2	TOPO	1,09 ± 0,12	0,25
		MEIO	1,59 ± 0,13	
		BASE	2,34 ± 0,008	

Os reatores termofílicos apresentaram menor concentração de proteínas quando comparado às unidades mesofílicas (Figura 26). Isso pode estar relacionado com a característica de operação na temperatura mais elevada. Nesse sentido, a diversidade de espécies diminui a homogeneidade e a produção de energia aumenta, além do desprendimento do biofilme causado pela elevação da temperatura (DAI *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2020).

Por outro lado, as unidades mesofílicas ao apresentarem maior concentração de proteínas podem estar sujeitas a formação de um biofilme mais espesso, no qual pode influenciar na difusão do substrato até as camadas internas do biofilme (KARAMANEV e NIKOLOV, 1996; GATTI e MILOCCO, 2017). Essa espessura pode ser um indicativo resistência de difusão, Cano *et al.*, (2020), ao operar CCM em temperaturas: ambiente, 35° e 55°C, identificou menor diversidade em relação às quando operado em condição termofílica (55°C), no entanto, mais grupos pertencentes a bactérias eletrogênicas foram relatados.

Dessa forma, a concentração de biofilmes no ânodo em uma CCM mesofílica pode chegar a contribuir negativamente para a eficiência de geração de energia, geração de corrente e resistência interna dos reatores.

Figura 26 - Concentração de proteínas da câmara anódica – Topo – Meio - Base

6.8.3 Influência da carga orgânica na geração de energia

Para a terceira fase ocorreu uma elevação da tensão anódica para todos os reatores, exceto a CCM MR (22,5 Ω) (Tabela 27). O acréscimo da concentração de biomassa aderida no ânodo pode ter impedido o contato das bactérias suspensas com o eletrodo afetando a transferência de elétrons no ânodo, de maneira mais significativa na CCM MR (22,5 Ω) operada com menor área de membrana. Dessa forma o potencial anódico apresentou valores mais elevados em relação a tensão, resultando em um menor desempenho. Quando observado os valores de densidade de potência nota-se que as CCMs apresentam uma elevação sutil em relação aos valores obtidos na fase 2, com exceção da unidade CCM M com maior elevação de 8,6 para 13,1 W/m³.

Tabela 27 -Tensão, EC, densidade de corrente e potência adquiridas na fase 3 de monitoramento

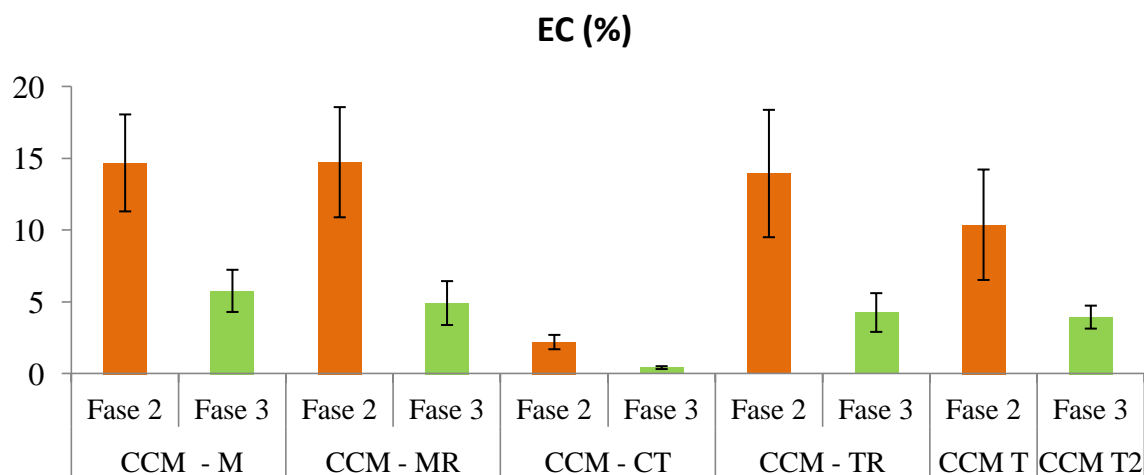
FASE 3						
Ω	Amostra	Tensão Total (mV)	Tensão do ânodo (mV vs. SHE)	Densidade de corrente (A/m ³)	Densidade de potência (W/m ³)	EC (%)
22,5	CCM - M	350 \pm 41,22	-192,6 \pm 39,73	36,62 \pm 4,1	13,1 \pm 2,9	5,77 \pm 1,47
22,5	CCM - MR	242 \pm 26,6	-106,1 \pm 34,3	29,5 \pm 7,2	10,2 \pm 1,4	4,92 \pm 1,53
300	CCM - CT	548,6 \pm 96,7	-365,8 \pm 36	5,4 \pm 1,52	2,6 \pm 0,78	0,42 \pm 0,1
22,5	CCM - TR	368,1 \pm 22,29	-302,3 \pm 27,93	38,5 \pm 1,8	14,4 \pm 2,36	4,26 \pm 1,35
22,5	CCM T2	325 \pm 50,6	246,8 \pm 24,39	34,32 \pm 5,18	11,7 \pm 1,7	3,94 \pm 0,8

Na terceira fase de operação o aumento da concentração de matéria orgânica possibilitou elevação da densidade de corrente com as CCMs atingido valores de até 38,5 Am/m³, exceto a unidade MR (22,5 Ω) que teve sua corrente reduzida de 38,6 \pm 4,34 para 29,5 \pm 7,2. Além disso, é possível verificar que a unidade T2 quando submetida às variáveis de aquecimento e redução da resistência externa apresentou uma elevação de corrente de 4,4 \pm 0,2 para 34,2 \pm 5,18 A/ m³.

Na fase 3, a maior parte das CCMs obtiveram uma elevação da geração de energia, seja para os parâmetros de tensão ou densidade de corrente, mas também resultou na maior

remoção de matéria orgânica em termos de concentração (Figura 27). No entanto, a conversão da matéria orgânica em energia não foi proporcional, resultando na queda EC. Essa redução está relacionada a TCO discutida em tópicos anteriores, onde o aumento da carga orgânica não acompanhou a proporção de eficiências de remoção de matéria orgânica (na forma de DQO). Um aumento na concentração de substrato orgânico na câmara do ânodo leva ao crescimento da biomassa em suspensão, resultando em uma menor EC (CANO *et al.*, 2021). Desta forma as CCMs quando operadas com 20 gDQO/L mantiveram valores de EC significativamente menores em relação a fase 2 de monitoramento (com $p < 0,001$) resultando em uma queda de até 61% para a unidade M.

Figura 27 - Eficiência coulombiana fase 2 e fase 3.



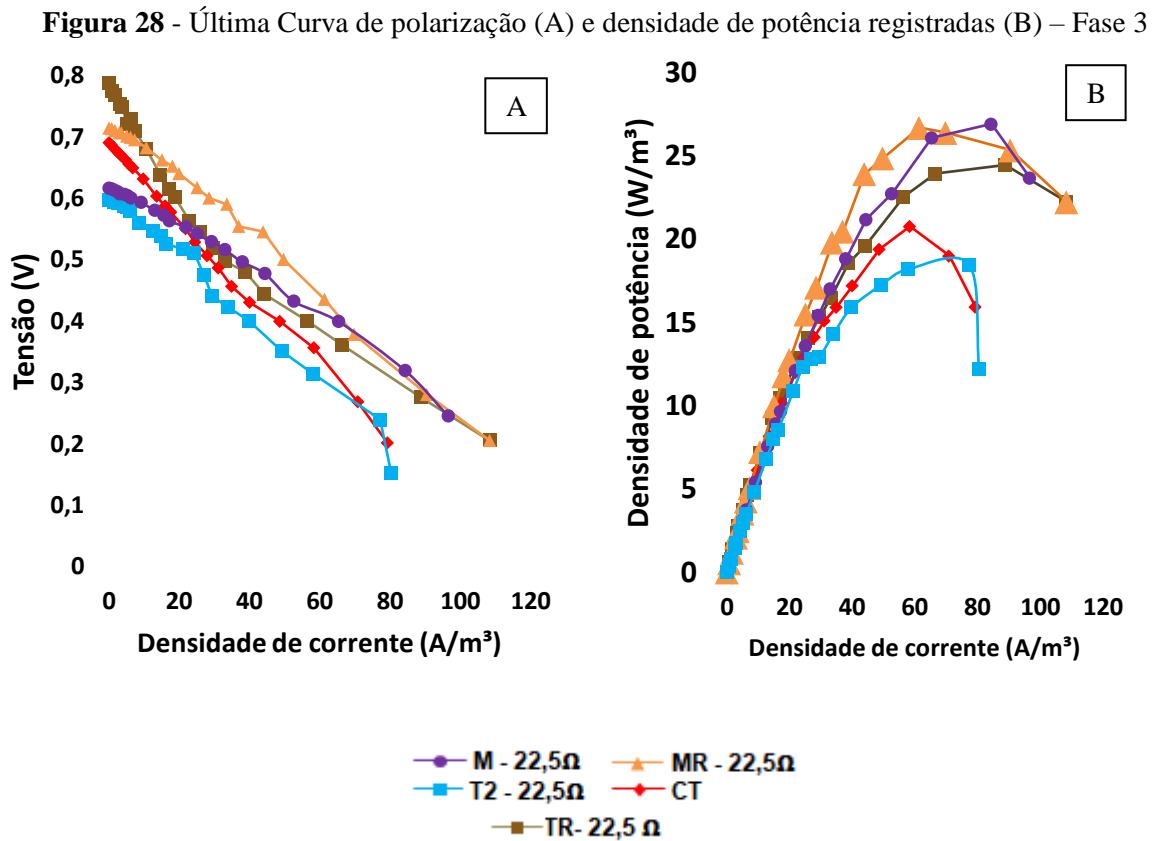
Quando observamos os resultados de densidade de potência máxima obtidas pela curva de polarização percebemos tanto para a densidade de potência quanto para o PCA das unidades termofílicas que ocorrem grandes alterações quando comparadas às unidades mesofílicas. A unidade M foi a única CCM com elevação mais expressiva de 21,9 para 30,74 W/m^3 . Enquanto que para os valores de PCA do ânodo todas as CCMs tiveram seus valores elevados na fase 3 em relação a fase 2 (Tabela 28). Dentre as CCMs, a que apresentou o maior elevação dos valores registrados foi a unidade MR com aumento de 87%. Esse aumento nos valores do ânodo representam que a elevação da carga orgânica prejudicou o desempenho anódico.

Tabela 28 - Densidade de potência máxima adquirida pela curva de polarização dos reatores na fase 2 e 3

Densidade de potência máxima (W/m³)			
Ω	CCM	Fase 2	Fase 3
22,5	M	21,90 ± 5	30,74 ± 5,4
300	CM	11,09	-
22,5	MR	25,23 ± 6,67	23,485 ± 4,50
300	CT	22,09	20,75
22,5	T	22,4	-
22,5	TR	20,04 ± 3,53	25,33 ± 3,58
225	T2	-	17,54 ± 1,27
Ω	CCM	Fase 2	Fase 3
22,5	M	-0,31 ± 0,05	-0,25 ± 0,04
300	CM	-0,28	-
22,5	MR	-0,33 ± 0,14	-0,04 ± 0,05
300	CT	-0,42 ± 0,11	-0,32
22,5	T	-0,33	-
22,5	TR	-0,43 ± 0,12	-0,32 ± 0,08
225	T2	-	-0,22 ± 0,03

A figura 28 sintetiza graficamente a maior densidade de potência obtida pelos reatores mesofílicos e da CCM – TR (22,5 Ω) que apresentou maior desempenho entre os reatores termofílicos. No entanto, as demais CCMs termofílicas T2 e CT apresentaram de acordo com a figura 28 B queda nos valores de densidade de potência, limitações associadas a transferência de massa. Outros estudos apontam que CCMs quando operadas em condição termofílica apresentam maior resistência catódica associada à baixa solubilidade do oxigênio devido a elevação da temperatura (YASRI *et al.*, 2019).

A solubilidade do oxigênio do sistema também influencia na tensão do reator, a tensão do sistema reduz à medida que o oxigênio dissolvido diminui porque um baixo valor de oxigênio dissolvido pode reduzir a taxa de reação de redução na câmara catódica (CHRISTWARDANA, *et al.*, 2021). Essa limitação está relacionada aos valores de densidade de potência menores para as unidades termofílicas.



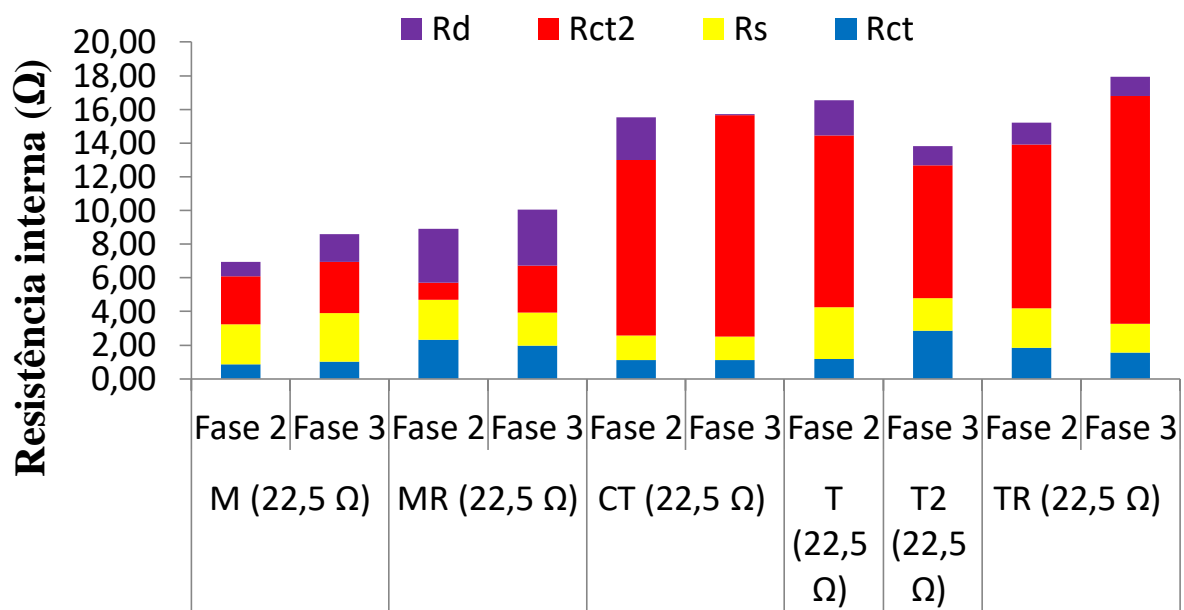
Os valores obtidos com a elevação concentração de matéria orgânica indicam que a unidade mesofílica com membrana reduzida foi a mais prejudicada em relação às demais. Considerando que a CCM M não apresentou valores redução da geração de energia quando comparada a CCM MR, podemos apontar que a menor área de membrana pode ter sido um fator limitante, tendo isso em vista cabe analisarmos os componentes que contribuem com a resistência interna dos reatores. Dessa forma, os resultados obtidos pela espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) confirmaram as limitações associadas aos reatores, a terceira fase de operação representou o aumento da resistência interna para todos os reatores. No entanto as contribuições de cada componente foram diferentes para os reatores mesofílicos e termofílicos.

Em sua fase 3 a unidade M (22,5 Ω) apresentou maior limitação pela resistência catódica (R_{ct2}) contribuindo com resistência de 41,12% da resistência interna do reator, seguido pela soma das resistências do ânodo, *Nafion* e católito (R_s) 33,93%. A menor contribuição ficou para o ânodo (R_c) 12,52% e pela resistência de difusão (R_d) 12,42%.

Para CCM – MR (22,5 Ω) foi observado que as resistências de maior contribuição foram 28,06% (R_{ct2}) e 33,62% (R_d) (Figura 29). Considerando que as demais CCMs não apresentaram uma resistência de difusão tão elevada quanto a unidade MR (22,5 Ω) e que a

condutividade do efluente foi de $19,2 \pm 0,34$ mS/cm. Esta limitação está relacionada à transferência de massa, limitando a difusão do efluente para o ânodo, relacionada com a presença de biofilmes espessos não condutores na superfície do eletrodo (LOGAN, 2008; LINARDI, 2010). As maiores resistências de difusão foram justamente observadas nos reatores que apresentaram maior concentração de proteínas por grama de CAG. Enquanto menor a área da membrana da unidade MR ($22,5 \Omega$) pode ter contribuído com uma resistência de difusão 1,7 vezes superior à unidade M (mesofílica a $22,5 \Omega$).

Figura 29 - Resistência Interna das CCMs nas Fases 2 e 3 de operação



Para as CCMs termofílicas os valores adquiridos confirmam a resistência de transferência de carga tanto para as fase 2 quanto para fase 3 representando mais que 50% da resistência dos reatores. A unidade CCM – TR ($22,5 \Omega$) apresentou uma de transferência de carga 4,8 vezes maior que a resistência catódica da unidade CCM – MR ($22,5 \Omega$).

Para T2 que a partir das alterações realizadas suas densidade de potência teve um aumento de 75% enquanto que sua resistência catódica (sua maior limitação durante a fase 1 e 2) apresentou queda para 79%. O aumento é resultado do maior desempenho do sistema, com a resistência externa a $22,5 \Omega$, mas também da maior concentração de matéria orgânica e temperatura. Apesar disso, os resultados adquiridos não diferem de maneira expressiva quando comparados aos resultados da CCM de controle termofílico (CT). Isso pode estar relacionado ao menor tempo de operação em temperatura a 55°C quando comparado aos demais reatores, com uma ânodo menos desenvolvido.

As unidades termofílicas apresentaram menor resistência por difusão quando comparadas às unidades mesofílicas, isso pode ser um indicativo de que a temperatura pode ter contribuído com uma maior difusão de elétrons na câmara anódica.

Por mais que as CCMs termofílicas tenham apresentado uma câmara anódica em menor resistência, as mesmas chegaram a apresentar valores superiores de resistência catódica, sendo fator de maior limitação dos reatores. Dessa forma os reatores termofílicos foram os que apresentaram maior resistência total entre as CCMs, esses valores refletem nos dados adquiridos de densidade de potência máxima apresentados.

7. CONCLUSÕES

Um modelo de célula combustível microbiana teve sua operação alterada para parâmetros como a elevação da temperatura, redução da resistência externa e alteração da área de membrana de troca de prótons. Os resultados obtidos permitiram identificar a influência de condições operacionais na remoção de matéria orgânica e na geração de energia, na forma de eletricidade. As variáveis de operação foram determinantes para o melhor entendimento do funcionamento da CCM bem como na identificação dos componentes que limitaram a eficiência das unidades, e aqueles que favoreceram.

A resistência externa reduzida aumentou a geração de eletricidade, o que foi associada a uma maior abundância de bactérias eletrogênicas no ânodo (corroborando com a literatura) e na eficiência coulombiana. A atividade eletrogênica resultou em uma maior produção de H^+ , que causou redução do pH na câmara anódica resultando na queda de geração de energia e também na remoção de matéria orgânica. Quando aumentou-se a alcalinidade do substrato, observou-se valores de alta densidade de potência em relação a outros estudos.

A temperatura foi um fator relevante, pois influenciou a geração de energia e remoção de matéria orgânica quando comparada a unidade de controle mesofílica. Embora tenham sido encontrados resultados promissores em termos de resistência interna do ânodo, a alta temperatura afetou negativamente a câmara catódica, devido a redução da solubilidade do oxigênio dissolvido. Sendo o reator de controle termofílico limitado principalmente pela resistência catódica.

A resistência reduzida possibilitou valores mais elevados em relação a geração de energia e densidade de potência. Em contrapartida, os valores de remoção de matéria orgânica foram mais expressivos para termofílica. A combinação das variáveis de redução da resistência externa e elevação da temperatura possibilitou maior eficiência anódica com valores similares em termos de EC. No entanto os valores de densidade de potência máxima não foram significativamente alterados, e apresentaram valores semelhantes as unidades operação a temperatura ambiente com resistência externa reduzida.

Quando operado com maior carga orgânica na terceira fase de operação, as unidades passaram a operar em condição forçada tendo em vista que a taxa de remoção não aumentou na mesma proporção da taxa de alimentação. Apesar disso, a relação DQO/COT indicou que os reatores estavam removendo compostos orgânicos residuais diferentes em relação a outras fases de operação.

Isso resultou em um potencial anódico mais eficiente, principalmente para os reatores com temperatura elevada à 22,5 °C, porém não resultou em valores expressivos em termos de densidade de potência máxima. Para a CCM M o aumento da carga orgânica possibilitou a maior densidade de potência registrada entre as fases 2 e 3 com $30,74 \pm 5,4$ W/m³. No entanto as unidades termofílicas à 22,5 °C apresentaram elevação significativa para a resistência de difusão principalmente para a unidade com menor área de membrana (MR). O impacto na CCM MR foi associado a quantidade de biomassa apresentada na câmara anódica, que possivelmente estaria dificultando a difusão de elétrons na câmara e resultando na queda da tensão total do reator.

Poucos estudos levam em consideração a aplicação da elevação da temperatura para a operação de CCMs. Este estudo contribuiu com a identificação de variáveis operacionais a serem consideradas nas CCMs termofílicas. O estudo desenvolvido demonstra que a operação termofílica com resistência externa reduzida mostrou ser mais resiliente quando comparada com as unidades mesofílicas, tendo sido menos impactada pelo efeito da liberação de H⁺ e pelo desempenho do potencial anódico quando a carga orgânica é elevada. Outro fator relevante é a configuração do reator com a utilização de uma menor área de membrana *Nafion* em operação termofílica possibilitando redução de custo para aplicação em CCMs, com destaque à importância econômica.

Por fim, este estudo interdisciplinar contribuiu para a compreensão e aprimoramento de uma nova tecnologia para geração sustentável de energia limpa e tratamento de águas residuárias, alinhado aos ODS da ONU. A combinação de diferentes especialidades: eletroquímica, energia e biotecnologia ambiental e os diversos processos que se relacionam permitiu avanços no conhecimento no campo da ciência da sustentabilidade.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. A, FARRAG, H.H, SAWY, E, ALLAM, N.K. Microbial fuel cells with enhanced bacterial catalytic activity and stability using 3D nanoporous stainless steel anode. **Journal of Cleaner Production** v 285, 2021.

AGIBERT, S. A.; MOREIRA, M. B.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Influence of temperature on performance of an anaerobic sequencing biofilm batch reactor with circulation applied to treatment of low-strength wastewater. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 136, n. 2, p. 193 - 206, 2007.

ALCARAZ-GONZALEZ, V.; FLORES-ESTRELLA, R.A.; NOLASCO, M.A.; CANO, V.; GONZALEZ-ALVAREZ, V. Microbial Electrolysis Cells Systems For Biohydrogen Generation And Wastewater Treatment - A Short Review And Current Trends. *In*: M. Bahadir; A. Haarstrich. (Org.). **Wastewater Management**. 1ed.: SPRINGER NATURE, 2022.

AL-MAMUM, A.; BAAWAIN, M. S. Accumulation of intermediate denitrifying compounds inhibiting biological denitrification on cathode in Microbial Fuel Cell. **J. Environ. Health Sci. Eng.**, 13 (81), 2015.

AL-MAMUN, A., LEFEBVRE, O., BAAWAIN, M. S., NG, H. Y. A sandwiched denitrifying biocathode in a microbial fuel cell for electricity generation and waste minimization. **Int. J. Environ. Sci. Technol.**, 13, 1055–1064, 2016

ALMEIDA, M.A; COLOMBO, R. Production Chain of First-Generation Sugarcane Bioethanol: Characterization and Value-Added Application of Wastes. **BioEnergy Research**, 2021.

AMIRDEHI M.A; GONG L; KHODAPARASTASGARABAD N; LOGAN B.E; GREENER J. Microbial fuel cell power overshoot studied with microfluidics: from quantification to elimination. **ChemRxiv**. 2021.

AELTERMAN, P; FREGUIA, S; KELLER, J; VERSTRAETE, W; RABAEY, K. The anode potential regulates bacterial activity in microbial fuel cells. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 78, p. 409 - 418, 2008.

ANJOS, J. P.; ROCHA, G. O. ANDRADE, J. B. Matriz energética e o binômio água VS. Energia para o Brasil. **Ciência e Cultura**, v. 66, n. 4, 2014.

APHA, Standard Methods for the examination of water and wastewater. 20 ed. **American Public Health Association**, American Water Works Association, Water Environmental.2020

ARANTES M.K; ALVES H.J; SEQUINEL R; DA SILVA E.A. Treatment of brewery wastewater and its use for biological production of methane and hydrogen. **Int J Hydrogen Energy**; v. 42, p.26243–56, 2017

ARAÚJO, A.; OLIVEIRA, E. Análise Do Consumo de Combustíveis Do Setor de Transporte Rodoviário No Brasil. **Rev. Estud. Debate**2020, v27 (3), p143–157, 2020

Balanco Energético Nacional (BEN) 2020: Ano base 2019. Disponível em <https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-479/topico-528/BEN2020_sp.pdf>

BARD, A. J. AND FAULKNER, L. R., **Electrochemical Methods Fundamentals and Applications**.

John Wiley & Sons, New York, 2001.

BARRERA, E. L.; ROSA, E.; SPANJERS, H.; ROMERO, O.; MESSTER, S. D.; DEWULF, J. A comparative assessment of anaerobic digestion power plants as alternative to lagoons for vinasse treatment: life cycle assessment and exergy analysis. **Journal of Cleaner Production**, 113, 459-471, 2016

BAJRACHARYA, S. *et al.* Cathodes for microbial fuel cells. In: SCOTT, K.; YU, E. H (ORG). *Microbial Electrochemical and Fuel Cells: Fundamentals and Applications*. UK: **Woodhead Publishing**, 2016

BAKAR, M H A; PASCO, N; GOONERATNE, R; HONG, K, B. Effect of long-time oxygen exposure on power generation of microbial fuel cell with enriched mixed culture. **Malaysian Journal of Analytical Sciences**, Vol 20 N° 4, 2016.

BERNAL, A.P. SANTOS, I.F.S. SILVA, A.P.M. BARROS, R.M. RIBEIRO, E.M. Vinasse biogas for energy generation in Brazil: An assessment of economic feasibility, energy potential and avoided CO₂ emissions. **Journal of Cleaner Production**, v. 151, p.260-271, 2017

BRADFORD MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**. 1976;72:248-254

BONIFÁCIO, R. N. **Estudo e desenvolvimento de conjuntos membrana-eletrodos (MEA) para célula a combustível de eletrólito polimérico condutor de prótons (PEMFC) com eletrocatalisadores à base de paládio**. Ph.D. Thesis, Energy and Nuclear Research Institute, São Paulo, 2013

BORSJE, C.; LIU, D.SLEUTELS, T.H.J.A. BUISMAN. J.N. HEIJNE. A. Performance of single carbon granules as perspective for larger scale capacitive bioanodes. **Journal of Power Sources**. v. 325, p. 690-696, 2016.

BUITRÓN, G; PRIETO, I; ZÚÑIGA,I, T; VARGAS, A. Reduction of start-up time in a microbial fuel cell through the variation of external resistance. **Energy Procedia**. P 694-699, 2017.

BOROLE AP, HAMILTON CY, VISHNIVERSKAYA TA, LEAK D, ANDRAS C, MORRELL-FALVEY J, KELLER M, DAVISON B. Integrating engineering design improvements with exoelectrogen enrichment process to increase power output from microbial fuel cells. **J Power Sources** v.191: p. 520–527. 2009.

CAMARGO, L.R.; CASTRO, G.; GRUBER, K.; JEWELL, J.; KLINGLER, M.; TURKOVSKA, O; WETTERLUND, E; SCHMIDT, J. Pathway to a land-neutral expansion of Brazilian renewable fuel production. **Nature Communications**, 2022.

CAMPOS, F.; NOLASCO, M.A. Prospecção Científica e Tecnológica Aplicada ao Conceito de Estações de Tratamento de Esgotos Sustentáveis. **Cadernos De Prospecção**, v. 14, p. 964, 2021.

CANO, V. Energy generation in a novel microbial fuel cell: characterization and dynamics of microbial communities using organic matter and ammonia as electron donors. 2020. Tese (Doutorado em Sustentabilidade) - Escola de Artes, Ciências e Humanidades, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

CANO, V., CANO, J., NUNES, S.C., NOLASCO, M.A. Electricity generation influenced by nitrogen transformations in a microbial fuel cell: assessment of temperature and external resistance. **Renewable**

and **Sustainable Energy Reviews** 139, 110590. 2021.

CANO, V.; VICH, D.V.; ANDRADE, H.H.B.; SALINAS, D.T.P.; NOLASCO, M.A. Nitrification in multistage horizontal flow treatment wetlands for landfill leachate treatment. **Science of The Total Environment**. 704, 135376, 16,2020.

CANO, V. Energy generation in a novel microbial fuel cell : characterization and dynamics of microbial communities using organic matter and ammonia as electron donors [doi:10.11606/T.100.2020.tde-19052020-101339]. São Paulo : Escola de Artes, Ciências e Humanidades, Universidade de São Paulo, 2020. Tese de Doutorado em Sustentabilidade

CANO, V.; NOLASCO, M.A.; KURT, H.; LONG, C.; CANO, J; NUNES, S.C.; CHANDRAN, K. Comparative assessment of energy generation from ammonia oxidation by different functional bacterial communities. **Science Of The Total Environment**, v. 856, p. 161688, 2023.

CAPODAGLIO, A. G. MOLOGNONI,E. DALLAGO,A. LIBERALE,R. CELLA,P. LONGONI, L. PANTALEON, L.. Microbial Fuel Cells for Direct Electrical Energy Recovery from Urban Wastewaters. *Scientific World Journal*. Dec 19;2013:634738.

CARBALLA, M., SMITS, M., ETCHEBEHERE, C., BOON, N., VERSTRAETE, W. Correlations between molecular and operational parameters in continuous lab-scale anaerobic reactors. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v. 89, p. 303–314. 2011.

CARVALHO T.; NOLASCO, M.A. Créditos de Carbono e Geração de Energia com Uso de Biodigestores no Tratamento de Dejetos de Suínos. *Revista Acadêmica Ciências Agr. e Ambientais*, v. 4, p. 23-32, 2006.

CHAE, K.J.; CHOI, M.J.; LEE, J.W.; KIM, K.Y.; KIM, I.S. Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacterial viability in microbial fuel cells. **Bioresour Technol.** Jul;100(14):3518-25, 2009.

CHEN, G.; ZHANG, S.; LI, M.; WEI, Y. Simultaneous pollutant removal and electricity generation in denitrifying microbial fuel cell with boric acid-borate buffer solution. **Water Science and Technology**, 71 (5), 783-788, 2020.

CHEN, X *et al.* Novel self-driven microbial nutrient recovery cell with simultaneous wastewater purification. **Scientific Reports**, v. 5, p.15744, 2015

CHENG, B; TSAO, T; CHANG, S. Cost-Effective Surface Modification of Carbon Cloth Electrodes for Microbial Fuel Cells by Candle Soot Coating. **Coatings**. vol, 8. Ed 468. 2018.

CHRISTWARDANA, M; YOSHI,L. A; SETYONADI, I. MAULANA, M. R. Correlation between Voltage, Dissolved Oxygen, and Power Density of Yeast Microbial Fuel Cell in Different Environmental Waters as Catholyte. **AIP Conference Proceedings**, v.2342, p. 050001, 2021.

CHRISTOFOLETTI, C.A; ESCHER, J.P; CORREIA, J.E; MARINHO, J.F.U; FONTANETTI, C.S. Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. **Waste Management**, v. 33, p. 2752–2761, 2013.

CHOUDHURY P, BHUNIA B, BANDYOPADHYAY T.K, Ray R.N. The Overall Performance Improvement of Microbial Fuel Cells Connected in Series with Dairy Wastewater Treatment. **J Electrochem Sci Technol**. v12, p101–11. 2021.

CHUNG R; KANG E.Y; SHIN, Y.J; PARK J.J; PARK P.S HAN C.H, KIM B; MOON S; PARK J; Development of a Consolidated Anaerobic Digester and Microbial Fuel Cell to Produce Biomethane and Electricity from Cellulosic Biomass Using Bovine Rumen Microorganisms. **Journal of Sustainable Bioenergy Systems**. v.9 n.2, 2019.

COMBARROS, R. G. ROSAS, I. LAVÍN A. G. RENDUELES, M. DÍAZ, M. Influence of Biofilm on Activated Carbon on the Adsorption and Biodegradation of Salicylic Acid in Wastewater. **Water Air Soil Pollut**, p.225-1858, 2014.

DAI, K; WN, J; ZHANG, F; MA, X; CUI, X; ZHANG, Q; ZHAO, T; ZENG, R. Electricity production and microbial characterization of thermophilic microbial fuel cells. **Bioresource Technology**, v. 243, p. 512 – 519, 2017

DHARMALINGAM, S. KUGARAJAH, V. SUGUMAR, M. Membranes for Microbial Fuel Cells, chapter 1,7. **Department of Mechanical Engineering**, Anna University, Chennai, India 2019.

DESSI, P. CHATTERJEE, P. MILLS, P. KOKKO, M. LAKANIEMI, A COLLINS, G. LENS, P.M.L. Power production and microbial community composition in thermophilic acetate-fed up-flow and flow-through microbial fuel cells. **Bioresource Technology**, v.294, p.122115, 2019.

DOPSON, M., NI, G., SLEUTELS, T.H.J.A., Possibilities for extremophilic microorganisms in microbial electrochemical systems. *FEMS Microbiol. Rev.* V. 40, p. 164–181. 2015

DUMITRU, A.; SCOTT, K. Anode materials for microbial fuel cells. In: SCOTT, K.; YU, E. H (ORG). *Microbial Electrochemical and Fuel Cells: Fundamentals and Applications*. UK: **Woodhead Publishing**, ed. 1, p. 117 – 152, 2015.

EMBRAPA. **Objetivos de Desenvolvimento Sustentável 7 Energia limpa e acessível Contribuições da Embrapa**. Brasília, DF 2018, disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/184236/1/ODS-7-energia-limpa-e-acessivel.pdf> acessado em 02 de agosto de 2022.

ENGELBERTH, A. S.; NIU, W.I.; VENTURA, S. P. M.; NAIR, S.; NOLASCO, M.A. ; CARRIER, D. J . Welcomes Manuscripts on Alternative Feedstocks. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 9, p. 4702-4703, 2021.

FAN, L. SHI, J. XI, Y. PVDF-Modified Nafion Membrane for Improved Performance of MFC. **Membranes** v. 10, 2020.

FERRAZ JR, A.D.N, KOYAMA M.H, ARAUJO, M.M, ZAIAT, M. Thermophilic anaerobic digestion of raw sugarcane vinasse. **Renewable Energy** v89 p245-252, 2016

FITZGIBBON, F, SINGH, D, MCMULLAN, G, MARCHANT, R. The effect of phenolic acids and molasses spent wash concentration on distillery wastewater remediation by fungi. **Process Biochemistry** v 33, ed 8, p 799-803, 1998

FLORES, G.H. VARALDO. P. FERIA. S. Q. Comparison of alternative membranes to replace high cost Nafion ones in microbial fuel cells. **International Journal of Hydrogen Energy**. 2016

FU, Q., KOBAYASHI, H., KAWAGUCHI, H., VILCAEZ, J., WAKAYAMA, T., MAEDA, H., SATO, K., Electrochemical and phylogenetic analyses of current-generating microorganisms in a thermophilic microbial fuel cell. *Journal of Bioscience and Bioengineering* v. 115, p.268–271. 2013

FUESS, L.T. **Biodigestão anaeróbia termofílicas de vinhaça em sistemas combinados do tipo acidogênico-metanogênico para potencialização da recuperação de bioenergia em biorrefinarias de cana-de-açúcar de primeira geração** (Doutorado em Hidráulica e Saneamento). Universidade de São Paulo, São Carlos. 2017

FUESS, L. T.; GARCIA, M. L. Bioenergy from stillage anaerobic digestion to enhance the energy balance ratio of ethanol production. **Journal of Environmental Management**, v. 162, 102-114, 2015

FUGINAGA, A, UMEDA, A, HEYA, M, OGATA, H, KISHIMOTO, N. Evaluation of Methods for Measuring Internal Resistances of Discharging Microbial Fuel Cells. **Journal of Water and Environment Technology**, Vol.20, No.1: 1–10, 2022

GAMBOA, E. E.; CORTES, M. J.; PEREZ, B. L.; MALDONADO, D. J.; ZARATE, H. G.; GAVIRIA, A. L. Vinasses: characterization and treatments. **Waste Manag. Res.**, 29(12), 1235-1250, 2011.

GATTI, M, N; MILOCCO, R, B. A biofilm model of microbial fuel cells for engineering applications. **International Journal of Energy and Environmental Engineering** v. 8, p. 303–315, 2017.

GODOI, L. A. G.; FORESTI, E.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z. Down-flow fixed-structured bed reactor: An innovative reactor configuration applied to acid mine drainage treatment and metal recovery. **J. Environmen. Manage**, 197, 597-604, 2017.

GONZÁLEZ DEL CAMPO, A., CAÑIZARES, P., LOBATO, J., RODRIGO, M., FERNANDEZ MORALES, F.J. Effects of External Resistance on Microbial Fuel Cell's Performance. In: Lefebvre, G., Jiménez, E., Cabañas, B. (eds) **Environment, Energy and Climate Change II. The Handbook of Environmental Chemistry**, vol 34, p 17 -197, 2014

GONZÁLEZ DEL CAMPO, A., CAÑIZARES, P., LOBATO, J., RODRIGO, M. MORALES F. J. F., Effects of External Resistance on Microbial Fuel Cell's Performance. In: **The Handbook of Environmental Chemistry**, Springer 2014.

GREENMAN, J; GAJDA, I; YOU, J; ARJUNAMENDIS, B; OBATA,O; PASTERNAK, G;POULOS, I. Microbial fuel cells and their electrified biofilms. **Biofilm**. V. 3, p. 100057, 2021

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

GUVEN, H.; DERELI, R.K.; OZGUN, H.; ERSAHIN, M.E.; OZTURK, I. 2019. Towards sustainable and energy efficient municipal wastewater treatment by up-concentration of organics. **Prog Energy Combust Sci**, 70, 145-68.

HAN-YI, T.W. YU-HSUAN,T.W; TZU-YIN,T.W. **Microbial fuel cell and method of manufacturing the same**. US201916595515A. Depósito 10 out. 2019

HE, C. S; MU, Z; YANG, H; WANG, Y; MU, Y; YU, H.. Electron acceptors for energy generation in microbial fuel cells fed with wastewaters: A mini-review. **Chemosphere**, v. 140, p. 12 - 17, 2015.

HEIDRICH, E.S. DOLFING, J. WADE, M. J. SLOAN, W.T. QUINCE, C. CURTIS, T.P. Temperature, inocula and substrate: Contrasting electroactive consortia, diversity and performance in microbial fuel cells. **Bioelectrochemistry**; v 119; p 43–50, 2018.

- HELDER, M; STRIK, D; HAMELERS, H; BUISMAN, C. The flat-plate plant-microbial fuel cell: the effect of a new design on internal resistances. *Biotechnology for Biofuels*, v. 5, n. 70, 2012.
- HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, F.J. RIOS, A.P. RAMIREZ, F.M. GODINEZ, C. New Application of Supported Ionic Liquids Membranes as Proton Exchange Membranes in Microbial Fuel Cell for Waste Water Treatment. *Chemical Engineering Journal*, v, 279, 2015.
- HERZBERG, M., DOSORETZ, C.G., GREEN, M. Increased biofilm activity in BGAC reactors. *AIChE J.* 51, 1042–1047, 2005
- HOARAU, J. et al. Sugarcane vinasse processing: Toward a status shift from waste to valuable resource. **A review. Journal of water process engineering**, v. 24, p. 11-25, 2018.
- HODGSON, D.M, SMITH, A. DAHALE, S. Segregation of the Anodic Microbial Communities in a Microbial Fuel Cell Cascade. *Front. Microbiol.*, 2016
- HUANG, X. DUAN, C. DUAN, W. SUN, F. CUI, H. ZHANG, S. CHEN, X. Role of electrode materials on performance and microbial characteristics in the constructed wetland coupled microbial fuel cell (CW-MFC): A review. *Journal of Cleaner Production*. v 301, 2021.
- HWANG, GI. SUK. MASSOUD, K. JEFFREY T. G. BRIAN. K. ADAM Z. W. MOO.H. K Role of water states on water uptake and proton transport in Nafion using molecular simulations and bimodal network. *Polymer*. v. 52. p 2584e2593, 2011
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Global warming 1,5 °C (eds Team C. W., Pachauri R. K., Delmoti, V.A.). Geneva, Switzerland: IPCC, 2019.
- ISLAM. M.A, KARIM. A. WOON. C.W; ETHIRAJA. B CHENGA. C.K; YOUSUF. A, KHAN, M.M.R. Augmentation of air cathode microbial fuel cell performance using wild type *Klebsiella variicola*. *RSC Adv.* v. 7, p. 4798-4805, 2017.
- JAMOVI project. *jamovi*. (Version 2.2) [Computer Software]. Retrieved from <https://www.jamovi.org>. (2021).
- JANKE. L. Biogas Production from Sugarcane Waste: Assessment on Kinetic Challenges for Process Designing. *Int. J. Mol. Sci.* v16, 2015
- JANICEK, A. GAO, N. FAN, Y. LIU, H. High Performance Activated Carbon/Carbon Cloth Cathodes for Microbial. *Fuel Cells*, v. 15, 2015
- JESWANI H.K, CHILVERS A, AZAPAGIC A. Environmental sustainability of biofuels: a review: environmental sustainability of biofuels. *Proc R Soc A Math Phys Eng Sci* v. 476, p 20200351. 2020
- JIANG, J, ZHAO, Q, WEI, L. WAN, K. Extracellular biological organic matters in microbial fuel cell using sewage sludge as fuel. *Water Research*, v. 44(7), p. 2163-70 2010
- JIANLONG, S. HANCHANG, Q. YI. Wastewater treatment in a hybrid biological reactor (HBR): effect of organic loading rates. *Process Biochem*, v.36 p. 297-303, 2000.
- JUANARENA, L.C. Sleutels, T. Borsje, C. Heijne, A. Considerations for application of granular activated carbon as capacitive bioanode in bioelectrochemical systems. *Renewable Energy*. v.57 p.782e792, 2020

- KARAMANEV, D.G. e NIKOLOV, L.N. (1996). Application of inverse fluidization in wastewater treatment: from laboratory to full-scale bioreactors. **Environmental Progress**, v. 15 (3), p. 194-196, 1996.
- KAWANO, Y; WANG, Y; PALMER, R.A; AUBUCHON, S.A. Stress-Strain Curves of Nafion Membranes in Acid and Salt Forms. **Polímeros**, v. 12, n. 2 pp. 96-101, 2002.
- KALATHIL, S., LEE, J., CHO, M.H., 2011. Granular activated carbon based microbial fuel cell for simultaneous decolorization of real dye wastewater and electricity generation. **New Biotechnology** 29, 32–37.
- KATURI, K. P; SCOTT, K. HEAD, I. M; PICIOREANU, C; CURTIS, T.P Microbial fuel cells meet with external resistance. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 2758–2766. 2011
- KAUR, A. IBRAHIM, S. PICKETT, C. MICHIE, L. Anode modification to improve the performance of a microbial fuel cell volatile fatty acid biosensor. **Sensors and Actuators B Chemical** v201 p 266–273, 2014.
- KECK, A; RAU, J; REEMTSMA, T; MATTES, R. STOLZ, A; KLEIN, J. Identification of Quinoid Redox Mediators That Are Formed during the Degradation of Naphthalene-2-Sulfonate by *Sphingomonas xenophaga* BN6. **Appl Environ Microbiol.** v. 68(9): p. 4341–4349, 2002.
- KIM, H. S; KIM, B; KIM, J. YU, J. Effect of organic loading and influent source on energy production at the multi baffled single chamber microbial fuel cell. **Desalination and Water Treatment.** v. 56, p.1-6, 2014
- KIM, B.H; IKEDA, T; PARK, H. S; KIM, H.J.M.S; HYUN, KANO, K; TAKAGI, S.K; TATSUMI, H. Electrochemical activity of an Fe (III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens* IR-1, in the presence of alternative electron acceptors. **Biotechnology Techniques** v.13 p.475–478, 1990.
- KONDAVEETI, S; SEELAM, J.S; MOHANAKRISHNA, G; Anodic Electron Transfer Mechanism in Bioelectrochemical Systems in: **Microbial Fuel Cell A Bioelectrochemical System that Converts Waste to Watts**. Springer, Chap. 5, 2018.
- KÕIV, M; MAHADEO, K BRIENT, S CLAVEAU-MALLET, C. COMEAU, Y. Treatment of fish farm sludge supernatant by aerated filter beds and steel slag filters—effect of organic loading rate. **Ecol. Eng.** V. 94 p. 190-199, 2016
- KOÓK, L; NEMESTÓTHY, N; BÉLAFI-BAKÓ, K; BAKONYI, P. The influential role of external electrical load in microbial fuel cells and related improvement strategies: A review. **Bioelectrochemistry.** v.140, p.107749. 2020
- KREJCI, J; SAJDLOVA, Z; KREJCI JR, Z; MARVANEK, T. Voltammetry under a controlled temperature gradient. **Sensors (Basel)**, v. 10(7), p. 6821-35, 2010.
- KRIEG, T. WOOD, J.A. MANGOLD, K.M. HOLTMANN, D. Mass Transport Limitations in Microbial Fuel Cells: Impact of Flow Configurations. **Biochemical Engineering Journal** 2018
- KUMAR, S.S; KUMAR, V; GUDE, V.G; MALYAN, S.K; PUGAZHENDHI, A. Alkalinity and salinity favor bioelectricity generation potential of *Clostridium*, *Tetrathioabacter* and *Desulfovibro* consortium in microbial fuel cell treating sulfate-laden wastewater. **Bioresource Technology.** v. 306, p. 123110, 2020.
- LINARDI, M. **Introdução à Ciência e Tecnologia de Células a Combustível**. São Paulo:

Art Liber, 2010.

LI, F. SHARMA, Y. LEI, Y. LI, B. ZHOU, Q. Microbial fuel cells: the effects of configurations, electrolyte solutions, and electrode materials on power generation. **Appl Biochem Biotechnol.** v. 160(1), p.168-81. 2010

LI, H.; GAO, M.; WANG, P.; MA, H.; LIU, T.; NI, J.; WANG, Q.; CHANG, T.C. Cathode catalyst prepared from bacterial cellulose for ethanol fermentation stillage treatment in microbial fuel cell. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v.40, P.256-261, 2021.

LI, T. SHEN, J. CHEN, G. GUO, S. XIE, G. Performance Comparison of Proton Exchange Membrane Fuel Cells with Nafion and Aquivion Perfluorosulfonic Acids with Different Equivalent Weights as the Electrode Binders. **ACS Omega**, 5, 28, 17628–17636, 2020

LIAO, C.Y. CHEN-YANG, Y.W. Effect of sulfonated carbon nanofiber-supported Pt on performance of Nafion®-based self-humidifying composite membrane for proton exchange membrane fuel cell T.F., **Journal of Power Sources.** v 196. p 126–132. 2011

LIU, H *et al.* Isolation of a bacterial strain, *Acinetobacter* sp. from centrate wastewater and study of its cooperation with algae in nutrients removal. **Bioresource Technology**, v. 235, p.59 - 69, 2017

LO, I.M.C. Characteristics and treatment of leachates from domestic landfills. **Environment International.** v. 22, p. 433-442, 1996.

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

LOGAN, B.E. **Environment transport process.** John Wiley & Sons: New York, 2012.

LUSK, B.G, KHAN, Q.F, PARAMESWARAN P, HAMEED, A, ALLN RITTMANN, B.E TORRES C.L. Characterization of Electrical Current-Generation Capabilities from Thermophilic Bacterium *Thermoanaerobacter pseudethanolicus* Using Xylose, Glucose, Cellobiose, or Acetate with Fixed Anode Potentials. **Environ Sci Technol.** v. 49(24) p. 14725-31, 2015.

MA, H. PENG C, JIA Y, WANG Q, TU M, GAO M. Effect of fermentation stillage of food waste on bioelectricity production and microbial community structure in microbial fuel cells. **R. Soc. open sci.** v. 5: p. 180457. 2018

MARANGONI, P, R, D. ROBL,D; BERTON, M, A, C; GARCIA, C, M; BOZZA, A; PORSANI, M, V; DALZOTO, P, R; VICENTE, V, A; PIMENTEL, I,C. Occurrence of sulphate reducing bacteria (SRB) associated with biocorrosion on metallic surfaces in a hydroelectric power station in Ibirama (SC) - Brazil. **Braz. Arch. biol. technol.** Curitiba, v. 56, n. 5, p. 801-809, 2013

MARASHI S, K; KARIMINIA H, R. Performance of a single chamber microbial fuel cell at different organic loads and pH values using purified terephthalic acid wastewater. **J Environ Health Sci Eng.** 2015.

MARCON, L. R. C.. Influência da configuração da célula combustível microbiana na geração de energia elétrica a partir da degradação de compostos orgânicos. 2015. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.. Acesso em: 2022-08-15.

MATOS, B. R. Preparação e caracterização de eletrólitos compósitos Nafion – TiO₂ para aplicação em células a combustível de membrana de troca protônica. Dissertação,

Instituto de energia nuclear, São Paulo, 2008

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

MARTINEZ, A.C.A; HARNISCHA, F; FITZGERALD, L.A; BIFFINGER, J.C; BRADLEY, RINGEISEN, B.R. SCHRODERA, U. Cyclic voltametric analysis of the electron transfer of *Shewanella oneidensis* MR-1 and nanofilament and cytochrome knock-out mutants. **Bioelectrochemistry**, v. 81, p 74-80 2011.

MARTINS, S.S.S; SILVA, M.P; AZEVEDO, M.O; SILVA V.P. produção de petróleo e impactos ambientais: algumas considerações. **Holos**, v 6, 54–76. 2015.

MATHIS, B. J; MARSHALL, C, W; MILLIKEN, C, E;MAKKAR, R S; CREAGER, S, E; MAY, H D Electricity generation by thermophilic microorganisms from marine sediment. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 78, n. 1, p. 147 - 155, 2008.

MATSENA, M.T; MABUSE, M; TICHAPONDWA, M.S; CHIRWA M.N.E. Improved performance and cost efficiency by surface area optimization of granular activated carbon in air-cathode microbial fuel cell. **Chemosphere**, v. 281, p. 130941, 2021.

MEI, X; XING, D. YANG, Y; LIU, Q. Adaptation of microbial community of the anode biofilm in microbial fuel cells to temperature. **Bioelectrochemistry**, v. 117, p. 29 - 33, 2017.

MENESES-JÁCOME, A; CHAVEZ, R, D; VELÁSQUEZ-ARREDONDO, H I; CÁRDENAS-CHAVEZ, D, L; RUIZ-COLORADO, A A. Sustainable Energy from agro-industrial wastewaters in Latin-America. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 56, p. 1249 - 1262, 2016.

MIDYUROVA, B. Bioelectricity production and waste water treatment using air cathode microbial fuel cell. **International Conference on Electrical Machines, Drives and Power Systems (ELMA)**, 2019.

MIN, B J. KIM, S. OH, J.M. REGAN, B.E. LOGAN. Electricity generation from swine wastewater using microbial fuel cells. **Water Res.** v. 39 p. 4961-4968, 2005.

MORELLO, L; RAGA, R; SGARBOSSA, P; ROSSON, E; COSSU, R. Storage potential and residual emissions from fresh and stabilized waste samples from a landfill simulation experiment. **Waste Management.** v 75, p. 372-383, 2018..

MEI, X.; XING, D.; YANG, Y.; LIU, Q; ZHOU, H.; GUO, C; REN, N. Adaptation of microbial community of the anode biofilm in microbial fuel cells to temperature. **Bioelectrochemistry**, v. 117, 29-33, 2017

NETO, S.A; REGINATTO, V; ANDRADE, A.R. Microbial Fuel Cells and Wastewater Treatment. **Electrochemical Water and Wastewater Treatment.** p.305-331, 2018.

NOLASCO, M. A. Resources Recovery from Wastewater. *In*: Mufit Bahadir and Andreas Haarstrick. (Org.). **Five Years of Exceed - Sustainable Water Management in Developing Countries.** 1ed.Braunschweig, Alemanha: Beyrich D. GmbH, 2014, v. 1, p. 163-173.

OBATA, O; SALAR-GARCIA, J.M; GREENMAN, J, KURT, H; CHANDRAN, K; IEROPOULOS,

- I. Development of efficient electroactive biofilm in urine-fed microbial fuel cell cascades for bioelectricity generation. **Journal of Environmental Management** v. 258, 2020.
- OLIOT, M; GALIER, S; ROUX DE BALMANN, H; BERGEL, A. Ion transport in microbial fuel cells: key roles, theory and critical review. **Appl. Energy**, v.183, p. 1682-1704, 2016.
- OH, S; LOGAN, B.E. Proton exchange membrane and electrode surface areas as factors that affect power generation in microbial fuel cells. **Appl Microbiol Biotechnol**,v.70: p. 162–169, 2006.
- OTTONI, C; SIMÕES, M,F; SOUZA, R, F, B; SANTOS, J,G; NETO, A.O; BRITO, A,G; MAIORANO, A,E. Synthetic vinasse treatment and bioenergy generation using microbial fuel cells. XXI simpósio nacional de bioprocessos XXI simpósio de hidrólise enzimática de biomassa techniche. 2017.
- NOLASCO, M. A. Resources Recovery from Wastewater. In: Mufit Bahadir and Andreas Haarstrick. (Org.). **Five Years of Exceed - Sustainable Water Management in Developing Countries**. 1ed.Braunschweig, Alemanha: Beyrich D. GmbH, 2014, v. 1, p. 163-173.
- OTTONI, C.A; SIMOES, M.F; SANTOS, J.S; PEIXOTO, L; MARTINS, C.R; . SILVA, BP; NETO, A.O; BRITO, A.G. MAIORANO, A.F. Application of microbial fuel cell technology for vinasse treatment and bioelectricity generation. **Biotechnol Lett**, 2018.
- PAULO, P.L.; KIPERSTOK, A.; SOUZA, H.H.S.; MORAIS, J.C.; OLIVEIRA, L.O.V.; QUEIROZ, L.M.; NOLASCO, M.A.; MAGRI, M.E.; LOPES, T.A.S. Ferramentas de avaliação de sustentabilidade em sistemas de tratamento de esgotos descentralizados. In: SANTOS, A.B. (org.). **Caracterização, Tratamento e Gerenciamento de Subprodutos de Correntes de Esgotos Segregadas e Não Segregadas em Empreendimentos Habitacionais**. Fortaleza: Impreco, v. 1, p. 754-820, 2019.
- PANDEY, P; SHIND, V. N; DEOPURKAR, R; KALE, S. P; PATIL, S. A; PANT, D. Recent advances in the use of different substrates in microbial fuel cells toward wastewater treatment and simultaneous energy recovery. **Applied Energy**, 168, 706-723, 2016.
- PARAMESWARAN, P; B.R.Y, T; POPAT, S.C; LUSK, B.G., RITTMANN, B.E; TORRES, C.I. Kinetic, electrochemical, and microscopic characterization of the thermophilic, anode-respiring bacterium *Thermincola ferriacetica*. **Environ. Sci. Technol.** v. 47, p. 4934-4940, 2013
- PAPILLON, J; ONDEL, O; MAIRE, E. Scale up of single-chamber microbial fuel cells with stainless steel 3D anode: Effect of electrode surface areas and electrode spacing. **Bioresource Technology Reports**. v. 13, 2021
- PASSOS, V.F; MARCILLIO, R; SIDNEY, A.N; SANTANA, F.B; CAVALCANTE, A; DIAS, F. ANDREOTE, F.D; ANDRADE, A.R; REGINATTO, V. Hydrogen and electrical energy co-generation by a cooperative fermentation system comprising *Clostridium* and microbial fuel cell inoculated with port drainage sediment. **Bioresource Technology** ,v. 277, p. 94-103, 2019.
- PATIL, S. A.; HARNISCH, F.; KAPADNIS, B.; SCHRÖDER, U. Electroactive mixed culture biofilms in microbial bioelectrochemical systems: the role of temperature for biofilm formation and performance. **Biosensors Bioelectronic**, v. 26, n. 2, p. 803 – 808, 2010.
- PAZUCH, F. A.; NOGUEIRA, C. E. C.; SOUZA, S. N. M.; MICUANSKI, V. C.; FRIEDRICH, L.; LENZ, A. M. Economic evaluation of the replacement of sugar cane bagasse by vinasse, as a source of energy in a power plant in the state of Paraná, Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 76, 34-42, 2017.

PENTEADO, E. D. **Tratamento de águas residuárias em células a combustível microbianas e geração de energia elétrica direta: fundamentos e aplicação.** Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo, 2016.

PERON, J MANI, A; ZHAO, X; EDWARDS, D; ADACHIA, M; SOBOLEVA, T; SHI, Z; XIE, Z; NAVESSIN, T; Holdcrofta, S. Properties of Nafion® NR-211 membranes for PEMFCs. **Journal of Membrane Science.** v. 356, p.44-51, 2010.

PERLES, C,E. Propriedades físico-químicas relacionadas ao desenvolvimento de membranas de Nafion® para aplicações em células a combustível do tipo PEMFC Physicochemical properties related to the development of Nafion® membranes for application in fuel cells. **Polímeros,** v.18 (4), 2008.

PHILIPS, J; VERBEECK,K; RABAEY, K; ARENDS, J, B, A **Electron transfer mechanisms in biofilms.** In: SCOTT, K.; YU, E. H(ORG). *Microbial Electrochemical and Fuel Cells: Fundamentals and Applications.* UK:Woodhead Publishing, ed. 1, p. 67 – 97, 2015.

POTRYKUS, S; LEÓN-FERNÁNDEZ, L; NIEZNA ŃSKI, J; KARKOSI ŃSKI, D; FERNANDEZ-MORALES, F. J. The Influence of External Load on the Performance of Microbial Fuel Cells. **Energies,** v. 14, p. 612, 2021.

POVEDA, M.M.R. **Integração do biogás de vinhaça na matriz energética de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo.** Tese (Doutorado em Bioenergia) - Bioenergia da USP, UNESP e UNICAMP, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

PRASERTSUNG, N; RATANATAMSKUL, C. Effects of organic loading rate and operating temperature on power generation from cassava wastewater by a single-chamber microbial fuel cell. **Desalination and Water Treatment.** V. 5, 2013.

PREMIER, G. C. KIM, J, R; MICHIE, L; DINSDALE, R, M. Automatic control of load increases power and efficiency in a microbial fuel cell. **Journal of Power Sources,** v. 196, n. 4, p. 2013 – 2019, 2011.

PROGISYS, S. **Growth of oil and gas industries in Brazil drives demand for a higher quality of candidates.** Congresso Brasileiro de Planejamento, 2011.

RACHINSKI, S. CARUBELLI, A. MANGONI, A.P. MANGRICH, A.S. Pilhas de combustíveis microbianas utilizadas na produção de eletricidade a partir de rejeitos orgânicos: uma perspectiva de futuro. **Quim. Nova,** v. 33, ed. 8, p 1773-1778, 2010.

REN, Z; MA, P; ZHANGA, G. Application of exogenous redox mediators in anaerobic biological wastewater treatment: A critical review. **Journal of Cleaner Production,** v. 372, 20 October 2022, 133527

RISMANI-YAZDI, H; CHRISTY, A.D; CARVER, S.M; YU, Z; DEHORITY, B.A. Effect of external resistance on bacterial diversity and metabolism in cellulose-fed microbial fuel cells. **Bioresource Technology,** v. 102, n. 1, p.278 - 283, 2011.

RODIONOVA, M.V, POU DYAL R.S, TIWARI, I; VOLOSHIN, R.A. **Biofuel production: challenges and opportunities.** Int J Hydrogen Energy v. 42: p. 8450–8461. 2016

ROSSI, R; HALL, M. D; WANG, X; REGAN, J.M; LOGAN, B.E. Quantifying the factors limiting performance and rates in microbial fuel cells using the electrode potential slope analysis combined with electrical impedance spectroscopy. **Electrochimica Acta.** v. 348, 2020.

ROSSI, R HUR, A, Y; PAGE, M, A; THOMAS, A,O; BUTKIEWICZ, J,J; JONESA, D,W; BAEK, G; SAIKALY, P;E CROPEK, D,E; LOGAN, B;E. Pilot scale microbial fuel cells using air cathodes for producing electricity while treating wastewater. **Water Research**, v.215, p. 118208, 2022.

ROSSI, R; LOGAN, B, E. Impact of external resistance acclimation on charge transfer and diffusion resistance in bench-scale microbial fuel cells. **Bioresource Technology** v.318, p.123921, 2020.

SAKADARONNARONG, C. *LTTITANAKAM, A; TANUBUMRUNGSUK, W; CHAITHONG, S; THANOSAWAN, SIRINNA; SINBUATHONG, N; JERAPUTRA, C* Potential of lignin as a mediator in combined systems for biomethane and electricity production from ethanol stillage wastewater. **Renewable Energy**,v. 76, p. 242 - 248, 2015.

SANG, B; CHOI; O. Extracellular electron transfer from cathode to microbes: application for biofuel production. **Biotechnol Biofuels** .Vol , 9 2016, 2016.

SANTORO, C; ARBIZZANI, C; ERABLE, B; IEROPOULOS, I. From fundamentals to applications. **Journal of Power Sources**.Vol 356, Pages 225-244, 2017.

SANTOS, M.L.V; VALADÉZ, R.F.J; SOLÍS, V.M NAVA, C.G; MARTELL, A.J.C; HENSEL, O. Performance of a microbial fuel cell operated with vinasses using different cod concentrations. **Rev. int. Contam. Ambie**, v. 33 p 521-528. 2017.

SARATALE, G.D; SARATALE, R. G.; SHAHID, M.K; G ZHEN. G, KUMAR, G; SHIN H; CHOI, Y.G; KIM, S.H.A .Comprehensive overview on electro-active biofilms, role of exoelectrogens and their microbial niches in microbial fuel cells (MFCs). **Chemosphere**. vol 178, 534-547, 2017.

SCOTT; E.H. YU (Eds.), *Microbial electrochemical and fuel cells: fundamentals and applications* (first ed.), Woodhead Publishing, United Kingdom. 2015.

SEKAR, N., WU, C.H., ADAMS, M.W.W., RAMASAMY, R.P.. Electricity generation by *Pyrococcus furiosus* in microbial fuel cells operated at 90°C. **Biotechnol. Bioeng**. v. 114, p. 1419–1427. , 2017

SEKAR, N; RAMASAMY, R. Electrochemical Impedance Spectroscopy for Microbial Fuel Cell Characterization. **Journal of Microbial & Biochemical Technology**, 2013.

SIERRA-ALVAREZ,R, LETTINGA, G. The methanogenic toxicity of wastewater lignins and lignin related compounds. **Biotechnology & Applied Microbiology**, v. 50, ed 4, p 443-455, 1991.

SILVA, G.S.P.L. SILVA, F.C. ALVES, B.J.R. TOMAZ, E. BERTON, R.S MARCHIORI, L.F.S SILVEIRA, F.G. Efeitos da aplicação de vinhaça “in natura” ou concentrada associado ao n-fertilizante em soqueira de cana-de-açúcar e no ambiente. **Holos Environment**. v. 19 (1): p.1-21, 2019

SILVA, P.H, NASCIMENTO, I.D.F, TAKAKI, G.M.C. Microbial fuel cell (MFC) performance with pigments bikaverin and congo red as electrochemical mediators for optmization power energy. **Research, Society and Development**, v. 11, n.10, 2022.

SHABANI, M.; YOUNESI, H.; PONTIÉ, M.; RAHIMPOUR, A.; RAHIMNEJAD. M.; ZINATIZADEH, A.A. A critical review on recent proton exchange membranes applied in microbial fuel cells for renewable energy recovery. **Journal of Cleaner Production**. v. 264, 2020.

SHEN, A;WANG, M. CHANG, I.S; YONG. H. Effect of shear rate on the response of microbial fuel cell toxicity sensor to Cu(II). **Bioresource Technology**. v.136, p.707-710, 2013

SHRESTHA, N. CHILKOOR, G. WILDER, J. REN, Z.J. GADHAMSHETTY, V. Comparative performances of microbial capacitive deionization cell and microbial fuel cell fed with produced water from the Bakken shale. **Bioelectrochemistry** v. 121, p.56-64, 2018

SONGHE, Z; BING, H; YUXIN, H. The Influence of pH Spitting on the Internal Resistance in Microbial Fuel Cells. International Conference on Mechatronics, Electronic, Industrial and Control Engineering, 2015.

SUN, S. CHENG, A. WANG, F. LI, B. E. LOGAN AND K. CEN, *Environ. Sci. Technol.* Temporal-Spatial Changes in Viabilities and Electrochemical Properties of **Anode Biofilms**. **Technol.**, v. 49, p.5227–5235. 2015.

SUN, M.; ZHAI, L. F.; LI, W. W.; YU, H. Q. Harvest and utilization of chemical energy in wastes by microbial fuel cells. **Chem Soc Rev**, 45(10), 2847-2870, 2016.

TAKASHI, A. YUKA, M. YORIYUKI, M. **Composition for forming microbial fuel cell anode** JP2020066947A.Depósito 4 fev, 2020

TASKAN, E; HASAR, H; OZKAYA, B. Combination of a novel electrode material and artificial mediators to enhance power generation in an MFC. **Water Science & Technology** · February 2015

TAVARES, C.V.C.C. Os desafios da descarbonização da economia por meio da energia solar no semiárido : estudo de caso Juazeiro do Norte - CE. 2020. 192 f., il. Tese (Doutorado em Desenvolvimento Sustentável) — Universidade de Brasília, Brasília, 2020.

TEE, P.F; ABDULLAH, M.O; TAN, I.A.W; AMIN, M.A.M; NOLASCO-HIPOLITO, C; BUJANG, K. Effects of temperature on wastewater treatment in an affordable microbial fuel cell-adsorption hybrid system. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, n. 1, p. 178-188, 2017

TELEKEN, J. T, SILVA J.A M, FRAGA, F, OGRODOWSKI, C. S. SANTANA, F.B, CARCIOFI, B. A. Mathematical modeling of the electric current generation in a microbial fuel cell inoculated with marine sediment. **Kinetics and catalysis; reaction engineering; and materials science**, Braz. J. Chem. Eng. v. 34, 2017.

TORRES, P. Desempenho de um reator anaeróbico de manta de lodo (UASB) de bancada no tratamento de substrato sintético simulando esgotos sanitários. Master dissertation (Hydraulic and Sanitation). Engineering School of São Carlos, University of São Paulo, São Carlos, 1992

TREMOULI, A. KAMPERIDIS, T. PANDIS1, P. K ARGIRUSIS, C. LYBERATOS, Exploitation of Digestate from Thermophilic and Mesophilic Anaerobic Digesters Fed with Fermentable Food Waste Using the MFC Technology. **Waste and Biomass Valorization**, 2021

TSENG, C.P. SILBERG,J.J. BENNETT,G.N. VERDUZCO, R. 100th Anniversary of Macromolecular Science Viewpoint: Soft Materials for Microbial Bioelectronics. **ACS Macro Lett.**, v. 9, p. 1590-1603. 2020

TYAGI, S; LEE, K.J; MULLA, S.I; Production of bioethanol from sugarcane bagasse: current approaches and perspectives. In: Shukla P (ed) **Applied microbiology and bioengineering**. 1st ed. Academic Press, Cambridge, p. 21–42, 2019.

UCAR D, ZHANG Y, ANGELIDAKI I. An Overview of Electron Acceptors in Microbial Fuel Cells. **Front Microbiol.** v 19 ed8, p643. 2017

ÚNICA - União da Indústria de Cana-de-Açúcar -. **Relatório final da safra 2019/2020**. UNICA, 2021.

URAZGALIEV, A. NOVIKOV, V. GALINA MENSHIKOVA, A. The global trend towards decarbonization of the economy, the introduction of the Carbon Border Adjustment Mechanism in the EU and the possible consequences for Russia Vladimir Sh. **SHS Web of Conferences** v.129, 2021.

VILAS BOAS, J. OLIVEIRA, V.B. MARCON, L.R.C. PINTO, D.P. SIMOES, M. PINTO, A.M.F.R. Effect of operating and design parameters on the performance of a microbial fuel cell with *Lactobacillus pentosus*. **Biochemical Engineering Journal**, v.104, p 34-40, 2015.

VITTI, Nadia Valerio Possignolo. Viabilização do uso da vinhaça concentrada com fertilizantes nitrogenados: aspectos agronômicos e ambientais. 2019. Tese (Doutorado em Química na Agricultura e no Ambiente) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

VON SPERLING, M. Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos - Volume 1. **Coleção Princípios do Tratamento Biológico de Água. ed 4 p. 470. 2014**

WANG, Y; JIA, H ;WANG, J; CHENG, B ;YANG, G ;GAO, F. Impacts of energy distribution and electric field on membrane fouling control in microbial fuel cell-membrane bioreactor (MFC-MBR) coupling system. **Bioresource Technology**, v. 269, p. 339-345, 2018

WANG, C. LIU, S; XU, X; ZHANG, C; WANG, C; WANG, D; YANG, F.. Achieving mainstream nitrogen removal through simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification process in an integrated fixed film activated sludge reactor. **Chemosphere**, v. 203, p. 457 – 466, 2018.

WANG, A.B. L; WUAC, Y; YOU, Z; BAO, H; ZHANGE, H; WANG, J. Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) reveals the role of microbial fuel cell-ceramic membrane bioreactor (MFC-CMBR): Electricity utilization and membrane fouling. **Water Research**, v. 222, p. 118854. 2022.

WATSON, V. J.; LOGAN, B. E. Analysis of polarization methods for elimination of power overshoot in microbial fuel cells. **Electrochemistry Communications**, v. 13 (1), p. 54-56, 2011.

WILKIE, A. C.; RIEDESEL, K. J.; OWENS, J. M. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, v. 19 (2), p. 63-102, 2000

WRIGHTON, K. C. AGBO, P; WAENRECKE, F. WEBER, K, A, BRODIE, E, L; DESANIS, T, Z; HUGENHOLTZ, P; ANDERSEN, G, L; COATES, J, D A novel ecological role of the Firmicutes identified in thermophilic microbial fuel cells. **The ISME Journal**, v. 2 p. 1146 - 1156, 2008.

WRIGHTON, K.C, THRASH, J.C, MELNYK, R.A. Evidence for direct electron transfer by a Gram-positive bacterium isolated from a microbial fuel cell. *Appl. Environ. Microb.* v. 77, p. 7633-7639, 2011

WU, S. *et al.* A novel pilot-scale stacked microbial fuel cell for efficient electricity generation and wastewater treatment. **Water Research**, v. 98 p. 396 - 403, 2016. doi.org/10.1016/j.watres.2016.04.043

YADAV, M; SEHRAWAT, N; SINGH, M; KUMAR, V; SHARMA, A; KUMAR, S. Chapter 11 - Thermophilic microbes-based fuel cells: an eco-friendly approach for sustainable energy production. *Bioremediation for Environmental Sustainability* p. 235-246, 2021.

YAQOUB, A.A. IBRAIHM, M. N, M. COUTO, S.R. Development and modification of materials to build cost-effective anodes for microbial fuel cells (MFCs): An overview. **Biochemical Engineering Journal**, v. 164, 2020.

YANG, W; LI, J; FU, Q; ZHANG, L; WEI, Z; LIAO, Q; ZHU, X. Minimizing mass transfer losses in microbial fuel cells: Theories, progresses and prospectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 136, p. 110460, 2021.

YAMASHITA, T. ISHIDA, M; ASAKAWA, S KANAMORI, H; SASAKI, H; OGINO, A; KATAYOSE, Y; HATTA, T; YOKOYAMA, H. Enhanced electrical power generation using flame-oxidized stainless steel anode in microbial fuel cells and the anodic community structure. **Biotechnology and Biofuels**, v. 9, n. 62, p. 1 - 10, 2016. DOI: 10.1186/s13068-016-0480-7

YASRI, E.P.L. ROBERTS, S. GUNASEKARAN. The electrochemical perspective of bioelectrocatalytic activities in microbial electrolysis and microbial fuel cells. **Energy Rep**, 5, pp. 1116-1136, 2019.

YE, H.H. N; GO, W. GUO, S.W. CHANG, D.D; NGUYEN, Y. LIU, NGHIEM, L, D. ZHANG, X; WANG, J. Effect of organic loading rate on the recovery of nutrients and energy in a dual-chamber microbial fuel cell. **Bioresour Technol**, 281 pp. 367-373, 2019.

YONG, Z.-H. LIAO, J.-Z. SUN, T. ZHENG, R.-R. JIANG, H. SONG. Enhancement of coulombic efficiency and salt tolerance in microbial fuel cells by graphite/alginate granules immobilization of *Shewanella oneidensis* MR-1. **Process Biochem**, v. 48 pp. 1947-1951, 2013.

YUZHU, L. LI, Y. HE J.L.J, WANG, L.Y, LEI, JD. Recent developments in high-performance Nafion membranes for hydrogen fuel cells applications. **Petroleum Science**. v. 19, ed.3, p. 1371-1381, 2022

ZHANG, F.; HE, Z. Simultaneous nitrification and denitrification with electricity generation in dual-cathode microbial fuel cells. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 87, p. 153 - 159, 2012.

ZHAO, Y. COLLUM, S; PHELAN, M; GOODBODY, T. Preliminary investigation of constructed wetland incorporating microbial fuel cell: Batch and continuous flow trials. **Chemical Engineering Journal**, v. 229, p. 364-370, 2013.

ZHUANG, L. Enhanced performance of air-cathode two-chamber microbial fuel cells with high-pH anode and low-pH cathode. **Bioresource Technology**, v. 101 p. 3514 - 3519, 2010.

ANEXO

Os resultados da análise estatística são apresentados a seguir:

Tabela 29- Remoção de Matéria orgânica (DQO) – Fase 1

Remoção de Matéria orgânica (DQO) – Fase 1	
Shapiro wilk	
R1	p < 0,150
R2	p < 0,150
R3	p < 0,150
R4	p < 0,150
R5	p < 0,150
R6	p < 0,150
Mann-Whitney	
0: $\eta_{(CCMR1)} = \eta_{(CCM R2)}$	p = 0,806
0: $\eta_{(CCMR1)} = \eta_{(CCM R3)}$	p = 0,056
0: $\eta_{(CCMR1)} = \eta_{(CCM R4)}$	p = 0,769
0: $\eta_{(CCMR1)} = \eta_{(CCM R5)}$	p = 0,241
0: $\eta_{(CCMR1)} = \eta_{(CCM R6)}$	p = 0,372
0: $\eta_{(CCMR2)} = \eta_{(CCM R3)}$	p = 0,602
0: $\eta_{(CCMR2)} = \eta_{(CCM R4)}$	p = 0,468
0: $\eta_{(CCMR2)} = \eta_{(CCM R5)}$	p = 0,156
0: $\eta_{(CCMR2)} = \eta_{(CCM R6)}$	p = 0,994
0: $\eta_{(CCMR3)} = \eta_{(CCM R4)}$	p = 0,093
0: $\eta_{(CCMR3)} = \eta_{(CCM R5)}$	p = 0,002
0: $\eta_{(CCMR3)} = \eta_{(CCM R6)}$	p = 0,232
0: $\eta_{(CCMR4)} = \eta_{(CCM R5)}$	p = 0,666
0: $\eta_{(CCMR4)} = \eta_{(CCM R6)}$	p = 0,435
0: $\eta_{(CCMR5)} = \eta_{(CCM R6)}$	p = 0,493

Tabela 30 - Potencial anódico fase 1

Potencial anódico	
Kolmogorov-Smirnov	
R1	p < 0,150
R2	p < 0,150
R3	p < 0,150
R4	p < 0,150
R5	p < 0,150
R6	p < 0,150
Mann-Whitney	
0: $\eta_{(CCMR1)} = \eta_{(CCM R2)}$	p < 0,001
0: $\eta_{(CCMR1)} = \eta_{(CCM R3)}$	p < 0,001

0: $\eta_{(CCMR1)} = \eta_{(CCM R4)}$	$p = 0,001$
0: $\eta_{(CCMR1)} = \eta_{(CCM R5)}$	$p = 0,187$
0: $\eta_{(CCMR1)} = \eta_{(CCM R6)}$	$p = 0,002$
0: $\eta_{(CCMR2)} = \eta_{(CCM R3)}$	$p = 0,693$
0: $\eta_{(CCMR2)} = \eta_{(CCM R4)}$	$p < 0,001$
0: $\eta_{(CCMR2)} = \eta_{(CCM R5)}$	$p < 0,001$
0: $\eta_{(CCMR2)} = \eta_{(CCM R6)}$	$p = 0,171$
0: $\eta_{(CCMR3)} = \eta_{(CCM R4)}$	$p < 0,001$
0: $\eta_{(CCMR3)} = \eta_{(CCM R5)}$	$p = 0,034$
0: $\eta_{(CCMR3)} = \eta_{(CCM R6)}$	$p < 0,001$
0: $\eta_{(CCMR4)} = \eta_{(CCM R5)}$	$p = 0,081$
0: $\eta_{(CCMR4)} = \eta_{(CCM R6)}$	$p = 0,023$
0: $\eta_{(CCMR5)} = \eta_{(CCM R6)}$	$p < 0,001$

Tabela 31 – Eficiência Coulombiana – Fase 1

Eficiência coulombiana – Fase 1	
Shapiro wilk	
R1	$p > 0,150$
R2	$p > 0,150$
R3	$p > 0,150$
R4	$p > 0,150$
R5	$p > 0,150$
R6	$p > 0,150$
ANOVA	
$p < 0,001$	
Tukey	
0: $\eta_{(CCMR1)} = \eta_{(CCM R2)}$	$p = 0,086$
0: $\eta_{(CCMR1)} = \eta_{(CCM R3)}$	$p = 0,992$
0: $\eta_{(CCMR1)} = \eta_{(CCM R4)}$	$p = 0,006$
0: $\eta_{(CCMR1)} = \eta_{(CCM R5)}$	$p = 0,158$
0: $\eta_{(CCMR1)} = \eta_{(CCM R6)}$	$p < 0,001$
0: $\eta_{(CCMR2)} = \eta_{(CCM R3)}$	$p = 0,088$
0: $\eta_{(CCMR2)} = \eta_{(CCM R4)}$	$p = 1,00$
0: $\eta_{(CCMR2)} = \eta_{(CCM R5)}$	$p = 0,608$
0: $\eta_{(CCMR2)} = \eta_{(CCM R6)}$	$p = 0,997$
0: $\eta_{(CCMR3)} = \eta_{(CCM R4)}$	$p = 0,011$
0: $\eta_{(CCMR3)} = \eta_{(CCM R5)}$	$p = 0,175$
0: $\eta_{(CCMR3)} = \eta_{(CCM R6)}$	$p = 0,003$
0: $\eta_{(CCMR4)} = \eta_{(CCM R5)}$	$p = 0,248$
0: $\eta_{(CCMR4)} = \eta_{(CCM R6)}$	$p = 0,989$
0: $\eta_{(CCMR5)} = \eta_{(CCM R6)}$	$p = 0,254$
FASE 2	
Mann-Whitney	

H0: $\eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - T2)}$	p = 0,072
H0: $\eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - TR)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - T)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - CT)}$	p = 0,002
H0: $\eta_{(CCM - CT)} = \eta_{(CCM - T)}$	p = 0,008
H0: $\eta_{(CCM - TR)} = \eta_{(CCM - MR)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(CCM - TR)} = \eta_{(CCM - T2)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(CCM - CT)} = \eta_{(RCCM - T2)}$	p = 0,008
FASE 3	
H0: $\eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - T2)}$	p = 0,030
H0: $\eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - TR)}$	p = 0,005
H0: $\eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - CT)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(CCM - CT)} = \eta_{(CCM - T2)}$	p = 0,008
H0: $\eta_{(CCM - TR)} = \eta_{(CCM - MR)}$	p = 0,006
H0: $\eta_{(CCM - TR)} = \eta_{(CCM - T2)}$	p = 0,362

Tabela 32 – Concentração DQO (g/L) Fase 1 -3

Concentração DQO (g/L)	
FASE 1 - FASE 2	
Mann-Whitney	
H0: $\eta_{(R1 FASE1)} = \eta_{(CCM - M FASE 2)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(R2 FASE1)} = \eta_{(CCM - CM FASE 2)}$	p = 0,008
H0: $\eta_{(R3 FASE1)} = \eta_{(CCM - MR FASE 2)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(R4 FASE1)} = \eta_{(CCM - CT FASE 2)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(R5 FASE1)} = \eta_{(CCM - T FASE 2)}$	p = 0,006
H0: $\eta_{(R6 FASE1)} = \eta_{(CCM - TR FASE 2)}$	p = 0,04
Mann-Whitney	
FASE 2 - FASE 3	
H0: $\eta_{(CCM - M FASE2)} = \eta_{(CCM - M FASE 3)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(CCM - CM FASE2)} = \eta_{(CCM - T2 FASE 3)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(CCM - MR FASE2)} = \eta_{(CCM - MR FASE 3)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(CCM - CT FASE2)} = \eta_{(CCM - CT FASE 3)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(CCM - TR FASE2)} = \eta_{(CCM - TR FASE 3)}$	p < 0,001

Tabela 33 – Tensão – ânodo: fase 1 – fase 2 e fase 3

Potencial anódico	
FASE 1 - FASE 2	
Mann-Whitney	
H0: $\eta_{(R1 FASE1)} = \eta_{(CCM - M FASE 2)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(R2 FASE1)} = \eta_{(CCM - CM FASE 2)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(R3 FASE1)} = \eta_{(CCM - MR FASE 2)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(R4 FASE1)} = \eta_{(CCM - CT FASE 2)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(R5 FASE1)} = \eta_{(CCM - T FASE 2)}$	p < 0,001
H0: $\eta_{(R6 FASE1)} = \eta_{(CCM - TR FASE 2)}$	p < 0,001
Mann-Whitney	

FASE 2 - FASE 3	
H0: $\eta_{(CCM - M \text{ FASE } 2)} = \eta_{(CCM - M \text{ FASE } 3)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - CM \text{ FASE } 2)} = \eta_{(CCM - CM \text{ FASE } 3)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - MR \text{ FASE } 2)} = \eta_{(CCM - MR \text{ FASE } 3)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - CT \text{ FASE } 2)} = \eta_{(CCM - CT \text{ FASE } 3)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - TR \text{ FASE } 2)} = \eta_{(CCM - TR \text{ FASE } 2)}$	$p < 0,001$
FASE 2	
Mann-Whitney	
H0: $\eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - T2)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - TR)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - T)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - CT)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - CT)} = \eta_{(CCM - T)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - TR)} = \eta_{(CCM - MR)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - TR)} = \eta_{(CCM - T2)}$	$p = 0,055$
H0: $\eta_{(CCM - CT)} = \eta_{(R \text{ CCM} - T2)}$	$p < 0,001$
FASE 3	
Mann-Whitney	
H0: $\eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - TR)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - CT)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - CT)} = \eta_{(CCM - T2)}$	$p = 0,503$
H0: $\eta_{(CCM - TR)} = \eta_{(CCM - MR)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - TR)} = \eta_{(CCM - T2)}$	$p = 0,75$

Tabela 34 – Corrente - fase 1, fase 2 e fase 3

Corrente	
FASE 1 - FASE 2	
Mann-Whitney	
H0: $\eta_{(R1 \text{ FASE } 1)} = \eta_{(CCM - M \text{ FASE } 2)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(R2 \text{ FASE } 1)} = \eta_{(CCM - CM \text{ FASE } 2)}$	$p = 0,233$
H0: $\eta_{(R3 \text{ FASE } 1)} = \eta_{(CCM - TR \text{ FASE } 2)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(R4 \text{ FASE } 1)} = \eta_{(CCM - CT \text{ FASE } 2)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(R5 \text{ FASE } 1)} = \eta_{(CCM - T \text{ FASE } 2)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(R6 \text{ FASE } 1)} = \eta_{(CCM - TR \text{ FASE } 2)}$	$p < 0,001$
Mann-Whitney	
FASE 2 - FASE 3	
H0: $\eta_{(CCM - M \text{ FASE } 2)} = \eta_{(CCM - M \text{ FASE } 3)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - CM \text{ FASE } 2)} = \eta_{(CCM - T2 \text{ FASE } 3)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - MR \text{ FASE } 2)} = \eta_{(CCM - MR \text{ FASE } 3)}$	$p = 0,039$
H0: $\eta_{(CCM - CT \text{ FASE } 2)} = \eta_{(CCM - CT \text{ FASE } 3)}$	$p < 0,001$
H0: $\eta_{(CCM - TR \text{ FASE } 2)} = \eta_{(CCM - TR \text{ FASE } 3)}$	$p = 0,167$
Mann-Whitney	

$H_0: \eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - T2)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - TR)}$	$p = 0,52$
$H_0: \eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - T)}$	$p = 0,292$
$H_0: \eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - CT)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(CCM - CT)} = \eta_{(CCM - T)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(CCM - TR)} = \eta_{(CCM - MR)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(CCM - TR)} = \eta_{(CCM - T2)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(CCM - CT)} = \eta_{(R CCM - T2)}$	$p < 0,001$

Tabela 35 – Eficiência coulombiana fase 1, fase 2 e fase 3

Eficiência coulombiana	
FASE 1 - FASE 2	
Mann-Whitney	
$H_0: \eta_{(R1 FASE1)} = \eta_{(CCM - M FASE 2)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(R2 FASE1)} = \eta_{(CCM - CM FASE 2)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(R3 FASE1)} = \eta_{(CCM - TR FASE 2)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(R4 FASE1)} = \eta_{(CCM - CT FASE 2)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(R5 FASE1)} = \eta_{(CCM - T FASE 2)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(R6 FASE1)} = \eta_{(CCM - TR FASE 2)}$	$p < 0,001$
Mann-Whitney	
FASE 2 - FASE 3	
$H_0: \eta_{(CCM - M FASE2)} = \eta_{(CCM - M FASE 3)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(CCM - CM FASE2)} = \eta_{(CCM - T2 FASE 3)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(CCM - MR FASE2)} = \eta_{(CCM - MR FASE 3)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(CCM - CT FASE2)} = \eta_{(CCM - CT FASE 3)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(CCM - TR FASE2)} = \eta_{(CCM - TR FASE 3)}$	$p < 0,001$
Mann-Whitney	
$H_0: \eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - T2)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - TR)}$	$p = 0,875$
$H_0: \eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - T)}$	$p = 0,292$
$H_0: \eta_{(CCM - M)} = \eta_{(CCM - CT)}$	$p < 0,001$
$H_0: \eta_{(CCM - CT)} = \eta_{(CCM - T)}$	$p < 0,001$