

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SÃO
PAULO
CAMPUS AVARÉ
CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA DE BIODISSISTEMAS**

MARCOS VILAS BOAS FILHO

**DESEMPENHO BIOELETROQUÍMICO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES E
MUSGOS *SPHAGNUM* EM BIOÂNODOS DE BIOCÉLULAS COMBUSTÍVEIS
MICROBIANAS PARA GERAÇÃO DE ENERGIA LIMPA**

**AVARÉ
2023**

MARCOS VILAS BOAS FILHO

**DESEMPENHO BIOELETROQUÍMICO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES E
MUSGOS *SPHAGNUM* EM BIOÂNODOS DE BIOCÉLULAS COMBUSTÍVEIS
MICROBIANAS PARA GERAÇÃO DE ENERGIA LIMPA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Biosistemas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo - *Campus Avaré*, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biosistemas.

Orientador: Dr. Gustavo Pio Marchesi Krall Ciniciato.

AVARÉ
2023

Catálogo na fonte
Instituto Federal de São Paulo – Campus Avaré

Filho, Marcos Vilas Boas

Desempenho Bioeletroquímico de Microrganismos Eficientes e Musgos *Sphagnum* em Bioânodos de Biocélulas Combustíveis Microbianas para Geração de Energia Limpa/ Marcos Vilas Boas Filho – Avaré, 2023.

82 p.

Orientador: Dr. Gustavo Pio Marchesi Krall Ciniciato

Trabalho de conclusão de curso (Graduação – Engenharia de Biosistemas) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo – Campus Avaré, Avaré, 2023.

1. Biocélula Combustível Microbiana 2. Microrganismos eficientes. 3. *Sphagnum*. 4. Eletrólito. I. Ciniciato, Gustavo Pio Marchesi Krall. II Título

FORMULÁRIO N.º 20/2023 - CCA-AVR/DAE-AVR/DRG/AVR/IFSP

FOLHA DE APROVAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

IDENTIFICAÇÃO DO ALUNO

Nome: Marcos Vilas Boas

Título: DESEMPENHO BIOELETROQUÍMICO DE MICRORGANISMOS EFICIENTES E MUSGOS *SPHAGNUM* EM BIOÂNODOS DE BIOCÉLULAS COMBUSTÍVEIS MICROBIANAS PARA GERAÇÃO DE ENERGIA LIMPA

Curso: Bacharelado em Engenharia de Biosistemas

BANCA EXAMINADORA

Nome: Gustavo Pio Marchesi Krall Ciniciato

Instituição/Departamento: IFSP/Avaré

Nota: 9,82 **Julgamento:** (x) Aprovado () Reprovado

Assinatura: [assinado eletronicamente]

Nome: Daniele Souza de Carvalho

Instituição/Departamento: IFSP/Avaré

Nota: 9,40 **Julgamento:** (x) Aprovado () Reprovado

Assinatura: [assinado eletronicamente]

Nome: Luciano Delmondes de Alencar

Instituição/Departamento: IFSP/Avaré

Nota: 10,00 **Julgamento:** (x) Aprovado () Reprovado

Assinatura: [assinado eletronicamente]

RESULTADO FINAL

Como parte das exigências para conclusão do Curso de Engenharia de Biosistemas, o candidato(a)/aluno(a), em sessão pública, foi considerado **Aprovado** pela Comissão Examinadora, com média final **9,74**.

Avaré, 06 de novembro de 2023.

Documento assinado eletronicamente por:

- **Gustavo Pio Marchesi Krall Ciniciato**, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 07/11/2023 08:36:01.
- **Daniele Souza de Carvalho**, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 07/11/2023 08:50:52.
- **Luciano Delmondes de Alencar**, TECNICO EM AGROPECUARIA, em 27/11/2023 09:03:44.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 07/11/2023. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifsp.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 643856

Código de Autenticação: 2a8d1c51f7



FORMULÁRIO N.º 20/2023 - CCA-AVR/DAE-AVR/DRG/AVR/IFSP

ia IFSP, 2ª via do(a) Aluno(a), 3ª via do(a) Co-orientador(a)
ras”

“Este documento não contém

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus familiares pelo amparo e incentivo ao meu amor pela ciência.

Agradeço ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo pela estrutura e bolsas de pesquisa fornecidas pelo Programa Institucional de Bolsas de iniciação Científica e Tecnológica (PIBIFSP), 2022 e 2023-AVR.

Agradeço aos meus amigos de faculdade e de república pela paciência e ouvidoria, visto que foi de vital importância durante todo o meu percurso acadêmico.

Agradeço aos amigos que residem em Ribeirão Preto, dos quais faltei na maioria dos aniversários, mesmo que ainda os guarde no fundo de meu coração.

Agradeço ao meu orientador Gustavo Ciniciato por toda a paciência, amparo e a me instigar ante ao desconhecido, tornando-me cada dia mais capaz e mostrando-me a competência e autonomia que me trouxeram até este momento.

Agradeço à Profa. Dra. Marcela Pavan Bagagli, por seus conselhos e auxílios prestados a mim no que permeia a parcela microbiológica de minha pesquisa.

Agradeço à minha mãe pela educação, carinho, amor e respeito que me deu, também por todo seu empenho e ajuda.

Do not go gentle into that good night,
Old age should burn and rave at close of day;
Rage, rage against the dying of the light.

(DYLAN THOMAS, 1952, p. 16)

RESUMO

Grande parte das fontes de energia convencionais se utilizam de combustíveis fósseis e de origem não renovável. Como alternativa economicamente viável e de energia limpa, o presente trabalho teve como objetivo a construção de dois tipos de biocélulas combustível (BC), em que o primeiro contou com a utilização de microrganismos eficientes (EM's) que fazem parte dos microrganismos de solo, em primeiro momento utilizados para formação de biofilme no ânodo com a adição de meios de cultura YM (*Yeast Malt Agar*) e PDA (*Potato Dextrose Agar*), comparados a aplicação direta dos EM's no eletrodo e sua não utilização em tecido de carbono sem qualquer tratamento. Denominado o meio de cultura que mais favoreceu o crescimento de biofilme, as BC foram adicionadas de soluções com fonte de carbono providas de amido, acetato e glicose, todas a 100 mili molar (mM), para auxílio do metabolismo microbiano. Definida a melhor fonte de carbono, novas biocélulas foram adicionadas de eletrólito tamponado fosfato 100 mM, com o intuito de auxiliar o transporte de cargas pelo construtivo. O segundo construtivo fez uso de copos cerâmicos, com adição de solo de composição predominantemente argilosa adicionada de seus microrganismos *in natura* em mutualismo com musgos *Sphagnum* colocados na superfície do solo, que por sua vez foi colocado no interior dos copos, estabelecendo contato com bioânodo e cátodo estabelecido na parcela externa do copo. Dentro dos principais resultados obtidos, observou-se que apesar da adição dos musgos *Sphagnum* associados aos microrganismos de solo, estes não foram suficientemente capazes de produzir mais energia em formas de potencial (mV), corrente (μA) ou potência (μW) quando comparadas às BC adicionadas de fontes de carbono, sobretudo na forma de amido, sendo este, o mais bioeletroquimicamente ativo. As BC cerâmicas ainda assim foram capazes de produzir mais energia que as BC com EM's purificados adicionados de eletrólito tamponado fosfato e daquelas com adição unicamente de meios de cultura (YM e PDA), das que foram adicionadas de EM's sem meio de cultura e daquelas com bioânodo sem adição de meio de cultura ou EM's em seu eletrodo. Desta forma, afirma-se que a adição de eletrólito pode ter causado impacto negativo nas BC com EM's, fornecendo condições propícias para o aumento desordenado de matéria orgânica no meio, causando morte de grande parcela microbiana, dificultando a geração de energia. A adição controlada de fontes de amido a 100 mM, combinado

ao meio de cultura YM forneceu o construtivo ótimo para constituir biocélula com EM's purificados. Das BC cerâmicas, a adição de eletrólito KCl 100 mM auxiliou na geração de energia neste construtivo, resultados em valores consideravelmente elevados dentro desta análise, embora ainda inferiores às com EM's purificados adicionados no meio YM.

Palavras-chave: Biocélula Combustível Microbiana; Microrganismos Eficientes; *Sphagnum*; Eletrólito.

ABSTRACT

A large part of conventional energy sources relies on non-renewable fossil fuels. As an economically viable and clean energy alternative, this study aimed to construct two types of microbial fuel cells (MFCs). The first type utilized efficient microorganisms (EMs) from soil microbiota, initially used for biofilm formation on the anode with the addition of yeast malt agar (YM) and potato dextrose agar (PDA) culture media, compared to the direct application of EMs on the electrode without carbon cloth treatment. The culture medium that favored biofilm growth the most was selected, and the MFCs were supplemented with carbon source solutions containing starch, acetate, and glucose (100 mM) to support microbial metabolism. After determining the best carbon source, the MFCs were supplied with 100 mM phosphate-buffered electrolyte to facilitate charge transport within the cell structure. The second type of construction involved ceramic cups filled with predominantly clayey soil enriched with indigenous microorganisms and *Sphagnum* moss placed on the soil surface. The cups were then equipped with a bioanode and a cathode on the outer part. Despite the addition of *Sphagnum* moss and soil microorganisms, the MFCs did not produce as much energy in terms of potential (mV), current (μA), or power (μW) compared to the MFCs supplemented with carbon sources, especially starch, which exhibited the highest bioelectrochemical activity. However, the ceramic MFCs still generated more energy than those with purified EMs supplemented with phosphate-buffered electrolyte and those with solely culture media (YM and PDA). Additionally, they outperformed the MFCs with EMs without culture media or carbon cloth treatment. Thus, the addition of electrolyte might have had a negative impact on the EM-based MFCs by creating conditions conducive to uncontrolled organic matter accumulation, leading to the death of a significant portion of the microbial community and hindering energy generation. The controlled addition of 100 mM starch, combined with YM culture medium, provided the optimal construction for MFCs with purified EMs. For the ceramic MFCs, the addition of 100 mM KCl electrolyte aided energy generation, resulting in significantly higher values within this analysis, albeit still lower than the MFCs with purified EMs supplemented with YM medium.

Key-words: Microbial Fuel Cell; Efficient Microorganisms; *Sphagnum*; Electrolyte.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquemático da interação química biocélula-planta.

Figura 2 – Formas de transferência eletrônica por microrganismos exoeletrogênicos.

Figura 3 – Esquema ilustrativo do teste da gota.

Figura 4 – Teste da gota de forma prática aplicado sobre tecido de carbono tratado com camada difusora de gases.

Figura 5 – Fluxograma de execução das atividades para construção das BC plásticas, usando a solução contendo EM's.

Figura 6 – Fluxograma de execução das atividades para construção das BC em cerâmica.

Figura 7 – Cátodos utilizados para BC usando a solução contendo EM's (7 A) e BC cerâmicas (7 B).

Figura 8 – Vistas superior e (8 A) e frontal (8 B) das biocélulas montadas em recipiente plástico e ligadas individualmente a resistores de 100Ω.

Figura 9 – Microrganismos eficientes capturados em armadilha utilizando-se de colmo de bambu.

Figura 10 – Bioânodo com presença de biofilme em sua superfície em (10 A) e lâmina a fresco com aumento de 100x obtida de placa de meio YM com microrganismos eficientes inoculados (10 B).

Figura 11 – Forma tridimensional não colocada no copo cerâmico 11 A) e adicionada ao mesmo 11 B).

Figura 12 – Vistas frontal 1 A) e superior 1 B) de modelo tridimensional de biocélula a combustível microbiana em cerâmica usando software *Tinkercad*, comparado à biocélula cerâmicas construídas representadas com vistas frontal 2 A) e superior 2 B). Os pontos indicados pelos números de 1 a 6 mostram os elementos do construtivo. 1) cátodo, 2) cerâmica do tipo copo, 3) Interconectores de cátodo e ânodo, 4) musgos *Sphagnum*, 5) ânodo e 6) amostra de solo abaixo dos musgos.

Figura 13 – Ânodo elaborado para ser adicionado no interior da biocélula combustível em cerâmica.

Figura 14 – Comprimento preferencial dos musgos utilizados nas biocélulas em cerâmicas.

Figura 15 – Curvas de polarização analisando meios de cultura. T-0 (BC sem tratamento no bioânodo) A), T-1 (BC com adição de solução contendo EM's) B), T-2 (BC com adição de solução contendo meio de cultura PDA e solução contendo EM's) C) e T-3 (BC com adição de solução contendo meio de cultura YM e solução contendo EM's) D).

Figura 16 – Curvas de polarização analisando fontes de carbono. T-3.1 (BC com meio de cultura YM e amido a 100 mM) A), T-3.2 (BC com meio de cultura YM e acetato a 100 mM) B) e T-3.3 (BC com meio de cultura YM e glicose a 100 mM) C).

Figura 17 – Curvas de polarização analisando as triplicatas das BC com eletrólito tamponado de fosfato para TA-3.1 A), TB-3.1 B) e TC-3.1 C).

Figura 18 – Musgos *Sphagnum* no dia 0 (18 A) e no dia 47 (18 B) de reidratação e desenvolvimento.

Figura 19 – Biocélulas antes 15 A) e depois 15 B) da reidratação diária.

Figura 20 – Curvas de polarização analisando a aplicação de KCl enquanto eletrólito em diferentes concentrações, onde pode-se ver BCA (BC em cerâmica adicionada

de água destilada A), BCKCl1(BC em cerâmica adicionada de eletrólito KCl a 1 mM) B), BCKCl10(BC em cerâmica adicionada de eletrólito KCl a 10 mM) C) e BCKCl100 (BC em cerâmica adicionada de eletrólito KCl a 100 mM) D).

Figura 21 – Zonas de perda por ativação e transporte de massa das BC em cerâmica adicionadas de água destilada.

Figura 22 – Distinção da zona de perda por transporte de massa no dia 7 das BC em cerâmica adicionada de eletrólito KCl a 1 mM.

Figura 23 – Gráficos de corrente máxima para as BC utilizando meios de cultura A), utilizando fontes de carbono B), com a adição de eletrólito C) e cerâmicas com musgos *Sphagnum* D).

Figura 24 – Gráficos de Eocp para as BC utilizando meios de cultura A), utilizando fontes de carbono B), com a adição de eletrólito C) e cerâmicas com musgos *Sphagnum* D).

Figura 25 – Curvas de potência analisando os meios de cultura para T-0 (BC sem tratamento no bioânodo) A), T-1 (BC com adição de solução contendo EM's) B), T-2 (BC com adição de solução contendo meio de cultura PDA e solução contendo EM's) C) E T-3 (BC com adição de solução contendo meio de cultura YM e solução contendo EM's) D).

Figura 26 – Curvas de potência analisando diferentes fontes de carbono para T-3.1 (BC com meio de cultura YM e amido a 100 mM) A), T-3.2 (BC com meio de cultura YM e acetato a 100 mM) B) e T-3.3 (BC com meio de cultura YM e glicose a 100 mM) C).

Figura 27 – Curvas de potência analisando as triplicatas das BC com eletrólito tamponado de fosfato para TA-3.1 A), TB-3.1 B) e TC-3.1 C).

Figura 28 - Curvas de potência analisando a aplicação de KCl enquanto eletrólito em diferentes concentrações, onde pode-se ver BCA (BC em cerâmica adicionada de água destilada A), BCKCl1 (BC em cerâmica adicionada de eletrólito KCl a 1 mM) B), BCKCl10 (BC em cerâmica adicionada de eletrólito KCl a 10 mM) C) e BCKCl100 (BC em cerâmica adicionada de eletrólito KCl a 100 mM) D).

Figura 29 – Resultados colorimétricos acerca do teor de nitrato 29-1) e amônia 29-2) nas biocélulas 10-1 A) e 100-2 B).

Figura 30 – Diferentes culturas desenvolvidas ao redor do construtivo das biocélulas cerâmicas, onde A) apresenta cultura branca e cristalina na parte externa das biocélulas, marcadas pelo círculo vermelho, B) mostra cultura verde escura e C) com esporos brancos na parte interna das biocélulas.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – pH e condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) das BC utilizando solução contendo EM's.

Tabela 2 – pH e condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) das BC em cerâmica.

Tabela 3 – Composição química do solo das BC em cerâmicas após a finalização do experimento.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BC	Biocélulas Combustível
BCA	Biocélula combustível cerâmica adicionada de água destilada
BCKCl1	Biocélula combustível cerâmica adicionada de eletrólito KCl 1 mM
BCKCl10	Biocélula combustível cerâmica adicionada de eletrólito KCl 10 mM
BCKCl100	Biocélula combustível cerâmica adicionada de eletrólito KCl 100 mM
BOD	Incubadora BOD
EM's	Microrganismos Eficientes
Eocp	Potencial de circuito aberto
EPE	Empresa de Pesquisa Energética
Imáx	Corrente máxima
PDA	<i>Potato Dextrose Agar</i>
T-0	Biocélula combustível com bioânodo sem tratamento
T-1	Biocélula combustível com adição de microrganismos eficientes (EM's)
T-2	Biocélula combustível com adição de meio de cultura Potato Dextrose Agar (PDA), posteriormente adicionado de EM's
T-3	Biocélula combustível com adição de meio de cultura Yeast Malt Agar (YM), posteriormente adicionado de EM's
YM	<i>Yeast Malt Agar</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1.1 Problematização	25
1.2 Objetivos	26
1.2.1 Objetivo Geral	26
1.2.2 Objetivos Específicos	26
2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	27
2.1 Construção dos cátodos	31
2.2 Montagem das BC com Solução Contendo Microrganismos Eficientes	32
2.3 Crescimento do Biofilme Constituído de Microrganismos Eficientes em Bioânodo	34
2.4 Montagem das BC em Cerâmica	37
2.5 Hidratação dos Musgos Sphagnum	41
3 ANÁLISE DOS RESULTADOS	41
3.1 Curvas de polarização	41
3.2 Avaliação do eletrólito nas BC em recipiente plástico	42
3.3 Efeito da fonte de carbono nas respostas eletroquímicas da BC recipiente em plástico	43
3.4 Influência do tampão como eletrólito nas BC em plástico	46
3.5 Preparação dos musgos Sphagnum para utilização em BC em cerâmica	47
3.6 Avaliação da concentração do eletrólito nas BC em cerâmica	49
3.7 Correntes máximas	54
3.8 Potenciais de Circuito Aberto (Eocp)	57
3.9 Curvas de Potência	60
3.10 medidas de pH e Condutividade	65
3.11 Composição química do solo das BC em cerâmica	70

4 CONCLUSÃO

73

REFERÊNCIAS

75

1 INTRODUÇÃO

Energia limpa é aquela atrelada ao conceito de energia renovável, seu fornecimento pode vir de fontes não fósseis, como por exemplo a utilização direta da luz solar, através de painéis fotovoltaicos, eólica, utilizando pás que geram energia através da energia cinética dos ventos, geotérmica, gerada pelo vapor ou água subterrâneos, em que estes se encontram acima de 100° C e biomassa, baseada na queima de bagaço de cana-de-açúcar (Borba e Gaspar, 2010).

No Brasil, de acordo com a Empresa de Pesquisa Energética – EPE (2022), atualmente 46% da energia gerada no país provém de fontes renováveis, comparada a 14% deste tipo de energia sendo gerada pelo mundo todo, o que demonstra que apesar de existir constante expansão desta aplicação, ainda existe capacidade de melhorias.

Biocélulas combustíveis (BC) são dispositivos bioeletroquímicos que são derivadas das células combustíveis, que são sistemas eletroquímicos que vêm com o intuito de produzir energia de forma limpa, sustentável e eficiente e vêm ganhando espaço dentro do mercado energético (Cruz *et al.*, 2021). No entanto precisam de materiais caros para serem produzidas. As BC, surgem como uma alternativa mais economicamente viável, uma vez que dispensa altas temperaturas, além de não fazerem uso de eletrodos de platina ou outros metais nobres (Tsuchiya e Kobayashi, 2004) e podem ser usadas como tecnologia *off-grid*, onde funcionam como uma fonte alternativa de energia integrada em sistemas híbridos, com baterias que possam ser transportáveis, entre outras aplicações (Goor *et al.*, 2019).

Como tecnologia *off-grid*, suas aplicações são diversas, como implementando sistemas tecnológicos e sendo capazes de energizar um aparelho telefone básico e nos últimos anos, um smartphone (Santoro *et al.*, 2017), além de dispensar a utilização de hidrogênio puro (Baschuk e Li, 2001) e metais nobres como constituintes de seus eletrodos.

Sua constituição se fundamenta nos seguintes componentes principais: o cátodo, o ânodo, materiais de interconexão, isolantes e membrana trocadora de prótons (Tawalbeh *et al.*, 2022), o eletrólito, que, de acordo com Wendt *et al.*, (2000)

pode ser sólido, líquido ou um polímero condutor de cátions, nesse caso sendo inserido com solução aquosa (Tavares, 2019).

Sendo conhecido como o eletrodo negativo, o ânodo possui a função de oxidar o combustível na biocélula, onde neste caso, o combustível é a matéria orgânica. Para evidenciar a reação química que ocorre neste eletrodo para as primeiras biocélulas construídas neste projeto, em que não se adicionou qualquer forma de carbono, observa-se a reação (I), em que é colocado como reagente, uma forma genérica de carboidrato, material que compõe a matéria orgânica oxidada pela microbiota do solo.



É possível observar que a reação de completa oxidação da matéria orgânica libera metano, o que também aponta a presença de microrganismos metanogênicos dentro da biocélula, ou seja, aqueles capazes de produzir metano, além do dióxido de carbono.

A formação do bioânodo se dá com a aplicação de um biofilme no mesmo, podendo este ser incentivado ou não com a utilização de meios de cultura que favoreçam o crescimento do organismo nele introduzido, sejam eles fungos (Suzuki, 2009) ou bactérias (Chagas, 2015). A utilização do ânodo com crescimento de biofilme possui o intuito de catalisar a energia produzida neste eletrodo através de suas vias metabólicas, resultando na bioeletrooxidação de algum combustível que seja fonte de carbono, onde neste caso, foram utilizados pelos microrganismos eficientes (EM's), sendo estes, microrganismos de solo, com a proposta de serem exoeletrogênicos e cujo metabolismo contribui para o crescimento de plantas, produzindo hormônios e vitaminas (Avila *et al.*, 2021).

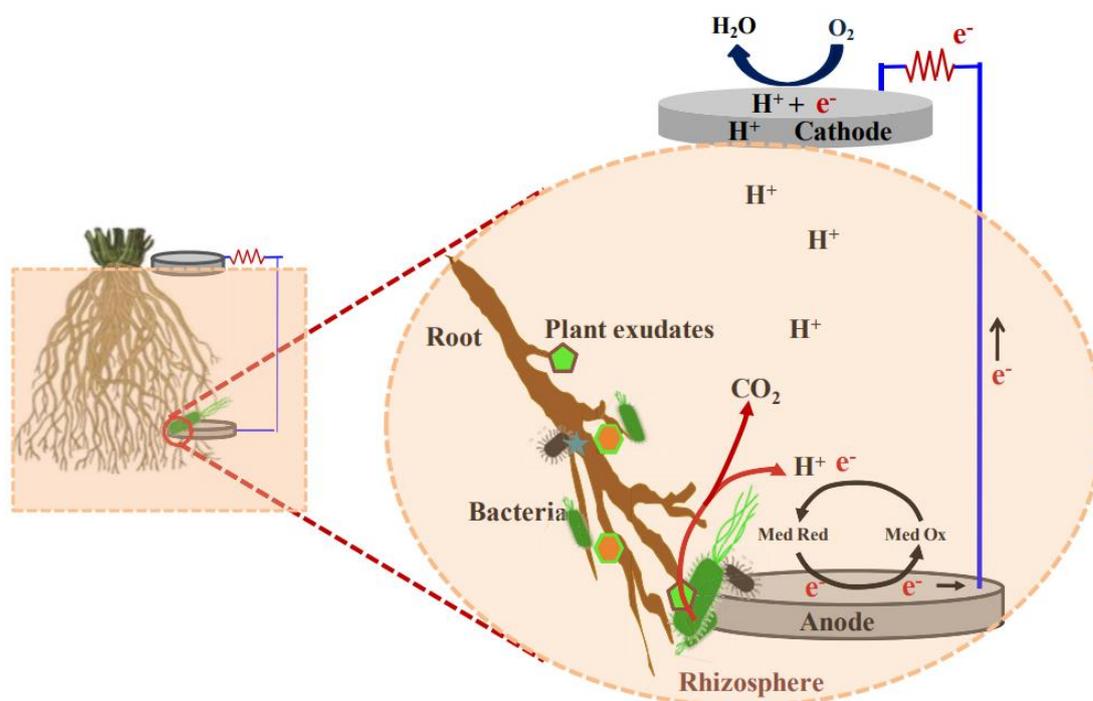
Organismos exoeletrogênicos são microrganismos que geram energia elétrica oxidando formas orgânicas de carbono como carboidratos e glicose e realizando a transferência de elétrons para um aceptor externo às suas células (Guang, 2020). Eles são caracterizados como anaeróbios, ou seja, que não se utilizam de oxigênio em sua rota metabólica.

Tais microrganismos foram postulados também como neutrófilos, sendo aqueles que sobrevivem em ambientes cujo pH é próximo da neutralidade, como mostrado por Madigan *et al.*, (2016, p. 166) (pH ótimo entre 5,5 e 7,9), fornecendo condições ótimas para seu crescimento e desenvolvimento.

A segunda etapa do presente trabalho consistiu em estudar musgos *Sphagnum* em interação com o bioânodo e os microrganismos de solo em seu comportamento bioeletrocatalítico utilizando-se de copos cerâmicos, em que solo de composição predominantemente argilosa foi adicionado em seu interior.

Em caso de utilização de musgos agindo sobre o bioânodo, espera-se a formação de biofilme no ânodo, o que contribui para o desempenho dos musgos na produção de energia, por meio da doação de dióxido de carbono para a rizosfera do mesmo, como mostra a Figura 1, a qual também demonstra as demais interações biocélula-planta.

Figura 1 – Esquemático da interação química biocélula-planta.



Fonte: Chiranjeevi *et al.*, 2019.

Vê-se que o ânodo oxida a matéria orgânica presente no meio, fornecendo íons H^+ e CO_2 para ele, em que o CO_2 é aproveitado pelas raízes da planta utilizada, que fornece seus exsudatos favorecendo o crescimento da microbiota, que por sua vez adere a superfície do ânodo, formando biofilme, auxiliando em sua performance. Tal associação mutualista produz mais íons H^+ que se encaminha ao cátodo pela membrana e e^- , que é transportado até este através de circuito externo, ligado a resistor, fechando a circuitaria.

É apontado por Florio *et al.*, (2004) que cerâmicas podem ser utilizadas como diversos componentes dentro de células combustíveis, aqui, ela agirá como membrana trocadora de prótons, uma vez que contém cátodo na parcela externa de seu construtivo e ânodo em seu interior.

Um estudo realizado por Bombelli *et al.*, (2016) revelou que musgos do tipo *Physcomitrella patens* foram capazes de se desenvolver em tecido do eletrodo, sendo capaz de gerar até 2.5 mW.m^{-2} o que é considerada alta potência gerada para uma biocélula combustível.

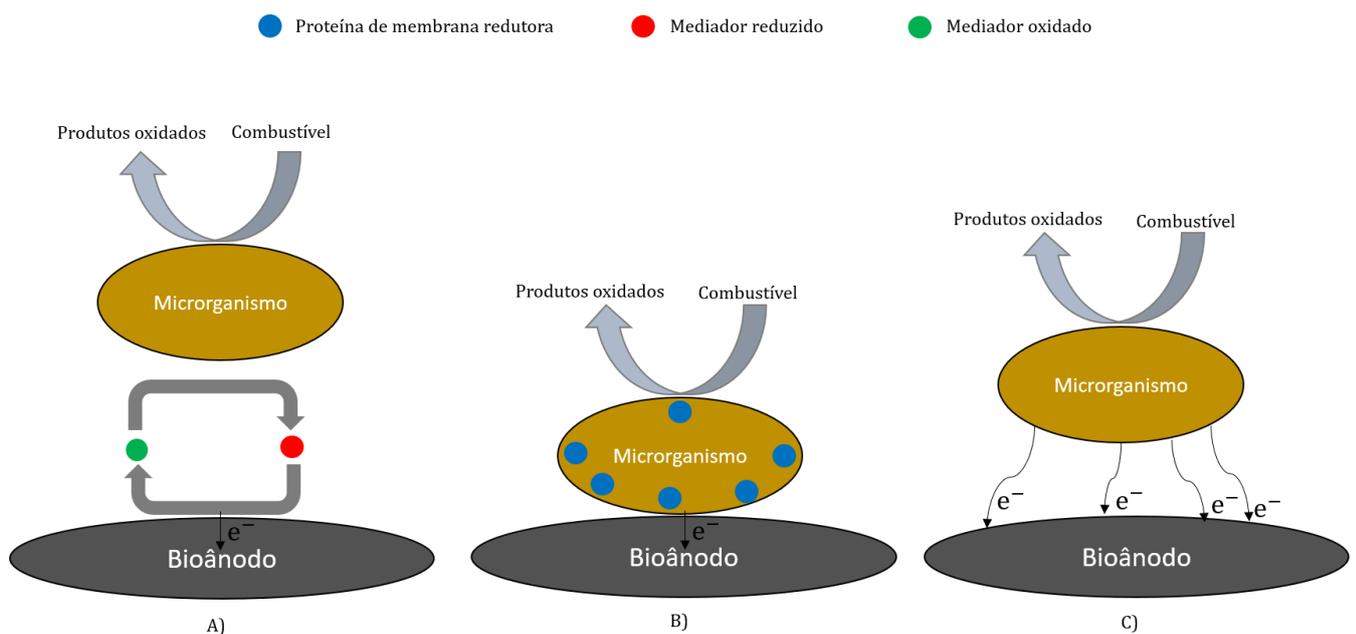
Para ambas as partes deste trabalho, o mecanismo de transferência eletrônica é essencial para compreender a interação planta-microrganismo-bioânodo, desta forma, considerando a literatura analisada, foram considerados os microrganismos de solo e EM's como contendo a presença de microrganismos exoeletrogênicos em sua população para realizar a transferência eletrônica dentro de uma biocélula combustível e possuem três diferentes formas de deslocar seus elétrons até o bioânodo: através de mediadores, por transferência direta ou com nanofios secretados pelo próprio microrganismo (Logan, 2007 p. 13-17).

Vale destacar que o processo de transferência eletrônica ocorre naturalmente nos microrganismos exoeletrogênicos durante seu processo de respiração anaeróbia. Uma vez que os microrganismos aeróbios não transferem elétrons para fora de sua membrana celular, sua utilização se torna inviável para o determinado tipo de construtivo, também levando-se em consideração que ficariam em um ambiente com baixa quantidade de oxigênio, o que não é favorável para seu crescimento e desenvolvimento.

A respeito do método de transferência por mediadores, é considerada a forma mais regular de transferência, uma vez que a membrana lipídica das células dificulta a transferência direta (Neto, 2012). Consiste na utilização de mediadores químicos endógenos ou exógenos, que são capazes de captar os elétrons do meio intracelular e levá-lo ao meio extracelular.

A transferência direta é feita quando os elétrons se deslocam pelas proteínas de membrana dos microrganismos para a superfície do bioânodo. Através de nanofios, os apêndices condutivos são produzidos pelo microrganismo, que se ligam ao acceptor de elétrons e os doam para este. Tais definições de transferência eletrônica podem ser observadas na Figura 2.

Figura 2 – Formas de transferência eletrônica por microrganismos exoeletrogênicos.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Sobre o eletrodo positivo, um dos principais componentes para a construção das biocélulas a combustível, o cátodo, também conhecido como eletrodo positivo, possui a função de reduzir o gás oxigênio molecular que vem da atmosfera. Ele reage com os íons H⁺ e os elétrons, sendo que este primeiro perpassa pelo eletrólito

da biocélula, enquanto os elétrons chegam ao cátodo por meio de um circuito elétrico externo, seguindo a reação (II).

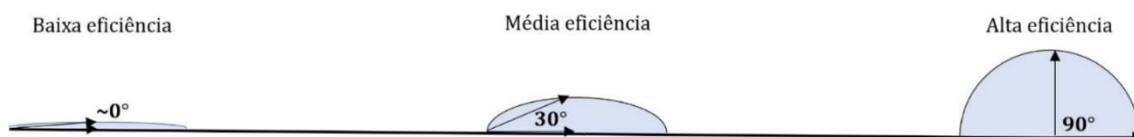


Para que seja possível obter resultados proveitosos com este, um estudo realizado por Santoro (2004) aponta que a presença de uma camada difusora de gases no eletrodo aumenta seu potencial produzido, além de distribuir os gases uniformemente pela superfície do eletrodo. É apontado por diversos autores que existe formação de água no cátodo, a título de exemplo Oliveira (2014), Almeida (2014) e Trindade (2015). No entanto, não se pode afirmar que em todos os casos um dispositivo com tão pouca energia elétrica gerada de forma unitária é capaz de ter água como seu produto através desta reação em questão.

A camada difusora de gases possui o papel de atribuir característica hidrofóbica ao cátodo. Essa característica é responsável por evitar que o cátodo fique úmido já que como observado na reação (II) o produto formado nesse eletrodo é água (Bonfin, 2018). Sendo assim, a camada difusora de gases é responsável por manter bem definidas as três fases do cátodo, sendo a camada sólida, o próprio eletrodo, a fase líquida, a água gerada por este dispositivo e a fase gasosa, o oxigênio atmosférico que deve ser reduzido no eletrodo. Caso o cátodo permanecesse com moléculas de água aderidas a sua superfície, isso ocasionaria a perda superfície de contato com o oxigênio atmosférico, o que limitaria seu potencial produzido.

É importante destacar que o número de elétrons pode variar de 1, 2 a 4, dependendo do catalisador ou pH do meio em que ocorre. Tanto para a primeira, quanto para a segunda etapa deste projeto, a construção do cátodo permaneceu a mesma, variando única e exclusivamente onde ele foi introduzido na biocélula. Para atestar que o cátodo construído seguindo a seguinte metodologia se apresenta apto para utilização, é feito o chamado “teste da gota”, em que uma gota d’água é colocada sobre a superfície do tecido de carbono tratado e a angulação desta é que define sua eficiência. As angulações podem ser vistas de forma teórica na Figura 3.

Figura 3 – Esquema ilustrativo do teste da gota.



Fonte: Autoria própria, 2023.

De forma prática, apresenta-se o teste da gota de forma prática na Figura 4.

Figura 4 – Teste da gota de forma prática aplicado sobre tecido de carbono tratado com camada difusora de gases.



Fonte: Autoria própria, 2023.

1.1 Problematização

Vê-se que nem todas as matrizes energéticas necessitam de ignição ou queima de produtos para a geração de energia, o que as viabiliza em termos de sustentabilidade e preservação do ecossistema, já que fontes de energia ditas como convencionais, apesar de serem capazes de conter maior potência instalada e ocuparem a maior parcela da matriz energética do mundo (Khan *et al.*, 2019), emitem gases nocivos ao meio ambiente, com grande pegada ecológica. Com a

proposta de serem fontes de energia limpa e sustentável, com mínima pegada ecológica, vêm sendo utilizadas as células combustíveis e BC.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo Geral

Planejar, organizar e construir biocélulas a combustível microbianas para que seja possível analisar seu comportamento bioeletroquímico.

1.2.2 Objetivos Específicos

Nas BC de recipiente plástico:

- Definir e analisar a contribuição do meio de cultura que mais auxiliou na formação de biofilme no eletrodo de carbono;
- Identificar a melhor fonte de carbono a ser metabolizada pelo metabolismo microbiano aliando às BC;
- Avaliar a influência do eletrólito fosfato 100 mM tamponado em pH 7 e sua influência na condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) dentro das biocélulas;
- Construção de curvas de polarização, potência, potencial de circuito aberto (E_{ocp}) e corrente máxima ($i_{máx}$)
- Comparar e atestar os mais altos valores de potencial, corrente e potência fornecido pelas biocélulas a combustível.

Nas BC de cerâmicas:

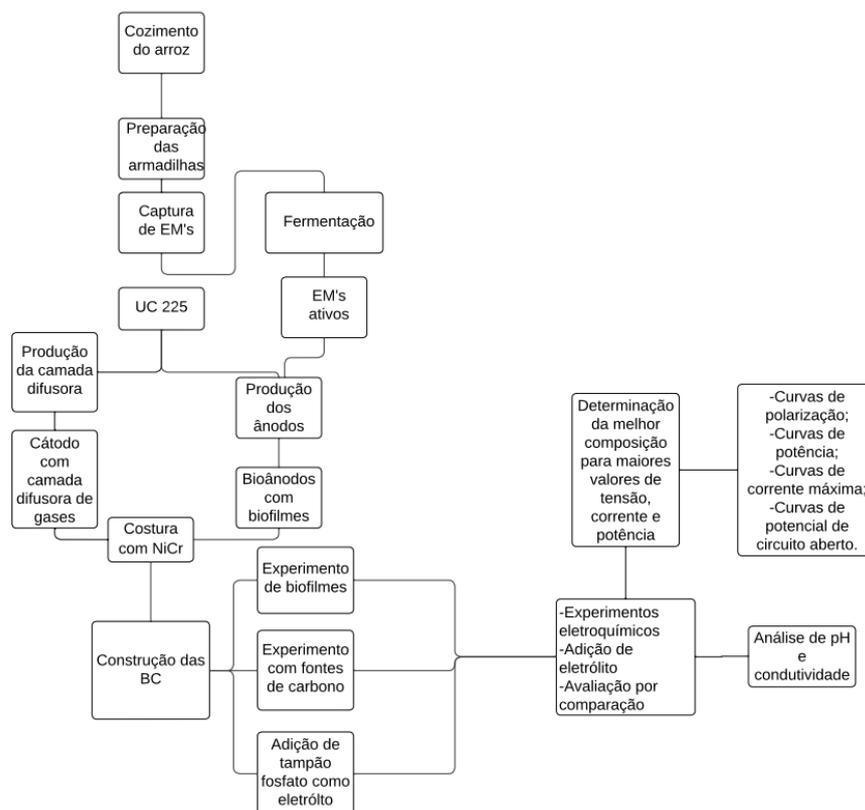
- Realizar a hidratação dos musgos *Sphagnum* até que atinjam as características desejadas;
- Introduzir os musgos *Sphagnum* em mutualismo com microrganismos de solo em biocélulas em cerâmica;

- Analisar diferentes concentrações de eletrólito KCl (0 mM, 1 mM, 10 mM e 100 mM).
- Atestar a microbiota utilizada (EM's e microrganismos de solo em geral) quanto a presença de microrganismos exoeletrogênicos.
- Verificar a relação de simbiose entre a microbiota e os musgos na geração de energia elétrica;
- Construção de curvas de polarização, potência, potencial de circuito aberto (E_{ocp}) e corrente máxima ($i_{máx}$).

2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Para facilitar o entendimento da execução de todo o trabalho, foram montados dois fluxogramas, presentes nas Figuras 5 e 6.

Figura 5 – Fluxograma de execução das atividades para construção das BC plásticas, usando a solução contendo EM's.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Os procedimentos metodológicos que permeiam s a captura dos EM's foram: o cozimento de arroz para captura de microrganismos eficientes, sua introdução em colmos de bambu e posteriormente o fechamento destes colmos utilizando malha plástica trançada. Após devidamente fechadas, foram colocadas em mata fechada (na localização -23.0926111, -48.9973333) e cobertas com serrapilheira pelo período de 15 dias. Após o tempo passado, as amostras foram selecionadas e fermentadas, com o intuito de se produzir uma solução contendo EM's que de acordo com Andrade (2020) são compostos de leveduras, *Actinomicetos*, *Lactobacillus*, *Pedococcus* e bactérias fotossintéticas.

Com a coleta das armadilhas, foram selecionadas as parcelas de arroz com as colorações desejadas, sendo estas por exemplo: laranja e rosa, evitando-se as parcelas de coloração mais escura, como pretas e verde-escuro.

A produção dos meios de cultura PDA e YM, construção de cátodo e ânodo, a construção das BC em recipiente plástico onde foram adicionadas fontes de carbono de acetato, glicose e amido, todos a concentração de 100 mM, a adição do eletrólito tamponado de fosfato a 100 mM e por conseguinte, após 20 dias as análises eletroquímicas foram feitas, tais quais as construções de curvas de polarização, potência, potencial de circuito aberto (E_{ocp}) e corrente. Por fim, contou com as análises de pH e condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$).

Para a construção das curvas de polarização, de potência, potencial de circuito aberto (E_{ocp}) e corrente máxima ($i_{máx}$), valores de potencial foram obtidos utilizando um multímetro digital Portátil CAT III 17B+ (Fluke). Foram obtidos os valores de potencial com a biocélula eletroquímica conectada a resistores de 1 M Ω , 560 k Ω , 470 k Ω , 330 k Ω , 220 k Ω , 100 k Ω , 56 k Ω , 47 k Ω , 10 k Ω , 1 k Ω , 560 Ω , 470 Ω , 330 Ω , 220 Ω , 100 Ω , 56 Ω , 47 Ω , 10 Ω e 1 Ω , seguindo metodologia de Benavides (2021). A seguir, são apresentadas as formas de se construir cada uma das curvas utilizadas neste trabalho:

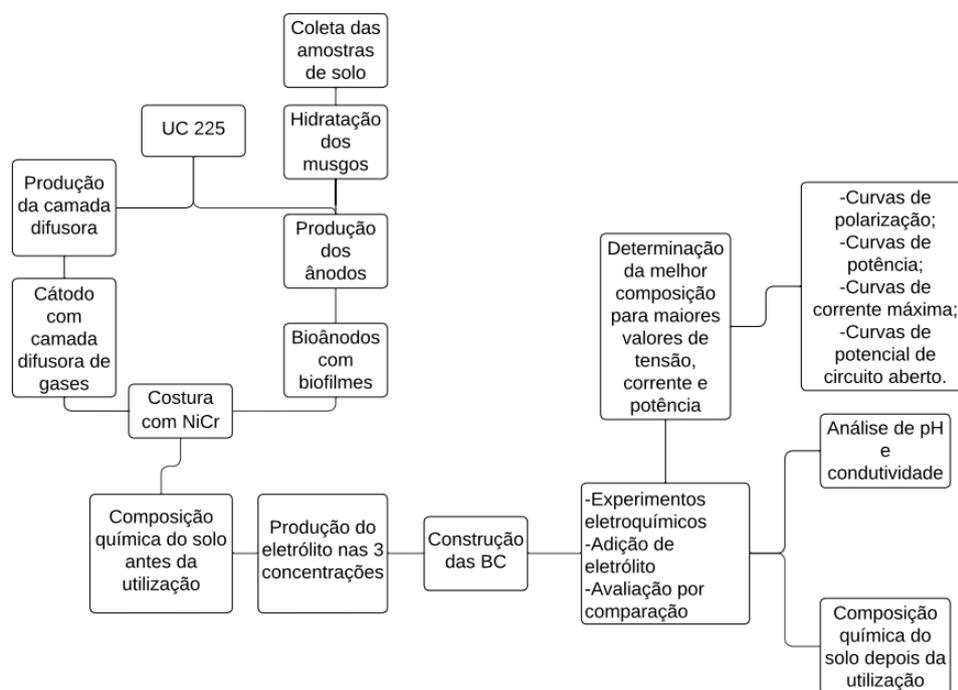
- Curva de polarização: potencial no eixo das ordenadas (Y) e os valores de corrente no eixo das abscissas (X);
- Curva de potência: potência no eixo das ordenadas (Y) e os valores de corrente no eixo das abscissas (X);
- Curva de corrente máxima ($i_{máx}$): corrente no eixo das ordenadas (Y) e a quantidade de dias de experimento no eixo das abscissas (X);
- Curva de potencial de circuito aberto (E_{ocp}): potencial no eixo das ordenadas (Y) e os valores de corrente no eixo das abscissas (X).

Para a produção do meio de cultura YM adicionou-se 0,5% de Peptona (HIMEDIA®), 0,3% de Extrato de levedura (HIMEDIA®), 0,3% de Extrato de Malte (KASVI®), 1% de glicose (Dinâmica Química Contemporânea LTDA®) e 2% de Ágar (N®) e 100 mL de H₂O deionizada para o preparo da solução em um béquer. Para a

produção do meio de cultura PDA, utilizou-se 3,9 g de PDA e 100 mL de H₂O deionizada para o preparo da solução em um béquer.

Posteriormente os citados meios de cultura foram vertidos ainda em alta temperatura (e por consequência em estado líquido) em placas de Petri. Os tecidos de carbono foram adicionados nos meios de cultura ainda quentes, para que fosse possível que estes esfriassem e chegassem o estado gelatinoso, entremeado no tecido de carbono, fazendo com que o referido tecido adquirisse características que supostamente favorecessem o metabolismo dos microrganismos que ali foram inoculados. Após a geleificação do meio, em ambiente sala-limpa, dentro de um fluxo laminar foi “pincelada” a solução contendo EM’s sobre o tecido de carbono e colocado em incubadora BOD a 30° C por três dias.

Figura 6 – Fluxograma de execução das atividades para construção das BC em cerâmica.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Para a segunda etapa do projeto – cujo fluxograma pode ser visto na Figura 6 – foram utilizados microrganismos de solo presentes em amostras de solo predominantemente argiloso, em mutualismo com musgos. Este solo foi obtido da localização (-22.989611, -49.039030). A construção de triplicatas de BC em copos cerâmicos com adição diária de 20 mL de diferentes concentrações de eletrólito KCl a 0 mM, 1 mM, 10 mM e 100 mM, contou também com hidratação dos musgos *Sphagnum* em casa de vegetação, obtidos através de vendedor local. Após 14 dias de análises eletroquímicas, análise da composição química de pH e condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) foram feitas e então, a aferição de qual biocélula foi capaz da maior geração de energia.

A composição química do solo coletado foi medida com o kit de solos colorimétrico Alfakit, que fornece diferentes reagentes específicos para cada análise e seus resultados numéricos podem ser vistos na Tabela 3. Ele conta soluções extratoras e corantes para cada nutriente, sejam em pó, acompanhando pazinha com medida precisa a ser utilizada, seja com reagentes líquidos, contando com auxílio de conta-gotas.

Para ambos os experimentos, após o período de análise as BC foram desmontadas e com isto em vista, foram feitas análises acerca do pH e da condutividade do solo. Contou-se com o condutímetro calibrado com solução de $146,9 \mu\text{S}$, em que foi utilizado para verificar a sua condutividade, seguindo o protocolo da EMBRAPA (Teixeira *et al.*, 2017).

2.1 Construção dos cátodos

Ambas as conformações de cátodo elaboradas para funcionarem em BC utilizando solução de EM's e em construtivo de copo cerâmico foram feitas com tecido de carbono UC 225 IM (e-composites) e mesmo tratamento para constituição da camada difusora de gases. Paralelamente, tiveram diferentes dimensões e locais a serem utilizados em suas respectivas BC. Para as BC com EM's, o cátodo fora adicionado na parcela superior do solo, lugar este ocupado pelos musgos nas BC

cerâmicas. Neste caso, portanto, o cátodo fora adicionado na parede externa dos construtivos cerâmicos. As dimensões dos cátodos foram as seguintes:

- Cátodos circulares utilizados nas BC com EM's: 50,26 cm²;
- Cátodos retangulares utilizados nas BC cerâmicas: 140 cm².

Para que seja possível visualizá-los na prática, faz-se uso da Figura 7.

Figura 7 – Cátodos utilizados para BC usando a solução contendo EM's (7 A) e BC cerâmicas (7 B).



Fonte: Autoria própria, 2023.

2.2 Montagem das BC com Solução Contendo Microrganismos Eficientes

Ambos cátodo e ânodo foram feitos de carbono unidimensional UC 225 IM (e-composites) estruturados em forma circular com o auxílio de fio de Níquel-Cromo (NiCr). A construção de cada biocélula contou com amostra de solo, recipiente plástico, cátodo, bioânodo, fio de NiCr para ser unido ao bioânodo contendo material isolante em seu entorno e água corrente para saturação da amostra.

O delineamento experimental contou com a análise de dois tipos diferentes de meios de cultura comparados a adição e a não adição de EM's no bioânodo, para realizar o crescimento do biofilme seguindo as especificações abaixo:

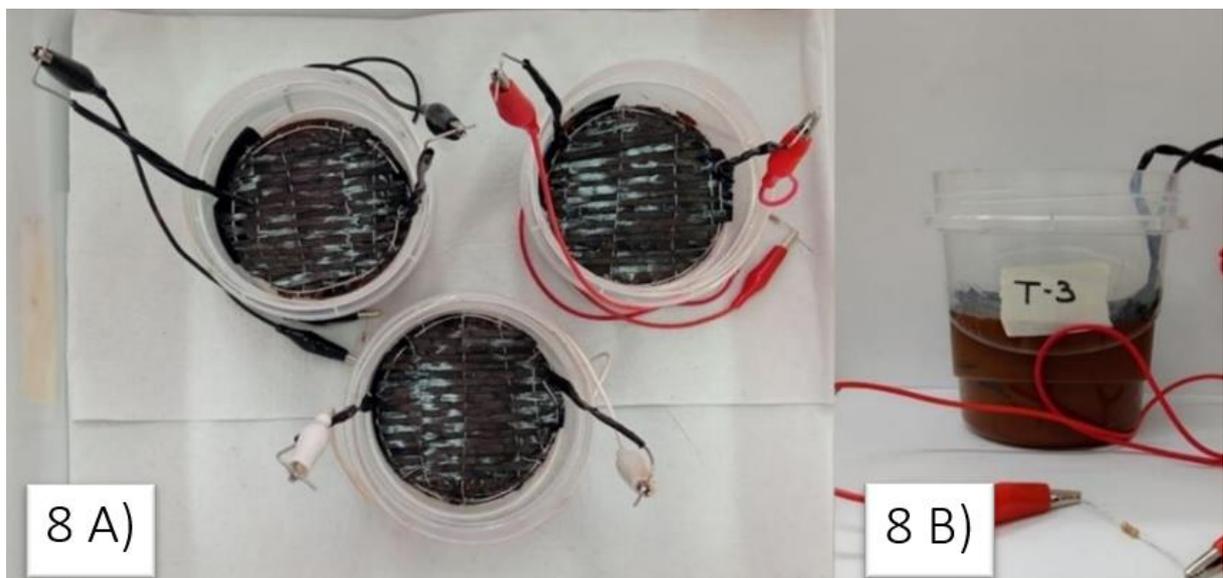
- T-0: Sem adição de meio de cultura + EM's + adição de água corrente;
- T-1: Sem adição de meio de cultura + EM's + adição de água corrente;
- T-2: Adição de meio de cultura PDA + EM's + adição de água corrente;
- T-3: Adição de meio de cultura YM + EM's + água corrente.

Unindo cátodo, ânodo, amostra de solo e solução (contendo ou não fonte de carbono e eletrólito a depender da etapa da pesquisa), montaram-se as biocélulas, ligadas individualmente em série com resistores de 100 Ω .

T-0, T-1, T-2 e T-3 foram comparados para se avaliar através de sua atividade eletroquímica, uma possível formação de biofilme eletroquimicamente ativo no bioânodo utilizado em cada uma das biocélulas.

A Figura 8 apresenta exemplos de biocélulas montadas possuindo estes elementos em recipiente plástico.

Figura 8 – Vistas superior e (8 A) e frontal (8 B) das biocélulas montadas em recipiente plástico e ligadas individualmente a resistores de 100 Ω .



Fonte: Autoria própria, 2022.

Ao longo da pesquisa, cada biocélula necessitou da reidratação diária para permanecer saturada. Para o experimento de biofilme a reidratação contou com a

adição de 2,5 mL de água corrente diariamente, em que após 13 dias, a quantidade de água necessária aumentou para 5 mL. Para o experimento de fonte de carbono, a reidratação foi feita com as soluções contendo fonte de carbono na quantidade de 5 mL para cada biocélula, aumentando para até 12,5 mL no vigésimo dia de análise.

Para a etapa em que se testou tampão fosfato a 100 mM foi feita a pesagem e adição de 4,275 g de HPO_4^{2-} e 2,387 g de H_2PO_4^- para 500 mL de água destilada. Quando adicionadas estas quantidades exatas, o valor de pH da solução se encontra tamponado em 7. Esta análise foi feita em triplicata, em que todas as BC (TA-3.1, TB-3.1 e TC-3.1) foram adicionadas da mesma quantidade de eletrólito (5 mL por dia), medidas a mesma temperatura e ao mesmo tempo.

2.3 Crescimento do Biofilme Constituído de Microrganismos Eficientes em Bioânodo

As parcelas de arroz com as determinadas colorações foram então adicionadas a um galão de 20 L na quantidade de 100 g, adicionadas de 1 L de água corrente e 100 g de açúcar mascavo, para que os microrganismos realizassem fermentação por 3 meses, levando em consideração o clima e a quantidade de solução a ser preparada, como parâmetros que podem interferir no tempo de fermentação. Foi necessária a abertura diária do galão, para que o gás produzido pela fermentação fosse retirado. Com o passar do tempo, a produção de gás foi diminuída, pelo fato de maior parte do substrato adicionado, já ter sido metabolizado. Por conta disso o galão passou a ser aberto a cada dois dias.

Após o período de fermentação de 3 meses (a partir do momento em que não houvesse gás produzido), a solução contendo microrganismos eficientes foi utilizada para ser adicionada nos ânodos, com a finalidade de se criar um biofilme microbiano, em que para isso foi utilizado o tecido de carbono UC 225 IM (e-composites).

Passado o período de 3 dias a 30° C, os bioânodos tratados ou não com a solução contendo microrganismos foram então colocados nas biocélulas para que fossem realizados os experimentos eletroquímicos. Com a montagem das biocélulas

contendo cátodo com camada difusora de gases e bioânodos a serem testados, foram executados experimentos de biofilme e com fontes de carbono, através de experimentos eletroquímicos, que para serem possíveis, contou-se com a hidratação diária das biocélulas. Posteriormente, análises de condutividade, pH e comportamento das curvas de polarização, potência, corrente máxima e potencial de circuito aberto foram feitas para se aferir qual dos tratamentos testados foi capaz de gerar maior potencial, corrente e potência.

Abaixo, a Figura 9 coloca em evidência como os EM's se apresentaram depois de 15 dias deixados cobertos em serrapilheira, colocados em mata fechada. Os círculos vermelhos mostram as colorações mais desejadas para se utilizar, dentre elas: laranja e rosa.

Figura 9 – Microrganismos eficientes capturados em armadilha utilizando-se decolmo de bambu.



Fonte: Aatoria própria, 2022.

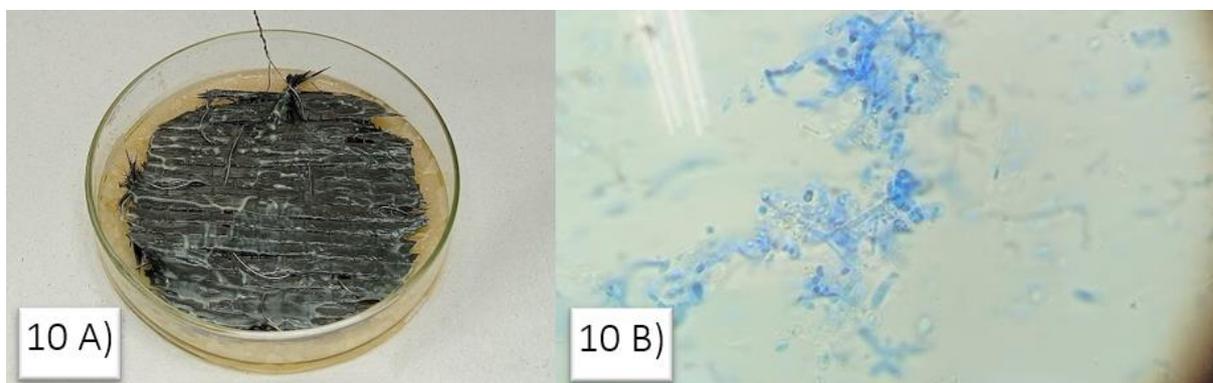
Para estas análises, foram utilizadas amostras de solo do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo-IFSP Campus Avaré (-23.1000255, -48.9127709). Para crescer os microrganismos utilizados no tecido de carbono que compôs o eletrodo anódico, foram comparados meios de cultura que seriam capazes de criar biofilme que mais favorecesse seu crescimento e utilizando das biocélulas a combustível microbianas e posteriormente se visou analisar qual a fonte de carbono que melhor contribuiria para o metabolismo microbiano. Combinados, estes foram

utilizados em nova análise em triplicata avaliando o comportamento das BC com eletrólito tamponado em pH 7 de fosfato.

O bioânodo nomeado como T-0 (branco) foi utilizado sem nenhum tratamento. O T-1 foi “pincelado” com solução fermentada contendo microrganismos eficientes para que fosse posteriormente colocado em incubadora BOD a 30° C pelo período de três dias em que esperou-se observar crescimento de biofilme na superfície de seu bioânodo, assim como em T-2 adicionado de meio de cultura PDA e T-3 em que meio de cultura utilizado em seu bioânodo foi o YM (*Yeast Malt Agar*).

Os meios de cultura gelificaram entre as fibras de carbono para estimular a formação do biofilme após 3 dias em que foram pincelados nos ânodos, que podem ser vistos na Figura 6 (A). Em ambos os casos, a solução contendo microrganismos foi pincelada posteriormente a adição e gelificação dos meios de cultura. Lâminas a fresco utilizando lactofenol foram feitas para se atestar a existência de bolores faziam parte da população microbiana na solução contendo microrganismos eficientes. através da Figura 6 (B) é possível observar que dentro da solução contendo os microrganismos eficientes, existiam os referidos bolores, notados na fotografia.

Figura 10 – Bioânodo com presença de biofilme em sua superfície em (10 A) e lâmina a fresco com aumento de 100x obtida de placa de meio YM com microrganismos eficientes inoculados (10 B).



Fonte: Aatoria própria, 2022.

2.4 Montagem das BC em Cerâmica

Com a finalidade de se utilizar a quantidade correta de solução para cada um dos tipos de análises executadas, colocou-se em uma das biocélulas cerâmicas, em média (nas dimensões de 10 cm de altura, 6 cm de diâmetro e 5 mm médios de espessura de parede, com volume de 200 mL), em média $162,87 \pm 7,02$ g de solo e 55 mL água destilada sendo essa a quantidade de água necessária para saturar a amostra de solo. O intuito deste primeiro experimento foi definir qual seria a quantidade de água total ser perdida pela biocélula através de seus poros, havendo precipitação na parte exterior do recipiente.

Para medir a quantidade de água destilada que passaria pelos poros, a cerâmica foi colocada em um recipiente plástico, em que caso houvesse precipitação da água, esta poderia ser facilmente coletada e colocada em uma proveta. A quantidade de água perdida serviria de base para predizer quanta solução deveria ser utilizada em cada biocélula.

Após o período de 24 horas, observou-se que as paredes da cerâmica ficaram úmidas, no entanto, não se observou qualquer precipitação de água destilada no recipiente plástico em que a biocélula foi inserida, o que conclui que a perda d'água se deu exclusivamente por evaporação. A quantidade de solução adicionada diariamente foi então baseada no que se perde através da evaporação.

O delineamento experimental contou com a análise de quatro tipos diferentes de solução para realizar a hidratação das biocélulas combustíveis, executadas em triplicata, seguindo as especificações abaixo:

- BCA (1, 2 e 3): água destilada;
- BCKCl1 (1, 2 e 3): água destilada + KCl 1 mM;
- BCKCl10 (1, 2 e 3): água destilada + KCl 10 mM;
- BCKCl100 (1, 2 e 3): água destilada + KCl 100 mM.

Para montagem das biocélulas, cada copo cerâmico contou com uma fibra de carbono no seu interior, em que este fez papel de ânodo. Após sua adição, foi introduzida a amostra de solo e acima desta, os musgos hidratados. No exterior, outra fibra de carbono foi colocada, com o papel de absorver a umidade que

perpassasse pelos poros do copo. Ainda em seu exterior, foi vestida a estrutura de NiCr, como mostrada na Figura 11 para dar suporte ao cátodo e o cátodo em si, com a camada difusora de gases voltada ao ambiente.

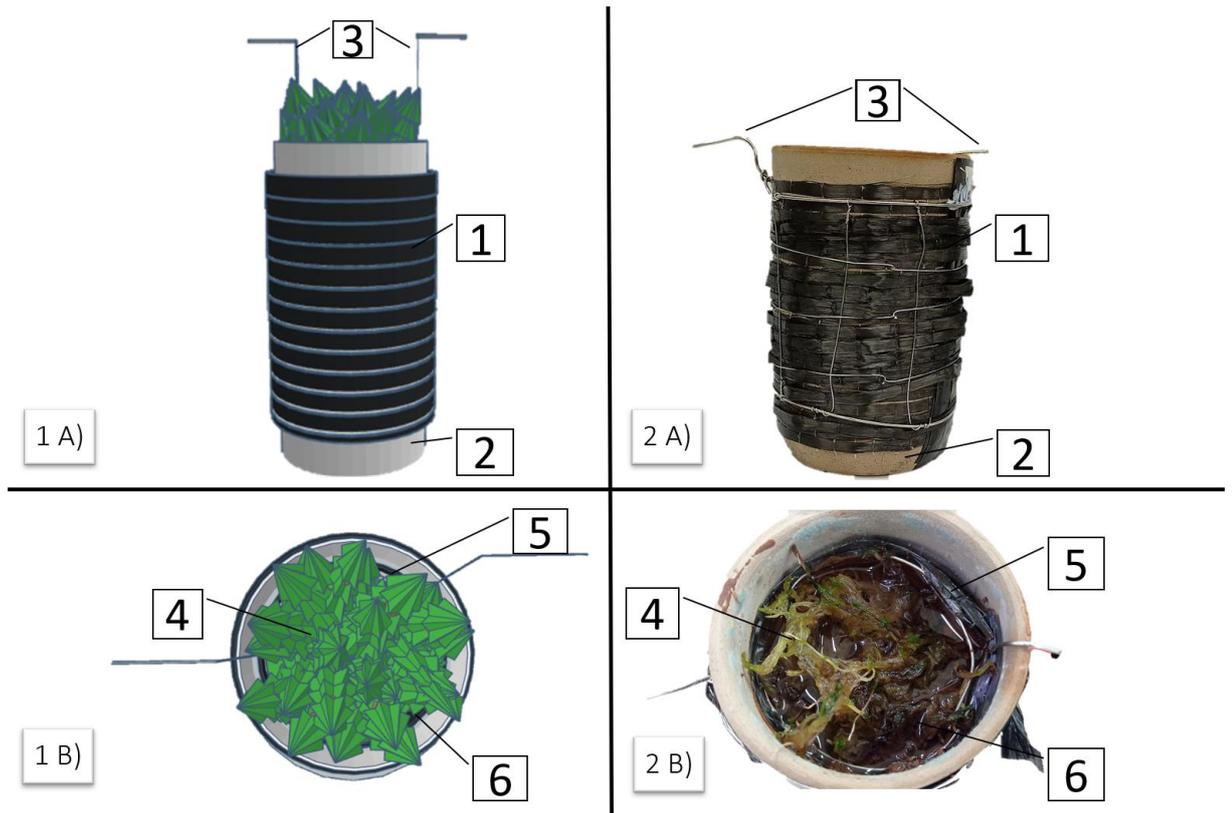
Figura 11 – Forma tridimensional não colocada no copo cerâmico 11 A) e adicionada ao mesmo 11 B).



Fonte: Autoria própria, 2023.

As BC em cerâmica prontas podem ser vistas na Figura 12.

Figura 12 – Vistas frontal 1 A) e superior 1 B) de modelo tridimensional de biocélula a combustível microbiana em cerâmica usando software *Tinkercad*, comparado à biocélula cerâmicas construídas representadas com vistas frontal 2 A) e superior 2 B). Os pontos indicados pelos números de 1 a 6 mostram os elementos do construtivo. 1) cátodo, 2) cerâmica do tipo copo, 3) Interconectores de cátodo e ânodo, 4) musgos *Sphagnum*, 5) ânodo e 6) amostra de solo abaixo dos musgos.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Para o bioânodo utilizado, vale destacar que não houve tratamento prévio para qualquer análise nos copos cerâmicos. O eletrodo em questão foi, portanto, adicionado às BC seguindo a conformação vista na Figura 13.

Figura 13 – Ânodo elaborado para ser adicionado no interior da biocélula combustível em cerâmica.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Foram preferencialmente selecionados musgos de cor esverdeada e roxa pungente, com comprimento de 8 cm, como mostrados na Figura 14 colocados de forma vertical nas biocélulas com o auxílio de uma pinça. Todas foram ligadas a um jacaré através de seus respectivos cátodo e ânodo, em que a outra ponta de cada um foi ligada a um resistor de 100 Ω , fechando o circuito.

Figura 14 – Comprimento preferencial dos musgos utilizados nas biocélulas em cerâmicas.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Tendo em vista que o experimento ocorreria em triplicata, para cada análise, foi construída uma planilha utilizando Excel, que coletou os dados de potencial (mV), potência (μW) e corrente (μA) das triplicatas para cada um dos resistores individualmente e estabeleceu um valor médio, seguindo os parâmetros estatísticos. Através dos valores obtidos, construíram-se curvas de polarização, curvas de potência, potencial de circuito aberto (E_{ocp}) e corrente máxima ($i_{m\acute{a}x}$).

Mantidas a uma temperatura média de $21,67 \pm 2,96^\circ \text{C}$ ao longo das medições, com peso médio de $417,63 \pm 13,7 \text{ g}$, foi necessário readequar a quantidade de solução a ser adicionada a cada biocélula, devido às suas necessidades específicas. Durante o período da primeira semana, foi necessário adicionar até 45 mL.

2.5 Hidratação dos Musgos *Sphagnum*

Foram necessários 47 dias para realizar a devida hidratação dos musgos. A estufa artificial foi colocada dentro da estufa do IFSP – Avaré e foi aberta de duas a três vezes por semana para que fossem adicionados 325 mL de água corrente, que preenchessem 1/3 da borda do recipiente, com tampa perfurada.

3 ANÁLISE DOS RESULTADOS

3.1 Curvas de polarização

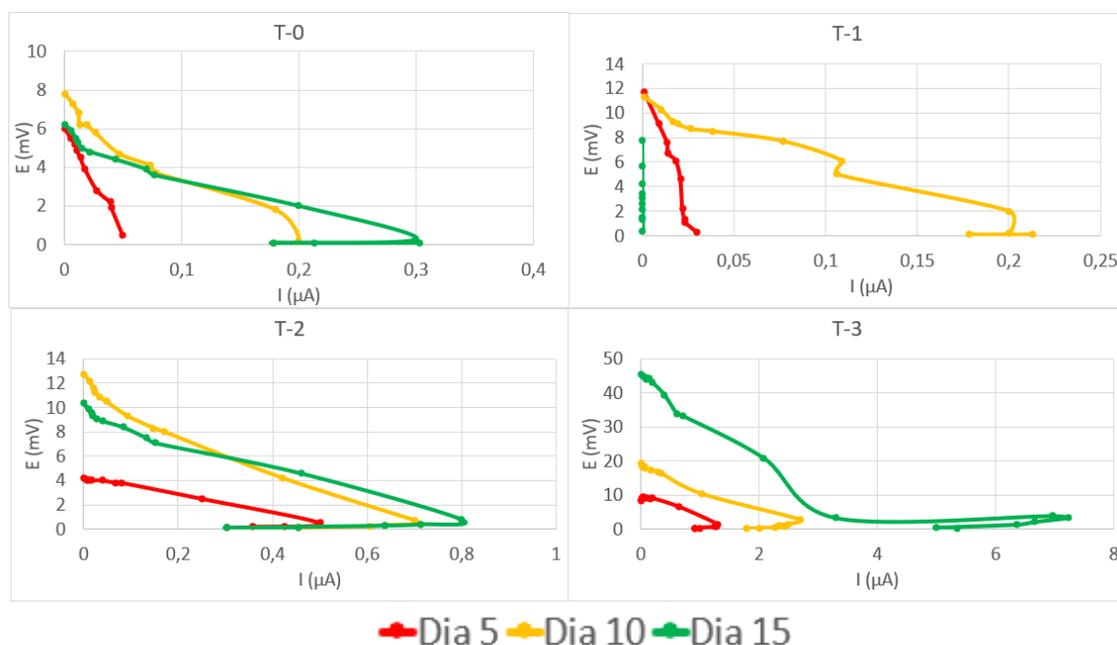
As curvas de polarização são constituídas de três diferentes regiões: a primeira, a baixos valores de corrente elétrica, conhecida como zona de perda por ativação, diz respeito aos maiores valores de potencial em relação à corrente e indica o quão bem opera o biocatalizador presente na biocélula. A segunda, há valores corrente elétrica intermediária, chamada de zona de perda devida ao metabolismo microbiano, é caracterizada por seu decaimento constante de tensão elétrica e serve como indicativo de como a microbiota das biocélulas operam. A terceira, inclui altos valores de corrente e é chamada de zona de perda por transporte de massa e é causada por limitações construtivas, seja no cátodo, ânodo

ou membrana da biocélula e decorre do fluxo de reagentes ou produtos ao eletrodo (Gonçalves, 2021).

3.2 Avaliação do eletrólito nas BC em recipiente plástico

Para as curvas de polarização, serão apresentados os dados obtidos para cada biocélula ao longo de seu período de medição. Nos casos das BC em triplicatas BCA, BCKCI1, BCKCI10 e BCKCI100, foram estudados os valores médios para cada análise de eletrólito.

Figura 15 – Curvas de polarização analisando meios de cultura. T-0 (BC sem tratamento no bioânodo) A), T-1 (BC com adição de solução contendo EM's) B), T-2 (BC com adição de solução contendo meio de cultura PDA e solução contendo EM's) C) e T-3 (BC com adição de solução contendo meio de cultura YM e solução contendo EM's) D).



Fonte: Autoria própria, 2023.

As curvas de polarização mostradas na Figura 15, para as biocélulas em que analisaram os meios de cultura levaram em consideração a progressão entre os dias 5, 10 e 15 de análise da atividade bioeletroquímica em cada biocélula. Quando

observadas as curvas, vê-se que a biocélula com maior geração de potencial em relação a corrente foi T-3 (44,8 mV e 7,23 μ A), presente na Figura 15 D).

T-2 (12,7 mV e 0,8 μ A) mostrada na Figura 15 C) apresenta se comparada a T-1 (11,7 mV e 0,21 μ A) (Figura 15 B), maiores valores de potencial e corrente, enquanto T-0 (7,8 mV e 0,3 μ A) (Figura 15 A) apresentou os menores valores de potencial, mas corrente superior a T-1.

Alinhado ao fato de que T-0 não possui qualquer tratamento para crescimento de biofilme em seu ânodo e que T-1 apresenta valores de potencial e corrente mais similares a esta biocélula do que com as demais, é possível observar que a metodologia adotada para criar seu biofilme não foi tão eficaz.

T-2 apresenta curvas de polarização com formatos similares entre si, sem grandes avanços na produção de potencial entre os dias 10 e 15. T-3 obtém um salto na geração de energia do décimo para o décimo quinto dia, em que já no décimo dia, apresentava valores de potencial superiores às demais biocélulas, o que indica houve crescimento significativo do biofilme no bioânodo.

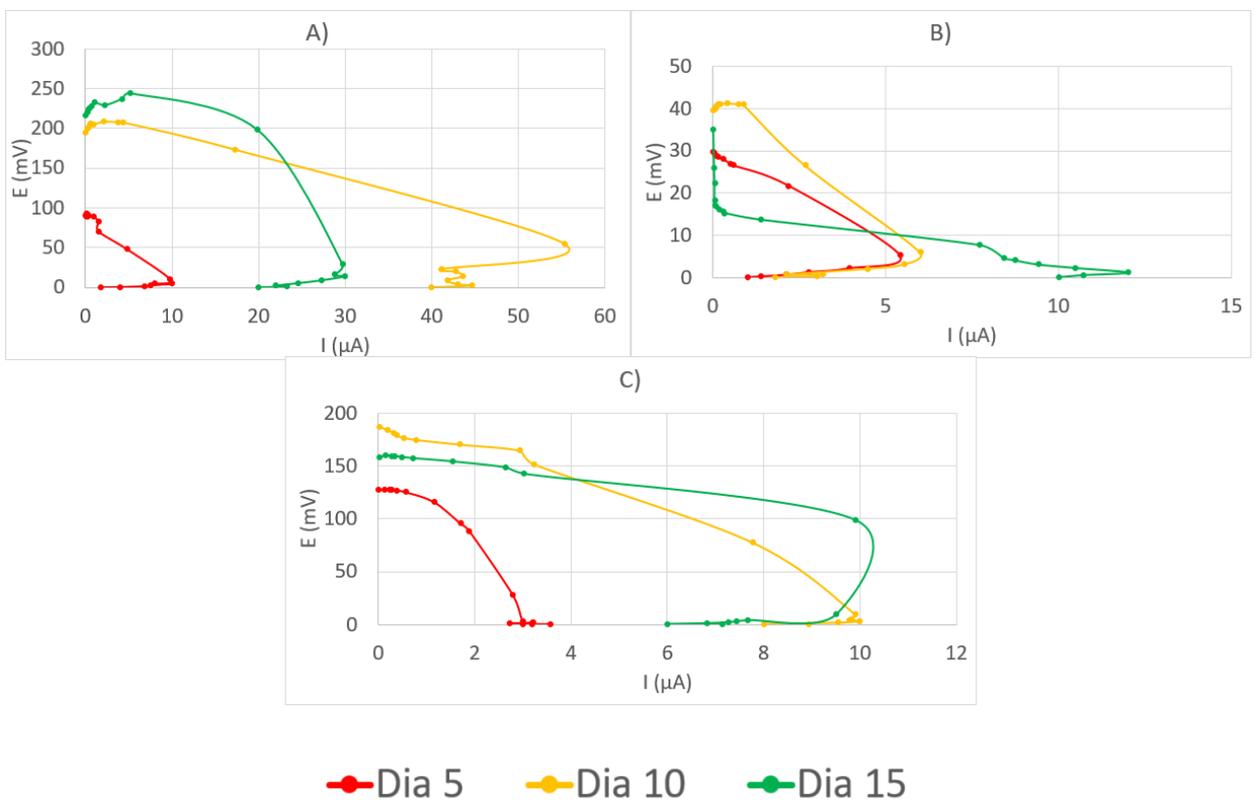
Através da análise efetuada sobre o comportamento das curvas de polarização nesta etapa do trabalho, observou-se que a utilização dos meios de cultura possuiu o intuito de aumentar o crescimento da quantidade de microrganismos, o que têm sua influência nas curvas aumentando o potencial das BC. Quando se compara T-1 e T-3, não apenas o potencial como a corrente gerada entre elas é consideravelmente diferente.

3.3 Efeito da fonte de carbono nas respostas eletroquímicas da BC recipiente em plástico

A partir da determinação do melhor método de elaboração do bioânodo efetuado, foram testadas em novas biocélulas, soluções de amido (T-3.1), acetato (T-3.2) e glicose (T-3.3) todas 100 mM, com a finalidade de se definir qual contribuiria mais efetivamente para o metabolismo microbiano, seguindo a seguinte designação:

- T-3.1: Meio de cultura YM + solução contendo amido a 100 mM;
- T-3.2: Meio de cultura YM + solução contendo acetato a 100 mM;
- T-3.3: Meio de cultura YM + solução contendo glicose a 100 mM.

Figura 16 – Curvas de polarização analisando fontes de carbono. T-3.1 (BC com meio de cultura YM e amido a 100 mM) A), T-3.2 (BC com meio de cultura YM e acetato a 100 mM) B) e T-3.3 (BC com meio de cultura YM e glicose a 100 mM) C).



Fonte: A autoria própria, 2023.

Na Figura 16, vê-se que a tensão gerada pelas biocélulas alcança valores de aproximadamente 41,3 mV a 243,9 mV, com correntes entre 55,3 μA e 10 μA . Dentre as fontes de carbono utilizadas, a biocélula em que foi utilizado amido 100 mM, T-3.1 (Figura 16 A) foi aquela com os maiores valores de tensão e corrente (243,9 mV e 55,3 μA respectivamente). T-3.2 (Figura 16 B) cuja fonte de carbono foi o acetato (100 mM) atingiu valores de 41,3 mV e 12 μA e T-3 (Figura 16 C) que fez

uso de glicose, também a 100 mM chegou a valores de tensão e corrente de 187,2 mV e 10 μ A respectivamente.

Hipóteses foram postas em consideração para o comportamento das curvas de polarização diante das fontes de carbono. Nesta análise, além do aumento de potencial, corrente e potência comparados à etapa anterior, também se nota diferente comportamento na fase inicial das curvas: o aumento de potencial temporário para baixas densidades de corrente, que representa a presença do biocatalizador atuando na biocélula.

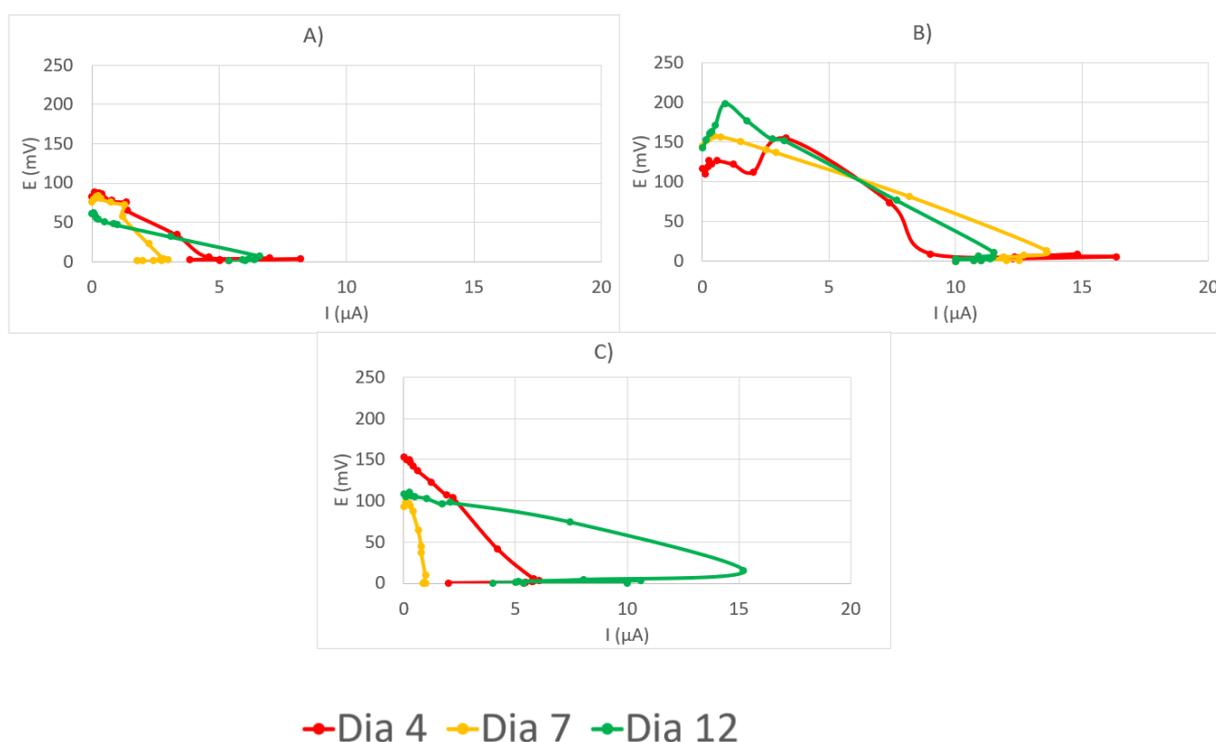
Observa-se que os maiores valores de potência, potencial e corrente foram obtidos nas biocélulas contendo amido e glicose respectivamente. Supõe que tal fato se decorre da maior aceitabilidade por parte dos microrganismos por moléculas de carboidratos como estas, já que para que se faça o crescimento dos EM's em armadilha colocada em serrapilheira, utiliza-se o arroz cozido (Andrade, 2020), cujo carboidrato presente é o amido, que quando quebrado, libera moléculas de glicose (Farias, 2015) que funcionam como fonte de energia para que seu metabolismo seja catalisado, além de diminuir perdas por transferência de massa, já que o substrato a ser metabolizado foi adicionado diariamente ao longo das análises.

Este catalisador metabólico se apresenta nas curvas de polarização influenciando a energia de ativação dos processos redox ocorrendo na superfície do eletrodo, fazendo com que ao invés de a primeira região apresentar rápido decréscimo em termos de tensão, ela primeiro aumente, para que decresça, o que é caracterizada na segunda região.

Por fim, as oscilações na terceira região se deram por uma possível perda por transporte de massa, causada pela dificuldade de assimilação do substrato pelos microrganismos, mensurada a partir da observação da variação de potencial pela corrente nesta região da curva. Se maior variação, a assimilação do substrato é menor, se menor variação, a assimilação do substrato é maior. A seguir, na Figura 17, as curvas de polarização das BC adicionados de eletrólito fosfato tamponado em pH 7.

3.4 Influência do tampão como eletrólito nas BC em plástico

Figura 17 – Curvas de polarização analisando as triplicatas das BC com eletrólito tamponado de fosfato para TA-3.1 A), TB-3.1 B) e TC-3.1 C).



Fonte: autoria própria, 2023.

Para a análise de eletrólito cujas curvas de polarização se encontram presentes na Figura acima, a hipótese era de que este fosse responsável pela diminuição do coeficiente angular presente na zona de decrescimento linear das curvas de polarização. Apesar de valores de potencial inferiores serem apresentados, o eletrólito cumpre a função de auxiliar na polarização das BC, fornecendo condutividade, pH em torno de 7, sendo este considerado ótimo para grande parcela dos microrganismos e nutrientes como por exemplo o fósforo (P).

A primeira região é causada pela presença do biocatalizador. Quanto melhor for o biocatalizador, mais evidente é o aumento de potencial e, portanto, maior é essa primeira região (mais paralela ao eixo das ordenadas). No presente experimento, um exemplo de pouca variação é observado na Figura 17 C), no dia 7,

em que na primeira região houve um aumento de 93,4 a 98 mV de potencial. Paralelamente, no mesmo experimento, uma grande variação pode ser vista na Figura 17 B), que mostra um aumento de 142,4 a 152,6 mV de potencial.

No experimento em triplicata (TA-3.1, TB-3.1 e TC-3.1), todas as análises apresentaram este comportamento, combinados ao decaimento com pouca variação nos valores de potencial e zona de perda por transporte de massa demarcada nos últimos valores medidos. Essa zona em especial se mostra oscilante, o que pode ter sido causada pelo ânodo ter se dobrado no interior das BC e os menores valores obtidos para esta etapa no geral podem ter sido causados pelo excesso de microrganismos no ânodo, resultando em morte de certa parcela microbiana que outrora servira de biocatalizador.

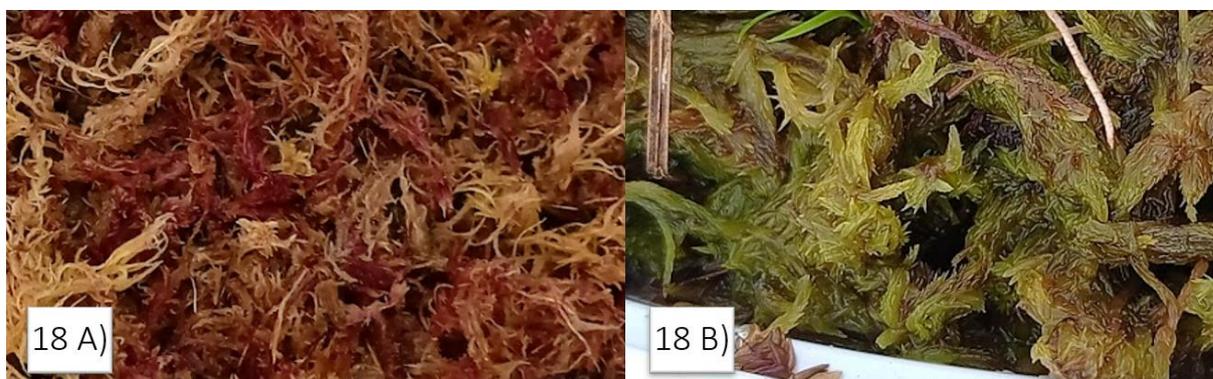
A pouca disponibilidade de recursos combinada às limitações do construtivo (dimensões do recipiente), ocasionaram na diminuição de potencial se comparadas a T-3.1 (BC contendo meio de cultura YM e fonte de carbono amido 100 mM). TA-3.1 (Figura 17 A) gerou 85,8 mV e 8,81 μ A, TB-3.1 (Figura 17 B) gerou 199,1 mV e 16,3 μ A e por fim, TC-3.1 (Figura 17 C) foi capaz de gerar 158,4 mV e 15,2 μ A.

3.5 Preparação dos musgos *Sphagnum* para utilização em BC em cerâmica

Para a construção das BC em cerâmica, como dito anteriormente foi necessário fazer a reidratação antes de seu uso. Ao contrário do que se especulou *a priori* acerca da intensa desidratação dos musgos ser causada pela perda de água por conta da temperatura da estufa, foi atestado que eles possuem alta resistência a este fenômeno, voltando a turgescência logo após sua hidratação. A principal questão a ser ajustada foi o pH do meio, uma vez que de acordo com Hájková e Hájek (2004, 2007), o pH considerado ideal para o cultivo de musgos *Sphagnum* é ácido, em torno de 4,5 a 6,0 a depender do tipo de *Sphagnum*. Na Figura 18 é possível ver que estes musgos em questão se encontraram aptos para utilização, apresentando coloração viva e pungente.

Com o passar de um mês, notou-se mudança na cor dos musgos, tornando-se gradativamente mais esverdeados, além da diminuição na quantidade de água a ser irrigada, decaindo para 273 mL a cada dois dias dentro da estufa artificial. Isso ocorreu pelo fato de os musgos passarem a absorver menos água, por estarem mais turgescidos, o que evidencia que a metodologia passa a ser útil.

Figura 18 – Musgos *Sphagnum* no dia 0 (18 A) e no dia 47 (18 B) de reidratação e desenvolvimento.

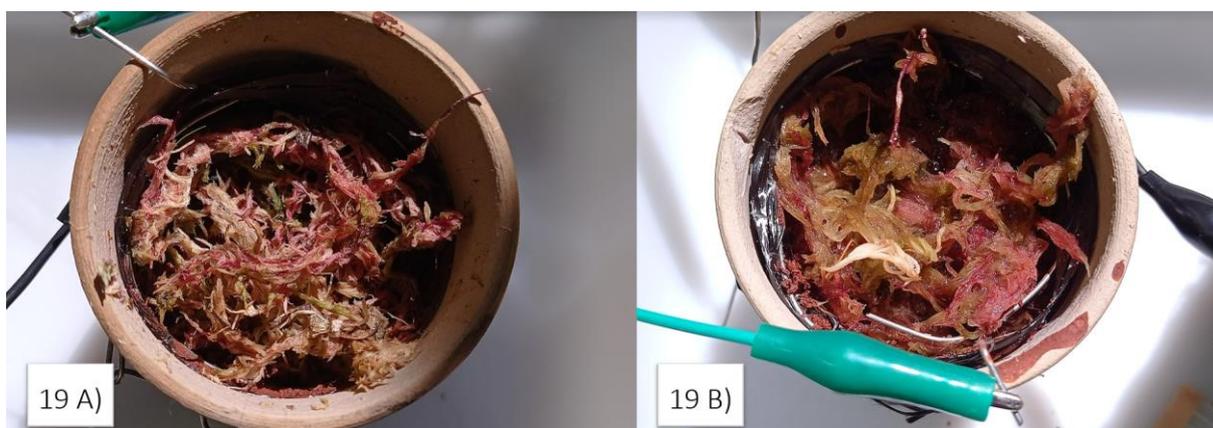


Fonte: Autoria própria, 2023.

Além de se necessitar menos solução para funcionarem em sua plenitude, notou-se que em todas as biocélulas, a coloração dos musgos se tornou mais intensa do momento em que foram colhidas para serem utilizadas até a finalização das medições. Queimaduras aparentes nos filamentos mais externos dos musgos apareceram a partir da segunda semana de análise, fator causado pela perda de água para o ambiente, somado ao período de exposição à luz solar. As queimaduras em questão não resultaram em impactos significativos durante as medições, restringindo-se apenas a aspectos visuais da planta.

A Figura 19 pode ilustrar como a aparência dos musgos muda antes e depois de serem reidratadas. A medida em que as biocélulas foram reidratadas diariamente, sua demanda pela respectiva solução decaiu durante a segunda semana e foi ajustada para 20 mL/biocélula até a finalização das medições eletroquímicas, caracterizada pela maior retenção de líquido nas biocélulas.

Figura 19 – Biocélulas antes 19 A) e depois 19 B) da reidratação diária.

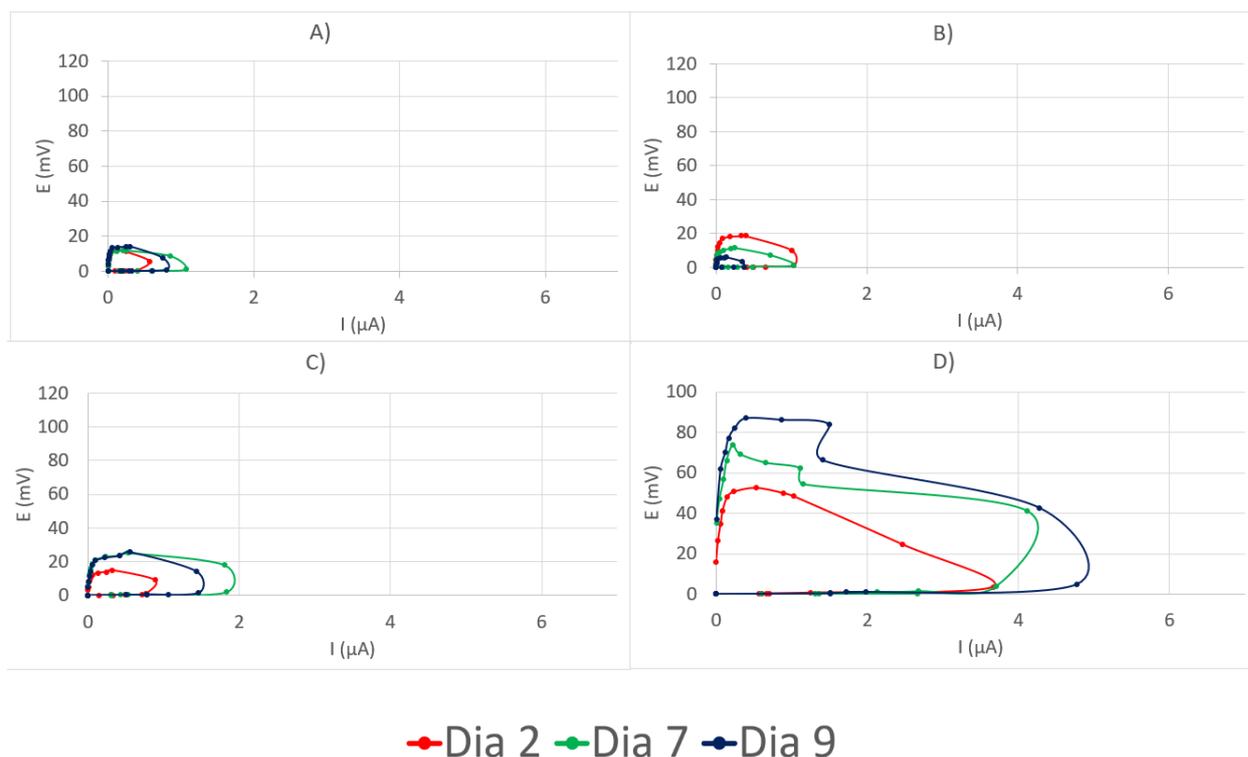


Fonte: Autoria própria, 2023.

3.6 Avaliação da concentração do eletrólito nas BC em cerâmica

As curvas de polarização utilizando os musgos *Sphagnum* podem ser vistas na Figura 20.

Figura 20 – Curvas de polarização analisando a aplicação de KCl enquanto eletrólito em diferentes concentrações, onde pode-se ver BCA (BC em cerâmica adicionada de água destilada A), BCKCl1(BC em cerâmica adicionada de eletrólito KCl a 1 mM) B), BCKCl10(BC em cerâmica adicionada de eletrólito KCl a 10 mM) C) e BCKCl100(BC em cerâmica adicionada de eletrólito KCl a 100 mM) D).



Fonte: Autoria própria, 2023.

As curvas de polarização mostradas na Figura 20 A) a D), para as BC adicionadas de água destilada (BCA) levaram em consideração a progressão entre os dias 2, 7 e 9 de análise da atividade bioeletroquímica em cada biocélula. Dentre os dias observados, as BCA (Figura 20 A) chegaram a um máximo potencial de $14,07 \pm 12,35$ mV, em seu nono dia. A maior corrente gerada por essa biocélula, no entanto ocorreu no dia 7, sendo essa $1,07 \pm 0,87$ µA.

A zona de ativação de BCA inclina-se ao eixo das ordenadas, indicativo de que o biocatalisador utilizado foi capaz de propor aumento gradual à primeira zona analisada da curva de polarização (vista na Figura 21). A segunda zona por sua vez decai de forma sucinta, característica considerada positiva, já que a tensão elétrica (em mV) pela corrente (em µA) possui pouca variação de um ponto a outros dias

7 (de $11,8 \pm 9,39$ mV a $11,83 \pm 9,4$ mV e depois vai até $8,6 \pm 6,75$ mV) e 2 (de $11,8 \pm 9,93$ mV a $11,47 \pm 9,84$ mV e depois vai até $5,73 \pm 4,73$ mV) e de forma mais acentuada no dia 9 (de $14,07 \pm 12,35$ mV a $7,53 \pm 5,69$ mV).

Ainda na mesma Figura é possível verificar que a terceira zona das curvas de polarização possuem pouca variação de tensão (de $5,73 \pm 4,74$ mV a $0,4 \pm 0,4$ mV no dia 2, de $8,6 \pm 6,75$ mV a $1,07 \pm 0,87$ mV no dia 7 e de $7,53 \pm 5,69$ mV a $0,8 \pm 0,91$ mV no dia 9) , acompanhadas dos maiores valores de correntes obtidas para cada dia de análise das biocélulas (de $0,57 \pm 0,47$ μ A a $0,4 \pm 0,4$ μ A no dia 2, de $0,86 \pm 0,67$ μ A a $1,07 \pm 0,87$ μ A no dia 7 e de $0,75 \pm 0,57$ μ A a $0,8 \pm 0,91$ μ A no dia 9), típico desta zona.

As BCA possuem, portanto, bom catalisador, bom metabolismo microbiano e perda por transporte de massa evidente, mas que fornece considerável densidade de corrente. Estas características fazem delas, um conjunto favorável à produção de grande quantidade de energia.

A seguir, pode ser vista a Figura 20 B) a curva de polarização de BCKCl1. Em parâmetros de produção de tensão elétrica, para os experimentos utilizando a solução de KCl a 1 mM, os valores obtidos não foram significativamente diferentes das BCA. Os demais dias analisados tendem ao decaimento, sendo o dia 9 o menor deles, com $5,97 \pm 2,10$ mV de E_{ocp} . A maior corrente gerada por esta análise é do dia 7, com o valor de $1,03 \pm 0,21$ μ A.

É possível observar pouca variação de produção de potencial comparando a análise controle (BCA) e suas curvas de polarização com as BCKCl1, que apresentam zona de perda por ativação acentuada, evidenciando que o biocatalizador permanece funcional (levando em consideração os valores máximos de $14,07 \pm 12,34$ mV das BCA comparando a $18,6 \pm 1,91$ mV produzido pelas BCKCl1). A zona de perda por metabolismo microbiano nas BCKCl1 é mais acentuada em todas as curvas apresentadas quando comparadas às BCA, indicativo de que neste caso, o metabolismo microbiano foi afetado por algum fator construtivo, como como a concentração de KCl no meio, ou a interação com a rizosfera dos musgos. Por fim, a zona de perda por transporte de massa mostra-se também evidente.

É possível observar que no dia 7, apresenta-se uma dobra acentuada se encaminhando ao fim da medição, comportamento distinto das demais curvas de polarização. Supõe-se que a partir deste dia, as BCKCl1 começaram o fim de sua vida útil, tendo em vista que no dia 9, os resultados são irrisórios, se comparados aos valores máximos obtidos.

De posse destes resultados afirma-se que as análises BCKCl1 foram por pouco superior às BCA, fato reforçado pelos demais dias plotados para as curvas de potência apresentarem valores inferiores a todos os resultados obtidos pelas BCA.

Das curvas de polarização produzidas por BCKCl10 (Figura 20 C), houve mínimo aumento no potencial gerado se comparado às BCKCl1 ($18,6 \pm 1,91$ mV produzido pelas BCKCl1 comparado a $25,9 \pm 12,6$ mV). Houve menor variação na geração de potencial nos valores produzidos na ordem dos 20 a 30 mV, tendo como maior potencial produzido por elas, o valor de $25,9 \pm 12,60$ mV no dia 9, enquanto a corrente máxima gerada foi de $1,83 \pm 0,57$ μ A no dia 7. Em geral, para todos os dias, o biotacalizador atuou de forma ótima, evidenciando o aumento exponencial de tensão elétrica presente na zona de perda por ativação.

A segunda zona decaiu lentamente, com curva quase paralela ao eixo das abcissas, o que indica que a esta concentração de KCl no meio, os microrganismos em conjunto com a rizosfera dos musgos *Sphagnum* também permanece ótima. A respeito da terceira zona das curvas de polarização, esta é apresentada com decaimento sucinto, apresentando seu início no valor $23,73 \pm 6,88$ mV no sétimo dia, $5,53 \pm 4,85$ mV a menos do que o E_{ocp} apresentado neste dia, fato que serve de evidência para a afirmação de que a segunda zona destas curvas decai de forma lenta.

Em resumo, as curvas de polarização de BCKCl10 se apresentam maiores valores de potencial, potência e corrente, com curvas de polarização e de potência maiores do que as de BCA e BCKCl1, com valores gerados que oscilam dia após dia.

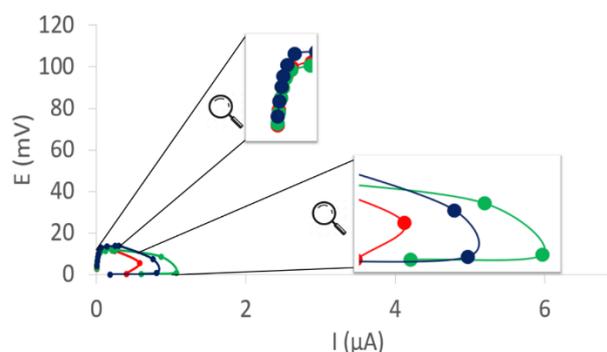
Ao observar a Figura 20 D) é possível observar como o potencial gerado pelas biocélulas BCKCl100 tende a aumentar com o passar do tempo. O primeiro

valor dado para cada medição é consideravelmente distante, sendo possível observar o espaço entre as curvas geradas dia após dia. O potencial gerado, diferente das demais análises possui linearidade.

Para todos os dias 2, 7 e 9, o biocatalizador atua de forma ótima, notável pela primeira zona da curva. Os dias 7 e 9 apresentam inconstância em sua segunda zona, fato que apesar de não ser o comportamento esperado, não interfere significativamente nos resultados obtidos. O dia 2 possui zona de perda por metabolismo com decaimento linear. Para os dias 7 e 9, a zona de perda por transporte de massa é sutil, se comparadas ao dia 2, que decai. Este comportamento indica possível complicação para o transporte de nutrientes pelo meio, o que pode evidenciar o motivo pelo qual possuem menos potencial que as demais análises. Os máximos de tensão e corrente gerados para as BCKC1100 foram $87,03 \pm 69,02$ mV e $4,76 \pm 3,48$ μ A no dia 9 respectivamente.

As curvas de polarização apresentadas por Benavides (2021), demonstram que o bioânodo tratado com meio de cultura YM chegou a valores de 350 mV e 200 mV de E_{ocp} para bioânodo tratado com meio de cultura PDA. Comparativamente, apresentam valores superiores a todas as BC construídas no presente trabalho, chegando a até 250 μ A, valor este produzido pelas biocélulas com bioânodo adicionado de meio de cultura PDA e com o menor valor de corrente gerada na ordem de 30 μ A, sendo esta gerada pelo seu tratamento controle (sem tratamento no bioânodo, no 16º dia de análise).

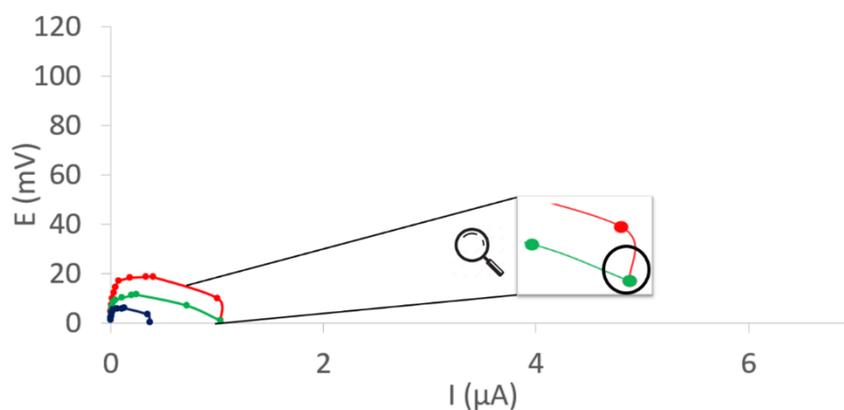
Figura 21 – Zonas de perda por ativação e transporte de massa das BC em cerâmica adicionadas de água destilada.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Para melhor visualização das zonas de perda por transporte de massa das BCKCl1 no sétimo dia de análise, observa-se a Figura 22 adiante.

Figura 22 – Distinção da zona de perda por transporte de massa no dia 7 das BC em cerâmica adicionada de eletrólito KCl a 1 mM.



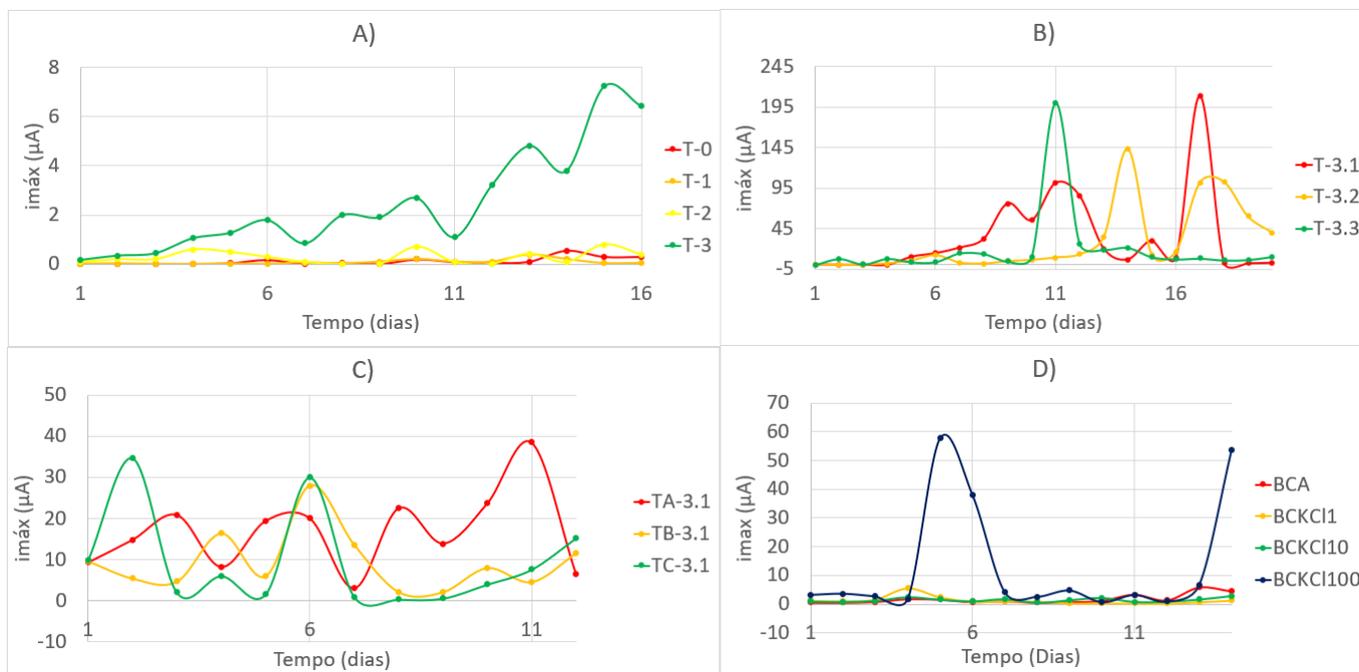
Fonte: Autoria própria, 2023.

A seguir, serão apresentados e discutidos os resultados obtidos para cada etapa de cada análise das BC, seguindo a seguinte disposição de resultados: corrente máxima ($i_{máx}$ em μA), potencial de circuito aberto (E_{ocp} em mV), curvas de polarização, curvas de potência, pH e condutividade e por fim, teor nutricional das BC cerâmicas.

3.7 Correntes máximas

Foram dispostos os gráficos de $i_{máx}$ para cada uma das análises na Figura 23 a seguir.

Figura 23 – Gráficos de corrente máxima para as BC utilizando meios de cultura A), utilizando fontes de carbono B), com a adição de eletrólito C) e cerâmicas com musgos *Sphagnum* D).



Fonte: Autoria própria, 2023.

A corrente máxima (imáx) de T-0 (BC sem meio de cultura e sem solução contendo EM's) apresenta caráter levemente oscilatório, com baixa capacidade em geração de corrente. T-1 (BC sem meio de cultura e com solução contendo EM's) se mostra com correntes geradas maiores do que T-0, em suas oscilações de corrente, alcançando em sua maior corrente produzida, 0,4 µA. T-2 (BC com meio de cultura PDA e solução contendo EM's) obteve aumentos consideráveis, chegando ao máximo de 0,8 µA de corrente gerada, enquanto T-3 (BC com meio de cultura YM e solução contendo EM's) foi capaz de gerar 6,43 µA de corrente, tendo a maior corrente produzida, que teve ondas de crescimento ao longo dos dias, mas se permaneceu em crescimento. Os picos de corrente máxima foram os seguintes: 0,54 µA para T-0, 0,4 µA para T-1, 0,8 µA para T-2 e 7,23 µA para T-3. Observados os valores obtidos para corrente máxima entre as BC T-3.1 (BC com meio de cultura YM e amido a 100 mM), T-3.2 (BC com meio de cultura YM e acetato a 100 mM) e T-3.3 (BC com meio de cultura e glicose a 100 mM), mostra-se claro que T-3.1 tem mais oscilações em suas curvas, com a maior delas no dia 23, que também apresenta o maior valor de corrente entre as biocélulas.

O maior valor de corrente máxima de T-3.2 foi alcançado no último dia de medição, com curva sem grandes oscilações, com dois picos evidenciando aumentos de corrente, no dia 14 e entre os dias 17 e 18. T-3.3 têm apenas uma única curva marcante, com oscilações mínimas nos outros dias medidos, permanecendo como intermediário no fornecimento de corrente ao final das medições. Os picos de corrente máxima para cada uma das biocélulas foram os seguintes: 209 μA para T-3.1, 143,57 μA para T-3.2 e 200 μA para T-3.3.

As correntes máximas mostradas para as BC contendo eletrólito fosfato tamponado (TA-3.1, TB-3.1 e TC-3.1) (Figura 23 C) possuem no primeiro dia, valores próximos, além no fim convergirem para um intervalo comum entre 15 e 5 μA , no entanto, não existe outra similaridade entre elas. TA-3.1 gerou a máxima corrente de 38,5 μA , enquanto TB-3.1 atinge 28 μA e TC-3.1, 34,7 μA . A hipótese cunhada para justificar a falta de padrão nos resultados permanece sendo o deslocamento físico do ânodo e competição por recursos.

Os relativamente altos valores de corrente máxima proporcionados pela triplicata BCKCl100 (BC em cerâmica com eletrólito KCl 100 mM) possui dois picos abruptos, pontuados no dia 5 ($57,67 \pm 98,15 \mu\text{A}$) e no dia 14 ($53,57 \pm 91,24 \mu\text{A}$), no entanto, oscilando minimamente com o passar dos outros dias. Para os valores de corrente gerados, seu maior dado é no quinto dia, decaindo drasticamente no sexto dia, onde ainda assim a triplicata BCKCl100 se permanece com corrente superior às correntes geradas pelas demais triplicatas BCA (BC em cerâmica com adição de água destilada), BCKCl1 (BC em cerâmica com adição eletrólito KCl 1 mM) e BCKCl10 (BC em cerâmica com adição de eletrólito KCl 10 mM). Adiante, permanece oscilante, com alto valor gerado no décimo quarto dia.

BCKCl10 possui valores de corrente máxima menos oscilantes, sendo nos dias 7 e 9, inferior apenas à corrente gerada por BCKCl100. Não possui a mesma constância de oscilação que BCKCl100, já que possui um constante crescimento do dia 1 ao dia 4, decaindo pela primeira vez apenas a partir do dia 5, com próximos picos nos dias 7, 10 e 14.

BCKCl1 por sua vez possui apenas um pico de corrente considerável, sendo este no dia 4. A partir deste dia, sua corrente gerada tem característica quase que linear, não aumentando ou diminuindo significativamente ao longo do tempo.

BCA tem três picos de corrente, sendo o primeiro no dia 4, o segundo no dia 10 e o terceiro no dia 8. A partir do dia 6 até o fim das análises, permanece com valores de corrente quase sempre superiores aos de BCKCl1 com exceção do dia 7.

Em termos gerais, observa-se que as correntes geradas por BCA, BCKCl10 e BCKCl100 são as que mais oscilam, além de notar-se que na maior parte dos dias analisados, permanecerem superiores à BCKCl1. Os picos de corrente máxima foram os seguintes: $5,8 \pm 8,83 \mu\text{A}$ para BCA, $5,62 \pm 2,49 \mu\text{A}$ para BCKCl1, $2,53 \pm 1,11 \mu\text{A}$ BCKCl10 e $57,67 \pm 96,01 \mu\text{A}$ para BCKCl100.

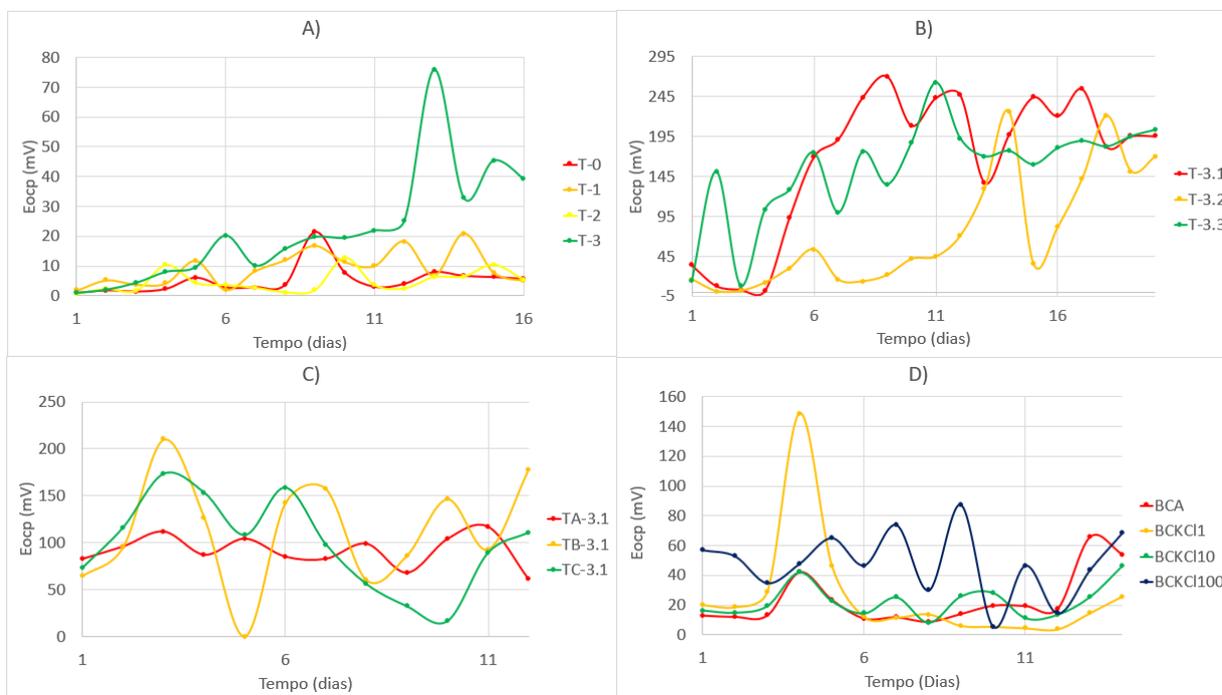
Para se avaliar se os valores de corrente máxima gerados foram considerados altos, foram então analisadas as curvas de comparação das células eletroquímicas apresentadas por Carminati (2021). Foi observado que até o 14º dia de experimentos, a corrente máxima gerada pelas biocélulas operando em modo batelada (bMFC) foi na ordem de aproximadamente até $200 \mu\text{A}$ e as biocélulas operando em modo semi-contínuo (cMFC) foram na ordem de até $1700 - 1800 \mu\text{A}$.

Comparativamente as BC analisando o melhor meio de cultura (T-3.1, T-3.2 e T-3.3) foram as que mais geraram corrente elétrica e as que mais chegaram próximas das correntes máximas geradas pelas bMFC. No entanto, ao se observar os valores gerados pelas cMFC, seus valores de imáx se mostram superiores a qualquer experimento executado no presente trabalho.

3.8 Potenciais de Circuito Aberto (Eocp)

Na Figura 24 adiante é possível observar os resultados obtidos para Eocp para cada uma das análises efetuadas, onde elas mostram o comportamento das biocélulas no sistema quando a resistência ôhmica tende ao infinito, obtendo o máximo valor de potencial (mV) para cada uma.

Figura 24 – Gráficos de Eocp para as BC utilizando meios de cultura A), utilizando fontes de carbono B), com a adição de eletrólito C) e cerâmicas com musgos *Sphagnum* D).



Fonte: Autoria própria, 2023.

As curvas de potencial de circuito aberto (Eocp) apresentadas na Figura 24 A) das amostras T-0, T-1, T-2 e T-3 mostram como o potencial de cada biocélula se comportou ao longo de 16 dias. Através da média aritmética dos valores obtidos de temperatura dia a dia dentro do laboratório em que se fizeram as análises, verificou-se a temperatura média de 16°C.

As amostras T-0, T-1 e T-2 apresentaram no último dia de análise em torno de 5 mV, enquanto T-3 se manteve com potencial de 40 mV, onde seu pico foi no décimo terceiro dia, com 75,8 mV. Os picos de potencial de circuito aberto foram os seguintes: 21,5 mV para T-0, 20,8 mV para T-1, 12,7 mV para T-2 e 75,8 mV para T-3.

Para as análises de fontes de carbono, os valores de potencial de circuito aberto colocados em comparação entre si na Figura 24 B) mostram como estes oscilaram consideravelmente ao longo do período de análise, em que esta foi feita

com temperatura de $22,19 \pm 2,19^\circ \text{C}$, (sem variação significativa de temperatura) obtida através de média aritmética dos valores de temperatura do laboratório em que se foram feitas as análises.

Embora T-3.3 apresentasse o maior valor de potencial no último dia analisado, em geral, ela apresentou valor intermediário entre T-3.1 e T-3.2. T-3.1 cresceu de forma clara do dia 4 ao dia 9, onde a partir desse momento oscilou, mesmo que em um patamar mais elevado. T-3.2 teve crescimento de potencial inferior e de forma mais tardia quando comparada a esta outra, obtendo dois picos consideráveis no dia 14 e 18, com o valor final inferior às outras duas biocélulas. Os picos de potencial de circuito aberto foram os seguintes: 270 mV para T-3.1, 226 mV para T-3.2 e 261,9 mV para T-3.3.

As triplicatas construídas e medidas em temperatura média de $23,75 \pm 1,15^\circ \text{C}$ não obtiveram valores próximos para que se comprovasse confiabilidade na análise executada. Observa-se na Figura 24 C) que os valores ao final dos experimentos oscilaram entre si, de 61,4 mV para TA-3.1, até 177,4 mV para TB-3.1 e 110,7 mV para TC-3.1. A biocélula com maior ondulação nos valores de potencial de circuito aberto foi TB-3.1, seguida de TC-3.1 e TA-3.1 sendo a que menos oscilou dentre estas.

O que pode justificar este comportamento foi o deslocamento não intencional do ânodo na biocélula, o que influi no transporte de massa, também na superfície de contato para assimilação do substrato e distância entre eletrodos, além do excesso de microrganismos ali presentes, causando competição por recursos.

Os potenciais de circuito aberto (E_{ocp}) foram coletados diariamente a partir dos valores médios calculados das triplicatas BCA, BCKCI1, BCKCI10 e BCKCI100. Medidas a uma temperatura média de $21,67 \pm 2,96^\circ \text{C}$, é possível analisar como as triplicatas oscilam no fornecimento de potencial dia após dia, não necessariamente indicando sua perda ao longo do tempo.

Tomando a curva de BCKCI100 como exemplo, percebe-se na Figura 24 D) que até o nono dia de análise, a tensão elétrica embora oscilante, tende a crescer, chegando ao valor máximo de $87,03 \pm 69,02 \text{ mV}$. É também evidente o pico

alcançado por BCKCI1 no quarto dia, chegando a $148,73 \pm 48,48$ mV de potencial gerado. Este valor embora alto, não representa seu comportamento, tendo em vista que os demais valores por ela gerados se permanecem distantes, tendendo a seguir uma linha reta depois do sétimo dia, com aumento linear do dia 12 ao dia 14. O segundo maior valor de potencial gerado por esta BC foi no décimo quarto dia, com $25,7 \pm 33,31$ mV, quase cinco vezes menor.

As demais triplicatas seguem também com caráter oscilatório, destacando-se – além de BCKCI100 – o Eocp gerado pelas BCKCI10, que ao término do período de análises (décimo quarto dia) geraram $46,37 \pm 35,13$ mV, seu maior valor de potencial. Por fim, o Eocp das BCA, comportam-se de forma distinta às BCKCI1, já que possuem picos em dias diferentes, como no dia 10 e no dia 13, no entanto, com um deles em comum, sendo no dia 4, com BCA obtendo Eocp de $42 \pm 36,24$ mV, consideravelmente distante, decaindo no quinto dia, onde a partir deste, segue uma produção oscilante, que ao contrário de BCKCI1, tende a aumentar com o tempo, gerando até $26,23 \pm 33,31$ mV no décimo quarto dia de análise.

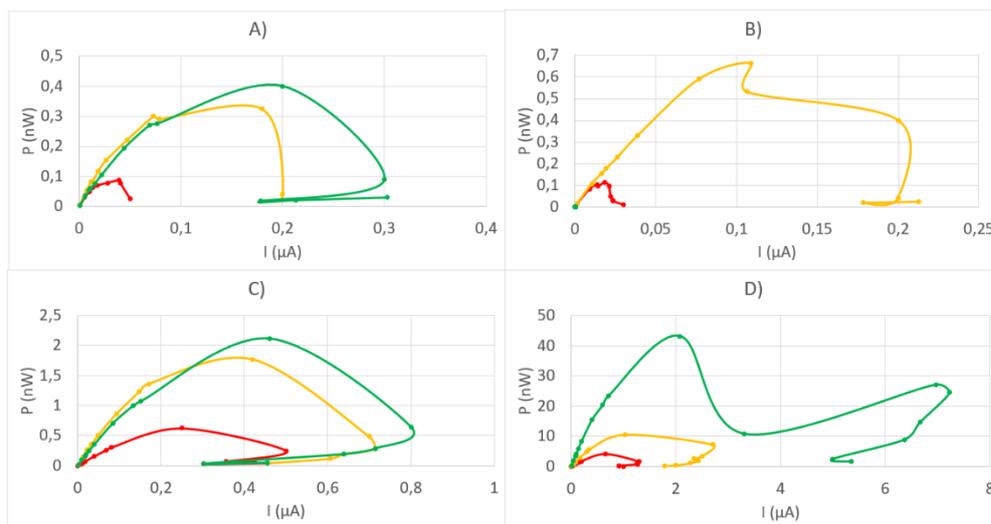
3.9 Curvas de Potência

As curvas de potência, também chamadas de “gráfico de vulcão” possuem o papel fundamental de auxiliar no entendimento das curvas de polarização, uma vez que estabelecem o ponto ótimo de funcionamento das BC, demarcado pelo seu ponto de maior geração de potência, *plotado* individualmente para cada dia. Este valor de potência é dado pela equação (III):

$$P = R \cdot I^2 \quad \text{(III)}$$

A potência (P) é resultante do produto entre resistência (R) e corrente (I) ao quadrado e é colocada no eixo das ordenadas, com a corrente compondo o eixo das abscissas. Através dos valores de potência elétrica para diferentes valores de resistência e corrente, é possível observar o ponto ótimo das biocélulas, caracterizado pelo pico delas. A seguir, na Figura 25 mostram-se as curvas de potência produzidas por T-0 em A), T-1 em B), T-2 em C) e T-3 em D).

Figura 25 – Curvas de potência analisando os meios de cultura para T-0 (BC sem tratamento no bioânodo) A), T-1 (BC com adição de solução contendo EM's) B), T-2 (BC com adição de solução contendo meio de cultura PDA e solução contendo EM's) C) E T-3 (BC com adição de solução contendo meio de cultura YM e solução contendo EM's) D).



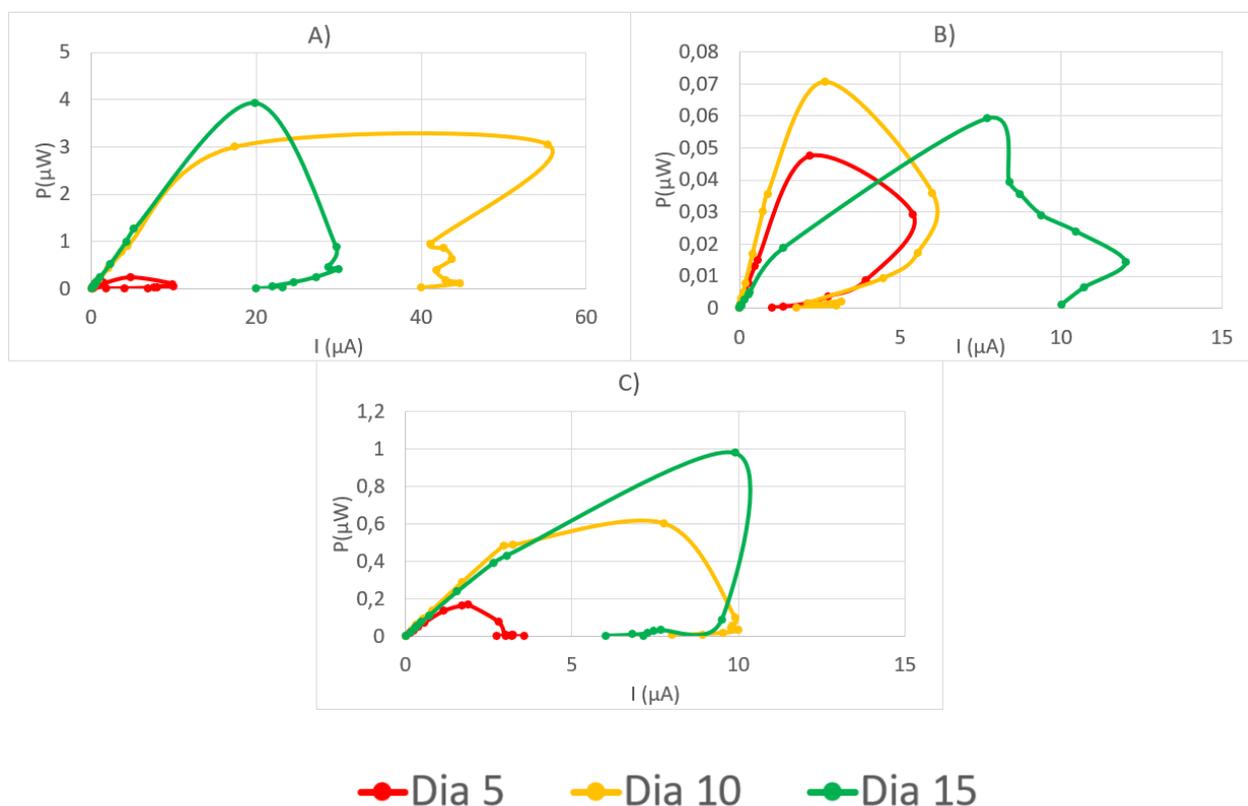
● Dia 5 ● Dia 10 ● Dia 15

Fonte: Autoria própria, 2023.

Observa-se que em T-2 (Figura 25 C) e T-3 (Figura 25 D), os valores ultrapassam os 2 nW de potência, chegando em T-3 a 43,26 nW de potência no dia 15 de análise, enquanto T-0 (Figura 25 A) e T-1 (Figura 25 B) não ultrapassam 1 nW de potência.

Novamente a corrente gerada por cada biocélula tende a crescer de T-0 a T-3, no entanto a potência diferente das tensões apresentadas nas curvas de polarização segue um aumento, em que novamente T-3 se mostra a BC com maior valor analisado.

Figura 26 – Curvas de potência analisando diferentes fontes de carbono para T-3.1 (BC com meio de cultura YM e amido a 100 mM) A), T-3.2 (BC com meio de cultura YM e acetato a 100 mM) B) e T-3.3 (BC com meio de cultura YM e glicose a 100 mM) C).



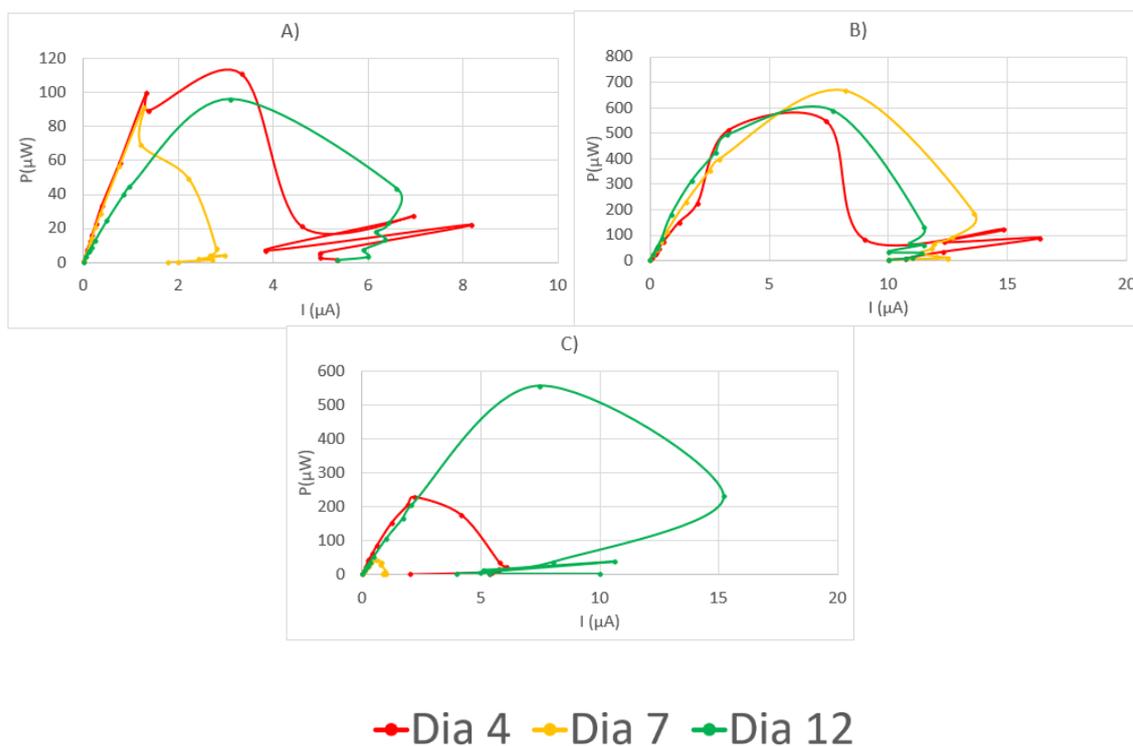
Fonte: Autoria própria, 2023.

Para as curvas de potência apresentadas na Figura 26, nota-se a biocélula T-3.1 (Figura 26 A), com valores de aproximadamente 3,94 μW de potência e 55,3 μA de corrente, seguido por T-3.3 (Figura 26 C), com 0,98 μW de potência e 10 μA de corrente. Por fim, T-3.2 (Figura 26 B) apresentou valores de 0,07 μW de potência e 12 μA de corrente. Nas curvas de potência, tal como se mostra nas curvas de polarização, os maiores valores de potência gerados vêm das biocélulas com fontes de carbono amido e glicose, respectivamente.

Nota-se maior semelhança nas curvas de potências das biocélulas com esses substratos, em que pode ser visto um salto na produção de potência do quinto (0,00423 μW para T-3 e 0,23 μW para T-3.1) para o décimo (0,0106 μW para T-3 e 3 μW para T-3.1) e décimo quinto dia (0,04326 μW para T-3 e 3,93 μW para T-3.1), o

que pode servir de justificativa para afirmar que os microrganismos foram capazes de metabolizar estas fontes de carbono. Por outro lado, quando analisada a curva de potência de T-3, existe menos variação nos valores obtidos. Quando aplicado o eletrólito nas BC, a geração de potência por elas gerada, foi alterada como observado na Figura 27 A) para TA-3.1, B) para TB-3.1 e C) para TC-3.1.

Figura 27 – Curvas de potência analisando as triplicatas das BC com eletrólito tamponado de fosfato para TA-3.1 A), TB-3.1 B) e TC-3.1 C).

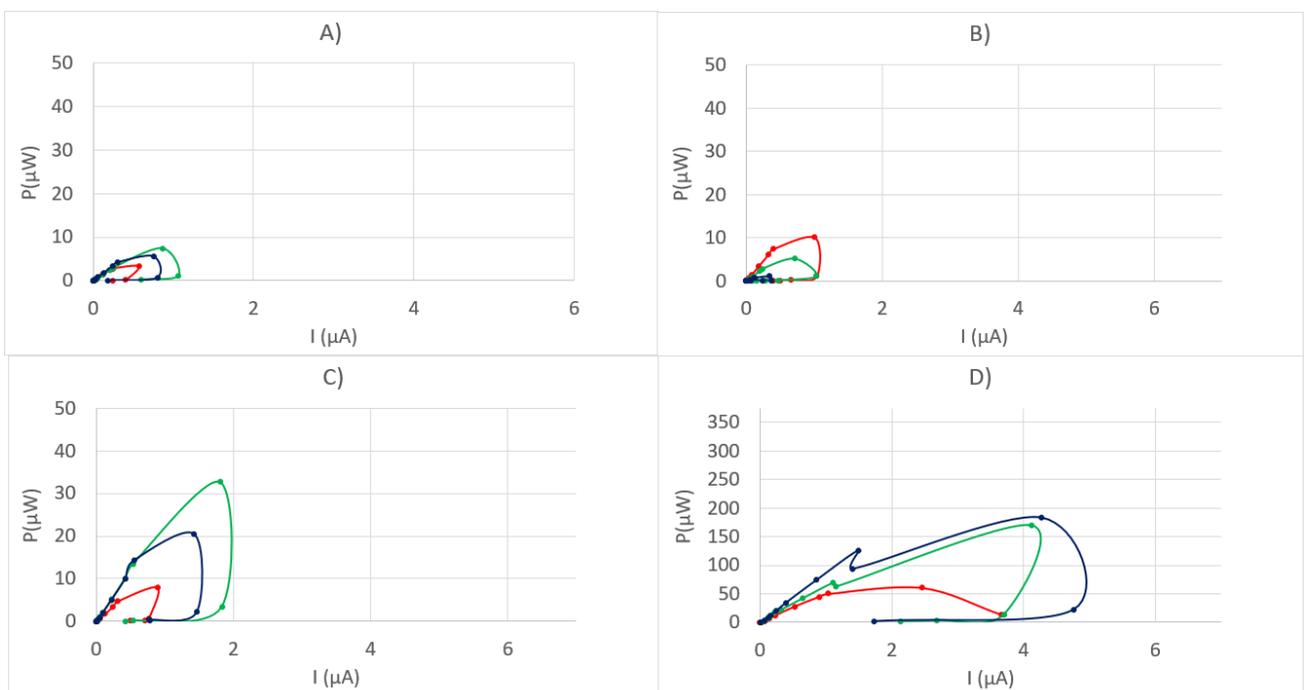


Fonte: Autoria própria, 2023.

As curvas de potência na Figura 27 mostram como se divergiram seus comportamentos, tendo ótimos com valores diferentes, como TA-3.1 (110,89 μW) no dia 4, TB-3.1 (667,49 μW) no dia 7 e TC-3.1 (555,03 μW) no dia 12. Nota-se o aumento de potência gerada das BC analisando as fontes de carbono T-3.1 (BC contendo meio de cultura YM e amido 100 mM), T-3.2 (BC contendo meio de cultura YM e acetato 100 mM) e T-3.3 (BC contendo meio de cultura YM e glicose 100 mM) para a que combina este com tampão fosfato. O comportamento das curvas permanece similares em questão de forma, mas é possível observar que TB-3.1 gerou maior potência que as demais, não só da presente etapa, mas também

comparada as anteriores. Por fim, foram produzidas as curvas de potências para as triplicatas de BCA à BCKCI100 vistas Figura 18.

Figura 28 - Curvas de potência analisando a aplicação de KCl enquanto eletrólito em diferentes concentrações, onde pode-se ver BCA (BC em cerâmica adicionada de água destilada A), BCKCI1 (BC em cerâmica adicionada de eletrólito KCl a 1 mM) B), BCKCI10 (BC em cerâmica adicionada de eletrólito KCl a 10 mM) C) e BCKCI100 (BC em cerâmica adicionada de eletrólito KCl a 100 mM) D).



—●— Dia 2 —●— Dia 7 —●— Dia 9

Fonte: Autoria própria, 2023.

Das triplicatas BCA às BCKCI100 (Figura 28 A) a D) respectivamente), existe aumento na potência máxima gerada, progredindo de $7,4 \pm 9,34 \mu W$ à $182,61 \pm 205,29 \mu W$ para as respectivas. O máximo valor de potência foi obtido em dias variados, o que evidencia que as BC divergiram quanto ao ponto ótimo de operação. Vê-se que a maior potência gerada em BCA (Figura 28 A) foi no dia 7, enquanto para as BCKCI1 (Figura 28 B), BCKCI10 (Figura 28 C) e BCKCI100 (Figura 28 D) foram nos dias 2, 7 e 9 respectivamente.

É possível notar que houve mínimo aumento na geração de potência das BCA para as BCKCI1, em que apenas a curva promovida pelo dia 2 ultrapassa a potência gerada pelas curvas de BCA, com pico de $7,4 \pm 9,34 \mu\text{W}$ com corrente máxima produzida de $1,07 \pm 0,87 \mu\text{A}$ no sétimo dia e não apresentam aumento linear de potência gerada, sendo o dia 2, aquele com máxima potência e o dia 7, aquele com a segunda maior curva de potência gerada. Considera-se que as curvas de potência para as BCKCI1, assim como as suas curvas de polarização, apresentam decréscimo nos valores produzidos, baseado no fato de que a maior curva de potência foi gerada no primeiro dia de análise (dia 2) e o menor curva, no último dia (dia 9).

De posse destes resultados afirma-se que as análises BCKCI1 foram superiores às BCA, fato reforçado pelos demais dados obtidos no decorrer do experimento para as curvas de potência apresentarem valores inferiores a todos os resultados obtidos pelas BCA, sendo o dia 2, o único que contém uma curva de potência que ultrapassa as demais curvas apresentadas pelas BCA. As curvas de potência presentes para as BCKCI10 têm valores acentuados com corrente em torno de $1,43 \pm 0,56$ a $1,81 \pm 0,78 \mu\text{A}$. O dia 7 apresenta o ponto ótimo de funcionamento das biocélulas. Pelas curvas de potência apresentadas na Figura 18 D), atesta-se que o dia 9 foi o dia ótimo de produção de energia, visto que sua curva de potência ultrapassa facilmente as demais, chegando a um pico de potência de $182,61 \pm 205,29 \mu\text{W}$.

A respeito das curvas de potência, Benavides (2021) apresenta valores de até $68 \mu\text{W}$ no primeiro dia de análise para biocélula construída sem tratamento em bioânodo. Carminati (2021) apresenta até $150 \mu\text{W}$ de potência máxima nas cMFC, enquanto no presente trabalho, as BCKCI100 geraram valores de potência na ordem de $182,61 \mu\text{W}$. L

3.10 medidas de pH e Condutividade

Tabela 1 – pH e condutividade (mS/cm) das BC utilizando solução contendo EM's.

Biocélula	pH	Condutividade (mS/cm)
T-0	5,70	71,84
T-1	5,54	62,94
T-2	5,52	82,67
T-3	5,64	95,6
T-3.1	5,82	126,2
T-3.2	8,08	188,8
T-3.3	6,20	83,19
TA-3.1	7,09	9.886,21.10 ⁶
TB-3.1	7,07	8.710,21.10 ⁶
TC-3.1	6,87	8.855,9.10 ⁶

Fonte: Autoria própria, 2023.

O potencial hidrogeniônico é uma medida utilizada para se verificar através de um eletrodo embebido em uma determinada solução de interesse, o seu teor de acidez ou alcalinidade (Andrade, 2010), se utilizando de uma escala que vai de 1 a 14, sendo 1 o valor mais ácido e 14 o valor mais básico (alcalino).

Quando finalizadas cada etapa de experimento de biocélula, uma quantidade de amostra do solo analisado foi coletada para se realizarem experimentos de pH e condutividade. A Tabela 1 apresenta os valores obtidos para cada biocélula em cada etapa. Dentro do primeiro experimento efetuado, nota-se a tendência de que o aumento de potencial das biocélulas está atrelado a diminuição do pH, já que se supõe que a diminuição do pH se deve a maior deposição de H⁺, relacionada ao aumento de geração de energia da biocélula, como demonstrado nas reações (I) e

(II) e aumento da condutividade relacionado à inserção do eletrólito fosfato tamponado.

T-0 apresenta maior condutividade que T-1, o que pode ter ocorrido nesta situação é a deposição de H^+ na amostra de solo, mas que não foi devidamente recebida pelo cátodo e convertida em energia, por isso a amostra se apresentou mais condutiva, mas com potenciais menores quando se observam as curvas de polarização e potencial de circuito aberto. T-2 teve pH inferior às anteriores com condutividade e potencial mais elevados, o que indica não houve apenas deposição, mas também recepção do H^+ pela parcela catódica. T-3 possuiu maior de potencial e condutividade medidos.

O que pode justificar o valor de pH desta amostra, é o tipo de meio de cultura utilizado, que quando medido apresenta valores de pH nas proximidades de 7, o que poderia ocasionar numa maior basicidade da amostra, uma vez que a biocélula fora reidratada e misturada diariamente, inevitavelmente misturando uma certa quantidade de meio e EM's pela biocélula.

Visando compreender os valores obtidos para a segunda etapa do projeto, algumas hipóteses para justificar os resultados foram levantadas. T-3.1 foi definida como mais bioeletroquimicamente eficiente no fornecimento de potencial quando comparadas às amostras T-3.2 e T-3.3, além de também ter capacidade de manter tais valores por mais tempo que as demais. O pH desta se mostra o mais ácido dentre as comparadas, o que indica novamente maior deposição de H^+ no meio atrelado a valores consideráveis de condutividade.

T-3.2 por outro lado apresenta valor básico de pH, além da maior condutividade, quando comparada às biocélulas T-3.1 e T-3.3. Se supõe que a basicidade da amostra se caracteriza devido à natureza da solução de acetato a 100 mM a este adicionada, que libera sódio que se liga ao oxigênio e ao hidrogênio presentes na amostra, formando NaOH, o que torna seu meio mais básico, enquanto que a condutividade dela se mostra maior que a de T-3.1, o que poderia indicar maior potencial que esta outra, no entanto, T-3.2 não obteve capacidade de manter altos valores de potencial e por isso não pôde ser definida como maior fornecedora de potencial, potência ou corrente. Acetato se provou uma boa fonte de carbono,

mas incapaz de se manter. Por fim T-3.3obteve um pH intermediário ao de T-3.2 e T-3.1, tal como obteve menor condutividade, o que resultou em biocélula com geração de energia intermediária entre T-3.2 e T-3.1.

Para a última etapa em que se testou tampão fosfato, há maior valores de condutividade e pH apresentados, fatos que se devem à sua adição, já que dentro deste experimento, estas foram as suas funções. Quando adicionadas estas quantidades exatas, o valor de pH da solução se encontra tamponado em 7.

Além disso, dado o valor de pH, este se considera como ótimo para a grande maioria da população microbiana, o que favorece seu crescimento, além de através desta solução ter havido a formação de eletrólito para a amostra, o que aumentou especialmente os valores de condutividade desta etapa se comparada às anteriores, onde a diferença se encontra na ordem de 10^6 , com valores entre 8.710,21 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 9.886,21.10⁶ $\mu\text{S}/\text{cm}$. Vale destacar que a adição do fosfato de sódio culminou em resultados satisfatórios quanto a sua função, já que apresentou valores de pH na faixa entre 6,87 e 7,09, o que mostra sua eficiência tamponante dentro do sistema.

Tabela 2 – pH e condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) das BC em cerâmica.

Biocélula	pH	Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
Matriz	6,65	221,4739
BCA	5,91 \pm 0,14	459,33067 \pm 52,72
BCKCI1	6,57 \pm 0,11	573,74 \pm 149,44
BCKCI10	6,29 \pm 0,10	767,83 \pm 144,05
BCKCI100	5,71 \pm 0,10	5921,55 \pm 934,6

Fonte: Autoria própria, 2023.

Para verificar o teor de acidez ou basicidade do solo utilizado, comparou-se o valor original (matriz) com as demais análises conduzidas (BCA, BCKCl1, BCKCl10 e BCKCL100) para cada uma das triplicatas. Medido com auxílio de aparelho chamado pH metro digital, os valores obtidos podem ser vistos na Tabela 2.

Para todos os experimentos, o valor do pH não variou significativamente, sendo justificado pelo fato de não ter havido a inserção de qualquer solução que fora previamente ácida ou pudesse vir a reagir com algo no meio, compondo um produto de reação ácida. No entanto, através dos valores obtidos e suas mínimas variações, pode-se traçar um paralelo com a produção de energia dentro de uma biocélula combustível, tendo em vista que esta funciona através do transporte de íons H^+ que atravessam o ânodo e se encaminham em direção ao cátodo através de uma membrana, desta forma, quanto maior a quantidade de íons H^+ , maior a produção de energia pela biocélula.

Valores mais próximos de 7 (pH neutro), ou seja, determinada como condição-padrão favorecem o metabolismo microbiano daqueles microrganismos denominados neutrófilos (pH ótimo entre 5,5 e 7,9) (Madigan, *et al.*, 2016), fornecendo condições ótimas para seu crescimento e desenvolvimento. É possível verificar, portanto, que a microbiota presente no meio analisado é de natureza neutrófila, uma vez que o pH não passa de nenhum dos extremos delimitados. Embora este ambiente seja considerável ótimo para os microrganismos presentes no solo, afirma-se que o melhor ambiente para cultivar musgos *Sphagnum* sejam ambientes ácidos como afirmado por Hájková e Hájek (2004, 2007).

Para que se possa então traçar um delineamento experimental satisfatório para microbiota do solo e as briófitas presentes no mesmo, deve-se fazê-lo em ambiente intermediário, cuja acidez seja suficiente para que os musgos possam prosperar, no entanto permaneça dentro do *range* dos neutrófilos. As BCKCl100 são as biocélulas com pH mais ácido dentre as demais, chegando ao menor valor obtido dentre todas as análises, 5,61.

Combinado ao fornecimento da solução com maior concentração de KCl, foram capazes de gerar os maiores valores de potencial, corrente e potência, possuindo, portanto, alta condutividade, também devido ao fornecimento desta

solução, que no presente experimento possuiu o papel de fornecer eletrólito à biocélula. Sua atividade bioeletroquímica foi responsável pela liberação de mais íons H⁺ quando comparadas as demais biocélulas, o que causou a acidificação no meio introduzido, favorecendo o desenvolvimento dos musgos.

Afirma-se, atrelando os valores de pH e condutividade, que as biocélulas BCKCI100 possuem o ambiente mais apropriado para cultivar os musgos *Sphagnum* combinados aos microrganismos de solo, obtendo um pH que favoreça a ambos, em uma faixa intermediária, em que estes por sua vez, contribuirão para geração de energia, possuindo valores na ordem de 5161 a 6965 μ S, comparável com os demais valores apresentados para cada triplicata na Tabela 2, presente na próxima página.

3.11 Composição química do solo das BC em cerâmica

Tabela 3 –Composição química do solo das BC em cerâmicas após a finalização do experimento.

Biocélula	PO ₄	K	N-NO ₂	N-NO ₃	N-NH ₃	N
BCA	10 ± 0	25 ± 0	0,43 ± 0,11	14 ± 9,64	20 ± 10	34,43 ± 14,89
BCKCI1	17,5 ± 0	25 ± 0	0,3 ± 0	8 ± 1,73	6,67 ± 2,89	14,97 ± 2,51
BCKCI10	20 ± 0	200 ± 0	0,37 ± 0,11	4,33 ± 2,3	5 ± 0	9,7 ± 2,25
BCKCI100	28,33 ± 2,89	433,33 ± 57,73	0,1 ± 0	1,67 ± 1,15	26,67 ± 5,77	28,43 ± 4,62

Fonte: Autoria própria, 2023

Um dos principais fertilizantes é aquele que fornece os macronutrientes primários como nitrogênio, fósforo e potássio também chamado de NPK (Trage, 2019). Desta forma, diante do que foi oferecido como método de análise pelo kit da

Alfakit, foram coletadas amostras dos solos utilizados para cada biocélula, mensurando teores de fosfato (PO_4), potássio (K), nitrito (N-NO_2), nitrato (N-NO_3), amônia (N-NH_3) e nitrogênio total mineral (N) em mg.Kg^{-1} sendo este contabilizado a partir da soma das parcelas medidas de nitrito, nitrato e amônia.

Os teores de PO_4 são visivelmente crescentes das BCA até as BCKCl100. Sendo considerado que o solo utilizado foi o mesmo para todas as biocélulas, seu teor inicial deve ser considerado o mesmo, tendo variado ao final das análises por conta das alterações que ocorreram no meio devido às adições de diferentes concentrações de eletrólito.

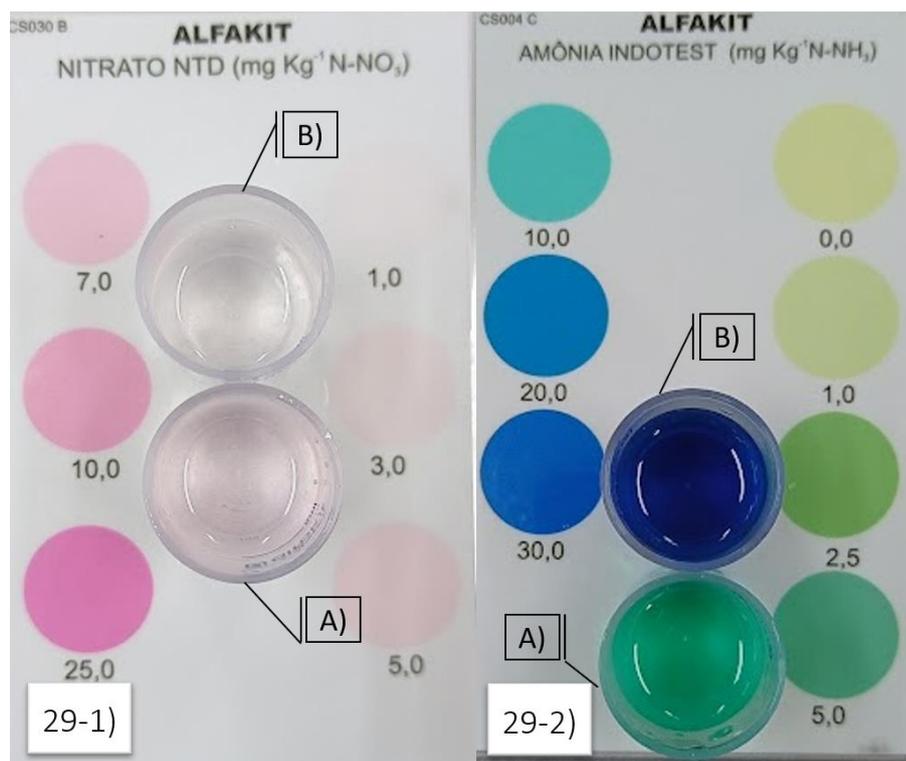
De acordo com Jorge *et al.*, (2020), o fosfato em diferentes estruturas químicas pode ser utilizado para estabelecer vigor aos sistemas radiculares, embora não seja o caso de os musgos possuírem sistemas radiculares constituídos por rizosfera propriamente dita, realizam contato com o solo ao qual foram introduzidos. Durante o processo de preparação do solo para que fossem feitas as análises colorimétricas, pequenos fragmentos dessecados de musgo foram constituintes do elemento filtrado, o que causou o aumento no teor de fosfato nas análises. É possível observar, portanto, que a quantidade de KCl no meio não impactou negativamente o vigor dos musgos.

O aumento das quantidades de K não se mostram significativas das BCA para às BCKCl1, tendo em vista que a concentração molar do eletrólito (KCl) utilizada nesta última foi de 1 mM. Das BCKCl1 às BCKCl100, há aumento significativo de potássio, já que a quantidade de KCl passa a ser de 10 mM até 100 mM. Nota-se a veracidade dos resultados obtidos através de sua verificação, em que a quantidade de K mais que dobrou das BCKCl10 para as BCKCl100.

Existe diminuição nas quantidades de N-NO_2 e N-NO_3 como visto na Figura 20, ao passo que se utilizam maior quantidade de KCl de 0 mM, para 1 mM, para 10 mM, para 100 mM. Não se pode afirmar que a quantidade KCl causou a diminuição de nitrito e nitrato. O que de fato ocorreu foi o aumento no consumo de nitrogênio nestas estruturas por parte dos musgos e microrganismos de solo, quanto maior a geração de energia das biocélulas. O aumento de N é causado pela alta quantidade de amônia no meio, uma vez que como observado, as quantidades de nitrito e

nitrato nessas biocélulas é mínima, sendo assim, existe grande quantidade de nitrogênio nas BCKCl100, no entanto, em forma de amônia, sendo o maior nutriente que contém nitrogênio consumido pelos microrganismos de solo e os musgos.

Figura 29 – Resultados colorimétricos acerca do teor de nitrato 29-1) e amônia 29-2) nas biocélulas 10-1 A) e 100-2 B).



Fonte: Autoria própria, 2023.

O papel do KCl foi o de fornecer eletrólito à biocélula, carregando as cargas, que fica entre os eletrodos (Junior *et al.*, 2022). Quanto maior a quantidade de eletrólito no meio, maior a quantidade de íons H⁺ a serem transportados de um terminal a outro, quando se leva em consideração uma biocélula do tipo PEMFC. Nesta estrutura, o K atua como a carga a ser transportada pela membrana até o terminal positivo, resultando em H⁺ livres para que possam se ligar ao nitrogênio do solo no meio, sendo transformado em amônia, desta forma pode-se justificar o aumento deste nutriente ao passo que se aumenta a quantidade de KCl no meio.

Para as BCA, existem as maiores quantidades de nitrogênio total mineral, como se observa. É visível que ambas também possuem a maior quantidade de

nitrato, o que culmina ao aumento do nitrogênio. Essa quantidade de nitrogênio vista diminui para as BCKCl1 e BCKCl10, no entanto, aumentam novamente nas BCKCl100. A Figura 29-2 mostra como a amônia aumentou significativamente das biocélulas BCKCl10 (Figura 29-2 A) para as BCKCl100 (Figura 29-2 B).

Diferentes culturas microbianas cresceram na superfície das biocélulas cerâmicas e nem as BC com 100 mM de eletrólito KCl inibiram o crescimento microbiano nas paredes da biocélulas cerâmicas, como se pode ver na Figura 30, nela é possível observar três diferentes tipos de culturas no construtivo.

Figura 30 – Diferentes culturas desenvolvidas ao redor do construtivo das biocélulas cerâmicas, em que 30 A) apresenta cultura branca e cristalina na parte externa das biocélulas, marcadas pelo círculo vermelho, 30 B) mostra cultura verde escura e 30 C) com esporos brancos na parte interna das biocélulas.



Fonte: Autoria própria, 2023.

4 CONCLUSÃO

A adição de meio de cultura YM foi o que mais favoreceu a formação de biofilme no bioânodo, em que combinado com a fonte de carbono amido 100 mM, resultou nos maiores valores de potencial (243,9 mV), corrente (55,3 μ A) e potência (3,94 μ W), que foram gerados pela biocélula T-3.1. A adição de eletrólito tamponado fosfato 100 mM nas BC com EM's causou efeito negativo, por favorecer a formação de matéria orgânica em excesso, causando morte de grande parte dos microrganismos. Também se confirma que ao menos uma parcela dos EM's são exoeletrogênicos, capazes de doar e^- ao bioânodo, portanto podem eletrificar uma biocélula a combustível microbiana.

A utilização de microrganismos diretamente do solo combinados aos musgos *Sphagnum* nas BC cerâmicas adicionadas de eletrólito KCl 100 mM surtiu efeito positivo na geração de energia, gerando até $182,61 \pm 205,29 \mu\text{W}$ de potência, $87,03 \pm 69,02 \text{ mV}$ de potencial e $4,76 \pm 3,48 \mu\text{A}$ de corrente, superando as demais BC cerâmicas sem adição de eletrólito ou com a adição em concentrações inferiores. Quando comparadas, BCKCl100 é inferior à T-3.1 considerando quantidade de energia gerada.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Rubens Moreira. **Otimização de Ânodos para Célula a Combustível de Óxido Sólido Fabricados por Colagem de Fitas**. 2014. Tese (mestrado em Química) – Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. Disponível em: < https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/SFSA-9M4N6G/1/disserta__o_553.pdf>. Acesso em: 21 jun. 2023.

ANDRADE, Fernanda Maria Coutinho. **Caderno dos microorganismos eficientes (E.M.): instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM**. 3. ed. Viçosa - MG: UFV, IPPDS, 2020.

ANDRADE, João Carlos de. Química Analítica Básica: Os conceitos acido-base e a escala de pH. **Chemkeys – Liberdade para aprender**, [s./], n. 1, p. 1-6, 2010. Disponível em: < <https://econtents.bc.unicamp.br/inpec/index.php/chemkeys/article/view/9642/5061>>. Acesso em: 22 jun. 2023.

AVILA, Giovani Mansani de Araujo; GABARDO, Gislaiane; CLOCK, Djalma Cesar; JUNIOR, Osmair Silva de Lima. Use of efficient microorganisms in agriculture. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 10, n. 8, p. 1- 13, 2021. Disponível em: < <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/17515/15641>>. Acesso em: 20 jun. 2023.

BASCHUK, J.J; LI, Xianguo. Carbon Monoxide Poisoning of Proton Exchange Membrane Fuel Cells. **International Journal of Energy Research**, v.25, n. 8, p. 695-713, 2001. Disponível em: < https://www.researchgate.net/publication/227495160_Carbon_Monoxide_Poisoning_of_Proton_Exchange_Membrane_Fuel_Cells>. Acesso em: 19 jun. 2023.

BENAVIDES, Igor Augusto Sávio Seclen. **Desenvolvimento de Biocélulas a Combustível Microbianas Para Geração de Energia Elétrica em Sistemas de Sensoriamento Autônomo**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado

em Engenharia de Biosistemas) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Avaré, 2021. Disponível em: < https://avr.ifsp.edu.br/images/pdf/Eng_Biosistemas/banco_tcc/TCC_Igor_Augusto_Savio_Seclen.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2023.

BOMBELLI, Paolo; DENNIS, Ross J; FELDER, Fabienne; COOPER, Matt B; LYER, Durgaprasad Madras Rajaraman; ROYLES, Jessica; HARRISON, Susan T. L; SMITH, Alison. G; HARRISON, C Jill; HOWE, Christopher J. Electrical Output of Bryophyte Microbial Fuel Cell System is Sufficient to Power a Radio or an Environmental Sensor. **Royal Society Open Science**, v. 3, p.1-15, 2016. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27853542/>>. Acesso em: 20 jun. 2023.

BONFIN, Carolina Souza. **Desenvolvimento de biocélulas a combustível de Etanol/O₂**, 2018, Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de química, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. Disponível em: < <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/59/59138/tde-04122018-163105/publico/carolinabonfimresumida.pdf>>. Acesso em: 21 jun. 2023.

BORBA Maria Cristina Vidal; GASPAR Neide Ferreira. **Um futuro com energia sustentável: iluminando o caminho**. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo; tradução. – [São Paulo]: FAPESP; [Amsterdam]: InterAcademy Council; [Rio de Janeiro]: Academia Brasileira de Ciências, 2010. 300 p. Disponível em: < <https://fapesp.br/publicacoes/energia.pdf>>. Acesso em: 18 jun. 2023.

CARMINATI, Letícia Favero. **Desenvolvimento de biocélulas a combustível microbianas de cerâmica para geração de energia elétrica por urina**, 2021. Trabalho de conclusão de curso (bacharel em Engenharia de Biosistemas) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Avaré, 2021.

CHAGAS, Laura Gonçalves da Silva. **Formação de Biofilmes Microbianos em Diferentes Materiais para Equipamentos de Ordenha em Fazenda Leiteira**, 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de

Uberlândia, Uberlândia. Disponível em: <
<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/13149>>. Acesso em: 20 jun. 2023.

CHIRANJEEVI, P; YERUVA, Dileep Kumar; KUMAR, A. Kiran; MOHAN, S. Venkata; VARJANI, Sunita. Plant-Microbial Fuel Cell Technology. **Microbial Electrochemical Technology**. India, [s.l], p. 549-564, 2019. Disponível em: <
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780444640529000224?via%3Dihub>>. Acesso em: 25 jun. 2023.

CRUZ, Miriam-Marisol Tellez; ESCORIHUELA, Jorge; FERIA, Omar Solorza; COMPAÑ, Vicente. Proton Exchange Membrane Fuel Cells (PEMFCs): Advances and Challenges. **Polymers**, [s.l], v. 13, n. 18, p. 1-54, 2021. Disponível em: <
<https://www.mdpi.com/2073-4360/13/18/3064>>. Acesso em: 08 nov. 2023.

EPE [Empresa de Pesquisa Energética]. **Relatório Síntese 2022: ano base 2021**. Disponível em: <
https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-675/topico-631/BEN_Síntese_2022_PT.pdf>. Acesso em: 18 jun. 2023.

FARIAS, Sabrina Peres. **Determinação das condições de hidrólise enzimática e rendimento de etanol da fração amilácea de cultivares de arroz**, 2015, Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande. Disponível em: <
<https://repositorio.furg.br/handle/1/8879>>. Acesso em: 22 jun. 2023.

FLORIO, D. Z.; FONSECA, F. C.; MUCCILLO, E. N. S.; MUCCILLO, R. Materiais Cerâmicos para Células a Combustível, **Cerâmica**, São Paulo, v. 50, n. 316, p. 275-290, 2004. Disponível em: <
<http://repositorio.ipen.br/bitstream/handle/123456789/5688/10475.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 18 jun. 2023.

GONÇALVES, Matheus de Paula. **Caracterização da Cac PEM 500 W do Labmater (UFPR-Setor Palotina) Alimentada à H₂: Obtenção da Curva de**

Polarização, 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia de Energia) – Universidade Federal do Paraná, Palotina. Disponível em: < https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/72076/MATHEUS%20DE%20PAULA%20GONCALVES_TCC_Engenharia%20de%20Energia_2020_2.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 22 jun. 2023.

GOOR, Meital; MENKIN, Svetlana; PELED, Emanuel. High Power Direct Methanol Fuel Cell for Mobility and Portable Applications. **International Journal of Hydrogen Energy**, Isarel, v. 44, n. 5, p. 3138-3143, 2019. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0360319918339223?via%3Di> hub>. Acesso em: 18 jun. 2023.

GUANG, Li; KOOMSON, Desmond Ato; JINGYU, Huang; MENSAH-EWUSI, David; MIWORNUNYUIE, Nicholas. Performance of Exoelectrogenic Bacteria Used in Microbial Desalination Cell Technology. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 1-12, 2020. Disponível em: < <https://www.mdpi.com/1660-4601/17/3/1121>>. Acesso em: 20 jun. 2023.

HÁJKOVÁ, Petra; HÁJEK, Michal. Bryophyte and Vascular Plant Responses to Base-Richness and Water Level Gradients in Western Carpathian *Sphagnum*-Rich Mires. **Folia Geobotanica**, Czech Republic, v. 39, p. 335-351, 2004. Disponível em: < <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02803207>>. Acesso em: 21 jun. 2023.

HÁJKOVÁ, Petra; HÁJEK, Michal. *Sphagnum* Distribution Patterns Along Environmental Gradients in Bulgaria. **Journal of Bryology**, Czech Republic, v. 29, p. 18-26, 2007. Disponível em: < <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1179/174328207X160577>>. Acesso em: 21 jun. 2023.

JORGE, Marçal Henrique Amici; MELO, Raphael Augusto de Castro e; RESENDE, Francisco Vilela; COSTA, Edilson; SILVA, Juscimar da; GUEDES, Ítalo Moraes Rocha. **Informações Técnicas Sobre Substratos Utilizados na Produção de Mudanças de Hortaliças**. Brasília, DF: Embrapa, 2020. Disponível em: <

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/216955/1/DOC-180-18-set-2020.pdf>>. Acesso em: 23 jun. 2023.

JUNIOR, Silvio Gentil Jacinto; QUINTELLA, Solange Assunção; ALVES, Daniela Ribeiro; CONDE, Ivo Batista; CASTRO, Janevane Silva; LEITINHO, Janaina Lopes. Células a Combustível: possibilidades e limitações. **Research, Society and Development**, [s.l.], v. 11, n. 5, p. 1-10, 2022. Disponível em: < <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/28522>>. Acesso em: 23 jun. 2023.

KHAN, Kamrul Alam; HASAN, Mahmudul; ISLAM, Mohammad Ashraful; ALIM, Mohammad Abdul; ASMA, Ummay; HASSAN, Lovelu; ALI, M Hazrat. A study on Conventional Energy Sources for Power Production. **International Journal of Advance Research and Innovative Ideas in Education (IJARIE)**, Dhaka, v. 5, n. 4, p. 126-134, 2019. Disponível em: < <https://11nq.com/BISLK>>. Acesso em: 21 jun. 2023.

LOGAN, Bruce E. Exoelectrogens. *In*: **Microbial Fuel Cells**. New Jersey: Wiley, 2007. cap 2, p. 12-28.

MADIGAN, Michael T.; MARTINKO, John M.; BENDER, Kelly S.; BUCKLEY, Daniel H.; STAHL, David A. Microbiologia molecular. *In*: **Microbiologia de Brock: 14ª edição**. Porto Alegre: Artmed, 2016. Cap 4, p. 107-176.

NETO, Sidney de Aquino. **Preparação e caracterização de bioanodos para biocélula a combustível etanol/O₂**, 2012, Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. < https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/59/59138/tde-29102012-155525/publico/TESE_SIDNEY_DE_AQUINO_NETO_VERSAO_COMPLETA.pdf>. Acesso em: 19 jun. 2023.

OLIVEIRA, Patricia da Silva Pagetti de. **Estudo de Confiabilidade das Células a Combustível do Tipo PEM Produzidas no IPEM – CNEN/SP. 2014**. Tese

(doutorado em tecnologia nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo. Disponível em: < <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85134/tde-27062014-110029/publico/2014OliveiraEstudo.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2023.

SANTORO, Carlo; ARBIZZANI, Catia; ERABLE, Benjamin; IEROPOULOS, Ioannis. Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review, **Journal of Power Sources**, [s.l.], v. 356, p. 225-244, 2017. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28717261/>>. Acesso em: 18 jun. 2023.

SANTORO, Thais Aranha de Barros. **Estudo Tecnológico de Células a Combustível Experimentais a Membrana Polimérica Trocadora de Prótons**. 2004, Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares na Universidade, São Paulo. Disponível em: < <http://repositorio.ipen.br/bitstream/handle/123456789/11174/09831.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 23 jun. 2023.

TAVARES, Fabiele Collovini. **Desenvolvimento de Eletrólito Gel Polimérico à Base de Xantana para Aplicação em Células Solar Sensibilizada por Corante de Estado Quase Sólido**, 2019, Tese (Doutorado em Ciência dos Materiais) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/199224/001100460.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 19 jun. 2023.

TAWALBEH, Muhammad; ALARAB, Suma; AL-OTHMAN, Amani; JAVED, Rana Muhammad Nauman. The operating Parameters, Structural Composition, and Fuel Sustainability Aspects of PEM Fuel Cells: A Mini Review. **Fuels**, United Arab Emirates, v. 3, p. 449-474, 2022. Disponível em: < https://www.researchgate.net/publication/362472208_The_Operating_Parameters_Structural_Composition_and_Fuel_Sustainability_Aspects_of_PEM_Fuel_Cells_A_Mini_Review>. Acesso em: 19 jun. 2023.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. **Manual de Métodos de Análise de Solo: 3ª Edição Revista e ampliada**. Brasília, DF: Embrapa, 2017.

THOMAS, Dylan. **In Country Sleep: And Other Poems**. Edição original. Universidade de Michigan: James Laughlin, 1952, 34p.

TRAGE, Dayane Regina. **Estudo do mercado de fertilizantes no Brasil por meio de previsões estatísticas**. 2019, monografia (Bacharel em Engenharia de Produção) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira. Disponível em: <
<https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/12890/1/mercadofertilizantesprevisoesestatisticas.pdf>>. Acesso em: 23 jun. 2023.

TRINDADE, Letícia Guerreiro da. **Membranas Poliméricas para Células a Combustível: Estudo de Resinas Trocadoras de Íons Combinadas a Líquidos Iônicos**. 2015. Tese (doutorado em Química) – UFRS, Porto Alegre. Disponível em: <
<https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/117637/000966417.pdf?sequence>>. Acesso em: 21 jun. 2023.

TSUCHIYA, Haruki; KOBAYASHI, Osamu. Mass Production Cost of PEM Fuel Cell by Learning Curve. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.29, n.10, p. 985-990, 2004. Disponível em: < <https://www.systemken.com/pem.pdf>>. Acesso em: 18 jun. 2023.

SUZUKI, Luis Cláudio. **Desenvolvimento de biofilme formado por *Candida albicans in vitro* para estudo de terapia fotodinâmica**, 2009. Dissertação (Mestrado em ciência na área de Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares, São Paulo. Disponível em: <
<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85134/tde-17112009-103750/publico/LuisClaudioSuzuki.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2023.

WENDT, Hartmut; GÖTZ. M.; LINARDI, Marcelo. Tecnologia de Células a Combustível. **Química nova**, [s.], v. 23, n. 4, 2000. <<https://www.scielo.br/j/qn/a/NYnZ6bbM7TY6RKRGGTJTmqr/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 19 jun. 2023.