

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA SANITÁRIA E  
AMBIENTAL

AVALIAÇÃO DE UMA CÉLULA A COMBUSTÍVEL  
MICROBIANO COM ELETRODOS DE CARBONO VÍTREO  
RETICULADO

FÁBIO OVENHAUSEN ALBERNAZ

Trabalho submetido à Banca Examinadora como parte  
dos requisitos para Conclusão do Curso de Graduação  
em Engenharia Sanitária Ambiental – TCC II.

FLORIANÓPOLIS, (SC)  
AGOSTO/ 2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA SANITÁRIA E  
AMBIENTAL

AVALIAÇÃO DE UMA CÉLULA A COMBUSTÍVEL  
MICROBIANO COM ELETRODOS DE CARBONO VÍTREO  
RETICULADO

FÁBIO OVENHAUSEN ALBERNAZ

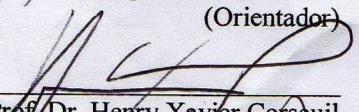
Trabalho submetido à Banca Examinadora como parte  
dos requisitos para Conclusão do Curso de Graduação  
em Engenharia Sanitária Ambiental – TCC II.

BANCA EXAMINADORA:



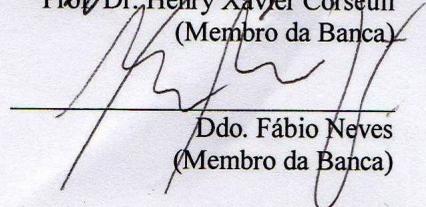
---

Prof. Dr. Henrique de Melo Lisboa  
(Orientador)



---

Prof. Dr. Henry Xavier Corseuil  
(Membro da Banca)



---

Ddo. Fábio Neves  
(Membro da Banca)

FLORIANÓPOLIS, (SC)  
JULHO/ 2011



*Embora ninguém possa voltar  
atrás e fazer um novo começo,  
qualquer um pode começar agora  
e fazer um novo fim  
Chico Xavier*

## AGRADECIMENTOS

Acima de tudo, agradeço a Deus, pelo dom da vida.

Aos meus familiares por estarem sempre presentes na minha vida, torcendo pelo meu sucesso.

À minha namorada Flávia pelo apoio e dedicação.

À Maria Antonieta pelo incentivo em todos momentos..

Em especial agradeço ao Prof. Dr. Henrique de Melo Lisboa, pela orientação, ao Prof. Dr. Gérard Perrier pela atenção e orientação, ao Dr. Henry Xavier Corseuil e ao Ddo. Fábio Neves pelas suas contribuições.

Agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

A Célula a Combustível Microbiano é um sistema bioeletroquímico capaz de gerar eletricidade a partir da oxidação de uma variada gama de biocombustíveis, tais como açúcares, proteínas e matéria orgânica. Além de gerar energia, essa alternativa pode eliminar uma parte dos efluentes e resíduos lançados ao meio ambiente.

O presente trabalho avalia a eficiência, a performance e a perda elétrica de uma célula a combustível microbiano, que apresenta uma configuração clássica, um volume de 75ml, e que utiliza eletrodos feitos de carbono vítreo reticulado. baseada no monitoramento do potencial gerado, nas curvas de polarização e nas análises de espectroscopia de impedância. Esses procedimentos concluíram uma eficiência energética de 8%, uma perda elétrica de 4 k $\Omega$  e uma performance sistema que varia de acordo com o estabilização do crescimento da flora eletroquímica sobre a superfície anódica.

**Palavras-chave:** Célula a combustível microbiano, Carbono vítreo reticulado, Flora eletroquímica, Biocombustíveis, Eficiência energética.

## ABSTRACT

The microbial fuel cells is a bioelectrochemistry system capable of generating electricity from the oxidation of a wide range of biofuels, such as sugars, proteins and organic matter. In addition to generating energy, this alternative can eliminate a part of the effluents and wastes released to the environment.

This paper assesses the efficiency, performance and electrical loss of a microbial fuel cell, which features a classic configuration, a volume of 75ml, which uses electrodes made of reticulated vitreous carbon. based on monitoring the potential generated in the polarization curves and impedance spectroscopy analysis. These procedures have concluded an energy efficiency of 8%, a power loss of 4 k $\Omega$  and a performance system that varies according to the stabilization of the growth of electrochemical flora on the anodic surface.

**Keywords:** Microbial fuel cells, Reticulated vitreous carbon, Electrochemical flora, Biofuels, Energy efficiency

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1: Diferentes espécies bacteriológicas presentes no biofilme anódico em biopilhas de duas câmaras. ....	10
Tabela 2: Influência da Temperatura sobre os parâmetros de uma biopilha. ....	18
Tabela 3: Premissas utilizadas para estimar o custo de implantação de uma biopilha.....	20
Tabela 4: Comparação dos custos estimados de diferentes sistemas de tratamento. ....	20
Tabela 5: Potencial do eletrodo de referência em diferentes temperatura .....	26
Tabela 6: Composição do meio eletrolítico anódico.....	29
Tabela 7: Resultado do cálculo de eficiência e rendimento energético da $PCM_F$ .....	49
Tabela 8: Dados do ponto de inflexão da parábola do gráfico 1.....	51
Tabela 9: Valores dos pontos de otimização obtidos através das curvas de polarizações.....	51
Tabela 10: Volares das variáveis do circuito ilustrado na figura 23.....	54

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Princípio de uma Célula a Combustível Microbiano. ....	5
Figura 2: Seis células a combustível microbiano conectadas em série....	7
Figura 3: Estrutura do <i>mousse</i> de carbono.....	9
Figura 4: Estrutura de uma membrana catiônica.....	11
Figura 5: Princípio da elétron-transferência (RABAEY et al., 2005)....	14
Figura 6: Competição entre diferentes espécies bacterianas.....	15
Figura 7: Configuração “ <i>loopin</i> ”.....	17
Figura 8: Estimativa atual e futura do custo de uma biopilha.....	19
Figura 9: Relação da DQO e a densidade de potência de uma biopilha.....	21
Figura 10: Influência da DQO na taxa de DQO removível de uma biopilha.....	22
Figura 11: Circuito que representa a análise de espectrometria de impedância em um biopilha.....	22
Figura 12: Multivoltímetro <i>Data Logger Switch Unit 34970<sup>A</sup></i> .....	25
Figura 13: Eletrodo de Referência de AgCl utilizado .....	26
Figura 14: PCM <sub>F</sub> objeto desta pesquisa .....	27
Figura 15: Mousse mais tecido de carbono .....	28
Figura 16: Montagem da Biopilha PCM <sub>F</sub> .....	29
Figura 17: Circuito externo PCM <sub>F</sub> - primeira etapa de monitoramento .	31
Figura 18: Reostado utilizado.....	31
Figura 19: PCM <sub>C</sub> e PCM <sub>F</sub> .....	33
Figura 20: Circuito externo PCM <sub>F</sub> - Segunda Etapa de Monitoramento....	34
Figura 21: Espectrômetro AUTOLAB e suas diferentes conexões .....	35
Figura 22: Curvas Bode PCM <sub>F</sub> realizadas no dia 01/06/11.....	53
Figura 23: Curva Nyquist proveniente da espectrometria de impedância Global PCM <sub>F</sub> realizada no dia 01/06/11.....	53
Figura 24: Circuito modelado PCM <sub>F</sub> .....	54

**LISTA DE SIGLAS E ABREVIACOES**

AgCl- Cloreto de prata

CCM - Célula a Combustível Microbiano

CVR - Carbono Vítreo Reticulado

DBO - Demanda Biológica de Oxignio

DQO - Demanda Química de Oxignio

F- Número de Faraday

LOCIE- *Laboratoire Optimisation de la Conception e Ingénierie de l'Environnement*

OCV - Tensão de Circuito Aberto

PCM<sub>C</sub> - Pilha a Combustível Microbiano C

PCM<sub>F</sub> - Pilha a Combustível Microbiano F

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	iv
RESUMO	v
ABSTRACT	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES	ix
SUMÁRIO	x
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Objetivos	2
1.2 Justificativas	2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Modo de Funcionamento	5
2.2 Geometria e Volume	6
2.3 Combustível e Tipo de Alimentação	7
2.4 <i>Mousse</i> de Carbono	8
2.5 Ânodo: Material, Geometria e Biologia	9
2.6 Cátodo: Material, Geometria e Biologia	10
2.7 Membrana Catiônica	10
2.8 Características Chaves da Performance	11
2.9 Elétron-transferência	13
2.10 Aspectos Microbiológicos	14
2.11 Gradiente de pH no Biofilme	15
2.12 Gradiente de pH da Membrana	16
2.13 Influência da Temperatura na Biopilha	17
2.14 Perda Elétrica	18
2.15 Aspectos Econômicos	19
2.16 Concentração de DQO	21
2.17 Espectrometria de impedância	22
3. MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1 Objetivo de Pesquisa	25
3.2 Local e Período de Pesquisa	25
3.3 Procedimentos	25
3.4 Características PCM <sub>F</sub>	27
3.5 Construção da PCM <sub>F</sub>	28
3.6 Síntese do Meio Eletrolítico	29
3.7 Pré tratamento da Membrana	30
3.8 Monitoramento	30
3.8.1 Monitoramento- Primeira Etapa	30

3.8.2	Monitoramento- Segunda Etapa	33
3.9	Manutenção do Meio Eletrolítico	34
3.10	Curva de Polarização	34
3.11	Espectrometria de Impedância	35
4.	RESULTADOS	37
4.1	Geração de Energia	37
4.2	Eficiência $PCM_F$	49
4.3	Curva de Polarização $PCM_F$	51
4.4	Espectroscopia de Impedância $PCM_F$	53
5.	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	56
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

## 1. INTRODUÇÃO

O homem utiliza o combustível fóssil como a principal fonte de geração de energia elétrica desde o início do século XVIII. A queima desses combustíveis gera altos índices de poluição atmosférica, que são os grandes responsáveis pelo aquecimento do planeta. Porém, esses não são os únicos problemas da humanidade, outro grande desafio é reduzir, tratar e reutilizar os efluentes gerados por uma população que cresce exponencialmente ao longo dos anos.

Para solucionar as duas problemáticas citadas acima, a sociedade científica vem buscando técnicas para tratar os efluentes e paralelamente gerar energia, sem que haja grandes impactos a saúde do planeta. Uma dessas soluções é a utilização do biogás, formado a partir da depuração anaeróbia dos efluentes domésticos, para a geração de energia. Outra solução atualmente estudada é a Célula a Combustível Microbiano (CCM), que é um dispositivo bioeletroquímico, capaz de oxidar a matéria orgânica e simultaneamente gerar corrente elétrica. Isso é possível devido à habilidade desses sistemas em transformar energia bioquímica diretamente em energia elétrica.

As primeiras pesquisas sobre os sistemas bioeletroquímicos iniciaram com as experiências de Galvani, em 1791. Seus experimentos, em pequenos anfíbios, concluíram que o tecido animal continha uma força até então negligenciada e evidentemente vital para a vida, que chamou de "eletricidade animal". A partir das pesquisas de Galvani, os sistemas bioeletroquímicos não tiveram grandes avanços, até que William Grove produziu a primeira célula a combustível, em 1839. Essa pesquisa foi baseada na combinação de hidrogênio e oxigênio para a geração de energia e água, que até hoje é a base teórica para todos os tipos de células combustíveis a hidrogênio.

No século seguinte, o professor de botânica da Universidade de Durham, M.C. Potter, observou a produção de "bioeletricidade", através de reações químicas de uma *Escherichia coli*<sup>1</sup>. As observações de Potter não tiveram grandes repercussões, até que Cohen (1931) deu continuidade à pesquisa. Cohen conseguiu gerar mais de 35V através de

---

<sup>1</sup> *Escherichia coli*: bactéria bacilar gram negativa, facultativamente anaeróbica comumente encontrada na parte mais baixa do intestino de animais de sangue quente (Biblioteca virtual em saúde)

células a combustíveis microbianos conectadas em série. Isso impulsionou as pesquisas sobre o tema e proporcionou novas perspectivas as mesmas. No início da década de 60, os Estados Unidos cogitaram o uso de células combustíveis para a depuração dos efluentes e geração de energia em viagens ao espaço.

Hoje existem inúmeras pesquisas realizadas pelo mundo sobre as célula a combustível microbiano, e grande parte delas procuram potencializar a geração de energia e minimizar os custos de implantação e operação do sistema.

## 1.1 Objetivos

### Objetivo Geral

Avaliar a eficiência elétrica de uma célula a combustível microbiano, chamada Pilha a Combustível Microbiano F ( $PCM_F$ ), que utiliza eletrodos feitos de carbono vítreo reticulado (*mousse* de carbono).

### Objetivos específicos

Avaliar a resistência elétrica (resistência ôhmica e capacitiva), da pilha a combustível microbiano F através da análise de espectroscopia de impedância.

Avaliar a performance da  $PCM_F$ , através da realização de curvas de polarização, ao longo do período de monitoramento do sistema.

Avaliar a influência da temperatura na potência gerada pela  $PCM_F$  ao longo do período de monitoramento.

## 1.2 JUSTIFICATIVA

O presente trabalho busca uma alternativa de geração de energia e tratamento de efluentes frente às necessidades ambientais existentes atualmente. Segundo Rozendal *et al.* (2008) até o presente momento a única tecnologia capaz de gerar energia através do tratamento de efluentes em escala comercial é a digestão anaeróbica.

Na busca de alternativas aos sistemas de depuração atuais, Liu *et al.* (2004) demonstraram que os efluentes domésticos podem ser utilizados como combustíveis em biopilhas para a geração de energia, utilizando uma CCM como unidade de tratamento e de pós-tratamento

ou polimento, devido à habilidade desses sistemas em consumir efetivamente ácidos graxos voláteis.

Os sistemas bioeletroquímicos apresentam baixa produção de lodo, possibilitando redução de custos de transporte e disposição do lodo. Outra aplicação das biopilhas é como dispositivo de alimentação de equipamentos biomecânicos, como marca-passos e pequenas válvulas de controle da bexiga (BULLEN *et al.*, 2006). Estas biopilhas retiram do sangue o substrato necessário (glicose) para a geração de corrente elétrica.

Estudos mostraram que os sistemas bioeletroquímicos não são limitados por condições extremas, ou seja, podem ser operados em meio a um grande número de reações, o que permite seu uso no interior do corpo humano (HAN *et al.*, 2010).

Pode-se citar também o uso de biopilhas como biosensores, utilizados como ferramenta de controle para pessoas que sofrem de diabetes (BULLEN *et al.*, 2006), assim como método de análise laboratorial para estimar rapidamente a demanda biológica de oxigênio (DBO) de uma amostra (KIM *et al.*, 2003). Esses biosensores podem ser usados continuamente para monitoramento, com boa confiabilidade (CHANG *et al.*, 2004).

A elétron-transferência extracelular que ocorre entre o centro ativo da flora bacteriana e o eletrodo nas células a combustível microbiano oferece um bom campo de pesquisa, devido a sua importância na geração de energia e tratamento de efluentes através de biopilhas e também por ser um processo pouco conhecido.

O presente trabalho abordou apenas a geração de energia e os parâmetros envolvidos nesse processo, deixando a abordagem do tratamento de efluentes como objeto de estudos em outras pesquisas, tendo em vista a abrangência de informações relativas ao tema.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A célula a combustível microbiano, também chamada de biopilha, é um sistema bioeletroquímico capaz de gerar eletricidade a partir da oxidação de uma variada gama de combustíveis, tais como açúcares, proteínas e matéria orgânica. Além de gerar energia, essa alternativa pode eliminar uma parte dos efluentes e resíduos lançados no meio ambiente.

Um sistema bioeletroquímico pode ser definido como um processo capaz de transformar energia bioquímica diretamente em energia elétrica (PHAM *et al.*, 2006). Ele é baseado na capacidade de certas bactérias em utilizar aceptores de elétrons no exterior de seus limites celulares como um mecanismo de elétron-transferência. Estas bactérias oxidam a matéria orgânica, entre outros substratos, e geram como produto o dióxido de carbono, prótons e elétrons.

Os microrganismos presentes em uma biopilha funcionam como catalisadores da reação de oxidação. Eles estão geralmente sob a forma de um biofilme sobre a superfície do eletrodo anódico. Em alguns casos, pode-se também encontrar esse biofilme bacteriano na superfície do eletrodo catódico, que, neste caso, funciona como um biocatalisador da reação de redução. Devido a presença destas colônias de bactérias, o eletrodo é chamado de bioeletrodo (bioânodo ou biocátodo).

A biocatálise realizada pelos microrganismos oferece baixo custo se comparado com outros catalisadores utilizados, tais como catalisadores de platina, e permite também a operação do sistema sob condições mais extremas (BULLEN *et al.*, 2006).

Em uma biopilha clássica, o bioânodo é conectado a um contra eletrodo (cátodo) através de um circuito externo (Figura 1). Graças a essa conexão os elétrons podem transitar do ânodo ao cátodo possibilitando a oxidação anódica, a redução catódica, e consequentemente, a geração de corrente elétrica.

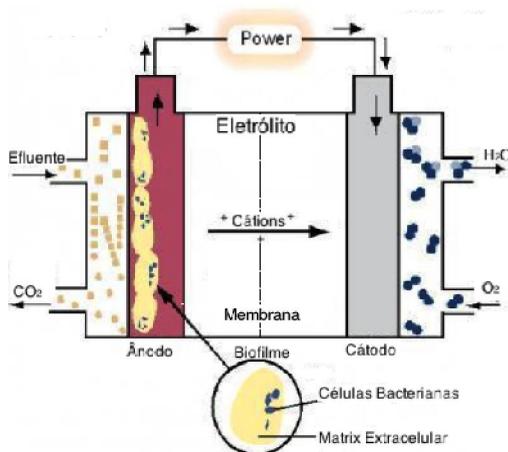


Figura 1: Princípio de uma Célula a Combustível Microbiano.

## 2.1 Modo de Funcionamento

Existem dois diferentes modos de funcionamento de uma célula a combustível microbiano: a biopilha à eletrólise; e a biopilha a combustível. Essas duas formas de funcionamento não dependem da maneira que se deseja utilizar o sistema, mas sim da maneira como o mesmo é operado.

A biopilha a combustível gera instantaneamente eletricidade, através das reações bioquímicas. Já a biopilha a eletrólise necessita de eletricidade externa para sintetizar, ou degradar, um ou mais compostos. O parâmetro que determina como o sistema é operado é a variação da energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ) da reação global, conforme demonstra a Equação 1 (BRUCE, 2006).

$$\Delta G = -n \cdot F \cdot E^{\circ}_{\text{Reação}} \quad (1)$$

A variável “n” corresponde ao número de moles do material oxidado. A variável “F” corresponde à constante de Faraday ( $9,648456 \cdot 10^4 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$ ). A variável “E”<sup>o</sup> corresponde à energia potencial reversível, também chamada como a energia experimental padrão da reação e segue os valores definidos por Lide (1993) de acordo com o substrato oxidado, que podem ser encontrados no livro “Handbook of Chemistry and Physics”.

Quando a energia livre de Gibbs é negativa há uma liberação de energia proveniente da reação de oxidação e redução, fazendo o sistema

funcionar como uma biopilha. Quando a energia livre é positiva, a reação direta é não espontânea, sendo necessário aplicar energia externa para que a reação ocorra. E quando a energia livre de Gibbs é nula, os estados inicial e final da reação estão em equilíbrio, ou seja, não há reação devido a estabilidade da reação.

## 2.2 Geometria e Volume

As primeiras pesquisas sobre os sistemas bioeletroquímicos tinham como objeto de estudo biopilhas de duas câmaras, separadas por uma membrana catiônica.

Novos estudos têm desenvolvido pilhas de uma só câmara, o que permite diminuir a distância de percurso dos íons; reduzir a perda ôhmica, assim como reduzir os custos de implantação do sistema. Esse sistema encontra limitações, como a difusão de oxigênio por todo o compartimento, e outras que serão mais bem explicadas posteriormente.

As biopilhas de uma câmara geralmente possuem duas diferentes configurações. Uma delas é quando todos os dois eletrodos estão inseridos em um compartimento preenchido com uma solução aquosa (eletrólito). Já a outra configuração ocorre quando o eletrodo anódico está inserido em meio aquoso e o eletrodo catódico está exposto às condições atmosféricas. Essa configuração caracteriza uma biopilha em eletrodo ar-catódico. Nas duas configurações o princípio de funcionamento é o mesmo: a oxidação do substrato no bioânodo e a redução do hidrogênio no cátodo (LIU, et al, 2004).

O volume dos sistemas bioeletroquímicos em escala laboratorial variam de poucos mililitros a alguns litros. Esta variação depende dos parâmetros que se deseja medir, da real utilização do sistema e do orçamento disponível para o estudo. Quanto menor o volume do sistema mais distante está da escala real, configurando uma limitação do sistema.

Apesar das limitações volumétricas, há outros modos de aumentar a capacidade de tratamento e produção de energia de um sistema bioeletroquímico. Entre eles pode-se destacar a montagem de módulos em série e/ ou em paralelo.

A Figura 2 apresenta células a combustível microbiano, conectadas em série. Esse sistema é composto por seis biopilhas, com eletrodos de grafite separados por uma membrana catiônica de *Ultrax* (AELTERMAN *et al.*, 2006; LOGAN *et al.*, 2006).

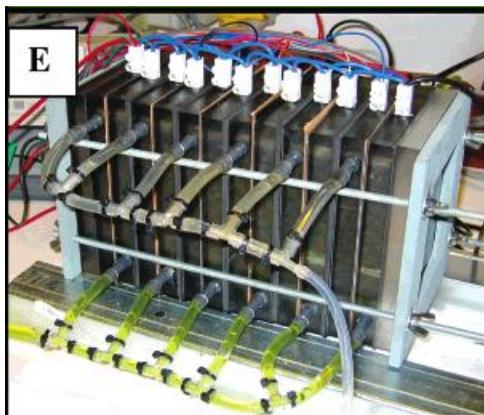


Figura 2: Seis células a combustível microbiano conectadas em série.

Trata-se de uma célula piloto testada tanto em série, como em paralelo, com o intuito de verificar a configuração que proporciona maior potência. Em um curto espaço de tempo os dois sistemas apresentaram a mesma potência volumétrica ( $107 \text{ W/m}^3$ ). Após 54 dias foi possível observar uma maior potencia volumétrica no sistema conectado em série ( $308 \text{ W/m}^3$ ) do que no sistema conectado em paralelo ( $263 \text{ W/m}^3$ ).

### 2.3 Combustível e tipo de alimentação

Em laboratório, as biopilhas são alimentadas por uma solução de síntese como meio eletrolítico do compartimento anódico. Este procedimento mantém as características do eletrólito fixas e contínuas, eliminando assim as possíveis perturbações provocadas pela diferença de concentração e outras variações presentes na utilização de efluentes domésticos. Esta prática permite padronizar o estudo e possibilitar a comparação dos resultados de outros estudos de forma mais equivalente.

A diferença entre as diversas soluções eletrolíticas está no substrato de referência utilizado. Estudos investigaram o comportamento de uma biopilha, segundo sua eficiência, quando se faz uso de diferentes substratos de referência. Entre os diversos substratos testados pode-se destacar o acetato, a glicose e a lactose (FREGUIA *et al.*, 2007; LEE *et al.*, 2008).

Os estudos de Freguia e Lee observaram que o uso de substratos de referência fermentáveis, tais como glicose ou etanol, provoca grande interferência de reações chamadas parasitas na flora eletroquímica. Estas reações são formadas pela oxidação da matéria orgânica por bactérias metanogênicas, que interferem no processo de elétron-transferência e consequentemente reduzem a eficiência do sistema. Concluiu-se que a flora metanogênica é mais competitiva do que a flora eletroquímica na oxidação de substratos fermentáveis.

O estudo de Freguia evidenciou ainda que quando se utiliza substratos não fermentáveis, tais como o acetato, a interferência de reações parasitas são minimizadas, proporcionando assim um aumento no rendimento do sistema. A reação de oxidação do acetato está demonstrada na Equação 2.



Adicionam-se à solução eletrolítica, sais minerais, que são essenciais para o desenvolvimento da flora bacteriana, e uma solução tampão, necessária para controlar e estabilizar o pH do sistema.

A alimentação de uma célula a combustível microbiano pode ser contínua ou descontínua, de acordo com os parâmetros que serão mensuráveis, da equipe e dos equipamentos disponíveis para análise e controle do sistema.

## 2.4 *Mousse* de Carbono

O *mousse* de carbono é um material que está sendo testado como eletrodo em sistemas bioeletroquímicos, devido suas propriedades de elevada superfície específica, baixa resistência ao fluxo de fluido, baixa densidade, pequena expansão térmica, elevada resistência à corrosão, compatibilidade para o crescimento microbiano, além de apresentar elevada condutividade térmica e elétrica.

O *mousse* é feito de carbono vítreo reticulado (CVR). Sua estrutura assemelha-se a um favo de mel, devido a polimerização de resina (resinas fenólicas ou resinas epóxi furfúrico) combinada com um espumante de poliuretano e posteriormente submetida a um processo de carbonização. A resina de espuma é tipicamente seca e curada a 120°C, e em seguida carbonizada em 700-1100°C (FRIEDRICH *et al.*, 2004).

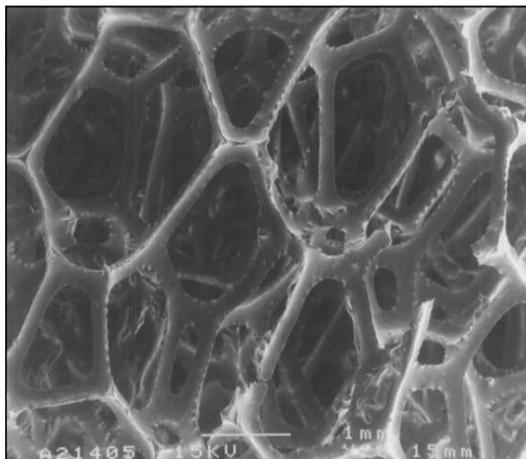


Figura 3: Estrutura do *mousse* de carbono (CVR).

## 2.5 Ânodo: Material, Geometria e Biologia

A escolha do material e da geometria do eletrodo é um parâmetro determinante na performance de um sistema bioeletroquímico. Grande parte dos eletrodos utilizados atualmente são feitos de carbono ou grafite, pois estes oferecem um custo relativamente baixo e uma boa compatibilidade para o desenvolvimento da flora bioeletroquímica. O problema principal na utilização destes materiais é que eles apresentam uma baixa condutividade elétrica.

Do ponto de vista biológico, a flora bacteriana anódica pode ser uma cultura mista ou pura, selecionada de acordo com características específicas desejadas no projeto. A utilização de culturas mistas ocorre devido a sua maior resistência às variações ambientais, tais como temperatura. Existem diversas espécies bacterianas presentes no biofilme anódico. Segundo Logan (LOGAN *et al.*, 2008), as espécies predominantes no biofilme são *Geobacter* e *Shewanella*, devido a sua comprovada habilidade de elétrons-transferência.

Com o objetivo de descobrir as comunidades microbiológicas presentes em uma biopilha foram realizados monitoramentos. A tabela abaixo mostra algumas espécies identificadas em biopilhas de duas câmaras de acordo com o substrato utilizado (OH *et al.*, 2010).

Tabela 1: Diferentes espécies bacteriológicas presentes no biofilme anódico em biopilhas de duas câmaras.

<b>Substrato</b>	<b>Espécie Dominante</b>	<b>Referência</b>
Acetato	<i>Pelobacter propionicus</i>	Chae et al. (2009)
Propionato	<i>Bacillus</i> sp.	Chae et al. (2009)
Butirato	<i>Dechloromonas</i> sp.	Chae et al. (2009)
Glicose	<i>Geobacter</i> spp	Kim et al. (2007b)
Etanol	<i>Proteobacterium core</i>	Kim et al. (2007b)

FONTE: Adaptada de OH *et al.*, 2010.

## 2.6 Cátodo: Material, Geometria e Biologia

Ao contrário dos ânodos, que são exclusivamente biológicos, os eletrodos catódicos utilizados em biopilhas podem ser de dois diferentes tipos: o cátodo químico e o cátodo biológico. O primeiro é geralmente feito de platina e oferece uma catálise química. É um eletrodo que apresenta um bom desempenho, mas é extremamente oneroso.

Já os cátodos biológicos, também chamados de biocátodos, feitos de carbono e grafite, apresentam uma boa eficiência, fornecem baixa perda interna e menor custo. Sua geometria e o material do eletrodo são favoráveis ao desenvolvimento e crescimento da flora bacteriana.

## 2.7 Membrana Catiônica

A membrana catiônica (Figura 4) é semipermeável, feita a partir de ionômeros que permitem a condução de prótons e a impermeabilidade de gases e elétrons. Os elétrons que atravessam o circuito externo de uma biopilha representam um fluxo de cargas negativas. A neutralidade do sistema ocorre pelo deslocamento do fluxo de cargas positivas do compartimento anódico ao catódico através da membrana catiônica.

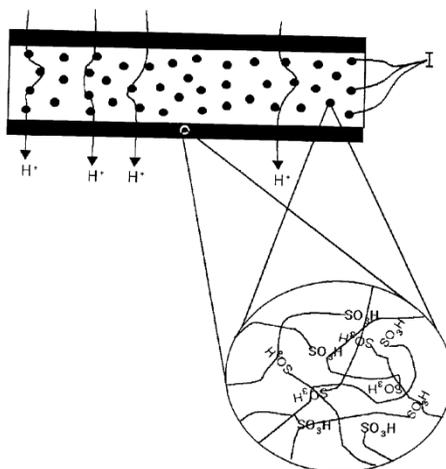


Figura 4: Estrutura de uma membrana catiônica

A membrana de *Nafion* é uma membrana polimérica comumente utilizada em biopilhas e tem grande aplicação nos sistemas bioeletroquímicos devido a sua ótima condutividade catiônica (ROZENDAL *et al.*, 2006). É composta por corantes ácido-base, violeta de metila e azul de bromotimol. Permite o transporte de íons, a separação das reações de oxidação e redução, e é responsável por manter o compartimento anódico anaeróbico. O uso desta membrana causa um gradiente de pH entre os dois compartimentos, que conseqüentemente aumenta a resistência ôhmica eletrolítica e representa um alto custo para o sistema.

## 2.8 Características Chaves da Performance

Os parâmetros da performance demonstram o comportamento de uma biopilha. O primeiro parâmetro, e talvez o mais importante, é a potência global de uma CCM, calculado pela Equação 3 (BRUCE, 2006).

$$P_{célula} = E_{célula} \cdot I \quad (3)$$

Sendo,  $E_{célula}$  e  $I$ , respectivamente, a tensão e a corrente experimentais geradas por uma biopilha.

Considerando uma corrente constante, o cálculo pode ser simplificado, conforme a equação 4 (BRUCE, 2006).

$$P_{célula} = E_{célula} \cdot I \quad (4)$$

A tensão da célula por sua vez pode ser calculada pela Equação 5 (BRUCE, 2006).

$$E_{célula} = E_{cátodo} - E_{ânodo} - \alpha IR_e \quad (5)$$

O  $E_{catódico}$  e  $E_{anódico}$  são respectivamente os potenciais experimentais mensuráveis do cátodo e do ânodo. Esses parâmetros podem ser medidos através do voltímetro, quando o sistema está em tensão de circuito aberto (OCV), com o auxílio de um eletrodo de referência.

O somatório de  $IR$  corresponde ao total da perda interna de uma biopilha, onde  $I$  é a corrente gerada e  $R$  é a resistência interna devido às perdas elétricas do eletrólito, dos eletrodos e da membrana. Essas perdas podem ser determinadas através um equipamento de espectrometria de impedância.

A Equação 6 (BRUCE, 2006), calcula a carga experimental teórica de cada eletrodo de acordo com o substrato utilizado. Essa tensão é corrigida em função da temperatura e da concentração dos reagentes e produtos da reação.

$$E_{eletrodo} = E_{reação}^0 + \frac{RT}{zF} \cdot \ln \frac{C_O}{C_R} \quad (6)$$

Onde,  $E_{reação}^0$  corresponde a carga potencial padrão que depende do reagente utilizado e do tipo de reação que se pretende analisar (oxidação ou redução). Este parâmetro é tabelado e pode ser encontrado no livro *Handbook of Chemistry and Physics* de David R. Lide (LIDE, 1993).

A variável  $z$  corresponde ao número de elétrons envolvidos na reação, enquanto  $C_o$  e  $C_R$  representam a concentração de oxidantes e a concentração de redutores, em mol/L.

A partir das equações 7 e 8 (BRUCE, 2006) é possível calcular o rendimento de cada eletrodo, sendo necessária a medição anterior da carga experimental dos eletrodos ( $E_{\text{cátodo}}$  e  $E_{\text{anódico}}$ ). Isso pode ser feito através o uso de um voltímetro e de um eletrodo de referência, submetendo o sistema a uma OCV.

$$E_{\text{cátodo}} = E_{\text{redução}}^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{C_{\text{O}}}{C_{\text{R}}} \quad (7)$$

$$E_{\text{anodo}} = E_{\text{oxidação}}^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{C_{\text{O}}}{C_{\text{R}}} \quad (8)$$

Nas equações acima tem-se R como constante dos gases ideais, T corresponde à temperatura presente no sistema e F é a constante de Faraday.

Através da Equação 9 (BRUCE, 2006) é possível estimar o rendimento do eletrodo catódico a partir do resultado das equações 7 e 8.

$$h_{\text{cátodo}} = E_{\text{cátodo}} - E_{\text{cátodo}} \quad (9)$$

## 2.9 Elétron-transferência

O sistema bioeletroquímico baseia-se na capacidade de microrganismos em transferir elétrons do interior de suas células ao eletrodo. Este processo é chamado de elétron-transferência extracelular e pode ocorrer em diferentes mecanismos bacterianos. Num deles a elétron-transferência é direta, do meio reativo celular ao eletrodo. Isso é possível, pois algumas bactérias sintetizam uma série de conexões entre a membrana interna, o periplasma e as proteínas redox da membrana externa (i.e. citocromos). Nessa conexão, chamada de canal protéico ou nanotubo, os sítios ativos bacterianos estão relativamente próximos ao eletrodo (ROZENDAL *et al.*, 2008).

Outra elétron-transferência extracelular, chamada de elétron-transferência indireta, baseia-se na capacidade de algumas bactérias apresentarem um dispositivo de transporte de elétrons, chamados de mediadores (Figura 5). Esses mediadores realizam o transporte em ciclos contínuos no centro redox orgânico ou inorgânico bacteriano (ácidos húmicos e espécies sulfurosas). Também podem ser produzidos pelas bactérias, tais como as quinonas e fenazinas (ROZENDAL *et al.*, 2008).

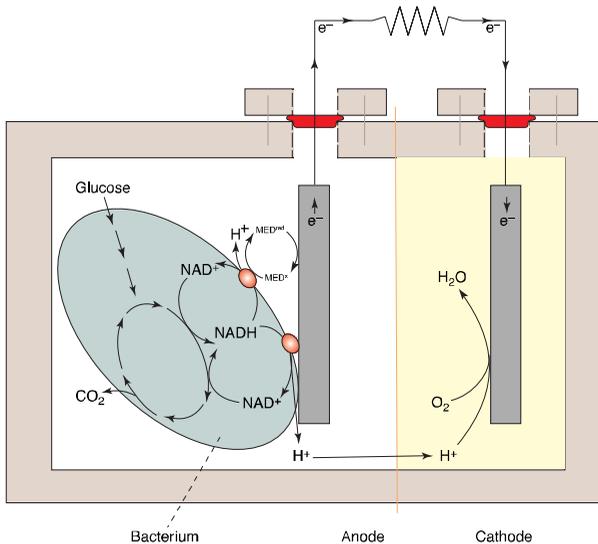


Figura 5: Princípio da elétron-transferência. Fonte: RABAEY *et al.*, (2005).

## 2.10 Aspectos Microbiológicos

Um grande desafio da tecnologia de depuração de efluentes é a oxidação completa de todos os compostos nocivos a saúde do homem e ao equilíbrio ambiental. Para atingir essa meta através de células a combustível microbiano, necessita-se de uma variada gama de microrganismos, uma vez que, ao buscar uma colônia bacteriológica diversificada, estar-se-á estimulando uma competição entre as diferentes espécies pelo substrato, prejudicando a recuperação e a eletron-transferência (Figura 6).

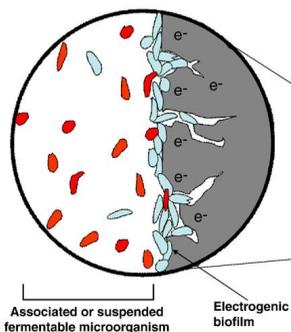


Figura 6: Competição entre diferentes espécies bacterianas. (OH *et al.*, 2010).

Colônias de bactérias mais competitivas na oxidação do substrato geram menor quantidade de elétrons que outras. Essas bactérias são pouco rentáveis energeticamente, observando que dependendo do substrato utilizado pode-se reduzir a competitividade das bactérias pouco efetivas na geração de elétrons.

Segundo Freguia *et al.* (2007) a flora metanogênica tem maior facilidade em oxidar compostos fermentáveis, tais como glicose e etanol, do que a flora eletroquímica. Na oxidação de compostos não fermentáveis, como o acetato, a flora eletroquímica apresenta-se mais competitiva. Essa constatação criou uma tendência em utilizar o acetato como substrato de referência em biopilhas.

Do ponto de vista operacional é cabível realizar uma pré-fermentação do efluente antes de um tratamento bioeletroquímico, pois desta forma é possível converter os substratos fermentáveis em não fermentáveis.

## 2.11 Gradiente de pH no Biofilme

A reação de oxidação do substrato no compartimento anódico de uma célula a combustível microbiano produz elétrons, cátions e  $\text{CO}_2$ . O  $\text{CO}_2$  produzido pela reação de oxidação do substrato causa uma acidificação do biofilme, prejudicial ao desenvolvimento bacteriológico e para o processo de elétron-transferência.

Para o controle de pH do sistema é necessário o uso de uma solução tampão. A aplicação de soluções tampões interfere na performance de uma célula a combustível microbiano. Torres *et al.*

(2008) sugerem que as soluções de baixa força-tampão reduzem o transporte extracelular de elétrons e que aumentando a concentração da solução tampão fosfato, de 12,5 a 100mM<sup>2</sup>, a densidade da corrente quadruplica de valor. Inicialmente, associou-se o aumento da densidade de corrente à maior condutividade proporcionada pela solução. Introduzindo ao meio eletrolítico substâncias que fornecem o mesmo efeito na condutividade, como cloreto de sódio, verificou um aumento de 15% na densidade de corrente, concluindo que o aumento na densidade de corrente produzida por uma biopilha ocorreu devido a força tampão que o fosfato proporcionava.

A partir da constatação acima, verificou-se que as soluções tampões mais adequadas para o controle de pH são as que fornecem uma grande força tampão, prática que encarece a aplicação do sistema em escala real.

## 2.12 Gradiente de pH da Membrana

A produção de prótons no ânodo e a redução dos mesmos no cátodo causam uma alcalinidade na câmara catódica. A acidificação da câmara anódica provoca um gradiente de pH na membrana catiônica. Este gradiente gera um aumento na resistência ôhmica eletrolítica e conseqüentemente uma maior perda de carga no sistema.

Para tornar a solução eletrolítica única e homogeneizada, minimizando o gradiente de pH, a membrana catiônica não é utilizada. Essa prática causa a difusão de oxigênio na câmara anódica, e a dispersão de matéria orgânica na câmara catódica, além de provocar o contato do hidrogênio com o biofilme, que estimula o desenvolvimento da flora metanogênica (ROZENDAL *et al.*, 2008).

Rozendal propõe a operação do sistema em “*looping*”. Essa configuração evita o gradiente de pH e a metanização dos compartimentos através um canal ligante, possibilitando que os prótons produzidos no ânodo sejam encaminhados efetivamente para câmara catódica, através de um fluxo líquido. O sistema proposto por Rozendal pode ser observado na Figura 7.

---

<sup>2</sup> mM: quantidade de soluto em mol dissolvido em um volume de solução em litros (MOORE, Walter J. trad. JORDAN, Ivo. Físico-química. Edgard Blucher)

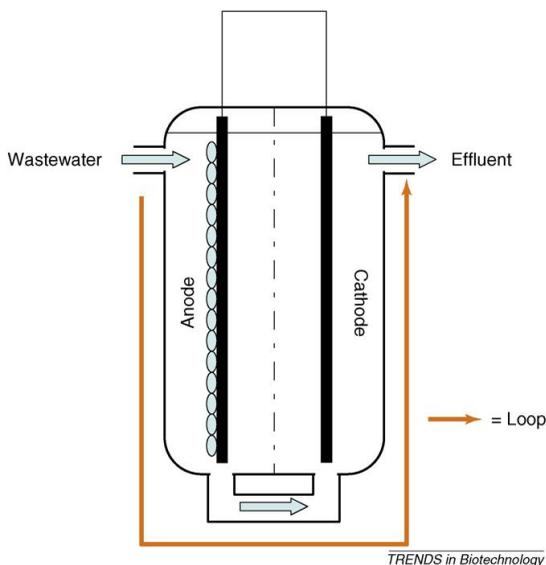


Figura 7: Configuração “loopin”.

### 2.13 Influência da Temperatura na Biopilha

Pesquisas avaliaram o comportamento de células a combustível microbiano quando submetidas a variação de temperatura. Segundo Ampai et al. (2007) uma biopilha de uma única câmara, alimentada com uma solução eletrolítica na qual utiliza a glicose como substrato de referência, gerou maior potência quando o mesmo foi submetido a valores de temperaturas próximos a 37°C.

Larrosa-Guerreiro *et al.* (2010) pesquisou os efeitos da temperatura sobre diversos parâmetros, entre eles a demanda química de oxigênio (DQO), em células a combustível microbiano de uma ou duas câmaras, alimentadas com efluentes domésticos.

A biopilha de duas câmaras apresentou maior remoção de DQO quando submetida a valores de temperaturas próximos a 25°C e a maior geração de energia ocorreu a temperaturas próximas 35°C, enquanto a biopilha de uma câmara apresentou o máximo de remoção de DQO a 30°C e a maior geração de energia ocorreu a temperaturas próximas a 35°C, conforme pode-se observar na Tabela 2.

Tabela 2: Influência da Temperatura sobre os parâmetros de uma biopilha.

T (°C)	MFC type	Max voltage (V)	Max $i$ (mA m <sup>-2</sup> )	Max Q (C)	Max COD <sub>rem</sub> (%)	Max Y <sub>q</sub>
4	Double	0.003	2.35	0.94	42.29	0.08
	Single	0.029	23.11	9.07	58.03	0.77
8	Double	0.002	1.30	0.54	66.02	0.05
	Single	0.041	32.87	15.17	57.60	1.34
15	Double	0.002	1.71	0.50	73.12	0.03
	Single	0.074	58.72	27.73	88.24	1.58
20	Double	0.036	28.77	9.90	77.23	0.69
	Single	0.075	59.64	27.97	90.56	1.42
25	Double	0.045	35.97	17.73	82.08	0.67
	Single	0.093	73.99	49.36	91.01	1.41
30	Double	0.052	41.73	24.77	74.76	1.10
	Single	0.109	86.71	41.84	95.11	1.65
35	Double	0.096	76.15	40.40	74.94	1.78
	Single	0.118	93.87	57.65	94.50	1.76

Indicadores elétricos: Valores de voltagem (V); Densidade de Corrente ( $i$ ), Carga Acumulada (Q), Eficiência Coulômbica (Y<sub>Q</sub>).

Indicadores de Depuração: Demanda Química de Oxigênio removível (COD<sub>rem</sub>).

FONTE: LARROSA-GUERREIRO *et al.*, (2010)

## 2.14 Perda Elétrica

A resistência ôhmica é uma força que se opõe ao movimento de íons e é geradora de perda de eletricidade em um sistema bioeletroquímico devido a resistência eletrolítica (ROZENDAL *et al.*, 2008).

Rozendal propõe minimizar o espaço entre os eletrodos, diminuindo a distância de percurso dos íons a fim de reduzir a perda de eletricidade. A esse procedimento, pode-se adicionar a utilização de substâncias condutoras o que tornaria a operação e o controle do sistema complicado e caro.

A resistência ôhmica e capacitiva encontrada nos eletrodos e no circuito externo na qual a biopilha é conectada, também gera perda elétrica. A utilização de eletrodos feitos de materiais com baixa resistência reduz esse tipo de perda.

Deve ser utilizado o material que permita o crescimento bacteriano, sem causar aumento considerável nos custos do sistema. O grafite e o carbono são mais utilizados devido à compatibilidade dos

mesmos com o crescimento da flora eletroquímica. Mas mesmo esses materiais apresentam uma resistência que não pode ser negligenciada.

Eletrodos de grafite, com dimensões de  $10 \times 10 \times 0,3$  cm, apresentam uma resistência ôhmica de aproximadamente  $4,6 \text{ m}\Omega$  (ROZENDAL *et al.*, 2008). Em escala laboratorial essa resistência causa uma pequena perda de eletricidade. Em escala real essa perda pode atingir centenas de milivolts. Para reduzir a perda de eletricidade são utilizados metais condutores integrados ao eletrodo de carbono ou de grafite.

## 2.15 Aspectos Econômicos

Para utilização de biopilha como unidade de tratamento de efluentes é necessário que tenha viabilidade econômica.

A Figura 8 apresenta um panorama do custo atual e o custo estimado futuro de uma biopilha, baseado num sistema capaz de gerar uma densidade de corrente de  $1000 \text{ A/m}^3$  por volume de reator.

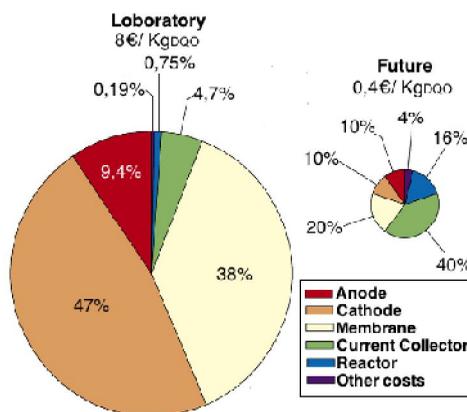


Figura 8: Estimativa atual e futura do custo de uma biopilha Fonte: Rozendal *et al.* (2008).

Os dados da Tabela 3, abaixo, levam em conta os materiais utilizados em laboratório e a substituição desses por outros de menor custo.

Tabela 3: Premissas utilizadas para estimar o custo de implantação de uma biopilha.

<b>Material</b>	<b>Custo</b>
Ânodo de grafite	100 €/m <sup>2</sup>
Cátodo de platina	500 €/m <sup>2</sup>
Membrana	400 €/m <sup>2</sup>
Coletores da corrente	25 €/m <sup>2</sup>
Futuro eletrodo de grafite	5 €/m <sup>2</sup>
Futura membrana substituta	10 €/m <sup>2</sup>
Futuro coletor de corrente	10 €/m <sup>2</sup>
Reator	4000 €/ m <sup>3</sup>

Vida útil: eletrodos, membranas e coletores de corrente (5 anos); Reator e de outros materiais (25 anos)

A Tabela 4 compara economicamente a biopilha com outros sistemas de tratamento de efluentes atualmente utilizados. Essa tabela tem como base uma biopilha em escala real com as mesmas premissas utilizadas na figura anterior.

Tabela 4: Comparação dos custos estimados de diferentes sistemas de tratamento.

<b>Sistema</b>	<b>Produto</b>	<b>Custo (€/kg COD)</b>	<b>Receita (€/kg COD)</b>	<b>Rendimento Bruto (€/kg COD)</b>
AS	N/A	0.1 <sup>a</sup>	-0.3 <sup>a,b</sup>	-0.4
1AD	CH <sub>4</sub>	0.01 <sup>a</sup>	0.1 <sup>a</sup>	0.1
MFC	Eletric.	8 <sup>c</sup> /0.4 <sup>d</sup>	0.2 <sup>e,f</sup>	-0.2
MEC	H <sub>2</sub>	8 <sup>c</sup> /0.4 <sup>d</sup>	0.6 <sup>e,g</sup>	0.2

AD: Digestão Anaeróbica;

AS: Lodo Ativado;

MEC: Célula a Combustível Eletrolítica;

MFC: Célula a Combustível Microbiano

Expoente a: assumindo vida útil do reator de 25 anos.

Expoente b: Consumo de eletricidade e disposição final do lodo

Expoente c: Custo baseado nos materiais utilizados em laboratório

Expoente d: Estimativa de custos futuros baseados na troca de materiais menos onerosos

Expoente e: Assumindo o preço da eletricidade de 0,1 €/kWh

Expoente f: Assumindo voltagem de uma biopilha de 0,5V

Expoente g: Assumindo uma eletricidade requerida de 1 kWh/m<sup>3</sup> H<sub>2</sub> e o preço do hidrogênio de 0,5 €/Nm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>

FONTE: ROZENDAL *et al.* (2008)

Segundo as comparações de Rozendal, os sistemas bioeletroquímicos têm um custo de implantação e operação muito maior que os outros sistemas, mesmo se novos *designs* forem desenvolvidos e se houver o uso de materiais menos onerosos. Esse diagnóstico pode ser alterado se encontrado um modo de maximizar a geração de energia. Com o alcance da meta de forma satisfatória a biopilha terá maior custo-benefício que um sistema de lodos ativados. Não superando aos reatores anaeróbios, que apresentam menor custo de implantação e razoável capacidade de geração de energia (gás metano).

## 2.16 Concentração de DQO

Rodrigo *et al.* (2007) em seu estudo, analisaram os efeitos da demanda química de oxigênio na potência da biopilha, de duas câmaras alimentadas com efluentes domésticos. Observou-se que quanto maior a taxa de DQO afluente maior a geração de energia (Figura 9). Isso ocorre devido a forte dependência que há entre a concentração dos mediadores e a concentração de DQO.

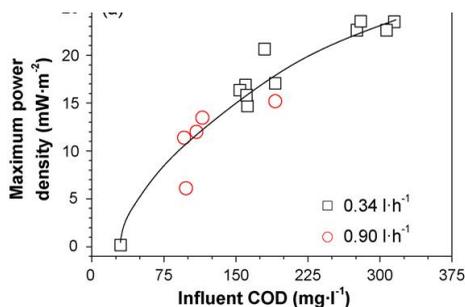


Figura 9: Relação da DQO e a densidade de potência de uma biopilha.

A Figura 10 mostra a relação que há entre a  $DQO_{removível}$  e a taxa de  $DQO_{afluente}$ . Através dela é possível perceber que o processo de degradação da matéria orgânica em uma biopilha não depende da concentração de DQO do sistema. Isso ocorre, pois como em todo o processo de depuração biológica a remoção da demanda química de oxigênio depende da concentração de microrganismos ativos presentes no sistema e não da DQO afluente.

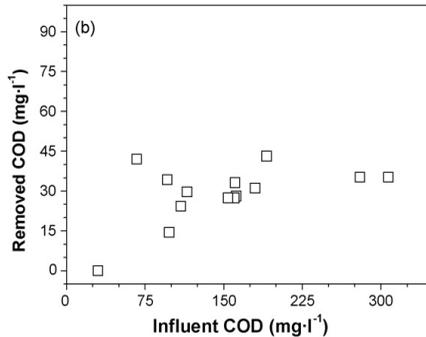


Figura 10: Influência da DQO na taxa de DQO removível de uma biopilha

## 2.17 Espectrometria de impedância

Uma célula a combustível microbiana pode ser compreendida como um sistema elétrico complexo. A análise de espectrometria de impedância pode investigar e analisar parâmetros e comportamentos de cada variante deste sistema complexo. Segundo Katz *et al.* (2003) a complexidade elétrica citada anteriormente consiste basicamente em um circuito elétrico com características idênticas às ilustradas na figura abaixo:

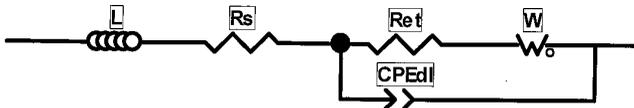


Figura 11: Circuito que representa a análise de espectrometria de impedância em um biopilha

No circuito acima, cada constante representada apresenta o seguinte significado:

→  $L$  é uma indutância presente em perturbações de alta frequência e não possui significado eletroquímico;

→  $R_s$  é a resistência elétrica presente em todas as conexões elétricas do sistema e a resistência iônica da membrana e do meio eletrolítico de ambos compartimentos;

→  $R_{et}$  é a resistência presente no processo de transferência de elétrons relacionada a cinética das reações anódicas e catódicas. Esta resistência permite o cálculo da taxa de reação para cada eletrodo através das seguintes equações:

$$R_{et} = R \cdot T / nFI \quad (10)$$

Na qual:

$$I = nFACk_{et} \quad (11)$$

onde:

R: constante dos gases perfeitos

T: temperatura

n: número de elétrons produzidos

A: área do eletrodo

C: concentração do reator

I : corrente produzida

$k_{et}$ : taxa de reação

→  $CPE_{dl}$  é um elemento de fase constante representada por uma capacitância e um parâmetro de correção. Ele é proveniente da não-homogeneidade da concentração de elétrons de uma microrregião próxima a ao biofilme e ao eletrodo, região está chamada de dupla-camada.

$$CPE_{dl} = 1 / C_{dl}(i\omega)^p \quad (12)$$

$\omega$ : pulsação de onda senoidal

p: constante de correção pois o sistema não funciona como um capacitor ideal, devido à falta de homogeneidade da superfície do eletrodo, rugosidade, entre outros.

A capacitância  $C_{dl}$  pode ser representada pela seguinte equação:

$$C_{dl} = \epsilon_{dl} \cdot A / \delta \quad (13)$$

Onde  $\epsilon_{dl}$  e  $\delta$  são respectivamente a permissividade e a espessura da dupla camada.

→  $W_o$  é o elemento de Warburg. Ele representa a difusão dos reagentes em ambos o compartimento e existem de dois diferentes tipos:

Elemento Warburg aberto (Wo) e Elemento de Warburg curto (Ws). Eles podem ser calculadas da seguinte maneira:

$$Z_{Wo} = \tau \cdot \cotg(i\omega\tau)^P / C_{lim} \cdot (i\omega\tau)^P \quad (14)$$

$$Z_{Ws} = R_{lim} \cdot \tan(i\omega\tau)^P / C_{lim} \cdot (i\omega\tau)^P \quad (15)$$

Onde:

$\tau = \delta^2 / D$ ; sendo  $\delta$  a espessura da camada de difusão e D o coeficiente de difusão.

$R_{lim}$  e  $C_{lim}$  o valor de R e C para o qual tende  $Z_w$  em baixas frequências.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Objeto de Pesquisa

Construção e análise de uma Célula a Combustível Microbiano, chamada de Pilha a Combustível Microbiano F (PCM<sub>F</sub>).

#### 3.2 Local e período de pesquisa

*Laboratoire Optimisation de la Conception e Ingénierie de l'Environnement* (LOCIE), da Universidade de Savoie, em Chambéry na França, no período de janeiro a maio de 2011.

#### 3.3 Procedimentos

As análises tiveram como fonte de dados o monitoramento diário do sistema através do uso de um Multivoltímetro Data Logger Switch Unit 34970<sup>A</sup> (Figura 12), conectado a biopilha através um circuito externo.



Figura 12: Multivoltímetro Data Logger Switch Unit 34970<sup>A</sup>

O Multivoltímetro foi capaz de armazenar dados automaticamente através de um software chamado *BenchLink Data Logger*, fornecido pelo fabricante, e instalado em um computador fixo. Os dados adquiridos pelo software foram exportados para uma planilha Excel para analisar o comportamento do sistema ao longo do tempo.

O monitoramento dos dados foi dividido em 2 (duas) etapas, devido aos diferentes parâmetros e complexidade.

Na primeira etapa, foram monitorados a tensão (mV) e a corrente (mA) gerados pela biopilha durante os meses de janeiro, fevereiro, março e abril de 2011.

Na segunda etapa, além da corrente produzida pela biopilha, monitorou-se também a temperatura ambiente e o potencial dos eletrodos (potencial catódico e anódico). Para mensurar a temperatura, utilizou-se uma sonda conectada ao *Data Logger*.

Na medição do potencial dos eletrodos foi utilizado um microeletrodo de referência, de cloreto de prata (AgCl), inserido no meio eletrolítico catódico e conectado aos eletrodos da biopilha e ao *Data Logger* através de um circuito externo.

O eletrodo de referência utilizado apresenta um potencial normalizado segundo a sua relação com o eletrodo padrão de hidrogênio e a temperatura na qual é submetido. A relação temperatura-potencial padrão foi fornecida pelo fabricante e pode ser observada na Tabela 5.

Tabela 5: Potencial do eletrodo de referência em diferentes temperaturas

<b>Potencial Normalizado – Eletrodo de Referência AgCl</b>						
Temperatura	0°C	10°C	20°C	25°C	30°C	40°C
Potencial (mV)	225	219	212	208	204	196

A Figura 13 representa o eletrodo de referência citado acima e utilizado em algumas análises na PCM<sub>F</sub>



Figura 13: Eletrodo de Referência de AgCl utilizado

Na segunda etapa do monitoramento, também foi realizada a espectrometria de impedância, através de um espectrômetro da marca AUTOLAB. A aplicação desse equipamento teve como objetivo avaliar a perda elétrica (resistiva e capacitiva) da PCM<sub>F</sub>. O espectrômetro é capaz de recuperar a resposta da biopilha, quando submetido a uma

determinada tensão, através de um software chamado NOVA, instalado num computador fixo.

### 3.4 Características $PCM_F$

A estrutura da  $PCM_F$  é feita de um material termoplástico transparente chamado de vidro acrílico. É formado por um polímero sintético de metacrilato de metila. Esse material permite a análise visual e não oferece qualquer interferência química ao processo de depuração do efluente e de geração de energia (Figura 14).

A estrutura de vidro acrílico forneceu a biopilha um volume de 75 ml e foi composto por dois compartimentos (catódico e anódico), separados por uma membrana de *Nafion*. Os compartimentos foram preenchidos por uma solução aquosa de síntese.

A alimentação da  $PCM_F$  ocorreu em bateladas, o que exigiu alguns procedimentos de manutenção.

A biopilha foi conectada a um circuito externo que permitiu a circulação de elétrons, o controle da resistência externa e o monitoramento dos dados quanto a geração de energia.

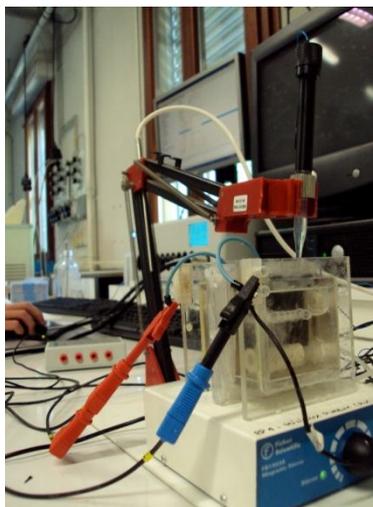


Figura 14:  $PCM_F$  objeto desta pesquisa

### 3.5 Construção da $PCM_F$

A construção da  $PCM_F$  ocorreu durante a terceira semana de janeiro. Todas as etapas de construção foram acompanhadas e monitoradas pelo doutorando Guillaume Lepage. O design da  $PCM_F$  foi realizado pelo doutorando e o corte do vidro acrílico foi feito por uma empresa terceirizada.

A  $PCM_F$  apresenta uma configuração clássica, ou seja, dois compartimentos separados por uma membrana de *Nafion*. O diferencial dessa biopilha é o material dos eletrodos é o Carbono Vítreo Reticulado (CVR), também chamado de *mousse* de carbono (Figura 15). Esse material é extremamente frágil e quebradiço sob forças mecânicas. Para dar maior consistência aos eletrodos, foi anexado aos mesmos um pequeno tecido de carbono.

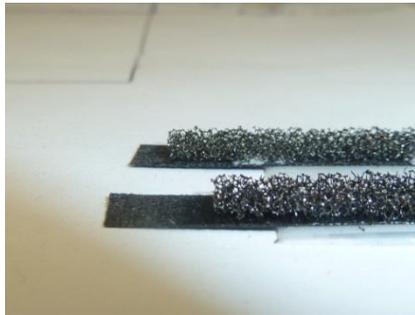


Figura 15: Mousse mais tecido de carbono

Para manter o compartimento catódico do sistema bioeletroquímico aerado, utilizou-se na  $PCM_F$  uma pequena bomba de ar que injetava continuamente oxigênio atmosférico.

Na montagem da  $PCM_F$  utilizou-se gel de silicone, fios elétricos, buchas de borracha, parafusos de inox, buchas de inox, conexões elétricas, tubos poliméricos, eletrodos de carbono e a membrana de *Nafion*. A Figura 16 ilustra a fase de montagem da  $PCM_F$ , e a partir dela é possível observar alguns importantes componentes para sua montagem.

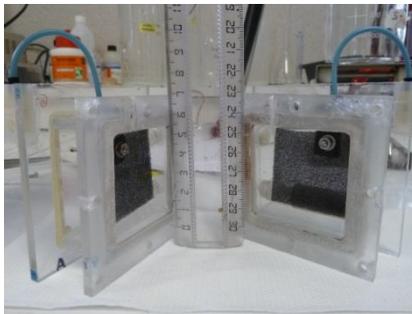


Figura 16: Montagem da Biopilha PCMF

### 3.6 Síntese do Meio Eletrolítico

A PCMF é caracterizada por um bioânodo submerso em solução aquosa na qual o acetato foi utilizado como substrato de referência. No compartimento e uma solução tampão, conhecida como M9. A composição da M9 e a composição do substrato estão descritas na Tabela 6.

Tabela 6: Composição do meio eletrolítico anódico

#### **Eletrólito Anódico (M9 + Substrato)**

##### **M9**

- 8,16 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$
- 5,78g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
- 1,0 g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$
- 0,5 g de  $\text{NaCl}$
- 0,457 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- 0,011 g de  $\text{CaCl}$
- 1 litro de água destilada

##### **Substrato**

150 mg (95% acetato e 5% de leveduras)

Cada composto acima foi pesado numa balança de precisão, e diluído em 1 (um) litro de água destilada, através uma placa de agitação magnética e um bastão magnético.

### 3.7 Pré-Tratamento da Membrana

A membrana catiônica de *Nafion* utilizada na PCM<sub>F</sub> sofreu um pré-tratamento antes de ser anexada ao sistema. Esse procedimento teve como objetivo eliminar todas as substâncias presentes na membrana que pudessem interferir e prejudicar o transporte de íons, assim também como para saturá-la com cargas positivas. Para isso, os seguintes procedimentos foram adotados:

- 1 hora submergida em uma solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (20%) a 80°C para oxidar qualquer substância prejudicial presente na membrana;
- 1 hora submergida em água destilada a 150°C para realizar uma limpeza preliminar;
- 2 horas submergida em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (17,8 M) a 150°C para saturá-la com cargas positivas (íons catiônicos);
- 1 hora submergida em água destilada a 150°C para realizar uma limpeza final da membrana.

### 3.8 Monitoramento

Devido aos diferentes parâmetros e à complexidade das análises e ao circuito externo na qual a biopilha foi submetida, o monitoramento foi dividido em 2 (duas) etapas.

#### 3.8.1 Monitoramento - Primeira Etapa

Após o pré-tratamento de todos os componentes e a montagem completa da PCM<sub>F</sub> a mesma foi submetida a um monitoramento diário, para verificação do seu comportamento quanto a geração de energia ao longo do tempo. Utilizou-se um *Data Logger*, conectado à biopilha através de um circuito externo. Esse circuito permitiu a aquisição de dados quanto a corrente e tensão produzidas pela PCM<sub>F</sub> a cada uma hora, de 24/01/2011 a 16/03/2011, e a cada 5 minutos de 16/03/2011 a 14/04/2011.

A Figura 17 representa o circuito externo da biopilha, na qual o voltímetro (V) e o amperímetro (A) são representadas pelo multivoltímetro *Data Logger* conectado à biopilha. A resistência (R), é proporcionada pelo reostato.

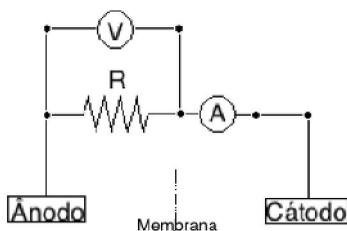


Figura17: Circuito externo PCM<sub>F</sub>- primeira etapa de monitoramento

O reostato citado anteriormente é demonstrado na Figura 18. Ele foi utilizado para controlar a intensidade de corrente e a resistência externa da PCM<sub>F</sub>.

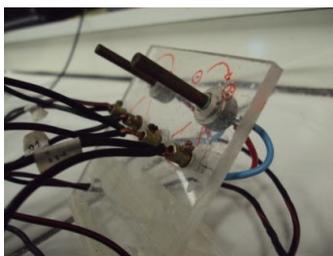


Figura 18: Reostado utilizado

O monitoramento da corrente e da tensão possibilitou a realização de procedimentos corretivos e preventivos na PCM<sub>F</sub>, tais como a manutenção do meio eletrolítico e a realização de curvas de polarização.

A captura das informações permitiu calcular a potência, o rendimento energético e a eficiência coulombica do sistema.

A eficiência Coulômbica é definida como a razão entre o número de Coulombs efetivamente transferido para o ânodo e o total de Coulombs produzido, considerando que todo o substrato oxidado produza elétrons. Para calcular o total de Coulombs efetivamente transferido para o sistema basta integrar a corrente gerada pela biopilha ao longo do tempo nos seus diferentes ciclos de alimentação.

A Equação 16 mostra o cálculo deste parâmetro ela foi retirada e adaptada da equação de eficiência de Logan (LOGAN *et al.*, 2006).

$$\epsilon_c = \frac{\int_0^t I \cdot dt}{F \cdot n_e \cdot \Delta n_i} \quad (16)$$

Onde:

F: Número de Faraday

$n_e$ : número de elétrons produzidos por cada mol de substrato oxidado

$\Delta n_i$ : número de mols adquiridos pela oxidação do substrato em cada ciclo

O Rendimento Energético pode avaliar uma biopilha quanto a energia total recuperada pelo sistema. Corresponde a um rendimento de potência e pode ser calculado como a razão entre energia produzida pela célula durante um intervalo de tempo e o total de energia produzida pela oxidação de todos os mols de substratos. Melhor avalia a eficiência do sistema, pois leva em conta os elétrons produzidos que efetivamente geram corrente.

A Equação 17 mostra o cálculo desse parâmetro.

$$\epsilon_e = \frac{\int_0^t I \cdot U \cdot dt}{\Delta G \cdot \Delta n_i} \quad (17)$$

Onde :  $\Delta G$ : Energia livre de Gibbs;

$\Delta n_i$ : número de mols adquiridos pela oxidação do substrato em cada ciclo.

Também foi possível realizar uma comparação entre a  $PCM_F$  e outra biopilha chamada de Pilha a Combustível Microbiano C ( $PCM_C$ ), em funcionamento no mesmo laboratório (Figura 19), desde abril de 2009.

Durante a primeira etapa de monitoramento, no período de 24 de janeiro a 28 de fevereiro, a  $PCM_C$  apresentou o mesmo volume e a mesma configuração da  $PCM_F$ . O diferencial entre os a  $PCM_F$  e a  $PCM_C$  era o material de constituição dos eletrodos (tecido de carbono na  $PCM_C$  e mousse de carbono na  $PCM_F$ ). Após esse período não foi mais possível realizar uma comparação equivalente entre as duas biopilhas pois a configuração da  $PCM_C$  foi completamente modificada.

Para realizar uma comparação mais rigorosa entre as duas biopilhas seria necessário encontrar um modo de equivaler seus parâmetros, entre eles a superfície dos eletrodos. Não foi possível obter dados suficientes sobre a superfície específica real do tecido de carbono,

sendo necessário trabalhar com a superfície aparente dos eletrodos anódico das duas biopilhas ( $PCM_C = 0,005m^2$ ;  $PCM_F = 0,00258m^2$ ).



Figura 19:  $PCM_C$  e  $PCM_F$

### 3.8.2 Monitoramento - Segunda Etapa

Após a primeira etapa de monitoramento realizou-se análises mais complexas na  $PCM_F$ . Além da intensidade da corrente elétrica, monitorou-se também a temperatura ambiente e o potencial experimental dos eletrodos (potenciais experimentais catódico e anódico). Essas análises ocorreram durante os meses de abril e maio de 2011, conforme descrito abaixo:

- Corrente, tensão e temperatura ambiente: A cada cinco minutos de 11 a 14/04;
- Corrente, tensão, potencial dos eletrodos e temperatura ambiente: a cada minuto de 14/04 a 10/05;
- Corrente, tensão, potencial dos eletrodos e temperatura ambiente: a cada 5 minutos de 10/04 a 31/05.

A corrente e o potencial dos eletrodos foram adquiridos pelo *Data Logger* conectado por um circuito externo aos eletrodos (cátodo e ânodo), ao eletrodo de referência e ao reostato (Figura 20). Esse circuito permitiu a circulação de elétrons, o controle da resistência externa e o monitoramento dos dados.

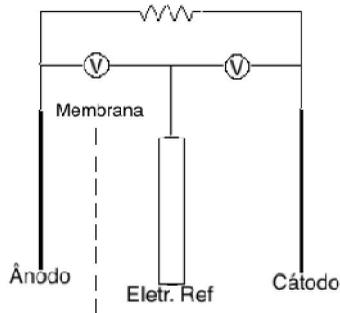


Figura 20: Circuito externo PCM<sub>F</sub>- Segunda Etapa de Monitoramento

Através da segunda etapa de monitoramento foi possível realizar procedimentos corretivos e preventivos na PCM<sub>F</sub>, tais como a manutenção do meio eletrolítico e a realização de curvas de polarizações. O monitoramento permitiu também calcular a potência, o rendimento energético e a eficiência coulombica do sistema. Foi realizada a espectrometria de impedância, através do Espectrômetro AUTOLAB.

### 3.9 Manutenção do meio eletrolítico

Através do monitoramento diário da corrente gerada pela biopilha foi possível saber quando era necessário realizar procedimentos corretivos, tais como a renovação do meio eletrolítico anódico, através da seguinte constatação: quando havia queda na geração de corrente era necessário renovar o meio eletrolítico. Esse procedimento permitiu o controle do pH e a melhoria da performance da PCM<sub>F</sub>.

Outro procedimento de manutenção realizado na PCM<sub>F</sub> foi o preenchimento de eletrólito catódico, devido a redução de seu nível por conta da evaporação atmosférica.

Todos os procedimentos de manutenção da PCM<sub>F</sub> ocorreram durante as duas etapas de monitoramento.

### 3.10 Curva de Polarização

A curva de polarização feita regularmente durante a todas as etapas de monitoramento, foi utilizada para análise e caracterização de uma célula a combustível microbiano. A variação da resistência externa do circuito de 2500Ω a 0Ω, em blocos de 5 minutos, possibilitou

observar o comportamento da corrente e da tensão a essa variação. O tempo de 5 minutos, entre cada medição, foi necessário para a estabilização do sistema.

### 3.11 Espectrometria de Impedância

A espectrometria de impedância foi realizada na  $PCM_F$  no dia 01/06 com objetivo de verificar a perda elétrica (resistiva e capacitiva) da biopilha. Essa análise baseou-se na aplicação de um potencial elétrico e de uma corrente alternada no sistema para colher resposta em forma de corrente.

O espectrômetro utilizado na análise (AUTOLAB) possui quatro diferentes cabos de conexão, divididos em cabos de trabalho e cabos de medição (Figura 21). A conexão de medição é formada pelo cabo de referência (E.R) e pelo cabo de medição (E.S). Já a conexão de trabalho é formada pelo cabos de Contra Eletrodo (C.E) e pelo cabo de Trabalho (E.W).



Figura 21: Espectrômetro AUTOLAB e suas diferentes conexões

De acordo com o que se desejava analisar os cabos do equipamento apresentavam diferentes configurações quanto as conexões. Neste procedimento verificou-se a impedância global do sistema através das seguintes conexões:

→ Impedância Global do Sistema: Ânodo conectado aos cabos E.W e E.S. Já o cátodo foi conectado aos cabos E.R e ao C.E.

A espectrometria e a aquisição de dados decorrentes desse procedimento foram gerenciados por um *software*, fornecido pelo fabricante do espectrômetro, chamado NOVA e posteriormente

modelados em um outro programa chamado ZVIEW, instalados em um computador fixo.

## 4. RESULTADOS

O potencial e a corrente da biopilha possibilitou a análise da potência da biopilha, por metro quadrado de eletrodo, durante os 05 (cinco) meses de monitoramento.

### 4.1 Geração de Energia

O Gráfico 1 demonstra a potência gerada pelas duas biopilhas ( $PCM_F$  e  $PCM_C$ ) observadas durante o primeiro mês de monitoramento.

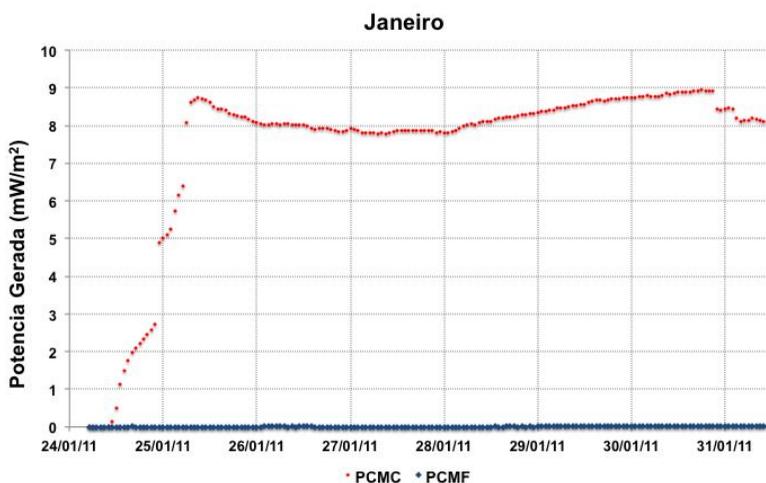


Gráfico 1: Potência por cada metro quadrado de eletrodo, gerada pela  $PCM_F$  (curva azul) e pela  $PCM_C$  (curva vermelha) durante o primeiro mês de janeiro

Durante os 7 dias de monitoramento realizados no mês de janeiro, a  $PCM_F$  não produziu qualquer potência, isso por que este tempo não foi suficiente para que o biofilme bacteriano se desenvolvesse no eletrodo anódico. Já a  $PCM_C$  um dia após a renovação do seu meio eletrolítico anódico, alcançou uma estabilização quanto a sua geração de energia, atingindo valores próximos a  $8 \text{ mW/m}^2$ . Isso ocorreu pois essa biopilha está em funcionamento desde abril de 2010 e sua flora bacteriana já estava bem desenvolvida sobre a superfície anódica, proporcionando assim maior estabilidade ao sistema.

De 28 de janeiro a 07 de fevereiro as características das biopilhas se mantiveram as mesmas, até a realização do procedimento 1.

O Gráfico 2 demonstra a potência gerada pelas duas biopilhas ( $PCM_F$  e  $PCM_C$ ) observadas durante o monitoramento de fevereiro.

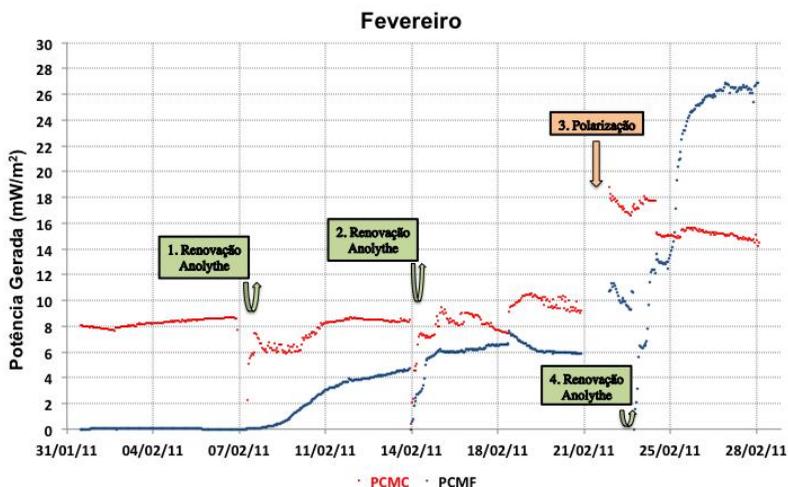


Gráfico 2: Potência por cada metro quadrado de eletrodo gerada pela  $PCM_F$  (curva azul) e  $PCM_C$  (curva vermelha), durante o mês de fevereiro

→ **Procedimento 1:** Renovação do Eletrólito Anódico  $PCM_C$  e  $PCM_F$  realizada no dia 07/02/2011

-  $PCM_F$ : 25mL Eletrólito Anódico  $PCM_C$  + 25mL Solução M9+ 150 mg de substrato (acetato composto por 5% de leveduras)

-  $PCM_C$ : Adição 25mL M9 retirados para introduzir no compartimento anódico da  $PCM_F$

Esse procedimento fez com que a  $PCM_F$  começasse a gerar uma baixa potência. Não foi possível afirmar que a flora bacteriana havia se proliferado de forma integral sobre toda a superfície do eletrodo anódico.

O crescimento bacteriano da  $PCM_F$  ocorrido em 10/02/2011, comparado com o crescimento bacteriano da  $PCM_C$ , ocorrido em 26/06/2010, demonstrou que mesmo em melhores condições de proliferação, as bactérias eletroquímicas desenvolveram-se mais rápido na  $PCM_C$  que na  $PCM_F$ . Este comportamento é ilustrado no Gráfico 3.

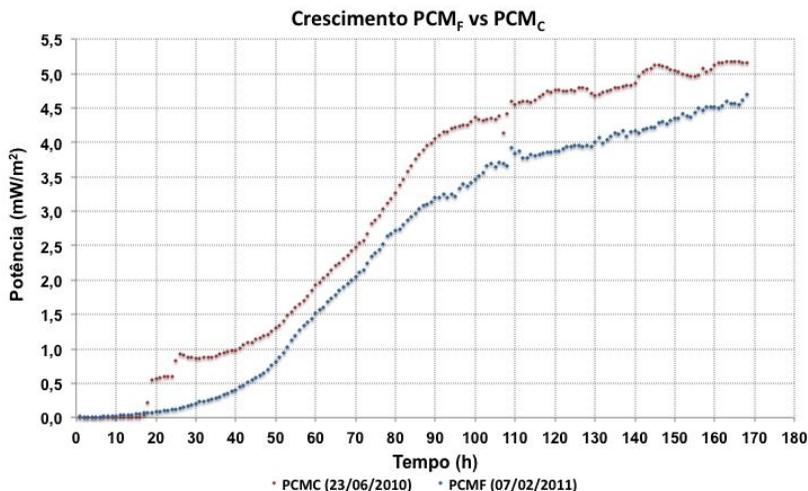


Gráfico 3: Comparação entre o crescimento bacteriano da  $PCM_F$  (curva azul) e da  $PCM_C$  (curva vermelha)

→ **Procedimento 2:** Renovação do Eletrólito Anódico da  $PCM_C$  e da  $PCM_F$  realizada no dia 14/02/2011.

- $PCM_F$ : 25mL Eletrólito Anódico  $PCM_C$  + 25mL Solução M9+ 150 mg de substrato (acetato composto por 5% de leveduras).

- $PCM_C$ : Adição 25mL M9 retirados para introduzir no compartimento anódico da  $PCM_F$ .

Após verificar que a  $PCM_F$  ainda gerava valores muito baixos de potência o procedimento 1 foi repetido. Observou-se que logo após a renovação eletrolítica a biopilha retomou rapidamente a geração de energia. Isso foi um indício de que a flora bacteriana já havia se proliferado sobre a superfície do eletrodo anódico de forma satisfatória.

→ **Procedimento 3:** Curva de Polarização realizada na  $PCM_F$  e na  $PCM_C$  no dia 21/02/11, na qual foi encontrado um ponto de operação otimizado para cada biopilha com as seguintes resistências externas:

- $PCM_F$ : 500 $\Omega$

- $PCM_C$ : 350 $\Omega$

Esse procedimento elevou consideravelmente os valores de potência produzidos pelas duas biopilhas. A  $PCM_C$  partiu de valores próximos a 10 mW/m<sup>2</sup> e atingiu valores próximos a 18 mW/m<sup>2</sup>. Já a  $PCM_F$  partiu de valores próximos de 6 mW/m<sup>2</sup> e chegou a 11mW/m<sup>2</sup>. Logo após esse procedimento o substrato presente no meio eletrolítico

da  $PCM_F$  foi rapidamente consumido, sendo necessário assim renovar o meio eletrolítico.

→ **Procedimento 4:** Renovação do Eletrólito Anódico da  $PCM_F$  realizado no dia 23/02/2011

-  $PCM_F$ : 50mL M9 + 150mg Substrato

Três dias após esse procedimento a potência da  $PCM_F$  alcançou valores próximos a  $26 \text{ mW/m}^2$ , ultrapassando assim os valores produzidos pela  $PCM_C$  no mesmo momento. Demonstrando que a flora bacteriana já havia se fixado sobre a superfície do eletrodo anódico e que não era mais necessário introduzir colônias bacterianas já selecionadas, provenientes da  $PCM_C$ . Havia maior produção de energia quando se renovava o meio eletrolítico sem culturas selecionadas.

Após 28/02/11, o compartimento catódico da  $PCM_C$  parou de trabalhar em meio aquoso e começou a trabalhar com ar atmosférico, ou seja em ar-catódico, não permitindo a comparação e análise equivalente entre as biopilhas após este período. A partir de 28/02/11 o estudo parou de analisar o comportamento da  $PCM_C$  frente a  $PCM_F$ .

O Gráfico 4 demonstra a potência gerada pela  $PCM_F$  por metro quadrado de eletrodo durante o terceiro mês de monitoramento.

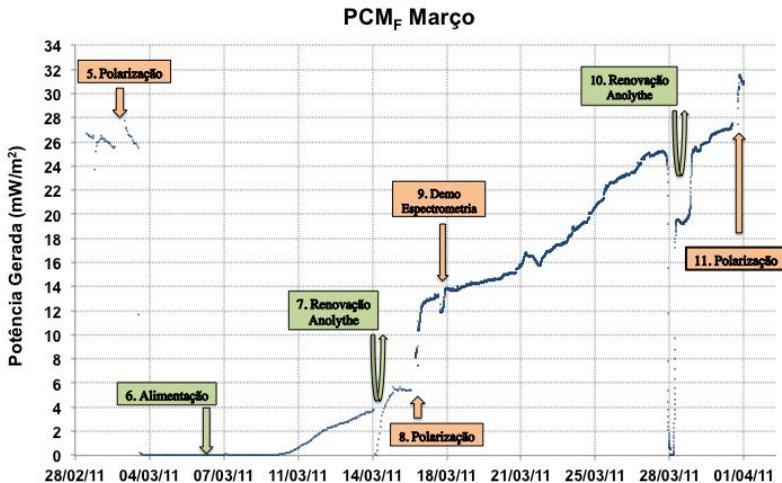


Gráfico 4: Potência por cada metro quadrado de eletrodo gerada pela  $PCM_F$  durante o mês de março

→ **Procedimento 5:** Curva de Polarização realizada na PCM<sub>F</sub> no dia 02/03/11, onde foi encontrado ponto de operação otimizado para a biopilha, com a seguinte resistência externa:

- PCM<sub>F</sub>: 240Ω

Antes desse procedimento a PCM<sub>F</sub> estava trabalhando com uma resistência externa de 500Ω. A partir desse momento ela passou a trabalhar a 240Ω. Isso não alterou consideravelmente a potência gerada pela biopilha. Logo após realizar esta curva de polarização a PCM<sub>F</sub> consumiu rapidamente todo substrato presente no meio eletrolítico anódico. Devido a uma problema operacional o compartimento anódico ficou por aproximadamente 4 dias sem substrato. Isso eliminou completamente a flora eletroquímica presente na superfície anódica.

→ **Procedimento 6:** Alimentação da PCM<sub>F</sub> realizada no dia 07/03/11.

- PCM<sub>F</sub>: Adição de 150mg de substrato (acetato, coposto por 5% de leveduras) ao meio eletrolítico anódico.

Somente dois dias após este procedimento a PCM<sub>F</sub> começou a gerar energia, mas ainda com valores muito baixos. Houve um crescimento nos valores de potência de modo suave e ameno se comparado com a recuperação ocorrida anteriormente. Isto demonstrou que a flora bacteriana havia sido extinta após 4 (quatro) dias sem substrato, de 07 a 09 de março.

→ **Procedimento 7:** Renovação Parcial do Meio Eletrolítico Anódico da PCM<sub>F</sub> realizada no dia 14/03/2011.

Nesse procedimento foi retirado 25 ml do eletrólito anódico presente na PCM<sub>F</sub> e em seguida foi acrescentado ao mesmo 25 ml de eletrólito anódico da PCM<sub>C</sub> mais 150 mg de substrato (acetato coposto por 5% de leveduras). Isso não causou impacto significativo na geração de energia da biopilha.

→ **Procedimento 8:** Curva de Polarização realizada na PCM<sub>F</sub> no dia 02/03/11, onde foi encontrado um ponto de operação otimizado para a biopilha com a seguinte resistência externa:

- PCM<sub>F</sub>: 607Ω

Esse valor de resistência ficou próximo ao valor encontrado na primeira curva de polarização realizada na PCM<sub>F</sub> no dia 21/02, quando a

biopilha estava em fase inicial de geração de energia e de estabilização da flora eletroquímica sobre a superfície anódica. Assim como a anterior, a curva de polarização realizada neste momento promoveu um aumento abrupto da potência (de 5 a  $13\text{mW/m}^2$ ) além do aumento na geração de energia da biopilha, quase que contínuo até o dia 28/03, quando o substrato foi completamente oxidado.

→ **Procedimento 9:** No dia 17/03/11 foi realizado teste com um equipamento de espectrometria de impedância na  $\text{PCM}_F$  com o intuito de analisar o equipamento e não os resultados da análise. Desta forma este estudo não considerou os resultados obtidos por essa análise experimental, mas durante o procedimento foi observada uma perturbação no sistema.

→ **Procedimento 10:** Renovação do Eletrólito Anódico da  $\text{PCM}_F$  realizado no dia 28/03/2011.

-  $\text{PCM}_F$ : 25 ml Eletrólito Anódico  $\text{PCM}_C$  + 25 ml Solução M9+ 150 mg de substrato (95% de acetato composto por 5% de leveduras).

Esse procedimento manteve viva a flora bacteriana eletroquímica e o aumento da potência da  $\text{PCM}_F$ . A biopilha retomou sua geração de energia rapidamente, demonstrando que a flora eletroquímica havia se restabelecido na superfície do eletrodo, após ser completamente eliminada durante os dias 07 a 09 de março.

→ **Procedimento 11:** Curva de Polarização realizada na  $\text{PCM}_F$  no dia 31/03/11, onde foi encontrado um ponto de operação otimizado para a biopilha com a seguinte resistência externa:

-  $\text{PCM}_F$ :  $250\Omega$

Esse procedimento provocou um pequeno aumento na potência, entorno de  $5\text{mW/m}^2$  (de 26 a  $31\text{mW/m}^2$ ). Os valores de potência da biopilha se mantiveram praticamente estáveis e próximos a  $30\text{mW/m}^2$ . Isso ocorreu até o dia 05/04, quando houve a oxidação completa do substrato.

O Gráfico 5 demonstra a potência gerada pela  $\text{PCM}_F$  durante a primeira quinzena de abril.

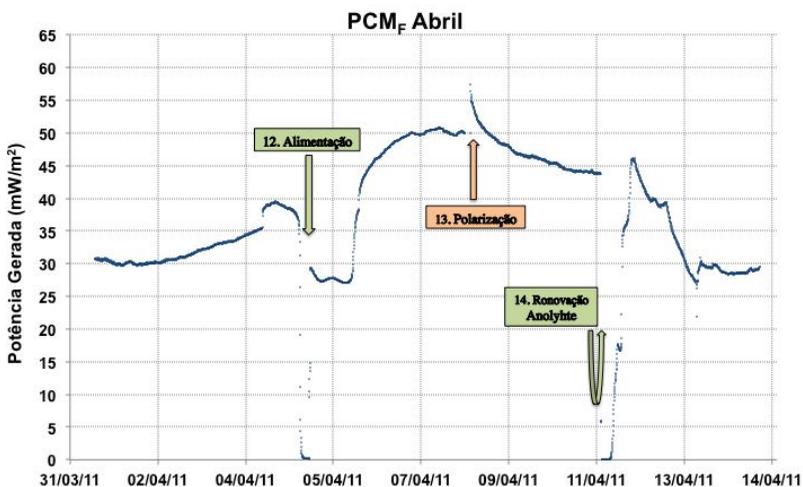


Gráfico 5: Potência por cada metro quadrado de eletrodo gerada pela PCM<sub>F</sub> durante o mês de abril- primeira etapa de monitoramento

→ **Procedimento 12:** Alimentação PCM<sub>F</sub> realizada no dia 05/04/11.

- PCM<sub>F</sub>: 150 mg de substrato (acetato composto por 5% de leveduras)

Após verificar uma queda na geração de energia adicionou-se ao meio eletrolítico anódico 150 mg de substrato. Num primeiro momento, esse procedimento não trouxe grandes melhoras, mas um dia após, a biopilha aumentou seus valores de potência de forma considerável, sem que fosse possível explicar esse comportamento.

→ **Procedimento 13:** Curva de Polarização realizada na PCM<sub>F</sub> no dia 08/04/11, onde foi encontrado um ponto de operação otimizado para a biopilha com a seguinte resistência externa:

- PCM<sub>F</sub>: 130Ω

A diminuição da resistência externa de 250 Ω para 130 Ω causou um pico de potência de 60 mW/m<sup>2</sup> na PCM<sub>F</sub> e logo após, observou-se um rápido consumo do substrato e um decréscimo contínuo na potência até valores próximos a zero.

→ **Procedimento 14:** Renovação do Eletrólito Anódico da PCM<sub>F</sub> realizado no dia 11/04/2011.

- PCM<sub>F</sub>: 50ml da solução M9 + 300 mg de Acetato Puro.

Nesse procedimento utilizou-se o acetato puro. Num primeiro momento isso provocou um pico de potência de 45 mW/m<sup>2</sup>, semelhante aos encontrados anteriormente. Logo após esse pico ocorreu uma queda brusca e contínua da potência até o dia 13/04, estabilizando em valores próximos a 30 mW/m<sup>2</sup>. A biopilha manteve praticamente constante este valor, salvo pequenas variações, até que no dia 19/04, chegou a zero, devido a ausência de substrato.

O Gráfico 6, demonstra a potência gerada pela PCM<sub>F</sub> ao longo da segunda quinzena de abril/2011.

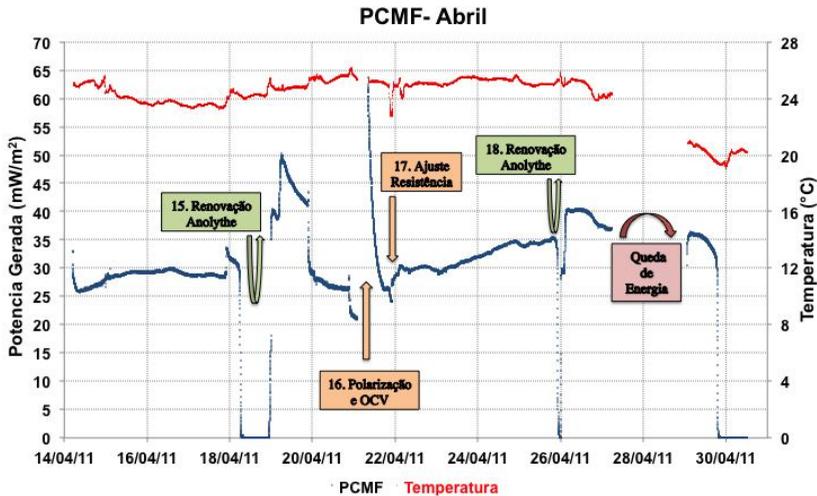


Gráfico 6: Potência por cada metro quadrado de eletrodo gerada pela PCM<sub>F</sub> durante o mês de abril segunda etapa de monitoramento.

→ **Procedimento 15:** Renovação do Eletrólito Anódico da PCM<sub>F</sub> realizado no dia 19/04/11.

- PCM<sub>F</sub>: 50 ml da solução M9 + 300 mg de Acetato Puro

Com esse procedimento, a PCM<sub>F</sub> retomou sua geração de energia em um pico de potência. Dessa vez com um valor próximo a 50 mW/m<sup>2</sup>. Após, houve um decréscimo abrupto na geração de energia até o sistema encontrar estabilidade, no dia 20/04, com valores a 25 mW/m<sup>2</sup>.

→ **Procedimento 16:** Curva de Polarização realizada na  $PCM_F$  no dia 21/04/11, onde foi encontrado um ponto de operação otimizado para a biopilha com uma resistência externa de  $300 \Omega$ . Devido a um erro operacional a resistência foi ajustada a  $160 \Omega$ .

Após a realizar este procedimento o circuito conectado a  $PCM_F$  foi submetido a um circuito aberto, também chamado circuito em OCV (*Open circuit voltage*). Esse procedimento teve como objetivo encontrar o potencial global da biopilha quando o mesmo não apresenta qualquer resistência externa imposta pelo reostato. Isso não foi alcançado de forma conclusiva pois observou-se que a estabilização do sistema em OCV para a determinação desse valor não existe. A demonstração do comportamento do potencial global da  $PCM_F$  (em mV) ao longo do tempo submetida a um circuito OCV pode ser verificada no Gráfico 7.

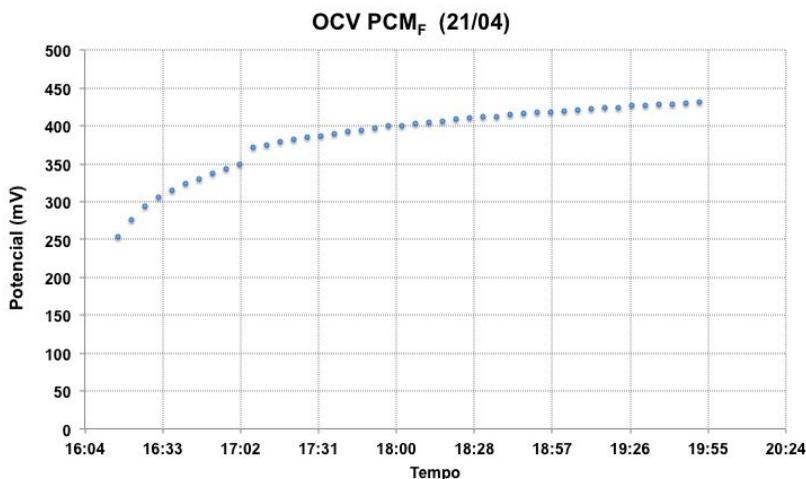


Gráfico 7: Comportamento do potencial da  $PCM_F$  ao longo do tempo quando submetida a um circuito OCV.

O comportamento do potencial da biopilha em OCV é representado por uma curva logarítmica que tende a um crescimento ao infinito, o que prova que não é possível encontrar um potencial global fixo quando a biopilha está submetida a um circuito aberto. Pode-se dizer que após um certo período o potencial sofre pequenos acréscimos. Este ponto foi adotado como o potencial global da biopilha em OCV, que neste caso atingiu um valor de 420 mV.

→ **Procedimento 17:** No dia 22/04/11 notou-se que a resistência externa na qual a  $PCM_F$  estava submetida era diferente da resistência encontrada na última curva de polarização. Desta forma ajustou-se a resistência de  $160\Omega$  para  $300\Omega$ , o que provocou uma aceleração na geração de energia e um crescimento contínuo nos valores da potência, de  $25 \text{ mW/m}^2$  chegando até a  $35 \text{ mW/m}^2$ . Isto ocorreu até o dia 25/04 quando os valores chegaram abruptamente a zero devido a oxidação completa do substrato. Não foi possível concluir sobre esse comportamento.

→ **Procedimento 18:** Renovação do Eletrólito Anódico da  $PCM_F$  realizado no dia 26/04/11.

-  $PCM_F$ : 50 ml da solução M9 + 100 mg de Acetato Puro

Esse procedimento proporcionou uma rápida retomada na geração de energia assim como um pico de potencia de  $40 \text{ mW/m}^2$ . Após esse pico o sistema procurou novamente um certa estabilização, que ocorreu no dia 27/04, quando os valores de potência ficaram próximos a  $35 \text{ mW/m}^2$ .

Durante os dias 27, 28 e 29 de abril ocorreu queda de energia, proveniente de problema na rede elétrica pública, suprimindo os dados monitorados durante esse período.

No dia 29/04, logo após o retorno de energia, verificou-se que a biopilha continuava a produzir potência próxima a  $35 \text{ mW/m}^2$ . Isso ocorreu até o dia 30/04, quando o substrato foi completamente oxidado.

O Gráfico 8 demonstra a potência e a temperatura da  $PCM_F$  durante o mês de maio.

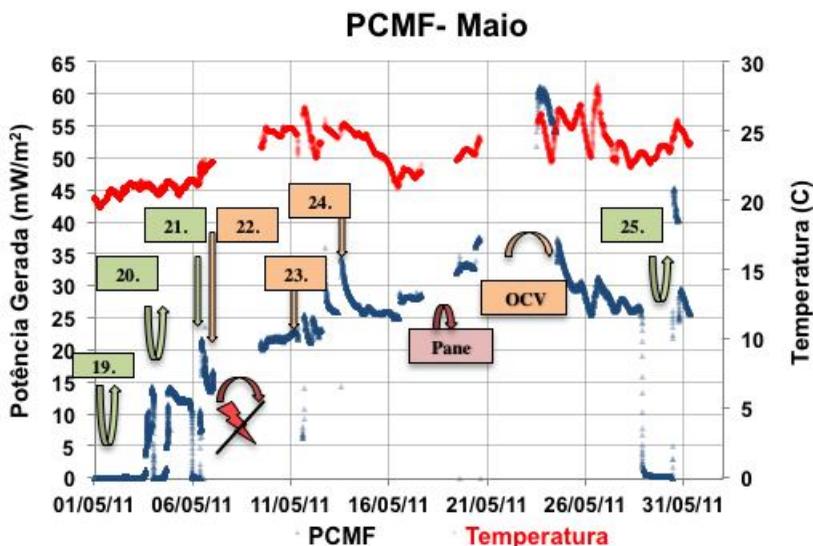


Gráfico 8: Potência por cada metro quadrado de eletrodo gerada pela PCMF durante o mês de maio.

→ **Procedimento 19:** Renovação do Eletrólito Anódico da PCMF realizado no dia 02/05/11

- PCMF: 50 ml da solução M9 + 50 mg de Acetato Puro

Um dia após esse procedimento, a PCMF retomou a geração de energia com valores próximos a 10 mW/m<sup>2</sup> como no início de sua operação. Em aproximadamente dois dias o substrato adicionado nesta renovação anódica já havia sido completamente consumido, o que levou novamente a biopilha a gerar valores nulos de potência.

→ **Procedimento 20:** Renovação do Eletrólito Anódico da PCMF realizado no dia 04/05/11

- PCMF: 50 ml da solução M9 + 50 mg de Acetato Puro

Esse procedimento teve a mesma repercussão que o anterior devido a sua semelhança.

→ **Procedimento 21:** no dia 06/05/11 a fim de acelerar a geração de corrente da PCMF e realizar novos testes de espectrometria de impedância acrescentou-se ao meio eletrolítico anódico 230 mg de

acetato puro. Isso trouxe à biopilha uma rápida retomada na geração de potência com valores próximos a  $20\text{mW/m}^2$ .

→ **Procedimento 22:** No dia 06/05/11 foi realizado um teste de espectrometria de impedância na  $\text{PCM}_F$ , mas desta vez com um outro espectrômetro. O objetivo deste procedimento era avaliar o equipamento e não os resultados gerados por ele.

→ **Procedimento 23:** No dia 11/05/11 foi realizado na  $\text{PCM}_F$  um teste de espectrometria de impedância com o espectrômetro adquirido pelo laboratório. Essa análise teve como objetivo familiarizar-se com o novo equipamento.

→ **Procedimento 24:** Curva de Polarização realizada na  $\text{PCM}_F$  no dia 12/05/11, onde foi encontrado um ponto de operação otimizado para a biopilha, com a seguinte resistência externa:

-  $\text{PCM}_F$ :  $350\ \Omega$

Esse procedimento provocou um aumento considerável das potências geradas pela  $\text{PCM}_F$  atingindo um pico de  $36\ \text{mW/m}^2$ . Em poucas horas esse valor sofreu um rápido decréscimo, até atingir  $25\ \text{mW/m}^2$ .

Durante os dias 17, 18 e 19 de maio ocorreu uma pane no equipamento de armazenamento de dados (*Data Logger*), causando a perda dos dados monitorados durante esse período. A partir do dia 19/04 o *Data Logger* voltou a operar normalmente e constatou-se que a biopilha continuava a produzir valores de potência próximos a  $35\ \text{mW/m}^2$ .

Entre os dias 20 a 23 de maio a  $\text{PCM}_F$  foi submetida novamente a um circuito em OCV. Após isto foi possível perceber um pico de potência de  $61\ \text{mW/m}^2$ , nunca antes observado. Dois dias após ocorreu um decréscimo contínuo desse valor até que o sistema atingiu uma certa estabilidade, no dia 28/05 com valores a  $30\ \text{mW/m}^2$ .

É importante destacar que entre os dias 25 a 28 de maio foi possível perceber a influência da temperatura na potência da  $\text{PCM}_F$ . Conclui-se que a temperatura influencia de forma considerável um sistema bioeletroquímico quando a mesma atinge valores entre  $25$  a  $30^\circ\text{C}$ .

O Gráfico 9 demonstra a influência da temperatura na potência gerada pela biopilha.

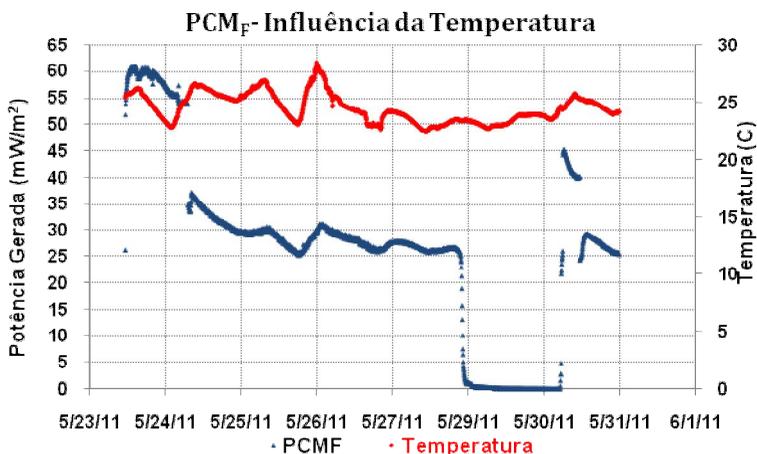


Gráfico 9: Influência da Temperatura na potencia da PCM<sub>F</sub>

→ **Procedimento 25:** Renovação do Eletrólito Anódico da PCM<sub>F</sub> realizado no dia 30/05/11

- PCM<sub>F</sub>: 50 ml da solução M9 + 150 mg de Acetato Puro

Este procedimento provocou uma rápida retomada na geração de energia da PCM<sub>F</sub>, atingindo um pico de potência de 45 mW/m<sup>2</sup>, estabilizando-se, após poucas horas, com valores próximos a 25 mW/m<sup>2</sup>.

## 4.2 Eficiência PCM<sub>F</sub>

Foram calculados a eficiência Coulombica (E.C) e o Rendimento Energético da PCM<sub>F</sub> durante diferentes ciclos de alimentação. A Tabela 7 representa os ciclos de oxidação completa do substrato, ou seja, de uma renovação anódica a outra e as eficiências do sistema.

Tabela 7 – Resultados do cálculos de eficiência e rendimento energético da PCM<sub>F</sub>, durante diferentes ciclos de alimentação

Período	Procedimento	Eficiência Coulômbica (%)	Rendimento Energético (%)
23/02 --> 07/03	50mL M9+ 150mg Substrato	11	10
05/04 ---> 11/04	150mg Substrato	21	16
11/04 ---> 19/04	50mL M9+ 300mg Substrato	12	6
19/04 ---> 26/04	50mL M9+ 150mg Acetato Puro	19	13
02/05 ---> 04/05	50mL M9+ 50mg Acetato Puro	2	1
04/05 ---> 06/05	50mL M9+ 50mg Acetato Puro	6	3

Tanto o cálculo do rendimento energético quanto da eficiência Coulômbica não apresentaram resultados satisfatórios, se comparados aos resultados encontrados em bibliografias. De modo geral, pode-se dizer que existem quatro principais razões para esse baixo rendimento do sistema:

→ No início de cada ciclo é necessário renovar o meio eletrolítico e ao fazer isso o oxigênio difundido no ar atmosférico entra no compartimento anódico, promovendo desta forma a proliferação de bactérias aeróbicas. Essas bactérias competem com a flora eletroquímica para a oxidação do substrato, reduzindo a capacidade da flora eletroquímica em gerar elétrons;

→ Há uma pequena parcela de oxigênio presente no compartimento catódico que consegue atravessar a membrana de *Nafion* e consegue se difundir no meio eletrolítico anódico. Isso promove as consequências acima;

→ Uma parcela do substrato presente no meio eletrolítico é oxidado por bactérias metanogênicas, o que causa um déficit de elétrons no sistema;

→ Pode haver também a difusão do substrato presente no eletrólito anódico para o compartimento catódico, se houver qualquer defeito ou desgaste da membrana;

→ É possível que alguns elétrons produzidos na oxidação não atravessem o circuito externo e possam se dirigir diretamente ao compartimento catódico. Normalmente, isso não ocorre devido a impermeabilidade da membrana de *Nafion* à passagem de elétrons. Isto pode ocorrer se a membrana apresentar qualquer deterioração ou defeito.

### 4.3 Curvas de polarização $PCM_F$

O Gráfico 10, descreve uma das curvas de polarização realizadas na  $PCM_F$ .

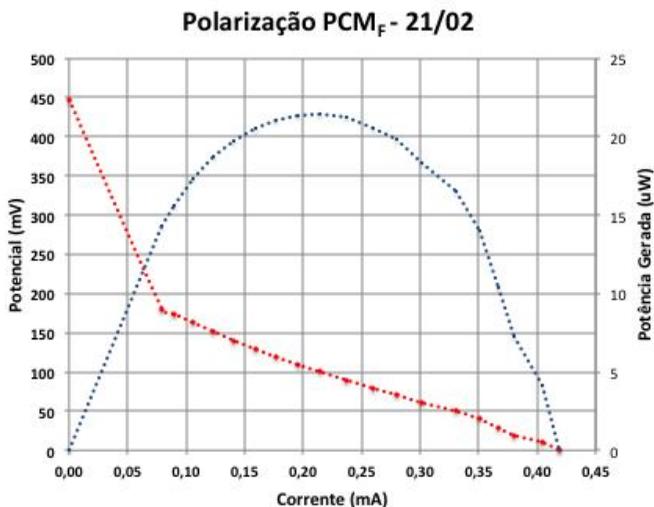


Gráfico 10: Curva de polarização feita na  $PCM_F$  em 21/02/2011

O gráfico evidencia o comportamento da corrente em função do potencial (curva vermelha) e da potência gerada (curva azul) pela biopilha ao longo de uma das polarizações realizadas. O pico de potência é representado pelo ponto de inflexão da parábola. Esse ponto, chamado de ponto de otimização, corresponde ao estado mais eficiente do sistema, que nessa polarização é representada pela Tabela 8, abaixo:

Tabela 8 -Dados do ponto de inflexão da parábola do Gráfico 10.

Polarização PCM <sub>F</sub> 21/02/2011			
U (mV)	I (mA)	P <sub>max</sub> (μW)	R <sub>ótima</sub> (Ω)
100,2	0,214	21,5	467

A polarização realizada no dia 21/02 forneceu uma resistência otimizada de 467 Ω, geradora de uma potencia de 21,5 uW. Sabe-se entretanto que a cada polarização foi encontrado um ponto otimizado diferente (Tabela 9).

Tabela 9: Valores dos pontos de otimização obtidos através das curvas de polarizações

Data	Polarização PCM <sub>F</sub>			
	U (mV)	I (mA)	P <sub>max</sub> (μW)	R(Ω)
21/02/2011	100,2	0,214	21	467
02/03/2011	133,4	0,555	74	240
16/03/2011	110,0	0,181	20	607
31/03/2011	150,2	0,571	86	263
08/04/2011	138,2	1,034	143	134
21/04/2011	157,3	0,507	80	310
12/05/2011	174,5	0,491	86	355

O comportamento inicial de uma biopilha quanto a sua resistência é normalmente representado por um alto valor, que no caso da PCM<sub>F</sub> atingiu 467 Ω. No primeiro momento há o início do crescimento da flora eletroquímica sobre o eletrodo. Após, há uma tendência do sistema a reduzir esses valores proporcionalmente ao desenvolvimento da flora eletroquímica sobre o ânodo, até atingir um certo equilíbrio, tendendo a aumentar novamente seus valores de resistência devido a mortandade das bactérias eletroquímicas e à deterioração dos materiais do sistema, tais como eletrodos, conexões, membrana, etc.

O comportamento acima, está ilustrado no Gráfico 11 que relaciona a resistência da PCM<sub>F</sub> ao tempo. Nos dias 07 a 09 de março, ocorreu um erro operacional, quando a biopilha ficou sem substrato e toda a flora eletroquímica que havia se fixado sobre a superfície do

ânodo foi extinta. Por essa razão a polarização realizada no dia 16/03 ultrapassou o valor esperado. A partir desse problema considera-se que o comportamento da resistência da  $PCM_F$  ao longo do tempo se assemelha ao comportamento da curva de tendência.

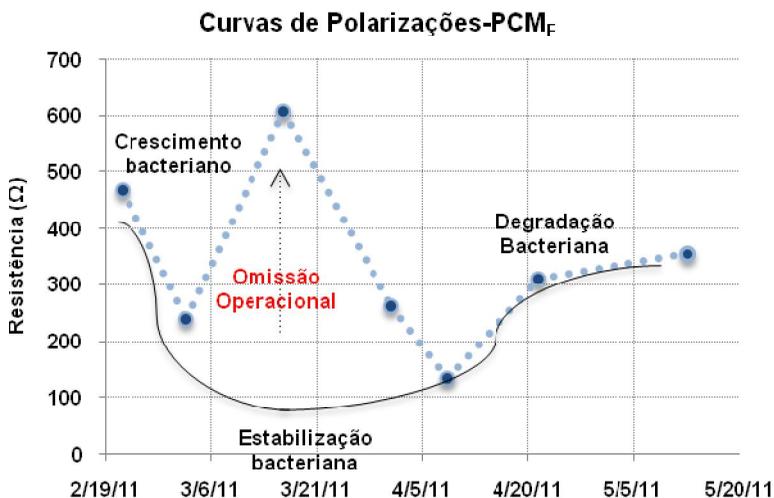


Gráfico 11: Resistências otimizadas encontradas em diferentes curvas de polarizações (Curva tracejada); Curva padrão normalmente encontrada em uma biopilha.

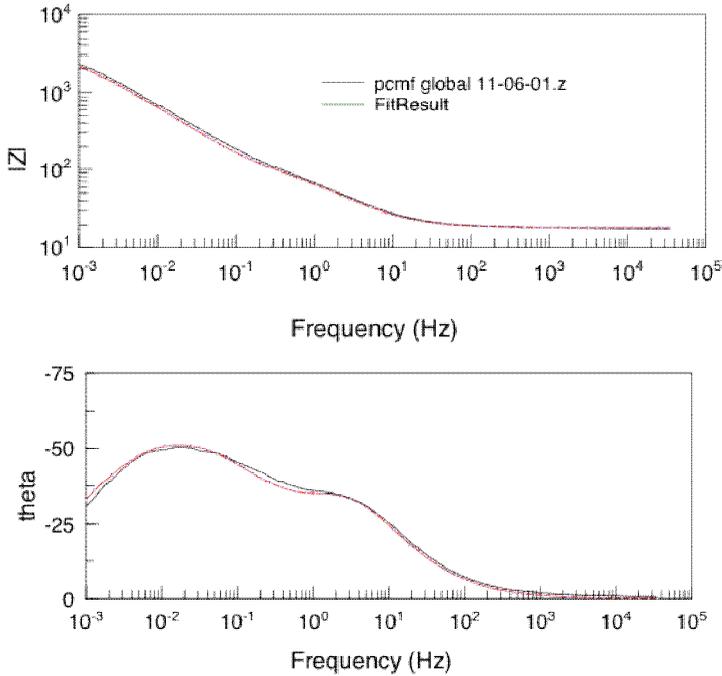
#### 4.4 Espectroscopia de impedância $PCM_F$

Através desta medição foi possível verificar a perda elétrica (resistiva e capacitiva) da  $PCM_F$ , encontrada nos eletrodos (anódico e catódico), na membrana de *Nafion* e do meio eletrolítico de ambos os compartimentos da biopilha.

Os experimentos de impedância foram realizados na  $PCM_F$  em condições de circuito aberto (OCV), com uma diferença de potencial entre o ânodo e cátodo fixado em  $-530$  mV; uma tensão alternada sobreposta de  $20$  mV e com faixa de frequência de  $100$  kHz a  $1$  mHz.

A Figura 21 representa a modelização da análise de espectrometria (curva vermelha) em relação a resposta real do sistema à análise (curva escura). Quanto mais similaridades essas duas curvas tiverem mais fiel é a modelização. Nesta análise a modelização foi feita

através de um programa chamado ZView e os resultados da mesma podem ser observados abaixo:



A Figura 22 caracteriza a modelização através da curva Nyquist.

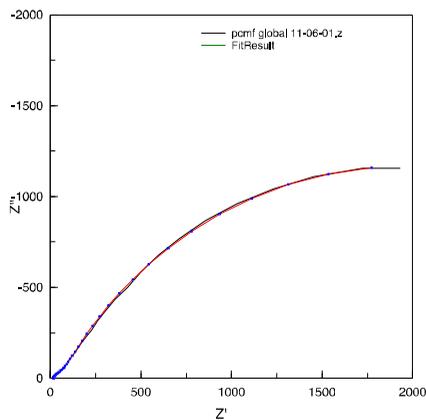


Figura 23: Curva Nyquist proveniente da espectrometria de impedância Global  $PCM_F$  realizada no dia 01/06/11

A curva Nyquist foi modelada através três semi-círculos, sendo que cada um deles representa a impedância de fenômeno particular. A união desses três semi-círculos é representado pelo circuito abaixo (Figura 24).

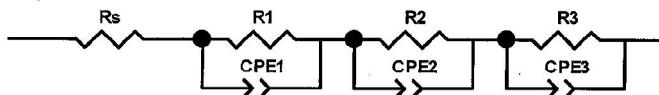


Figura 24: Circuito modelado  $PCM_F$

A Tabela 10 apresenta os valores das variáveis presentes no circuito acima.

Tabela 10 – Valores das variáveis do circuito ilustrado na Figura 23

Elemento	Valor
$R_s$ ( $\Omega$ )	18.25
$R_1$ ( $\Omega$ )	40
$C_{dl1}$ (mF)	5
$p_1$	0.78
$R_2$ ( $\Omega$ )	1700
$C_{dl2}$ (mF)	30
$p_2$	0.73
$R_3$ ( $\Omega$ )	2100
$C_{dl3}$ (mF)	16
$p_3$	0.68

A resistência elétrica total do sistema, ou seja a soma das resistências elétricas em séries encontradas no circuito acima ( $R_s + R_1 + R_2 + R_3$ ) é representada por um valor na ordem de  $4k\Omega$ . Valor este adequado se comparado com valores normalmente encontrados na literatura.

## 5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A pilha a combustível microbiano avaliada apresentou uma baixa eficiência energética, atingindo valores próximos a 8%. Essa eficiência poderia ter melhores resultados se os fatores limitantes, ainda não pesquisados, fossem identificados e posteriormente controlados.

A análise de espectroscopia de impedância encontrou uma perda elétrica de  $4k\Omega$  na pilha a combustível microbiano F. Essa perda é aparentemente pequena, mas em uma biopilha com um volume de 1000L poderia atingir valores próximos a  $80.000 k\Omega$ .

As curvas de polarização mostraram que a performance da  $PCM_F$ , depende do crescimento da flora eletroquímica sobre a superfície do eletrodo anódico. A melhor performance é encontrada quando a colônia bacteriana está plenamente instalada sobre a superfície anódica.

A temperatura exerceu influência sobre a potência gerada pela  $PCM_F$ . Para afirmar qual é o melhor valor de temperatura para o funcionamento do sistema é necessário monitorá-lo por um maior período de tempo.

Conclui-se que a Pilha a Combustível Microbiano F apresenta uma baixa viabilidade, quanto a sua aplicação em escala comercial, devido a sua pequena eficiência e baixa performance. É preciso testar outros materiais e outras configurações. Deve-se também melhor controlar o crescimento bacteriano dentro da biopilha para maximizar a proliferação de colônias eletroquímicas e estabilizá-la por um maior intervalo de tempo.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ampai K, Liu J, Thavarungkul P, Kanatharana P, Mattiasson B; Microbial fuel cell-based biosensor for fast analysis of biodegradable organic matter (2007)

Aelterman P, Rabaey K; Continuous electricity generation high voltages and currents using stacked microbial fuel cells; *Environmental Science & Technology* ; 40, 3388-3394 (2006)

Bullen RA, Arnot TC, Lakeman JB, Walsh FC. Biofuel cells and their development. *Biosensors e Bioelectronics*. 2015-2045 (2006).  
Cohen, BJ. *Bacteriol*. 21, 18 (1931)

Chang IS, Jang JK, Gil GC, Kim M, Kim HJ, Cho BW, Kim BH; *Biosensors e Bioelectronics*. 19, 607–613 (2004)

Cord-Ruwisch R, Lovley DR, Schink B; Growth of geobactersulfurreducens with acetate in syntrophic cooperation with hydrogen-oxidizing anaerobic partner; *Appl Environ Microbiol* ; 64, 2232-6 (1998)

Freguia S, Rabaey K, Yuan Z, Keller J. Electron and carbono balances in microbial fuel cells reveal temporary bacterial storage behavior during eletricity generation; *Environmental Science & Technology*; 41, 2915-2921 (2007).

Friedrich JM, Ponce-de-Leo C, Reade GW, Walsh FC; Reticulated vitreous carbon as an electrode material; *Journal of Electroanalytical Chemistry*; 561 203–217 (2004)

Grove WR. *Mag.Ser.3* (14), 127 (1839)

Han Y, Yu C, Liu H; A microbial fuel cell as power supply for implantable medical devices; *Biosensors and Bioelectronics* 25 2156–2160 (2010)

Katz E, Willmer L; Probing biomolecular interactions at conductive and semiconductive surfaces by impedance spectroscopy: routes to

impedimetric immunosensors, DNA-sensors, and enzyme biosensors; *Electroanal.* 15, 913 (2003).

Kim BH, Chang IS, Gil GC, Park HS, Kim HJ; *Biosensors e Bioelectronics*; 25, 541–545 (2003)

Larrosa-Guerrero A, Scott K, Head IM, Mateo F, Ginesta A, Godinez C ; Effect of temperature on the performance of microbial fuel cells; *Elsevier Fuel*; 89, 3985-3994 (2010)

Lee H.S, Parameswaran P, Marcus AK, Torres CI, Rittmann BE; Evaluation of energy-conversion efficiencies in microbial fuel cells utilizing fermentable and non-fermentable substrates; *Water Res*; 42, 1501-10 (2008).

Liu H, Ramnarayanan R, Logan BE; Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. *Environ SciTechnol* ; 38, 2281-2285 (2004)

Lide DR; *Handbook of Chemistry and Physics*; 74<sup>th</sup> edition; Editor-in-Chief; 1993-1994

Logan BE, Hamelers B, Rozendal RA ; Microbial fuel cells: methodology and technology; *Environmental Science & Technology* ; 40, 5181-5192 (2006)

Logan BE, Regan J; Microbial fuel cells- challenges and application; *Environmental Science & Technology*; 40, 5172-80 (2006)

Manohar AK, Mansfeld F. The internal resistance of a microbial fuel cell and its dependence on cell design and operating conditions. *Electrochimica Acta* 54, 1664 (2009)

Manohar AK, Bretschger O, Nealsen KH, Mansfeld F. The use of electrochemical impedancespectroscopy (EIS) in the evaluation of the electrochemical properties of a microbial fuel cell”, *Bioelectrochemistry* 72, 149 (2008)

Manohar AK, Bretschger O, Neelson KH, Mansfeld F; The polarization behavior of the anode in a microbial fuel cell; *Electrochimica Acta*; 53, 3508 (2008).

Oh ST, Kim JR, Premier GC, Lee TH, Kim C, Sloan WT; Sustainable wastewater treatment: How might microbial fuel cells contribute; *Biotechnology Advances*; 28, 871-881 (2010)

Pham, T. H., Rabaey, K., Aelterman, P., Clauwaert, P., De Schampelaere, L., Boon, N. and Verstraete, W; Microbial fuel cells in relation to conventional anaerobic digestion technology; *Eng. Life Sci.* 6, 285-292 (2006)

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

Ramasamy RJ, Ren Z, Mench MM, Reagan JM. Impact of initial biofilm growth on the anode impedance of microbial fuel cells. *Biotechnology and Bioengineering* 101, 101 (2008)

Rozendal RA, Hamelers HVM, Euverink GJW, Metz SJ, Buisman CJNI; Principle and perspective of hydrogen production through biocatalyzed electrolysis; *International Journal of Hydrogen Energy*; 31, 1632-1640 (2006)