

INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE – CÂMPUS ARAQUARI

**Jéssica Sardá Alberton, Leticia Mânica Ferreira Gomes, Matheus Felipe
Rocha Ferraz Belo, Pâmela Eduarda de Oliveira, Willian Enoré do Espirito
Santo**

**ANÁLISE DA EFICIÊNCIA DE DIFERENTES CÉLULAS
COMBUSTÍVEIS MICROBIANAS UTILIZANDO URINAS
HUMANA E BOVINA EM SOLO DE DIFERENTES FAIXAS
DE PROFUNDIDADE**

ARAQUARI/SC

2015

Jéssica Sardá Alberton, Lécia Mânica Ferreira Gomes, Matheus Felipe Rocha Ferraz Belo, Pâmela Eduarda de Oliveira, Willian Enoré do Espirito Santo

**ANÁLISE DA EFICIÊNCIA DE DIFERENTES CÉLULAS
COMBUSTÍVEIS MICROBIANAS UTILIZANDO URINAS
HUMANA E BOVINA EM SOLO DE DIFERENTES FAIXAS
DE PROFUNDIDADE**

Trabalho de Qualificação do Projeto Integrador apresentado ao Instituto Federal Catarinense – *Campus Araquari* como parte complementar à matriz curricular do Curso Técnico em Química Integrado ao Ensino Médio.

ARAQUARI/SC

2015

Resumo

A crescente demanda mundial por energia tem levado à busca por formas de geração de energias alternativas, preferencialmente com menores custos de produção e que minimizem possíveis impactos ambientais. Dentre as tecnologias existentes para tal, destaca-se a célula combustível (CC), que é um dispositivo capaz de converter energia química em energia elétrica. Uma das variantes da CC é a célula combustível microbiana (CCM), cuja energia elétrica é obtida a partir de reações metabólicas (respiração celular) executadas por microrganismos. A vantagem da CCM é que, além de se constituir em uma fonte de energia “limpa”, ela pode contribuir com a degradação de matéria orgânica presente em rejeitos industriais e domésticos (RACHINSKI, 2010). O objetivo deste trabalho foi construir e analisar a eficiência de CCMs construídas com materiais bastantes simples, utilizando porções de solo (terra) como meios fornecedores de bactérias. Nesse sentido, analisou-se CCMs fabricadas com solos obtidos a partir de diferentes profundidades, assim como as possíveis variações na eficiência ao se utilizar solos suplementados com urina humana ou bovina, uma vez que possuem nutrientes que podem contribuir para a proliferação bacteriana. A eficiência das CCMs foi avaliada por meio do monitoramento da diferença de potencial (ddp) estabelecida entre os eletrodos das células. Os resultados sugeriram que as CCMs suplementadas com as urinas podem estar inibindo o desenvolvimento das bactérias eletroativas e proporcionando o crescimento de outros microrganismos que não são eletroquimicamente ativos. Isso foi observado nas células suplementadas com urinas, as quais apresentaram um rendimento inferior em comparação às células suplementadas com água (controle). Entre os tipos de urinas utilizadas na suplementação das CCMs, a urina humana apresentou maior desempenho aparente em relação a urina bovina.

Palavras-Chave: Célula combustível microbiana, energia e microrganismos.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	4
2.1 Objetivo Geral	4
2.2 Objetivos Específicos.....	4
3 JUSTIFICATIVA.....	5
4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	7
4.1 Aspectos Gerais.....	7
4.2 Urina.....	10
4.3 Solo.....	11
5 METODOLOGIA.....	12
5.1 Construção da célula combustível microbiana	12
5.2 Meios fornecedores de bactérias (solos)	13
5.3 Testes.....	13
5.4 Análise do pH e temperatura do solo.....	13
5.5 Contagem de bactérias totais	14
5.6 Coloração de Gram	14
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES	15
6.1 Análise dos parâmetros experimentais	15
6.1.1 Operação das células combustíveis microbianas	16
6.1.2 Análise das bactérias dos biofilmes	18
6.1.3 Comparação da eficiência das urinas humana e bovina	20
6.1.4 Comparação das diferentes profundidades do solo	21
7 CONCLUSÕES.....	24
REFERÊNCIAS.....	25

1 INTRODUÇÃO

A recente demanda global por energia tem causado muita preocupação com relação à sustentabilidade e à preservação do meio ambiente. Os recursos naturais não renováveis, como o petróleo e o gás natural, têm sido consumidos aceleradamente, além do fato de que a queima desse tipo de combustível causa sérios impactos ambientais, dentre eles o aquecimento global. Prejuízos ao meio ambiente também são causados pela utilização de certas fontes de energias renováveis, como a energia hidrelétrica, além dos elevados custos para a construção das estruturas necessárias.

Nesse cenário, a busca por fontes de energia alternativas tem se tornado cada vez mais intensa. Dentre as diversas propostas para a obtenção de energia “limpa”, a célula combustível (CC) tem recebido grande atenção por parte dos pesquisadores atualmente (AVILA, 2014; BORGES, 2014; FLORIO, 2007; MARCOVISTZ, 2014; SALGADO, 2007). Uma CC é uma célula eletroquímica em que são consumidos um agente redutor (combustível) e um agente oxidante (comburente), com o objetivo de gerar energia elétrica. As CCs mais pesquisadas e mais desenvolvidas tecnologicamente utilizam como reagentes o hidrogênio e o oxigênio, tendo como produto final a água (BÚRICO, 2014).

Apesar de ser pouco conhecido, o termo “célula combustível” existe há mais de 150 anos, quando o advogado e cientista inglês William Grove (1811-1896), considerado o iniciador das células combustíveis, descreveu a então chamada “Célula de Grove”, baseada na geração de energia elétrica a partir de um eletrodo de platina imerso em ácido nítrico e um eletrodo de zinco imerso em sulfato de zinco (SOUZA, 2010). Na época, as fontes primárias de energia eram abundantes, irrestritas e viáveis economicamente. Portanto, não havia motivação para que ocorresse o desenvolvimento significativo das CCs. Já no começo do século XX, a conversão de energia química em energia elétrica tornou-se mais importante devido ao aumento do uso da eletricidade, mas as aplicações práticas das CCs apareceram somente nos últimos quarenta anos. Durante a última década, entretanto, as tendências a uma maior flexibilidade na geração de energia e o crescimento da população mundial contribuíram para o aumento do interesse nessa tecnologia (VILLULLAS et al., 2002).

Há várias possibilidades de uso das CCs para o ser humano (SALGADO, 2007). Os automóveis movidos a células de membrana polimérica são um exemplo primário de utilização das células nos meados das décadas de 50 a 70, quando obtiveram sucesso, pois usaram vários

tipos de combustíveis, dentre eles o metano, ácido fosfórico, hidrogênio, entre outros (WENDT; LINARD, 2000).

A descoberta de que o metabolismo microbiano pode gerar energia na forma de corrente elétrica tem levado a um crescente interesse no domínio da tecnologia da Célula Combustível Microbiana (CCM), que parece oferecer uma boa alternativa para a geração de energia elétrica em baixa escala, colaborando como uma solução para os problemas mencionados anteriormente (DAVIS, 2007). Além de produzir energia, as CCMs são também uma alternativa para biorremediação, que é um processo que utiliza microrganismos para degradar substâncias que prejudicam o meio ambiente, transformando-as em substâncias inócuas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006), pois são capazes de degradar matéria orgânica de esgotos domésticos, por exemplo. Além disso, possui um papel importante na descontaminação de águas subterrâneas (MACKENSTOCK, 1999).

As CCMs emergiram recentemente como uma tecnologia promissora, porém ainda desafiadora. Há a necessidade de um melhor entendimento do mecanismo envolvido na conversão da energia bioeletroquímica, na transferência de elétrons e nos processos de biotransformação para que as limitações hoje apresentadas por esses sistemas, dentre elas o baixo potencial de geração de energia e escassez de avanços que sejam suficientes para o desenvolvimento desta tecnologia, sejam superadas (RACHINSKI, 2010; SILVA, 2014). Ainda assim, a CCM é considerada uma tecnologia sustentável e promissora, que pode/poderia atender as crescentes necessidades energéticas e contribuir para a utilização de resíduos atualmente descartados. Extrapolando a aplicação das CCM para a geração de energia em grande escala, a planta de tratamento, além de gerar energia limpa, teria seus custos operacionais compensados através do tratamento dos resíduos.

Apesar das CCMs ainda não apresentarem alta eficiência, pesquisadores da Universidade de West England, no Reino Unido, já conseguiram desenvolver um protótipo de um mictório que opera com a energia produzida pela oxidação da urina, por meio dos microrganismos presentes na CCM. Essa energia é suficiente para manter as luzes do mictório acesas (também seria suficiente para abastecer um aparelho celular) (CICLOVIVO, 2015). Um dos objetivos pretendidos para a produção de energia através de CCMs é utilizá-las em automóveis elétricos. Estudos indicam que um litro de urina pode gerar 0,7 volts de eletricidade. Já existem geradores que promovem 6 horas de energia com apenas um litro de urina. As

reações que ocorrem entre o ânodo e o cátodo nessas células geram entre 0,5 e 0,8 volts de eletricidade (DIXIT; DHAKRY, 2014).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar um estudo comparativo sobre a eficiência de diferentes células combustíveis microbianas que utilizam solos em diferentes faixas de profundidade como agente fornecedor de bactérias e urinas humana ou bovina como substrato.

2.2 Objetivos Específicos

- Construir CCMs bastante simples utilizando solo como agente fornecedor de bactérias;
- Monitorar a geração de energia elétrica em CCMs fabricadas com solos oriundos de diferentes profundidades;
- Avaliar e discutir alterações no desempenho de CCMs fabricadas com solo suplementado com urinas humana e bovina;
- Realizar a análise comparativa dos resultados a fim de se identificar, dentre as CCMs investigadas, a condição experimental que resulta na maior eficiência de geração de energia elétrica.

3 JUSTIFICATIVA

A demanda energética mundial tem aumentado cada vez mais e se tornando um dos problemas mais preocupantes na atualidade. A energia é fundamental para o desenvolvimento das civilizações e com isso as necessidades energéticas também aumentam tanto para serviços, produção, consumo como também para um progresso econômico e social. Porém, nos deparamos atualmente com crises de petróleo, carvão entre outras matérias-primas utilizadas para a produção de energia elétrica, que além de não renováveis, causam graves problemas ambientais. (TELEKEN, 2013).

Em 2011, as energias não renováveis mais utilizadas eram o petróleo (33,1%), o carvão (30,3%), e o gás natural (23,7%), (principais responsáveis pelo aquecimento global e as mudanças climáticas), as energias renováveis ocupavam apenas 8% em todo o mundo e a energia nuclear 4,9% (CARDOSO, 2011).

Como o crescimento econômico e industrial é sustentado principalmente pelos combustíveis fósseis, cresce a preocupação do homem, tanto para a escassez dos combustíveis fósseis como também pela preservação ambiental, o que acarreta a necessidade de novas possibilidades de geração de energia, que preserve o meio ambiente, mas que continuem trazendo benefícios ao homem (SERPA, 2004). Com isso é necessária uma mudança na matriz energética do mundo e aos danos ambientais que estão causando.

Novas opções de energia sustentável têm sido sugeridas, uma delas no campo de bioenergia, com destaque para as Células Combustíveis Microbianas (CCMs) (TELEKEN, 2013). Embora não seja uma tecnologia muito recente, as CCMs vêm recebendo o interesse por cientistas e pesquisadores, pois são consideradas “fontes de energia do futuro”, caracterizadas pela baixa emissão de poluentes, permitindo assim um maior tempo de vida para as reservas fósseis e contribuindo para a melhoria na qualidade de vida (PERLES, 2008), (TOGNATO, 2012). O grande diferencial das CCMs em relação a outros tipos de aproveitamento orgânico na geração de energia é que as CCMs realizam este processo em uma única etapa, o que pode tornar a obtenção de energia economicamente viável (RACHINSKI, 2014).

As recentes preocupações ambientais também têm aumentado cada vez mais o interesse na busca e no desenvolvimento de fontes de energia que possibilitem uma geração limpa e que sejam, ao mesmo tempo, acessíveis e de baixo custo. Além disso, o descarte de resíduos poluentes (animais, industriais, domésticos, etc.) também tem recebido bastante atenção dos

pesquisadores e das autoridades de fiscalização ambiental, que buscam minimizar cada vez mais o impacto desses contaminantes na natureza.

A urina bovina descartada inadequadamente no ambiente pode causar a percolação do solo- movimento descendente da água da matriz do solo (DIAS, 2014). Seu manejo inadequado e a falta de tratamento dos resíduos da produção animal podem acarretar graves problemas aos lençóis freáticos (águas subterrâneas), devido à grande quantidade de agentes patogênicos presente nos dejetos. Os países com grande produção bovina, como por exemplo, Brasil, Estados Unidos, Austrália, Argentina e Uruguai (BUAINAIN, 2007; GIOVELLI, 2008) têm como principal fonte de poluição dos recursos hídricos os efluentes procedentes da produção animal, superando até mesmo os índices industriais (GERHARDT, 2012; MACHADO, 2011; PRADO, et al., 2009).

A urina humana, de maneira similar à bovina, também pode acarretar problemas ao meio-ambiente. Dentre os componentes da urina humana encontra-se nitrogênio, fósforo e potássio. Como referência, um adulto pode produzir aproximadamente 500 litros de urina por ano, contendo 4,0 kg de nitrogênio, 0,4 kg de fósforo e 0,9 kg de potássio. Esses elementos químicos, em condições favoráveis, poderiam ser aproveitados como nutrientes para a flora. Entretanto, uma vez lançados em quantidades significativas nos cursos d'água, por exemplo, podem ocasionar a proliferação de algas, as quais reduzem a penetração de luz, afetando o desenvolvimento dos organismos aeróbios (ALVES, 2012).

Nesse sentido, a investigação de CCMs fabricadas utilizando-se diferentes combinações de solo/urina é bastante pertinente, uma vez que se constituem em fontes de energia “limpa” e, simultaneamente, contribuem para o tratamento de resíduos que podem contaminar o meio ambiente.

4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

4.1 Aspectos Gerais

Uma CCM é um dispositivo bioeletroquímico que converte a energia química presente em um substrato eletroquimicamente inativo em energia elétrica, através da oxidação da matéria orgânica catalisada por microrganismos (LEHNEN, 2014; RACHINSKI, 2010).

Apesar de existirem diferentes configurações possíveis (RACHINSKI, 2014), em geral a operação de uma CCM se dá em duas seções, uma catódica-aeróbia e uma anódica-anaeróbia (CARVALHO, 2010), as quais são geralmente separadas por uma membrana de troca de prótons (MTP), normalmente feita de Náfion^R, que impossibilita o espalhamento das moléculas de oxigênio para o interior da câmara anódica, mas permite a passagem dos prótons gerados na câmara anódica para a câmara catódica. Entretanto, são descritas CCMs que não utilizam a MTP (JOHN; LOPES, 2013). Independentemente da configuração, o funcionamento da CCM está baseado na atividade metabólica (respiração celular) dos microrganismos (JOHN; LOPES, 2013).

O processo de geração de bioenergia é análogo ao funcionamento de uma célula galvânica (pilha), cujas principais características são:

- Os elétrons circulam do eletrodo de menor potencial de oxidação para o de maior potencial de oxidação;
- O polo positivo apresenta o maior potencial de oxidação – cátodo;
- O polo negativo apresenta o menor potencial de oxidação – ânodo.

As equações abaixo ilustram as reações químicas que ocorrem no cátodo e no ânodo de uma CCM considerando a glicose como exemplo:



Outros exemplos de reação utilizando acetato e ácido etanoico:

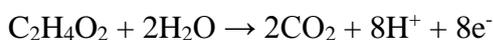
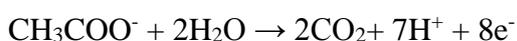
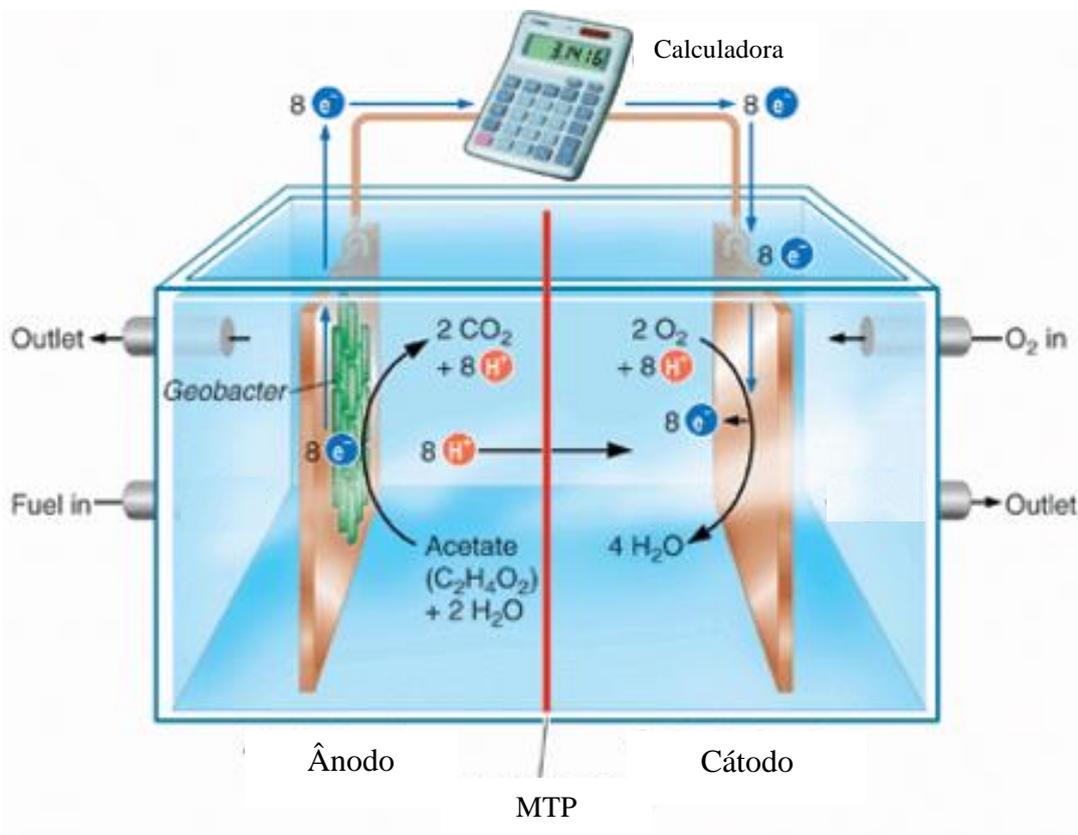


Figura 1 – Desenho esquemático de uma célula combustível microbiana. As cubas principais, da esquerda e da direita, representam o ânodo e o cátodo, respectivamente. As cubas estão separadas por uma membrana de troca de prótons (MTP). Na superfície do eletrodo do ânodo está representada a bactéria *Geobacter*, a qual catalisa a reação de oxidação metabólica de acetato em CO_2 e H_2O . Os elétrons liberados circularam pelo circuito externo até o eletrodo do cátodo, reduzindo o O_2 a H_2O .



Fonte: Adaptado de <http://www.worldaccordingtomaggie.com/photographyylms/microbial-fuel-cells-methodology-and-technology>

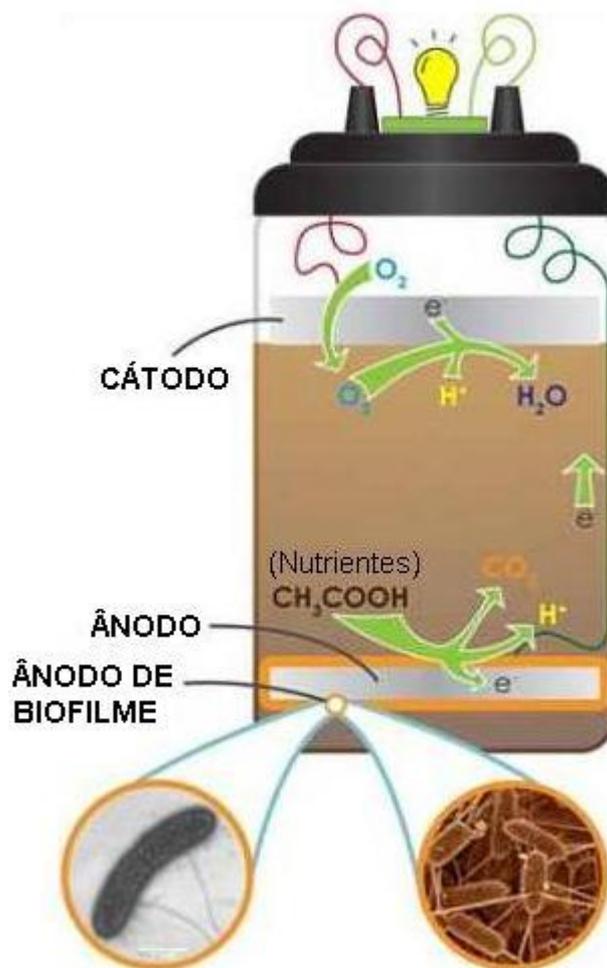
Como os eletrodos são sólidos e, portanto, impedidos de penetrar na célula bacteriana, a transferência de elétrons para o ânodo ocorre de dentro para fora da membrana celular bacteriana. O principal problema para a transferência de elétrons para o lado externo da célula é o sistema de membranas lipídicas não condutivas. Desta maneira, é necessário o uso de espécies eletroativas capazes de ligar eletronicamente a célula bacteriana ao eletrodo (LEHNEN, 2014). Estes grupos de bactérias são capazes de desenvolver um pili condutor conectado com os citocromos da membrana externa, permitindo assim a transferência de elétrons para um aceitador externo à célula (FRANKS, 2010).

Espécies de bactérias possíveis de serem utilizadas nas CCMs são: *Shewanella putrefaciens*, *Geobacter sulfurreducen*, *Geobacter metallireducens*, e *Rhodofexax ferrireducens* (RACHINSKI, 2014), as quais geralmente são encontradas em sistemas aquáticos, sedimentos marinhos ou fluviais, esgoto doméstico, e também em rejeitos de cervejaria (MARTINS, 2014; RACHINSKI, 2010; RACHINSKI, 2014).

Para um melhor rendimento, o material do ânodo (polo negativo), deve ter boa condutividade elétrica, baixa resistência elétrica, alta biocompatibilidade, estabilidade química e não pode sofrer corrosão (JOHN; LOPES, 2013). Na parte anódica acontece a oxidação do material orgânico, com formação de CO₂, prótons e elétrons (RACHINSKI, 2014). Como a câmara anódica funciona em um meio anaeróbico, ela acaba sendo colonizada pelas bactérias, formando um biofilme, que é a associação de microrganismos aderidos entre si por seus produtos extracelulares. Com a formação do biofilme as bactérias acabam utilizando o ânodo como aceitador final de elétrons (ESPER, 2011; JOHN; LOPES, 2013). Os elétrons provenientes do metabolismo oxidativo são conduzidos pelo circuito externo até o cátodo (polo positivo), enquanto os prótons migram através da membrana seletiva para o cátodo, que se encontra em contato com o ar. O oxigênio participa como aceitador final de elétrons, e reagindo com os prótons leva a formação da água (MENDES, 2013). Outras substâncias podem ser utilizadas como aceptadores de elétrons, porém deve-se levar em consideração a geração de resíduos tóxicos, o que não ocorre quando utilizado oxigênio (RACHINSKI, 2014).

A geração de energia elétrica ocorre através de um processo anaeróbico onde a matéria orgânica é oxidada, gerando um fluxo de elétrons pelo circuito externo (RACHINSKI, 2010). A energia gerada pode ser medida por meio da utilização de um multímetro.

Figura 2- Esquematização de uma CCM. Alguns microrganismos se fixam ao eletrodo formando um biofilme sobre o mesmo, onde os elétrons são transferidos para o ânodo, indo na sequência para o cátodo com a utilização do circuito externo.



Fonte: Adaptado de: SCIENCE BUDIES- Powered by Pee: Using Urine in a Microbial Fuel Cell.

4.2 Urina

A urina é um subproduto do corpo humano e de outros animais, composta geralmente por aproximadamente 95% de água e 2 % de ureia (CH_4N_2O). Nos 3% restantes encontra-se fosfatos, sulfatos, amônia, magnésio, cálcio, ácido úrico, creatina, sódio, potássio e outros elementos (OLIVEIRA et al., 2010). A urina humana pode se diferenciar pela temperatura, alimentação e atividades físicas, um humano pode excretar em média 1,5 L de urina por dia (ASMUS, 2009). Já um bovino adulto urina de 8 a 12 vezes por dia, produzindo em média de 1,6 a 2,2 litros em cada evento (RODRIGUES, 2008). Pode-se encontrar na urina bovina água

(92%), nitrogênio (1%), K_2O (1,35%), P_2O_5 (traços), Potássio, Cloro, Enxofre, Sódio, substâncias de fenóis e ácido indolacético (OLIVEIRA, 2007).

A ureia é o principal fornecedor de nutrientes para microrganismos por ser rica em nitrogênio, podendo representar um problema ambiental se descartada inadequadamente (OLIVEIRA et al., 2010).

4.3 Solo

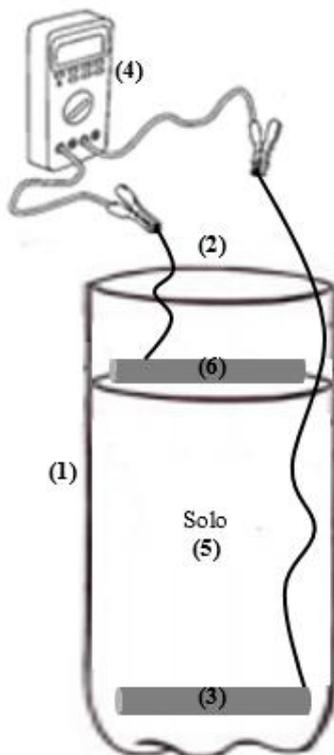
A formação do solo vem através do intemperismo de minerais sólidos e compostos orgânicos, que se localiza na camada superficial da crosta terrestre. O manejo inadequado pode trazer certos danos à biodiversidade perdendo seus nutrientes e sais minerais importantes para produção de alimento, favorecimento do crescimento das plantas, qualidade da água, entre outros. Na crosta terrestre são encontrados vários tipos de solo e vegetação, para cada solo a decomposição da rocha é diferente. As plantas mudam conforme o pH e seus nutrientes fornecidos pelo solo. Sua composição é formada basicamente de minerais, matéria orgânica, água e ar (MIRANDA, 2006; RIZZATO, 2013, JOSÉ,2006).

5 METODOLOGIA

5.1 Construção da célula combustível microbiana

Construiu-se um protótipo de CCM, onde foi utilizado como recipiente uma garrafa “PET” de formato cilíndrico adaptada, com 7 cm de altura e 6 cm de diâmetro. O ânodo e o cátodo são constituídos por bastões de grafite (carbono), ambos tendo a mesma área, os quais foram separados um do outro por uma amostra de solo (~180 cm³), contendo as bactérias. O circuito externo foi constituído por fios de cobre conectados aos eletrodos. Na figura 3 é apresentada uma ilustração esquemática da montagem experimental que foi utilizada para a CCM investigada nesse trabalho.

Figura 3 – Desenho esquemático do protótipo da CCM: (1) cuba principal confeccionada com garrafa PET; (2) parte superior da cuba, a qual permanecerá aberta para suplementação com urina ou água (controle) e saída de gases (CO₂ e/ou outros gases oriundos do metabolismo microbiano); (3) ânodo – eletrodo de carbono; (4) multímetro digital; (5) amostra de solo, que servirá como ponte salina e fonte de microrganismos e (6) cátodo – eletrodo de carbono.



5.2 Meios fornecedores de bactérias (solos)

Como meios fornecedores de bactérias para o funcionamento da CCM foram utilizadas amostras de solos coletadas na área de mata nativa do Instituto Federal Catarinense – *Campus Araquari*. Para tal foram definidas faixas de profundidade: de 0 cm a 20 cm, solo superficial; de 20 cm a 40 cm, solo médio; e de 70 cm a 90 cm, solo profundo. Do solo coletado foram removidas manualmente as partículas maiores (galhos, folhas, pedras, etc.), com o intuito de impedir o armazenamento de ar em meio às partículas do solo que, eventualmente, poderiam ocasionar a inibição do crescimento das bactérias, uma vez que as mesmas são anaeróbicas. O solo serviu como ponte salina, ligando um eletrodo ao outro (FOGAÇA, 2015).

As amostras de solo foram suplementadas com água destilada (controle dos experimentos), urina humana e urina bovina. O volume acrescentado em cada amostra foi de, aproximadamente, 20% do volume total de solo da amostra (~36 mL). A CCM só foi suplementada novamente com urina quando o solo se encontrava seco.

5.3 Testes

Os testes realizados para o monitoramento da geração de energia em cada configuração de CCM foram feitos através da leitura da diferença de potencial (ddp) existente entre os eletrodos das células, sendo medida por meio de um multímetro digital. Essas leituras foram realizadas diariamente, durante um período total de aproximadamente 10 dias.

Os resultados obtidos foram comparados para a avaliação da melhor configuração de CCM em termos de eficiência energética. Uma vez que diferenças significativas entre as diferentes configurações de CCM sejam observadas, proposições teóricas serão apresentadas para a descrição dos resultados experimentais, assim como testes complementares poderão ser realizados/sugeridos.

5.4 Análise do pH e temperatura do solo

O pH foi medido através de um método de filtração. Nas amostras acrescentou-se água de mesma proporção para quantidade de solo, que foi peneirado antes do processo. Após, a

solução foi agitada por certo período de tempo e filtrada sendo, inserido o pHmetro e efetuada a leitura de pH.

A temperatura foi analisada através de um termômetro que será colocado no solo, pois durante as reações metabólicas das bactérias poderá haver liberação de calor. A temperatura foi medida no início e durante os experimentos.

5.5 Contagem de bactérias totais

O número total de bactérias nas CCM montadas foi determinado a partir da tomada de uma amostra de 1 g de solo, seguido da ressuspensão em 10 mL de solução salina (NaCl 0,9% (p/v)). Esta suspensão foi submetida a diluições seriadas. As diluições 10^{-2} e 10^{-3} foram plaqueadas em meio de cultivo ágar nutriente e incubadas a 30 °C por 24 horas. As colônias aparentes no meio de cultivo após a incubação foram contadas e representadas como unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de solo. O experimento foi realizado em triplicata.

5.6 Coloração de Gram

Primeiramente, foi realizada a raspagem do ânodo das CCMs suplementadas com urina bovina e seu respectivo controle com o objetivo de coletar o biofilme de bactérias. Parte do biofilme coletado foi plaqueado em meio ágar nutriente e incubado a 37 °C em condições anaeróbicas e parte em condições aeróbicas. Após 24 h de incubação as bactérias crescidas foram analisadas por coloração de Gram (ZENEON, 2008).

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para melhor compreensão dos resultados, os solos suplementados com urina humana foram classificados como solo superficial (SSH), solo médio (SMH) e solo profundo (SPH), de acordo com as medidas de profundidades definidas no item 5.2. Já os solos suplementados com urina bovina foram classificados como solo superficial (SSB), solo médio (SMB) e solo profundo (SPB). Para cada composição de CCM testada, foi realizado um ensaio controle, onde a urina foi substituída por água destilada.

6.1 Análise dos parâmetros experimentais

Antes da montagem das CCMs, foram analisados alguns parâmetros experimentais, como pH da urina humana/bovina e do solo, e temperatura do solo antes e durante o experimento.

As amostras de solo foram coletadas sempre no mesmo local, não sendo observado grande variação de pH (Tabela 1), com exceção da amostra de solo da CCM SSH, devido as condições climáticas no dia da coleta, pois foi a única amostra coletada em um dia seco.

Tabela 1- Medidas de pH das amostras de solo e urina humana/bovina utilizadas na composição das CCMs testadas.

CCM	pH Urina Humana/Bovina	pH Solo
SSH	6,34	8,1
SMH	6,002	5,02
SPH	5,67	5,62
SSB	6,20	6,34
SMB	6,20	6,57
SPB	6,20	6,84

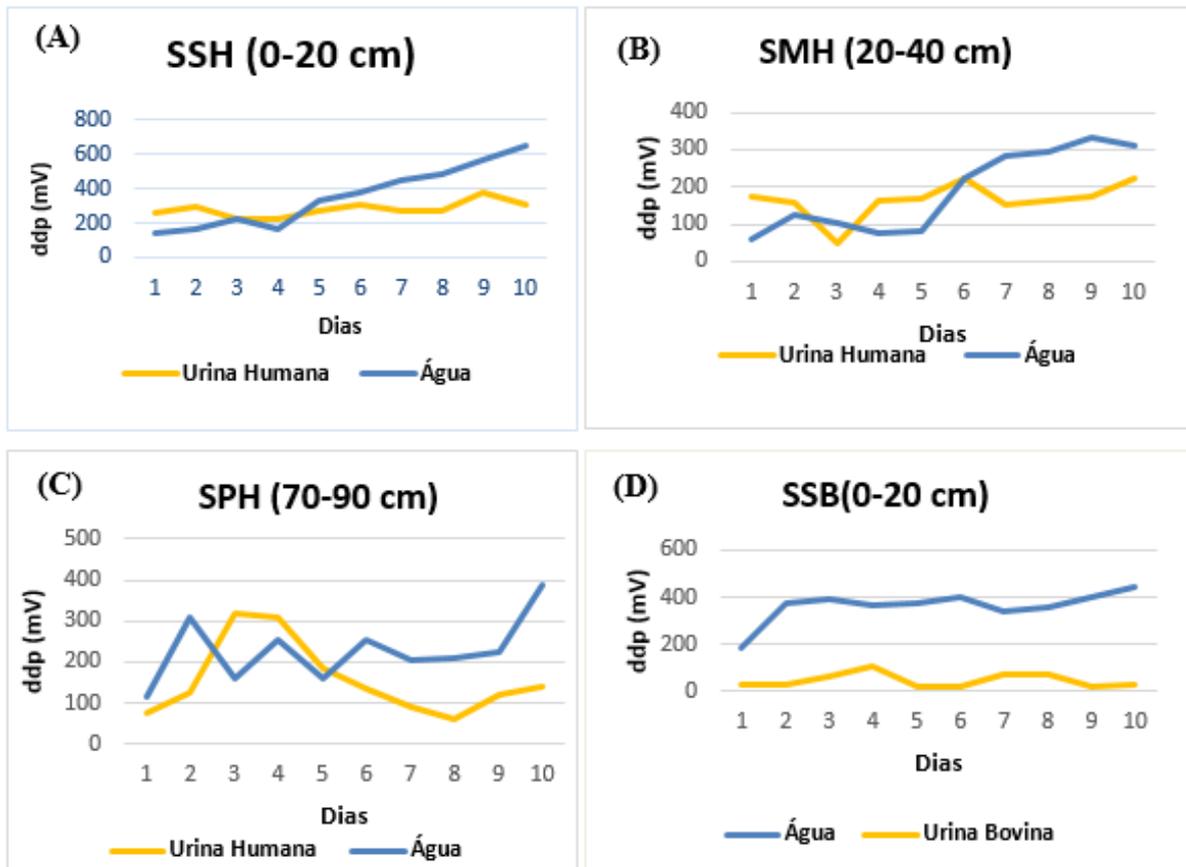
A medida da temperatura foi realizada diariamente até o término dos experimentos. Constatou-se que a temperatura se manteve em equilíbrio com o ambiente ao longo do tempo de experimentação (16,5°C – 25°C).

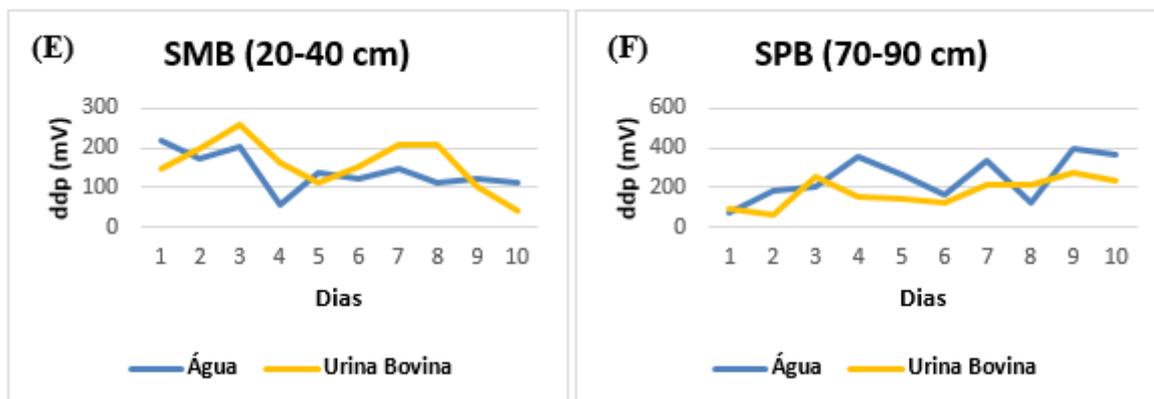
6.1.1 Operação das células combustíveis microbianas

Foram montadas diferentes composições de CCMs, constituídas com solos de diferentes profundidades e suplementadas com urinas humana e bovina e água (experimento controle) (Figura 4).

A diferença de potencial (ddp) entre os eletrodos foi monitorada diariamente, durante um período total de dez dias, sendo representada em milivolt (mV).

Figura 4- Variação da ddp (mV) em função do tempo de operação das CCMs. SSH (A); SMH (B); SPH (C); SSB (D); SMB (E) e SPH (F).





A análise dos resultados revelou que a amostra SSH (Figura 4-A) apresentou os maiores valores de tensão ao longo do experimento, alcançando aproximadamente 400 mV em 9 dias. Nas demais composições testadas, a tensão observada não ultrapassou 300 mV (Figura 4). Entretanto, quando compara-se as condições testadas com o controle (água) observa-se que, de maneira geral, o controle apresentou um melhor desempenho a partir de 5-6 dias de experimentação, quando comparado às CCMs suplementadas com urina humana (Figura 4-A,B e C).

Nos experimentos suplementados com urina bovina, observou-se que na SSB (Figura 4-D) a tensão foi muito baixa, ultrapassando pouco mais de 100 mV, apenas no quarto dia, se mantendo durante todo o experimento abaixo do controle.

A SMB (Figura 4-E) foi a única composição onde a tensão gerada pela suplementação com urina bovina superou a da água por um período de tempo maior.

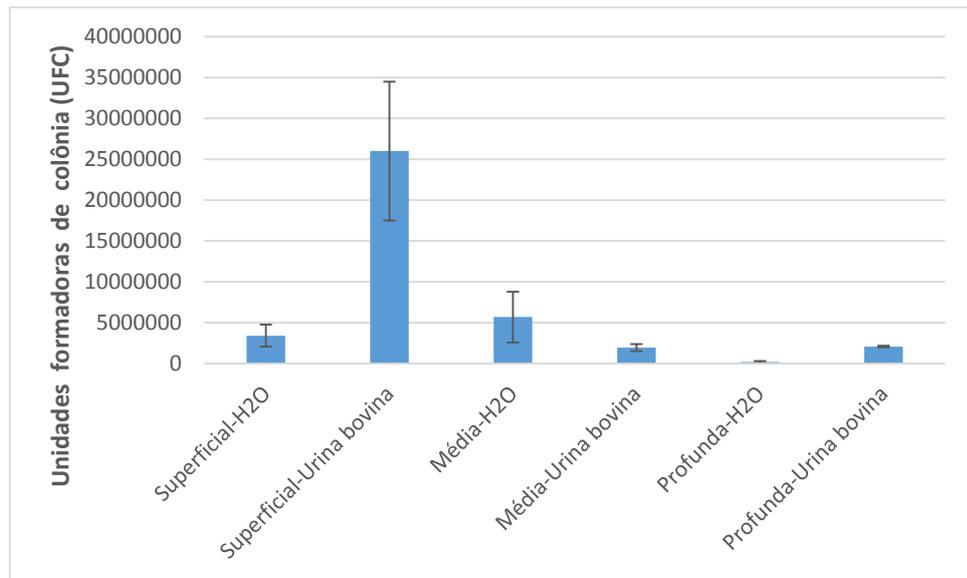
Entretanto, a SMB e SPB (Figura 4-E e F) apresentaram valores de tensão similares aos valores obtidos a partir do controle.

Estes experimentos necessitam de repetições, de modo a definir-se os desvios em torno dos valores de tensão observados, para determinar-se se as diferenças observadas em comparação ao controle são estatisticamente significativas.

Desta forma, os dados obtidos destes experimentos sugerem que as urinas humana e bovina podem estar, de alguma forma, inibindo as bactérias eletroativas. Para verificar esta hipótese, foi determinado no número de bactérias presentes em amostras de solos das CCMs suplementadas com urina bovina e seu respectivo controle (água) (Figura 5). Os resultados apontaram que o solo suplementado com urina bovina apresentou níveis maiores de unidades formadoras de colônias de bactérias (UFC), quando comparado ao solo suplementado com

água. O protótipo SSB foi o que apresentou o maior valor de UFC, porém o foi o que apresentou menores valores de tensão. Esses dados corroboram com a hipótese da urina inibir o desenvolvimento de bactérias eletroativas e favorecer o desenvolvimento de outras espécies de bactérias não eletroativas.

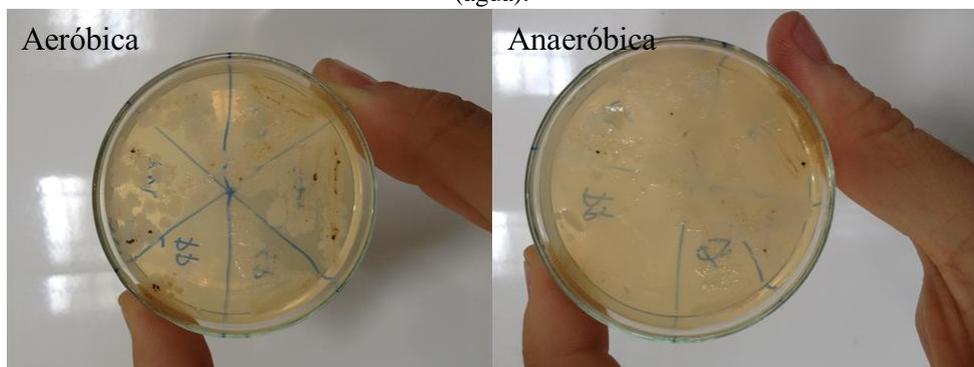
Figura 5- Contagem de unidades formadoras de colônia (UFCs) nas diferentes configurações de CCMs testadas.



6.1.2 Análise das bactérias dos biofilmes

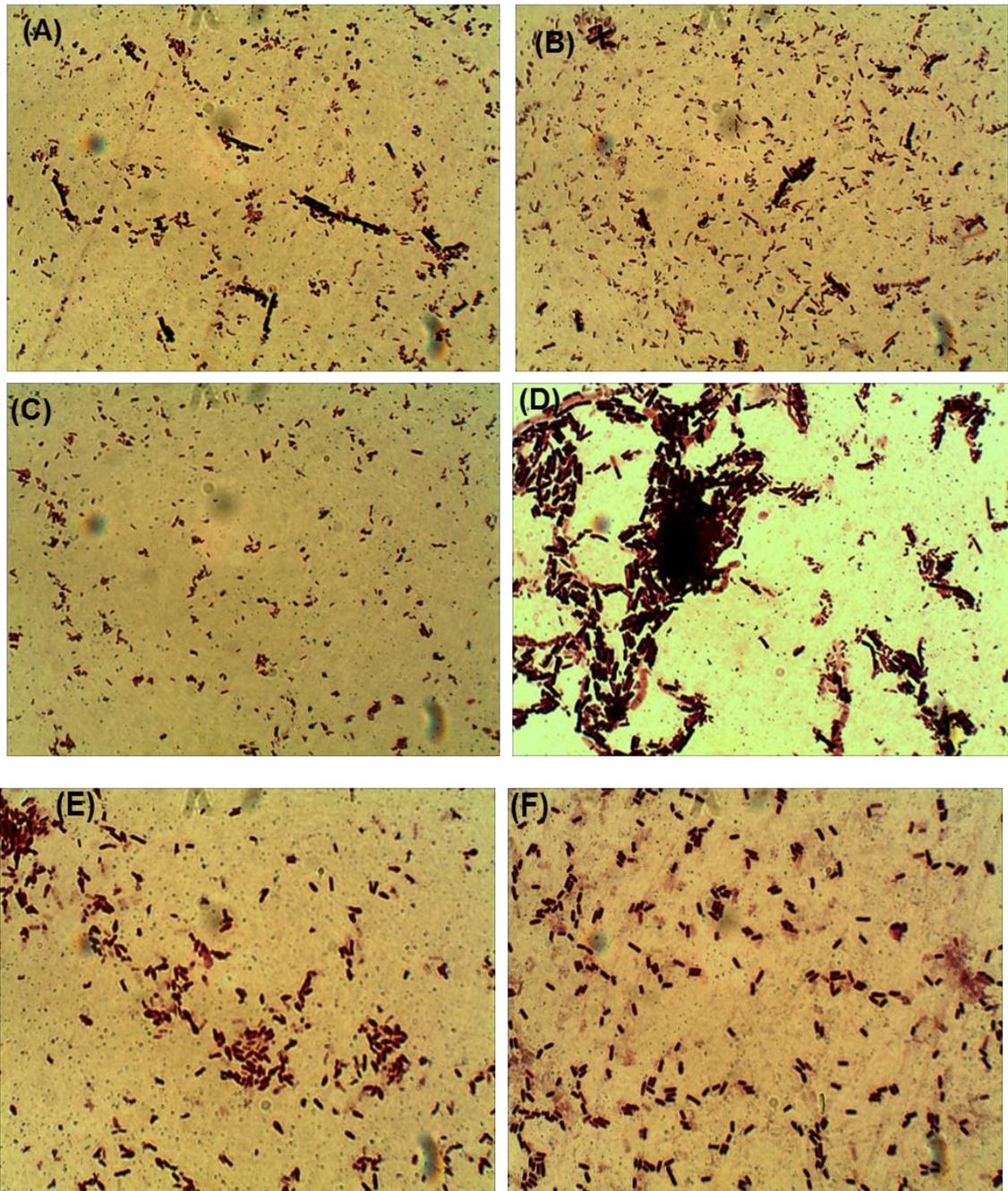
Foram analisados os biofilmes dos ânodos dos protótipos de CCMs suplementadas com urina bovina e seu respectivo controle (água). Observou-se que há grande quantidade de bactérias anaeróbicas.

Figura 6- Imagens das amostras de biofilme coletadas das CCMs suplementadas com urina bovina e seu controle (água).



Posteriormente, foi realizada a coloração de Gram com o objetivo de analisar as morfologias bacterianas, assim como inteirar-se sobre suas estruturas celulares.

Figura 7- Imagens microscópicas das bactérias dos biofilmes dos protótipos de CCMs suplementadas com urina bovina: SSB (A), SMB (B), SPB (C); e seu respectivo controle (água) SSP (D), SMP (E) e SPP (F).



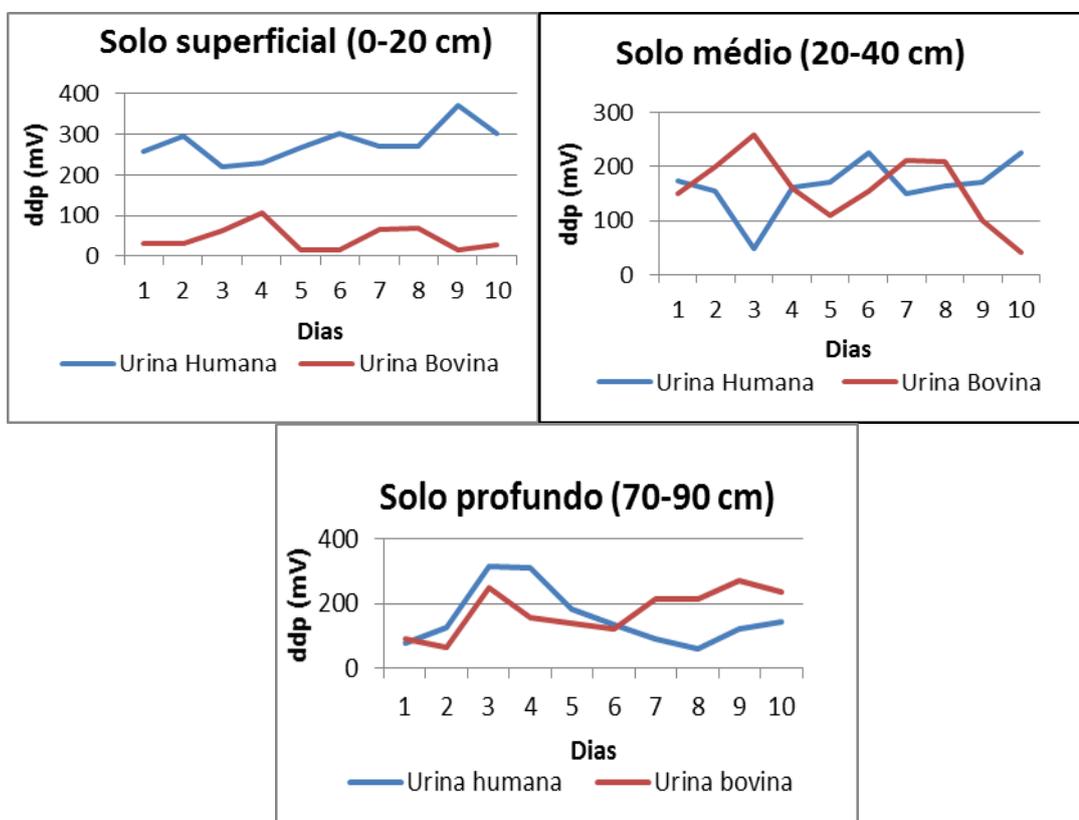
Observou-se que as bactérias contidas nas CCMs possuem morfologia semelhante a cocos e bastonetes, sendo que ambas são Gram-negativas. Assim, a presença de bactérias de

morfologia bastonetes e Gram-negativas sugerem que há bactérias da espécie *Geobacter* no biofilme.

6.1.3 Comparação da eficiência das urinas humana e bovina

A comparação da eficiência, em termos de tensão gerada, da urina humana e bovina nas CCMs testadas, revelou que a CCM suplementada com urina humana apresentou um melhor rendimento, principalmente com o solo superficial (Figura 8).

Figura 8- Comparação entre as CCMs suplementadas com urinas humana e bovina nas diferentes faixas de solo.



Nas amostras de solos de profundidade média e profunda testados (Figura 8), não houve diferença muito expressiva na tensão gerada quando suplementados com urinas humana e bovina. Entretanto, em solo de profundidade média, no décimo dia, a suplementação com urina humana apresentou uma tensão aproximadamente 150 mV maior que a observada para a urina bovina.

6.1.4 Comparação das diferentes profundidades do solo

Foram comparadas as diferentes faixas de profundidade de solo utilizadas neste trabalho (Figura 9-A, B, C e D).

Figura 9 A- Comparação da tensão gerada a partir das diferentes profundidades de solo suplementado com urina humana.

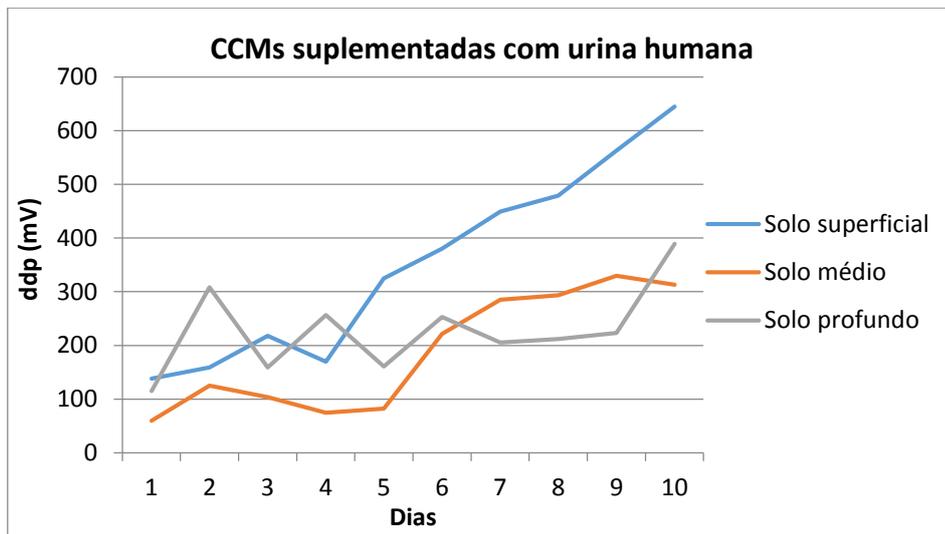


Figura 9 B- Relação entre as diferentes profundidades de solo com água (controle da urina humana) e sua eficiência.

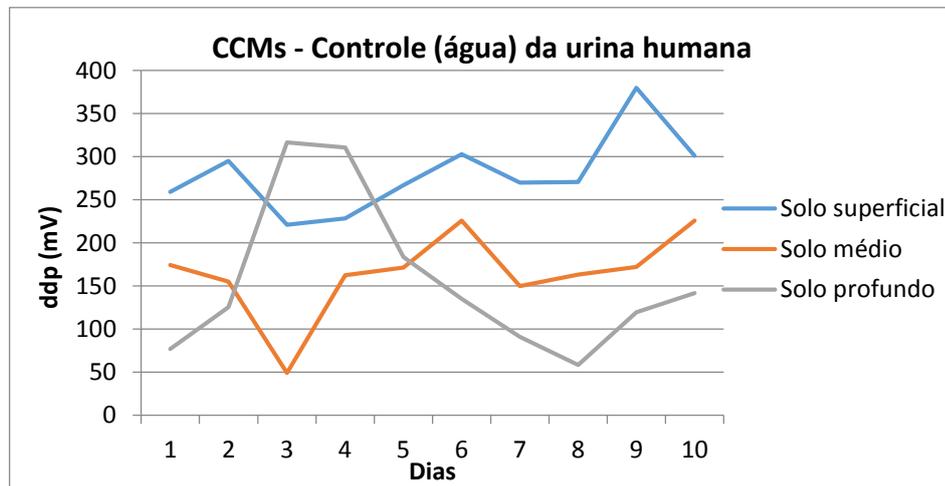


Figura 9 C- Relação entre as diferentes profundidades de solo com CCMs suplementadas com urina bovina e sua eficiência.

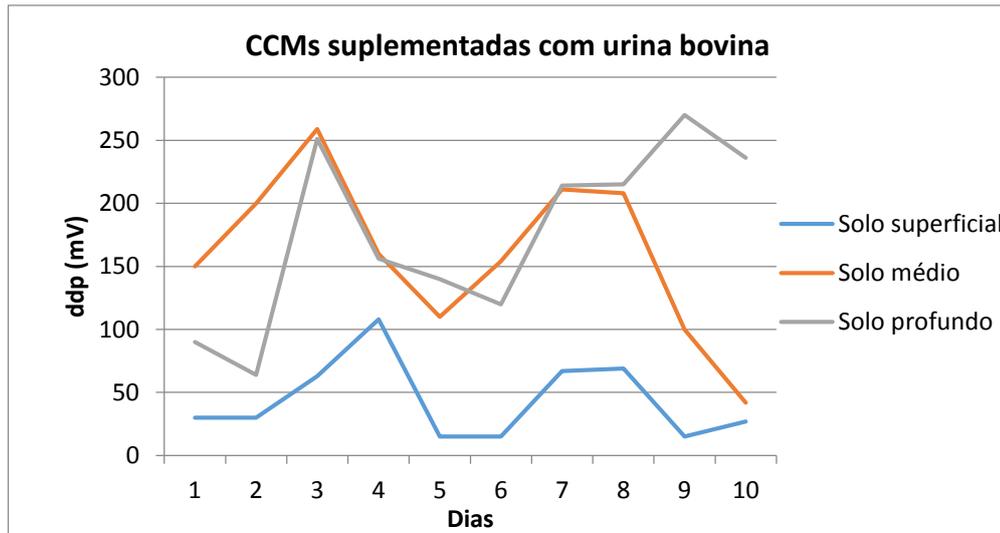
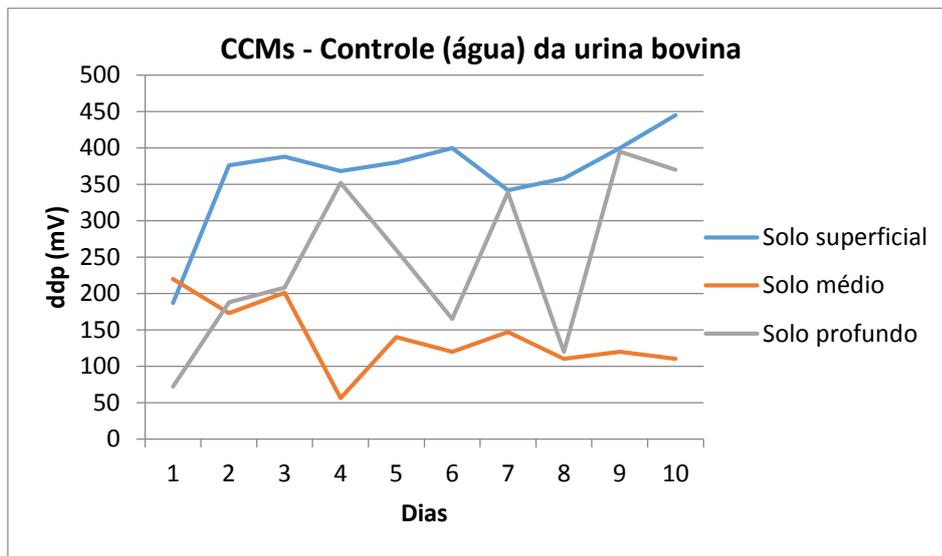


Gráfico 9 D- Relação entre as diferentes profundidades de solo com água (controle da urina bovina) e sua eficiência.



A partir da análise dos gráficos, notou-se que as CCMs que utilizam água apresentam um comportamento semelhante. Já as urinas humana e bovina têm comportamentos opostos. Enquanto o solo superficial é mais propício para a urina humana, na urina bovina ele é o menos favorável.

O solo superficial apresentou melhor desempenho, na maioria dos casos, devido as diversas espécies de bactérias encontradas nas diferentes faixas de solo, conforme o aumento da profundidade do solo, é mais provável a presença de bactérias anaeróbicas por causa da diminuição da concentração de oxigênio. Essas bactérias podem fazer dois tipos de respiração:

anaeróbica e fermentativa, as fermentativas são menos eficientes no caso das CCMs (RANCHINSKI, 2010).

7 CONCLUSÕES

Foram construídos protótipos de CCMs com diferentes faixas de solo, utilizando urinas humana e bovina como substrato. A análise das diferentes configurações de CCMs revelou que todas as células apresentaram uma ddp entre os eletrodos (15 mV à 600 mV).

A partir dos resultados obtidos, observou-se que nas diferentes configurações de CCMs, os protótipos suplementados com água apresentaram um rendimento superior aos protótipos suplementados com urinas humana e bovina, sugerindo que as composições das urinas podem estar restringindo o desenvolvimento de bactérias eletroquimicamente ativas. Entre as urinas utilizadas nos experimentos, a que obteve uma maior ddp foi a urina humana. Esses dados sugerem que a urina humana possui uma composição em nutrientes mais adequada para o desenvolvimento das bactérias eletroativas em comparação com a urina bovina.

Com relação às diferentes faixas de solo, a que apresentou maior eficiência, na maioria dos casos, exceto ao ser suplementado com urina bovina, foi a faixa de 0 à 20 cm (solo superficial), sugerindo que a composição bacteriana nesta faixa é mais eficiente que as demais.

Nesse contexto, a repetição dos experimentos realizados, bem como estudos mais aprofundados com relação à necessidade energética das bactérias eletroativas, assim como a montagem de CCM utilizando isolados bacterianos eletroativos serão necessários para a confirmação dos resultados e o aumento da ddp gerada.

REFERÊNCIAS

ALVES, Cristiana; VOLSCHANN Jr. Isaac; MANSO, Giovani. Sustentabilidade Ambiental: Estudos Sobre o Aproveitamento de Nutrientes da Urina Humana Para Fins Agrícolas. **Revista Sistemas e Gestão**, Rio de Janeiro, vol.7, n.3, Setembro, 2012.

ASMUS, Andréa. **Sistema para conservar o nitrogênio na urina visando seu reuso como fertilizante**. 40f. Dissertação (Mestrado) – Mestre no Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.

AVILA, Ananda. **Relações entre as características microestruturais e cinética de oxidação de aços inoxidáveis ferríticos para aplicações na área de geração de energia com elevada eficiência**. 71f. (Graduação) - Engenharia de Materiais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2014.

BORGES, Kellen. **Síntese e caracterização de cerâmicas do tipo BZYO e BCGO para uso em células a combustíveis**. 191f. Dissertação (Pós-Graduação) - Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Goiás Campus Catalão, 2014.

BUAINAIN, Antônio. M; BATALHA, Mário. O. Cadeia Produtora de Carne Bovina. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, MAPA/SPA, vol.8,n.3, 2007.

BUDDIES-SCIENCE. **Powered by Pee: Using Urine in a Microbial Fuel Cell**. Disponível em: <http://www.sciencebuddies.org/science-fair-projects/project_ideas/EnvSci_p061.shtml/>. Acesso em: 21 maio, 2015.

BÚRICO, Carina. **Preparação e caracterização de eletrodos modificados com Poli-Estireno CO- Ácido acrílico para aplicação de células a combustíveis**. 88f. Dissertação (mestrado) - Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 2014.

CARDOSO M., Lucas. **Potencialidade da célula combustível microbiana para geração de energia elétrica a partir de esgoto sanitário**. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Engenharia Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, 2011.

CARVALHO, Tiago. **Estudo da produção de energia eléctrica a partir de uma célula de combustível microbiana**. 2010. 65f. Dissertação (Dissertação em Ambiente Acadêmico) - Mestrado Integrado em Engenharia Química, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, 2010.

CICLOVIVO. **Xixi é usado como combustível para iluminar banheiros públicos**. Disponível em:<<http://ciclovivo.com.br/noticia/xixi-e-usado-como-combustivel-para-iluminar-banheiros-publicos>>. Acesso em: 31 de maio, 2015.

DAVIS, F.; Higson SP.; **Biosens. Bioelectron**. 2007, 7,1224-35.

DIAS, Jairo R. M. et al. Lixiviação de 2,4-D em Solo de Pastagem na Amazônia Ocidental. **Revista Agropecuária Científica no Semiárido**, Rolim de Moura, vol. 7, n. 4, Julho, 2014.

DIXIT, Manish; SINGH DHARKRY, Nonihal. Experimental study of urine based fuel cell. **International Journal of Interdisciplinary Research**, v.1, 2014.

ESPER, Luciana. **Formação de Biofilmes Microbianos**. V Simpósio Brasileiro de Microbiologia Aplicada. Universidade Federal Fluminense, 2011.

FLORIO, Daniel, et al. **Química Nova**, São Paulo, Vol.30, n°5, Março/Julho, 2007.

FOGAÇA, Jennifer. **Função da ponte salina em uma pilha**. Disponível em: <<http://www.brasilecola.com/quimica/funcao-ponte-salina-uma-pilha.htm>>. Acesso em: 31 Maio 2015.

FRANKS, Ashley E.; NEVIN, Kelly P. Microbial Fuel Cells, A Current Review. 21f. Tese (Doutorado) – Departamento de Microbiologia, Universidade de Massachusetts, 2010.

GERHARDT, Francisco. Diagnóstico do Potencial Poluidor na Bacia Hidrográfica do Rio Inhadava-RS. 82f. Dissertação-Engenharia Ambiental, Universidade de Passo Fundo, 2012.

GIOVELLI, Kleber. CO- Integração Entre os Mercados Spot e Futuro: Evidências dos Mercados de Boi Gordo e Soja. Revista de Economia e Sociologia Rural, Brasília, Scielo, vol.46, n.1, Jan/Mar, 2008.

JOHN, Andressa; LOPES, Bruna. **Acompanhamento da geração de potencial elétrico por célula combustível microbiana**. 2013. 72f. Trabalho de Conclusão de Curso (Requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo) - Curso Superior de Tecnologia em Processos Ambientais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba. 2013.

LEHNEN, Débora. **Desenvolvimento de células de combustível microbianas**. 2014. 66f. Dissertação (Mestre em química) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2014.

CRUZ, José L. C., **Projeto araribá – Ciências**. São Paulo, 2006.

MACHADO, C. R. **Biodigestão Anaeróbia de Dejetos de Bovinos Leiteiros Submetidos a Diferentes Tempos de Exposição ao Ar**. Dissertação (Mestrado) - Agronomia, Faculdade de Ciências Agrônomicas da Unesp, Botucatu, 2011.

MACKENSTOCK, R.; FEMS Microbiology Lettrs. 1999, 177, 67-73.

MARCOVISTZ, Ighor. **Diagnóstico de folhas no sistema de resfriamento de um sistema de célula a combustível polimérica**. 128 f. Dissertação (Mestrado) - Engenharia Elétrica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2014.

MARTINS, Gilberto et al. **Avaliação de desempenho de uma célula de combustível microbiana em sedimentos de sistemas aquáticos eutrofizados**. Em: 12.º Congresso da Água / 16.º ENASB / XVI SILUBESA. 2014. Lisboa. Anais... 2014. Lisboa: Associação Portuguesa de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2014.

MENDES, Vitor. **Montagem de um sistema laboratorial de células de combustível microbianas para aproveitamento energético e tratamento de efluentes domésticos**. 2013. 118f. Dissertação (Mestre em Engenharia do Ambiente) - Faculdade de ciências e tecnologia, Universidade do Algarve. 2013.

MIRANDA, Josias et al. Composição química da solução de solo sob diferentes coberturas vegetais e análise de diferentes coberturas vegetais de carbono orgânico solúvel no deflúvio de pequenos cursos de água. **Revista brasileira de Ciências do solo**, Viçosa, SBSC, 30, n°4, julho/agosto, 2006.

MOREIRA, Fátima; SIQUEIRA, José. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. ed. atual. e ampl. Lavras: Editora UFLA, 2006.

OLIVEIRA, Nelson et al. **Efeito da urina de vaca no estado nutricional da alfaca**. 10f. Dissertação (Mestrado) – Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2010.

OLIVEIRA, Nelson. **Utilização de urina de vaca na produção orgânica de alfaca**. 88f. Dissertação (Pós-Graduação) – Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2007.

PERLES, Carlos. Propriedades físico-químicas relacionadas ao desenvolvimento de membranas de nafion para aplicações em células a combustível do tipo PEMFC. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, Campinas, UNICAMP, vol. 18, n. 4, p. 281-288, 2008.

PRADO, Ricardo, et al. Perdas de Nutrientes Via Subsuperfície em Colunas de Solo Sobre Fertilização Sob Mineral e Orgânica. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, Curitiba, Viçosa, vol.33, n.4, Jul/Ago, 2009.

RABAEY, Korneel; VERSTRAETE, Willy. **Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation**. 8f. Tese (Doutorado). Laboratório de Ecologia Microbiana e Tecnologia (LabMET). Universidade de Ghent, 2005.

RACHINSKI, Silvio. et al. **Pilhas de Combustíveis Microbianas Utilizadas na Produção de Eletricidade a Partir de Rejeitos Orgânicos: Uma Perspectiva de Futuro**. *Química Nova*, Curitiba, vol. 33, n° 8, Agosto, 2010.

RACHINSKI, Silvio. **Uso de Subprodutos da Indústria Agropecuária na Geração Elétrica Através de Células Combustíveis Microbianas**. 74f. *Química*, Universidade Federal do Paraná, 2014.

RIZZATO, Maurício C. et al. **Solos: tipos, suas funções no ambiente, como se formam e sua relação com o crescimento das plantas**. In: Embrapa Solos-Artigo em anais de congresso. MOREIRA, FM S; CARES, JE; ZANETTI, R.; STUMER, SL O ecossistema o

solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal. Lavras, MG: UFLA, 2013.

RODRIGUES, Augusto, et al. **Concentrações e quantidades de macronutrientes na excreção de animais em pastagem de capim-mombaça fertilizada com fontes de fósforo.** Revista Brasileira de Zootecnia, Maringá, v, 37, n. 6, Fev., 2008.

SALGADO, Roberto et al. Química Nova, Rio de Janeiro, Vol.30, n °1, Fevereiro/ Agosto, 2007.

SERPA, Leonardo. **Estudo e implementação de um sistema gerador de energia empregando células a combustível do tipo PEM.** 208 f. Dissertação (Mestrado) - Engenharia Elétrica, Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

SILVA, Gabriel. **Estudo do desempenho e estabilidade de catalisadores pt- Y/C em catodo de célula a combustível.** 103f. Tese (Dissertação) - Físico-química, Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2014.

SOUZA, Danilo. **Proposta de controle para provisão de ar no catodo de um modelo de célula a combustível de membrana polimérica.** 95f. Tese (Graduação) - Engenharia Elétrica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2012.

TELEKEN, Jhony. **Modelagem matemática da geração de corrente elétrica em uma célula combustível microbiana inoculada com microrganismos marinhos.** 105 f. Dissertação (Pós-Graduação) - Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

TOGNATO, Carla. **Efeito de experimentais na eficiência energética de células a combustível microbianas.** 64 f. Tese (Graduação) Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.

VILLULLAS, H. et. al. Células a combustível: energia limpa a partir de fontes renováveis. **Química nova na escola**, n.15, maio, 2002.

WENDT, Hartmut; GÖTZ, Michael; LINARDI, Marcelo. Tecnologia De Células A Combustível. **Química Nova**, São Paulo, abril, 2000.

ZENEBO, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. **Métodos Físico-químicos para análise de alimentos.** São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

