

Elizabeth Cristine Adam Trindade

**DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO PARA CÉLULA  
COMBUSTÍVEL MICROBIANA A PARTIR DE CELULOSE  
BACTERIANA/FIBRA DE CARBONO/POLIANILINA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Mecânicas da Universidade Federal de Santa para a obtenção do grau de mestre em Engenharia e Ciências Mecânicas.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Derce de Oliveira  
Souza Recouvreux, Dr.<sup>a</sup>

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Regina  
Vasconcellos Antônio, Dr.<sup>a</sup>

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

Trindade, Elizabeth Cristine Adam  
DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO PARA CÉLULA  
COMBUSTÍVEL MICROBIANA A PARTIR DE CELULOSE  
BACTERIANA/FIBRA DE CARBONO/POLIANILINA / Elizabeth  
Cristine Adam Trindade ; orientadora, Derce de  
Oliveira Souza Recouvreux, coorientadora, Regina  
Vasconcellos Antônio, 2018.  
85 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Santa Catarina, Campus Joinville, Programa de Pós  
Graduação em Engenharia e Ciências Mecânicas,  
Joinville, 2018.

Inclui referências.

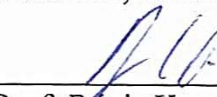
1. Engenharia e Ciências Mecânicas. 2. Eletrodo.  
3. Célula Combustível Microbiana. 4. Celulose  
Bacteriana. 5. Polianilina. I. Recouvreux, Derce de  
Oliveira Souza. II. Antônio, Regina Vasconcellos.  
III. Universidade Federal de Santa Catarina.  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências  
Mecânicas. IV. Título.

Elizabeth Cristine Adam Trindade

**DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO PARA CÉLULA  
COMBUSTÍVEL MICROBIANA A PARTIR DE CELULOSE  
BACTERIANA/FIBRA DE CARBONO/POLIANILINA/**


Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre em Engenharia e Ciências Mecânicas”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Mecânicas.

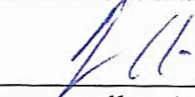
Joinville, 06 de Dezembro de 2018.


  
\_\_\_\_\_  
Prof. Régis Kovacs Scalice, Dr

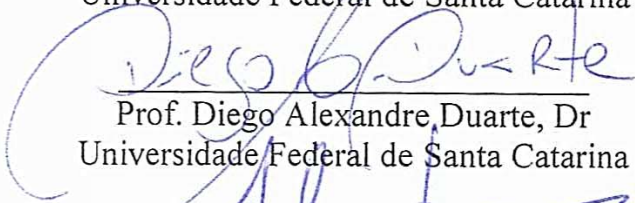
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Mecânicas

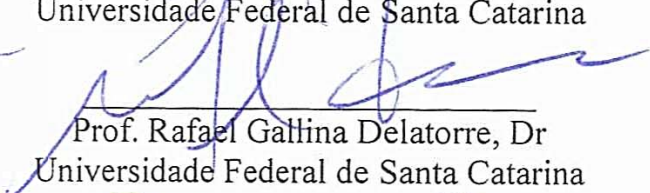
**Banca Examinadora:**

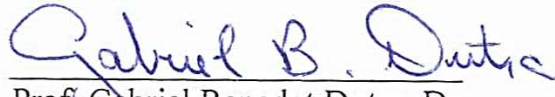
  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª Derce de Oliveira Souza Recouvreux, Dr.ª (Orientadora)  
Universidade Federal de Santa Catarina

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª Regina Vascellos Antônio, Dr.ª (Coorientadora)  
(videoconferência)  
Universidade Federal de Santa Catarina

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Claudimir Antonio Carminatti, Dr  
Universidade Federal de Santa Catarina

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Diego Alexandre Duarte, Dr  
Universidade Federal de Santa Catarina

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Rafael Gallina Delatorre, Dr  
Universidade Federal de Santa Catarina

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Gabriel Benedet Dutra, Dr  
Universidade Federal de Santa Catarina



Este trabalho é dedicado à toda minha pequena e grande família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.



## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Catarina, assim como, ao programa de pós-graduação em Engenharia e Ciências Mecânicas, por disponibilizar a sua estrutura para a realização deste trabalho.

À minha família por seu amor incondicional, em especial minha mãe Ruth por estar sempre por perto e todo incentivo e estímulo para seguir meus sonhos, meu pai Odilon por me encorajar na construção desse sonho. Aos meus irmãos, Márcia e William e meus sobrinhos amados por toda torcida e carinho. Ao Patrik, por sempre me apoiar e me acompanhar nessa jornada, mesmo nos momentos mais difíceis. Ao meu tio Luiz (*in memoriam*) pelas palavras de incentivo e seu doce sorriso. Vocês são a minha vida!

À minha orientadora, Professora Derce de Oliveira Souza Recouvreux, pela oportunidade, suporte, orientação, aprendizado e amizade. Obrigada por me incentivar e tornar esse trabalho possível.

À minha coorientadora, Professora Regina Vasconcellos Antônio, pelo apoio e orientação.

Aos amigos que a vida me trouxe, Dayane por todos momentos de conversas e abraços. À Patricia por ser sempre meu suporte e amizade, você sabe o quanto é importante para mim. Aos meus colegas de laboratório e amigos, Vanessa, Letícia, Ana, Gabriel, Daniel, por todo aprendizado, contribuições e conselhos. Amizades que tenho certeza que levarei para toda minha vida.

Aos professores Claudimir Antonio Carminatti, Diego Alexandre Duarte, Rafael Gallina Delatorre e Gabriel.Benedet Dutra por aceitarem serem membros da banca examinadora.

Aos técnicos do Laboratório de Análises Instrumentais II – Univille e Laboratório Central de Microscopia Eletrônica - LCME-UFSC, em especial ao Américo Cruz Júnior por seu auxílio com empenho e paciência.

À FAPESC, CAPES, CNPq e à UFSC pelo apoio financeiro.

Por fim, meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que de alguma forma doaram um pouco de si para que a realização deste trabalho se tornasse possível.





## RESUMO

O desenvolvimento de novas fontes de energias renováveis tem fundamental importância nos dias atuais, que busca por alternativas sustentáveis para a redução dos combustíveis fósseis e dos seus impactos ambientais. Células combustíveis microbianas (CCM) são de grande interesse neste contexto, pois geram energia renovável, a partir de rejeitos de biomassa e detritos em geral. Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de eletrodos para CCM constituídos de celulose bacteriana (CB), fibra de carbono (FC) e/ou polianilina (PANI). Para isto, foi produzido o nanocompósito CB/FC *in situ*, seguido da polimerização da polianilina (PANI) nas nanofibras de CB. Para a caracterização do eletrodo desenvolvido foram utilizadas técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), difração de raios X (DRX) e análise termogravimétrica (TG), onde foi observado que as amostras são amorfas, possuem nanoestruturas e houve formação de biofilme bacteriano, com estabilidade térmica apropriada para uso em uma CCM. A determinação da condutividade elétrica foi realizada através da medição da resistividade pelo método de duas pontas, demonstrando que os eletrodos apresentam condutividade na mesma ordem de grandeza. Parâmetros operacionais da CCM utilizando o eletrodo desenvolvido foram monitorados e controlados através da diferença de potencial. Os resultados obtidos sugerem que o nanocompósito de CB/FC/PANI possui grande potencial para uso como um eletrodo em CCM, uma vez que apresenta propriedades condutoras, bem como um microambiente favorável para o desenvolvimento de um biofilme microbiano.

**Palavras-chave:** Eletrodo. Célula Combustível Microbiana. Celulose Bacteriana. Polianilina. Fibra de Carbono.



## ABSTRACT

The development of new sources of renewable energies has fundamental importance nowadays, which seeks sustainable alternatives for the reduction of fossil fuels and their environmental impacts. Microbial Fuel Cells (MFC) are of great interest in this context, as they generate renewable energy, from waste of biomass and debris in general. The aim of this work was the development of electrodes for MFC composed of bacterial cellulose (BC), carbon fiber (CF) and/or polyaniline (PAN). For this purpose, the nanocomposite BC/CF was produced *in situ*, along with polyaniline polymerization (PAN) in the BC nanofibers. In order to characterize the produced electrode, Scanning Electron Microscopy (SEM), Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray Diffraction (XRD) and Thermogravimetric Analysis (TGA) analysis were carried out, where it was observed that samples were amorphous, have nanostructures, with formation of bacterial biofilms, presenting proper thermal stability for the use in MFCs. The electrical conductivity was determined by measuring the resistance using the two-point method. Operational parameters of the MFC using the developed electrode were monitored and controlled by the potential difference. The results obtained from the BC/CF/PAN nanocomposite demonstrate great potential for the use as an electrode in MFCs, as well as a microenvironment favorable to the development of a microbial biofilm.

**Keywords:** Electrode. Bacterial Cellulose. Polyaniline. Carbon Fiber. Microbial Fuel Cell.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação da estrutura química da celulose e as ligações intra e intermoleculares.....	26
Figura 2 – Membrana hidrogel de CB (a). Micrografia de MEV da microestrutura de membranas de CB (b). .....	27
Figura 3 – O sistema precursor de fibras de carbono convencional.....	30
Figura 4 – Faixa de condutividade de polímeros condutores e compósitos poliméricos condutores. ....	32
Figura 5 – Reação de oxidação da anilina pelo persulfato de amônio. ....	33
Figura 6 – Fórmula geral da polianilina não-dopada, composta por $y$ e $(1-y)$ unidades repetitivas. ....	33
Figura 7 – A celulose bacteriana e seus usos como suporte para produção de nanocompósitos eletrocondutores. ....	36
Figura 8 – Síntese do nanocompósito de CB/PANI.....	38
Figura 9 – Esquema de célula biocombustível para produção de energia através de célula combustível enzimática (CCE) e célula combustível microbiana (CCM).....	39
Figura 10 – O princípio de funcionamento de uma célula combustível microbiana. ....	40
Figura 11 – Número de publicações relacionadas à CCM, eletrodo e polianilina Pesquisa realizada na Plataforma Scopus no mês de dezembro/2018.....	41
Figura 12 – Tipos de CCMs utilizados em estudos: (A) Sistema de fácil construção contendo uma ponte salina (mostrada pela seta); (B) quatro CCMs tipo lote onde as câmaras são separadas pela membrana (sem tubo) e mantidas juntas por parafusos ; (C) mesmo que (B), mas com um ânodo de fluxo contínuo (matriz granular de grafite) e posicionamento próximo anódico-catódico; (D) tipo CCM fotoheterotrófico; (E) câmara única, sistema de catodo de ar em um simples arranjo de “tubo”; (F) sistema de duas câmaras tipo H mostrando câmaras de anodo e cátodo equipadas para aspersão de gás. ....	43
Figura 13 – Mecanismo de transferência de elétrons: a) transferência direta das enzimas respiratórias (citocromos) para o eletrodo, b) por mediadores externos à célula, c) transporte de elétrons de longo alcance através do biofilme bacteriano .....	45
Figura 14 – Exemplo de uma CCM de câmara dupla. ....	48

Figura 15 – Representação esquemática de um material condutor de dimensões (w, l, t). .....	53
Figura 16 – Configuração da célula de combustível microbiana, em forma de "H", construída para o monitoramento do desempenho de um eletrodo constituído de fibra de carbono.....	56
Figura 17 – Película gelatinosa de CB sintetizada por <i>K. hansenii</i> , (a). Membrana de CB na forma de hidrogel, após purificação (b). Micrografia do MEV de uma membrana de CB liofilizada (c). .....	57
Figura 18 - Ilustração do processo de preparação do nanocompósito CB/PANI. ....	58
Figura 19 – (a) Nanocompósito CB/PANI na forma de hidrogel, (b) Micrografia do MEV do nanocompósito CB/PANI. ....	59
Figura 20 – Espectro de FTIR-ATR de amostras de CB e CB/PANI. ....	60
Figura 21 – Curva de TGA para CB pura e CB/PANI.....	62
Figura 22 – Padrões de difração de raios X dos componentes puros CB e do nanocompósito CB/PANI. ....	63
Figura 23 - Processo de produção do nanocompósito de CB/FC.....	64
Figura 24 – Nanocompósito de CB/FC. Nanofibras de CB envolvendo FC.....	64
Figura 25 – (a) Nanocompósito CB/PANI na forma de hidrogel. (b) Micrografia do MEV do nanocompósito CB/FC/PANI. ....	65
Figura 26 – Imagem da CCM com o multímetro conectado para realizar a medição da diferença de potencial elétrico. ....	67
Figura 27 – Micrografia do nanocompósito de CB/FC/PANI: (a) Nanocompósito CB/FC/PANI HCl 1,0 M com bactérias aderidas (b) nanofibra de interação da FC com as nanofibras de CB recobertas com PANI, (c) o círculo, em vermelho, mostra um aglomerado de bactérias aderidos à FC. (d) biofilme de bactérias aderidos nas nanofibras de CB e interagindo com as FC.	69
Figura 28 – Ilustração das etapas do ciclo de vida de um biofilme microbiano.	70
Figura 29 – Micrografia do MEV (Figura 27c ampliada) no nanocompósito CB/FC/PANI HCl 0,5M utilizada como eletrodo na CCM, onde está identificado com setas: (a) nanofibras de CB recobertas por PANI, (b) aglomerado de bactérias aderidas nas nanofibras de CB, (c) bactéria individual aderidas na FC e em (d) FC. ....	71
Figura 30 – Monitoramento dos eletrodos desenvolvidos em uma CCM. ....	72

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais estados de oxidação da estrutura química representada pela unidade de repetição da polianilina. ....	34
Tabela 2 - Meio de cultivo LB líquido.....	54
Tabela 3 – Meio de cultivo utilizado para o crescimento da <i>E. coli</i> na CCM...	55
Tabela 4 – Principais bandas dos espectros de CB e de CB/PANI. ....	61
Tabela 5 – Condutividade de amostras de CB, CB/FC, CB/PANI e CB/FC/PANI. ....	66





## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACV- Avaliação do Ciclo de Vida

ATP - Adenosina Trifosfato

BC - Banda de Condução

BV - Banda de Valência

°C - Grau celsius

CB – Celulose Bacteriana

CC - Corrente Contínua

CCE- Célula Combustível Enzimática

CCM - Célula Combustível Microbiana

ddp – Diferença de Potencial

DRX – Difração de RaioX

EPS - Exopolissacarídeos

ETAR - Estação Tratamento de Água Residuais

FC – Fibra de Carbono

FTIR – Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier

GN- Grafeno

LB - Luria-Bertani

M - Molar (mol/L)

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MTP – Membrana Trocadora de Próton

PAN - Poliacrilonitrila

PANI – Polianilina

PBS - phosphate buffered saline (Tampão fosfato-salino)

pH - Potencial Hidrogeniônico

PSA – Persulfato de amônia

Pt – Platina

rGO - Óxido de Grafeno reduzido

TGA – Análise Termogravimétrica

V - volt

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>21</b>
1.1 OBJETIVOS .....	23
1.1.1 Objetivo geral .....	23
1.1.2 Objetivos específicos .....	23
1.2 ESTRUTURA DO ESTUDO.....	24
<b>CAPÍTULO 2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>25</b>
2.1 CELULOSE .....	25
2.1.1 Estrutura molecular da celulose .....	25
2.1.2 Celulose Bacteriana.....	26
2.1.3 Hidrogéis da celulose bacteriana .....	28
2.2 FIBRA DE CARBONO (FC).....	29
2.2.1 Processos de produção .....	29
2.2.2 Propriedades das fibras de carbono .....	30
2.3 POLÍMEROS INTRINSECAMENTE CONDUTORES .....	31
2.3.1 Polianilina .....	32
2.3.2 Síntese química da PANI.....	32
2.3.3 Potencialidade da PANI.....	35
2.4 COMPÓSITO E NANOCOMPÓSITO .....	35
2.4.1 Nanocompósito eletrocondutor à base de celulose bacteriana.....	36
2.5 CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIANA .....	38
2.5.1 Projeto e operacionalidade da CCM .....	41
2.5.2 Construção de uma CCM.....	43
2.5.3 Mecanismo de transferência de elétrons e mediadores químicos	45
2.5.4 Avaliação do ciclo de vida da CCM em estações de tratamento de águas residuais.....	46
2.5.5 Desafios para aperfeiçoamento de eletrodos para CCM .	46

<b>CAPÍTULO 3. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>49</b>
3.1 PREPARAÇÃO DOS ELETRODOS CB/PANI, CB/FC e CB/FC/PANI.....	49
3.1.1 Produção de membranas de CB .....	49
3.1.2 Produção do nanocompósito CB/FC .....	49
3.1.3 Produção do nanocompósito CB/PANI e CB/FC/PANI..	49
3.2 CARACTERIZAÇÃO .....	50
3.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura .....	50
3.2.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....	50
3.2.3 Difração de Raios X (DRX).....	51
3.2.4 Análise Termogravimétrica (TG).....	51
3.2.5 Caracterização elétrica dos nanocompósitos .....	52
3.2.5.1 Método de duas pontas para medida da resistividade de um material	52
3.3 CONSTRUÇÃO DE UMA CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIANA (CCM) .....	54
3.3.1 Micro-organismo e meio de cultivo .....	54
3.4 MONITORAMENTO DA CCM .....	55
<b>CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>57</b>
4.1 PREPARAÇÃO DOS ELETRODOS CB/PANI, CB/FC e CB/FC/PANI.....	57
4.1.1 Nanocompósito CB/PANI.....	57
4.1.2 Caracterização do nanocompósito CB/PANI .....	58
4.1.2.1 Morfologia e microestrutura .....	58
4.1.2.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	59
4.1.2.3 Análise Termogravimétrica (TG).....	61
4.1.2.4 Difratoograma de raios X (DRX) .....	62
4.1.3 Nanocompósito CB/FC .....	63
4.1.4 Nanocompósito CB/FC/PANI .....	65

<b>4.1.5</b>	<b>Propriedade elétrica dos eletrodos.....</b>	<b>66</b>
4.2	CONSTRUÇÃO DE UMA CCM UTILIZANDO OS ELETRODOS DESENVOLVIDOS .....	66
4.3	BIOFILME MICROBIANO NO ELETRODO ANÓDICO .	67
4.4	MONITORAMENTO DE PARÂMETROS OPERACIONAIS DA CCM72	
<b>4.4.1</b>	<b>Eletrodos CB/FC/PANI, CB/PANI e FC .....</b>	<b>72</b>
<b>CAPÍTULO 5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES FUTURAS .....</b>		<b>75</b>
5.1	CONCLUSÕES .....	75
5.2	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	76
<b>REFERÊNCIAS .....</b>		<b>77</b>



## CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO

Há uma grande discussão mundial com relação ao déficit energético. No mundo têm-se como matriz energética fundamental, os combustíveis fósseis (petróleo, gás natural e carvão) amplamente utilizados pelas indústrias, sistemas de transporte, bem como para o uso doméstico. Devido a este uso amplo, observam-se diversos impactos ambientais, entre eles o aumento na temperatura global. Em 2005, o protocolo de Quioto estabeleceu um acordo entre diversos países visando ações que levem à redução de emissões de gases de efeito estufa. O Protocolo regulamentou, também, a venda de créditos de carbono, como incentivo para que países desenvolvidos apoiem projetos em países em desenvolvimento que tenham ratificado o acordo (MMA, 2017).

A diversidade de fontes da matriz elétrica, bem como as tecnologias para conversão para energia elétrica até seu uso final, permite a competitividade econômica e sustentável. Para isso, o estudo de aperfeiçoamento e desenvolvimento de novas formas de energias renováveis é importante visando, ao mesmo tempo em que é sustentável, diminuir a dependência dos combustíveis fósseis e os seus impactos sobre o ambiente e a sociedade em tempos de elevada demanda energética (Fung, 2016).

Atualmente, células combustíveis microbianas (CCM) são de grande interesse por serem fontes promissoras de energia renovável, a partir de uma variedade de substratos orgânicos (Logan, 2009). As CCM são dispositivos capazes de tratar materiais orgânicos residuais e gerar energia elétrica simultaneamente. Nessas células, micro-organismos são biocatalisadores ativos na oxidação de substratos orgânicos como a glicose, com a liberação simultânea de elétrons e prótons e esta energia química pode ser recuperada sob a forma de eletricidade (Li et al., 2018). O princípio de funcionamento dessas células, basicamente, consiste no movimento simultâneo de elétrons do ânodo para o cátodo, através de um circuito externo e de prótons que atravessam uma membrana de troca de prótons, do ânodo para o cátodo. No compartimento cátodo, elétrons, prótons e oxigênio combinam-se na superfície do eletrodo do cátodo, formando água (Logan, 2009).

No entanto, pesquisas têm sido intensificadas para construção de eletrodos mais eficientes e de fonte renovável (Logan e Regan, 2006; Lv et al., 2017; Ucar, Zhang e Angelidaki, 2017; Zhou et al., 2011). Para tal, polímeros condutores despertam grande interesse devido às suas potenciais aplicações em novas tecnologias, principalmente para aquelas voltadas à produção de energias renováveis, como, por exemplo, na

construção de células combustíveis. A polianilina (PANI) destaca-se como polímero intrinsecamente condutor, pois apresenta facilidade de preparação, boa estabilidade ambiental, térmica e química, alta condutividade elétrica e capacidade de oxidação/redução (troca iônica) (Sapurina e Stejskal, 2008). A PANI pode ser sintetizada a partir de monômeros de anilina utilizando-se uma variedade de métodos. Quando sintetizada como filme, torna-se um material muito frágil e quebradiço (Mattoso, 1996). No entanto, estas propriedades podem ser melhoradas através da polimerização *in situ* da PANI sobre matrizes poliméricas com propriedades mecânicas superiores. Dessa forma, obtém-se materiais poliméricos condutores com potencial para diversas aplicações.

Com isso, a celulose bacteriana (CB), um tipo de nanocelulose sintetizada por bactérias, possui propriedades promissoras, como uma estrutura altamente homogênea, alta capacidade de moldagem *in situ*, alta capacidade de retenção de água, biocompatibilidade, alta resistência à tração e baixo custo. A CB, acompanhada de importantes propriedades da PANI, permitem a formação de um nanocompósito condutor com potencial para várias aplicações, como, por exemplo para utilizá-la como membranas de troca de prótons ou eletrodos em células combustíveis microbianas (CCM) (Klemm et al., 2005).

Além disso, a CB/PANI, se aliada a outros materiais como a fibra de carbono (FC), pode apresentar melhora significativa na sua condutividade. As fibras de carbono, que são uma nova geração de materiais de alta resistência, são usadas principalmente para reforçar materiais compósitos como plásticos, cimento e outras resinas (Chawla, 1998). Em 1880, Thomas Edison foi o primeiro a documentar a existência das FC e o utilizou através de um processo patenteado para a manufatura de filamentos para lâmpadas. As boas propriedades mecânicas tornam as FC atraentes para uso em compósitos na forma de tecidos têxteis, bem como de fibras contínuas ou cortadas (Frank et al., 2014).

Portanto, espera-se que o nanocompósito CB/FC/PANI apresente propriedades, em especial a condutividade para atingir o objetivo desta pesquisa de desenvolver uma membrana condutora com potencial para aplicação como eletrodo em CCM.



## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

O objetivo desta pesquisa é desenvolver um nanocompósito constituído de celulose bacteriana, fibra de carbono e polianilina, via método *in situ*, para aplicação como eletrodo em CCM.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- a) Produzir membranas de CB utilizando glicerol como fonte carbono para utilizá-las na preparação de eletrodos para CCM.
- b) Preparar nanocompósitos condutores a base de CB:
  - i. CB/PANI através da síntese de PANI nas nanofibras de CB;
  - ii. CB/FC através da incorporação do FC em membranas de CB;
  - iii. CB/FC/PANI através da síntese de PANI nas nanofibras de CB do compósito CB/FC para utilizá-lo como um eletrodo em CCM.
- c) Caracterizar os nanocompósitos produzidos desenvolvidos através das seguintes técnicas:
  - i. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) para observar a microestrutura e avaliar a formação de biofilme microbiano;
  - ii. Medidas de resistividade para caracterizar a condutividade elétrica;
  - iii. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) para identificar os grupos funcionais das amostras;
  - iv. Difração de raios X (DRX) para analisar a estrutura cristalina e amorfa das amostras;
  - v. Análise termogravimétrica (TGA) para conhecer as alterações que o aquecimento pode provocar na massa das substâncias e a faixa de temperatura que elas adquirem composição química fixa, definida e constante, além da temperatura de início da decomposição.
- d) Construir uma CCM utilizando uma cultura bacteriana e os eletrodos desenvolvidos.
- e) Avaliar a formação de biofilme microbiano no eletrodo do ânodo através de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

- f) Monitorar os parâmetros operacionais da CCM através da diferença de potencial elétrico.

## 1.2 ESTRUTURA DO ESTUDO

No capítulo 1, apresenta-se a introdução do trabalho. O capítulo 2 apresenta a revisão da literatura necessária para o estudo e discussão. O capítulo 3 mostra os materiais e métodos utilizados neste estudo. No capítulo 4 serão apresentados e discutidos os principais resultados desta pesquisa. Assim, tendo presente a revisão da literatura, e com base nos dados obtidos, nomeadamente as caracterizações dos nanocompósitos desenvolvidas e os parâmetros do monitoramento da CCM construída, procurou-se analisar o potencial do nanocompósito como eletrodo para uma CCM. O capítulo 5 finaliza este trabalho com as conclusões.

## CAPÍTULO 2. REVISÃO DA LITERATURA

A revisão da literatura visa conhecer, compreender e sintetizar as pesquisas já realizadas, permitindo delimitar o tema. Neste capítulo são abordados os fundamentos necessários para o conhecimento e a compreensão dos temas relacionados ao problema abordado e sua atualidade.

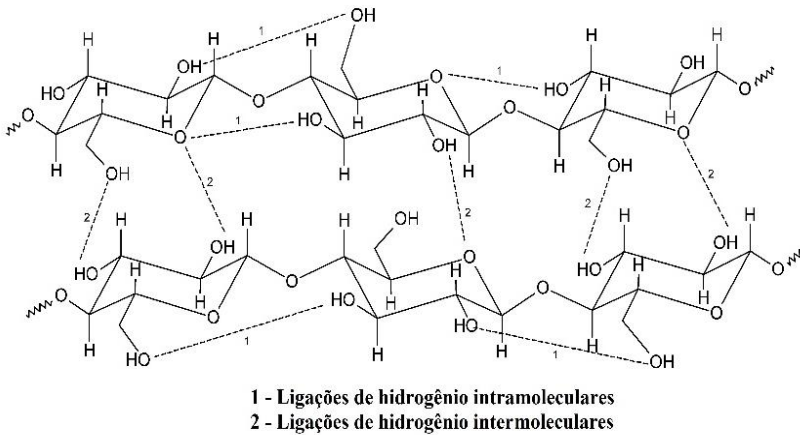
### 2.1 CELULOSE

#### 2.1.1 Estrutura molecular da celulose

Principal componente da parede celular de plantas, a celulose é o biopolímero mais abundante do planeta, tem seu uso industrial generalizado na atualidade, mas também no passado para fabricação de cordas, velas, papel, madeira para habitação e outras diversas aplicações (Chang e Zhang, 2011; Mattoso et al., 2009; Moulay, 2013). A celulose é um homopolissacarídeo, com fórmula molecular  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , cuja unidade estrutural de repetição, a celobiose, é composta por duas moléculas de glicose unidas através de ligações do tipo  $\beta(1\rightarrow4)$  glicosídicas, formado por cadeias lineares não ramificadas de moléculas de  $\beta$ -D-glicose. Sua natureza cristalina, a ordem estrutural da celulose implica que todos os átomos são fixados em posições discretas uns em relação aos outros. Essa característica permite que a matriz cristalina, composta por moléculas componentes de microfibrilas individuais, sejam recobertas de forma suficientemente forte para evitar a penetração não só por enzimas, mas também por moléculas pequenas, como água (Klemm et al., 2005).

Isso faz com que a celulose seja insolúvel em água e em diversos solventes orgânicos devido a grupos hidroxilas, que formam ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, responsáveis pela estabilidade química, rigidez da estrutura e formação de fibrilas estáveis, como mostrado na Figura 1.

Figura 1 – Representação da estrutura química da celulose e as ligações intra e intermoleculares.



Fonte: Adaptado de Baptista, Ferreira e Borges (2013).

### 2.1.2 Celulose Bacteriana

A celulose pode ser produzida por diferentes organismos vivos, tais como plantas, algas, alguns animais marinhos (Klemm et al., 2005), e também por bactérias. As películas produzidas são chamadas de membranas de CB (celulose bacteriana).

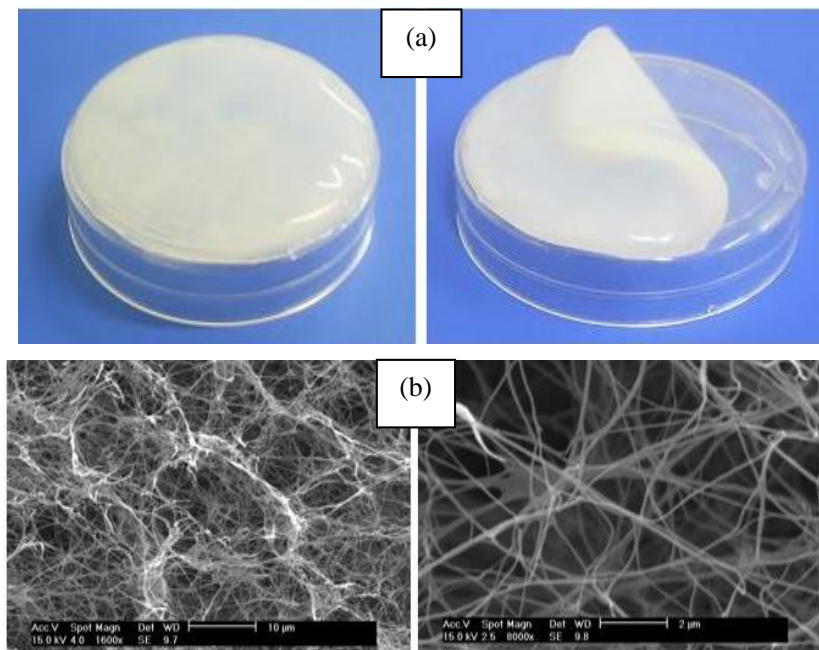
Em 1886 foi relatado por Adrian Brown o primeiro estudo documentado relacionado à produção de celulose por bactéria. Ele observou um material gelatinoso que se formava na superfície de uma fermentação de vinagre. A análise desse material revelou tratar-se de celulose, produzida pela bactéria *Acetobacter xylinum* (Recouvreur, 2008).

As características da CB são interessantes para o desenvolvimento de novos materiais devido sua estrutura tridimensional de nanofibras de celulose que possuem resistência mecânica, flexibilidade, moldabilidade, biodegradabilidade, excelente afinidade biológica e uma cristalinidade superior quando comparadas com a celulose vegetal (Hu et al., 2014).

A CB secretada por algumas bactérias consiste em um filme translúcido e gelatinoso (Figura 2 (a)), que quando seco resulta em uma estrutura formada por nanofibras de celulose de alta razão de aspecto, entrelaçadas, distribuídas em direções aleatórias, como mostra a Figura 2 (b) (Recouvreur, 2008). A CB é produzida extracelularmente pelas

culturas bacterianas gram-negativas de *Komagataeibacter* (anteriormente *Gluconacetobacter*), *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Sarcina*, *Azobacter*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Alcaligenes* (Chawla et al., 2009; Klemm et al., 2005).

Figura 2 – Membrana hidrogel de CB (a). Micrografia de MEV da microestrutura de membranas de CB (b).



Fonte: Recouvreux (2017), com permissão.

Quimicamente semelhante à celulose vegetal, mas morfológicamente diferente, a CB tem a vantagem de ser biossintetizada livre de impurezas, como hemicelulose e lignina, conferindo propriedades relativas à pureza, cristalinidade (60% a 80%) e alto teor de água. O cultivo da CB com características esbranquiçadas na superfície de cultivo são providos de condições estáticas a temperatura de 28 °C a 30 °C (Maule et al., 2014).

A CB é produzida por várias espécies de bactérias, das quais os rendimentos e a microestrutura da CB variam devido à diversidade de linhagens bacterianas, que podem levar a características físicas diversas. Destaca-se o gênero *Komagataeibacter*, bactérias acéticas, gram-

negativas, estritamente aeróbias e não patogênicas. Estas são encontradas no solo e em frutas em decomposição e produzem celulose pura na forma de um hidrogel, depositada na superfície do meio de cultura, a partir de diversas fontes de carbono (Recouvreur, 2008). Esse fato tem levado a uma variedade de pesquisas recentes que utilizam este biopolímero.

Atualmente, o uso da CB na biotecnologia e suas potencialidades futuras têm sido discutidos em diversos trabalhos (Chawla et al., 2009; Chen et al., 2017; Hu et al., 2014; Lynd et al., 2002). A CB apresenta vantagens quando produzida em laboratório, pois permite controlar as condições de cultura, selecionar os substratos e, pela linhagem bacteriana, controlar e distribuir a massa molar e a estrutura supramolecular.

Para aplicações de engenharia de tecidos, a CB surgiu como um biomaterial promissor devido à sua excelente biocompatibilidade e propriedades físico-químicas únicas. Modificações *in situ* e *ex situ* de CB permitiram atender requisitos específicos para aplicações em engenharia de tecidos, particularmente na regeneração óssea e curativo de ferida (Stumpf et al., 2018). Os autores (Velásquez-Riaño e Bojacá, 2017) mostram em diversos trabalhos a viabilidade da produção em larga escala de CB, pois os principais meios de cultura são de baixo custo.

### 2.1.3 Hidrogéis da celulose bacteriana

Hidrogel é um tipo de material gelatinoso com uma estrutura reticulada baseada nas cadeias poliméricas hidrofílicas. A celulose bacteriana (CB) sintetizada por cepas microbianas, como o *Acetobacter xylinum*, é uma estrutura de rede ultrafina (Chang e Zhang, 2011).

Além disso, os hidrogéis de CB podem alterar seu tamanho e forma em resposta a estímulos ambientais. Por absorverem grande quantidade de água, possuem redes elásticas preenchidas com água ocupando os espaços intersticiais entre as fibras. Com base no método de reticulação, os hidrogéis podem ser divididos em géis químicos e géis físicos. Os géis físicos são formados por ligações iônicas ou de hidrogênio, enquanto os géis químicos são formados por ligações covalentes (Chang e Zhang, 2011). Assim, os hidrogéis possuem características de absorver outras substâncias monoméricas, reativas e potencialmente polimerizáveis em seus interstícios, ocupando espaços vazios e interagindo com segmentos ou frações de cadeia polimérica do hidrogel (Guisseppi-Elie, 2010).

Redes tridimensionais de hidrogéis facilitam o aumento de área superficial e o transporte de íons (Guisseppi-Elie, 2010; Lin et al., 2019). Por conseguinte, a incorporação de polímeros condutores, em matriz de hidrogel adequada, permite a obtenção de materiais que exibam boas

propriedades mecânicas e biocompatíveis condutivas, melhoradas (Müller, 2012).

A aplicabilidade de hidrogéis condutores pode ser estendida para administração de fármacos, engenharia de tecidos, biossensores, etc; ((Müller *et al.*, 2012)Müller *et al.*, 2012; Recouvreux, 2008; Stumpf *et al.*, 2018). No entanto, ainda é desejável desenvolver métodos para alcançar hidrogéis condutores de base biológica com melhor desempenho físico-químico e capacidade multifuncional, uma vez que oferecem o potencial para uma ampla gama de aplicações, especialmente para biomateriais.

## 2.2 FIBRA DE CARBONO (FC)

Com grande potencial para aplicações modernas, devido as excelentes propriedades mecânicas e térmicas, as fibras de carbono têm sido utilizadas largamente pela indústria, comumente, como reforço em um material compósito (Chawla, 1998).

As fibras de carbono possuem no mínimo 92% em massa de carbono na sua composição. Estas fibras têm sido extensivamente usadas em compósitos na forma de tecidos têxteis, pré-impregnados, fibras contínuas/mechas e fibras cortadas (Huang, 2009).

Uma variedade de fibras precursoras pode ser utilizada para a produção de fibras de carbono, atribuindo diferentes características e morfologias. Os precursores mais comuns são: a poliacrilonitrila (PAN), fibras de celulose (viscose, *rayon*, algodão), piche de petróleo e alcatrão de hulha (Levy Neto, Pardini, 2006). A estrutura da fibra de carbono pode ser cristalina, amorfa ou parcialmente cristalina. A estrutura cristalina consiste em hibridização  $sp^2$  dos átomos de carbono arranjados bidimensionalmente em forma parecida com favo de mel no plano x-y (Rodrigues, 2017).

### 2.2.1 Processos de produção

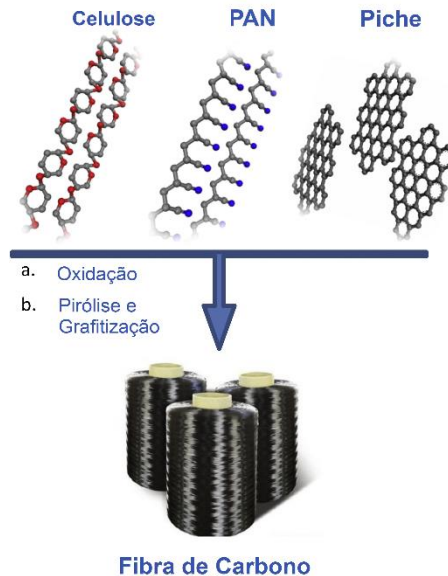
Segundo Frank *et al.* (2014), para a produção de fibras de carbono a partir de precursores orgânicos, basicamente, envolve processos de tratamento térmico, na qual o carbono já se encontra na forma filamentar. Resumidamente as etapas são:

- **oxidação controlada:** as fibras precursoras são tratadas em atmosfera oxidante a temperaturas entre 200 e 300 °C, em seguida, realizado o estiramento, para manter o percurso altamente orientado para melhorar assim as propriedades mecânicas das FC;

- **pirólise:** na etapa seguinte, as fibras são submetidas à pirólise térmica em uma atmosfera inerte e são, portanto, convertidos em FC. Os compostos voláteis são removidos para dar FC com um rendimento de carbono de cerca de 50% em peso em relação ao precursor;
- **grafitização:** por fim, essa parte do processo pode ser considerada adicional, na qual as fibras sofrem tratamento térmico em temperaturas até 3000°C. Por ordenar e orientar pequenos cristalititos em direção do eixo da fibra, resulta em um módulo de Young elevado.

A Figura 3 apresenta uma síntese na produção de FC convencionais. A reticulação por oxidação e pirólise (e/ou grafitização) para produção de FC convencionais.

Figura 3 – O sistema precursor de fibras de carbono convencional.



Fonte: Adaptado com permissão de Xu, Gao (2015).

## 2.2.2 Propriedades das fibras de carbono

As fibras de carbono possuem um diâmetro que varia entre 7 a 12  $\mu\text{m}$  e, além disso, apresentam excelentes propriedades mecânicas, como alta resistência a tração, alto módulo de elasticidade e são eletricamente condutores (Rodrigues, 2017).



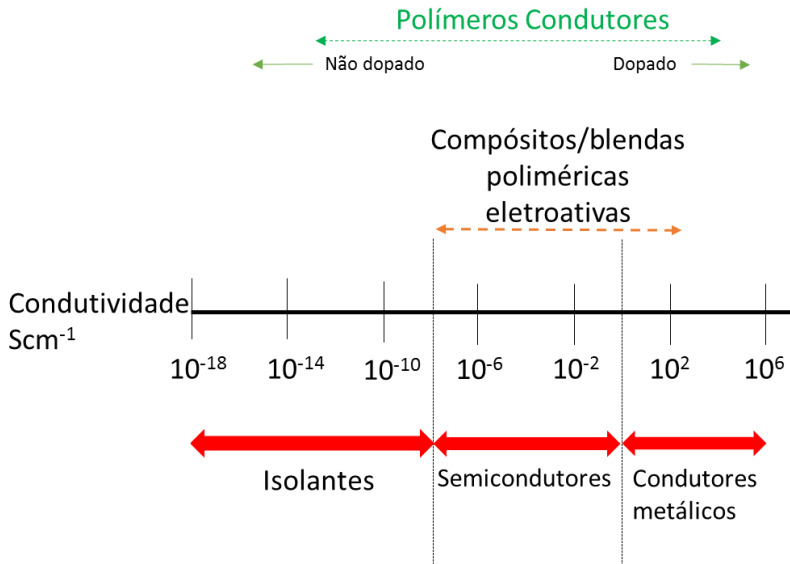
As FC obtidas a temperaturas elevadas, empregando materiais precursores como PAN ou piche, possuem estruturas muito semelhantes àquelas encontradas no carbono vítreo, com arranjos superficiais similares aos de microfibras entrelaçadas. A composição das fibras de carbono depende do tipo material e das temperaturas empregadas no processo de fabricação. As fibras são preparadas em temperaturas próximas de 1000 °C, onde os elementos como C, H, N e O são normalmente encontrados. À medida que a temperatura aumenta as porcentagens de H, N e O diminuem, enquanto que a de carbono aumenta. Para valores de temperatura próximos de 2000°C, as fibras são constituídas majoritariamente por átomos de carbono.

## 2.3 POLÍMEROS INTRINSECAMENTE CONDUTORES

Polímeros intrinsecamente condutores são sistemas de cadeias conjugadas, onde há alternância de ligações duplas e simples, as quais apresentam propriedades diferenciadas, como baixos potenciais de ionização, elevadas afinidades eletrônicas, bem como podem determinar suas propriedades mecânicas. Isto se deve ao fato que os elétrons de caráter  $\pi$  podem ser facilmente removidos ou adicionados às cadeias para formar o íon polimérico, ou seja, a forma que o polímero se encontra condutor, via reação redox (dopagem) de modo que não altere a estrutura do polímero. Por isso, o termo mais adequado seja “polímero conjugado dopado”, pois podem apresentar altos valores de condutividade sem a necessidade de dopagem (Faез et al., 2000).

A condutividade dos polímeros condutores pode variar em isolantes e condutores ( $10^{-8}$  a  $10^6 \Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) conforme o nível de dopagem. A Figura 4 apresenta uma visão geral da condutividade de polímeros condutores e compósitos poliméricos condutores (Kaur et al., 2015).

Figura 4 – Faixa de condutividade de polímeros condutores e compósitos poliméricos condutores.



Fonte: Adaptado com permissão de (Kaur et al., 2015).

### 2.3.1 Polianilina

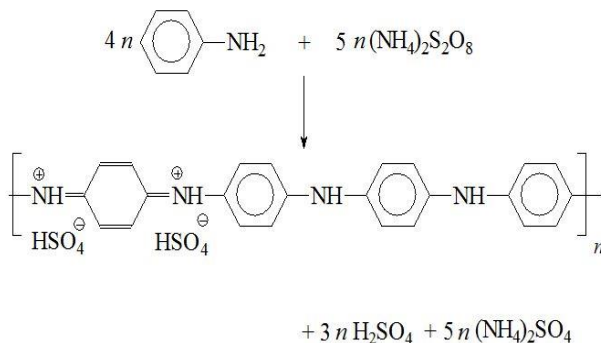
A polianilina (PANI) foi o primeiro polímero condutor descoberto, em 1862, porém não foram efetuadas as medidas de condutividade. Somente em 1980 suas propriedades elétricas foram estudadas (GENIES et al., 1990). Em sua estrutura química há presença de ligações duplas, sendo que os elétrons da ligação pi ( $\pi$ ), das quais podem ser facilmente inseridos (redução) ou removidos (oxidação). Este processo se caracteriza como dopagem de estruturas conjugadas, fazendo com que o polímero, antes isolante, passe a conduzir corrente elétrica. Além disso, o monômero (anilina) é um material barato e sua polimerização, além de ser simples, produz um material estável e complexo (Mattoso, 1996).

### 2.3.2 Síntese química da PANI

A síntese da polianilina pode ser realizada utilizando uma variedade de meios ácidos e agentes oxidantes, sendo o sistema mais comum o persulfato de amônio em soluções aquosas de HCl com pH entre 0 e 2. A função do oxidante é retirar um elétron da molécula de anilina,

sem que forme uma ligação coordenada forte com o produto final ou com o substrato intermediário, conforme descrito na Figura 5.

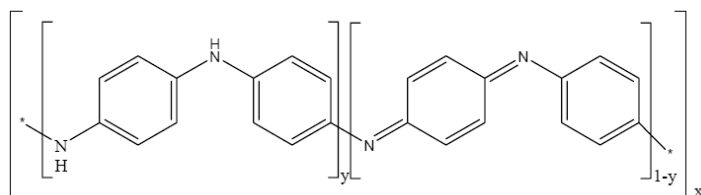
Figura 5 – Reação de oxidação da anilina pelo persulfato de amônio.



Fonte: Adaptado de Sapurina e Shishov (2012).

A unidade de repetição da PANI tem como sua composição química na forma de base (não-dopada) dada por uma fórmula geral, conforme ilustrado na Figura 6.

Figura 6 – Fórmula geral da polianilina não-dopada, composta por  $y$  e  $(1-y)$  unidades repetitivas.



Fonte: Mattoso (1996).

As unidades repetitivas compostas por  $y$  e  $(1-y)$  das espécies reduzidas e oxidadas, respectivamente, onde o valor de  $y$  pode variar continuamente entre 0, quando se encontra completamente oxidado (contendo somente imina); e 1, quando polímero se encontra completamente reduzido (contendo somente amina) (Mattoso, 1996). A Tabela 1 apresenta os estados de oxidação da PANI mais estudados.

Tabela 1 – Principais estados de oxidação da estrutura química representada pela unidade de repetição da polianilina.

Estado de oxidação/cor	Unidade de repetição	Característica
Leucoesmeraldina Amarelo		Isolante Completamente reduzida
Sal de esmeraldina Verde		Condutora Parcialmente oxidada
Base esmeraldina Azul		Isolante Parcialmente oxidada
Pernigranilina Púrpura		Isolante Completamente oxidada

Fonte: Adaptado de FAEZ et al. (2000).

Alguns fatores influenciam a condutividade elétrica da PANI, tais como: massa molar, porcentagem de cristalinidade e separação intercadeia, grau de oxidação, arranjo molecular, percentual de dopagem e tipo de agente protonante (Bhadra et al., 2009). O sal de esmeraldina apresenta propriedades condutoras, pois os pôlarons – que são íons radicais com spin  $\frac{1}{2}$ , presente em estados eletrônicos localizados – podem se mover através das ligações  $\pi$ . Assim, os pôlarons são transportadores de condutividade elétrica, as concentrações e mobilidades destas cargas influenciarão a intensidade da condutividade elétrica (Muller, 2012).

Os níveis de energia das moléculas, nos polímeros formam bandas eletrônicas. A banda de valência (BV) compreende os níveis eletrônicos de maior energia e ocupados por elétrons. Já a banda de condução (BC) é formada por níveis de energia mais baixa que estão sem elétrons. O espaçamento entre as bandas de condução, ou seja, a diferença de energia que as separa é chamado de *band gap*, das quais as propriedades eletrônicas intrínsecas dos materiais são dependentes desta diferença. Estas propriedades definem a classificação de materiais como condutor, semiconductor ou isolante (Mattoso, 1996; Vargas, 2015).

### 2.3.3 Potencialidade da PANI

No trabalho de Geniès et al. (1990), discutiu-se a crescente pesquisa de um polímero condutor, no entanto, muitos desafios em relação a sua aplicação na escala industrial foi questionada. Após quase duas décadas, BHADRA et al. (2009) destaca diversas aplicações, dentro das potencialidades como uso em dispositivos de armazenamento de energia, sensores, músculos artificiais e ânodo para células combustíveis microbianas.

Estudos recentes utilizam a PANI como uma forma de produzir condutores verdes, ou seja, materiais compósitos de origem renovável e eletricamente condutores (Casado, Aranguren e Marcovich, 2014; Khandelwal et al., 2018; Wheelwright, Ray e Cooney, 2015). Mattoso et al. (2009) apresentam nanocompósitos eletricamente condutores feitos de nanofibrilas de celulose e polianilina. Zhao et al. (2018) propõem o uso de nanomaterial de PANI e ouro na fabricação de etiquetas imunossensores para diagnóstico precoce de artrite reumatóide. Também a PANI foi utilizada para remoção de compostos orgânicos voláteis do ar por processo rápido de adsorção/dessorção (Pina, Della et al., 2018).

Pode-se observar a grande versatilidade da utilização da PANI em trabalhos aqui destacados, corroborando com os prognósticos relatados de Bhadra et al., (2009). Nos últimos anos, entre 2009 e 2018, já foram publicados mais de 10 mil artigos, segundo a plataforma Scopus, utilizando como palavra-chave *polyaniline*. Portanto, devido sua facilidade na obtenção e síntese, o uso da PANI em materiais compósitos surge como promissora para próximos anos.

## 2.4 COMPÓSITO E NANOCOMPÓSITO

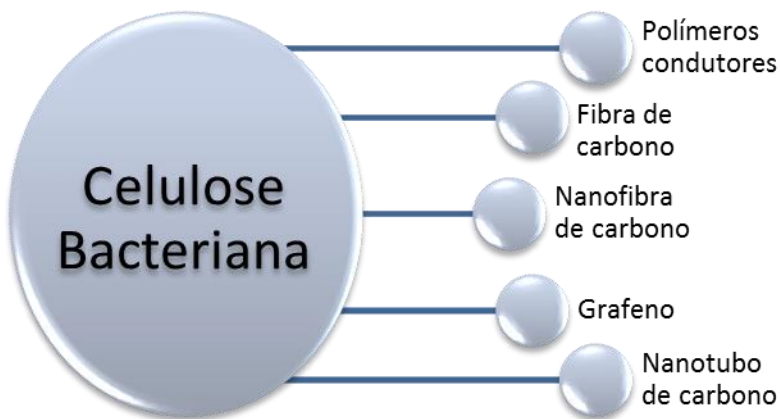
Materiais compósitos são formados pela junção de duas ou mais fases que possuem propriedades diferentes, mantendo suas características físicas e químicas originais. Entende-se como matriz uma fase contínua, sendo a maior fração volumétrica (polímero, metal ou cerâmica) e carga ou reforço, a fase contínua, sendo a menor fração volumétrica (granular, fibrosa ou lamelar). Quando unidos, devido a presença de uma interface entre os dois, exibem uma combinação de propriedades mecânicas que permitem características exclusivas e que não são encontradas por nenhum dos componentes que o constituem. Entende-se aqui que a interface é uma superfície formada por uma fronteira comum entre o reforço e a matriz, que se encontra em contato, e que permite a

transferência de carga entre tais componentes. Os nanocompósitos são uma classe de materiais que englobam quantidades de até 5% de nanoestruturas como a fase dispersa (Chawla, 1998; Khandelwal et al., 2018).

#### 2.4.1 Nanocompósito eletrocondutor à base de celulose bacteriana.

A celulose bacteriana vem ganhando espaço em vários campos de aplicação, especialmente na fabricação de compósitos eletrocondutores. A Figura 7 destaca alguns materiais que utilizam a CB como suporte para produção de nanocompósito, visto em diversos trabalhos (Guo et al., 2016; Hu et al., 2011; Huang et al., 2016; Mashkour, Rahimnejad e Mashkour, 2016; Park et al., 2013). Devido ao seu baixo custo, renovabilidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade, as membranas BC têm atraído grande atenção na produção em escala industrial através do processo de fermentação microbiana para a aplicação versátil especialmente em célula de combustível, bateria iônica, supercapacitores flexíveis e outros dispositivos eletroquímicos (Chen et al., 2016).

Figura 7 – A celulose bacteriana e seus usos como suporte para produção de nanocompósitos eletrocondutores.



Fonte: Autora (2018).

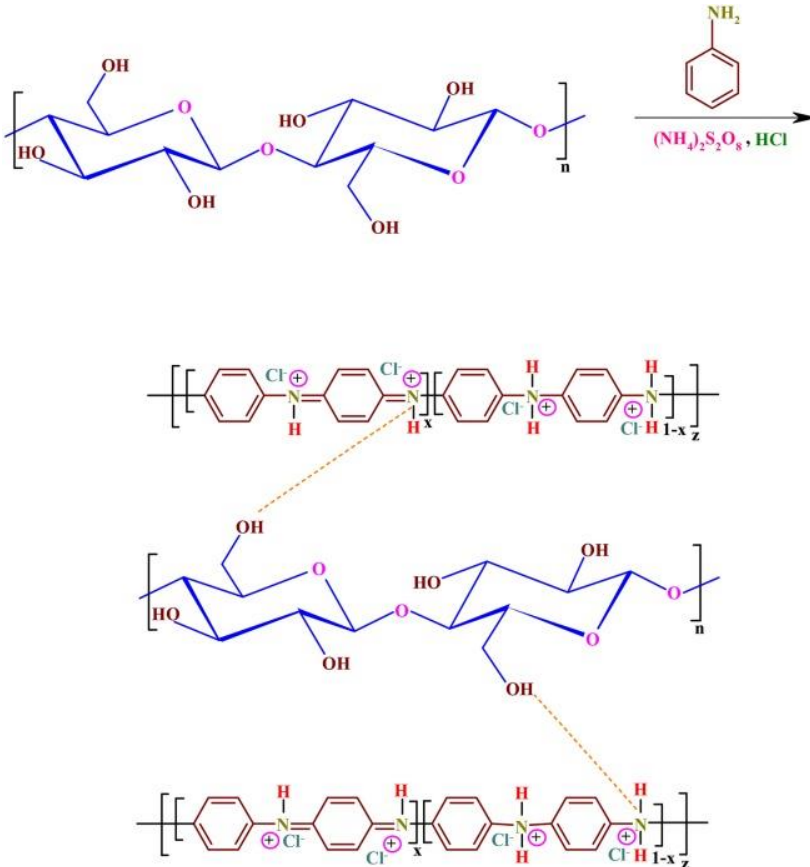
O nanocompósito de CB/PANI/Grafeno combina as vantagens condutoras da PANI e grafeno (GN) com a CB como suporte e com rede regular de poros interconectados. A porosidade não somente facilita o

transporte de elétrons, como também a dispersão de íons em toda a rede interconectiva (Liu et al., 2017). Nanocompósitos biodegradáveis incorporados com PANI mostram excelentes aplicações em vários campos, como em tratamento de água, aplicações biomédicas e engenharia de tecidos e CCM juntamente com eletrodos modificados (Shahadat et al., 2017).

Com isso, a produção de nanocompósitos com polímeros biodegradáveis e condutores atraiu muito interesse, além da sua capacidade de processo de fácil obtenção e economicamente viável. Suas propriedades físico-químicas únicas, mais o aumento da condutividade elétrica, propriedades mecânicas aprimoradas (rigidez e resistência), potencialidades para uso em sensores e, também, apresentarem propriedades magnéticas, têm despendido esforços consideráveis, a fim de preparar um nanocompósito sensibilizado por polímeros intrinsecamente condutores, como a PANI. Uma variedade de materiais poliméricos, com propriedades físicas excelentes, foi utilizada como bons suportes para PANI, como borracha, plástico, têxtil e a celulose (Lee et al., 2012; Mashkour, Rahimnejad e Mashkour, 2016; Shahadat et al., 2017).

Para o nanocompósito de CB/PANI, a rota de síntese mais utilizada é por método de polimerização por oxidação química *in situ*, onde a Figura 8 mostra o esquema da síntese para a produção do nanocompósito CB/PANI, utilizando uma solução de ácido clorídrico (HCl), anilina, CB e persulfato de amônia (Abbasian, Niroomand e Jaymand, 2017).

Figura 8 – Síntese do nanocompósito de CB/PANI.



Fonte: Adaptada com permissão de Abbasian, Niroomand e Jaymand (2017).

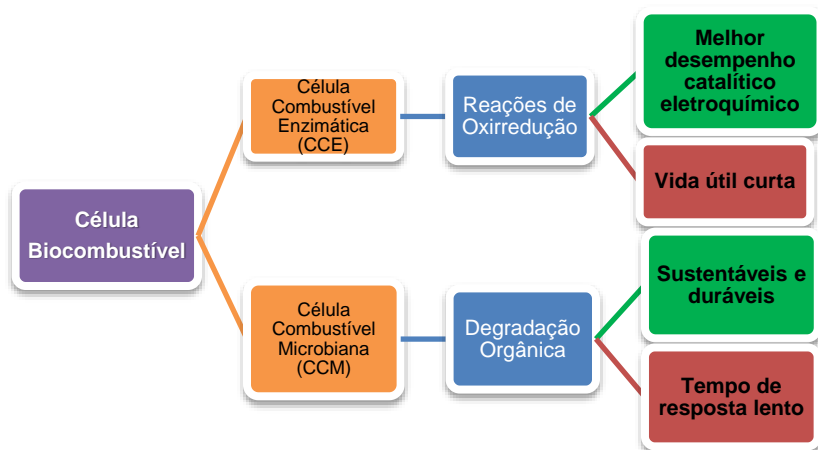
## 2.5 CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIANA

Diferentes áreas do conhecimento buscam desenvolver novas tecnologias para dar utilidade aos rejeitos de biomassa e detritos em geral, atendendo também às crescentes necessidades globais de energia. Partindo desses trabalhos, surgem três questões principais: a ambiental, a econômica e a tecnológica a fim de suprir as demandas crescentes de energia (Rachinski, Carubelli, Mangoni, *et al.*, 2010). Com isso, o desenvolvimento de células biocombustíveis são mostradas na Figura 9, apresentado suas vertentes e vantagens e desvantagens operacionais, nas



quais vem ganhando destaque em diversas pesquisas (Chawla *et al.*, 2009; Du, Li e Gu, 2007; LOGAN, 2008; Logan e Regan, 2006; Pant *et al.*, 2010).

Figura 9 – Esquema de célula biocombustível para produção de energia através de célula combustível enzimática (CCE) e célula combustível microbiana (CCM).

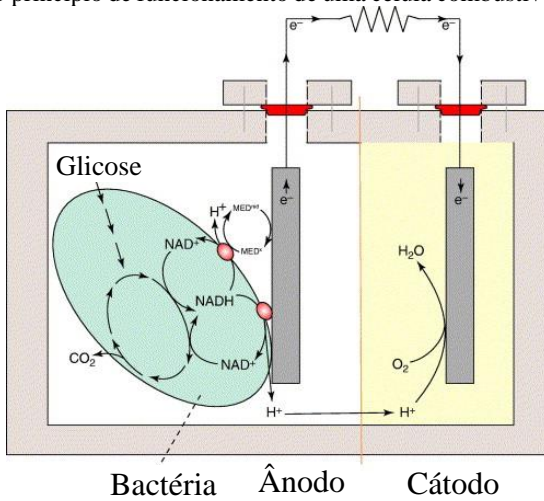


Fonte: Autora (2018).

A CCM por serem consideradas inovadoras e ambientalmente amigáveis, possuem vantagens em relação as CCE. Além de serem sustentáveis, utilizam material orgânico como combustível, podendo auxiliar no processo de tratamento de resíduos orgânicos, (Li et al., 2011; Yu et al., 2015). A CCM consiste em um biorreator que permite a geração de energia através do uso de micro-organismos, utilizando um processo de degradação natural da matéria orgânica (Rachinski, Carubelli, Mangoni, *et al.*, 2010). Ou seja, são dispositivos que convertem energia química armazenada em materiais biodegradáveis de águas residuais para energia elétrica usando micro-organismos como biocatalisadores (Pant et al., 2010).

As CCM são definidas como sistemas capazes de realizar a conversão de energia elétrica através da vias bioquímicas, conforme ilustrado na Figura 10.

Figura 10 – O princípio de funcionamento de uma célula combustível microbiana.

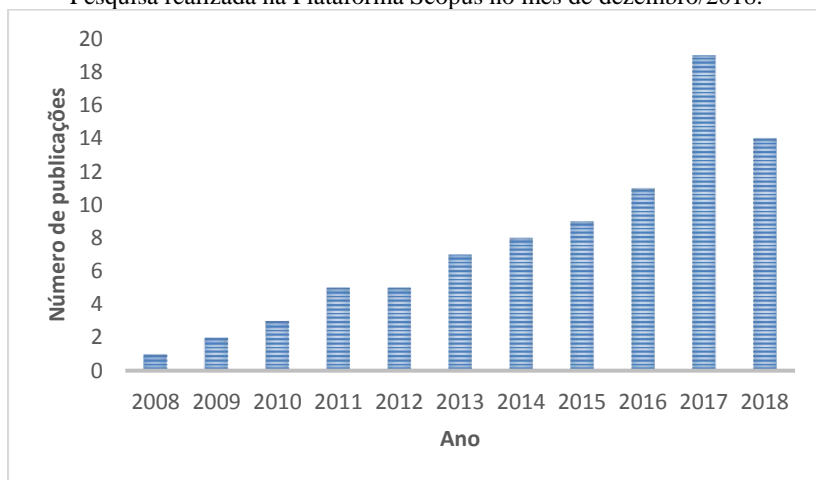


Fonte: Adaptada com permissão de Rabaey e Verstraete (2005).

A CCM utiliza um substrato disponível, como a glicose, para converter em energia elétrica. O processo ocorre quando as bactérias trocam do receptor de elétrons natural, como oxigênio ou nitrato, para um aceptor insolúvel, operando como o ânodo de uma CCM. Essa transferência pode ocorrer tanto por meio de componentes associados à membrana, quanto por meio de transporte de elétrons. Os elétrons fluem através de um resistor para um cátodo, no qual o aceptor de elétrons é reduzido. Em contraste com a digestão anaeróbica, uma CCM cria corrente elétrica e um gás que contém principalmente dióxido de carbono (Rabaey e Verstraete, 2005).

Na Figura 11 apresenta-se o número de publicações científicas encontradas no período de 2008 a 2018, utilizando AS palavras-chave *Microbial Fuel Cell and electrode and polyaniline* na plataforma Scopus.

Figura 11 – Número de publicações relacionadas à CCM, eletrodo e polianilina Pesquisa realizada na Plataforma Scopus no mês de dezembro/2018.



Fonte: Autora (2018).

O aumento significativo em publicações ligadas a CCM deve-se a preocupação recente quanto o uso de recursos renováveis.

No entanto, as aplicações reais para CCM estão limitadas devido ao seu baixo nível de densidade de potência. Porém há esforços para melhorar o seu desempenho e reduzir os custos de construção e operação, principalmente no desenvolvimento de novos eletrodos, discutidos nas seções seguintes.

### 2.5.1 Projeto e operacionalidade da CCM

A tecnologia de CCM tem chamado a atenção da comunidade científica para a possibilidade de transformar resíduos orgânicos diretamente em eletricidade através de reações eletroquímicas catódicas, anódicas e microbianas/enzimáticas/abióticas (Santoro et al., 2017).

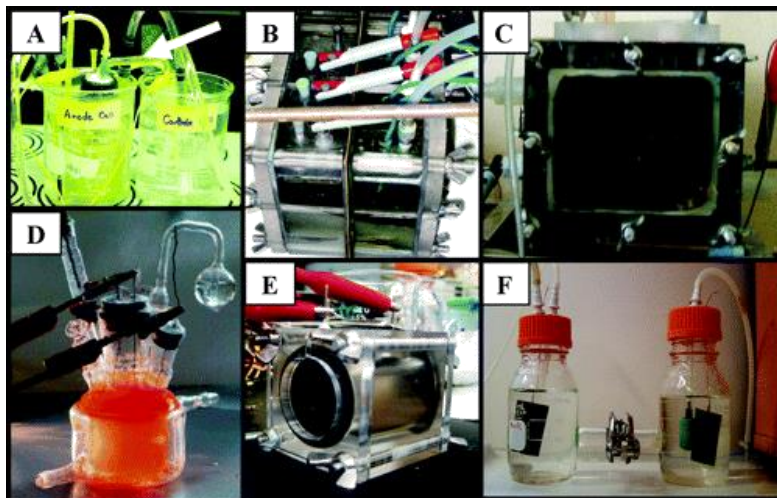
As CCM são construídas utilizando uma variedade de materiais e configurações. Esses sistemas são operados sob uma gama de condições que incluem diferenças de temperatura, pH, acceptor de elétrons, áreas de superfície do eletrodo, tamanho do reator e tempo de operação (Du, Li e Gu, 2007; Recio-Garrido, Perrier e Tartakovsky, 2016; Ucar, Zhang e Angelidaki, 2017). Potenciais elétricos são relatados com diferentes estados de referência e, às vezes, apenas sob um único resistor. O modelo

de CCM mais difundido é do tipo de duas câmaras, no formato “H”, conforme mostra a Figura 12 (f).

No modelo em formato “H”, geralmente são utilizadas duas garrafas conectadas por um tubo contendo uma membrana de troca iônica, geralmente Nafion® ou ponte salina simples. Esta membrana permite a passagem de prótons entre as câmaras. Os sistemas em forma de H são aceitáveis para a pesquisa de parâmetros básicos, como para verificar a produção de energia usando novos materiais ou tipos de comunidades microbianas que surgem durante a degradação de compostos orgânicos específicos, mas essas configurações geralmente produzem baixas densidades de potência (Logan et al., 2006).

A energia que pode ser gerada em uma CCM depende dos processos biológicos e eletroquímicos, onde alguns parâmetros definem o desempenho das CCM, especificados a seguir, segundo Rabaey e Verstraete (2005), como: Taxa de conversão do substrato; superpotencial do eletrodo; sobretensões do cátodo; desempenho da membrana trocadora de prótons e, por fim, a resistência interna do CCM. Assim, na busca da otimização das CCM, foram criados outros modelos que são vistos na Figura 12.

Figura 12 – Tipos de CCMs utilizados em estudos: (A) Sistema de fácil construção contendo uma ponte salina (mostrada pela seta); (B) quatro CCMs tipo lote onde as câmaras são separadas pela membrana (sem tubo) e mantidas juntas por parafusos; (C) mesmo que (B), mas com um ânodo de fluxo contínuo (matriz granular de grafite) e posicionamento próximo anódico-catódico; (D) tipo CCM fotoheterotrófico; (E) câmara única, sistema de catodo de ar em um simples arranjo de “tubo”; (F) sistema de duas câmaras tipo H mostrando câmaras de anodo e cátodo equipadas para aspersão de gás.



Fonte: Com permissão de Logan et al (2006).

Diversas variações nesses projetos básicos surgiram em um esforço para aumentar a densidade de potência ou fornecer fluxo contínuo através da câmara anódica. Para construção de uma CCM, as suas componentes são, basicamente, ânodo, cátodo, membrana trocadora de prótons e micro-organismos exoeletrogênicos (Logan, 2009), que serão melhores descritas a seguir.

### 2.5.2 Construção de uma CCM

Segundo Logan et al. (2006), para construção de uma CCM são necessários os seguintes materiais:

- I. **Ânodo:** Por ser um material que fica em contato com os micro-organismos deve ser biocompatível, condutivo e quimicamente estável na solução do reator. Pode ser

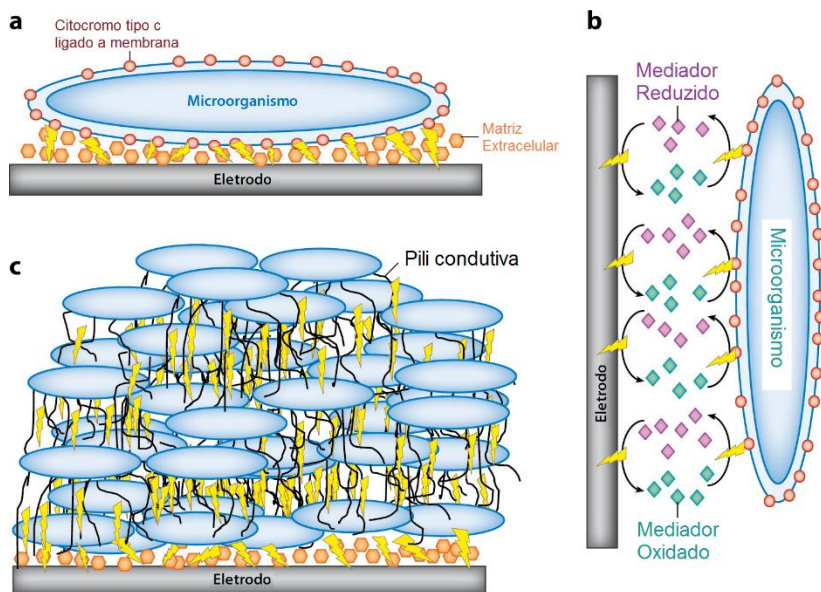
metálico, porém o cobre deve ser evitado, devido à toxicidade dos íons de cobre para as bactérias. Os materiais anódicos mais utilizados são o carbono em suas diferentes formas (feltro, tecido, placa, entre outros), porém muitos trabalhos apresentam novos materiais (Mashkour, Rahimnejad e Mashkour, 2016; Wang et al., 2012).

- II. *Cátodo*: O material catódico se assemelha ao do ânodo, com exceção da acomodação bacteriana, uma vez que não é usual possuir bactérias no cátodo. Como receptor de elétrons na câmara catódica, tem-se o hexacianoferrato de potássio ( $K_3[Fe(CN)_6]$ ), sendo o catalisador mais utilizado. Com isso devido à disponibilidade de um bom receptor de elétrons em altas concentrações, permite o aumento da densidade de potência.
- III. *Membrana de Troca de Próton (MTP)*: Como a maioria dos projetos para construção de uma CCM exige uma separação do ânodo e dos compartimentos catódicos, a membrana mais utilizada é o Nafion® (Dupont Co., EUA), disponível por vários fornecedores. No entanto, há alternativas ao Nafion® como desenvolvimento de novas MTP, pois o mercado para este tipo de material está em constante crescimento e mais estudos sistemáticos são necessários para avaliar o efeito da membrana no desempenho e na estabilidade a longo prazo.
- IV. *Micro-organismos utilizados em uma CCM*: Os micro-organismos utilizados em uma CCM são catalisadores de reação de oxidação da matéria orgânica capazes de converter energia química em energia elétrica. Algumas espécies bacterianas tais como *Shewanella putrefaciens*, *Geobacter sulfurreducens*, *Geobacter metallireducens*, *Rhodospirillum rubrum*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Streptomyces platensis* são normalmente encontradas em sedimentos marinhos ou fluviais, como também em esgoto doméstico. Estas bactérias são normalmente utilizadas em CCM.

### 2.5.3 Mecanismo de transferência de elétrons e mediadores químicos

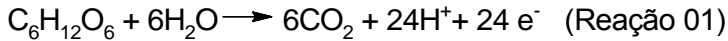
As transferências de elétrons do micro-organismo para o ânodo ocorrem por três mecanismos: transferência direta das enzimas respiratórias (citocromos) para o eletrodo, através de mediadores externos à célula, introduzidos no meio em que os micro-organismos se encontram (hexacianoferrato de potássio, tionina), e ainda mediadores produzidos pela própria bactéria (Rachinski, Carubelli, Paula, et al., 2010), conforme ilustrado na Figura 13.

Figura 13 – Mecanismo de transferência de elétrons: a) transferência direta das enzimas respiratórias (citocromos) para o eletrodo, b) por mediadores externos à célula, c) transporte de elétrons de longo alcance através do biofilme bacteriano



Fonte: Com permissão Lovley (2012).

Os micro-organismos em uma CCM oxidam compostos orgânicos presente no meio de cultivo ou em efluente, resultando na produção de elétrons que percorrem uma série de enzimas respiratória do micro-organismo para a produção de energia celular na forma ATP (Fung, 2016). A reação do processo de oxidação da glicose gerando  $\text{CO}_2$ , prótons e elétrons é dada pela reação 01:



As CCM utilizam este processo natural de produção de elétrons para a “captura” deles direcionando-os para os eletrodos. Portanto, os materiais utilizados nos eletrodos precisam ser, além de ser bons condutores, biocompatíveis para servirem de suporte para os micro-organismos.

#### **2.5.4 Avaliação do ciclo de vida da CCM em estações de tratamento de águas residuais**

Novas tecnologias emergentes de tratamento de águas residuais, como as CCM, foram introduzidas em estações de tratamento de águas residuais (ETAR). Com avaliação de ciclo de vida (ACV) é possível identificar uma tecnologia ideal para o desenvolvimento de futuras ETAR economicamente e ambientalmente amigáveis. Segundo Pant et al. (2011) a ACV é uma abordagem universalmente aceita para determinar as consequências ambientais de um determinado produto em todo ciclo de produção. Com a ACV é possível definir e reduzir os encargos ambientais de um produto, processo ou atividade. Além disso, identifica e quantifica o uso de energia e materiais, bem como descarte de resíduos e seu impacto no ambiente. Por fim, avalia oportunidade de melhorias ao longo do ciclo de vida. A análise do ciclo de vida de CCM é algo novo e que ainda há muito campo para pesquisa.

Em destaque o trabalho de Rashidi et al. (2018), que compara o método atual utilizado em ETAR com métodos emergentes (sistemas bioeletroquímicos). Mesmo que o método atual ainda tenha um custo menor comparado com novos métodos<sup>8</sup> quando calculados os custos operacionais, os custos de tratamento de lodo, o consumo de energia e o rendimento de energia e produção de H<sub>2</sub>, constataram que os processos utilizando CCM foram os sistemas mais ecologicamente corretos nos estágios de construção e operação, respectivamente. Com isso, os autores esperam que o método proposto possa ser usado para avaliar e comparar os impactos ambientais e econômicos das tecnologias de tratamento de águas residuais existentes e emergentes.

#### **2.5.5 Desafios para aperfeiçoamento de eletrodos para CCM**

Pesquisas sobre o desenvolvimento de eletrodos, na busca de soluções para aumentar a potência e eficiência das CCM, têm sido recorrentes (Dutta e Kundu, 2014). Para esses eletrodos, alguns requisitos



são desejáveis como: alta condutividade, não corrosivo, não tóxico para os micro-organismos, alta porosidade, não incrustante, grande área superficial, dimensionado em diversos tamanhos e barato.

Eletrodos construídos de materiais de carbono são os mais tradicionais e bastante utilizados em estudos com CCM, principalmente devido ao seu baixo custo, excelente condutividade elétrica e estabilidade química (Logan, 2008).

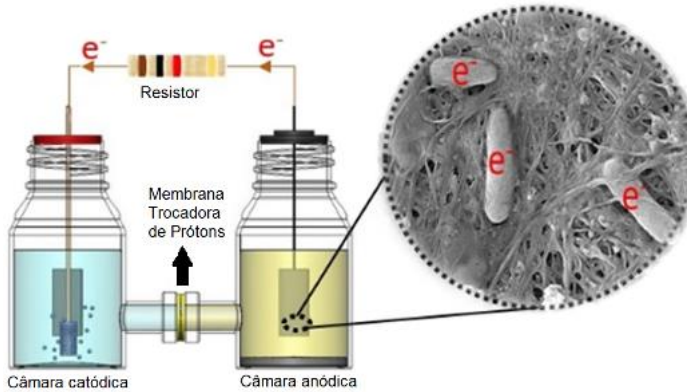
Schröder, Nießen e Scholz (2003) apresentaram um novo ânodo com o objetivo de elevar o limite de geração de eletricidade microbiana em mais uma ordem de grandeza, modificando o projeto do eletrodo e geração de eletrodo com aplicação *in situ*.

Zhao et al. (2010) desenvolveram um material nanocompósito poroso de feltro de grafite e polianilina usado como ânodo de uma CCM, resultando em um aumento de ordem de magnitude na energia de saída. Lai et al. (2011) relataram uma abordagem para melhorar a geração de energia de CCM usando um ânodo de tecido de carbono modificado com polianilina dopada com  $H_2SO_4$ . Gnana Kumar et al. (2014) elaboraram uma nova proposta de catalisadores para ânodo de CCM, utilizando as nanopartículas de platina (Pt) ancoradas sobre compostos de óxido de grafeno reduzido (rGO) e PANI. Zhang et al. (2014) teve como objetivo melhorar as propriedades elétricas do CCM preparando um novo tipo de material de eletrodo com grafite de turmalina /polianilina revestido.

O uso da biomassa para produção de hidrogênio e a preocupação com o meio ambiente se tornam evidentes nos trabalhos de (Jeon e Kim, 2016; Li et al., 2015; Mashkour, Rahimnejad e Mashkour, 2016), bem como encontrar materiais alternativos que substituam metais nobres, como a platina (Yang et al., 2015; Yu et al., 2015).

Destaque para o trabalho de Mashkour, Rahimnejad e Mashkour (2016) ,qual produzem um nanobiocompósito de CB com PANI como um ânodo para uma célula combustível microbiana. A Figura 14 apresenta a configuração de dupla câmara utilizada neste estudo e a interação das bactérias no ânodo.

Figura 14 – Exemplo de uma CCM de câmara dupla.



Fonte: Adaptada com permissão de Mashkour, Rahimnejad e Mashkour (2016).

Conforme citado anteriormente, a CB na forma de hidrogel permite a transferência permanente e homogênea de nutrientes para o biofilme microbiano e fornece condições favoráveis para a colonização de bactérias e evita, também, a deterioração. A PANI fornece a condutividade elétrica adequada. Por ser um condutor poroso, existe a possibilidade de facilitar a transferência de elétrons das bactérias para o circuito externo. Para este estudo, quatro diferentes concentrações de anilina foram aplicadas na fabricação dos compósitos, onde os resultados apresentaram adesão das bactérias na superfície do eletrodo, sendo assim um material biocompatível com os micro-organismos presentes no ânodo. Por fim, os autores (Fung, 2016; Liu et al., 2017; Mashkour, Rahimnejad e Mashkour, 2016) sugerem que este ânodo poderá ser aprimorado em novas pesquisas e ser usado em várias configurações de CCM.

## CAPÍTULO 3. MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 PREPARAÇÃO DOS ELETRODOS CB/PANI, CB/FC e CB/FC/PANI

#### 3.1.1 Produção de membranas de CB

A bactéria *Komagataeibacter hansenii* ATCC 23769, obtida da Fundação André Tosello, foi utilizada para a produção de membranas de celulose.

O meio de cultivo utilizado para produção de membranas de CB teve a seguinte composição: glicerol ( $25 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), extrato de levedura ( $5,0 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) e peptona ( $3,0 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ ). O cultivo foi realizado em frasco Erlenmeyer de 125 ml contendo 20 ml de meio de cultivo, previamente esterilizado em autoclave a  $121^\circ\text{C}$  por 20 minutos. O preparo do meio de cultivo foi 20% (v/v) de um inóculo de uma cultura estoque de *K. hansenii* e mantido sob condições estáticas, a  $30^\circ\text{C}$ , durante cinco dias.

Após este período, a película formada pelas bactérias foi submetida a um tratamento para remover as impurezas e resíduos contaminantes. As películas foram retiradas, lavadas com água filtrada e imersas em uma solução aquosa de NaOH, 0,1 M por 24 horas, à  $60^\circ\text{C}$ . A seguir, as películas foram submetidas a lavagem com água destilada até sua neutralização. Posteriormente, foram armazenadas em água destilada sob refrigeração para os ensaios futuros.

#### 3.1.2 Produção do nanocompósito CB/FC

O processo de produção do nanocompósito CB/FC seguiu o procedimento adotado para produzir as membranas de CB descrito no item 3.1.1. Porém, neste caso foi acrescentado ao meio de cultivo amostras de 2 cm por 2 cm de FC, em formato de tecido tramado (Texiglass Indústria e Comércio Têxtil LTDA, Vinhedo – SP).

#### 3.1.3 Produção do nanocompósito CB/PANI e CB/FC/PANI

Para a obtenção do nanocompósito CB/PANI e CB/FC/PANI foi realizada a polimerização da PANI nas nanofibras de membranas de CB. Para isto, foi utilizada a abordagem de polimerização química oxidativa *in situ*, conforme (Abbasian, Niroomand e Jaymand, 2017). Em frascos Erlenmeyer de 250 ml foram adicionados, separadamente, amostras de

membranas de CB e o nanocompósito CB/FC em 50 ml de solução aquosa de HCl 1 M com 80 µl de anilina (grau analítico, NEON, destilada). O sistema foi colocado em um agitador orbital a 130 rpm, por 1 hora e temperatura ambiente (~25 °C). Em um recipiente separado, 50 mg de persulfato de amônia (PSA) (grau analítico, NEON) diluído em 10 ml de HCl 1M e posteriormente foi acrescentado na suspensão com as amostras de membranas de CB, o nanocompósito CB/FC e a anilina. A mistura foi novamente agitada a 130 rpm, por 1 hora e 30 min. Após 1 hora de agitação já foi possível observar uma coloração verde-escuro. Ao fim do tempo de reação os nanocompósitos CB/PANI e CB/FC/PANI obtidos foram retirados da suspensão e lavados com água destilada até neutralização e armazenado em água destilada sob refrigeração. O mesmo procedimento foi adotado para concentração de HCl para 0,5M.

## 3.2 CARACTERIZAÇÃO

A caracterização dos materiais desenvolvidos foi realizada considerando os seguintes aspectos: morfologia, composição química, propriedades térmicas e propriedades elétricas, que estão detalhadas a seguir.

### 3.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura

Os eletrodos de CB/PANI e CB/FC/PANI foram retiradas da câmara anódica da CCM, sendo previamente tratados para observações no MEV com tampão fosfato-salino (PBS) e as células bacterianas foram fixadas com paraformaldeído 4% durante 30 minutos. Posteriormente, as amostras de CB, CB/PANI e CB/FC/PANI foram liofilizadas a -55 °C. As amostras foram colocadas sobre um suporte de alumínio e recobertas com ouro.

Para analisar a morfologia da micro e nanoestrutura das amostras de CB, dos nanocompósitos CB/PANI e CB/FC/PANI e do biofilme microbiano formado no eletrodo do ânodo foram realizadas observações por microscopia eletrônica de varredura (MEV), da marca JEOL JSM-6390LV realizado pelo Laboratório Central de Microscopia Eletrônica – LCME - UFSC.

### 3.2.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

O ensaio por FTIR foi empregado para confirmar a presença da PANI nas membranas de CB. Este ensaio mede a capacidade que determinada substância tem para absorver, transmitir, ou refletir a radiação infravermelha de uma ligação covalente. A energia medida é apresentada em um espectro de transmissão ou de absorção. A partir dos espectros pode-se interpretar os tipos de ligações químicas presentes através das bandas de transições. Nos materiais compósitos pode-se identificar seus constituintes por FTIR quando se utiliza corretamente as diferentes técnicas de preparação de amostras (Dutra, Takahashi e Diniz, 1995).

Para determinar a composição química as amostras de CB e do nanocompósito CB/PANI foram analisadas por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) para identificação dos grupos funcionais. Os espectros no infravermelho foram obtidos em espectrômetro Perkin Elmer Frontier (Laboratório de Análises Instrumentais II – Univille) equipado com um acessório de amostragem ATR universal para amostras sólidas na faixa de número de onda entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 2  $\text{cm}^{-1}$ .

### **3.2.3 Difração de Raios X (DRX)**

A análise dos difratogramas de raios X permite a identificação de planos de difração, tamanhos de cristais, cálculo da porcentagem de cristalinidade. Esta técnica amplamente utilizada na caracterização de materiais cristalinos e baseia-se na difração de fótons de raios X por átomos que se dispõem numa distribuição periódica no material.

Os ensaios foram realizados para verificação de fases amorfas e cristalinas. O que constitui uma série de características próprias de cada substância cristalina são os números de picos, a intensidade e respectiva posição, da qual cada material apresenta um conjunto específico de distâncias interplanares. Por isso, é possível confirmar a presença de determinada fase cristalina por comparação com padrões publicados. Neste trabalho, a DRX foi utilizada para avaliar o grau de cristalinidade de CB e do nanocompósito CB/PANI.

### **3.2.4 Análise Termogravimétrica (TG)**

A técnica de TG possibilita determinar a variação de massa de uma amostra durante o seu aquecimento a uma certa velocidade. Para realizar o ensaio as amostras foram colocadas em um suporte ligado através de um braço a uma balança de precisão capaz de medir variação na ordem

de microgramas. Tanto a amostra como o braço é colocada dentro de um forno de modo que a balança registra as oscilações da massa sofridas na medida que a temperatura vai variando. Os picos endotérmicos, associados a decomposição da amostra, refletem-se no resultado da TG como perdas de massa quantificáveis, que são registradas em curvas termogravimétricas de massa da amostra em função da temperatura ou do tempo.

A estabilidade térmica das amostras de CB e do nanocompósito CB/PANI foi estudada usando um TGA-Q50, TA Instruments, sob atmosfera inerte de nitrogênio. Todas as amostras foram secas em estufa a vácuo a 70 °C para remover a umidade. Em seguida, as amostras com massa de 10 mg foram aquecidas em atmosfera inerte sob fluxo de gás de 30 mL·min<sup>-1</sup> entre 25 a 900 °C, a uma taxa de aquecimento de 20 °C · min<sup>-1</sup>. O ensaio de TG foi realizado no Laboratório de Análises Instrumentais II – Univille.

### 3.2.5 Caracterização elétrica dos nanocompósitos

A condutividade é uma medida de condução elétrica e, portanto, uma medida da capacidade de um material passar uma corrente (Guimard, Gomez e Schmidt, 2007). Para determinar as propriedades elétricas dos nanocompósitos foram realizados dois métodos: resistência elétrica utilizando o multímetro e monitoramento em uma célula combustível microbiana.

Através do multímetro é possível determinar alguns resultados preliminares em relação à condutividade do material. Desta forma, para determinar a resistência elétrica do material, seleciona-se na escala do Ohmímetro, que pode ser utilizado para identificar um circuito aberto ou um curto-circuito. Baseia-se pela lei de Ohm, para determinar a resistência precisa de uma passagem de corrente fornecida pelo instrumento. Assim, mede-se a tensão dos terminais e, por fim, obtém-se o valor da resistência elétrica.

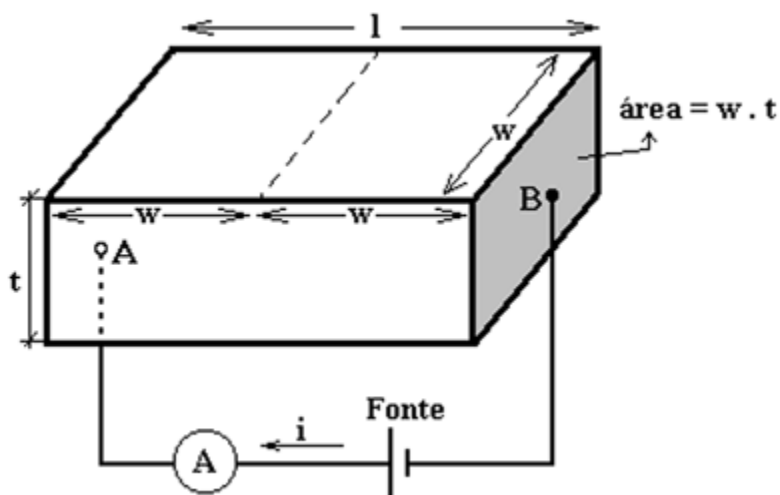
#### 3.2.5.1 Método de duas pontas para medida da resistividade de um material

Para esse método é necessário, com precisão as dimensões do material, para assim, fazer uma medida direta de sua resistividade elétrica medindo-se a diferença de potencial e corrente elétrica que flui através da amostra.

No entanto, para estudar fenômenos elétricos localizados em um ponto específico da amostra, analisa-se o campo elétrico e a densidade de

corrente elétrica no ponto em questão. Em um condutor sujeito à ação de um campo elétrico DC, os portadores de carga fluem na direção deste campo (Giroto e Santos, 2002). Portanto, pode ser definido a densidade de corrente elétrica nesse condutor como  $J = i/A$ , sendo  $A$  a área da seção transversal do condutor como mostra a figura 15.

Figura 15 – Representação esquemática de um material condutor de dimensões  $(w, l, t)$ .



Fonte: Giroto e Santos, 2002

A partir das definições de densidade de campo elétrico e corrente elétrica, segue:

$$\rho = \frac{VA}{il} \quad 3.1$$

Este método é indicado apenas para materiais que possuem resistividade elétrica alta, podendo ser determinada assim a condutividade elétrica ( $\mu$ ), onde  $\rho$  representa a resistividade elétrica, que é uma grandeza intrínseca do material analisado.

$$\mu = \frac{1}{\rho} \quad 3.2$$

A resistividade elétrica volumétrica, de amostras dos nanocompósitos desenvolvidos, foi medida através do método padrão duas pontas, utilizando-se os equipamentos da Keithley Instruments, eletrômetro modelo 6517B *Electrometer/High Resistance Meter* acoplado a um acessório para medidas de altas resistividades Keithley modelo 8009 *Resistivity Test Fixture*.

### 3.3 CONSTRUÇÃO DE UMA CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIANA (CCM)

Neste trabalho foi construída uma CCM de duas câmaras. Foram utilizados dois frascos de vidro de 250 ml, em vidro borossilicato, tipo Shott. Os frascos foram interligados por um canal, separados por uma membrana trocadora de prótons de Nafion® 115 (Fuel Cell Store, Texas, EUA). Inicialmente, utilizou-se como eletrodo anódico somente fibra de carbono (Fuel Cell Store, Texas, EUA). O eletrodo catódico consistiu de tecido de carbono com  $0,5 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-2}$ . O cátodo e ânodo foram interligados a um resistor de  $1000 \Omega$  através de um fio de titânio de 0,5 mm. No compartimento anódico foi utilizado o meio de cultivo descrito na Tabela 3 para o crescimento das bactérias exoeletrogênicas e no compartimento catódico utilizou-se uma solução de hexacianoferrato de potássio ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) 50 mM em tampão fosfato.

#### 3.3.1 Micro-organismo e meio de cultivo

A bactéria *Escherichia coli* (ATCC 25992), nível de biossegurança 1, foi utilizada neste experimento. A manutenção da bactéria foi realizada em meio LB (Luria-Bertani) (Tabela 2).

Tabela 2 - Meio de cultivo LB líquido.

Reagentes	$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
Triptona	10,0
Extrato de levedura	5,0
NaCl	10,0



Para o crescimento bacteriano, no compartimento ânodo, utilizou-se o meio de cultivo descrito na Tabela 3. A glicose foi utilizada como fonte de carbono e doadora de elétrons.

Tabela 3 – Meio de cultivo utilizado para o crescimento da *E. coli* na CCM.

<b>Componentes</b>	<b>g.l<sup>-1</sup></b>
Triptona	10,0
Extrato de levedura	5,0
Glicose	10,0
NaCl	10,0

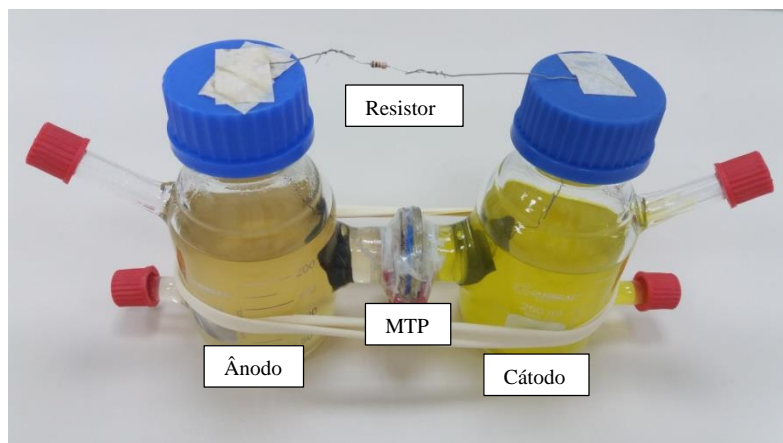
Fonte: Autora (2018).

Os componentes listados na Tabela 3 (exceto glicose) foram adicionadas em água destilada sob agitação. O pH foi ajustado para 7,0 com NaOH 5M. A glicose foi preparada separadamente, na concentração de 100 g.l<sup>-1</sup>. Cada uma das soluções foi esterilizada em autoclave. Por fim, o meio de cultivo foi autoclavado por 20 minutos a 120 °C.

### 3.4 MONITORAMENTO DA CCM

O monitoramento da célula a combustível foi realizado utilizando-se um multímetro (marca Minipa ET1002) ligado em série entre os eletrodos (Figura 16). Diariamente realizaram-se as medidas de diferença de potencial elétrico. Os valores obtidos foram armazenados em uma planilha Excel para análises futuras.

Figura 16 – Configuração da célula de combustível microbiana, em forma de "H", construída para o monitoramento do desempenho de um eletrodo constituído de fibra de carbono.



Fonte: Autora (2018).

Os eletrodos retirados do compartimento anódico foram lavados com tampão fosfato e submetidos a um tratamento com paraformaldeído 4% (Sigma) durante 30 minutos para fixar as bactérias no material e liofilizados para posterior observação no MEV.

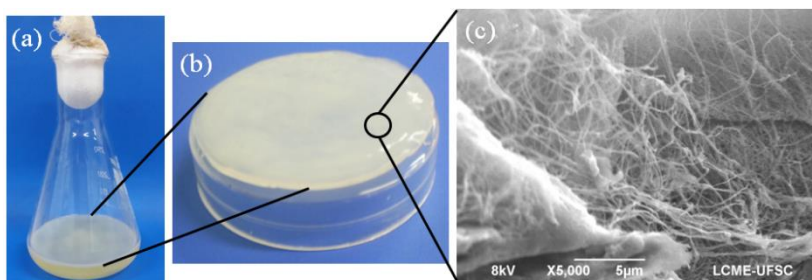
## CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 PREPARAÇÃO DOS ELETRODOS CB/PANI, CB/FC e CB/FC/PANI

#### 4.1.1 Nanocompósito CB/PANI

Para a produção do nanocompósito CB/PANI, primeiramente, foram sintetizadas membranas na forma de hidrogéis de CB. O glicerol foi utilizado como fonte de carbono para o desenvolvimento bacteriano e biossíntese de CB. Optou-se pelo glicerol por se tratar de um substrato em abundância e resíduo da produção de biodiesel. Após o período de cultivo, o hidrogel formado na superfície do meio de cultivo foi purificado para eliminar as bactérias e resíduos. Para observar a microestrutura através de MEV, o hidrogel foi liofilizado. A liofilização é um processo de desidratação em que o produto é congelado sob vácuo e o gelo formado é sublimado. Dessa forma, é possível observar a microestrutura do hidrogel. A Figura 17 (a) mostra a película que forma na superfície do meio de cultivo, consiste em um hidrogel formado por nanofibras de celulose, em (b) tem-se uma membrana de CB, na forma de hidrogel, após o processo de purificação e em (c) mostra uma micrografia do MEV obtida de observações da membrana de CB seca por liofilização. Como pode ser visualizada na micrografia a microestrutura da membrana de CB consiste em uma rede tridimensional entrelaçada, porosa, de nanofibras de celulose.

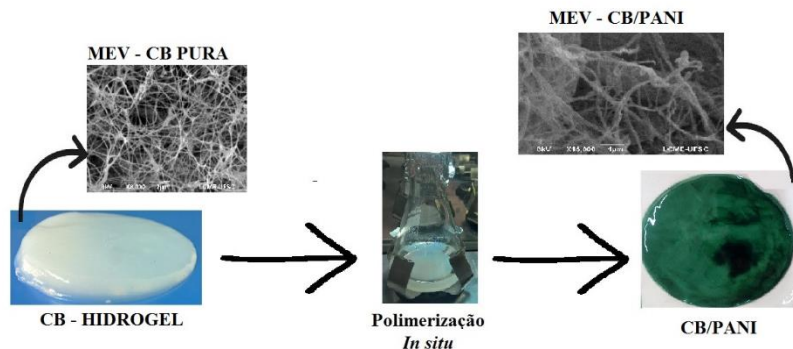
Figura 17 – Película gelatinosa de CB sintetizada por *K. hansenii*, (a). Membrana de CB na forma de hidrogel, após purificação (b). Micrografia do MEV de uma membrana de CB liofilizada (c).



Fonte: Autora (2017).

Na sequência foi realizada a síntese da PANI nas nanofibras da membrana de CB, conforme ilustra a Figura 18. A membrana de CB foi imersa em uma solução de anilina. No início do processo o monômero da anilina é adsorvido na superfície das nanofibras de celulose. Ao acrescentar o oxidante PSA, iniciou-se o processo de polimerização *in situ* da anilina nas nanofibras, que atuam como suporte para o crescimento dos grânulos da PANI, fornecendo uma deposição homogênea das nanopartículas na membrana de CB. Este procedimento foi baseado em pesquisas realizadas por Zhou et al. (2017). Conseqüentemente, em regiões onde há uma maior concentração de fibras é possível verificar uma maior quantidade de PANI.

Figura 18 - Ilustração do processo de preparação do nanocompósito CB/PANI.



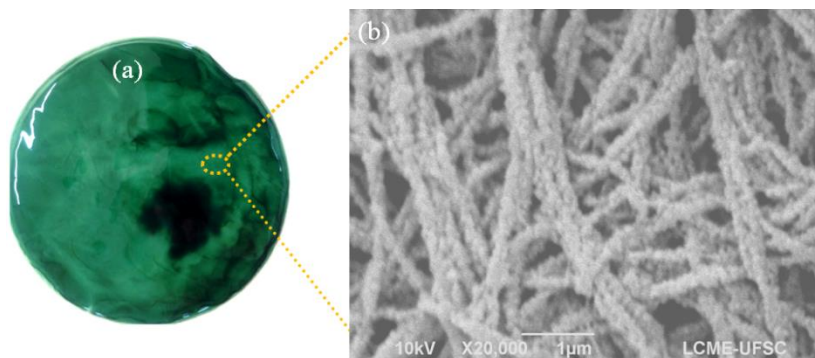
Fonte: Autora (2017).

## 4.1.2 Caracterização do nanocompósito CB/PANI

### 4.1.2.1 Morfologia e microestrutura

O nanocompósito CB/PANI foi produzido em meio ácido e apresentou a coloração verde, ou seja, na sua forma dopada de sal esmeraldina (Faez et al., 2000). A Figura 19 mostra em (a) a coloração verde do nanocompósito após a polimerização da PANI nas nanofibras do hidrogel de CB e em (b) a micrografia do MEV obtida de observações de nanocompósito seco por liofilização. Observa-se a presença de partículas de PANI depositadas e aglomerados nas nanofibras de CB. Segundo Muller (2012), a PANI recobre as nanofibras de CB formando uma rede condutora contínua, permitindo a condutividade elétrica do material compósito.

Figura 19 – (a) Nanocompósito CB/PANI na forma de hidrogel, (b) Micrografia do MEV do nanocompósito CB/PANI.

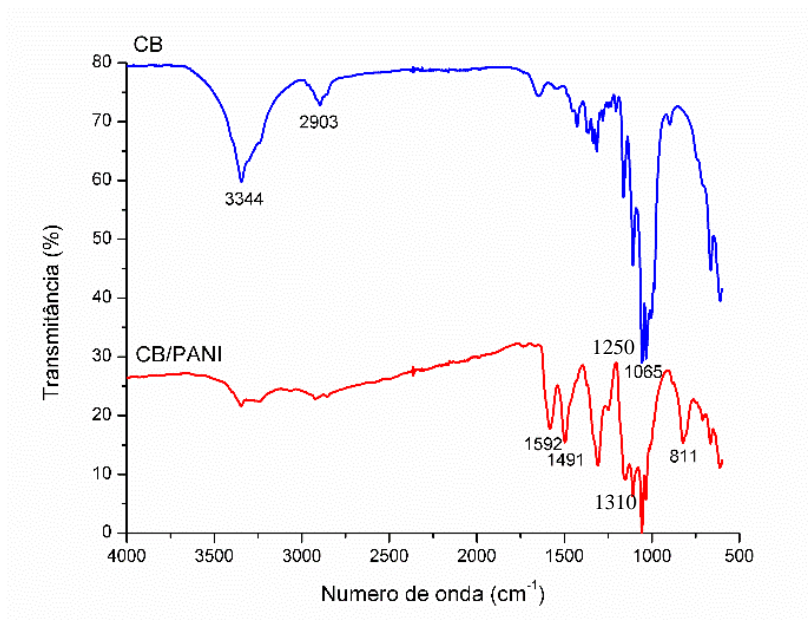


Fonte: Autora (2017).

#### 4.1.2.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A análise por FTIR, além de ser uma importante técnica de caracterização, determina e identifica os principais grupos funcionais existentes na amostra. Neste trabalho, para verificar o estado oxidado em sal esmeraldina incorporado na CB, foi utilizada a técnica de FTIR. A Figura 20 apresenta os espectros dos resultados dos ensaios de FTIR realizados em amostras de CB e de CB/PANI.

Figura 20 – Espectro de FTIR-ATR de amostras de CB e CB/PANI.



Fonte: Autora (2017).

Destaca-se que a polianilina protonada e ligada à CB apresentou espectros semelhantes aos reportados em literatura (Abbasian, Niroomand e Jaymand, 2017; Lee et al., 2012; Zhou et al., 2017), permitindo a sua caracterização por comparação. Na Tabela 4 estão relacionados os números de onda e suas atribuições para os principais grupos funcionais presentes nas amostras.

Tabela 4 – Principais bandas dos espectros de CB e de CB/PANI.

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuições
3450	Estiramento de amina (N – H)
3243	Estiramento de amina (N – H)
1592	Estiramento de (C = C)
1491	Estiramento de (C = C) do anel benzênico
1304	Estiramento (C – N)

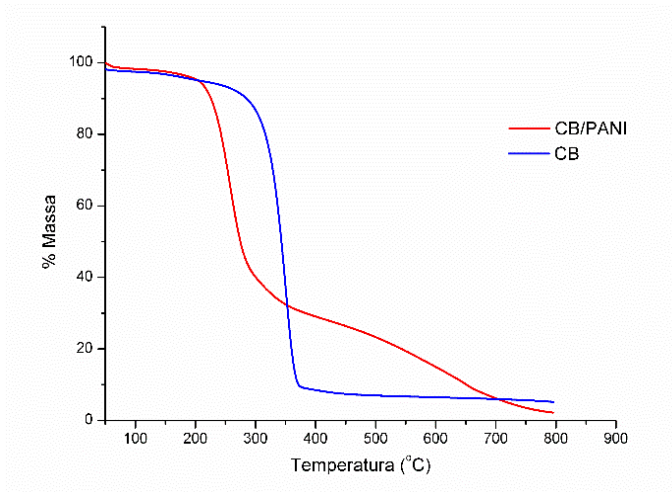
Fonte: Autora (2017).

O mais notório nos espectros de IV é a diminuição da intensidade da banda (3344 cm<sup>-1</sup>) relativa ao estiramento do OH, o qual interage intermolecularmente com grupos amina presentes na PANI. Este dado sugere que a PANI se liga à este grupo funcional da celulose. Além disso, foram observadas as bandas características de PANI esmeraldina condutiva, as quais se apresentam em 1310 e 1250 cm<sup>-1</sup> (Lee et al., 2012).

#### 4.1.2.3 Análise Termogravimétrica (TG).

Para investigar o efeito da PANI sobre a degradação térmica de compósitos CB/PANI, a análise termogravimétrica foi realizada para CB pura seca. O CB puro apresentou perda de massa, como mostrado na Figura 21, observada temperaturas próximas aos 400 °C, temperaturas nas quais a degradação ocorreu drasticamente. Por outro lado, para CB/PANI a decomposição foi mais lenta e ocorreu muito próxima à temperatura de 300 °C (Lee et al., 2012).

Figura 21 – Curva de TGA para CB pura e CB/PANI



Fonte: Autora (2017).

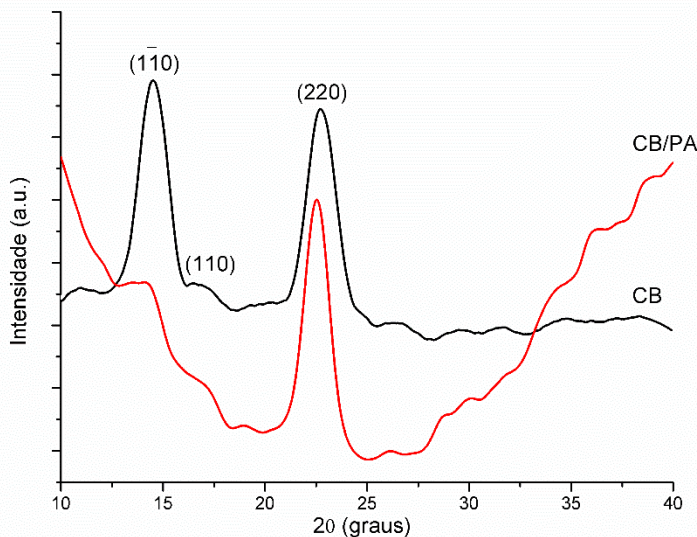
#### 4.1.2.4 Difratoograma de raios X (DRX)

Para investigar a estrutura cristalina do nanocompósito CB/PANI foi realizado o ensaio de difração de raios X. A Figura 22 compara espectros de difração de raios X da CB e CB/PANI. O espectro de CB exibe dois picos de reflexões principais  $2\theta = 14,5^\circ$  e  $23^\circ$ , que são atribuídos aos planos de difração  $(1\bar{1}0)$  e  $(220)$  característicos de celulose tipo I (Recouvreux, 2008 apud Watanabe et al., 1998).

A PANI exibe duas características principais de reflexões em  $12,6^\circ$  e  $22^\circ$ . Esses picos são amplos e sobrepostos com outros picos de reflexão sugerindo a presença de estruturas desordenadas (Marins et al., 2011) Para o nanocompósito CB/PANI revela um pico atribuído ao plano  $(220)$  da difração da CB e um halo amorfo sobreposto proveniente da PANI.



Figura 22 – Padrões de difração de raios X dos componentes puros CB e do nanocompósito CB/PANI.

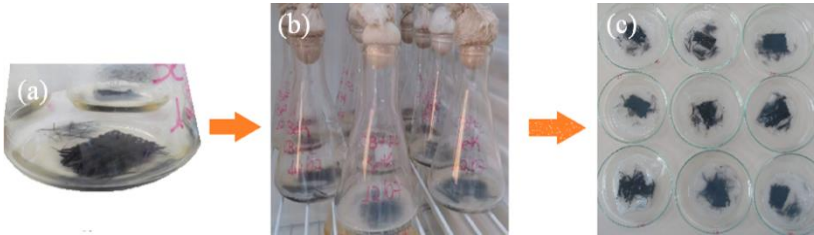


Fonte: Autora (2017).

#### 4.1.3 Nanocompósito CB/FC

Para a produção do nanocompósito CB/FC amostras de 2 cm por 2 cm de FC, em formato de tecido tramado, foram imersas em meio de cultivo de biossíntese de CB. Neste caso, pelas razões já expostas anteriormente, o glicerol também foi utilizado como fonte de carbono para o desenvolvimento bacteriano. A Figura 23 mostra o processo de produção do nanocompósito de CB/FC. As membranas hidrogéis obtidas foram submetidas a um processo de purificação para eliminar os contaminantes do meio de cultivo e resíduos celulares.

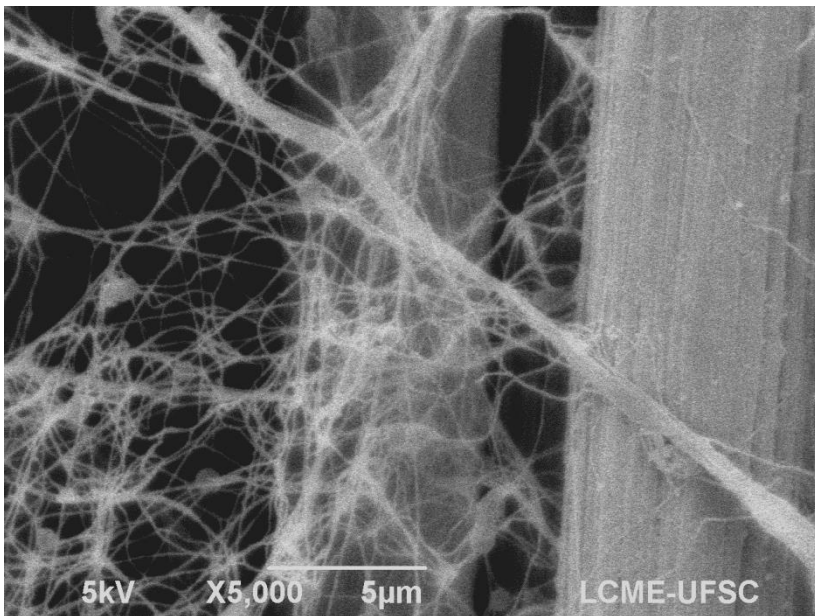
Figura 23 - Processo de produção do nanocompósito de CB/FC.



Fonte: Autora (2018).

Como resultado obteve-se uma membrana gelatinosa, com nanofibras de CB entrelaçando as FC, como mostra a Figura 24.

Figura 24 – Nanocompósito de CB/FC. Nanofibras de CB envolvendo FC.



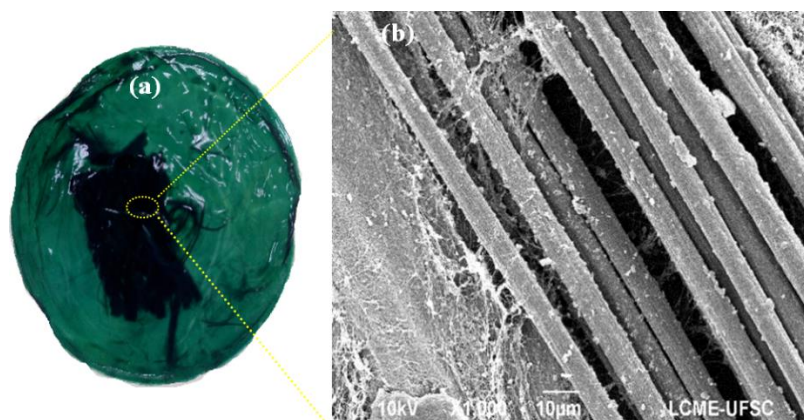
Fonte: Autora (2018).

#### 4.1.4 Nanocompósito CB/FC/PANI

O nanocompósito CB/FC/PANI foi produzido a partir do nanocompósito CB/FC, sendo a síntese de PANI realizada, *in situ*, nas nanofibras de CB, utilizando o mesmo procedimento realizado para produzir no nanocompósito CB/PANI ilustrado na Figura 18. O nanocompósito CB/FC foi imerso em uma solução de anilina para que ocorresse polimerização *in situ* da anilina nas nanofibras, sendo as nanofibras de CB o suporte para favorecer uma deposição homogênea e o crescimento dos grânulos de PANI (Zhou et al., 2017). O mesmo processo de polimerização foi adotado para todas as amostras, onde apenas a concentração do ácido foi alterada.

A morfologia e a microestrutura do nanocompósito de CB/FC/PANI foi examinada através de imagens obtidas pelo MEV. A Figura 25 (a) mostra o nanocompósito na forma de hidrogel, onde se pode observar as FC recobertas pelo hidrogel de CB, que por sua vez as nanofibras de CB do hidrogel se encontram recobertas por PANI. Na Figura 25 (b) pode-se observar através da micrografia do MEV, a interação entre as nanofibras de CB e a FC, bem como os nanoflocos de PANI. A PANI tende a revestir as nanofibras de CB, resultando em uma via de condução contínua, responsável pela transferência de elétrons no nanocompósito (Mashkour, Rahimnejad e Mashkour, 2016).

Figura 25 – (a) Nanocompósito CB/PANI na forma de hidrogel. (b) Micrografia do MEV do nanocompósito CB/FC/PANI.



Fonte: Autora (2018).

#### 4.1.5 Propriedade elétrica dos eletrodos

O método de duas pontas foi usado para medir a resistividade dos nanocompósitos desenvolvidos. A Tabela 5 apresenta os valores calculados para a condutividade a partir dos dados da medição da resistividade das amostras. Esses valores são preliminares. Há necessidade de um estudo mais detalhado sobre as propriedades elétricas desses materiais. Contudo, os resultados obtidos corroboram com os ensaios utilizando a CCM, comprovando que esses materiais conduzem os elétrons gerados pela bactéria cultivada. Esta interpretação é consistente com a existência de interação química local entre a PANI e a celulose e com o aumento de condutividade observado para as amostras.

Tabela 5 – Condutividade de amostras de CB, CB/FC, CB/PANI e CB/FC/PANI.

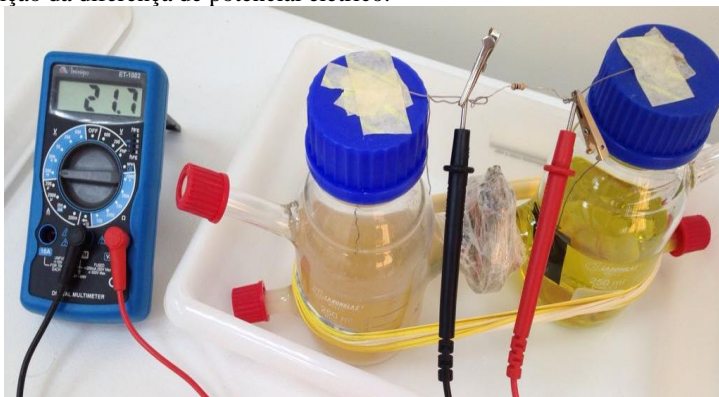
Eletrodo	Condutividade elétrica ( $S \cdot cm^{-1}$ )
CB	$10^{-9}$
CB/PANI	$10^{-6}$
CB/FC/PANI (HCl 0,5 M)	$10^{-6}$
CB/FC/PANI (HCl 1,0 M)	$10^{-6}$

Fonte: Autora (2018).

#### 4.2 CONSTRUÇÃO DE UMA CCM UTILIZANDO OS ELETRODOS DESENVOLVIDOS

A CCM desenvolvida neste trabalho é mostrada na imagem da Figura 26. Trata-se de CCM de duas câmaras, constituída por dois frascos de vidro borossilicato interligados por uma membrana trocadora de prótons tipo Nafion®. O eletrodo anódico e o catódico estão interligados a um resistor de  $1000 \Omega$  através de um fio de titânio. No compartimento anódico, são cultivadas as bactérias eletrogênicas, que transportam elétrons obtidos pelo metabolismo de compostos orgânicos ao eletrodo do compartimento ânodo (que neste caso foi FC). Os íons  $H^+$  gerados neste processo são transferidos ao compartimento catódico, que contém uma solução de  $K_3[Fe(CN)_6]$  em tampão fosfato. O compartimento catódico é aerado para receber oxigênio e proporcionar a formação de água a partir dos íons  $H^+$  recebidos do compartimento anódico.

Figura 26 – Imagem da CCM com o multímetro conectado para realizar a medição da diferença de potencial elétrico.



Fonte: Autora (2018).

### 4.3 BIOFILME MICROBIANO NO ELETRODO ANÓDICO

O desempenho da CCM depende de vários fatores, os quais incluem o estado metabólico dos micro-organismos, a estrutura e composição do biofilme e as propriedades intrínsecas dos eletrodos.

As CCM aproveitam os elétrons transferidos durante a respiração microbiana para gerar uma diferença de potencial eletroquímico entre um ânodo e um cátodo. Os biofilmes microbianos aumentam a corrente devido à transferência direta de elétrons entre as bactérias e a superfície do ânodo. Apenas grupos específicos de micro-organismos podem ser usados em uma CCM, devido à sua adaptação para doar elétrons externamente durante a respiração (Picioeanu et al., 2007).

Superfícies anódicas que facilitam a adesão dos micro-organismos são especialmente úteis para a eficiência da CCM, porque significa que o número de elétrons transferidos para o ânodo é diretamente proporcional à área de superfície do ânodo, devido à proximidade entre o biofilme e o ânodo. Além disso, um biofilme mais espesso é vantajoso, porque garante que uma camada de bactérias inativas esteja presente para substituir qualquer célula morta ou removida (Picioeanu et al., 2007).

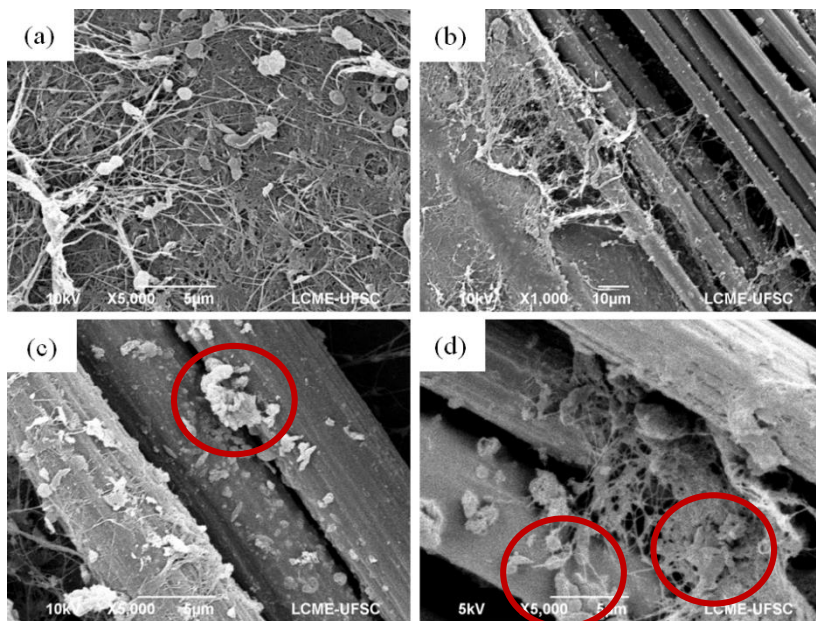
A interação das bactérias com o eletrodo CB/FC/PANI foi avaliada através de MEV. Para isto, o eletrodo utilizado na CCM, após o período do monitoramento, foi removido, submetido a um tratamento para fixar as bactérias e liofilizado para observações no MEV. As micrografias foram obtidas das regiões por onde o fio de titânio do eletrodo passava,

responsável por conduzir os elétrons até o cátodo, visando identificar as bactérias aderidas em regiões próximas do fio condutor.

A Figura 27 mostra características do nanocompósito de CB/FC/PANI utilizado como eletrodo anódico, após ter sido utilizado em uma CCM. Na Figura 27 (a) é possível observar bactérias e aglomerado de bactérias aderidas ao nanocompósito. Em (b) mostra a interação de nanofibras de CB recobertas com PANI com as FC, em (c), salientado pelo círculo em vermelho, mostra um aglomerado de bactérias aderidos à FC e em (d) mostra um biofilme de bactérias aderidos nas nanofibras de CB e interagindo com as FC.

As imagens obtidas da superfície do ânodo mostram de fato a adesão dos micro-organismos ao nanocompósito. A rugosidade, elevada hidrofobicidade e superfície positivamente carregada podem facilitar a adesão (Guo et al., 2015) e, conseqüentemente, facilitar a transferência de elétrons. Os eletrodos desenvolvidos neste estudo são hidrogéis porosos, que facilitam aos micro-organismos o acesso aos nutrientes. Na Figura 27 é possível observar os aglomerados das bactérias aderidos nas nanofibras de CB, nanopartículas de PANI recobrimo as nanofibras de CB, em contato com as FC. As características peculiares de cada componente do nanocompósito proporciona um material adequado para ser utilizado como um eletrodo para CCM.

Figura 27 – Micrografia do nanocompósito de CB/FC/PANI: (a) Nanocompósito CB/FC/PANI HCl 1,0 M com bactérias aderidas (b) nanofibra de interação da FC com as nanofibras de CB recobertas com PANI, (c) o círculo, em vermelho, mostra um aglomerado de bactérias aderidos à FC. (d) biofilme de bactérias aderidos nas nanofibras de CB e interagindo com as FC.

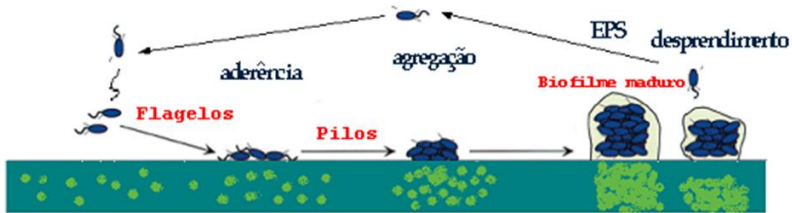


Fonte: Autora (2018).

Durante um ciclo de vida de um biofilme microbiano os microorganismos aderem a uma superfície adequada; ocorre a agregação formando colônias; iniciam a produção de exopolissacarídeos (EPS), formando um biofilme maduro e, ocasionalmente, ocorre o desprendimento do biofilme retornando a estilo de vida livre para iniciar um novo biofilme. Durante a fase de vida livre as bactérias movimentam-se livremente em um meio líquido utilizando flagelos. Os pilos são utilizados para aderência a uma superfície e também para movimentarem-se sobre ela aglomerando-se com outras bactérias. A Figura 28 ilustra as etapas de formação de um biofilme microbiano.



Figura 28 – Ilustração das etapas do ciclo de vida de um biofilme microbiano.



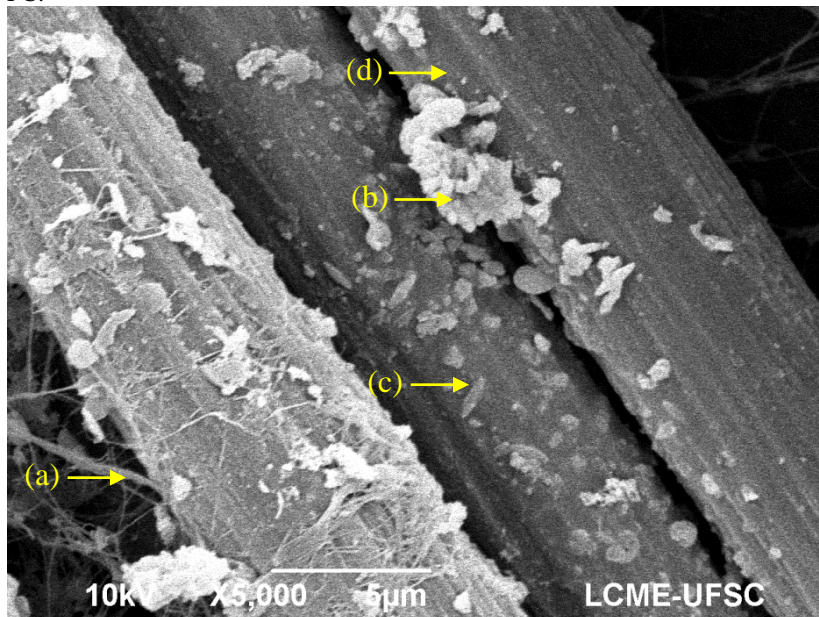
Fonte: Modificado de Recouvreur (2004), com permissão.

A bactéria *E. coli* individualmente apresenta uma morfologia cilíndrica, na forma de um bastonete. Em biofilme essas bactérias têm aparência característica, aglutinando-se umas às outras.

A Figura 29 mostra uma micrografia do MEV do nanocompósito CB/FC/PANI utilizado como eletrodo na CCM. Como indica as setas, é possível identificar em (a) aglomerados de PANI, em (b) nanofibra de CB, em (c) biofilme de bactéria aderidas nas nanofibra de CB, (d) uma FC.



Figura 29 – Micrografia do MEV (Figura 27c ampliada) no nanocompósito CB/FC/PANI HCl 0,5M utilizada como eletrodo na CCM, onde está identificado com setas: (a) nanofibras de CB recobertas por PANI, (b) aglomerado de bactérias aderidas nas nanofibras de CB, (c) bactéria individual aderidas na FC e em (d) FC.



Fonte: Autora (2018).

A micrografia apresentada na Figura 29 mostra a presença de bactérias aderidas às nanofibrilas de celulose e às fibras de carbono, mostrando a biocompatibilidade do compósito produzido. Uma propriedade importante do ânodo CB/FC/PANI é ser hidrogel e poroso. A capilaridade entre fibras celulósicas facilita a transferência de substrato solúvel para o interior do biofilme bacteriano no ânodo. Assim, os micro-organismos podem se manter eletroquimicamente ativos. Em eletrodos convencionais o crescimento do biofilme provoca diminuição ou até mesmo falta de nutrientes nas camadas internas provocando sua deterioração (Mashkour, Rahimnejad e Mashkour, 2016). Enquanto em eletrodos na forma de hidrogel poroso, como no caso do nanocompósito CB/FC/PANI, a formação de uma camada densa de biofilme pode ocorrer uma vez que permite o acesso dos micro-organismos aos nutrientes.

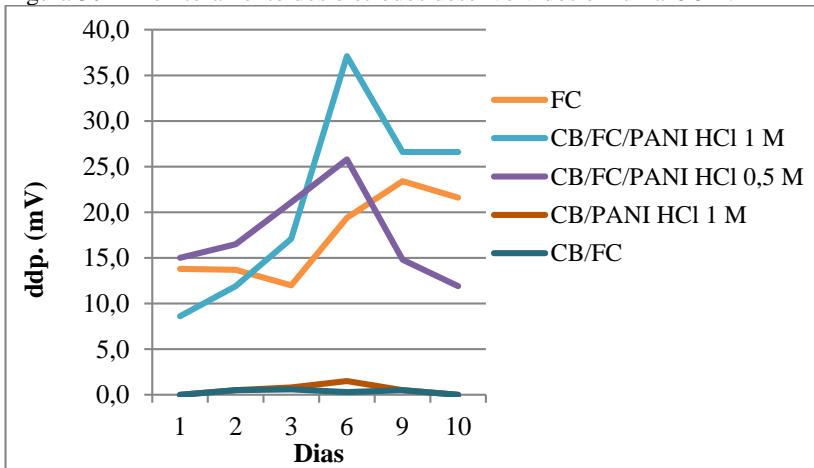
#### 4.4 MONITORAMENTO DE PARÂMETROS OPERACIONAIS DA CCM

Em uma CCM a geração de voltagem não é previsível. Isso ocorre porque as bactérias demoram certo tempo para colonizar o eletrodo e sintetizar as enzimas que auxiliam no processo da transferência de elétrons (LOGAN, 2008). Os valores de potência máxima que uma CCM pode gerar estão relacionados de forma direta com a variação de alguns parâmetros, dentre eles: configuração, micro-organismo, substrato e eletrodo. Para o monitoramento, foi mantido fixo o tempo de operação para todos os eletrodos, bem como o tamanho do reator, sendo variáveis importantes para comparar valores de ddp de cada eletrodo.

##### 4.4.1 Eletrodos CB/FC/PANI, CB/PANI e FC

Os eletrodos FC, CB/PANI, CB/FC e CB/FC/PANI, como ânodo para uma CCM, foram avaliados realizando o acompanhamento da geração de energia durante 10 dias de funcionamento. A bactéria *E. coli* foi utilizada como micro-organismo modelo. A Figura 30 mostra os resultados da diferença de potencial de energia (ddp) ao longo deste período avaliado.

Figura 30 – Monitoramento dos eletrodos desenvolvidos em uma CCM.



Fonte: Autora (2018).

De acordo com resultados obtidos e apresentado na figura 30, nos primeiros dois dias foi possível verificar uma pequena variação da ddp, justificado pelo período de adaptação dos micro-organismos e do desenvolvimento do biofilme. O nanocompósito de CB/FC/PANI, no período entre o 3º ao 6º dia, mesmo apresentando valores baixos de ddp, observa-se um aumento significativo em comparação com a fibra de carbono e o nanocompósito de CB/PANI.

É possível observar também uma flutuação nos valores durante os primeiros dias de acompanhamento. O desenvolvimento de um biofilme, sobre a superfície do ânodo, afeta a condutividade e a difusão dos nutrientes e de seus produtos finais. Sabe-se que para ocorrer a transferência adequada de elétrons entre o ânodo e o cátodo é importante uma boa adesão das bactérias ao eletrodo, proporcionado pela formação do biofilme (Picioeanu et al., 2007). Após o período de adaptação pode-se observar um aumento crescente na energia gerada até o 6º dia, observada na maioria dos nanocompósitos. Após este período, verificou-se um decaimento em todos os nanocompósitos, o que pode ser entendido como o esgotamento de nutrientes para a manutenção da densidade bacteriana.

O eletrodo de FC apresentou bons resultados em relação a ddp obtida, sendo que o valor gerado no 9º dia, atingiu o máximo de 23,4 mV. Isso se deve ao fato de que a FC é biocompatível com as bactérias presentes no meio. Porém, observou-se que o potencial gerado quando se utilizou nanocompósitos de CB/FC/PANI foi superior (37,1 mV) ao gerado com FC, apenas. Este comportamento, pode ser atribuído ao fato de que o nanocompósito CB/FC/PANI favoreceu a adesão do biofilme ao ânodo.

Com isso, pode-se observar que este novo material favorece a adesão bem como a condução dos elétrons liberados a partir da matéria orgânica (glicose) pelas bactérias (Lovley, 2012). Dessa forma, as fibras de CB recobertas com PANI permitiram que o suporte, antes isolante, passasse a conduzir os elétrons produzidos pelas bactérias. Esse nanocompósito recobriu as FC, permitindo que as fibras se mantivessem próximas e, assim, favorecendo a condução desses elétrons.

Porém, as membranas de CB/FC e CB/PANI não apresentaram valores relevantes de tensão elétrica. A característica da CB é de um material não condutor de eletricidade (Müller, 2012), sendo assim, ao recobrir as fibras de carbono, possivelmente indicando a formação de uma barreira à transferência dos elétrons para a FC (condutora).

Conforme visto anteriormente, os nanocompósitos possuem condutividade elétrica na mesma ordem de grandeza. Entretanto, ao se

observar as CCM, composta pelo eletrodo CB/FC/PANI apresentou maior condutividade que as demais. Esta diferença pode ser atribuída a incorporação da FC juntamente com a dopagem de CB com PANI, criando acessos dos elétrons ao material condutor (fio de titânio).

## CAPÍTULO 5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES FUTURAS

### 5.1 CONCLUSÕES

Nesse trabalho foram produzidas e tratadas as membranas de CB. Com processo similar, foram desenvolvidos os nanocompósitos CB/FC. Para a síntese de PANI nas membranas de CB e CB/FC através do método de polimerização *in situ* e posteriormente foram estudados a possibilidade do seu uso como eletrodo para uma CCM.

As amostras CB e CB/PANI foram caracterizadas por FTIR através da comparação com trabalhos. Além disso, com a análise termogravimétrica foi identificada que amostra CB/PANI é menos estável que a CB pura. Ainda, com DRX foi sugerida a presença de estruturas desordenadas, justificando a característica amorfa da amostra.

As análises morfológicas da microestrutura foram feitas através de MEV, as quais revelaram uma rede de nanofibras de CB com recobrimento de PANI e entrelaçamento das FC. Os nanocompósitos obtidos apresentaram condutividade na mesma ordem de grandeza e este valor enquadrá-os como semicondutores.

Uma CCM foi construída utilizando os nanocompósitos desenvolvidos como eletrodo no compartimento ânodo. A partir dos valores da diferença de potencial obtidos do monitoramento da CCM, sendo *E. coli* como micro-organismo exoeletrogênico modelo, pois é uma das cepas bacterianas prontamente disponíveis e de fácil crescimento. No entanto, a produção de eletricidade da *E. coli* pura é bastante baixa (Zhang *et al.*, 2006). Com isso, mesmo que valores baixos de diferença de potencial elétrico tenham sido obtidos, foi possível verificar a potencialidade do nanocompósito CB/FC/PANI como eletrodo do ânodo, podendo otimizar esses resultados em trabalhos futuros.

Além disso, a adesão de micro-organismos no nanocompósito confirma a biocompatibilidade do material, sendo uma das características necessária para obtenção de novos eletrodos para CCM (Logan, 2009).

A CCM encontra potencial mais favoráveis em curto prazo, como um método independente de geração de energia, para aplicações de obtenção de energia a partir do tratamento de águas residuais e aproveitamento de resíduos orgânicos. Para isso, o desenvolvimento de novos materiais de fonte renovável, bem como sua a otimização dos eletrodos, são imprescindíveis.

## 5.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A partir do estudo desenvolvido foi possível observar que CCM utilizando o eletrodo de CB/FC/PANI apresentou melhor desempenho. Em virtude disso pretende-se aprimorar a construção de eletrodos utilizando os mesmos matérias, entretanto com configurações diferenciadas como:

- Alteração de concentração de anilina e diferentes ácidos para formação de novos nanocompósitos;
- Superfície de contato do eletrodo e a formação de biofilme em relação ao tempo útil da CCM;
- Uso de uma fonte de nutrientes constante para os microrganismos;
- Utilização de novos formatos de CCM com os eletrodos obtidos;
- Diferentes microrganismos como meio de cultivo para o ânodo de uma CCM;

Por fim, para maior compreensão da eficiência elétrica, o estudo completo dos mecanismos de condutividade de uma CCM, além da compreensão do seu ciclo de vida.

## REFERÊNCIAS

- ABBASIAN, M.; NIROOMAND, P.; JAYMAND, M. Cellulose/polyaniline derivatives nanocomposites: Synthesis and their performance in removal of anionic dyes from simulated industrial effluents. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 39, p. 45352 (1-11), 2017.
- BAPTISTA, A.; FERREIRA, I.; BORGES, J. Cellulose-Based Bioelectronic Devices. In: **Cellulose - Medical, Pharmaceutical and Electronic Applications**. [s.l.] InTech, 2013. p. 67–82.
- BHADRA, S.; KHASTGIR, D.; SINGHA, N. K.; LEE, J. H. Progress in preparation, processing and applications of polyaniline. **Progress in Polymer Science** (Oxford), v. 34, n. 8, p. 783–810, 2009.
- CASADO, U. M.; ARANGUREN, M. I.; MARCOVICH, N. E. Preparation and characterization of conductive nanostructured particles based on polyaniline and cellulose nanofibers. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, n. 5, p. 1641–1648, 2014.
- CHANG, C.; ZHANG, L. Cellulose-based hydrogels: Present status and application prospects. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 40–53, 11 fev. 2011.
- CHAWLA, K. K. Carbon Fiber Composites. In: **Composite Materials**. New York, NY: Springer New York, 1998. p. 252–277.
- CHAWLA, P. R.; BAJAJ, I. B.; SURVASE, S. A.; SINGHAL, R. S. Microbial cellulose: Fermentative production and applications ( Review ). **Food Technology and Biotechnology**, v. 47, n. 2, p. 107–124, 2009.
- CHEN, S. Q.; MIKKELSEN, D.; LOPEZ-SANCHEZ, P.; WANG, D.; MARTINEZ-SANZ, M.; GILBERT, E. P.; FLANAGAN, B. M.; GIDLEY, M. J. Characterisation of bacterial cellulose from diverse *Komagataeibacter* strains and their application to construct plant cell wall analogues. **Cellulose**, v. 24, n. 3, p. 1211–1226, 2017.
- CHEN, X.; YUAN, F.; ZHANG, H.; HUANG, Y.; YANG, J.; SUN, D. Recent approaches and future prospects of bacterial cellulose-based electroconductive materials. **Journal of Materials Science**, v. 51, n. 12, p. 5573–5588, 22 jun. 2016.
- DU, Z.; LI, H.; GU, T. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy.

**Biotechnology Advances**, v. 25, n. 5, p. 464–482, 2007.

DUTRA, R. C. L.; TAKAHASHI, M. F. K.; DINIZ, M. F. Importância da Preparação de Amostras em Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) na Investigação de Constituintes em Materiais Compostos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p. 41–47, 1995.

DUTTA, K.; KUNDU, P. P. A review on aromatic conducting polymers-based catalyst supporting matrices for application in microbial fuel cells. **Polymer Reviews**, v. 54, n. 3, p. 401–435, 2014.

FAEZ, R.; REIS, C.; FREITAS, P. S. DE; KOSIMA, O. K.; RUGGERI, G.; PAOLI, M. DE. Polímeros Condutores. **Química nova na escola**, v. 11, p. 13–18, 2000.

FRANK, E.; STEUDLE, L. M.; INGILDEEV, D.; SPÖRL, J. M.; BUCHMEISER, M. R. Carbon fibers: Precursor systems, processing, structure, and properties. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 53, n. 21, p. 5262–5298, 19 maio 2014.

FUNG, A. W. M. **OTIMIZAÇÃO DA GERAÇÃO DE ENERGIA EM CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA COM Escherichia coli UTILIZANDO ELETRODO MODIFICADO POR ELETRODEPOSIÇÃO DE POLIPIRROL**. Dissertação. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2016.

GENIES, E. M.; BOYLE, A.; LAPKOWSKI, M.; TSINTAVIS, C. POLYANILINE: A HISTORICAL SURVEY. **Synthetic Metals**, v. 36, n. 03796779, p. 139–182, 1990.

GIROTTO, E. M.; SANTOS, I. A. Medidas de resistividade elétrica DC em sólidos: como efetuá-las corretamente. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 639–647, jul. 2002.

GNANA KUMAR, G.; KIRUBAHARAN, C. J.; UDHAYAKUMAR, S.; KARTHIKEYAN, C.; NAHM, K. S. Conductive Polymer/Graphene Supported Platinum Nanoparticles as Anode Catalysts for the Extended Power Generation of Microbial Fuel Cells. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 53, n. 43, p. 16883–16893, 2014.

GUIMARD, N. K.; GOMEZ, N.; SCHMIDT, C. E. Conducting polymers in biomedical engineering. **Progress in Polymer Science**, v. 32, n. 8–9, p. 876–921, 2007.

GUISEPPI-ELIE, A. Electroconductive hydrogels: Synthesis,



characterization and biomedical applications. **Biomaterials**, v. 31, n. 10, p. 2701–2716, 1 abr. 2010.

GUO, K.; PRÉVOTEAU, A.; PATIL, S. A.; RABAEY, K. Engineering electrodes for microbial electrocatalysis. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 33, p. 149–156, 1 jun. 2015.

GUO, Y.; WANG, T.; CHEN, F.; SUN, X.; LI, X.; YU, Z.; WAN, P.; CHEN, X. Hierarchical graphene–polyaniline nanocomposite films for high-performance flexible electronic gas sensors. **Nanoscale**, v. 8, n. 23, p. 12073–12080, 9 jun. 2016.

HU, W.; CHEN, S.; YANG, J.; LI, Z.; WANG, H. Functionalized bacterial cellulose derivatives and nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, n. 1, p. 1043–1060, 2014.

HU, W.; CHEN, S.; YANG, Z.; LIU, L.; WANG, H. Flexible Electrically Conductive Nanocomposite Membrane Based on Bacterial Cellulose and Polyaniline. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 115, n. 26, p. 8453–8457, 2011.

HUANG, L.; LI, X.; REN, Y.; WANG, X. In-situ modified carbon cloth with polyaniline/graphene as anode to enhance performance of microbial fuel cell. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, n. 26, p. 11369–11379, 2016.

HUANG, X. Fabrication and Properties of Carbon Fibers. **Materials**, v. 2, n. 4, p. 2369–2403, 16 dez. 2009.

JEON, Y.; KIM, S. Persistent Hydrogen Production by the Photo-Assisted Microbial Electrolysis Cell Using a p-Type Polyaniline Nanofiber Cathode. **ChemSusChem**, v. 9, n. 23, p. 3276–3279, 2016.

KAUR, G.; ADHIKARI, R.; CASS, P.; BOWN, M.; GUNATILLAKE, P. Electrically conductive polymers and composites for biomedical applications. **RSC Advances**, v. 5, n. 47, p. 37553–37567, 24 abr. 2015.

KHANDELWAL, V.; SAHOO, S. K.; KUMAR, A.; MANIK, G. Electrically conductive green composites based on epoxidized linseed oil and polyaniline: An insight into electrical, thermal and mechanical properties. **Composites Part B: Engineering**, v. 136, p. 149–157, 2018.

KLEMM, D.; HEUBLEIN, B.; FINK, H. P.; BOHN, A. Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 44, n. 22, p. 3358–3393, 2005.

LAI, B.; TANG, X.; LI, H.; DU, Z.; LIU, X.; ZHANG, Q. Power production enhancement with a polyaniline modified anode in microbial fuel cells. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 28, n. 1, p. 373–377, 2011.

LEE, H. J.; CHUNG, T. J.; KWON, H. J.; KIM, H. J.; TZE, W. T. Y. Fabrication and evaluation of bacterial cellulose–polyaniline composites by interfacial polymerization. **Cellulose**, v. 19, n. 4, p. 1251–1258, 2012.

LEVY-NETO, F., PARDINI, L.C., **Compósitos Estruturais, Ciência e Tecnologia**, 1 ed., São Paulo, Edgard Blücher, 2006.

LI, C.; ZHANG, L.; DING, L.; REN, H.; CUI, H. Effect of conductive polymers coated anode on the performance of microbial fuel cells (MFCs) and its biodiversity analysis. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, n. 10, p. 4169–4176, 2011.

LI, J. J.; GAO, M. M.; ZHANG, G.; WANG, X. H.; WANG, S. G.; SONG, C.; XU, Y. Y. Perchlorate reduction in microbial electrolysis cell with polyaniline modified cathode. **Bioresource Technology**, v. 177, p. 74–79, 2015.

LI, R.; LI, J.; QI, K.; GE, X.; ZHANG, Q.; ZHANG, B. One-step synthesis of 3D sulfur/nitrogen dual-doped graphene supported nano silicon as anode for Li-ion batteries. **Applied Surface Science**, v. 433, p. 367–373, 2018.

LIN, F.; ZHENG, R.; CHEN, J.; SU, W.; DONG, B.; LIN, C.; HUANG, B.; LU, B. Microfibrillated cellulose enhancement to mechanical and conductive properties of biocompatible hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 205, p. 244–254, 1 fev. 2019.

LIU, R.; MA, L.; HUANG, S.; MEI, J.; XU, J.; YUAN, G. A flexible polyaniline/graphene/bacterial cellulose supercapacitor electrode. **New J. Chem.**, v. 41, n. 2, p. 857–864, 2017.

LOGAN, B. E. **Microbial Fuel Cells**. 1 ED. John Wiley & Sons, 2008.

LOGAN, B. E. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, p. 375–381, 2009.

LOGAN, B. E.; HAMELERS, B.; ROZENDAL, R.; SCHRÖDER, U.; KELLER, J.; FREGUIA, S.; AELTERMAN, P.; VERSTRAETE, W.; RABAEY, K. Microbial fuel cells: Methodology and technology. **Environmental Science and Technology**, v. 40, n. 17, p. 5181–5192, 2006.

LOGAN, B. E.; REGAN, J. M. Microbial fuel cells--challenges and applications. **Environmental science & technology**, v. 40, n. 17, p. 5172–5180, 2006.

LOVLEY, D. R. Electromicrobiology. **Annual Review of Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 391–409, 13 out. 2012.

LV, X.; LI, G.; LI, D.; HUANG, F.; LIU, W.; WEI, Q. A new method to prepare no-binder, integral electrodes-separator, asymmetric all-solid-state flexible supercapacitor derived from bacterial cellulose. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 110, p. 202–210, 1 nov. 2017.

LYND, L. R.; WEIMER, P. J.; ZYL, W. H.; PRETORIUS, I. S. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 66, n. 3, p. 506–577, 2002.

MARINS, J. A.; SOARES, B. G.; DAHMOUCHE, K.; RIBEIRO, S. J. L.; BARUD, H.; BONEMER, D. Structure and properties of conducting bacterial cellulose-polyaniline nanocomposites. **Cellulose**, v. 18, n. 5, p. 1285–1294, 15 out. 2011.

MASHKOUR, M.; RAHIMNEJAD, M.; MASHKOUR, M. Bacterial cellulose-polyaniline nano-biocomposite: A porous media hydrogel bioanode enhancing the performance of microbial fuel cell. **Journal of Power Sources**, v. 325, p. 322–328, 1 set. 2016.

MATTOSO, L. H. C. Polianilinas: síntese, estrutura e propriedades. **Química Nova**, v. 19, n. 4, p. 388–399, 1996.

MATTOSO, L. H. C.; MEDEIROS, E. S.; BAKER, D. A.; AVLONI, J.; WOOD, D. F.; ORTS, W. J. Electrically Conductive Nanocomposites Made from Cellulose Nanofibrils and Polyaniline. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 9, n. 5, p. 2917–2922, 2009.

MAULE, A. J. P.; RAPHAEL, E.; MATTOS, R. I. DE; SALVI, D. DE T. B.; BARUD, H. DA S. [UNESP]; RIBEIRO, S. J. L. [UNESP]; MESSADDEQ, Y. [UNESP]. **Processo de obtenção de membrana condutora iônica de celulose bacteriana e produto obtido**. Brasil, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/110748>>. Acesso em: 22 nov. 2017

MOULAY, S. Molecular iodine/polymer complexes. **Journal of Polymer Engineering**, 1 ago. 2013. Disponível em:

<<https://www.degruyter.com/view/j/polyeng.2013.33.issue-5/polyeng-2012-0122/polyeng-2012-0122.xml>>. Acesso em: 21 nov. 2017

MINISTERIO DO MEIO AMBIENTE (Brasil) (MMA), **Protocolo de Quioto**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/clima/convencao-das-nacoes-unidas/protocolo-de-quioto>> Acesso em 18 de set. 2017.

MÜLLER, D. Incorporação De Polímeros Intrinsecamente Condutores Em Nanofibras De Celulose Bacteriana. [s.l.]. Tese. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, 2012.

MÜLLER, D.; MANDELLI, J. S.; MARINS, J. A.; SOARES, B. G.; PORTO, L. M.; RAMBO, C. R.; BARRA, G. M. O. Electrically conducting nanocomposites: preparation and properties of polyaniline (PAni)-coated bacterial cellulose nanofibers (BC). **Cellulose**, v. 19, n. 5, p. 1645–1654, 2012.

PANT, D.; BOGAERT, G. VAN; DIELS, L.; VANBROEKHOVEN, K. A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 6, p. 1533–1543, 2010.

PARK, M.; CHENG, J.; CHOI, J.; KIM, J.; HYUN, J. Electromagnetic nanocomposite of bacterial cellulose using magnetite nanoclusters and polyaniline. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 102, p. 238–242, 1 fev. 2013.

PICIOREANU, C.; HEAD, I. M.; KATURI, K. P.; LOOSDRECHT, M. C. M. VAN; SCOTT, K. A computational model for biofilm-based microbial fuel cells. **Water Research**, v. 41, n. 13, p. 2921–2940, jul. 2007.

PINA, C. DELLA; GREGORIO, M. A. DE; CLERICI, L.; DELLAVEDOVA, P.; FALLETTA, E. Polyaniline (PANI): an innovative support for sampling and removal of VOCs in air matrices. **Journal of Hazardous Materials**, v. 344, p. 308–315, 2018.

RABAEY, K.; VERSTRAETE, W. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. **Trends in Biotechnology**, v. 23, n. 6, p. 291–298, 1 jun. 2005.

RACHINSKI, S.; CARUBELLI, A.; MANGONI, A. P.; MANGRICH, A. S. Pilhas de combustíveis microbianas utilizadas na produção de eletricidade a partir de rejeitos orgânicos: Uma perspectiva de futuro. **Química Nova**, v. 33, n. 8, p. 1773–1778, 2010.

- RASHIDI, J.; RHEE, G.; KIM, M.; NAM, K.; HEO, S.; YOO, C.; KARBASSI, A. Life Cycle and Economic Assessments of Key Emerging Energy Efficient Wastewater Treatment Processes for Climate Change Adaptation. **International Journal of Environmental Research**, v. 12, n. 6, p. 815–827, 16 dez. 2018.
- RECIO-GARRIDO, D.; PERRIER, M.; TARTAKOVSKY, B. Combined bioelectrochemical-electrical model of a microbial fuel cell. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 39, n. 2, p. 267–276, 2016.
- RECOUVREUX, D. DE O. **Desenvolvimento de Novos Biomateriais Baseados em Celulose Bacteriana para Aplicações Biomédicas e de Engenharia de Tecidos**. Tese de doutorado em Engenharia Química Universidade Federal de Santa Catarina, v. Único, p. 145, 2008.
- RODRIGUES, G. G. **Fixação e alocação de carbono em plantações clonais de eucalipto sob diferentes densidades de plantio**. 2017. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017.
- SANTORO, C.; ARBIZZANI, C.; ERABLE, B.; IEROPOULOS, I. Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. **A review. Journal of Power Sources**, v. 356, p. 225–244, 15 jul. 2017.
- SAPURINA, I.; STEJSKAL, J. The mechanism of the oxidative polymerization of aniline and the formation of supramolecular polyaniline structures. **Polymer International**, v. 57, n. 12, p. 1295–1325, 2008.
- SAPURINA, I. Y.; SHISHOV, M. A. Oxidative Polymerization of Aniline: Molecular Synthesis of Polyaniline and the Formation of Supramolecular Structures. In: **New Polymers for Special Applications**. [s.l.] InTech, 2012. p. 251–312.
- SCHRÖDER, U.; NIESSEN, J.; SCHOLZ, F. A Generation of Microbial Fuel Cells with Current Outputs Boosted by More Than One Order of Magnitude. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 42, n. 25, p. 2880–2883, 30 jun. 2003.
- SHAHADAT, M.; KHAN, M. Z.; RUPANI, P. F.; EMBRANDIRI, A.; SULTANA, S.; AHAMMAD, S. Z.; WAZED ALI, S.; SREEKRISHNAN, T. R. A critical review on the prospect of polyaniline-grafted biodegradable nanocomposite. **Advances in Colloid**

**and Interface Science**, 2017.

STUMPF, T. R.; YANG, X.; ZHANG, J.; CAO, X. In situ and ex situ modifications of bacterial cellulose for applications in tissue engineering. **Materials Science and Engineering C**, v. 82, p. 372–383, 2018.

TEIXEIRA, J. D. **Desenvolvimento e caracterização de filmes de materiais fracamente condutores depositados por magnetron sputtering para uso em isoladores elétricos de porcelana**. [s.l.] Tese. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, 2007.

UCAR, D.; ZHANG, Y.; ANGELIDAKI, I. An overview of electron acceptors in microbial fuel cells. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. APR, p. 1–14, 2017.

VARGAS, V. M. M. **Desenvolvimento de nanocompósitos formados por polianilina, nanotubos de carbono e dióxido de titânio visando a fotodegradação de fármaco**. Dissertação de mestrado. [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2015.

VELÁSQUEZ-RIAÑO, M.; BOJACÁ, V. Production of bacterial cellulose from alternative low-cost substrates. **Cellulose**, v. 24, n. 7, p. 2677–2698, 2017.

WANG, H.; ZHU, E.; YANG, J.; ZHOU, P.; SUN, D.; TANG, W. Bacterial cellulose nanofiber-supported polyaniline nanocomposites with flake-shaped morphology as supercapacitor electrodes. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 116, n. 24, p. 13013–13019, 21 jun. 2012.

WHEELWRIGHT, W. V. K.; RAY, S.; COONEY, R. P. Studies of Interfacial Interaction between Polyaniline and Corn Gluten Meal and their Effect on Electroactive and Free Radical Scavenging Properties. **Molecular Crystals and Liquid Crystals**, v. 616, n. 1, p. 239–250, 2015.

XU, Z.; GAO, C. Graphene fiber: a new trend in carbon fibers. **Materials Today**, v. 18, n. 9, p. 480–492, 1 nov. 2015.

YANG, Q.; JIANG, Y.; XU, Y.; QIU, Y.; CHEN, Y.; ZHU, S.; SHEN, S. Hydrogen production with polyaniline/multi-walled carbon nanotube cathode catalysts in microbial electrolysis cells. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 90, n. 7, p. 1263–1269, 2015.

YU, T.; LIU, L.; YANG, Q.; SONG, J.; YANG, F. Catalytic and

filterable polyester-filter membrane electrode with a high performance carbon foam–Fe–Co catalyst improved electricity generation and wastewater treatment in MBR–MFC. **RSC Adv.**, v. 5, n. 60, p. 48946–48953, 2015.

ZHANG, H.; ZHANG, R.; ZHANG, G.; YANG, F.; GAO, F. Modified graphite electrode by polyaniline/tourmaline improves the performance of bio-cathode microbial fuel cell. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 21, p. 11250–11257, 2014.

ZHAO, Y.; LIU, Y.; LI, X.; WANG, H.; ZHANG, Y.; MA, H.; WEI, Q. Label-free ECL immunosensor for the early diagnosis of rheumatoid arthritis based on asymmetric heterogeneous polyaniline-gold nanomaterial. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 257, p. 354–361, 2018.

ZHAO, Y.; WATANABE, K.; NAKAMURA, R.; MORI, S.; LIU, H.; ISHII, K.; HASHIMOTO, K. Three-Dimensional Conductive Nanowire Networks for Maximizing Anode Performance in Microbial Fuel Cells. **Chemistry - A European Journal**, v. 16, n. 17, p. 4982–4985, 2010.

ZHOU, M.; CHI, M.; LUO, J.; HE, H.; JIN, T. An overview of electrode materials in microbial fuel cells. **Journal of Power Sources**, 2011.

ZHOU, Z.; YANG, Y.; HAN, Y.; GUO, Q.; ZHANG, X.; LU, C. In situ doping enables the multifunctionalization of templately synthesized polyaniline@cellulose nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 177, p. 241–248, 2017.