



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Rayane Kunert Langbehn

**Resiliência de sistemas de remoção de carbono e nitrogênio em células a combustível microbianas à adição de fluoroquinolonas**

Florianópolis

2023

Rayane Kunert Langbehn

**Resiliência de sistemas de remoção de carbono e nitrogênio em células a combustível microbianas à adição de fluoroquinolonas**

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Prof. Hugo Moreira Soares, Dr.

Coorientadora: Profa. Camila Michels, Dra.

Florianópolis

2023

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

Langbehn, Rayane Kunert

Resiliência de sistemas de remoção de carbono e nitrogênio em células a combustível microbianas à adição de fluoroquinolonas / Rayane Kunert Langbehn ; orientador, Hugo Moreira Soares, coorientador, Camila Michels, 2023.  
158 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Engenharia Química. 2. Biotecnologia Ambiental. 3. Tratamento de efluentes. 4. Micropoluentes. 5. Sistemas bioeletroquímicos. I. Soares, Hugo Moreira. II. Michels, Camila. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

Rayane Kunert Langbehn

**Resiliência de sistemas de remoção de carbono e nitrogênio em células a combustível microbianas à adição de fluoroquinolonas**

O presente trabalho em nível de Doutorado foi avaliado e aprovado, em 27 de janeiro de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.(a) Valeria Reginatto Spiller, Dr.(a)  
Universidade de São Paulo (USP/FFCLRP)

Prof. Marco Di Luccio, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC/PPGEAL)

Elisângela Edila Schneider, Dr.(a)  
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC/PósENQ)

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Doutora em Engenharia Química.

Insira neste espaço a  
assinatura digital

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Insira neste espaço a  
assinatura digital

Prof.(a) Hugo Moreira Soares, Dr.(a)  
Orientador(a)

Florianópolis, 2023.

Dedico este trabalho aos meus amados pais.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Isaias e Anilde, meus grandes exemplos, pelo amor, cuidado e confiança em todos os momentos da minha vida. Por compreenderem a distância física que faz parte dessa trajetória, mas que só tem sentido se for feita com vocês.

Ao Prof. Dr. Hugo pela orientação, apoio e confiança. Por compartilhar seus conhecimentos acadêmicos e de vida.

À Profa. Dra. Camila pela coorientação, amizade e por sempre estar disposta a contribuir para o desenvolvimento deste trabalho.

À minha família pela torcida constante. Aos amigos de Floripa por tornarem a estadia nesta cidade ainda mais especial. Também aos amigos de Minas e a tantos outros espalhados pelo Brasil por estarem presentes apesar da distância e tornarem a caminhada mais leve, mesmo em tempos pandêmicos.

Ao Mauricio pelo carinho, companheirismo, dedicação e paciência. Por estar presente nos momentos mais difíceis e, por muitas vezes, acreditar mais em mim do que eu mesma.

Aos amigos do e-biotech pela ajuda em todos os momentos, por compartilharem conhecimentos, noites de pesquisa, cafés e muitas risadas. Em especial, às queridas alunas de iniciação científica que me acompanharam de perto: Vithória, Jamile, Gabi e Carol. Obrigada por todo auxílio, pelo comprometimento e amizade.

Agradeço também a todos os professores, técnicos e pesquisadores da UFSC que me estenderam a mão e ajudaram em diversas etapas desta pesquisa. Ao Leandro e à Fernanda da Central de Análises do EQA por disponibilizar os equipamentos, sempre que necessário. À Eliana do LCME por auxiliar nas análises de MEV. À Aline do LIMA por auxiliar com as análises de cromatografia iônica. Ao Cláudio do LMP por auxiliar na soldagem dos eletrodos. Ao Prof. Dr. Almir Spinelli e à Profa. Dra. Daniela Zambelli Mezalira por disponibilizarem seus equipamentos para as análises de EIE. Ao Mauro do LABIME e Prof. Dr. Louis Sandjo por auxiliarem nas etapas preliminares de quantificação dos antibióticos. Ao Prof. Dr. Admir Giachini por disponibilizar a estrutura do REMA para os testes de extração dos antibióticos.

À UFSC por disponibilizar o espaço físico.

Ao CNPq e CAPES pelo auxílio financeiro.

## RESUMO

Antibióticos são detectados em águas residuárias e ambientes naturais devido ao seu uso contínuo no tratamento e prevenção de doenças infecciosas. Esses micropoluentes alteram rotas metabólicas e comunidades microbianas em processos biológicos importantes para o equilíbrio ecológico, além de contribuir na disseminação de genes de resistência antimicrobiana. Assim, compreender os impactos destes fármacos é essencial para melhorar a qualidade e a segurança da água em estações de tratamento de efluentes. Uma das alternativas para amenizar esses problemas, é por meio do uso de biocélulas combustíveis (do inglês, MFC), pois esses dispositivos têm potencial de geração direta de energia a partir da degradação de poluentes. Este trabalho investigou o desempenho das MFCs para o tratamento de efluentes sintéticos contaminados com antibióticos do grupo das fluoroquinolonas: a ciprofloxacina (CIP), a levofloxacina (LEV) e a norfloxacina (NOR). Foram projetadas quatro MFCs com ânodo e cátodo biológicos para remoção de matéria orgânica (DQO) e nitrogênio. Destas, uma foi usada como controle (MFC-CTL), enquanto as demais foram expostas a concentrações crescentes de cada fluoroquinolona separadamente (50 a 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (MFC-CIP, MFC-LEV e MFC-NOR). Todas operaram com resistência externa ( $R_{\text{ext}}$ ) de 1000  $\Omega$ . A MFC-CTL alcançou remoção de DQO, amônia e nitrogênio total superior a 95%, 90% e 80%, respectivamente, com geração de potência de  $144 \pm 69 \text{ mW}\cdot\text{m}^{-3}$ . Com exceção da remoção de DQO, os demais indicadores de desempenho foram reduzidos com o aumento das concentrações de CIP e LEV, enquanto NOR inibiu somente a etapa de desnitrificação, estimulou a nitrificação e conferiu um leve aumento na potência gerada pela MFC-NOR. Também foi constatado que a redução da  $R_{\text{ext}}$  de 1000  $\Omega$  para 560 e 100  $\Omega$ , reverteu os efeitos inibitórios dos antibióticos sobre os processos biológicos dos cátodos. A espectroscopia de impedância eletroquímica mostrou que a resistência interna ( $R_{\text{int}}$ ) da MFC-CTL foi 89,41  $\Omega$  e que esta aumentou nas demais MFCs após a exposição às fluoroquinolonas. Além disso, foi possível identificar o cátodo como etapa limitante para a geração de eletricidade. A máxima produção de potência (MPP) foi obtida a partir das curvas de polarização e potência e também confirmou que a MFC-CTL alcançou o melhor desempenho com MPP de  $298,08 \pm 14,01 \text{ mW}\cdot\text{m}^{-3}$  enquanto a MFC-LEV apresentou a menor MPP de  $207,08 \pm 16,11 \text{ mW}\cdot\text{m}^{-3}$ . A análise da composição da comunidade microbiana por sequenciamento genético demonstrou que, no longo prazo, a exposição às fluoroquinolonas nas condições de realização do experimento não alterou os principais grupos responsáveis pela remoção dos poluentes convencionais (*Methanosaeta concilii* no ânodo e *Nitrosomonas europaea* e *Candidatus Nitrospira defluvii* no cátodo), apesar de reduzir a abundância relativa destes microrganismos. Porém, nos ânodos das MFC-CIP e MFC-LEV houve o enriquecimento de bactérias que podem estar relacionadas à proliferação de genes de resistência e/ou remoção destes antibióticos pela MFC. Estes resultados demonstraram a resiliência dos sistemas de remoção de matéria orgânica e compostos nitrogenados em MFCs de câmara dupla, com cátodo e ânodo biológicos, quando expostos a efluentes contaminados com fluoroquinolonas.

**Palavras-chave:** Sistemas bioeletroquímicos; bioeletricidade; poluentes emergentes; inibição.

## ABSTRACT

Antibiotics are detected in wastewater and natural environments due to their continued and excessive use in treating and preventing infectious diseases in humans and animals. These micropollutants can interfere with the metabolic routes and microbial communities that are important for the ecological balance, and contribute to the dissemination of antibiotic resistance genes. Thus, understanding the impact and degradation of these drugs is essential to enhance the quality and safety of the water in Wastewater Treatment Plants. Microbial fuel cells (MFC) emerge in this scenario as an alternative to mitigate this problem. This device can generate electricity directly from the degradation of pollutants. In this work, we investigated the performance of MFCs in treating synthetic wastewater contaminated with fluoroquinolones: ciprofloxacin (CIP), levofloxacin (LEV), and norfloxacin (NOR). Four MFCs with biological anode and cathode were designed to remove organic matter (COD) and nitrogen. Of these, one was used as control (MFC-CTL), while the others were exposed to increasing concentrations of each fluoroquinolone separately (50 to 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (MFC-CIP, MFC-LEV, and MFC-NOR). All MFC operated with external resistance ( $R_{\text{ext}}$ ) of 1000  $\Omega$ . The MFC-CTL achieved the removal of COD, ammonia, and nitrogen greater than 95%, 90%, and 80%, respectively, with power generation of  $144 \pm 69 \text{ mW}\cdot\text{m}^{-3}$ . Except for COD removal, the performance indicators were reduced as we increased the CIP and LEV concentrations. On the other hand, NOR inhibited only the denitrification step, stimulated nitrification, and slightly increased the power generated by MFC-NOR. Also, we found that reducing the  $R_{\text{ext}}$  from 1000  $\Omega$  to 560 and 100  $\Omega$  reduced the inhibitory effects of antibiotics on the biological processes of the cathodes. Electrochemical impedance spectroscopy showed that the internal resistance ( $R_{\text{int}}$ ) of the MFC-CTL was 89.41  $\Omega$  and that this increased after fluoroquinolones exposure in other MFCs. In addition, we identified the cathode as the limiting step for electricity generation. The maximum power output (MPO) was obtained from the polarization and power curves and also confirmed that the MFC-CTL achieved the best performance with MPO of  $298.08 \pm 14.01 \text{ mW}\cdot\text{m}^{-3}$ , while the MFC-LEV showed the lowest MPO:  $207.08 \pm 16.11 \text{ mW}\cdot\text{m}^{-3}$ . The composition of the microbial community by genetic sequencing showed that, in the long-term operation, exposure to fluoroquinolones under the conditions of this experiment did not change the main groups responsible for the removal of conventional pollutants (*Methanosaeta concilii* in the anode and *Nitrosomonas europaea* and *Candidatus Nitrospira defluvii* on the cathode), despite reducing the relative abundance of these microorganisms. However, in the anodes of the MFC-CIP and MFC-LEV, bacteria enrichment may be related to the proliferation of resistance genes and/or removal of these antibiotics by the MFC. These results demonstrate the resilience of biological processes for the removal of organic matter and nitrogen in dual-chamber MFCs when exposed to wastewater containing fluoroquinolones.

**Keywords:** Bioelectrochemical system; bioenergy; emerging pollutants; inhibition.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Principais estruturas e processos bioquímicos afetados pela ação de algumas classes de antibióticos. PABA: ácido paraaminobenzóico; DHF: dihidrofolato; THF: tetraidrofolato. ....	24
Figura 2 – Ocorrência de antibióticos em amostras de efluentes. (a) Principais fontes de efluentes contaminados com antibióticos. Frequência de detecção de antibióticos em efluentes (b) urbano, (c) hospitalar, (d) criação de animais e (e) industrial. ....	26
Figura 3 - Potenciais fontes, rotas e sistemas receptores dos antibióticos no meio ambiente..	28
Figura 4 – Estrutura química das fluoroquinolonas: (a) molécula genérica; (b) ciprofloxacina; (c) levofloxacina; (d) norfloxacina. ....	37
Figura 5 - Mapa do uso de fluoroquinolonas em (a)2000 e (b)2015. DDD: dose diária definida .....	38
Figura 6 - Representação esquemática de uma curva de polarização com a identificação das regiões de sobrepotenciais por ativação, ôhmicos e por transferência de massa em uma MFC. ....	43
Figura 7 - Ilustração esquemática de uma MFC. (a) ânodo, onde a substância doadora de elétrons é oxidada; (b) cátodo, onde a substância aceptora de elétrons é reduzida; (e-g) diferentes tipos de membrana de troca iônica que separam o sistema; (h) configuração de único canal sem separação por membrana. ....	45
Figura 8 - Configurações de MFCs: (a) MFC de único canal ou ar-cátodo, (b) MFC de duplo canal, (c) MFC tubular de fluxo ascendente, (d) MFC empilhadas e (e) MFC em placa plana. ....	45
Figura 9 – Principais mecanismos de transferência de elétrons em uma MFC com ânodo e cátodo biológicos: transferência direta de elétrons por contato direto via citocromo C; transferência direta de elétrons por contato direto via nanofios; e transferência indireta de elétrons via mediadores redox. ....	49
Figura 10 – Célula a combustível microbiana: (a) representação esquemática do corte transversal, (b) fotografia da estrutura externa e (c) fotografia da vista interna com eletrodos. ....	57
Figura 11 – Esquema representativo do aparato experimental para operação das MFCs. 1 – Biocélulas combustíveis; 2 – Afluente (alimentação); 3 – Efluente (descarte); 4 – Bomba	

peristáltica; 5 – Bomba compressora de ar; 6 – Circuito elétrico; 7 – Microcontrolador Arduino Uno®; 8 – Notebook. ....	58
Figura 12 – Fotografia dos cartuchos de aço inox e grafite utilizados nas MFCs: (a) total de cartuchos em cada canal, (b) e (c) dimensionamento dos cartuchos. ....	59
Figura 13 – Esquema representativo das etapas envolvidas na análise de diagnóstico microbiológico digital. ....	71
Figura 14 – Micrografia obtida por MEV de duas amostras de grânulos de grafite (a e b) utilizados como eletrodo nas MFCs. ....	73
Figura 15 – (a) Micrografia da membrana catiônica; (b) Espectro EDS na região destacada em amarelo na micrografia. ....	74
Figura 16 – Monitoramento das concentrações de saída do substrato principal das comunidades microbianas dos inóculos: (a) nitrificante, (b) desnitrificante e (c) anaeróbio. ....	76
Figura 17 – Eficiências de remoção de matéria orgânica (– DQO), nitrogênio amoniacal (– N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) e nitrogênio total (– NT) nas MFCs: (a) CTL, (b) CIP, (c) LEV e (d) NOR. ....	80
Figura 18 – Evolução da remoção de poluentes durante os ensaios cinéticos (C1 a C7) no ânodo e cátodo da MFC-CTL. ....	84
Figura 19 – Evolução da remoção de poluentes durante os ensaios cinéticos (C1 a C7) no ânodo e cátodo da MFC-CIP. ....	85
Figura 20 – Evolução da remoção de poluentes durante os ensaios cinéticos (C1 a C7) no ânodo e cátodo da MFC-LEV. ....	88
Figura 21 – Evolução da remoção de poluentes durante os ensaios cinéticos (C1 a C7) no ânodo e cátodo da MFC-NOR. ....	89
Figura 22 – Velocidades máximas de nitrificação calculadas a partir dos ensaios cinéticos (C1 a C7) para os reatores (a) MFC-CTL; (b) MFC-CIP; (c) MFC-LEV e (d) MFC-NOR. ....	92
Figura 23 – Velocidades máximas de remoção de NT calculadas a partir dos ensaios cinéticos (C1 a C7) para os reatores (a) MFC-CTL; (b) MFC-CIP; (c) MFC-LEV e (d) MFC-NOR. ....	93
Figura 24 – Curvas de (a) polarização e (b) potência obtidas ao final da operação das MFCs com resistência externa de 100 Ω e 1000 µg·L <sup>-1</sup> de fluoroquinolonas (exceto na MFC-CTL). ....	100
Figura 25 – Diagramas de Nyquist obtidos por EIE para o ânodo, cátodo e célula completa das MFCs. (a) MFC-CTL (controle, sem antibiótico); (b) MFC-CIP (ciprofloxacina, 1000 µg·L <sup>-1</sup> ); (c) MFC-LEV (levofloxacina, 1000 µg·L <sup>-1</sup> ); (d) MFC-NOR (norfloxacina, 1000 µg·L <sup>-1</sup> ). ...	102
Figura 26 – Abundância relativa dos microrganismos desenvolvidos no ânodo e cátodo das MFCs ao nível de gênero. ....	105

Figura 27 – Micrografias dos biofilmes microbianos desenvolvidos nas MFCs. (a) ânodo MFC-CTL; (b) cátodo MFC-CTL; (c) ânodo MFC-CIP; (d) cátodo MFC-CIP; (e) ânodo MFC-LEV; (f) cátodo MFC-LEV; (g) ânodo MFC-NOR; (b) cátodo MFC-NOR. .... 110

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Potenciais padrão para diferentes reações anódicas e catódicas.....	41
Tabela 2 – Composição dos meios de cultivo dos inóculos .....	61
Tabela 3 – Composição do meio de cultivo .....	63
Tabela 4 – Sumarização das condições operacionais aplicadas para o estudo dos efeitos das fluoroquinolonas (FQ) nas MFCs.....	79
Tabela 5 – Parâmetros de geração de eletricidade obtidos para a MFC-CTL.....	95
Tabela 6 – Parâmetros de geração de eletricidade obtidos para a MFC-CIP. ....	96
Tabela 7 – Parâmetros de geração de eletricidade obtidos para a MFC-LEV.....	97
Tabela 8 – Parâmetros de geração de eletricidade obtidos para a MFC-NOR.....	98
Tabela 9 – Identificação da máxima potência produzida (MPP) durante as curvas de polarização e potência.....	99
Tabela 10- Resistências internas e resistências ôhmicas obtidas a partir do espectro de EIE. ....	103
Tabela 11 – Parâmetros eletroquímicos obtidos em outros trabalhos da literatura. ....	104

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AR – Abundância relativa
- ARB – *Antibiotic Resistant Bacteria*
- ARG – *Antibiotic Resistant Gene*
- CCV – *Closed circuit voltage*
- CO – Condição operacional
- CIP – Ciprofloxacina
- DDD – Dose diária definida
- ddp – Diferença de potencial (V)
- DMD – Diagnóstico microbiológico digital
- D<sub>OW</sub> – Coeficiente de distribuição octanol-água
- DQO – Demanda química de oxigênio (mg·L<sup>-1</sup>)
- DQO/N – Razão DQO nitrogênio
- $DQO_i$  – Concentração de DQO alimentada na MFC (mg·L<sup>-1</sup>)
- $DQO_f$  – DQO do efluente catódico (mg·L<sup>-1</sup>)
- e-biotech – Laboratório de Biotecnologia Ambiental
- EIE – Espectroscopia de impedância eletroquímica
- $E_{MFC}$  – Tensão gerada entre o ânodo e cátodo da MFC (V)
- $E_{ânodo}$  - Potencial de meia-célula do ânodo (V)
- $E_{cátodo}$  - Potencial de meia célula do cátodo (V)
- EPH – Eletrodo padrão de hidrogênio
- EPS – Substâncias poliméricas extracelulares
- ETE – Estação de tratamento de efluentes
- $E^0$  – Potencial padrão de eletrodo
- $F$  – Constante de Faraday (96485,3329 C·mol<sup>-1</sup>)
- FQ – Fluoroquinolona
- I – Corrente elétrica (A)
- $I_v$  – Densidade de corrente (A·m<sup>3</sup>)
- $k$  – Constante de equilíbrio químico
- k<sub>H</sub> – Constante da lei de Henry
- K<sub>OW</sub> – Coeficiente de partição octanol-água

LIMA – Laboratório Integrado de Meio Ambiente  
LEV – Levofloxacin  
MBR – Biorreatores de membrana  
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura  
MFC – *Microbial Fuel Cell*  
MFC-CTL – MFC controle  
MFC-CIP – MFC com ciprofloxacina  
MFC-LEV – MFC com levofloxacin  
MFC-NOR – MFC com norfloxacina  
MPP – Máxima Potência Produzida  
N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> – nitrogênio na forma amoniacal (mg·L<sup>-1</sup>)  
*N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup><sub>i</sub>* – Concentração de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> alimentada na MFC (mg·L<sup>-1</sup>)  
*N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup><sub>f</sub>* – Concentração de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no efluente catódico (mg·L<sup>-1</sup>)  
N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> – Nitrogênio na forma de nitrito (mg·L<sup>-1</sup>)  
*N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup><sub>f</sub>* – Concentração de N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> no efluente catódico (mg·L<sup>-1</sup>)  
N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> – Nitrogênio na forma de nitrato (mg·L<sup>-1</sup>)  
*N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sub>f</sub>* – Concentração de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no efluente catódico (mg·L<sup>-1</sup>)  
NOR – Norfloxacina  
NT – Nitrogênio total  
OCV – *Open circuit voltage*  
OD – Oxigênio dissolvido  
ODS – Objetivos para o Desenvolvimento Sustentável  
ONU – Organização das Nações Unidas  
P – Potência elétrica (W)  
*P<sub>v</sub>* – Densidade de potência (W·m<sup>3</sup>)  
pKa – Constante de dissociação  
R – Constante dos gases ideais (J·mol<sup>-1</sup>·K<sup>-1</sup>)  
*R<sub>atv</sub><sup>a</sup>* – Resistência associada às perdas por ativação no ânodo (Ω)  
*R<sub>atv</sub><sup>c</sup>* – Resistência associada às perdas por ativação no cátodo (Ω)  
*R<sub>ext</sub>* – Resistência externa (Ω)  
*R<sub>int</sub>* – Resistência interna (Ω)

$R_{TM}^a$  – Resistência associada às perdas por transferência de massa no ânodo ( $\Omega$ )

$R_{TM}^c$  – Resistência associada às perdas por transferência de massa no cátodo ( $\Omega$ )

$R_{\Omega}$  – Resistência ôhmica ( $\Omega$ )

SMP – Produtos microbianos solúveis

SSF – Sólidos suspensos fixos

SST – Sólidos suspensos totais

SSV – Sólidos suspensos voláteis

$S_t$  - Concentração de substrato no tempo  $t$  ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )

$S_{t0}$  - Concentração de substrato no tempo  $t_0$  ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )

$t$  - Tempo (s)

$T$  – Temperatura (K)

TEE – Transferência extracelular de elétrons

TRH – Tempo de retenção hidráulica

$V$  – Volume do reator ( $\text{m}^3$ )

$Y_{S/X}$  – Razão substrato-microrganismo

$\varepsilon_{DQO}$  – Eficiência de remoção de DQO no sistema (%)

$\varepsilon_{N-NH_4^+}$  – Eficiência de conversão de amônia (%)

$\varepsilon_{NT}$  – Eficiência de remoção de nitrogênio total no sistema (%)

$\theta_C$  – Tempo de retenção celular

$\Delta c$  – Variação de concentração de substrato durante o ciclo de duração  $t$  ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )

$\Delta t$  – Intervalo de tempo (h)

$-r_s$  – Velocidade de consumo do substrato ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )

$-r_{max}$  – Velocidade máxima de consumo do substrato ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
1.1	OBJETIVOS .....	22
1.1.1	<b>Objetivo Geral</b> .....	<b>22</b>
1.1.2	<b>Objetivos Específicos</b> .....	<b>22</b>
1.2	PERGUNTAS DE PESQUISA.....	22
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>23</b>
2.1	ANTIBIÓTICOS: IMPORTÂNCIA CLÍNICA E PROBLEMÁTICA AMBIENTAL .	23
2.1.1	<b>Ocorrência e impacto ambiental dos antibióticos em efluentes</b> .....	<b>24</b>
2.1.2	<b>Variáveis relacionadas à remoção de antibióticos em ETEs</b> .....	<b>29</b>
2.1.2.1	<i>Propriedades físico-químicas dos antibióticos</i> .....	29
2.1.2.2	<i>Condições operacionais</i> .....	31
2.1.3	<b>Remoção de antibióticos por processos biológicos</b> .....	<b>33</b>
2.1.4	<b>Fluoroquinolonas como antibióticos de interesse</b> .....	<b>36</b>
2.2	CÉLULAS A COMBUSTÍVEL MICROBIANAS .....	39
2.2.1	<b>Fundamentos sobre a geração de eletricidade nas MFCs</b> .....	<b>40</b>
2.2.1.1	<i>Potencial, corrente e potência</i> .....	40
2.2.1.2	<i>Sobrepotenciais e resistência interna</i> .....	42
2.2.2	<b>Configurações e materiais utilizados nas MFCs</b> .....	<b>44</b>
2.2.3	<b>Microrganismos eletrocalisadores</b> .....	<b>47</b>
2.2.4	<b>Transferência extracelular de elétrons</b> .....	<b>48</b>
2.2.4.1	<i>Transferência direta de elétrons</i> .....	49
2.2.4.2	<i>Transferência indireta de elétrons</i> .....	50
2.2.4.3	<i>Transferência de elétrons no cátodo</i> .....	51
2.2.5	<b>Remoção de nitrogênio no biocátodo de MFCs</b> .....	<b>52</b>
2.2.5.1	<i>Fundamentos da nitrificação e desnitrificação</i> .....	53
2.2.6	<b>Aplicação da MFC no tratamento de efluentes contaminados com antibióticos</b>	<b>54</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>57</b>



3.1	PROJETO E CONSTRUÇÃO DAS MFCS .....	57
3.1.1	<b>Eletrodos.....</b>	<b>59</b>
3.1.2	<b>Membranas .....</b>	<b>60</b>
3.2	INÓCULOS .....	60
3.2.1	<b>Canal anódico .....</b>	<b>62</b>
3.2.2	<b>Canal catódico.....</b>	<b>62</b>
3.3	MEIO DE CULTIVO.....	62
3.4	PARTIDA E OPERAÇÃO DAS MFCS.....	63
3.4.1	<b>Monitoramento das MFCs.....</b>	<b>64</b>
3.4.1.1	<i>Parâmetros físico-químicos.....</i>	<i>64</i>
3.4.1.2	<i>Parâmetros eletroquímicos .....</i>	<i>65</i>
3.5	AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DAS MFCS NA PRESENÇA DE ANTIBIÓTICOS .....	66
3.5.1	<b>Ensaio cinéticos .....</b>	<b>67</b>
3.6	INFLUÊNCIA DA RESISTÊNCIA EXTERNA NA REMOÇÃO DOS ANTIBIÓTICOS .....	68
3.7	CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DAS MFCS.....	68
3.7.1	<b>Curvas de polarização e potência .....</b>	<b>68</b>
3.7.2	<b>Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) .....</b>	<b>69</b>
3.8	CARACTERIZAÇÃO DAS COMUNIDADES MICROBIANAS.....	70
3.8.1	<b>Morfologia.....</b>	<b>70</b>
3.8.2	<b>Diagnóstico microbiológico digital.....</b>	<b>71</b>
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>73</b>
4.1	CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS.....	73
4.1.1	<b>Grânulos de grafite.....</b>	<b>73</b>
4.1.2	<b>Membrana catiônica.....</b>	<b>74</b>
4.2	ACLIMATAÇÃO DOS INÓCULOS .....	75

4.3	DESEMPENHO DAS MFCS PARA REMOÇÃO DE POLUENTES CONVENCIONAIS .....	77
<b>4.3.1</b>	<b>Influência das fluoroquinolonas na remoção de poluentes convencionais .....</b>	<b>82</b>
4.3.1.1	<i>MFC-CTL</i> .....	83
4.3.1.2	<i>MFC-CIP</i> .....	84
4.3.1.3	<i>MFC-LEV</i> .....	87
4.3.1.4	<i>MFC-NOR</i> .....	88
4.3.1.5	<i>Influência das FQs e da <math>R_{ext}</math> sobre a velocidade máxima de consumo dos poluentes</i>	<i>91</i>
4.4	DESEMPENHO DAS MFCS PARA GERAÇÃO ELETRICIDADE .....	93
<b>4.4.1</b>	<b>Caracterização eletroquímica .....</b>	<b>98</b>
4.4.1.1	<i>Avaliação da máxima potência produzida nas MFCS</i> .....	99
4.4.1.2	<i>Avaliação da resistência interna das MFCS</i> .....	101
4.5	EFEITO DAS FLUOROQUINOLONAS SOBRE A COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE MICROBIANA .....	105
<b>4.5.1</b>	<b>Identificação dos microrganismos desenvolvidos nas MFCS por sequenciamento genético .....</b>	<b>105</b>
<b>4.5.2</b>	<b>Morfologia dos biofilmes microbianos .....</b>	<b>109</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>112</b>
<b>6</b>	<b>SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS.....</b>	<b>113</b>
<b>7</b>	<b>PUBLICAÇÕES E DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA .....</b>	<b>114</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>115</b>
	<b>APÊNDICE 1 – Concentrações de antibióticos em efluentes .....</b>	<b>137</b>
	<b>APÊNDICE 2 – Código para coleta dos dados voltagem pelo Arduino UNO® .....</b>	<b>150</b>
	<b>APÊNDICE 3 – Monitoramento das formas nitrogenadas e da DQO nas MFCS.....</b>	<b>154</b>
	<b>APÊNDICE 4 – Monitoramento das formas nitrogenadas e da DQO nas MFCS.....</b>	<b>158</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A disseminação de doenças infecciosas tem-se mostrado um grande desafio para a nossa sobrevivência. Apesar dos avanços das condições sanitárias e higiênicas, tais doenças ainda eram a principal causa de morte no início do século XX (RIBEIRO DA CUNHA; FONSECA; CALADO, 2019). Este cenário só começou a mudar após a descoberta dos antibióticos na década de 1920 (HUTCHINGS; TRUMAN; WILKINSON, 2019). O êxito alcançado com a aplicação de antibióticos no tratamento de doenças acarretou no seu uso indiscriminado e generalizado em escala mundial. Apesar dos dados de consumo de antibióticos ainda serem escassos em diversos países, os dados de comercialização destes fármacos indicam que houve um aumento global de 65% no período de 2000-2015 com projeção de crescimento em 15% entre 2015 e 2030 (KLEIN et al., 2018).

O cenário de pandemia da SARS-Cov-2 pode intensificar o consumo de antibióticos, aumentando o alerta sobre este tópico. Apesar da COVID-19 ser uma doença viral, os antibióticos são frequentemente prescritos para tratar coinfeções bacterianas (RAWSON et al., 2020). Estudos recentes indicam que a prescrição de antibióticos a pacientes com COVID-19 pode chegar a até 90% dos casos, embora, a coinfeção seja confirmada em apenas 5% (LAI et al., 2020; RAWSON et al., 2020; USMAN; FAROOQ; HANNA, 2020).

As fluoroquinolonas estão entre as classes de antibióticos mais consumidas a nível nacional e global para o tratamento de doenças causadas por bactérias gram-positivas, gram-negativas e atípicas. Dentre os antibióticos pertencentes a este grupo, a ciprofloxacina, levofloxacina e norfloxacina são largamente utilizadas e frequentemente detectados em ambientes naturais e águas residuárias. Uma vez no ambiente, os antibióticos podem exibir toxicidade sobre os microrganismos naturais, alterando a composição das comunidades microbianas, e exercer uma pressão seletiva para a proliferação de genes de resistência antimicrobiana. Esta última implica em graves consequências para a saúde humana, pois torna o tratamento de doenças infecciosas menos eficiente, mais caro e, em alguns casos, impossível (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

Com o intuito de minimizar os impactos ambientais provocados pelos antibióticos, diversas estratégias vêm sendo adotadas como, por exemplo, controle do uso, monitoramento em amostras ambientais e estudo de processos para a remoção destes compostos em efluentes. Com relação a esta última, o principal gargalo está na configuração das estações de tratamento de efluentes (ETE) convencionais, que não foram projetadas para a remoção de micropoluentes,

como é o caso dos antibióticos. Apesar de alguns estudos demonstrarem a remoção destes compostos durante o tratamento, a eficiência de remoção sofre oscilações devido ao tipo de fármaco, suas propriedades físico-químicas, configuração da ETE e suas condições operacionais. Por isso, diversos processos, tanto físico-químicos quanto biológicos, vem sendo propostos para tratar efluentes contaminados por antibióticos (AWFA et al., 2018; GRANDCLÉMENT et al., 2017).

Os processos biológicos apresentam algumas vantagens sobre os físico-químicos, pois requerem menores custos energéticos e insumos químicos. Nesse âmbito, surgem as biocélulas combustíveis, também conhecidas como células a combustível microbianas (do inglês: *Microbial Fuel Cell*, MFC). Esta tecnologia relativamente recente e encontrada com diversas configurações vem ganhando destaque devido à sua capacidade de conversão da energia armazenada nas ligações químicas de compostos para gerar corrente elétrica (SLATE et al., 2019). Assim, por meio das MFCs é possível aliar a remoção de poluentes com a recuperação de recursos na forma de eletricidade, visando atingir um processo com balanço neutro ou positivo do ponto de vista energético. Além disso, a produção de lodo é reduzida nestes sistemas, em função do direcionamento dos elétrons para produção de corrente, o que também configura uma vantagem do ponto de vista econômico.

A remoção de antibióticos por processos biológicos depende de fatores relacionados tanto com as propriedades físico-químicas do fármaco, quanto com as características inerentes de cada processo e suas condições operacionais (LANGBEHN; MICHELS; SOARES, 2021). O conjunto de evidências a respeito deste tema tem indicado que a melhor abordagem, neste caso, seria a associação de processos com características complementares, englobando suas condições operacionais, microrganismos e mecanismos de remoção. Diante desta hipótese, a configuração da MFC pensada para este trabalho associa três processos biológicos em sequência para o tratamento de efluentes contaminados com fluoroquinolonas: um processo anaeróbico de remoção de matéria orgânica no ânodo, seguido pela nitrificação e desnitrificação simultâneas para remoção de nitrogênio no cátodo. Apesar de existirem estudos prévios que exploram os efeitos de antibióticos em MFCs, nenhum deles foi realizado pensando nesta configuração de processo. Além disso, este trabalho se destaca por explorar diferentes faixas de concentração de antibiótico, pela duração do estudo (703 dias) e pela operação dos reatores em modo contínuo.

É válido destacar que este trabalho está alinhado com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) estabelecidos pela ONU (2015). O tratamento de efluente promovido pelas MFCs engloba o ODS 3 “Saúde e bem-estar” e o ODS 6 “Água potável e

saneamento”, com destaque para o objetivo 6.3 “melhorar a qualidade da água, reduzindo a poluição, eliminando despejo e minimizando a liberação de produtos químicos e materiais perigosos, reduzindo à metade a proporção de águas residuais não tratadas e aumentando substancialmente a reciclagem e reutilização segura globalmente até 2030”. As MFCs também são uma fonte de energia sustentável, atendendo ao ODS 7 “Energia limpa e acessível”. Por fim, a MFC é uma tecnologia limpa e ambientalmente correta focada na valorização de resíduos, o que está de acordo com o ODS 9 “Indústria, inovação e infraestrutura”.

O Laboratório de Biotecnologia Ambiental (e-biotech) investiga os efeitos e a degradação de poluentes emergentes em bioprocessos de tratamento de efluentes desde 2010. Até o momento, já foram desenvolvidas pesquisas com antibióticos, nanopartículas e quimioterápicos (BRESSAN, 2012; PERAZZOLI, 2015; MICHELS, 2016; STEINMETZ, 2016; LANGBEHN, 2018; PEREIRA, 2020; MICHELON, 2021; KELBERT, 2021). Em uma das pesquisas, Bressan (2012) demonstrou que o antibiótico sulfato de colistina inibe a nitrificação, tanto em processo batelada quanto contínuo. Por sua vez, Langbehn (2018) demonstrou que o mesmo processo também pode ser inibido pela exposição às tetraciclinas. Steinmetz (2016) observou que, apesar da inibição provocada por antibióticos na digestão anaeróbia, o bioprocessos foi capaz de reduzir a concentração final de antibióticos em dejetos suínos. Mais recentemente, Michelon (2021) verificou a degradação de tetraciclinas por microalgas.

O e-biotech iniciou sua linha de pesquisa em sistemas bioeletroquímicos, na qual estão inseridos os estudos com MFCs, em 2015. Perazzoli (2018) desenvolveu uma célula microbiana de dessalinização com biocátodo anóxico para remoção simultânea de C e N, geração de bioeletricidade e dessalinização. Demais pesquisas em andamento no laboratório investigam o desempenho destes sistemas com diferentes condições operacionais, materiais de eletrodos e tipos de efluentes.

Neste contexto, o presente trabalho busca aprofundar os conhecimentos sobre a operação das MFCs e compreender o desempenho deste sistema quando exposto a compostos recalcitrantes frequentemente detectados em efluentes.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como principal objetivo investigar o desempenho de células a combustível microbianas (MFC) no tratamento de efluente contaminado com antibióticos da classe das fluoroquinolonas – ciprofloxacina, levofloxacina e norfloxacina.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- a) Caracterizar os materiais utilizados na construção das MFCs – membrana e eletrodo;
- b) Monitorar as MFCs quanto à remoção de poluentes (matéria orgânica e nitrogênio) e à geração de eletricidade;
- c) Caracterizar a geração de eletricidade das MFCs quanto à máxima potência produzida e a resistência interna;
- d) Avaliar os efeitos das fluoroquinolonas sobre a remoção de poluentes e a geração de eletricidade;
- e) Avaliar o efeito da resistência externa sobre a remoção de poluentes e a geração de eletricidade;
- f) Avaliar os efeitos das fluoroquinolonas sobre as comunidades microbianas.

## 1.2 PERGUNTAS DE PESQUISA

- As fluoroquinolonas (FQs) e a resistência externa ( $R_{ext}$ ) interferem na remoção de poluentes?
- As fluoroquinolonas (FQs) interferem na geração de eletricidade?
- As fluoroquinolonas (FQs) alteram a comunidade microbiana?

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

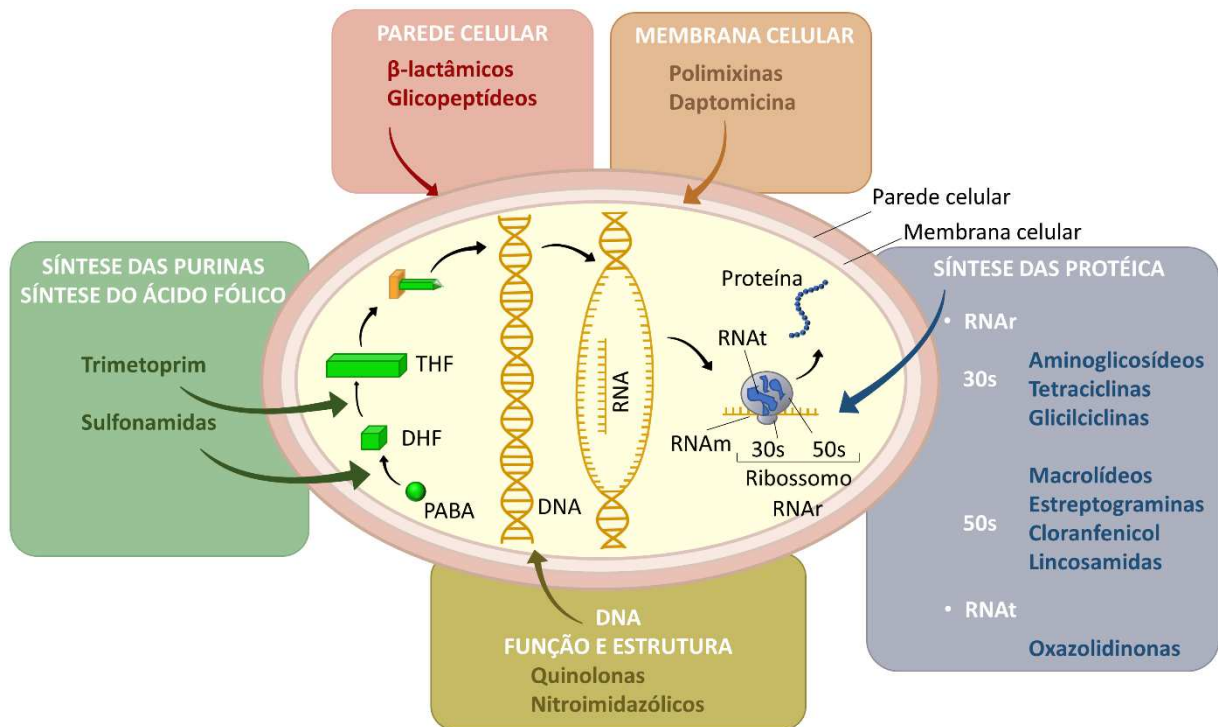
### 2.1 ANTIBIÓTICOS: IMPORTÂNCIA CLÍNICA E PROBLEMÁTICA AMBIENTAL

Antibióticos são moléculas biologicamente ativas, de origem natural ou sintética, que atuam sobre o metabolismo de bactérias, fungos e protozoários a fim de eliminar ou inibir o crescimento destes patógenos (KÜMMERER, 2009). Registros históricos indicam que povos antigos, como os gregos e chineses, já utilizavam microrganismos produtores de antibióticos obtidos a partir do pão mofado para o tratamento de feridas há mais de 2000 anos (HUTCHINGS; TRUMAN; WILKINSON, 2019). Contudo, o desenvolvimento e uso clínico de fármacos para o tratamento de doenças infecciosas só teve início após a descoberta do Salvarsan em 1907, que foi o primeiro antibiótico eficaz e seguro contra sífilis (HUTCHINGS; TRUMAN; WILKINSON, 2019; RIBEIRO DA CUNHA; FONSECA; CALADO, 2019).

Os antibióticos são classificados com base nas suas estruturas moleculares e propriedades físico-químicas. O modo de ação destes fármacos pode ser bactericida ou bacteriostático, além de ser distinguido pela seletividade do tratamento (estrito ou amplo espectro) (OBEROI et al., 2019). Geralmente os mecanismos de ação dos antibióticos interferem em estruturas e processos bioquímicos essenciais para o bom funcionamento do microrganismo como, por exemplo, na síntese de componentes da parede celular, no metabolismo de ácidos nucleicos e na transcrição do DNA (Figura 1) (MACDOUGALL; CHAMBERS, 2012).

Os antibióticos são habitualmente associados ao tratamento de doenças infecciosas, porém, esses fármacos também podem ser aplicados no tratamento de câncer, transplante de órgãos e cirurgias de peito aberto (HUTCHINGS; TRUMAN; WILKINSON, 2019). Além disso, são utilizados na medicina veterinária e em sistemas de criação intensiva de animais como agentes preventivos e promotores de crescimento, além do uso terapêutico (AMINOV, 2010). No entanto, o uso de antibióticos como promotores de crescimento animal é uma prática cada vez mais questionada, devido aos perigos associados à propagação de genes de resistência antimicrobianos, e vem sendo desencorajada em diversos países (CHATTOPADHYAY, 2014).

Figura 1 – Principais estruturas e processos bioquímicos afetados pela ação de algumas classes de antibióticos. PABA: ácido paraaminobenzóico; DHF: dihidrofolato; THF: tetrahydrofolato.



Fonte: Adaptado de Anvisa (2007).

Após a administração, os antibióticos e seus metabólitos são excretados via renal (urina) e biliar (fezes) (JJEMBA, 2006). A importância de cada via de excreção, assim como o grau de metabolização do composto, irá variar de acordo com o antibiótico em questão. A ciprofloxacina, por exemplo, é excretada majoritariamente via renal e com aproximadamente 70% do composto sem estar degradado. Já a ampicilina pode ser eliminada pelas duas vias com proporção moderadamente baixa do composto original (entre 6 e 39%) (BAIETTO et al., 2014; JJEMBA, 2006). Portanto, o consumo de antibióticos por seres humanos e animais é uma das fontes de contaminação por antibióticos no ambiente. Outras fontes são o descarte incorreto de antibióticos não utilizados ou fora do prazo de validade e os resíduos dos processos produtivos farmacêuticos (SCOTT et al., 2018; VATOVEC et al., 2021). Os antibióticos liberados por estas diferentes fontes podem alcançar o meio ambiente pelo descarte direto ou indireto, quando são captados pelos sistemas de tratamento de efluentes.

### 2.1.1 Ocorrência e impacto ambiental dos antibióticos em efluentes

O descarte de efluentes se destaca frente às demais rotas de eliminação de antibióticos, pois permite a liberação continuada destes fármacos no ambiente (TRAN; REINHARD; GIN,



2018). Os principais tipos de efluentes contaminados com antibióticos são: doméstico, hospitalar, efluentes da criação intensiva de animais, aquicultura e de indústrias farmacêuticas (OBEROI et al., 2019). Ademais, os antibióticos já foram detectados em efluentes de países distribuídos em todas as regiões do planeta (BECKER et al., 2020; DINH et al., 2017; K'OREJE et al., 2016; PARK; LEE, 2018; RODRIGUEZ-MOZAZ et al., 2020; SZEKERES et al., 2017; ZHANG et al., 2018). A concentração dos antibióticos nesses efluentes pode variar de  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  a  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , sendo afetada pela região demográfica, mudanças sazonais, demográficas e econômicas.

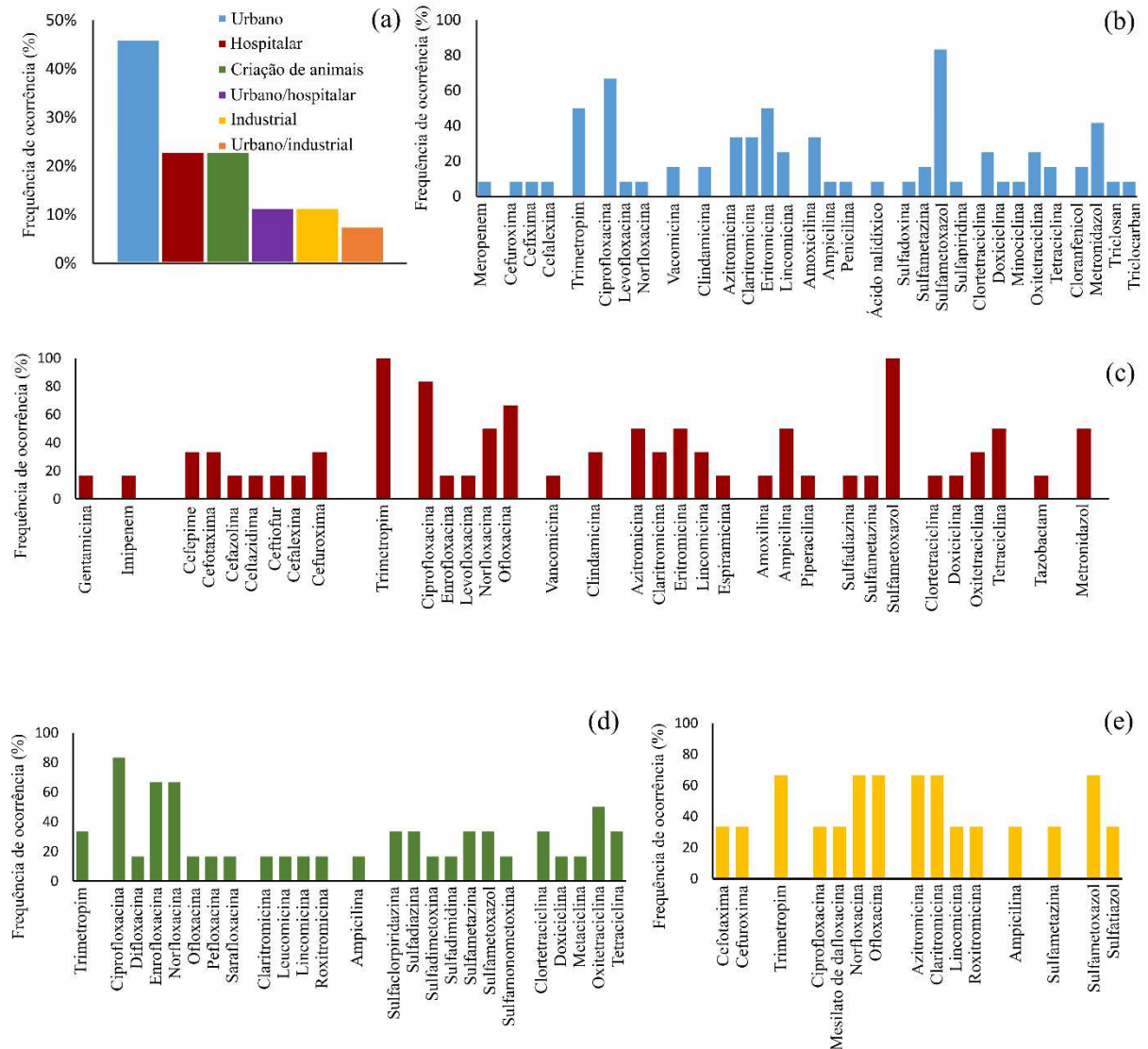
Uma representação gráfica da ocorrência de antibióticos em efluentes está apresentada na Figura 2. Para esta análise foram selecionados artigos publicados desde 2015 que investigaram a ocorrência de antibióticos em diferentes tipos de efluentes e em países com condições socioeconômicas distintas. Ao todo, foram detectados 62 antibióticos e as faixas de concentração desses compostos estão apresentadas no Apêndice 1 (LANGBEHN; MICHELS; SOARES, 2021). Além disso, estes dados foram utilizados para calcular a frequência de ocorrência dos antibióticos em efluentes apresentada na Figura 2.

Sulfametoxazol, trimetropim e ciprofloxacina foram os antibióticos detectados com maior frequência nos efluentes doméstico e hospitalar (Figura 2(b) e Figura 2(c)). Em alguns casos, a concentração destes fármacos em efluentes não tratados alcançou valores considerados altos para esta classe de poluentes: o sulfametoxazol foi detectado em efluente doméstico na concentração de  $54,83 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (K'OREJE et al., 2016); a ciprofloxacina foi encontrada em efluente hospitalar na concentração de  $40,90 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (THAI et al., 2018); e o trimetropim foi detectado em efluentes doméstico e hospitalar com  $72,85 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  e  $30,38 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente (K'OREJE et al., 2016; SZEKERES et al., 2017). A preocupação com a concentração destes poluentes, e não somente com a detecção destes antibióticos, está embasada na quantidade crescente de evidências que sugerem uma correlação positiva entre a concentração do antibiótico e a abundância relativa de genes de resistência antimicrobiana (ARG, do inglês *antibiotic resistance gene*) (MANAIA et al., 2018; WANG et al., 2015; YANG et al., 2019; ZHAO et al., 2021). Deste modo, a concentração de antibióticos em efluentes também pode aumentar a pressão seletiva sobre bactérias de sistemas naturais ou engenheirados, fazendo com que prevaleçam as linhagens resistentes aos antibióticos.

Os efluentes da criação intensiva de animais, em especial da suinocultura, se destacam pela alta concentração de antibióticos. Alguns antibióticos, como sulfametoxazol e ciprofloxacina, foram detectados em altas concentrações em efluentes da suinocultura (LEÓN-AGUIRRE et al., 2019; PARPOUNAS et al., 2017; ZHU et al., 2020). Além disso, o estudo

conduzido por Zhang et al. (2018) em duas ETE de suinocultura na China detectou 22 tipos de antibióticos nestes efluentes com concentração total máxima de  $3,78 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . A quantidade e o tipo de antibiótico (em especial aqueles que também são usados no tratamento de doenças em humanos) aplicado na criação intensiva de animais podem estar correlacionados com a ocorrência de ARG em isolados bacterianos na suinocultura (CHANTZIARAS et al., 2014).

Figura 2 – Ocorrência de antibióticos em amostras de efluentes. (a) Principais fontes de efluentes contaminados com antibióticos. Frequência de detecção de antibióticos em efluentes (b) urbano, (c) hospitalar, (d) criação de animais e (e) industrial.



Fonte: Langbehn; Michels; Soares (2021).

Também se faz necessário compreender o potencial de inibição dos antibióticos nos processos biológicos utilizados nas ETEs. Caso isto ocorra, a qualidade do efluente tratado pode ser comprometida, descartando no ambiente poluentes que deveriam ser removidos durante o processo. A ação inibitória observada em processos biológicos de ETEs depende de diversos

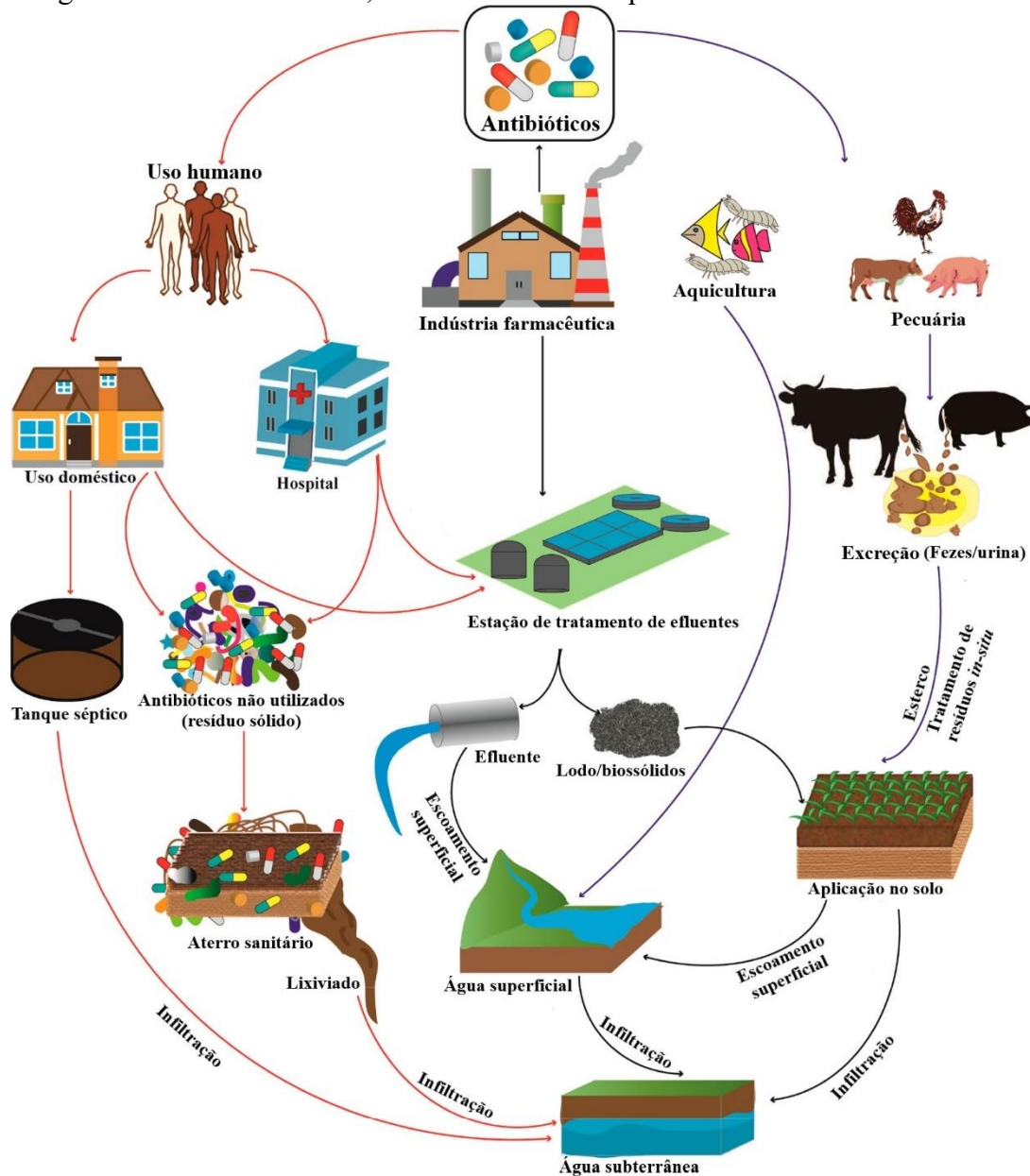
fatores como o tipo de antibiótico, a composição do meio, a comunidade bacteriana, tempo de exposição, temperatura, pH, entre outros, o que dificulta a previsão do impacto ambiental gerado. Halling-Sørensen et al. (2000) investigaram o efeito da mecillinam, ciprofloxacina e trimetoprima em lodos ativados. Neste estudo, a ciprofloxacina apresentou alta toxicidade sobre microrganismos e  $0,61 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  do antibiótico inibiu a atividade destas bactérias em 50%. Já a mecillinam e trimetoprima apresentaram toxicidade significativamente inferior, sendo necessários  $61,1$  e  $17,8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente, para provocar uma inibição em 50%. Liu et al. (2013) também observaram os efeitos tóxicos da ciprofloxacina em culturas desnitrificantes, sulfato redutoras e metanogênicas e obtiveram diferentes efeitos inibitórios sobre essas comunidades bacterianas. Na metanogênese a ciprofloxacina, na concentração de  $80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , provocou uma redução da produção de metano em 30%; em relação às bactérias redutoras de sulfato observou-se, a princípio, uma forte inibição na produção de sulfeto de hidrogênio que foi amenizada ao longo do período de incubação; a desnitrificação, no entanto, não foi inibida pela presença do antibiótico.

Devido à recalcitrância característica de muitas das moléculas de antibióticos, estes compostos podem persistir no efluente mesmo após o seu tratamento. Consequentemente, diversos estudos reportam a presença dos antibióticos e seus metabólitos em águas superficiais, solo e animais em ecossistemas em todo o mundo (ČELIĆ et al., 2019; CHA; CARLSON, 2018; HE et al., 2019; HERNÁNDEZ et al., 2019; PRAVEENA et al., 2018). Ainda na década de 80, foram feitos os primeiros registros da ocorrência de antibióticos em rios e na água potável (WATTS et al., 1984). Atualmente, os antibióticos também foram detectados em efluentes tratados e em águas marinhas da Antártica (HERNÁNDEZ et al., 2019). Neste estudo foram detectados ARGs em microrganismos das ETEs e em cepas de *Escherichia coli* isoladas do mar, expondo a proliferação em escala global destes genes. Quando se considera a baixa densidade populacional da Antártica, tais descobertas também reforçam a necessidade de intensificar os esforços para controlar a proliferação dos ARGs, tanto a partir da redução do consumo, quanto pela melhora na eficiência de remoção de antibióticos nas ETEs.

A contaminação ambiental por antibióticos também pode ocorrer por meio do reaproveitamento do lodo ativado proveniente de ETEs como biofertilizante. Apesar do lodo apresentar propriedades favoráveis para sua aplicação na agricultura, ele também pode absorver diversos micropoluentes, como antibióticos e demais fármacos. Deste modo, a aplicação do lodo ativado no solo pode se caracterizar como mais uma fonte de contaminação ambiental por antibióticos, contribuindo para a proliferação de ARG e modificação da microbiota natural

(CHEN et al., 2016). A Figura 3 apresenta de forma esquemática as principais rotas de entrada de antibióticos no meio-ambiente descritos neste tópico.

Figura 3 - Potenciais fontes, rotas e sistemas receptores dos antibióticos no meio ambiente.



Fonte: Adaptado de Oberoi et al. (2019).

Diversas interações podem ocorrer entre os antibióticos e o meio ambiente, portanto, seus potenciais impactos podem ser observados em diversas esferas do ecossistema. Tais interações são complexas e seus efeitos podem variar de acordo com o tipo de antibiótico, concentração, o tempo de exposição e a composição da comunidade microbiana. O efeito mais estudado e que gera maior preocupação da sociedade é a propagação dos genes de resistência. Cepas bacterianas resistentes a antibióticos surgem naturalmente durante o processo de divisão

e reprodução celular destes microrganismos, no entanto a exposição aos antibióticos exerce uma pressão seletiva sobre esses microrganismos. Assim, os microrganismos resistentes prevalecem e continuam sua reprodução, enquanto os microrganismos sensíveis são eliminados.

Uma das estratégias a serem seguidas para reduzir os impactos dos antibióticos no ambiente é o desenvolvimento de processos que garantam a remoção eficiente dos antibióticos, isto é, sem as severas disparidades entre as eficiências de remoção frequentemente observadas nas estações de tratamento de efluentes (GAFFNEY et al., 2017; HARRABI et al., 2018; MIRZAEI et al., 2018). Com essa estratégia deseja-se alcançar altas eficiências de remoção para os diversos antibióticos que possam ser detectados nos efluentes. Além disso, a mineralização destes compostos é uma das características desejáveis para reduzir a toxicidade do efluente. Portanto, faz-se necessário conhecer as propriedades moleculares e os parâmetros de processos que possam influenciar na remoção de antibióticos.

## **2.1.2 Variáveis relacionadas à remoção de antibióticos em ETEs**

Tanto a ocorrência, quanto a remoção de antibióticos em efluentes são influenciadas pelas propriedades físico-químicas destes compostos e pelas condições operacionais de cada processo de tratamento. Portanto, para definir o tratamento adequado em cada caso e mitigar os impactos ambientais, é fundamental compreender os fenômenos envolvidos na remoção destes fármacos.

### *2.1.2.1 Propriedades físico-químicas dos antibióticos*

Como já mencionado, os antibióticos são classificados de acordo com seu mecanismo de ação e sua estrutura química. Consequentemente, compostos que compartilham estruturas químicas similares poderão apresentar semelhanças em sua atividade bactericida, eficácia e efeitos colaterais. Da mesma forma, o caráter recalcitrante destas moléculas também será intimamente relacionado à sua estrutura química e a suas propriedades físico-químicas.

Dentre os fatores que controlam a ocorrência e a remoção dos poluentes em ETEs podem ser citados: solubilidade, volatilidade, fotodegradação e biodegradabilidade (TIWARI et al., 2017). No entanto, para os antibióticos, volatilidade e fotodegradação podem ser desconsideradas em muitos casos.

A volatilidade é definida pela constante da lei de Henry ( $k_H$ ). Para que uma molécula seja considerada volátil, ela necessita de um  $k_H$  superior a  $3 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot (\text{m}^{-3} \cdot \text{Pa}^{-1})$  (TIWARI et al., 2017; TRAN; REINHARD; GIN, 2018). Contudo, os antibióticos possuem valores de  $k_H$  extremamente baixos, entre  $4,97 \cdot 10^{-31}$  e  $1,58 \cdot 10^{-10} \text{ mol} \cdot (\text{m}^{-3} \cdot \text{Pa}^{-1})$ , e, portanto, dificilmente serão removidos via volatilização (SCHAIDER; RODGERS; RUDEL, 2017).

A fotodegradação, por sua vez, é impedida pelas características dos processos biológicos das ETEs. Nestes sistemas, a alta concentração de biomassa aumenta a turbidez do efluente bloqueando a penetração da luz solar e, portanto, limita a fotodegradação de fármacos durante estes processos (TIWARI et al., 2017). No entanto, quando aplicada como pré ou pós tratamento de efluentes com baixa turbidez, a fotodegradação pode promover a degradação de alguns antibióticos, aumentando também a biodegradabilidade do composto e, conseqüentemente, melhorando a eficiência dos bioprocessos (DE LA CRUZ et al., 2012).

A solubilidade dos antibióticos e dos demais micropoluentes em ETEs está intimamente relacionada ao potencial de sorção da molécula, o qual pode envolver outras propriedades físico-químicas como: hidrofobicidade, constante de dissociação e coeficiente de partição. A hidrofobicidade pode ser mensurada a partir do coeficiente de partição octanol-água ( $K_{OW}$ ) ou do coeficiente de distribuição octanol-água ( $D_{OW}$ ). Até o momento, aceita-se que um composto com  $\log K_{OW} > 4,0$  ou  $\log D_{OW} < 3,0$  poderá apresentar maior potencial de adsorção no lodo ativado ou biosólidos, enquanto compostos com  $K_{OW} < 2,5$  ou  $\log D_{OW} < 1,0$  terá baixo potencial de adsorção (TRAN; REINHARD; GIN, 2018). Deste modo, antibióticos de caráter hidrofóbico como triclosan ( $\log K_{OW} = 4,8$  e  $\log D_{OW} = 4,19$ , pH 8,0) e triclocarban ( $\log K_{OW} = 4,9$  e  $\log D_{OW} = 5,27$ , pH 8,0) tendem a ser adsorvidos pelo lodo ativado, onde são comumente detectados em altas concentrações (TRAN et al., 2016). No entanto, Li e Zhang (2010) reportaram elevado potencial de adsorção no lodo ativado para antibióticos com baixa hidrofobicidade, como as fluoroquinolonas (norfloxacin, ofloxacin e ciprofloxacina). Tal fenômeno foi justificado pelas características zwitterionicas destas moléculas, que favorecem a adsorção no lodo por meio de interações eletrostáticas no lugar de hidrofóbicas.

A biodegradabilidade de um antibiótico irá depender da estrutura molecular e da biodisponibilidade. Além disso, a biodegradabilidade está condicionada ao potencial redox, pH, grupos estereoquímicos e à complexidade e estabilidade do antibiótico. Geralmente, compostos de cadeias curtas e com grupos alifáticos insaturados são degradados mais facilmente que moléculas de cadeias longas, muito ramificadas ou com grupos aromáticos (TIWARI et al., 2017). Antibióticos pertencentes ao grupo das fluoroquinolonas, por exemplo, tendem a ser mais resistentes aos mecanismos de biodegradação devido, em parte, à presença do flúor em

sua estrutura (ALEXANDRINO et al., 2017; HARRABI et al., 2019). A baixa taxa de reação da etapa de desfluoração contribui para a recalcitrância dessas moléculas e é indicada como uma das razões para o longo tempo de meia-vida desta classe de antibióticos em lodos ativados convencionais (ALEXANDRINO et al., 2017; MAIA et al., 2014; WANG et al., 2017).

A remoção por biodegradação também pode ser influenciada por grupos retiradores de elétrons ( $-C\equiv N$ ;  $-CF_3$ ;  $-COOH$ ;  $-COOR$ ;  $-COR$ ;  $-Cl$ ;  $-F$ ;  $-CONH_2$ ;  $-CH$ ) e grupos doadores de elétrons. De modo geral, antibióticos com grupos doadores de elétrons (hidroxilas e aminas primárias, por exemplo:  $-NH_2$ ,  $-OH$ ,  $-CH_3$ ,  $-OCH_3$ ) alcançam maiores taxas de remoção por bioprocessos (CARNEIRO et al., 2020; TADKAEW et al., 2011).

### 2.1.2.2 Condições operacionais

As condições operacionais de um processo influenciam a remoção de antibióticos em ETEs e, portanto, podem ser alteradas com a finalidade de otimizar a remoção destes poluentes. No entanto, tais mudanças devem ser feitas de modo que a remoção de poluentes convencionais (matéria orgânica, nitrogênio, fósforo, etc.) não seja prejudicada. Neste âmbito, também deve-se ressaltar que as condições operacionais dos processos biológicos em ETEs podem modificar a comunidade microbiana do sistema, afetando as eficiências de remoção por diferenças na cinética de biodegradação desencadeadas por alterações microbiológicas (GALLARDO-ALTAMIRANO et al., 2019; PHAN et al., 2018).

O tempo de retenção celular ( $\theta_C$ ), ou idade do lodo, constitui um dos principais parâmetros associados à remoção de poluentes recalcitrantes em águas residuárias. Maiores valores de  $\theta_C$  enriquecem o lodo com microrganismos de crescimento lento, diversificando a microbiota no biorreator (GRANDCLÉMENT et al., 2017; TIWARI et al., 2017). De acordo com a literatura recente, estes microrganismos também estariam envolvidos com a degradação de antibióticos e seus metabólitos, como é o caso das bactérias oxidadoras de amônia, que são capazes de co-metabolizar estes micropoluentes por meio da enzima amônia monooxigenase (MARGOT et al., 2016).

Ao contrário do  $\theta_C$ , a influência do tempo de retenção hidráulica (TRH) na remoção biológica de antibióticos não está claramente evidenciada na literatura. Kim et al. (2005) observou que  $\theta_C$  exerceu maior influência na remoção de tetraciclina no lodo ativado do que o TRH. No entanto, somente a adsorção no lodo não é suficiente para confirmar a biodegradação do micropolvente e outros processos são necessários para alcançar a mineralização do polvente

em estudo. Também se especula que o efeito do TRH na remoção está associado ao coeficiente de distribuição do antibiótico ( $\log D_{ow}$ ). Dessa forma, a degradação de compostos com  $\log D_{ow}$  menores é mais dependente do TRH do que compostos com maior potencial de adsorção ao lodo (maior  $\log D_{ow}$ ) (TIWARI et al., 2017).

Han et al. (2020) relacionaram o efeito do TRH sobre a remoção de antibióticos com a concentração da demanda química de oxigênio (DQO) no efluente. Uma vez que o aumento do TRH tende a diminuir a DQO, a competição entre a matéria orgânica facilmente degradável e compostos recalcitrantes será reduzida, podendo favorecer a remoção dos antibióticos (HAN et al., 2020). No entanto, Hou et al. (2019) observaram uma correlação positiva entre a carga de DQO e a remoção de tetraciclinas em um reator anaeróbio de fluxo ascendente, pois estaria associada ao aumento de nutrientes disponíveis para o crescimento bacteriano.

A concentração celular é outro parâmetro de processo que pode influenciar na remoção de antibióticos e de poluentes no geral. Observa-se que maiores concentrações celulares melhoram a remoção destes poluentes, em parte explicada pela maior capacidade de adsorção (ASHFAQ et al., 2017). Outra consequência da maior concentração celular é a diminuição da razão substrato-microrganismo ( $Y_{s/x}$ ) que, assim como o aumento do TRH, poderia induzir o consumo da matéria orgânica recalcitrante devido à ausência de compostos facilmente degradáveis (VERLICCHI; AL AUKIDY; ZAMBELLO, 2012).

O papel do pH durante a remoção de antibióticos está intrinsicamente relacionado às propriedades da molécula e também é essencial para a performance de processos biológicos. Os antibióticos geralmente apresentam múltiplas constantes de dissociação ( $pK_a$ ) por causa dos grupos funcionais ionizáveis presentes em suas estruturas (OBEROI et al., 2019). Desta forma, variações no pH podem modificar tanto a estrutura da molécula quanto suas propriedades físico-químicas. Conseqüentemente, o pH empregado no tratamento biológico pode alterar o mecanismo de remoção de antibióticos em efluentes. Algumas classes de antibióticos, como as tetraciclinas, fluoroquinolonas, macrolídeos e sulfonamidas, podem apresentar diferentes estados de protonação de acordo com o  $pK_a$ , o que também afeta a adsorção dessas moléculas. Para a faixa usual de pH em tratamentos biológicos de efluentes (6,5 – 7,5), as interações eletrostáticas irão governar a adsorção de tetraciclinas, fluoroquinolonas e macrolídeos (OBEROI et al., 2019).

No que diz respeito aos efeitos de condições aeróbias e anaeróbias sobre a remoção de antibióticos, é preciso ressaltar que tais condições em processos biológicos envolvem comunidades microbianas muito distintas, o que implica em mecanismos de remoção e características de lodo igualmente diferentes (OBEROI et al., 2019; PHAN et al., 2018). Até o



momento, as melhores eficiências de remoção de antibióticos são associadas aos processos aeróbios quando comparados a processos anaeróbios (GUO et al., 2017c; HAN et al., 2020; ZHAO et al., 2018). No entanto, a literatura atual também demonstra a eficiência de processos anaeróbios para remover antibióticos de diferentes classes como  $\beta$ -lactâmicos, sulfonamidas e trimetoprim (ASHFAQ et al., 2017; HAN et al., 2020; HARB et al., 2016; HOU et al., 2019). Han et al. (2020) utilizou um processo combinado anaerobiose e aerobiose para investigar a remoção de sulfonamidas e  $\beta$ -lactâmicos de um efluente de suinocultura. Eles observaram que o processo aeróbio contribuiu significativamente para a remoção dos antibióticos com uma eficiência de remoção geral de 92%. No entanto, neste mesmo trabalho, os pesquisadores também constataram que o processo anaeróbio foi capaz de degradar melhor os  $\beta$ -lactâmicos do que as sulfonamidas, alcançando remoções de 69% e 2%, respectivamente.

### **2.1.3 Remoção de antibióticos por processos biológicos**

Tendo em vista os riscos associados à ocorrência de antibióticos em efluentes discutidos no tópico 2.1.1, diversos processos, tanto físico-químicos quanto biológicos, vem sendo propostos para remover estes fármacos (AWFA et al., 2018; DE LA CRUZ et al., 2012; GRANDCLÉMENT et al., 2017; MIR-TUTUSAUS et al., 2018). Os processos biológicos se destacam frente aos físico-químicos por necessitarem de menores aportes de energia e insumos químicos. Diversos estudos vêm sendo conduzidos para compreender a remoção de antibióticos nos sistemas biológicos, o que inclui os bioprocessos clássicos dentro do tratamento de efluentes e as novas alternativas que poderiam ser acopladas aos sistemas tradicionais (GU et al., 2018; MIR-TUTUSAUS et al., 2018; TIWARI et al., 2017; ZUMSTEIN; HELBLING, 2019).

Dentre os processos convencionais para o tratamento biológico de efluentes podem ser citados os lodos ativados, biorreatores de membrana (MBR), biodigestores anaeróbios e processos de remoção de nitrogênio. O processo de lodos ativados é amplamente utilizado em ETEs municipais e industriais (VON SPERLING, 2007). No entanto, quando se trata da remoção de micropoluentes, como é o caso dos antibióticos, estes sistemas apresentam grande variação na eficiência de remoção. Wang et al. (2020a) mapearam a distribuição de antibióticos em ETEs, em escala global, a partir de artigos publicados entre 1999 e 2019. Neste estudo não foi possível estabelecer uma correlação entre o tratamento por lodos ativados e a remoção de antibióticos devido à variabilidade das eficiências de remoção reportadas e à influência dos

parâmetros operacionais empregados em cada ETE. Além disso, a natureza recalcitrante dos antibióticos e a ocorrência destes compostos em baixas concentrações também são limitantes para a remoção por processos de lodos ativados (TIWARI et al., 2017).

Assim como o sistema de lodos ativados, os biorreatores de membrana (MBR) são muito estudados quanto à remoção de antibióticos em efluentes. O MBR consiste em um reator biológico com biomassa suspensa e uma separação de sólidos por uma membrana de microfiltração (METCALF; EDDY, 2003). Devido ao sistema de membranas, o MBR produz um efluente de qualidade superior a dos lodos ativados e com menor área de instalação. Além disso, estes reatores operam com maior concentração de lodo e longos  $\theta_c$ , parâmetros que, como discutido no tópico 2.1.2.2, contribuem para a remoção de antibióticos (CECCONET et al., 2017; METCALF; EDDY, 2003).

O principal mecanismo de remoção de antibióticos em MBRs é a biodegradação, que é favorecida pela alta concentração celular e diversidade microbiana destes sistemas. Por meio dos MBRs foi possível alcançar eficiências de remoção superiores a 90% para antibióticos de diferentes classes: fluoroquinolonas (ciprofloxacina e ofloxacina), macrolídeos (eritromicina), tetraciclina (tetraciclina e clortetraciclina) e sulfonamidas (sulfadiazina) (AYDIN et al., 2016; CECCONET et al., 2017; TIWARI et al., 2017; YU et al., 2018). Outros estudos também demonstram que tanto a biodegradação quanto a adsorção desempenham um papel importante para aprimorar a remoção de fármacos por MBRs (PRASERTKULSAK et al., 2019). Além disso, outras características operacionais podem favorecer a biodegradação neste processo: longos  $\theta_c$  em MBR propiciam a biodegradação de antibióticos com características hidrofílicas e o fluxo cruzado pode reduzir o tamanho dos flocos, o que diminui a resistência à transferência de massa (YANG et al., 2019).

A principal limitação dos MBRs está associada ao *fouling* das membranas que bloqueia os poros por adsorção de soluto, formação de *biocake*, que leva ao aumento da pressão transmembrana em processos conduzidos com fluxo de permeado constante (GU et al., 2018). A presença de antibióticos poderia agravar o *fouling* das membranas por contribuir no desenvolvimento de fatores associados a este fenômeno, como a formação de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) e os produtos microbianos solúveis (SMP) (CHENG et al., 2018).

A digestão anaeróbia é extensivamente aplicada no tratamento de efluentes domésticos, industriais e agropecuários, como também no tratamento de lodos produzidos em processos aerados, que são rejeitos com alto potencial de contaminação por antibióticos (FENG et al., 2017). A digestão anaeróbia ocorre em quatro etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese

e metanogênese. Conseqüentemente, diversos grupos bacterianos podem participar da remoção de compostos recalcitrantes devido às diferenças metabólicas e à variedade enzimática envolvidas neste bioprocessos (GONZALEZ-GIL; CARBALLA; LEMA, 2017). Além disso, diversos aspectos relacionados às características do composto e do processo, como foi discutido no tópico 2.1.2, podem influenciar a remoção de antibióticos durante a digestão anaeróbia.

O mecanismo de degradação de poluentes emergentes durante a digestão anaeróbia pode envolver etapas de adsorção, reações abióticas e biodegradação (GHATTAS et al., 2017). A biodegradação é atribuída a pelo menos uma das quatro etapas da digestão anaeróbia e, dependendo da estrutura molecular do antibiótico, pode ser aprimorada pela ação das enzimas envolvidas em cada etapa do processo biológico. Até o momento, a literatura aponta que a biodegradação de antibióticos está mais relacionada com as enzimas acidogênicas do que as hidrolíticas ou metanogênicas. A afinidade de enzimas acidogênicas a alguns grupos orgânicos, aumenta a sua participação na remoção dos antibióticos (por exemplo, sulfametoxazol, trimetopim, eritromicina e roxitromicina) (CARNEIRO et al., 2020; GONZALEZ-GIL et al., 2018). Por outro lado, a degradação da clortetraciclina e da oxitetraciclina, por exemplo, ocorre majoritariamente durante a etapa metanogênica em razão da fácil isomerização do grupo dimetilamina dessas moléculas em condições ácidas (YIN et al., 2018).

Os processos de remoção de nitrogênio, apesar de não serem extensivamente estudados como os anteriores, têm apresentado resultados interessantes no que diz respeito à remoção de antibióticos. Em um experimento realizado com efluente real, Marti et al. (2020) constaram que o processo de nitrificação seguido pela desnitrificação foi capaz de remover 100% de lincomicina, 80% de tetraciclina e 40% de marbofloxacina. Em um processo semelhante, com nitrificação e desnitrificação simultânea, Zheng et al. (2018) avaliaram os mecanismos de remoção de antibióticos durante o tratamento do digestato de um efluente da suinocultura. Neste estudo, a adsorção ao lodo foi responsável pela remoção de 24,1% dos antibióticos (tetraciclina, sulfonamidas, quinolonas e macrolídeos), enquanto que a biodegradação promovida pelas bactérias nitrificantes e desnitrificantes removeu 60,8%.

Um dos grandes desafios enfrentados pelos processos biológicos durante o tratamento de efluentes contaminados com antibióticos é a proliferação de ARG e ARB. Tais processos são frequentemente descritos como potenciais *hotspots* para a disseminação de ARG devido ao longo tempo de exposição a concentrações sub-inibitórias de antibióticos, alta carga de nutrientes e elevada produção de biomassa (GUO et al., 2017a; HOU et al., 2019). Sistemas

com recirculação de lodo, por exemplo, podem aumentar a liberação de ARB e ARG em até  $10^{12}$  e  $10^{18}$  unidades por dia, respectivamente (MANAIA et al., 2018).

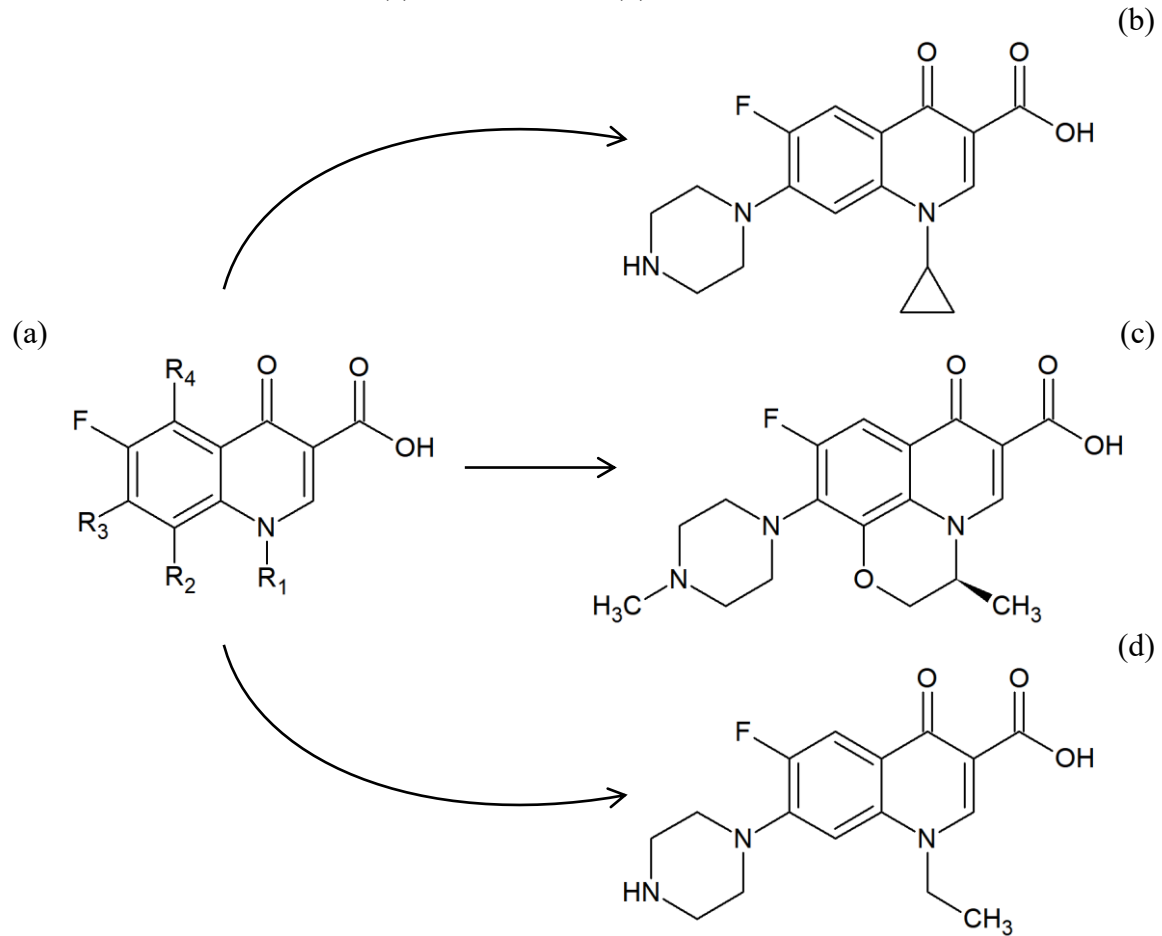
Apesar de sempre ocorrer a proliferação de ARG e ARB, alguns estudos demonstraram que a liberação para o ambiente pode ser controlada em alguns destes tratamentos. Em MBRs, por exemplo, este controle pode ser alcançado por meio do módulo de membranas que é capaz de mitigar a liberação de ARG, independente da concentração inicial de antibiótico (YANG et al., 2019). Já na digestão anaeróbia, a operação em condições termofílicas, isto é, em temperatura entre 50 e 55°C, poderia limitar a proliferação de ARGs por meio da inibição dos microrganismos mesofílicos, que são potenciais hospedeiros destes genes (ZHU et al., 2020). No entanto, mesmo em condição termofílica, pode ocorrer o aumento da abundância de ARGs relacionados a macrolídeos, aminoglicosídeos e sulfonamidas (ZHANG; YANG; PRUDEN, 2015).

Com base nos estudos apresentados nesta seção, percebe-se que a remoção de antibióticos em bioprocessos para o tratamento de efluentes está associada a diversas condições: estrutura molecular, composição microbiológica, adaptação dos microrganismos ao poluente e parâmetros operacionais. Além disso, é preciso considerar que a maioria dos efluentes reais apresentam uma grande variedade de tipos e classes de antibióticos, o que dificulta a definição de uma rota simples e única para remoção destes compostos. Por outro lado, a combinação de bioprocessos surge como uma alternativa para atingir maiores eficiências de remoção para uma ampla faixa de compostos devido às diferenças intrínsecas a esses processos (CARNEIRO et al., 2020; TOMEI et al., 2019).

#### **2.1.4 Fluoroquinolonas como antibióticos de interesse**

As fluoroquinolonas são uma classe de antibióticos sintéticos originadas a partir de alterações estruturais do ácido nalidíxico, antibacteriano descoberto no início da década de 1960. O desenvolvimento das fluoroquinolonas, no entanto, foi mais intenso a partir de 1980, quando foi descoberto que a combinação de um átomo de flúor na posição 6 e um grupo piperazinil na posição 7 do anel quinolônico aumenta o espectro da atividade bacteriana destas moléculas (Figura 4) (CZYRSKI, 2017).

Figura 4 – Estrutura química das fluoroquinolonas: (a) molécula genérica; (b) ciprofloxacina; (c) levofloxacina; (d) norfloxacina.



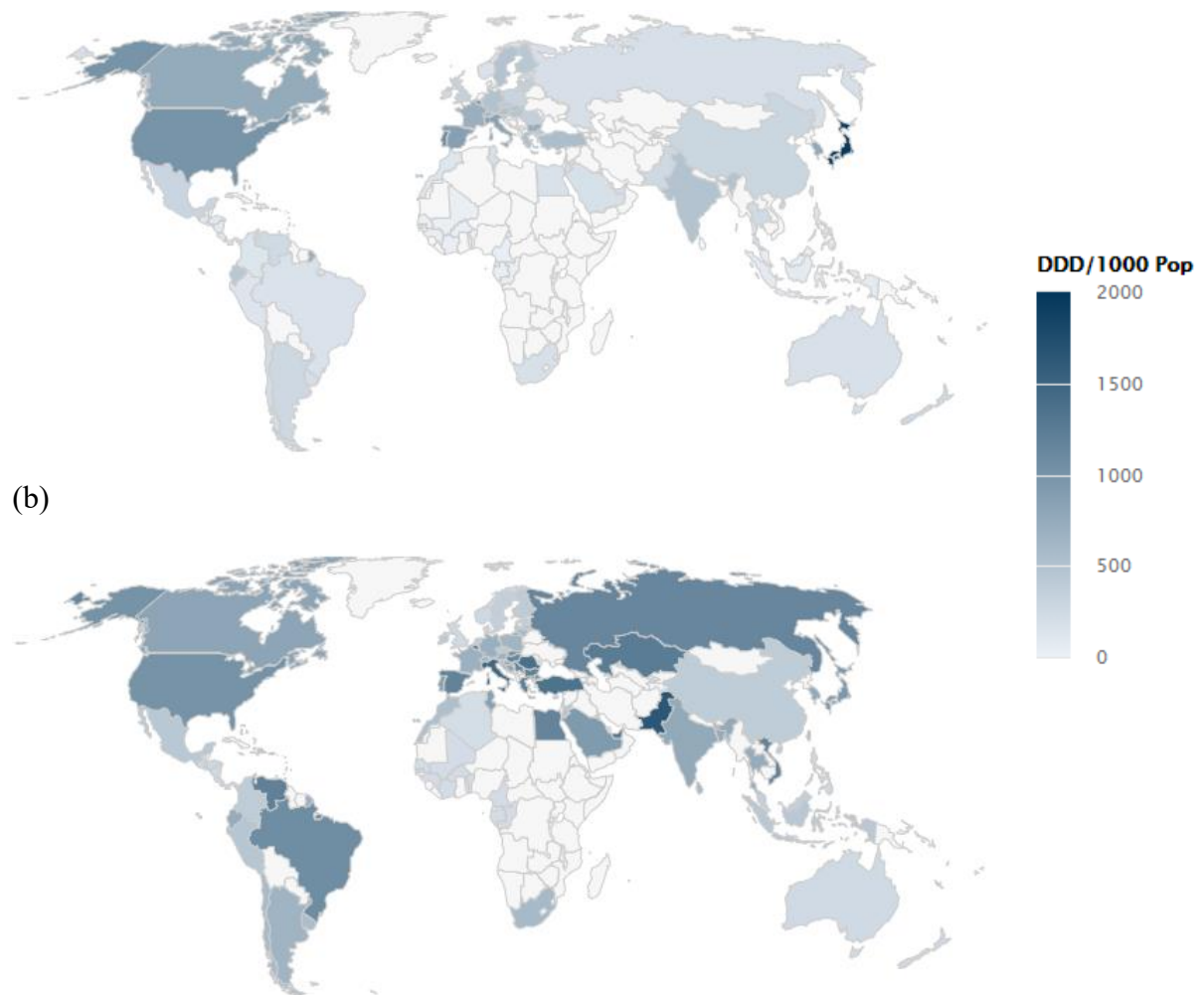
Fonte: Elaborado pela autora.

O mecanismo de ação das fluoroquinolonas é baseado na inibição da atividade da enzima DNA girase, também conhecida como topoisomerase II, que é responsável pela compactação do DNA. Sem a atuação dessa enzima, a molécula de DNA passa a ocupar grande espaço no interior da bactéria e suas extremidades livres determinam síntese descontrolada de RNA mensageiro e de proteínas, resultando na morte celular (ANVISA, 2007). Além disso, essa classe de antibióticos apresenta amplo espectro de ação sobre bactérias gram-positivas, gram-negativas e bactérias atípicas, como *Mycoplasma*, *Chlamydia* e *Legionella*. As principais aplicações clínicas das fluoroquinolonas são no tratamento de infecções urinárias, oculares, respiratórias e tuberculose provocada por cepas multirresistentes (SHARMA; JAIN; JAIN, 2010).

O uso das fluoroquinolonas aumentou consideravelmente nos últimos anos. Dados obtidos pelo *Center for Disease Dynamics, Economics & Policy* (2020) mostram que, entre

2000 e 2015, o aumento do consumo de fluoroquinolonas ocorreu em diversos países como Espanha, Itália, Egito, Rússia, Paquistão e Venezuela, por exemplo (Figura 5). No Brasil, o consumo, expresso em dose diária definida (DDD - unidade de medida de consumo de medicamentos), aumentou em 600% no mesmo período (2000-2015) e as fluoroquinolonas passaram a ser a 3º classe de antibióticos mais consumida no país, atrás das penicilinas e macrolídeos (THE CENTER FOR DISEASE DYNAMICS ECONOMICS & POLICY, 2020).

Figura 5 - Mapa do uso de fluoroquinolonas em (a)2000 e (b)2015. DDD: dose diária definida (a)



Fonte: The Center for Disease Dynamics, Economics & Policy (2020).

O aumento expressivo do consumo de fluoroquinolonas se reflete na frequência em que esses compostos são detectados em águas residuárias e amostras ambientais. Dos artigos científicos selecionados e discutidos no item 2.1.1, 77% reportaram a ocorrência de pelo menos um antibiótico do grupo das fluoroquinolonas, com destaque para a ciprofloxacina que foi detectada em 69% dos trabalhos. Van Doorslaer et al. (2014) realizaram uma extensiva revisão

de literatura sobre a ocorrência e os impactos ambientais das fluoroquinolonas. Neste estudo, eles constataram a presença desta classe de antibióticos em diversas matrizes ambientais (águas superficiais e subterrâneas, solo, plantas e animais) sendo ciprofloxacina, levofloxacina e norfloxacina os compostos mais frequentes nestas amostras. Além disso, esta classe de antibióticos representa um potencial elevado de risco ambiental contra organismos aquáticos como *Vibrio fischeri* (bactéria), *Microcystis aeruginosa* (cianobactéria) e plantas aquáticas (VAN DOORSLAER et al., 2014).

Devido aos impactos ambientais potencialmente provocados pelas fluoroquinolonas, alguns países implementaram ações para controle e monitoramento destes compostos. Em 2018, a União Europeia incluiu a ciprofloxacina à sua lista de vigilância de substâncias monitoradas em ambientes aquáticos (EU Decision, 2018/840 of June 5, 2018). No ano seguinte, a Comissão Europeia também determinou a restrição de algumas fluoroquinolonas devido ao risco de efeitos colaterais incapacitantes e potencialmente permanentes (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2020).

## 2.2 CÉLULAS A COMBUSTÍVEL MICROBIANAS

Biocélulas combustíveis, também conhecidas como células a combustível microbianas (do inglês: *Microbial Fuel Cell*, MFC), são um tipo de sistema bioeletroquímico capaz de converter a energia química armazenada em materiais biodegradáveis em energia elétrica, pela ação catalisadora de microrganismos (LOGAN et al., 2006; ROZENDAL et al., 2008). Ao contrário das células combustíveis químicas, as MFCs não necessitam de catalisadores metálicos no ânodo devido à adição de microrganismos, o que, por outro lado, lhe confere um grau de complexidade provavelmente superior em relação aos já complexos sistemas eletroquímicos (LOGAN, 2009; SANTORO et al., 2017).

As MFCs oferecem diversos benefícios que são de grande interesse para o setor energético e de tratamento de efluente. Do ponto de vista energético, elas são uma fonte direta de geração de eletricidade, possuem menor custo energético pela substituição do tratamento aeróbio por um anaeróbio e sua aplicação pode ser centralizada ou descentralizada. Na perspectiva ambiental, as MFCs promovem a depuração de águas, possuem baixa pegada de carbono e produzem menor volume de lodo para descarte. Economicamente, as MFCs podem gerar receita pela geração de energia e produtos químicos de valor agregado e menores custos operacionais (GUDE, 2016). No entanto, vale observar que tais vantagens são dependentes de

vários aspectos que devem ser considerados durante o projeto da MFC como: configuração do reator, materiais de eletrodo e membrana, microrganismos, composição do efluente e processos anódicos e catódicos. Se bem definidos, a MFC tem potencial para recuperar na forma de eletricidade até 65% da energia armazenada no substrato (GUDE, 2016).

## 2.2.1 Fundamentos sobre a geração de eletricidade nas MFCs

### 2.2.1.1 Potencial, corrente e potência

Do ponto de vista eletroquímico, a MFC é considerada uma célula galvânica. Isto significa que as reações eletroquímicas acontecem espontaneamente e com liberação de energia, isto é, a energia livre de Gibbs é negativa. A diferença de potencial teórica, ou a força eletromotriz (fem), ou tensão (E) de uma MFC pode ser calculada a partir da energia livre de Gibbs como mostra a Equação 1.

$$E_{MFC} = -\frac{\Delta G}{nF} \quad (1)$$

Na qual  $E_{MFC}$  é a diferença de potencial da MFC em volts (V),  $\Delta G$  é a energia livre de Gibbs da reação ( $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$ ),  $n$  é a quantidade de elétrons envolvidos na reação (mol) e  $F$  é a constante de Faraday ( $96485,3 \text{ C}\cdot\text{mol}^{-1}$ ).

A tensão teórica de uma MFC também pode ser calculada a partir dos potenciais das semirreações de cada canal, conforme mostra a Equação 2.

$$E_{MFC} = E_{\text{ânodo}} - E_{\text{cátodo}} \quad (2)$$

Na qual  $E_{\text{ânodo}}$  é o potencial de meia-célula do ânodo e  $E_{\text{cátodo}}$  é o potencial de meia célula do cátodo. Tais potenciais podem ser obtidos pela equação de Nernst (Equação 3):

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln k \quad (3)$$

Na qual  $E^0$  é potencial padrão de eletrodo (característico para cada reação),  $k$  é a constante de equilíbrio químico da reação,  $R$  a constante dos gases ideais ( $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ ) e  $T$  a temperatura do sistema (K). O  $E^0$  é um valor tabelado e medido em relação a um eletrodo de referência, usualmente o eletrodo padrão de hidrogênio (EPH). A Tabela 1 apresenta os potenciais padrão para algumas semirreações anódicas e catódicas comuns às MFCs.

Como mostrado até aqui, o potencial máximo de uma MFC irá depender das espécies químicas envolvidas, das suas concentrações e temperatura. Por exemplo, uma MFC operando em  $\text{pH}=7,0$  e  $T=298,15 \text{ K}$ , que utiliza acetato ( $[\text{CH}_3\text{COO}^-] = [\text{HCO}_3^-] = 10 \text{ mM}$ ) como substrato



anódico e oxigênio (com pressão 0,2 bar) como acceptor de elétrons no cátodo, irá gerar um potencial máximo de 1,1 V (ROZENDAL et al., 2008). No entanto, o que se observa experimentalmente é que a  $E_{MFC}$  é sempre inferior ao valor teórico calculado, variando entre 0,3 e 0,7 V (LOGAN, 2008).

Tabela 1 – Potenciais padrão para diferentes reações anódicas e catódicas.

Eletrodo	Reação	$E^0$ (V vs. EPH)
Ânodo	$\text{CH}_3\text{COO}^- + 4 \text{H}_2\text{O} \longrightarrow 2 \text{HCO}_3^- + 9 \text{H}^+ + 8 \text{e}^-$	-0,187
Ânodo	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 12 \text{H}_2\text{O} \longrightarrow 6 \text{HCO}_3^- + 30 \text{H}^+ + 24 \text{e}^-$	-0,429
Cátodo	$\text{O}_2 + 4 \text{H}^+ + 4 \text{e}^- \longrightarrow 2 \text{H}_2\text{O}$	+1,230
Cátodo	$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} + \text{e}^- \longrightarrow \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$	+0,361
Cátodo	$2\text{NO}_3^- + 12 \text{H}^+ + 10 \text{e}^- \longrightarrow \text{N}_2 + 6 \text{H}_2\text{O}$	+0,740
Cátodo	$\text{NO}_2^- + 2 \text{H}^+ + \text{e}^- \longrightarrow \text{NO} + 2 \text{H}_2\text{O}$	+0,350

Fonte: Adaptado de Logan (2008) e Gude (2016).

A corrente elétrica ( $I$ ) é definida como o fluxo ordenado de elétrons dentro de um material condutor na presença de uma diferença de potencial entre suas extremidades. A geração de corrente em uma MFC é muito baixa e, por isso, esta variável é calculada a partir da Lei de Ohm (Equação 4), quando o sistema opera em condição de circuito fechado (CCV), isto é, quando há uma resistência conectando os circuitos elétricos externos do ânodo e do cátodo.

$$I(\text{A}) = \frac{E_{MFC}}{R_{ext}} \quad (4)$$

Sendo  $R_{ext}$  ( $\Omega$ ) a resistência externa aplicada no sistema. Observa-se nas MFCs que, a diminuição da  $R_{ext}$  provoca uma queda na  $E_{MFC}$ , e ao mesmo tempo, um aumento de  $I$ . Isto ocorre pois há um aumento na demanda de elétrons, que exige maior atividade metabólica dos microrganismos, o que resulta no aumento da corrente e da eficiência do tratamento.

A potência elétrica ( $P$ ) é a quantidade de energia gerada pela MFC e expressa em watts (W). Ela é calculada a partir da  $E_{MFC}$  e  $I$ , como  $P = E_{MFC} \cdot I$ , ou substituindo pela Equação 4:

$$P(\text{W}) = \frac{E_{MFC}^2}{R_{ext}} \quad (5)$$

Ao contrário da corrente, inicialmente a potência de uma MFC aumenta com a queda da tensão até atingir o ponto de máxima produção de potência (MPP) e, a partir deste ponto, a potência gerada pela MFC diminui drasticamente.

### 2.2.1.2 Sobrepotenciais e resistência interna

As diferenças observadas entre a  $E_{MFC}$  teórica e a  $E_{MFC}$  real podem ser explicadas devido aos sobrepotenciais existentes nas MFCs. Estes sobrepotenciais são associados a limitações do processo que resultam em comportamentos não-lineares em sistemas eletroquímicos, pois requer a aplicação de um potencial maior que o valor teórico para fornecer a corrente na grandeza esperada (SKOOG, 2014).

Nas MFCs e demais sistemas bioeletroquímicos, os sobrepotenciais podem ocorrer a partir de quatro tipos de perdas: por metabolismo microbiano, por ativação, ôhmica ou por transferência de massa.

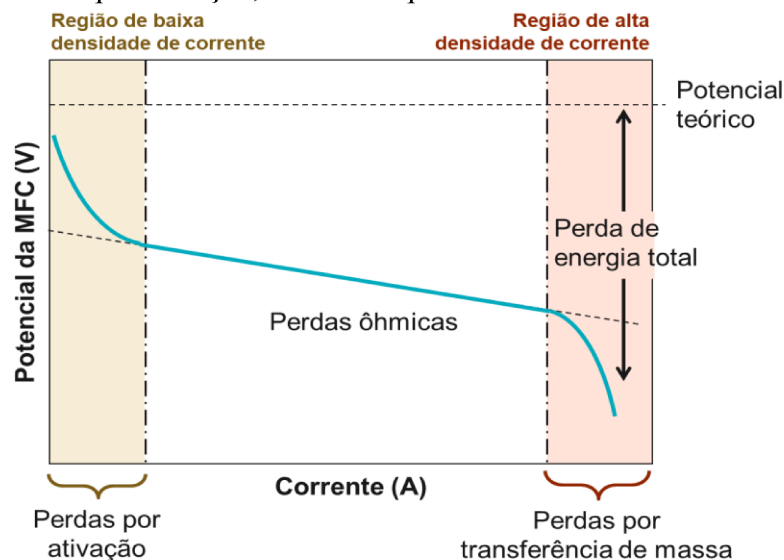
As perdas por metabolismo microbiano são uma consequência inevitável do consumo de substrato para obtenção de energia pela bactéria, energia esta que será usada para manutenção e crescimento celular (LOGAN, 2008).

As perdas por ativação ocorrem em razão da perda de energia na forma de calor para iniciar as reações de oxidação ou redução e também através da perda energética durante a transferência do elétron da proteína terminal do microrganismo até a superfície do anodo. Essas perdas são mais nítidas nas regiões de baixa densidade de corrente, como mostrado na Figura 6. É possível reduzi-las melhorando a transferência de elétrons entre a bactéria e o eletrodo por meio de modificações nos eletrodos (alterações no material, área superficial ou incorporação de catalisadores), aumento da concentração de mediadores, e alteração dos microrganismos e seus metabolismos, por exemplo (LOGAN, 2008; ZHAO; SLADE; VARCOE, 2009).

As perdas ôhmicas são as principais perdas que devem ser superadas para otimizar a arquitetura das MFCs. Elas surgem da resistência à condução do íon pela solução e membrana, e do fluxo de elétrons através do ponto de contato do eletrodo. São características de regiões de corrente intermediária, isto é, entre a região das perdas por ativação e por transferência de massa, onde se observa uma queda suave da tensão com o aumento da corrente (Figura 6). Para minimizar as perdas ôhmicas, é recomendado reduzir a distância entre os eletrodos, utilizar membranas com baixa resistência, e soluções com alta condutividade e capacidade tamponante (LOGAN, 2008; ZHAO; SLADE; VARCOE, 2009).

As perdas por transferência de massa surgem quando o fluxo de espécies químicas para o eletrodo é insuficiente, reduzindo a taxa de reação a um ponto que passam a coordenar o processo de geração de eletricidade na MFC. Uma das razões para esta redução de fluxo de espécies químicas é a formação de gradientes de concentração de produtos na interface entre a solução e o eletrodo quando a MFC opera com baixa  $R_{ext}$ , ou seja, alta densidade de corrente. Assim, as perdas por transferência de massa são observadas como uma queda acentuada da tensão na extremidade à direita da curva de polarização (Figura 6) (LOGAN, 2008; ZHAO; SLADE; VARCOE, 2009).

Figura 6 - Representação esquemática de uma curva de polarização com a identificação das regiões de sobrepotenciais por ativação, ôhmicas e por transferência de massa em uma MFC.



Fonte: Adaptado de Xochitl et al. (2012)

Os sobrepotenciais da MFC também podem ser interpretados como a resistência interna ( $R_{int}$ ) do reator, uma vez que cada uma das suas componentes representa um tipo de resistência à geração de eletricidade. Este parâmetro é fundamental durante o projeto de uma MFC, na qual almeja-se construir e operar um reator com a menor  $R_{int}$  possível e, conseqüentemente, maximizar a geração de corrente e potência. Matematicamente, a  $R_{int}$  pode ser expressada como mostra a Equação 6 (SEKAR; RAMASAMY, 2013):

$$R_{int} = R_{\Omega} + R_{atv}^a + R_{atv}^c + R_{TM}^a + R_{TM}^c \quad (6)$$

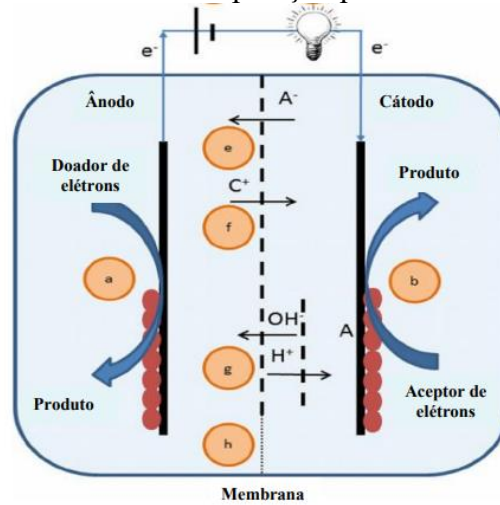
Na qual  $R_{\Omega}$  é a resistência ôhmica;  $R_{av}^a$  e  $R_{av}^c$  as resistências associadas às perdas por ativação no ânodo e no cátodo, respectivamente;  $R_{TM}^a$  e  $R_{TM}^c$  as resistências associadas às perdas por transferência de massa no ânodo e no cátodo, respectivamente.

Na literatura são listados diferentes métodos para calcular a  $R_{int}$ : curva de polarização, interrupção de corrente e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) (LOGAN, 2008). Na curva de polarização, que é uma representação da tensão em função da corrente (Figura 6), a  $R_{int}$  pode ser obtida a partir do coeficiente angular da reta obtida na região linear, na qual prevalecem as perdas ôhmicas. No entanto, por este método, não é possível identificar as componentes da  $R_{int}$ , somente seu valor total. Além disso, de acordo com He e Mansfeld (2009) tal método deve ser priorizado em sistemas dominados por resistências ôhmicas, o que não é comum em MFCs, pois as atividades microbianas (que são dominantes nestes sistemas) estão associadas principalmente a resistências por ativação ou transferência de massa. A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE), por outro lado, pode ser usada para determinar a  $R_{int}$  e a contribuição de suas componentes. Com esta técnica é possível obter resultados precisos e associá-los a um circuito equivalente formado por componentes elétricos comuns, como resistores e capacitores (HE; MANSFELD, 2009).

### 2.2.2 Configurações e materiais utilizados nas MFCs

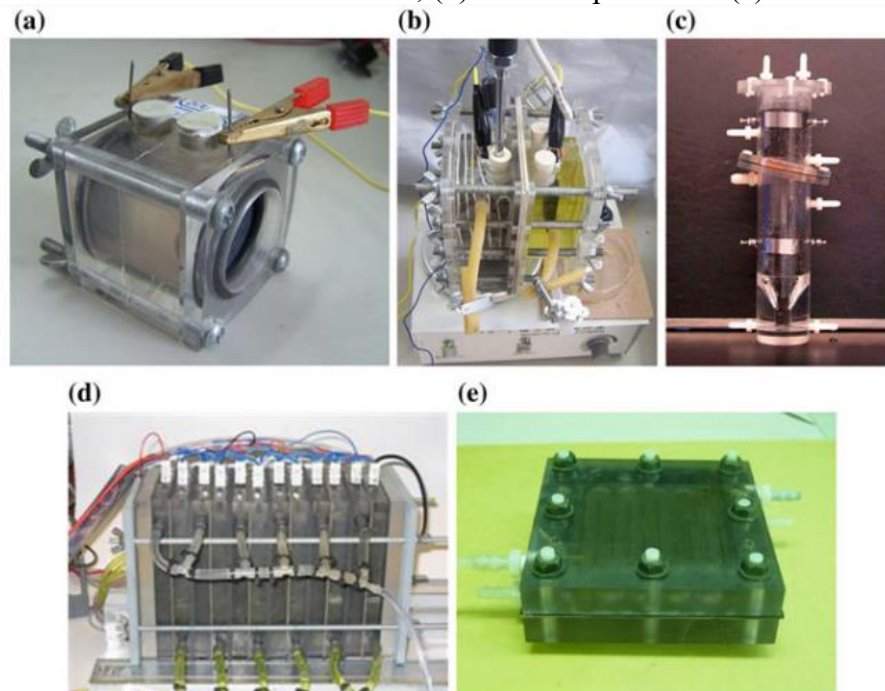
As biocélulas combustíveis são sistemas versáteis e descritos na literatura com diversas configurações (SANTORO et al., 2017; SLATE et al., 2019). A Figura 7 apresenta a configuração mais comum e tradicional de uma MFC. Nela, a MFC é composta por dois canais, ânodo e cátodo, conectados por um separador, que pode ser uma membrana de troca iônica, ponte salina ou cerâmica (SLATE et al., 2019). No ânodo ocorre a oxidação do substrato, geralmente matéria orgânica, por ação das bactérias, que transferem os elétrons produzidos ao eletrodo anódico. Estes elétrons são enviados ao cátodo por um circuito externo, o que resulta na geração de eletricidade. Já os prótons migram para o cátodo através do separador, onde atuam na redução do composto de interesse. Na Figura 8 estão representados alguns exemplos de configurações que podemos encontrar nas MFCs.

Figura 7 - Ilustração esquemática de uma MFC. (a) ânodo, onde a substância doadora de elétrons é oxidada; (b) cátodo, onde a substância aceptora de elétrons é reduzida; (e-g) diferentes tipos de membrana de troca iônica que separam o sistema; (h) configuração de único canal sem separação por membrana.



Fonte: Adaptado de Dopson, Ni, Sleutels (2016).

Figura 8 - Configurações de MFCs: (a) MFC de único canal ou ar-cátodo, (b) MFC de duplo canal, (c) MFC tubular de fluxo ascendente, (d) MFC empilhadas e (e) MFC em placa plana.



Fonte: Makhtar, Don e Tajarudin (2018).

O principal processo relatado na literatura para o compartimento anódico é a oxidação anaeróbia de matéria orgânica, como glicose, acetato, etanol e lactato, que atuam como

doadores de elétrons (UCAR; ZHANG; ANGELIDAKI, 2017). No entanto, no cátodo, há uma maior variedade de processos e de compostos que atuam como aceptores de elétrons.

O oxigênio é o aceptor de elétrons mais comum devido ao seu elevado potencial redox. No entanto, o suprimento de  $O_2$  via aeração no cátodo é um processo que consome energia. Como alternativa, a MFC pode utilizar diretamente o  $O_2$  do ar por meio da configuração ar-cátodo (Figura 8(a)), porém isto implica no emprego de catalisadores de alto custo (UCAR; ZHANG; ANGELIDAKI, 2017).

O ferrocianeto de potássio, também é um aceptor de elétrons frequentemente relatado na literatura (UCAR; ZHANG; ANGELIDAKI, 2017; WANG; REN, 2013). Apesar de não possuir potencial redox tão elevado quanto o  $O_2$ , o ferrocianeto possui menor sobrepotencial o que resulta em reações mais rápidas e com maior produção de eletricidade. No entanto, a utilização deste composto está limitada a estudos em escala laboratorial, devido à toxicidade contra humanos e animais, e dificuldade de recuperação e reutilização (LOGAN et al., 2006; UCAR; ZHANG; ANGELIDAKI, 2017).

Aceptores de elétrons alternativos, como íons metálicos, compostos nitrogenados e recalitrantes, já foram propostos para aplicação em MFCs (GUDE, 2016; PERAZZOLI, 2018; UCAR; ZHANG; ANGELIDAKI, 2017; VIRDIS et al., 2010). Apesar de não aumentarem a eficiência energética, a utilização destes compostos expande o escopo de aplicação das MFCs por meio da inserção de novos processos no cátodo, como remoção de metais, de nitrogênio e compostos recalitrantes (UCAR; ZHANG; ANGELIDAKI, 2017).

A escolha dos eletrodos também é um fator importante na construção das MFCs, pois este é o maior constituinte deste sistema e irá determinar tanto sua performance quanto seu custo (SLATE et al., 2019). Portanto, as características que devem ser levadas em consideração durante a escolha do material do eletrodo são: propriedades eletroquímicas, valor econômico, estabilidade mecânica, biocompatibilidade com os microrganismos e área superficial (SANTORO et al., 2017).

Materiais à base de carbono e metais são os mais utilizados na construção dos eletrodos (KERZENMACHER, 2019; SANTORO et al., 2017; SLATE et al., 2019). Eletrodos à base de carbono, em especial, preenchem todos os requisitos básicos desejáveis a um eletrodo citados no parágrafo anterior e são encontrados com uma grande variedade química: carvão ativado, fibras de carbono, grafite, grafeno e nanotubos de carbono (KERZENMACHER, 2019). A grafite apresenta propriedades eletroquímicas excepcionais e, portanto, é utilizada nas MFCs em diversas formas (fibras, mantas, folhas, grânulos). No entanto, são preferíveis formas com

área superficial maiores para aumentar a adesão dos microrganismos e, conseqüentemente, a geração de energia (SLATE et al., 2019).

Dentre os materiais metálicos, o aço inox é o mais utilizado, em parte por sua alta condutividade, robustez e custo (SANTORO et al., 2017). Além dele, outros metais como cobre, níquel, prata, titânio e ouro também foram testados em MFCs, alcançando resultados satisfatórios (BAUDLER et al., 2015; SANTORO et al., 2017). No entanto, a principal preocupação com o emprego de eletrodos metálicos está associada à liberação de íons tóxicos aos microrganismos. Apesar disso, alguns estudos indicam que bactérias exoeletrogênicas da família das *Geobacteraceae* são tolerantes aos efeitos oligodinâmicos de íons de metais pesados (BAUDLER et al., 2015).

Também tem sido sugerido que eletrodos compostos por diferentes materiais, por exemplo, carbono e metal, podem aumentar significativamente a geração de eletricidade quando comparado a eletrodos planos construídos com os mesmos materiais. Além disto, esta configuração é associada a vantagens de performance e escalabilidade do processo (HAAVISTO et al., 2019).

### 2.2.3 Microrganismos eletrocalisadores

A geração de eletricidade a partir das MFCs só é possível em razão da observação de efeitos elétricos em reações catalisadas por microrganismos (MOHAN et al., 2019). Os primeiros registros do conceito da MFC datam de 1911, quando M.C. Potter constatou uma diferença de potencial entre dois fios de platina, um estéril e um com microrganismos, imersos em uma solução aquosa e separados por um diafragma (HARNISH; HOLTMANN; 2019). Com o passar dos anos e a intensificação dos estudos nesta área, foram identificados microrganismos capazes de transferir elétrons para o meio extracelular. Estes microrganismos, observados no ânodo, ficam conhecidos como bactérias exoeletrogênicas ou eletroquimicamente ativas (LOGAN, 2009).

A geração de corrente elétrica já foi observada em quatro das cinco classes do filo Proteobacteria, assim como em Firmicutes e Acidobacteria (LOGAN, 2009). Até o momento, as famílias de bactérias exoeletrogênicas melhor caracterizadas são *Geobacteraceae* e *Shewanellaceae*. Tais famílias são as mais estudadas para compreender os mecanismos da transferência extracelular de elétrons (TEE), utilizando como microrganismos modelo

*Geobacter sulfurreducens* e *Shewanella oneidensis* (KOCH; HARNISCH, 2016). Apesar disso, muitos outros microrganismos podem ser utilizados para geração de energia.

Koch e Harnisch (2016), realizaram uma extensiva revisão de literatura para compreender a distribuição de propriedades eletroativas entre microrganismos. Neste estudo, eles identificaram que 94 espécies de diferentes grupos filogenéticos, incluindo bactérias e archaeas, foram relatadas como eletrocatalisadoras, das quais 69 estavam relacionadas à TEE no ânodo. Além da *Geobacter* spp. e *Shewanella* spp., outras bactérias identificadas como exoeletrogênicas foram *Clostridium* spp., *Comomonas* spp., *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Pseudomonas* spp. e *Rhodoferax ferrireducens*, por exemplo.

No que diz respeito às características metabólicas, a maioria das espécies exoeletrogênicas utilizam monossacarídeos ou ácidos orgânicos como fonte de carbono. Apenas poucas espécies exoeletrogênicas utilizam fontes de carbono complexas, pois estas resultam em baixas eficiências de extração da energia química em razão da oxidação parcial da matéria orgânica (KOCH; HARNISCH, 2016). Isto se reflete nas baixas densidades de corrente geradas em MFCs operando com substratos complexos (celulose, estrume e lixiviados, por exemplo) em comparação ao acetato e glicose (PANT et al., 2010).

No biocátodo, as bactérias conhecidas como eletrotróficas recebem os elétrons do eletrodo para reduzir compostos como nitrato, sulfato e CO<sub>2</sub> (NIKHIL; MOHAN, 2019). Os estudos com estes microrganismos não são tão extensivos quanto os exoeletrogênicos. Até o momento, já foram identificados microrganismos dos gêneros *Clostridium* spp., *Kingella* spp., *Sporomusa* spp., *Mariprofundus ferrooxydans* e *Rhodopseudomonas* spp., por exemplo (KOCH; HARNISCH, 2016).

#### **2.2.4 Transferência extracelular de elétrons**

Nas MFCs, os microrganismos interagem com os eletrodos para realizar as reações de oxidação do substrato no ânodo e de redução do substrato no cátodo por meio da transferência extracelular de elétrons (TEE) (KOCH; HARNISCH, 2016). Assim, a compreensão da TEE é fundamental para entender o princípio operacional das MFCs, como também potencializar a geração energética nestes sistemas.

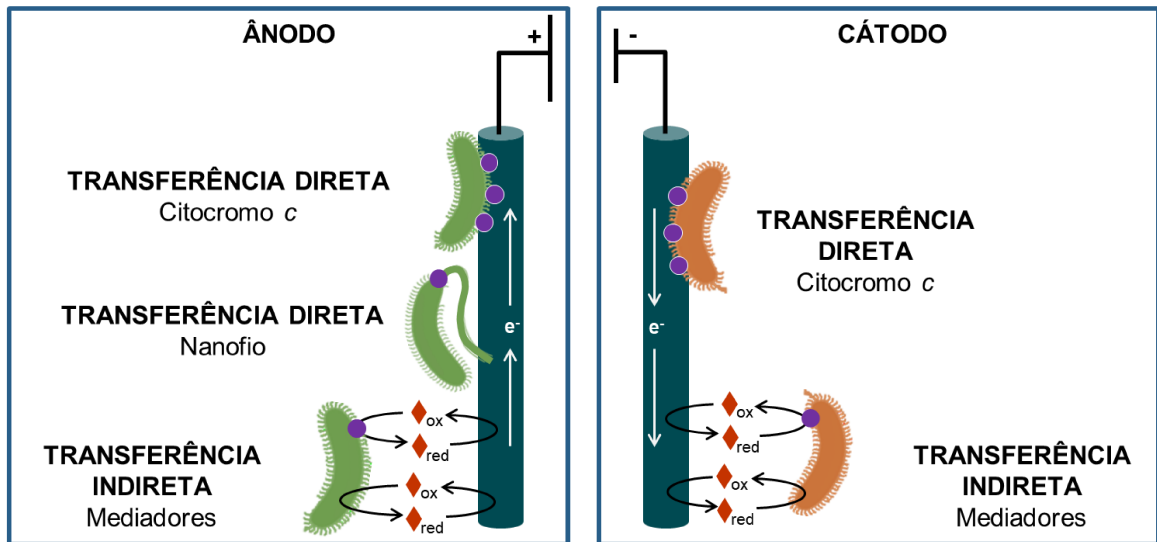
A TEE é um mecanismo desenvolvido por algumas bactérias para se adaptar a ambientes anaeróbios com deficiência de reservas de aceptores finais de elétrons solúveis. Para sobreviver nestes ambientes, alguns microrganismos criaram uma extensão do seu circuito redox através da membrana celular para acessar outros aceptores finais de elétrons para



descarga final de elétrons. Deste modo, a TEE necessita de mecanismos e estruturas especiais para permitir a transferência seletiva de elétrons para fora da membrana celular (AIYER, 2020).

Diversos estudos vêm sendo desenvolvidos a fim de compreender os mecanismos e componentes moleculares da TEE (AIYER, 2020; KOCH; HARNISCH, 2016; SIMONTE et al., 2017). Os principais mecanismos da TEE são a transferência direta de elétrons e a transferência indireta de elétrons, ilustrados na Figura 9.

Figura 9 – Principais mecanismos de transferência de elétrons em uma MFC com ânodo e cátodo biológicos: transferência direta de elétrons por contato direto via citocromo C; transferência direta de elétrons por contato direto via nanofios; e transferência indireta de elétrons via mediadores redox.



Fonte: Adaptado de Koch e Harnisch (2016).

#### 2.2.4.1 Transferência direta de elétrons

A transferência direta de elétrons ocorre por meio de um contato físico direto entre a membrana celular do microrganismo e o eletrodo. Portanto, os microrganismos que realizam a TEE por meio deste mecanismo necessitam de estruturas específicas em sua membrana, que podem ser os citocromos *c* ou nanofios.

O citocromo *c* é uma heme proteína que está presente na superfície externa da membrana celular e que facilita a transferência de elétrons para o receptor final de elétrons como, por exemplo, o eletrodo da MFC (AIYER, 2020) (Figura 9). Estudos conduzidos em *G. sulfurreducens* demonstraram que tais estruturas podem funcionar como capacitores, permitindo que o microrganismo armazene elétrons na ausência de um receptor de elétrons

compatível (MALVANKAR et al., 2012). Assim, a célula “carregada” é capaz de descarregar estes elétrons nos aceptores quando eles estiverem próximos o suficiente para permitir a transferência de elétrons (SIMONTE et al., 2017). Bactérias do gênero *Geobacter* e *Shewanella* possuem redes complexas destes citocromos participando na TEE, o que justifica a contribuição destes microrganismos na obtenção de altas densidades de corrente em MFCs (AIYER, 2020).

Além dos citocromos, os nanofios são estruturas filamentosas identificadas em microrganismos que realizam a transferência direta de elétrons, especialmente em bactérias do gênero *Geobacter* (Figura 9) (SIMONTE et al., 2017; SLATE et al., 2019). Estes filamentos condutores são constituídos por um conjunto de citocromos e proteínas periplasmáticas e da membrana externa (AIYER, 2020). Os nanofios estão conectados a citocromos da membrana bacteriana e permitem a transferência de elétrons a aceptores que estão fisicamente distantes da bactéria. Assim, estas estruturas são consideradas uma estratégia eficiente para produção de corrente em biofilmes bacterianos, pois permitem a transferência de elétrons para o ânodo a distâncias de até 400  $\mu\text{m}$  (SIMONTE et al., 2017). Além da *Geobacter* spp., os nanofios também foram observados em *Synechocystis*, *Shewanella oneidensis*, *Aeromonas* spp. e *Microcystis aeruginosa* (AIYER, 2020).

Uma desvantagem da transferência direta de elétrons é que somente bactérias localizadas na primeira camada e diretamente em contato com o eletrodo são capazes de participar da TEE por este mecanismo. No entanto, a constatação da TEE em biofilmes espessos no ânodo levou ao conceito de biofilmes condutores (MALVANKAR et al., 2012). Esses biofilmes têm boa condutividade elétrica e estão principalmente associados à família *Geobacteraceae* e microrganismos relacionados enriquecidos com lodo de águas residuais.

#### 2.2.4.2 Transferência indireta de elétrons

Na ausência de condições que favoreçam a transferência direta de elétrons, alguns microrganismos são capazes de realizar a TEE via mediadores redox que atuam como carregadores para a transferência de elétrons até o seu aceptor final (Figura 9). Estes mediadores são moléculas orgânicas de baixo peso molecular capazes de catalisar reações tanto de oxidação quanto redução (SLATE et al., 2019). Além disso, os mediadores podem ser adicionados ao meio (exógenos) ou produzidos pela própria bactéria (endógenos) e devem ser quimicamente estáveis, não tóxicos para as bactérias, apresentar boa solubilidade no anólito, e ter potencial redox suficientemente positivo (AIYER, 2020; SLATE et al., 2019).

Mediadores endógenos são metabólitos produzidos pelas células, como riboflavinas, fenazinas, flavinas, piocianinas e quinonas. A piocianina, por exemplo, é um metabólito secundário produzido pela *Pseudomonas aeruginosa*, de coloração verde azulada, e sua concentração no ânodo possui correlação direta com a eficiência de geração de eletricidade, devido à sua habilidade de transportar elétrons através da membrana celular (SLATE et al., 2019).

Existe uma grande diversidade de bactérias gram-positivas e gram-negativas com a habilidade de empregar mediadores endógenos para realizar a TEE (KOCH; HARNISCH, 2016). Em MFCs de culturas mistas, bactérias não eletrogênicas que produzem mediadores redox auxiliam espécies eletrogênicas na transferência de elétrons, gerando assim, um efeito sinérgico favorável à geração de energia (AIYER, 2020).

Os mediadores exógenos usados para melhorar a performance de MFCs incluem: azul de metileno, derivativos de quinonas, vermelho neutro e Fe (III) EDTA. No entanto, o uso destes compostos vem sendo reduzido ao longo dos anos, devido à toxicidade e instabilidade destes compostos (AIYER, 2020).

#### 2.2.4.3 Transferência de elétrons no cátodo

Em comparação aos mecanismos de TEE que ocorrem no ânodo descritos anteriormente, ainda se conhece pouco a respeito dos mecanismos de transferência de elétrons do cátodo para os microrganismos.

Assim como no ânodo, a transferência de elétrons pode ser direta ou indireta. O mecanismo de transferência direta já foi demonstrado com bactérias do gênero *Geobacter* que foram capazes de recuperar elétrons diretamente de um eletrodo de grafite e utilizá-los para reduzir nitrato a nitrito (GREGORY et al., 2004). A transferência de elétrons neste caso, também acontece via citocromos *c* presentes na membrana externa da bactéria. Além disso, a geração de gradiente de prótons durante a redução do cátodo é considerada uma característica chave desse mecanismo (AIYER, 2020).

Na transferência indireta, são empregados mediadores redox solúveis que são reduzidos pelo cátodo e, por sua vez, reduzem os microrganismos. Um exemplo de microrganismo que realiza a transferência indireta é a *Acinetobacter calcoaceticus*. Esta bactéria produz uma secreção redox com propriedades similares à quinina e, assim, transfere elétrons para a bactéria (FREGUIA et al., 2010).

### 2.2.5 Remoção de nitrogênio no biocátodo de MFCs

Dentre os processos que podem ser adaptados ao cátodo da MFC, a remoção de nitrogênio é de especial interesse para o tratamento de efluentes. Compostos nitrogenados, como amônia e nitrato, são poluentes comuns em diversos efluentes e podem causar problemas ambientais como a eutrofização de águas superficiais, criação de zonas anóxicas e alteração da biota (BERNHARD, 2010). O desenvolvimento de biocátodos expande o leque de opções de aceptores finais de elétrons e permite utilizar, por exemplo, nitrito e nitrato como aceptores finais de elétrons, além de reduzir os custos associados ao uso de catalisadores químicos no cátodo pela substituição por microrganismos (SLATE et al., 2019; UCAR; ZHANG; ANGELIDAKI, 2017).

Os processos convencionais de remoção de nitrogênio incluem uma etapa de nitrificação seguida pela desnitrificação e estão fundamentados no item 2.2.5.1. A adaptação destes processos ao cátodo da MFC realizada por Virdis et al. (2010) demonstrou que a desnitrificação pode ocorrer mesmo em concentrações de  $O_2$  dissolvido superiores às observadas no processo convencional, o que poderia ser explicado pela formação de um microambiente na superfície porosa dos grânulos de grafite, onde as bactérias desnitrificantes poderiam se desenvolver. Além disso, Zhu et al. (2016) observou que a remoção de nitrogênio foi melhorada em um MFC em relação à operação em circuito aberto, atribuindo este resultado à estimulação das atividades bacterianas pelo campo elétrico.

A diferença de potencial e a corrente elétrica também podem estimular o enriquecimento da cultura microbiana com bactérias desnitrificantes eletro-autotróficas. As bactérias do gênero *Geobacter* podem transferir elétrons de modo bidimensional e, na ausência de fonte de carbono orgânico, passam a ser aceptoras de elétrons e atuam na redução de nitrato a  $N_2$  (CHEN et al., 2019).

De acordo com Gude et al. (2016), os principais fatores que afetam a remoção de nitrogênio em MFCs são: (i) a concentração de oxigênio dissolvido; (ii) pH; (iii) razão DQO/N; (iv) geração de eletricidade pelo ânodo. Condições com alta concentração de  $O_2$  e alto pH podem inibir a desnitrificação. A razão DQO/N pode influenciar a remoção de nitrogênio por meio da quantidade de elétrons liberada pelo ânodo, pois esta advém da oxidação da matéria orgânica. A desnitrificação eletrotrofica pode ocorrer em uma ampla faixa de razão DQO/N (de 4,5 até 16) (VIRDIS et al., 2008, XIE et al., 2011), porém, se a concentração de compostos

orgânicos exceder a capacidade de remoção anódica, o aumento da desnitrificação heterotrófica pode alterar a performance da MFC (ZHANG; HE, 2013).

#### 2.2.5.1 Fundamentos da nitrificação e desnitrificação

O processo convencional de eliminação de nitrogênio em efluentes é composto por uma etapa de nitrificação seguida pela etapa de desnitrificação. Deste modo, primeiro o nitrogênio amoniacal é oxidado a nitrato sob condições aeróbias pelas bactérias nitrificantes. Em seguida, o nitrato é reduzido a nitrogênio gasoso em ambiente anóxico por bactérias desnitrificantes (SCHIMIDELL et al., 2007).

A nitrificação é a etapa limitante da remoção de nitrogênio devido ao baixo crescimento celular das nitrificantes e sua inibição por diversos compostos (SCHIMIDELL et al., 2007). Além disso, a atividade destas bactérias sofre bastante influencia das condições operacionais como temperatura, pH, oxigênio dissolvido e composição do meio (METCALF; EDDY, 2016).

As bactérias nitrificantes são estritamente autotróficas e podem ser divididas em dois grandes grupos: as bactérias oxidadoras de amônia (BOA) que oxidam a amônia a nitrito e as bactérias oxidadoras de nitrito (BON) que oxidam o nitrito a nitrato. Dentre as BOAs, o gênero mais frequente nas ETEs é o *Nitrosomonas*, mas também podem ocorrer as *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosorobrio*. Já entre as BONs as bactérias do gênero *Nitrobacter* são as mais comuns, além das *Nitrococcus*, *Nitrospira*, *Nitrospina* e *Nitrocystis* (METCALF; EDDY, 2016; RITTMANN; MCCARTY, 2001).

Para garantir o bom desempenho da nitrificação alguns fatores ambientais devem ser controlados, como pH, temperatura e oxigênio dissolvido (OD). O pH está associado ao equilíbrio entre as espécies químicas amônia livre ( $\text{NH}_3$ ) e amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), assim como nitrito e ácido nitroso. Para assegurar que não haverá inibição pelo acúmulo de  $\text{NH}_3$  ou de ácido nitroso, o pH ideal da nitrificação deve ser mantido próximo a 7,0 (METCALF; EDDY, 2016). A temperatura influencia a velocidade de crescimento celular, sendo o ideal trabalhar numa faixa entre 28 e 36°C, pois as bactérias nitrificantes são, em sua maioria, mesofílicas. Já a baixa concentração de OD pode limitar o processo de nitrificação e levar ao acúmulo de nitrito em condições com OD próximo a 0,5 mg·L<sup>-1</sup>, sendo ideal entre 3,0 e 4,0 mg·L<sup>-1</sup> (BERNET; SPÉRANDIO, 2009; METCALF; EDDY, 2016).

A desnitrificação é fundamental para a remoção de nitrogênio de efluentes, pois é nela que acontece de fato a eliminação do nitrogênio do meio líquido pela formação de gases nitrogenados. No processo convencional, as bactérias heterotróficas executam a desnitrificação dissimilatória, na qual a redução de nitrato a gás nitrogênio ( $N_2$ ) ocorre através de uma série de reações que produzem como intermediários: nitrito ( $NO^-$ ), óxido nítrico (NO) e óxido nitroso ( $N_2O$ ). A produção de gases como NO e  $N_2O$  é de grande preocupação, pois são gases associados ao efeito estufa, sendo o  $N_2O$  o mais potente entre eles (METCALF; EDDY, 2016). A desnitrificação também pode acontecer via nitrito, que do ponto de vista econômico é mais vantajosa, pois resulta em menor produção de lodo e menor consumo de matéria orgânica, evitando a adição de matéria orgânica ao processo (SCHIMIDELL et al., 2007).

Bactérias desnitrificantes são bastante versáteis e diversificadas. Elas são tanto heterotróficas como autotróficas e, em sua maioria, são aeróbios facultativos, isto é, podem utilizar oxigênio, nitrato ou nitrito como aceptores finais de elétrons e, em alguns casos, fermentar na ausência de nitrato ou de oxigênio. Alguns exemplos de bactérias desnitrificantes heterotróficas são: *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Flavobacterium*, *Halobacterium*, *Neisseria*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Spirillum* e *Vibrio* (METCALF; EDDY, 2016).

Apesar da flexibilidade destes microrganismos é necessário atender a alguns requisitos para que a desnitrificação ocorra da maneira desejada. O OD deve ser muito bem ajustado e controlado, pois concentrações superiores a  $0,2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  podem inibir a desnitrificação completamente, pois nestas condições alguns microrganismos podem passar a usar  $O_2$  comoceptor final de elétrons no lugar do nitrato/nitrito. O pH deve ser preferencialmente próximo a 8 para favorecer o crescimento microbiano e para evitar a formação dos óxidos de nitrogênios que acontece de forma mais acentuada em  $\text{pH} < 7,0$ . Por fim, a temperatura ideal para estes microrganismos é próxima a  $35^\circ\text{C}$  (SCHIMIDELL et al., 2007).

### **2.2.6 Aplicação da MFC no tratamento de efluentes contaminados com antibióticos**

Dada a importância e a urgência em encontrar soluções mais eficientes e sustentáveis para o tratamento de efluentes contaminados com antibióticos, observa-se um aumento constante de estudos avaliando o desempenho das MFCs, mesmo essa sendo uma tecnologia relativamente recente e com poucos estudos em escala piloto ou industrial.

Os primeiros relatos na literatura sobre estudos envolvendo antibióticos e MFCs datam de 2010 (PATIL; HARNISCH; SCHRÖDER, 2010). Desde então, este tópico vem recebendo

mais atenção dos pesquisadores, totalizando 94 artigos científicos (desconsiderando artigos de revisão) publicados até 2021 na base de dados Scopus (palavras-chave: microbial AND fuel AND cell AND antibiotic). Tais estudos são focados nos efeitos inibitórios dos antibióticos, na remoção destes compostos e proliferação de genes de resistência antimicrobiana. No entanto, ainda há muitos aspectos que precisam ser compreendidos neste tema.

Em muitos destes trabalhos, as concentrações de antibiótico avaliadas estão na faixa de  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Trabalhar nesta faixa de concentração é interessante para compreender os efeitos dos antibióticos sobre as comunidades microbianas em situações de estresse e as rotas metabólicas de degradação destes fármacos. No entanto, dificilmente antibióticos são encontrados em amostras ambientais nesta faixa de concentração, sendo mais comum concentrações entre  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  e  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Chen et al. (2018) avaliou a eficiência e o mecanismo de degradação de oxitetraciclina em uma MFC de dois canais com bioeletrodos modificados com grafeno *in situ*. De acordo com os autores, o uso de bioeletrodos apresentou resultados promissores relacionados com a melhora das propriedades eletroquímicas e a TEE. Após 8 dias de operação, a eficiência de degradação do antibiótico na MFC foi de 91,8% no ânodo e 95% no cátodo. O processo gerou como principais produtos de degradação moléculas de benzeno monocíclicas em ambos os canais da MFC. Além disso, as análises de biologia molecular confirmaram a presença de microrganismos exoeletrogênicos (*Geobacter*) e relacionados à biodegradação de oxitetraciclina. Os resultados obtidos por Chen et al. (2018) também estão de acordo com o estudo realizado por Yan et al. (2018), que relacionou o bom desempenho de uma MFC no tratamento de efluente contaminado com oxitetraciclina com a estimulação elétrica e a maior atividade microbiana.

Outros estudos também mostraram bom resultados de remoção de antibióticos em MFC. Catal et al. (2018) monitoraram a remoção de neomicina em uma MFC de cátodo aerado e eletrodos de carvão ativado, observando a degradação parcial deste antibiótico com eficiências de remoção de 88%. Além disso, a adição do antibiótico provocou uma queda contínua na voltagem produzida pela MFC, sugerindo que a MFC também poderia ser aplicada como biosensor para este poluente.

Pensando na aplicação da MFC para tratamento de efluentes reais, é preciso considerar que a composição destes efluentes é complexa e que diversos poluentes estarão presentes. Tais características podem modificar a remoção dos antibióticos e a sua interação com o lodo. Portanto, o estudo destas interações é uma etapa importante para aprofundar no entendimento

destes processos. No estudo sobre a remoção simultânea de antibióticos e metais pesados realizado por Ma et al. (2019), foi observado que a presença de  $\text{Cu}^{2+}$  inibiu a remoção de cloranfenicol e que os contaminantes exerceram um efeito combinado sobre a estrutura da comunidade bacteriana no biocátodo, principalmente no que diz respeito à abundância relativa de ARG.

O desempenho das MFCs na proliferação de ARGs é um tópico frequentemente abordado na literatura. Apesar dos antibióticos exercerem uma pressão seletiva sobre os microrganismos e induzir a proliferação de ARG e ARB em MFCs inoculadas com culturas mistas, a abundância relativa de ARG é inferior àquelas observadas em bioprocessos convencionais (GUO et al., 2017b; ONDON et al., 2020; YAN et al., 2018). Os fenômenos que estariam por trás destas observações ainda não estão totalmente descritos na literatura, porém podem ser parcialmente explicados pela baixa produção de lodo em MFCs (ZHANG et al., 2020). De modo similar, as condições operacionais, como o potencial catódico, temperatura e salinidade, poderiam influenciar a proliferação de ARG e ARB nestes sistemas (GUO et al., 2017b, 2018; SONG et al., 2018; ZHANG et al., 2020).

O diferencial da MFC desenvolvida neste trabalho em relação aos demais estudos encontrados na literatura está na configuração de reator proposta. Enquanto os demais estudos empregaram MFC de cátodo a ar ou utilizaram processos abióticos no canal catódico operando em batelada, este estudo foi desenvolvido com uma MFC de ânodo e cátodo biológicos configurada para promover o tratamento complementar do efluente sintético nestes canais em modo contínuo. Isto significa que no ânodo o efluente foi parcialmente tratado para remoção de matéria orgânica e então enviado para o cátodo onde ocorreu a remoção de nitrogênio total. Apesar de configurações similares estarem disponíveis na literatura, não encontramos nenhum estudo sobre o desempenho de uma MFC de ânodo e cátodo biológicos quando exposta a antibióticos, em especial, as fluoroquinolonas. Ressalta-se também o longo tempo de operação das MFCs (703 dias) neste trabalho em contraste aos demais, nos quais, em sua maioria, o tempo de operação variou entre alguns dias a semanas. Assim, foi possível observar a evolução do comportamento de diversas comunidades microbianas durante a exposição às fluoroquinolonas ao longo do tempo. Outro diferencial deste trabalho foi a escolha da faixa de concentração das fluoroquinolonas, que englobou tanto concentrações ambientalmente relevantes quanto a extrapolação para condições de estresse, permitindo verificar a performance das MFCs em diferentes condições.

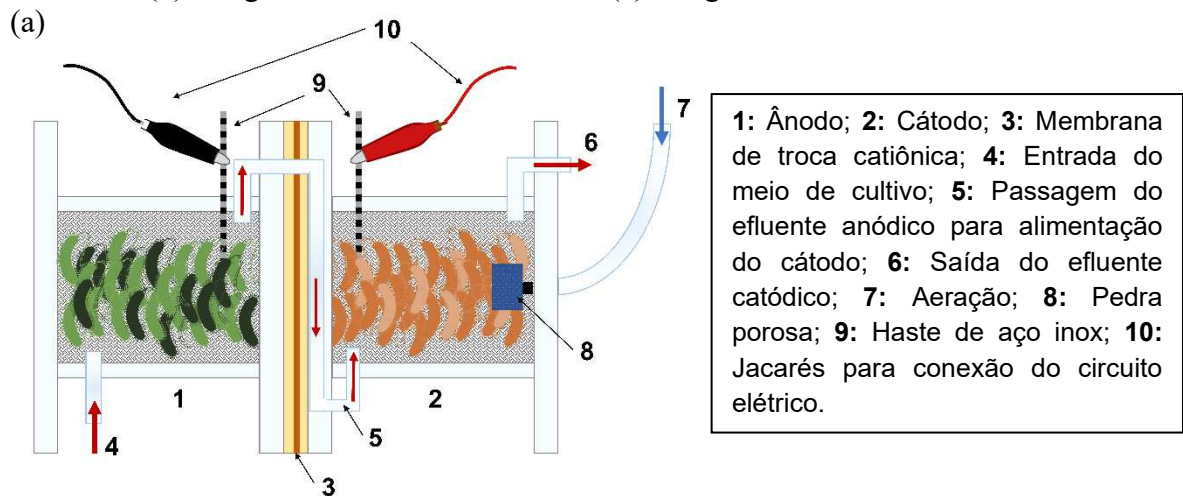


### 3 MATERIAL E MÉTODOS

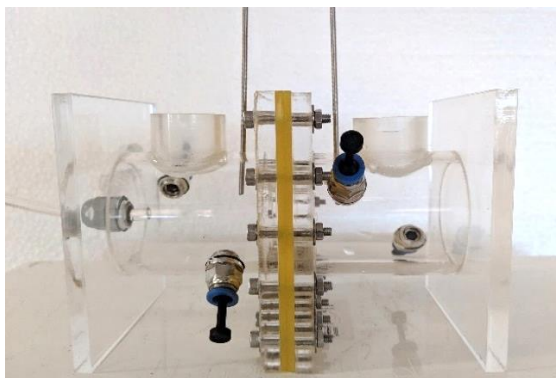
#### 3.1 PROJETO E CONSTRUÇÃO DAS MFCs

As MFCs desenvolvidas neste estudo foram projetadas visando alcançar a remoção integrada de poluentes convencionais e antibióticos. Para isto, levamos em consideração diversos fatores discutidos no Referencial Teórico: as condições operacionais e os processos biológicos que influenciam a remoção de micropoluentes; e o dimensionamento dos reatores e os tipos de materiais que afetam a geração de eletricidade. No entanto, dificuldades experimentais inviabilizaram a execução das análises de remoção de antibióticos nas MFCs e, portanto, o efeito das fluoroquinolonas sobre desempenho das MFC será o foco deste trabalho. A representação esquemática das MFCs está apresentada na Figura 10.

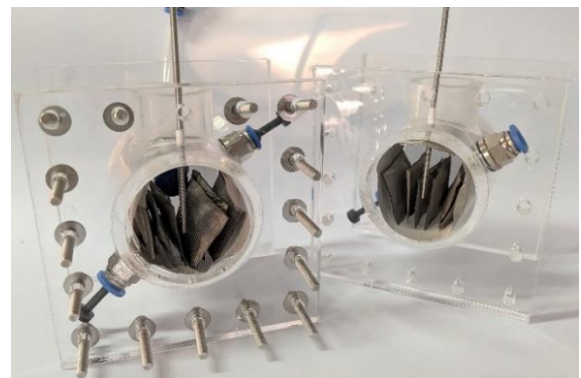
Figura 10 – Célula a combustível microbiana: (a) representação esquemática do corte transversal, (b) fotografia da estrutura externa e (c) fotografia da vista interna com eletrodos.



(b)



(c)

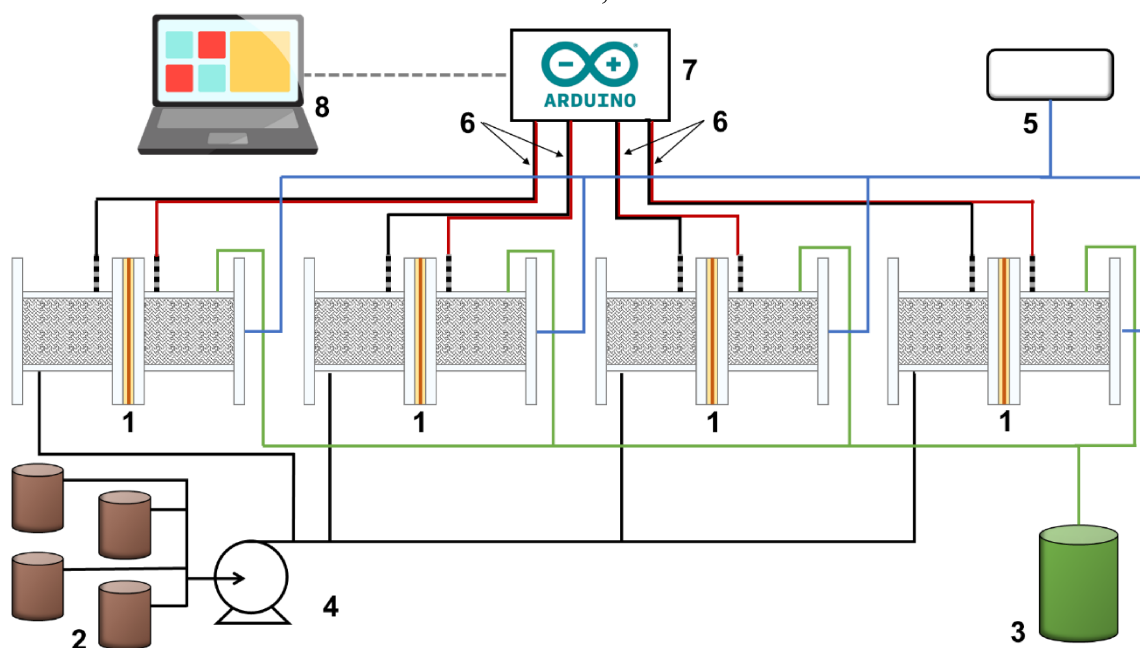


Fonte: Elaborado pela autora.

Os experimentos foram realizados em quatro MFCs de câmara dupla projetadas com volume útil de 100 mL por canal, totalizando 200 mL por reator. As MFCs foram construídas em acrílico pela empresa EcoEducativa (Florianópolis, SC). Os canais anódico e catódico de cada MFC foram separados por uma membrana de troca catiônica (CMI-7000S, Membranes International) e preenchidos com eletrodos para fixação do biofilme microbiano e transporte de elétrons. Os eletrodos e as membranas serão descritos nos itens 3.1.1 e 3.1.2, respectivamente.

A alimentação do sistema foi realizada com uma bomba peristáltica multicanal (BP600, Milan), enquanto os cátodos foram aerados com uma bomba compressora de ar (OS 950, Minjiang). Ambos foram controlados por temporizadores digitais (FX-TBD, Foxlux). Além disso, os reatores foram conectados a um sistema de aquisição de dados constituído por uma protoboard e um microcontrolador Arduino Uno (Arduino®, Itália) integrados a um notebook para monitorar a diferença de potencial e a geração de energia em cada MFC. O código de programação desenvolvido para o sistema de aquisição está disponível no Apêndice 2. Os dados obtidos a partir deste sistema foram enviados diretamente para uma planilha de Excel® e também salvos no formato CSV para posterior tratamento. As condições operacionais das MFCs serão descritas detalhadamente no item 3.4. A representação esquemática do aparato experimental está apresentada na Figura 11.

Figura 11 – Esquema representativo do aparato experimental para operação das MFCs. 1 – Biocélulas combustíveis; 2 – Afluente (alimentação); 3 – Efluente (descarte); 4 – Bomba peristáltica; 5 – Bomba compressora de ar; 6 – Circuito elétrico; 7 – Microcontrolador Arduino Uno®; 8 – Notebook.

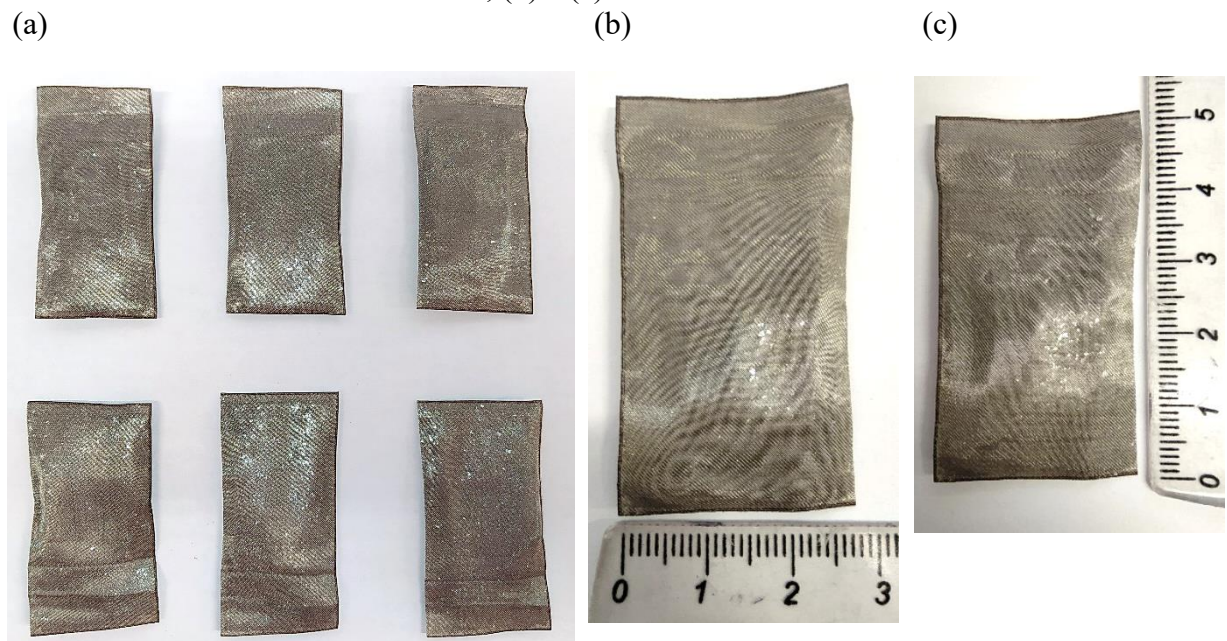


Fonte: Elaborado pela autora.

### 3.1.1 Eletrodos

Os eletrodos utilizados nas MFCs foram desenvolvidos com o objetivo de aumentar a área superficial disponível para a aderência do biofilme microbiano e transporte de elétrons. Para cada canal, foram construídos 6 cartuchos (2,5 x 5,0 cm) de tecido metálico de aço inox (200 mesh) (Telas Rocha LTDA, Brasil), preenchidos com 2,0 g de grânulos de grafite com 99,83% de pureza (Nacional de Grafite LTDA, Brasil), como apresentado na Figura 12. Os cartuchos foram soldados a laser com o auxílio do equipamento desenvolvido pelo Laboratório de Mecânica da Precisão (LMP, UFSC) denominado Sistema Laser 2 (SL2). Este equipamento é composto por um scanner galvanométrico 2D com lente F-theta de comprimento focal de 170 mm e por uma fonte laser de fibra dopada com Itérbio, pulsada com largura de pulso variável de 1 a 120 ns e potência de 50 W.

Figura 12 – Fotografia dos cartuchos de aço inox e grafite utilizados nas MFCs: (a) total de cartuchos em cada canal, (b) e (c) dimensionamento dos cartuchos.



Fonte: Elaborado pela autora.

Os cartuchos foram depositados sobre uma manta coletora (7,0 x 16,0 cm), constituída pelo mesmo tecido metálico dos cartuchos, e esta foi acoplada a uma haste de metal inoxidável que foi conectada à fiação externa para a passagem de elétrons.

Os grânulos de grafite utilizados nos eletrodos foram caracterizados quanto à sua distribuição granulométrica, área superficial BET, distribuição do tamanho de poros e

morfologia. A distribuição granulométrica foi realizada por peneiramento, com aberturas variando entre 850  $\mu\text{m}$  e 53  $\mu\text{m}$ . A área superficial BET e a distribuição do tamanho de poros foram quantificadas em analisador de adsorção (Autosorb-1, Quantachrome Instruments) pertencente à Central de Análises (EQA, UFSC). Antes da análise, as amostras foram submetidas à dessorção a 300°C por 3 h sob vácuo. Por fim, a morfologia dos grânulos foi observada em microscópio eletrônico de varredura (MEV) (JEOL JSM-6390LV) pertencente ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME, UFSC). Para a análise, as amostras foram previamente fixadas com fita dupla de carbono em stubs e o equipamento foi operado a 10 kV.

### 3.1.2 Membranas

Como mencionado anteriormente, os canais anódico e catódico de cada MFC foram separados por uma membrana de troca catiônica (9,0 x 9,0 cm) (CMI-7000S, Membranes International). De acordo com o fabricante, a membrana é constituída por gel de poliestireno reticulado com divinilbenzeno e funcionalizada com ácido sulfônico.

A membrana foi caracterizada quanto à sua morfologia e composição superficial por microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia por energia dispersiva (MEV-EDS). As análises foram realizadas em microscópio eletrônico JEOL (JSM-6390LV) (LCME, UFSC) operado a 10 kV e as amostras foram previamente fixadas em *stub* e recobertas com ouro.

## 3.2 INÓCULOS

Anteriormente à inoculação dos reatores, foram adaptadas três comunidades microbianas: (i) nitrificante, (ii) desnitrificante e (iii) anaeróbia.

A cultura nitrificante foi obtida a partir de uma biomassa predominantemente nitrificante previamente enriquecida a partir de lodo ativado e acondicionada a 4 °C. Para a reativação desta cultura, 400 mL de biomassa foram mantidos a 25 °C, sob agitação (200 rpm) e aeração constantes, com um agitador magnético com aquecimento (C-MAG HS 7, IKA®) e uma bomba compressora de ar (A420, BigAir®).

As culturas desnitrificante e anaeróbia foram obtidas a partir do enriquecimento de lodo ativado proveniente de uma planta de tratamento de esgoto sanitário (CASAN, Florianópolis-SC). O lodo ativado, aproximadamente 1 L, foi peneirado e lavado com NaCl 0,5

$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Em seguida, seu volume foi reduzido para 800 mL e igualmente dividido em dois erlenmeyers. Os frascos foram vedados e mantidos a 25 °C e 200 rpm em banho com agitação.

A alimentação do meio de cultivo e o descarte do efluente tratado de todos os inóculos foi realizada diariamente, sendo mantido TRH de 4 dias. A composição dos meios de cultivo se distinguia somente em relação ao substrato principal necessário para o desenvolvimento de cada comunidade microbiana e foi adaptada de Lovley e Phillips (1988) (Tabela 2).

Tabela 2 – Composição dos meios de cultivo dos inóculos

Nutriente	Concentração ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )		
	Nitrificante	Desnitrificante	Anaeróbio
$\text{NaHCO}_3$	2,5	2,5	2,5
$\text{NaCH}_3\text{COO}$	-	0,48	1,68
$\text{NaNO}_3$	-	0,61	-
$(\text{NH}_4)_4\text{SO}_4$	0,24 – 0,94	-	-
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	0,6	0,6	0,6
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	0,74	0,74	0,74
Extrato de levedura	0,05	0,05	0,05
$\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,1	0,1	0,1
KCl	0,1	0,1	0,1
NaCl	0,1	0,1	0,1
$\text{MgCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,1	0,1	0,1
$\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,1	0,1	0,1
$\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,005	0,005	0,005
$\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,001	0,001	0,001

Fonte: Adaptado de Lovley e Phillips (1988).

O pH dos inóculos foi monitorado diariamente e corrigido, quando necessário, com NaOH 2,5% (m/m) e HCl 2,5% (m/m). Os inóculos também foram monitorados quanto ao consumo do substrato principal de cada comunidade: (i) nitrogênio amoniacal ( $\text{N-NH}_4^+$ ) para o inóculo nitrificante; (ii) nitrogênio na forma de nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ) para o inóculo desnitrificante; e (iii) DQO para o inóculo anaeróbio. As análises foram realizadas de acordo com os métodos descritos no item 3.4.1.1. Ao final, a concentração celular de cada inóculo foi determinada pela série de sólidos – sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos

suspensos voláteis (SSV) (APHA, 2005). Antes de inocular as MFCs, as três culturas microbianas obtidas nesta etapa foram misturadas com o intuito de obter uma única suspensão de células para inocular cada canal e, assim, diminuir a propagação de erros. Esta etapa, com suas devidas quantidade e proporções, está descrita nos itens 3.2.1 e 3.2.2.

### **3.2.1 Canal anódico**

O canal anódico de cada MFC foi inoculado com 100 mL de uma suspensão de células composta por 30% de inóculo anaeróbio, 20% de inóculo anódico proveniente de uma célula microbiana de dessalinização (CMD) em operação no Laboratório de Biotecnologia Ambiental (e-biotech) e 50% de meio de cultivo (Tabela 3). Este último inóculo foi obtido a partir do ânodo de uma CMD em operação no e-biotech, onde também ocorria um processo anaeróbio. A concentração final de biomassa inoculada nos ânodos foi de  $1,33 \pm 0,10 \text{ g SSV} \cdot \text{L}^{-1}$ .

### **3.2.2 Canal catódico**

O canal catódico de cada MFC foi inoculado com 100 mL de uma suspensão de células composta por 15% de inóculo nitrificante, 15% de inóculo desnitrificante, 20% de inóculo catódico proveniente da CMD e 50% de meio de cultivo (Tabela 3) com a concentração de acetato reduzida para  $0,336 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . Esta alteração foi necessária para fornecer somente a quantidade estequiométrica de carbono orgânico para a desnitrificação e evitar o crescimento de bactérias heterotróficas aeróbias no cátodo. O inóculo catódico foi obtido a partir do cátodo de uma CMD em operação no e-biotech, onde também ocorria um processo de nitrificação e desnitrificação simultânea. A concentração de biomassa inoculada nos cátodos foi de  $1,31 \pm 0,16 \text{ g SSV} \cdot \text{L}^{-1}$ .

## **3.3 MEIO DE CULTIVO**

O meio de cultivo utilizado para o desenvolvimento e a seleção dos microrganismos nas MFCs foi adaptado de Lovley e Phillips (1988), conforme apresentado na Tabela 3. As concentrações de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  e  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  foram alteradas no início da operação dos reatores (1° ao 33° dia) com o objetivo de ajustar os valores de pH dentro dos canais das MFCs.

Tabela 3 – Composição do meio de cultivo

Nutriente	Concentração (g·L <sup>-1</sup> )
NaHCO <sub>3</sub>	2,00
NaCH <sub>3</sub> COO	1,68
(NH <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> SO <sub>4</sub>	0,24
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5,18
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,97
Extrato de levedura	0,05
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,10
KCl	0,10
NaCl	0,10
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,10
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,10
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0,005
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,001

Fonte: Adaptado de Lovley e Phillips (1988).

### 3.4 PARTIDA E OPERAÇÃO DAS MFCS

Após a inoculação, os reatores foram conectados ao sistema de aquisição de dados para iniciar a registro da tensão entre os canais de cada MFC que, inicialmente, foram operadas em circuito aberto (OCV), isto é, sem geração de corrente elétrica. Essa estratégia foi empregada para favorecer o desenvolvimento dos biofilmes microbianos a partir das reações redox puramente biológicas, resultando em bioeletrodos com maior estabilidade superficial (BABAUTA et al., 2012).

Quando foi observada a estabilidade do processo, tanto em relação à diferença de potencial entre os canais, quanto em relação aos processos biológicos, as MFCs passaram a operar em condições de circuito fechado (CCV). Para isto, uma resistência externa de 1000 Ω foi conectada entre o ânodo e cátodo permitindo a passagem de elétrons entre os canais e a geração de corrente elétrica.

Cada canal das MFCs foi operado em modo de batelada alimentada. Até o 7º dia, o TRH dos canais foi definido em 2 d para estabilizar o processo e desenvolver o biofilme. A partir de então, reduzido para 1 d, com a alimentação e o descarte realizados a cada 12 h. O

cátodo foi aerado de modo intermitente a fim de promover os processos de nitrificação e desnitrificação. Inicialmente, a aeração foi acionada por 20 min (período óxico), seguido por 54 min sem aeração (período anóxico); porém, os tempos foram corrigidos para 35 min e 1h 49 min, respectivamente, devido às instabilidades observadas na etapa de desnitrificação.

### 3.4.1 Monitoramento das MFCs

#### 3.4.1.1 Parâmetros físico-químicos

O desempenho dos processos biológicos das MFCs foi monitorado com base na quantificação da matéria orgânica (medida em relação à DQO), compostos nitrogenados ( $\text{N-NH}_4^+$ ,  $\text{N-NO}_2^-$  e  $\text{N-NO}_3^-$ ) e pH.

A DQO foi determinada em ambos os canais das MFCs utilizando o método colorimétrico por refluxo fechado descrito no *Standard Methods* (APHA, 2005). O nitrogênio amoniacal também foi determinado em ambos os canais das MFCs e foi realizado de acordo com o método colorimétrico proposto por Nessler e descrito por Vogel (2008). O nitrogênio na forma de nitrito foi determinado somente nos cátodos das MFCs por meio do kit comercial NitriVer 2 (HACH), conforme descrito pelo método colorimétrico 8153 da própria fabricante. Posteriormente, este método foi substituído pelo método da diazotação da sulfanilamida (APHA, 2005), pois o limite de quantificação deste último é inferior e compatível com a concentração de nitrito das amostras. O nitrogênio na forma de nitrato também foi quantificado somente no cátodo e foi realizado de acordo com o método colorimétrico por complexação do ácido salicílico (CATALDO et al., 1975). Todas as análises colorimétricas foram realizadas em espectrofotômetro (DR 5000, HACH).

O monitoramento dos reatores foi realizado 3 vezes por semana para períodos correspondentes a alterações nas condições operacionais e 2 vezes por semana para períodos de estabilidade no processo, com exceção do  $\text{N-NO}_2^-$ . Como este composto é um intermediário que é consumido rapidamente pelas bactérias oxidadoras de nitrito em condições de nitrificação completa (SCHMIDELL et al., 2007), ele foi monitorado apenas uma vez por semana.

A partir dos dados de monitoramento foi possível calcular a eficiência de remoção de poluentes pelas MFCs.



a) *Eficiência de remoção de DQO no sistema ( $\varepsilon_{DQO}$ ):*

$$\varepsilon_{DQO}(\%) = \frac{DQO_i - DQO_f}{DQO_i} \cdot 100\% \quad (2)$$

Na qual  $DQO_i$  ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) é a concentração de DQO alimentada na MFC e  $DQO_f$  ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) é a DQO do efluente catódico, que corresponde ao efluente final da MFC.

b) *Eficiência de conversão de amônia (nitrificação) ( $\varepsilon_{N-NH_4^+}$ ):*

$$\varepsilon_{N-NH_4^+}(\%) = \frac{N-NH_{4i}^+ - N-NH_{4f}^+}{N-NH_{4i}^+} \cdot 100\%$$

Na qual  $N-NH_{4i}^+$  ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) é a concentração de  $N-NH_4^+$  alimentada na MFC e  $N-NH_{4f}^+$  ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) a concentração de nitrogênio amoniacal no efluente catódico.

c) *Eficiência de remoção de nitrogênio total no sistema ( $\varepsilon_{NT}$ ):*

$$\varepsilon_{NT}(\%) = \frac{N-NH_{4i}^+ - (N-NH_{4f}^+ + N-NO_{2f}^- + N-NO_{3f}^-)}{N-NH_{4i}^+} \cdot 100\% \quad (3)$$

Na qual  $N-NO_{2f}^-$  ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e  $N-NO_{3f}^-$  ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) correspondem às concentrações de nitrogênio na forma de nitrito e nitrato, respectivamente, no efluente catódico.

#### 3.4.1.2 Parâmetros eletroquímicos

O desempenho eletroquímico das MFCs foi monitorado a partir da diferença de potencial (ddp), ou tensão, gerada entre os dois canais das MFCs ( $E_{MFC}$ , V). Como mencionado no item 3.1, os valores de tensão foram obtidos pelo sistema de aquisição de dados e coletados a cada 1 min. Os demais parâmetros eletroquímicos foram calculados a partir dos dados de  $E_{MFC}$  e estão detalhados a seguir.

a) *Corrente elétrica (I):*

A corrente elétrica,  $I$  (A), foi calculada a partir da  $E_{MFC}$  (V), e a resistência externa aplicada no sistema,  $R_{ext}$  ( $\Omega$ ), relação determinada pela Lei de Ohm:

$$I(A) = \frac{E_{MFC}}{R_{ext}} \quad (4)$$

b) *Potência (P):*

A potência produzida por uma MFC foi obtida pelo produto entre a tensão e a corrente:

$$P(W) = I \cdot E_{MFC} \quad (5)$$

Considerando a Equação 4, também pode ser expressa como:

$$P(W) = \frac{E_{MFC}^2}{R_{ext}} \quad (6)$$

c) *Densidades de corrente ( $I_V$ ) e de potência ( $P_V$ ):*

Apesar da importância de se conhecer a corrente e a potência geradas na MFC, somente estas variáveis não são suficientes para descrever a eficiência de geração de eletricidade por uma arquitetura de sistema específica. Portanto, é feita uma normalização destas variáveis em relação à área do eletrodo ou ao volume do reator que são definidas como densidade de corrente e densidade de potência (LOGAN, 2008). Para este estudo, foi considerado o volume do reator,  $V$  ( $m^3$ ), para o cálculo das densidades de corrente,  $I_V$  ( $A \cdot m^3$ ), e de potência,  $P_V$  ( $W \cdot m^3$ ), como apresentado nas Equações 7 e 8, respectivamente.

$$I_V (A \cdot m^{-3}) = \frac{E_{MFC}}{V \cdot R_{ext}} \quad (7)$$

$$P_V (W \cdot m^{-3}) = \frac{E_{MFC}^2}{V \cdot R_{ext}} \quad (8)$$

### 3.5 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DAS MFCs NA PRESENÇA DE ANTIBIÓTICOS

O desempenho das MFCs foi avaliado diante da exposição a três antibióticos do grupo das fluoroquinolonas: ciprofloxacina (CIP), levofloxacina (LEV) e norfloxacina (NOR). Todos os antibióticos foram adquiridos em grau HPLC (pureza > 98%) (Sigma-Aldrich, Alemanha).

Um dos reatores foi utilizado como controle (MFC-CTL), não havendo adição de antibiótico em nenhum momento. Enquanto isso, cada um dos demais reatores recebeu uma determinada concentração de um dos antibióticos de interesse, sendo denominados MFC-CIP, MFC-LEV e MFC-NOR. A composição do meio de cultivo conforme apresentado na Tabela 3, tendo como única diferença a concentração do antibiótico, que variou progressivamente

conforme o desempenho das MFCs. Foram avaliadas as seguintes concentrações: 50, 100, 500 e 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Os valores iniciais foram escolhidos com base nas concentrações destes compostos detectadas em efluentes (THAI et al, 2018; HE et al, 2019) a fim de compreender os fenômenos que ocorrem em condições ambientais. Então as concentrações foram aumentadas até 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para investigar os efeitos dos antibióticos sobre as comunidades microbianas em situações de estresse. Cada condição foi mantida por aproximadamente 30 dias ou até observar o comportamento estável das MFCs.

O monitoramento dos reatores, tanto dos parâmetros físico-químicos, quanto dos parâmetros eletroquímicos, ocorreu conforme descrito no item 3.4.1. Para compreender os efeitos dos antibióticos sobre o desempenho das MFCs também foram realizados ensaios cinéticos e curvas de polarização e potência. Além disso, a composição das comunidades microbianas foi caracterizada para compreender os efeitos das fluoroquinolonas sobre elas. Os métodos analíticos citados neste parágrafo estão descritos nos próximos itens.

### 3.5.1 Ensaios cinéticos

Os ensaios cinéticos foram realizados com os objetivos de compreender o perfil de remoção dos poluentes nas MFCs, obter as velocidades de consumo dos poluentes ( $-r_s$ ) e compreender se a exposição aos antibióticos, em suas diferentes concentrações, altera essas variáveis.

As cinéticas foram realizadas antes da adição dos antibióticos em todos os reatores e para cada concentração de antibiótico aplicada aos reatores, após observar um comportamento estável dos reatores. As cinéticas tiveram duração de um ciclo operacional das MFCs, ou seja, 12 h. A cada 2 h foram coletadas alíquotas dos canais anódicos e catódicos, filtradas e analisadas quanto ao pH, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e acetato. N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> foi quantificado de acordo com o método de Nessler (VOGEL, 2008). Os demais compostos foram determinados por cromatografia iônica (DIONEX IC 5000, Thermo Fisher) no Laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA, UFSC). Previamente à análise, as amostras foram filtradas em membrana 0,22  $\mu\text{m}$  e diluídas, quando necessário com água ultrapura (Merck Millipore).

As velocidades de consumo dos poluentes foram calculadas conforme a Equação 9.

$$-r_s (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) = \frac{S_t - S_{t_0}}{\Delta t} \quad (9)$$

Sendo  $S_t$  e  $S_{t_0}$  a concentração de poluente no tempo  $t$  e  $t_0$  ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), respectivamente, e  $\Delta t$  o intervalo de tempo ( $t - t_0$ ) (h).

### 3.6 INFLUÊNCIA DA RESISTÊNCIA EXTERNA NA REMOÇÃO DOS ANTIBIÓTICOS

Após os testes de desempenho das MFCs com diferentes concentrações de fluoroquinolonas, foi avaliado o efeito da resistência externa ( $R_{\text{ext}}$ ) sobre a degradação destes fármacos. Este ensaio foi realizado fixando a concentração de antibiótico ( $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e variando as resistências instaladas no circuito elétrico dos reatores em 560 e 100  $\Omega$ .

O monitoramento dos reatores foi idêntico às etapas anteriores, assim como os ensaios cinéticos.

### 3.7 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DAS MFCs

#### 3.7.1 Curvas de polarização e potência

As curvas de polarização e potência, foram obtidas ao final dos testes com as MFCs, quando estas operavam com  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de antibiótico e com resistência externa de 100  $\Omega$ .

Em uma curva de polarização, a tensão ( $E_{MFC}$ ) é representada como uma função da densidade de corrente. Para obtê-la, foram aplicadas diferentes resistências externas (entre 10000  $\Omega$  e 100  $\Omega$ ) ao circuito elétrico e, para cada uma delas, a  $E_{MFC}$  foi medida por meio do sistema de coleta de dados. É comum observar nas curvas de polarização de MFCs uma queda tanto da tensão quanto da corrente produzida em regiões de alta densidade de corrente. Esta reversão caracteriza o fenômeno do *overshoot* e dificulta a interpretação da performance de uma MFC em densidades de corrente elevadas, além de dificultar a manutenção do biofilme devido ao estresse dos microrganismos eletroativos (KIM; AN; CHANG, 2017). Assim, para evitar a ocorrência de *overshoot* e garantir estabilidade da tensão entre os ciclos, cada resistência foi mantida por períodos entre 2 a 3 ciclos de alimentação conforme recomendado por Watson e Logan (2011).

A curva de potência foi calculada a partir da curva de polarização e descreve a densidade de potência em função da densidade de corrente. Ela permite identificar o ponto de máxima produção de potência (MPP) da MFC para otimizar a produção de eletricidade da MFC.

Além disso, a forma das curvas de polarização e potência são um indicativo das principais perdas que ocorrem em uma MFC, que podem ser: perdas ôhmicas, de ativação e de transferência de massa. As curvas de polarização e potência, foram obtidas ao final da adição dos antibióticos.

### 3.7.2 Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE)

A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) é uma técnica muito utilizada para caracterizar sistemas eletroquímicos. A EIE consiste na aplicação de uma corrente alternada de pequena amplitude para perturbar o sistema sem alterar suas propriedades de corrente-tensão e, assim, investigar a resposta deste sistema à perturbação em estado estacionário. Nos estudos com MFCs, a EIE é comumente aplicada para quantificar a resistência interna ( $R_{int}$ ) do reator e identificar os principais fenômenos envolvidos neste parâmetro. A EIE se destaca em comparação a outras técnicas eletroquímicas por ser uma técnica não invasiva, não destrutiva e por ser aplicada durante a operação da MFC sem causar distúrbios ao processo (SEKAR; RAMASAMY, 2013).

A EIE foi realizada com um potenciostato portátil PalmSens4 (Palm Instruments BV, Holanda) acoplado a um computador com o software PSTrace (versão 5.9) para a aquisição e processamento dos dados. A análise foi executada ao final dos experimentos, quando as MFCs estavam operando com  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de antibiótico e com resistência externa de  $100 \Omega$ , e no momento de maior ddp entre os canais das MFCs dentro do seu ciclo operacional. Previamente à análise, os reatores foram colocados em condição de OCV durante 1 h para estabilizar a tensão entre os canais e garantir a realização da EIE em estado estacionário. Os espectros de EIE foram obtidos para um intervalo de frequência de 0,1 até 100.000 Hz com amplitude de potencial de 10 mV em condição de circuito aberto. Além disso, foram investigadas as resistências internas individuais de cada canal e a resistência interna da célula completa, o que fez necessário conectar as MFCs ao potenciostato com em três configurações distintas. Para investigar a resistência interna da célula completa, o eletrodo anódico foi utilizado como eletrodo de trabalho e o eletrodo catódico como eletrodo de referência e auxiliar. Para investigar a resistência interna do ânodo, o eletrodo anódico foi utilizado como eletrodo de trabalho e, próximo a ele, foi acoplado um eletrodo de Ag/AgCl saturado para atuar como eletrodo de referência, enquanto o eletrodo catódico foi utilizado como auxiliar. De modo similar, para investigar a resistência interna do cátodo, o eletrodo catódico foi utilizado como eletrodo de

trabalho, próximo a ele foi acoplado um eletrodo de Ag/AgCl saturado para atuar como eletrodo de referência, e o eletrodo catódico foi utilizado como eletrodo auxiliar. Todas as análises foram realizadas nas MFCs com a aeração do cátodo desligada (período anóxico) e ligada (período óxico).

### 3.8 CARACTERIZAÇÃO DAS COMUNIDADES MICROBIANAS

As comunidades microbianas em cada MFC foram caracterizadas quanto à sua morfologia e composição afim de investigar possíveis modificações provocadas pela exposição aos antibióticos. Para as caracterizações, amostras de cada canal das MFCs foram coletadas ao final do experimento, quando as MFCs estavam operando com  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de antibiótico e com resistência externa de  $100 \Omega$ . As amostras foram preparadas de acordo com a necessidade de cada análise e serão descritas a seguir.

#### 3.8.1 Morfologia

A morfologia das comunidades microbianas foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (JEOL JSM-6390LV, LCME, UFSC).

As amostras foram preparadas de acordo com a metodologia descrita por Ferreti (2009), inicialmente proposta por Nation (1983) e adaptada por Varesche et al. (1997). Primeiramente as amostras foram centrifugadas a 7.500 rpm por 15 min para obtenção de um pellet homogêneo e, após o descarte do sobrenadante, foi adicionada uma solução de tampão fosfato  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  pH 7,3 e glutaraldeído (97,5:2,5 v/v) em volume entre 5 a 8 vezes superior ao volume do pellet. As amostras foram acondicionadas a  $4,0 \text{ }^\circ\text{C}$  por 12 horas, para fixação das células e, então, lavadas com tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7,3, sendo mantidas em contato com a solução por 30 min, procedimento repetido 3 vezes. Em seguida, foi feita a desidratação com adição gradual de etanol 50, 70, 80, 90 e 95%, cada uma por 10 min. Por fim, foi adicionado etanol 100% por 10 min, repetido 3 vezes. Terminada esta etapa, foi realizada a segunda fixação das células, agora em fita de carbono dupla face com adição de hexametildisilazano sobre a amostra fixada. Então as amostras foram secas a  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  por 2 h e recobertas com ouro para análise no microscópio.

### 3.8.2 Diagnóstico microbiológico digital

O diagnóstico microbiológico digital (DMD, Neoprospecta Microbiome Technologies) foi realizado a fim de identificar a comunidade microbiana que se desenvolveu em cada compartimento da MFC durante a operação dos reatores. O princípio desta análise está baseado na identificação de microrganismos a partir de marcadores genéticos, utilizando tecnologias de sequenciamento de DNA em larga escala. Com esta abordagem é possível obter resultados rápidos com alta resolução e sem a necessidade de isolamento do microrganismo, pois os marcadores utilizados permitem uma extensa triagem bacteriana diretamente das amostras ambientais, mesmo quando não há grande quantidade de material genético disponível (CHRISTOFF et al., 2017).

A análise de DMD é dividida em duas etapas principais: uma laboratorial, que compreende a manipulação do material genético desde a coleta das amostras até o sequenciamento do DNA, e uma etapa computacional, na qual os dados são tratados a partir de ferramentas da bioinformática e são implementados na plataforma de visualização (Figura 13) (NEOPROSPECTA MICROBIOME TECHNOLOGIES, 2021).

Figura 13 – Esquema representativo das etapas envolvidas na análise de diagnóstico microbiológico digital.



Fonte: Neoprospecta Microbiome Technologies (2021).

Para a coleta das amostras biológicas de cada compartimento das MFCs, os bioeletrodos foram mergulhados em água ultrapura (Merck Millipore) e submetidos a agitação a 180 rpm e 25 °C por 15 min para extração do biofilme. O material obtido após a extração foi centrifugado a 7500 rpm e 25 °C por 15 min para a formação de um *pellet*, que foi acondicionado a -4,0 °C até o momento da análise. As etapas posteriores de purificação e extração do DNA, preparo molecular e sequenciamento foram realizadas pela empresa Neopropecta, seguindo a metodologia descrita por Christoff et al. (2017). Foi utilizado como marcador genético o gene rRNA 16S sequenciado na região V3/V4. A amplificação foi realizada com os primers 341F (CCTACGGGRSGCAGCAG, doi: 10.1371/journal.pone.0007401) e 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT, doi: 10.1038/ismej.2012.8) (CAPORASO et al., 2011; WANG; QIAN, 2009). O sequenciamento foi realizado no MiSeq Sequencing System (Illumina Inc., USA), utilizando o kit V2 de 300 ciclos, do tipo *single-end*.

As sequências de DNA obtidas na etapa anterior foram analisadas por meio de um *pipeline* de identificação e quantificação de bactérias desenvolvido a partir de ferramentas de bioinformática pelo laboratório Neopropecta Microbiome Technologies. Primeiramente, os resultados do sequenciamento foram submetidos a um filtro de qualidade, no qual foram removidas as sequências com erro acumulado superior a 1% no somatório das probabilidades de erro de suas bases. Em seguida, leituras 100% idênticas foram agrupadas após a exclusão de possível diversidade gerada por amplicons quiméricos ou nucleotídeos errôneos incorporados na PCR, desconsiderando, também, agrupamentos inferiores a 5 leituras. Devido às predefinições do *pipeline*, cada um destes agrupamentos corresponde a uma unidade taxonômica operacional (OTU), permitindo a identificação dos microrganismos com o auxílio da base de dados de sequências acuradas do gene 16S rRNA (NeoRefdb, Neopropecta Microbiome Technologies, Brasil), seguida da sua visualização por meio da plataforma Neobiome (Neopropecta Microbiome Technologies, Brasil) (CHRISTOFF et al., 2017).



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

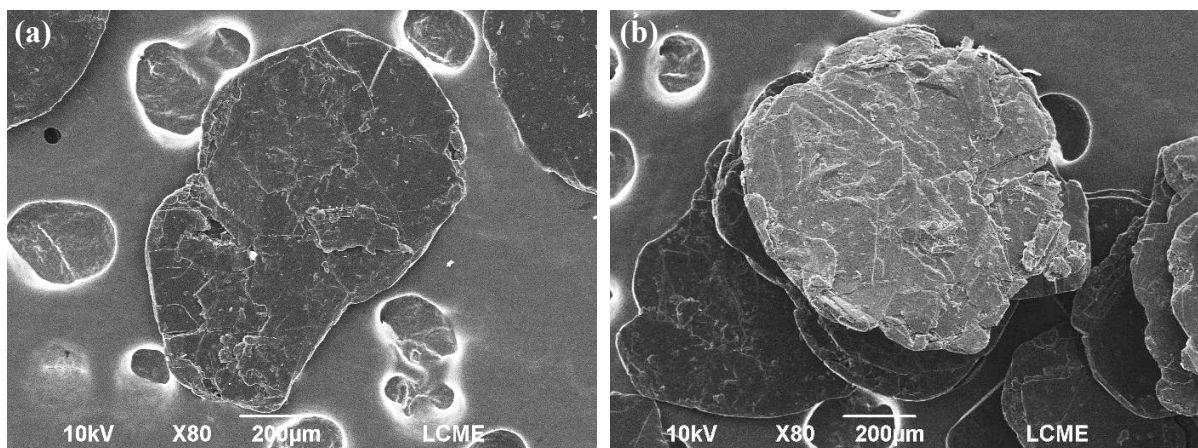
### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS

#### 4.1.1 Grânulos de grafite

Os eletrodos de uma MFC devem ser constituídos por materiais que apresentem algumas propriedades específicas, como biocompatibilidade, elevada área superficial, estabilidade mecânica e condutividade elétrica (SLATE et al., 2019). Dentre a variedade de materiais explorados na literatura, optou-se por construir eletrodos a partir de cartuchos de aço inox e grânulos de grafite. De acordo com Haavisto et al. (2019), a aplicação eletrodos baseados em cartucho metálico e carbono particulado é adequada para tratamentos bioeletroquímicos, pois proporciona alta densidade de corrente em uma ampla faixa de potencial, alta área de superfície e escalabilidade. Os grânulos de grafite, cedidos pela Nacional de Grafite LTDA, foram caracterizados quanto à morfologia, área superficial, distribuição granulométrica e volume de poro.

As micrografias obtidas por MEV (Figura 14) mostram que a morfologia dos grânulos de grafite se assemelha a lâminas de superfície rugosa com formas e dimensões diversas.

Figura 14 – Micrografia obtida por MEV de duas amostras de grânulos de grafite (a e b) utilizados como eletrodo nas MFCs.



Fonte: Elaborado pela autora.

A análise granulométrica demonstrou que  $60,83 \pm 0,02\%$  dos grânulos de grafite possuem diâmetro entre 850 e 425  $\mu\text{m}$ , enquanto  $31,38 \pm 0,26\%$  estão entre 425 e 300  $\mu\text{m}$ .

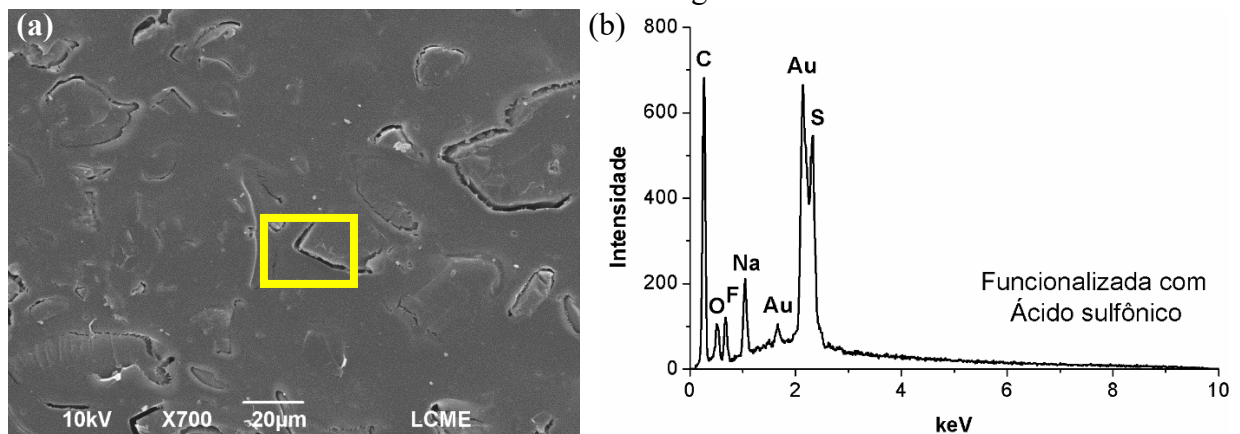
Além disso, os grânulos de grafite apresentam área superficial de  $2,76 \pm 1,72 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ , com poros de  $10,96 \pm 5,56 \text{ nm}$  de diâmetro e  $(6,36 \pm 0,88) \cdot 10^{-3} \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$  de volume.

#### 4.1.2 Membrana catiônica

A membrana de troca catiônica CMI-7000S, comercializada pela empresa *Membranes International Inc.* (EUA), foi utilizada para separar os canais de cada MFC e permitir a passagem de prótons do ânodo para o cátodo, enquanto ocorria a migração de elétrons pelo circuito externo, no mesmo sentido.

A membrana foi caracterizada quanto à sua morfologia e composição superficial, cujos resultados estão apresentados na Figura 15. A micrografia obtida por MEV (Figura 15(a)) revela um certo grau de rugosidade na superfície da membrana. O espectro EDS (Figura 15(b)) confirmou a presença de carbono, oxigênio, sódio, enxofre e flúor na amostra, sendo o sinal energético do ouro em decorrência do recobrimento da amostra com este elemento. A detecção do sódio evidencia que a membrana permite, preferencialmente, a migração de prótons, característica que é desejada para separadores aplicados em MFCs. No entanto, a presença do sinal energético do flúor também foi relatada por Perazzoli (2018) possivelmente está associada a alguma etapa do processo produtivo da membrana.

Figura 15 – (a) Micrografia da membrana catiônica; (b) Espectro EDS na região destacada em amarelo na micrografia.



Fonte: Elaborado pela autora.

## 4.2 ACLIMATAÇÃO DOS INÓCULOS

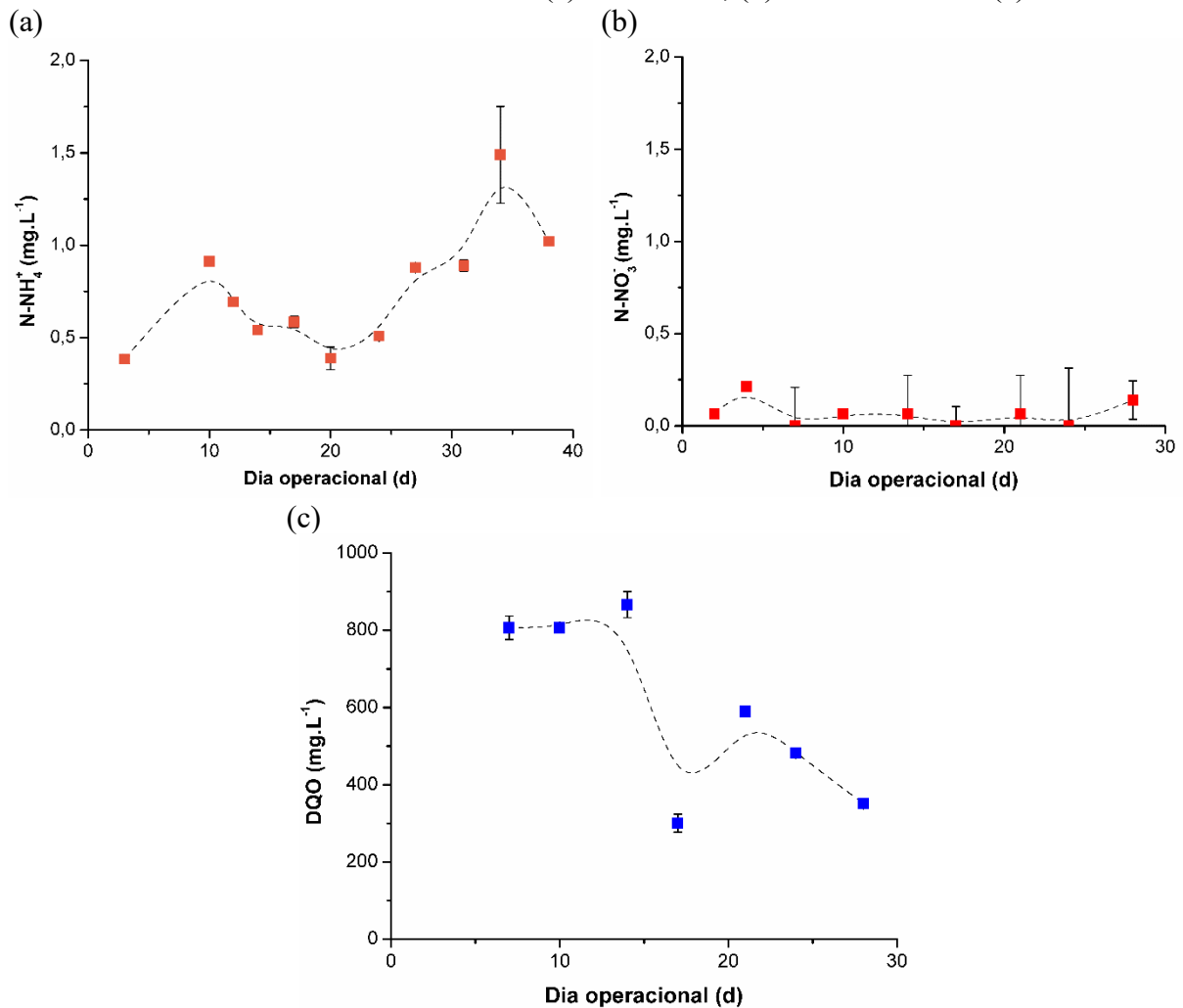
Anteriormente à operação dos reatores, as comunidades microbianas foram cultivadas por aproximadamente um mês, com o objetivo de obter inóculos enriquecidos nas comunidades de interesse. A cultura anaeróbia foi enriquecida para inocular o ânodo, enquanto as culturas nitrificante e desnitrificante foram posteriormente inoculadas no cátodo das MFCs.

O inóculo nitrificante foi mantido por 40 dias. Durante este período, a concentração de  $\text{N-NH}_4^+$  da alimentação variou de 50 até 200  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , o que correspondeu a uma carga de 12,5 e 50  $\text{mg N-NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ , respectivamente. O efluente do inóculo permaneceu abaixo de 1,5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Figura 16(a)), resultando em uma eficiência de conversão de  $\text{N-NH}_4^+$  superior a 98%. O pH do meio reacional também se manteve estável e dentro da faixa esperada para o processo de nitrificação (7,5), variando entre 7,29 e 7,69. Os resultados de monitoramento do inóculo indicam que a biomassa estava ativa e enriquecida em microrganismos nitrificantes. Ao final do período de aclimação, a concentração de biomassa no inóculo correspondia a 2,66  $\text{mg SSV}\cdot\text{L}^{-1}$ .

A aclimação e seleção da comunidade desnitrificante durou 30 dias. Inicialmente, o inóculo foi alimentado com uma concentração de 50  $\text{mg N-NO}_3^-\cdot\text{L}^{-1}$  (correspondente a uma carga igual a 12,5  $\text{mg N-NO}_3^-\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ) que progrediu para 100  $\text{mg N-NO}_3^-\cdot\text{L}^{-1}$  (carga igual a 25  $\text{mg N-NO}_3^-\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ). Como apresentado na Figura 16(b), a concentração de  $\text{N-NO}_3^-$  permaneceu inferior a 0,25  $\text{mg N-NO}_3^-\cdot\text{L}^{-1}$  durante todo o período, enquanto a eficiência de remoção foi superior a 99%. Em relação ao pH, foi observado que este aumentou ao longo do tempo, de 7,7 até 8,4, o que pode ser justificado pela produção de alcalinidade durante a desnitrificação. Deste modo, foi possível constatar que as estratégias aplicadas durante a aclimação resultaram na seleção e enriquecimento da comunidade desnitrificante no inóculo. Ao final de 30 dias, a concentração de biomassa no inóculo correspondia a 3,56  $\text{mg SSV}\cdot\text{L}^{-1}$ .

A aclimação e seleção da comunidade anaeróbia durou 30 dias. Durante este período, a concentração de acetato da alimentação permaneceu em 1200  $\text{mg DQO}\cdot\text{L}^{-1}$  correspondendo a uma carga de 400  $\text{mg DQO}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ . Ao contrário dos demais inóculos, a concentração de substrato no meio reacional foi caindo lentamente até atingir  $482,2 \pm 8,45$   $\text{mg DQO}\cdot\text{L}^{-1}$ , alcançando uma eficiência de remoção igual a 60% (Figura 16(c)), indicando a presença microrganismo anaeróbios biologicamente ativos. Após a aclimação do inóculo, a concentração de biomassa correspondia a  $2,94 \pm 0,06$   $\text{mg SSV}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Figura 16 – Monitoramento das concentrações de saída do substrato principal das comunidades microbianas dos inóculos: (a) nitrificante, (b) desnitrificante e (c) anaeróbio.



Fonte: Elaborado pela autora.

Os resultados apresentados neste item indicam que as estratégias adotadas para promover a seleção dos microrganismos desejáveis em cada inóculo foram bem-sucedidas. Além dos inóculos aclimatados já citados, também foi utilizada biomassa proveniente dos canais anódico e catódico de uma MDC em operação no laboratório. Nesse caso, não houve necessidade de aclimação da biomassa, que foi mantida sob agitação para desfazer o biofilme e quantificar a concentração celular. O inóculo anódico possuía concentração celular igual a  $1,33 \pm 0,10 \text{ g SSV} \cdot \text{L}^{-1}$ , e o catódico de  $1,31 \pm 0,16 \text{ mg SSV} \cdot \text{L}^{-1}$ .

### 4.3 DESEMPENHO DAS MFCs PARA REMOÇÃO DE POLUENTES CONVENCIONAIS

As MFCs foram mantidas em operação por 703 dias, durante os quais elas foram submetidas a sete condições operacionais (CO) distintas. Os resultados obtidos a partir do monitoramento das quatro MFCs estão apresentados na forma de eficiências de remoção na Figura 17 e na forma de concentração dos poluentes convencionais no Apêndice 3.

A partida do sistema foi realizada com um TRH de 2 d em cada canal e em condição de OCV, para auxiliar o estabelecimento dos biofilmes. O TRH foi alterado para 1 d no 7º dia, enquanto a operação em OCV foi mantida até o 109º dia operacional (CO 0). Neste período não houve adição das fluoroquinolonas (FQ) às MFCs. Além disso, foram necessários diversos ajustes para garantir o pleno funcionamento dos processos biológicos em cada canal das MFCs.

O estabelecimento de um processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas no cátodo foi a etapa mais instável durante a CO 0 e foi o principal motivo da longa duração esta condição. Logo na segunda semana de operação, notou-se um aumento expressivo da concentração de  $N-NO_3^-$  no efluente catódico, indicando o comprometimento da desnitrificação em todas as MFCs. Por outro lado, a nitrificação se mostrou estável, com concentrações de amônia residual no efluente catódico inferiores a  $3,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , na maior parte do tempo. A fim de reestabelecer o processo desnitrificante, os períodos de aeração foram alterados para prolongar a condição anóxica e, após os ajustes necessários, foi definido que a aeração permaneceria ligada por 35 min e desligada por 1h 49 min.

Além disso, as análises de DQO mostraram que parte considerável do acetato inserido no meio de cultivo era consumido antes de ser alimentado nos reatores. Isto ocorreu em razão do tempo de exposição do meio à temperatura de operação dos reatores ( $27 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ), que favorecia o crescimento de microrganismos heterotróficos, consumindo a matéria orgânica presente no meio. A partir deste momento, o meio de cultivo foi substituído diariamente e mantido sob refrigeração, a fim de evitar a proliferação destes microrganismos. Apesar de não prejudicar o processo anódico, a baixa concentração de acetato no efluente anódico também pode ter prejudicado a manutenção das bactérias desnitrificantes, que são heterotróficas.

No entanto, mesmo com essas alterações, a desnitrificação não foi recuperada em sua totalidade. Por isto, no 91º dia operacional optou-se por reinocular todos os reatores com 10 mL de inóculo desnitrificante. A partir deste momento, a concentração de  $N-NO_3^-$  no efluente

catódico reduziu e se manteve estável em todos os reatores, permitindo a mudança para a operação em CCV no 109º dia de operação.

Neste dia (109º), uma resistência externa ( $R_{ext}$ ) de 1000  $\Omega$  foi instalada para fechar o circuito elétrico entre o ânodo e cátodo e iniciar a geração de eletricidade nas MFCs, ainda sem adição das fluoroquinolonas (FQs). Esta condição (CO 1) foi mantida até dia operacional 257º, neste caso, em razão de uma danificação na estrutura do reator MFC-NOR, que necessitou ser enviado para manutenção. Solucionado este problema, os processos biológicos foram reinicializados na MFC-NOR, partindo novamente da CO 0. Enquanto isto, as demais MFCs operavam na CO 1. Após duas semanas da reinicialização, a MFC-NOR voltou a operar em CCV (CO 1), igual aos demais reatores. Quando constatada a estabilidade dos processos biológicos em todos os reatores, partiu-se para a próxima condição operacional com a adição dos antibióticos.

No dia operacional 258 iniciou a CO 2 nos reatores MFC-CIP, MFC-LEV e MFC-NOR, que passaram a ser alimentados com 50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  dos respectivos antibióticos (ciprofloxacina, levofloxacina e norfloxacina) nas mesmas condições operacionais da CO 1. No 295º dia, a concentração das FQs aumentou para 100  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (CO 3), que progrediu para 500  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  no dia 336 (CO 4) e para 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  no dia 370 (CO 5). Durante este período, as MFCs operaram com  $R_{ext}$  de 1000  $\Omega$  e MFC-CTL foi mantida na CO 1, já que não era alimentada com os antibióticos.

Após a CO 5, foram investigados os efeitos da  $R_{ext}$  no desempenho dos reatores. Nesta etapa, a concentração de FQs foi mantida em 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , enquanto  $R_{ext}$  foi reduzida para 560  $\Omega$  no dia 441 (CO 6) e para 100  $\Omega$  no dia 475 (CO 7). A  $R_{ext}$  da MFC-CTL também foi reduzida para os mesmos valores dos demais reatores. O resumo das condições operacionais estudadas e a duração de cada etapa está apresentado na Tabela 4. Cabe ressaltar que foram realizados ensaios cinéticos para todas as condições operacionais estudadas e que, ao final da CO 7, os reatores foram submetidos aos ensaios de curva de polarização e potência e espectroscopia de impedância eletroquímica para caracterizar a geração de eletricidade. Tais resultados serão discutidos em detalhes nas próximas sessões.

Tabela 4 – Sumarização das condições operacionais aplicadas para o estudo dos efeitos das fluoroquinolonas (FQ) nas MFCs.

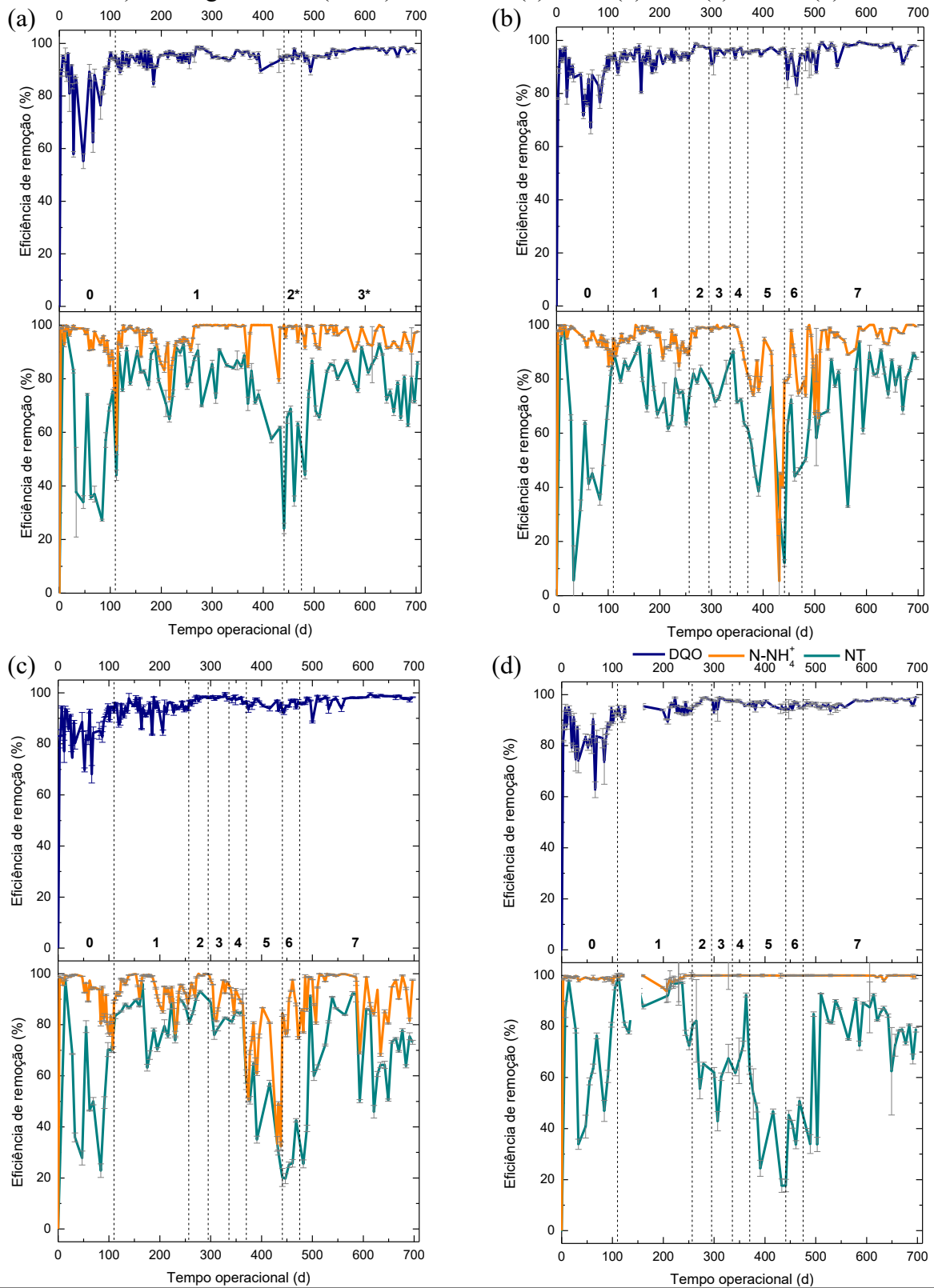
<b>Condição operacional (CO) / Ensaio cinético (C)</b>	<b>FQ (<math>\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}</math>)</b>	<b><math>R_{ext}</math> (<math>\Omega</math>)</b>	<b>Duração (dias operacionais)</b>
0	0	OCV	1 – 108
1	0	1000	109 – 257
2	50	1000	258 – 294
3	100	1000	295 – 335
4	500	1000	336 – 369
5	1000	1000	370 – 440
6	1000	560	441 – 474
7	1000	100	475 – 703

Fonte: Elaborado pela autora.

A Figura 17 apresenta as eficiências de remoção dos poluentes nas MFCs ao longo dos 703 dias de operação. Em relação à remoção de matéria orgânica (DQO), destaca-se que todos os reatores alcançaram elevada eficiência de remoção ( $\geq 95\%$ ) na maior parte da operação e que nem os antibióticos (CO 2 a 5), nem as resistências externas (CO 5 a 7) exerceram influência clara sobre a remoção de DQO nas MFCs.

Em relação à nitrificação, os reatores apresentaram performances distintas entre si. Na MFC-CTL a eficiência da nitrificação foi superior a 90%, na maior parte do processo. Já na MFC-CIP, observou-se que o aumento da concentração do antibiótico, em especial nas concentrações de 500 e 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , reduziu a eficiência deste processo. No entanto, ao diminuir a  $R_{ext}$  foi possível recuperar a eficiência da nitrificação e que esta, após 75 dias de operação com a  $R_{ext}$  100  $\Omega$ , recuperou a eficiência alcançada antes da exposição à ciprofloxacina, se mantendo próxima a 100%. A eficiência da nitrificação na MFC-LEV teve comportamento semelhante à MFC-CIP, com queda da eficiência após a exposição a 500  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de levofloxacina e recuperação da mesma com a diminuição da  $R_{ext}$ . Já na MFC-NOR a eficiência da nitrificação foi próxima a 100% durante toda a operação do reator, sendo superior a MFC-CTL. Isto pode ser um indicativo de que a norfloxacina, ao contrário das demais fluoroquinolonas, estimulou a atividade das bactérias nitrificantes.

Figura 17 – Eficiências de remoção de matéria orgânica (= DQO), nitrogênio amoniacal (=  $\text{N-NH}_4^+$ ) e nitrogênio total (= NT) nas MFCs: (a) CTL, (b) CIP, (c) LEV e (d) NOR.



**0:** FQ = 0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , OCV;    **1:** FQ = 0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $R_{\text{ext}} = 1000 \Omega$ ;    **2:** FQ = 50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $R_{\text{ext}} = 1000 \Omega$ ;  
**3:** FQ = 100  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $R_{\text{ext}} = 1000 \Omega$ ;    **4:** FQ = 500  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $R_{\text{ext}} = 1000 \Omega$ ;    **5:** FQ = 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  
 $R_{\text{ext}} = 1000 \Omega$ ;    **6:** FQ = 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $R_{\text{ext}} = 560 \Omega$ ;    **7:** FQ = 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $R_{\text{ext}} = 100 \Omega$ .  
**2\*:** FQ = 0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $R_{\text{ext}} = 560 \Omega$ ;    **3\*:** FQ = 0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $R_{\text{ext}} = 100 \Omega$ .

Fonte: Elaborado pela autora.



A eficiência de remoção de nitrogênio total (NT) engloba os processos de nitrificação e desnitrificação que ocorrem no cátodo. Pela Figura 17, observa-se que a remoção de NT foi inferior e mais instável que a nitrificação em todos os reatores e, portanto, limitada pela etapa de desnitrificação. A dificuldade para manutenção da desnitrificação em todas as MFCs pode estar relacionada com dois fatores principais: a concentração de oxigênio dissolvido (OD) e de DQO no canal catódico.

Como se sabe, a desnitrificação é um processo que ocorre em condições anóxicas e que utiliza matéria orgânica como fonte de carbono. Assim, a concentração de OD durante o período óxico pode ter limitado a atividade das bactérias desnitrificantes e o tempo reservado para a etapa anóxica não foi suficiente para remover o nitrato do efluente. O perfil de OD nos reatores mostrou que houve um aumento da concentração de OD residual durante o período anóxico ao longo do ciclo de 12 h das MFCs. Nos ciclos de aeração iniciais, quando havia maior concentração de amônia, a concentração de OD atingiu valores inferiores a  $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  após 40 minutos com a aeração desligada. No entanto, nos demais ciclos de aeração, a menor concentração de amônia levou a um menor consumo de OD, e assim, a concentração final de OD na etapa reservada para a desnitrificação ficou entre 1 e  $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Apendice 4).

Outra hipótese levantada para a baixa eficiência da desnitrificação é a baixa concentração de DQO no efluente anódico enviado para o cátodo. Como já mencionado, a eficiência de remoção de DQO foi superior a 95%, sendo o ânodo o principal responsável pela remoção da matéria orgânica (Apêndice 3). Além disso, sabe-se que a desnitrificação requer uma relação DQO/N de 3,7 (SCHIMIDELL et al., 2007) para a conversão completa do  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{N}_2$ . No entanto, o desenvolvimento dos microrganismos e a estabilidade do processo anódico no decorrer da operação resultaram na queda da DQO do efluente anódico para valores inferiores a  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Com isto, a razão DQO/N do efluente anódico ficou próxima 2 e, portanto, insuficiente para remover o nitrato produzido durante a nitrificação. Porém, cabe ressaltar aqui que existem outras vias para que ocorra a desnitrificação de um efluente, como a autotrófica e a eletrotrófica. A via eletrotrófica, em especial, é favorecida em MFCs e utiliza a eletricidade (que tem origem na oxidação da matéria orgânica no ânodo) como fonte de elétrons para a redução do  $\text{NO}_3^-$ . Assim, esperava-se que a redução da  $R_{ext}$  favorecesse a desnitrificação devido à maior quantidade de elétrons enviados para o cátodo.

Ao analisar os dados apresentados na Figura 17, percebe-se que na MFC-CTL e na MFC-NOR a redução da  $R_{ext}$  para  $100 \Omega$  resultou em uma melhora da remoção de NT em relação às condições anteriores e na recuperação da remoção observada no início da operação

com a resistência de 1000  $\Omega$ . Além disso, os resultados da MFC-NOR indicam que a norfloxacina inibiu a atividade dos microrganismos desnitrificantes, porém o maior envio de elétrons para o cátodo durante a operação com a  $R_{ext}$  de 100  $\Omega$  estimulou a atividade destes microrganismos, fazendo com que a eficiência de remoção de NT aumentasse de 40 para 70%.

Os dados de monitoramento discutidos aqui dão uma visão global dos possíveis efeitos das fluoroquinolonas e das resistências externas sobre o desempenho das MFCs para remoção de poluentes convencionais, porém algumas oscilações observadas ao longo do processo dificultam a compreensão destes resultados. Portanto, para enriquecer a discussão sobre tais efeitos, foram realizados ensaios cinéticos ao final de cada condição operacional avaliada nos reatores. Tais resultados serão discutidos na seção 4.3.1.

#### **4.3.1 Influência das fluoroquinolonas na remoção de poluentes convencionais**

Os ensaios cinéticos foram realizados ao final de cada condição operacional estudada nas MFCs e tiveram a duração de um ciclo operacional (12 h). Os resultados estão apresentados na forma de remoção dos poluentes nas Figuras 18 a 21. Os perfis de remoção confirmaram que a remoção de matéria orgânica ocorre predominantemente no ânodo e que todos os reatores atingiram pelo menos 90% de remoção de acetato até a 8ª hora de reação.

De modo similar, a remoção de amônia (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) e de NT foi realizada majoritariamente no cátodo, porém também foi constatada a remoção destes compostos no ânodo. A remoção de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NT no ânodo foi pequena se comparada ao cátodo, e ocorreu principalmente nas horas finais do ciclo, quando grande parte do acetato já havia sido consumida. O consumo de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no ânodo já havia sido identificado durante as análises de monitoramento, e esperava-se que ele estaria associado à manutenção do metabolismo celular e das atividades reprodutivas dos microrganismos (SCHMIDELL et al., 2007). No entanto, a constatação da presença de nitrato no canal anódico é um indicativo da existência de microrganismos nitrificantes, o que não era esperado, uma vez que são bactérias aeróbias. Assim, foi levantada a hipótese da presença de oxigênio no ânodo. De acordo com a literatura, é possível que ocorra a difusão do oxigênio através da membrana quando ele não é totalmente consumido no cátodo (OH, 2009). No entanto, não foi possível verificar experimentalmente a concentração de OD no ânodo das MFCs devido às limitações de detecção do equipamento de medição.

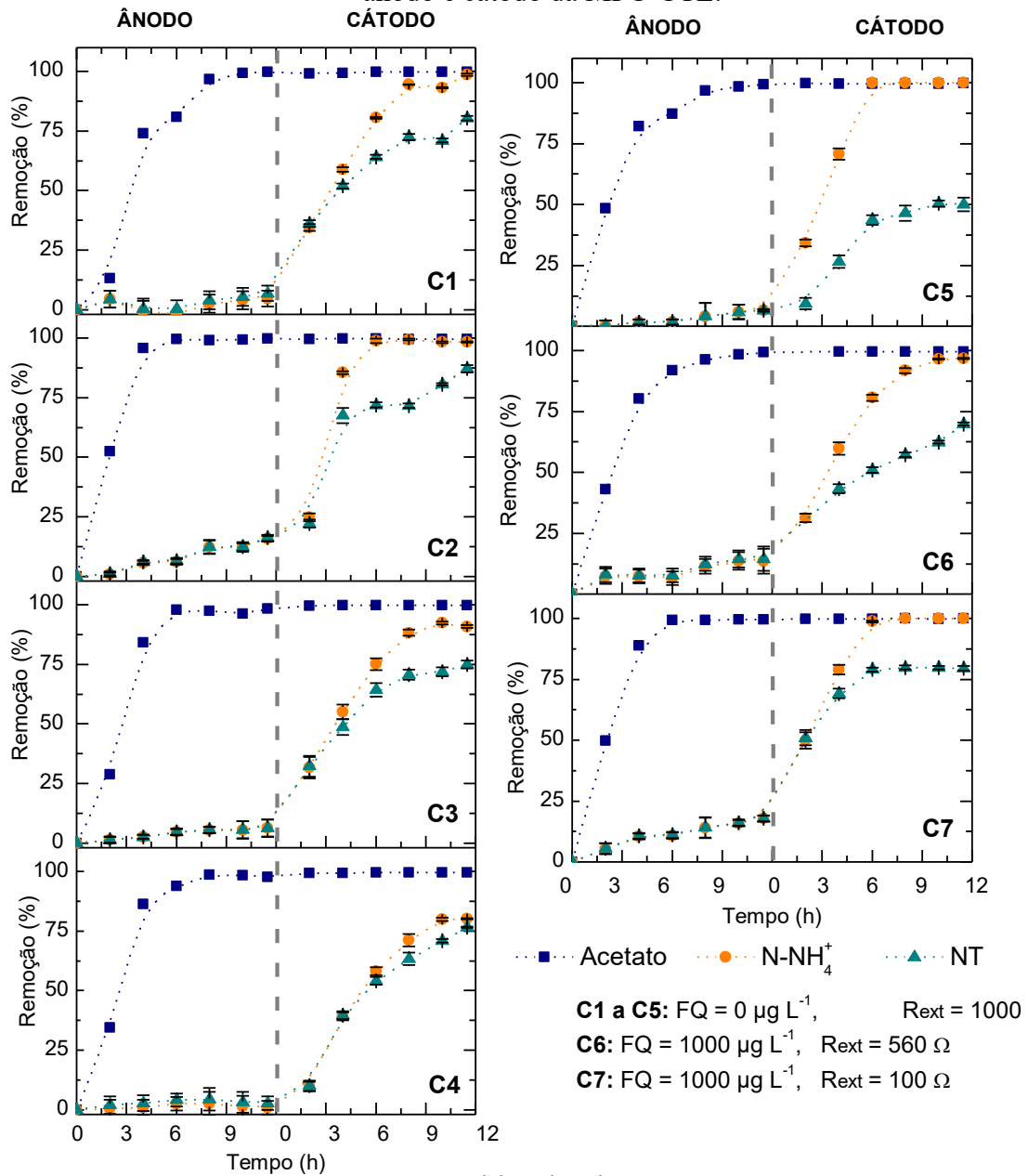
#### 4.3.1.1 MFC-CTL

Como mencionado, a MFC-CTL foi utilizada como controle do processo, não sendo exposta aos antibióticos em nenhum momento. As cinéticas C1 a C5 foram realizadas na mesma condição, isto é, com uma  $R_{ext}$  de 1000  $\Omega$  conectada à MFC.

O perfil de remoção de  $N-NH_4^+$  foi semelhante entre as cinéticas, alcançando eficiências entre 90 a 100%, com exceção da cinética C4, na qual a remoção de  $N-NH_4^+$  foi de 80%. Vale ressaltar que nas cinéticas C2 e C5 foi alcançado 100% de remoção de  $N-NH_4^+$  após 6 h de reação. Como a MFC-CTL já havia alcançado a totalidade de remoção de  $N-NH_4^+$  com a  $R_{ext}$  de 1000  $\Omega$ , não foi observado ganhos expressivos à nitrificação com a redução da  $R_{ext}$  para 560  $\Omega$  (C6) e 100  $\Omega$  (C7) nas condições em que os experimentos foram realizados.

O perfil de remoção de NT também foi semelhante entre as cinéticas C1 a C4, com eficiências próximas a 80%. Somente a C5, última cinética realizada com a  $R_{ext}$  de 1000  $\Omega$ , teve um decaimento da remoção de NT para 50%. De modo geral, a redução da  $R_{ext}$  não resultou em melhoria da remoção de NT, que foi mantida próxima a 80%. No entanto, com a  $R_{ext}$  de 100  $\Omega$  (C7), a MFC-CTL alcançou este patamar (80%) após 6 h de reação. Isto é um indicativo de que, apesar não aumentar a eficiência de remoção de NT, houve uma aceleração do processo e uma estimulação da atividade dos microrganismos em razão da maior quantidade de elétrons enviada para o cátodo.

Figura 18 – Evolução da remoção de poluentes durante os ensaios cinéticos (C1 a C7) no ânodo e cátodo da MFC-CTL.

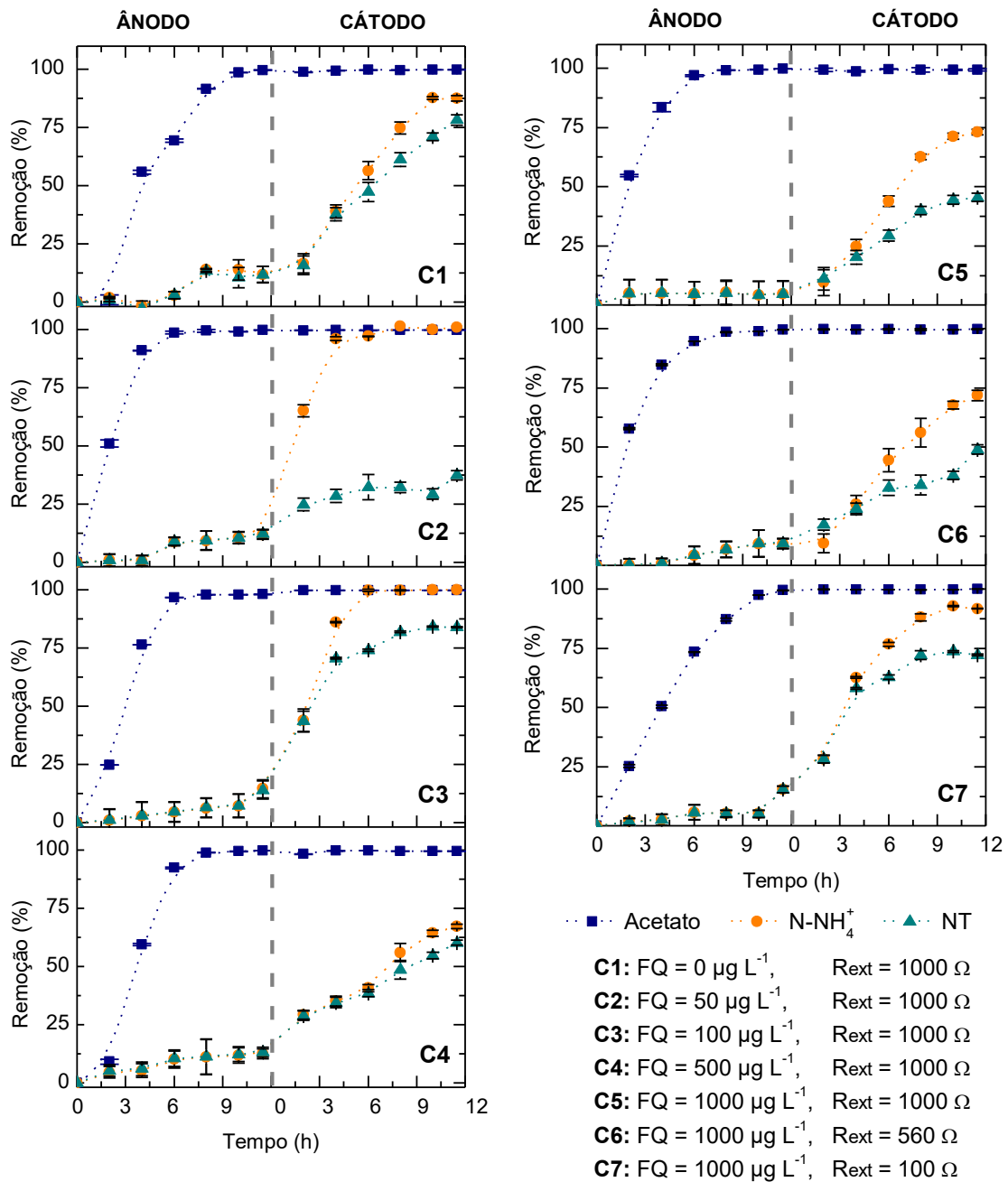


#### 4.3.1.2 MFC-CIP

A MFC-CIP foi exposta a concentrações de ciprofloxacina que variaram entre 50 e 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (C2 a C5). Os resultados apresentados na Figura 19 mostram que as concentrações de 50 e 100  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  estimularam a nitrificação em comparação com a cinética C1 e com a MFC-CTL no mesmo período. A partir da exposição a 500  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (C4) nota-se um decaimento na eficiência do processo que é reduzida para 67%, seguida por uma leve melhora para 73% na concentração de 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (C5). Esta resposta bifásica da comunidade microbiana quando

exposta a diferentes concentrações de antibióticos é conhecida como hormese e já foi reportada em estudos anteriores com microrganismos nitrificantes (CUI et al., 2014; LANGBEHN; MICHELS; SOARES, 2020). Cui et al. (2014) relatou que  $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de ciprofloxacina estimulou a atividade de bactérias nitrificantes no solo e que o aumento desta concentração para  $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  resultou na inibição da atividade destes microrganismos.

Figura 19 – Evolução da remoção de poluentes durante os ensaios cinéticos (C1 a C7) no ânodo e cátodo da MFC-CIP.



Fonte: Elaborado pela autora.

Os efeitos do CIP na remoção de NT não estão claros. Com  $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de CIP (C2) a remoção de NT caiu para 37%, porém, ao aumentar a concentração para  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (C3), a eficiência subiu para 84%, caindo novamente nas concentrações seguintes. Ainda, na cinética C4, quando a MFC era alimentada com  $500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , a remoção de NT pode ter sido limitada pela nitrificação, já que ambas estavam muito próximas, e assim os efeitos do CIP sobre a comunidade desnitrificante não foram avaliados.

Na literatura encontramos trabalhos com CIP em faixas de concentração similares às utilizadas neste estudo. Nguyen (2019) expos um biorreator de membrana, com “esponja” como meio suporte, a concentrações de CIP que variaram entre 20 e  $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Nestas condições eles verificaram inibição da nitrificação e desnitrificação simultâneas somente na concentração de  $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , no entanto a remoção de DQO não foi afetada. Já Zhao et al. (2022) acoplou uma MFC a um reator de lodo ativado granular, que atuou como cátodo, e verificou que esta configuração reduziu os efeitos inibitórios de  $500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de CIP sobre a remoção de NT em comparação com o reator de lodo ativado granular sem o módulo anódico. Além disso, Gonzalez-Martinez et al. (2014) observou que  $100 \text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  de CIP inibiu temporariamente a atividade e a concentração de bactérias oxidadoras de amônio em um reator SBR de nitrificação parcial. Cabe observar aqui que Gonzalez-Martinez et al. (2014) identificaram a inibição bacteriana em uma concentração 500 vezes inferior à menor concentração de CIP aplicada à MFC, na qual observamos um estímulo do processo. Tais divergências podem ser explicadas pela maior complexidade da comunidade bacteriana em um processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas em relação à nitrificação parcial, onde microrganismos mais resistentes podem mascarar os efeitos inibitórios do CIP sobre aqueles mais sensíveis (KUMMERER, 2009). Este conjunto de evidências confirmam os efeitos tóxicos da CIP sobre microrganismos de relevância ambiental e a importância de estabelecer processos eficientes para remoção deste micropoluente.

Os resultados da cinética também confirmaram que a redução da  $R_{ext}$  na MFC-CIP provocou um aumento das eficiências de nitrificação e remoção de NT. Como ambos processos foram prejudicados pela exposição ao antibiótico, o aumento no fluxo de elétrons estimulou a atividade dos microrganismos e o perfil de remoção observado na cinética C7 foi semelhante ao desempenho da MFC anterior à exposição ao CIP (C1), com eficiências de 92% e 72% para a nitrificação e a remoção de NT, respectivamente. No entanto, a capacidade de adaptação dos microrganismos à exposição ao antibiótico não deve ser ignorada. Diversos estudos na literatura indicam que a exposição prolongada a diversos antibióticos pode resultar em uma redução dos efeitos tóxicos destes compostos em razão da criação de mecanismos de defesa (excreção de

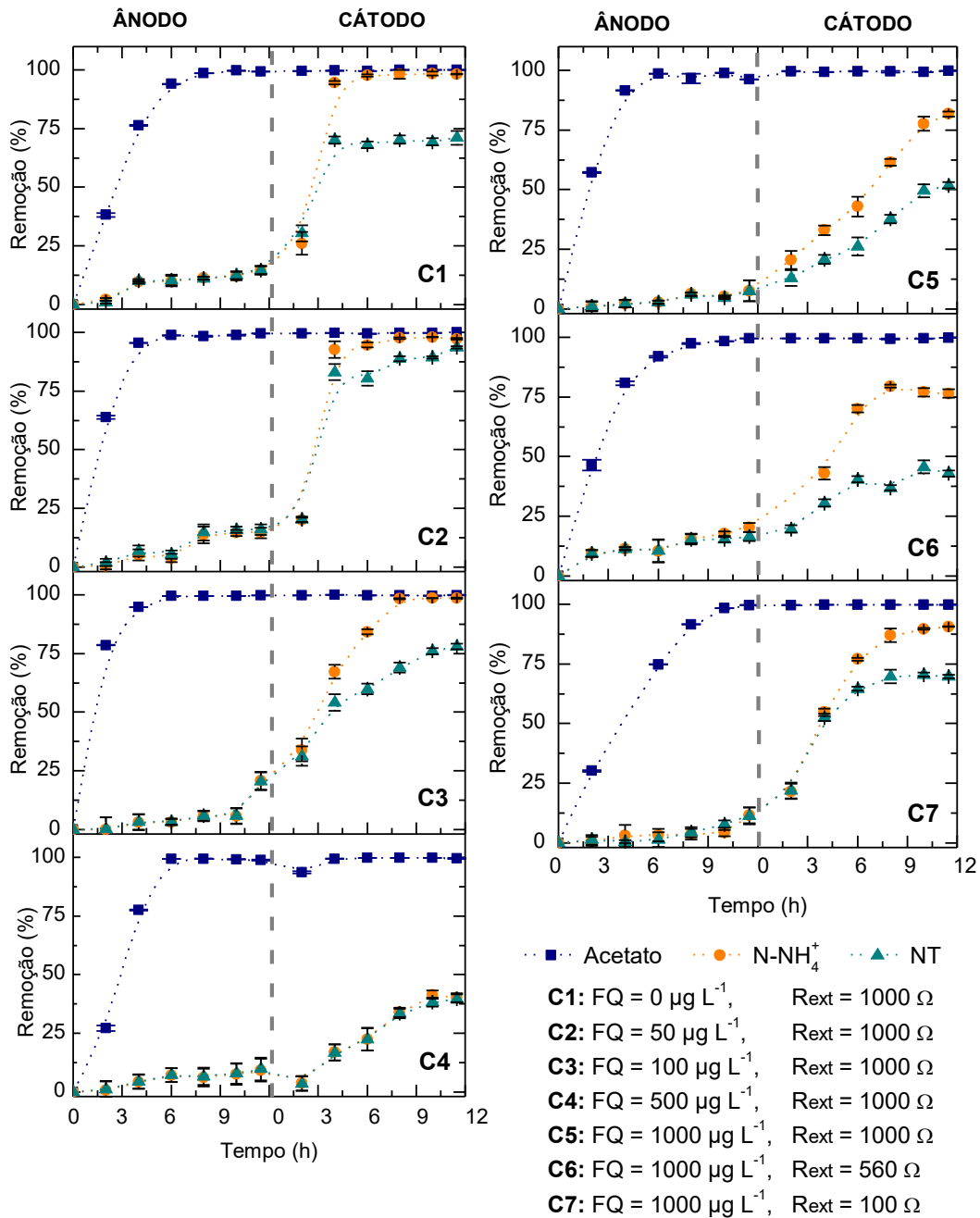
exopolímeros e desenvolvimento de genes de resistência antimicrobiana, por exemplo) e modificação da comunidade microbiana dentro do reator (LANGBEHN; MICHELS; SOARES, 2020; KATIPOGLU-YAZAN et al., 2015).

#### 4.3.1.3 MFC-LEV

Os resultados para a MFC-LEV estão apresentados na Figura 20. Assim como na MFC-CIP, foi observado um efeito hormético da levofloxacina (LEV) sobre as comunidades microbianas. As concentrações de 50 e 100  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  não inibiram os processos biológicos no cátodo e também foi observado um aumento da eficiência de remoção de NT em relação à cinética C1 (FQ = 0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Entretanto, a exposição a 500  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (C4) reduziu drasticamente a eficiência de ambos processos para 40%. Em seguida, na concentração de 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (C5), é possível verificar a recuperação da nitrificação e da remoção de NT que alcançaram eficiências de 82 e 52%, respectivamente. Uma possível explicação para este comportamento seria o desenvolvimento de mecanismos de defesa dos microrganismos frente à exposição prolongada à LEV ou o desenvolvimento de microrganismos resistentes a este antibiótico. Os efeitos da LEV sobre os processos de remoção de NT também foram reportados no trabalho de Hao et al. (2019). Aqui, os pesquisadores verificaram que a exposição da nitrificação e desnitrificação simultâneas a 4  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de LEV não alterou a remoção dos poluentes, porém, o aumento da concentração para 16  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  resultou no acúmulo de  $\text{NO}_2^-$  no reator e na redução da população das principais bactérias nitrificantes e desnitrificantes.

O efeito da  $R_{ext}$  sobre os processos biológicos no cátodo da MFC-LEV foi similar ao observado na MFC-CIP, na qual foi observada a melhoria das eficiências de nitrificação e remoção de NT. A operação com a  $R_{ext}$  de 100  $\Omega$  (C7) elevou a eficiências de remoção de N- $\text{NH}_4^+$  e NT para 91 e 70%, respectivamente. No entanto, apesar da recuperação da nitrificação, não foi possível alcançar a mesma eficiência observada MFC-LEV antes da exposição ao antibiótico.

Figura 20 – Evolução da remoção de poluentes durante os ensaios cinéticos (C1 a C7) no ânodo e cátodo da MFC-LEV.



Fonte: Elaborado pela autora

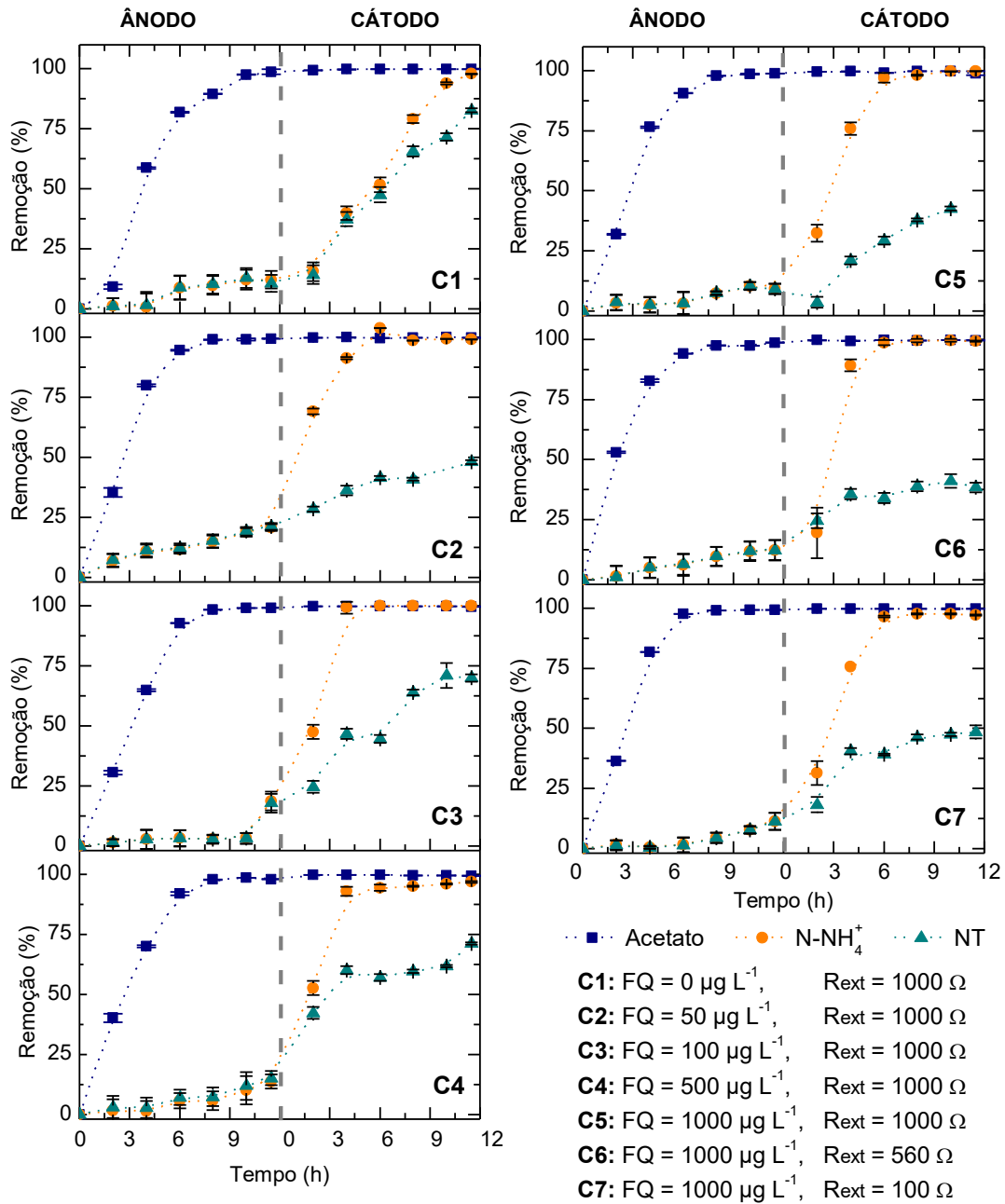
#### 4.3.1.4 MFC-NOR

Os resultados para a MFC-NOR estão apresentados na Figura 21. Ao contrário do que foi observado na exposição aos outros antibióticos, a norfloxacina (NOR) não inibiu a nitrificação em nenhuma das concentrações investigadas neste estudo. Além disso, os ensaios cinéticos realizados após a exposição ao antibiótico (C2 a C7) indicam que houve uma melhora da atividade nitrificante em relação à cinética sem antibiótico (C1), pois praticamente 100% da



$\text{N-NH}_4^+$  já havia sido removida após 6 h de reação. É possível que este comportamento esteja associado a um estímulo da atividade bacteriana provocado pelo antibiótico, pois a apesar dos perfis de remoção de  $\text{N-NH}_4^+$  na MFC-NOR serem semelhantes à MFC-CTL, as eficiências de remoção na MFC-NOR foram superiores às aquelas observadas na MFC-CTL.

Figura 21 – Evolução da remoção de poluentes durante os ensaios cinéticos (C1 a C7) no ânodo e cátodo da MFC-NOR.



Fonte: Elaborado pela autora.

Os ensaios cinéticos também mostraram que desde a concentração de  $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de NOR (C2) a remoção de NT teve sua eficiência reduzida em relação à C1, caindo de 83 para 48%. Nas cinéticas C3 e C4, quando a concentração de NOR era  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  e  $500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente, houve um aumento da remoção de NT em relação a C2 (70% em C3 e 71% em C4), mas ainda assim, inferior à performance observada em C1. Em seguida, na concentração de  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , houve uma redução na eficiência do processo, que foi reduzida para 43%. Como a nitrificação não foi inibida pela NOR, a baixa eficiência de remoção de NT é provocada pela inibição da desnitrificação.

Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Wen et al. (2018) ao operar um biorreator de membrana anóxico/óxico com concentrações de NOR variando entre 500 e  $3000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Eles verificaram que a nitrificação não foi alterada por nenhuma das concentrações de NOR, enquanto a remoção de NT foi reduzida logo após a adição do antibiótico, mas foi recuperada ao longo da operação do reator, indicando a adaptação da comunidade bacteriana ao micropolvente. A inibição da norfloxacin sobre bactérias desnitrificantes já foi relatada em outros trabalhos da literatura. No estudo de Chen et al. (2021) a exposição de uma cultura desnitrificante  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de NOR levou a uma queda de 35% na taxa de remoção de  $\text{NO}_3^-$  e a um aumento de 177 vezes da emissão de  $\text{N}_2\text{O}$ . Além disso, os pesquisadores relataram uma queda da densidade populacional bacteriana quando exposta a concentrações de NOR superiores a  $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . As diferenças entre as faixas de concentração que resultaram na inibição do processo nos diferentes estudos podem estar associadas à maior complexidade da comunidade bacteriana em sistemas de nitrificação e desnitrificação e na estrutura do biofilme que podem atuar como uma barreira de proteção para as bactérias desnitrificantes (mais sensíveis à NOR).

As cinéticas realizadas na MFC-NOR não evidenciaram a melhora dos processos com a redução da  $R_{ext}$ . A nitrificação na MFC-NOR já apresentava valores de eficiência próximos a 100% nas condições operacionais anteriores (C2 a C5) e, portanto, a redução da  $R_{ext}$  não trouxe ganhos expressivos ao processo nas condições em que os experimentos foram realizados. A remoção de NT, que havia sido inibida durante as cinéticas C2 a C5, também não apresentou melhoras expressivas em sua eficiência com a redução da  $R_{ext}$ . A eficiência de remoção de NT com a  $R_{ext}$  de  $1000 \Omega$  foi de 42% e subiu para 48,5% com a  $R_{ext}$  de  $100 \Omega$ . Mesmo com o aumento do fluxo de elétrons para cátodo, não houve melhora do desempenho da desnitrificação, indicando que este bioprocessos ficou mais comprometido pela exposição à NOR do que aos demais antibióticos. Tais resultados divergem do que foi discutido na seção anterior com base nos resultados de monitoramento da MFC-NOR, quando observou o aumento

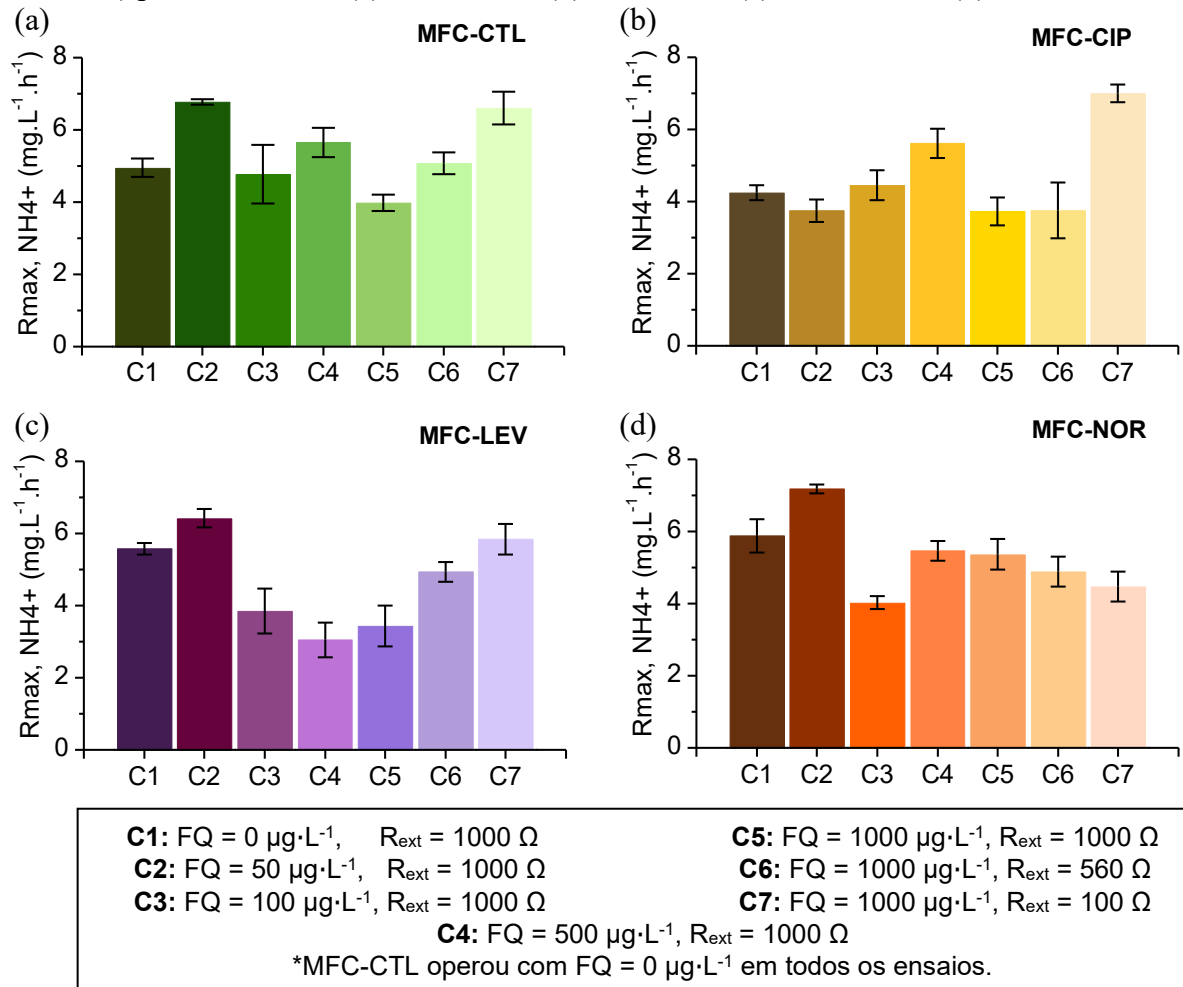
da remoção de NT com a  $R_{ext}$  de 100  $\Omega$ . Isto aconteceu porque a cinética foi realizada 516º dia operacional, quando a eficiência de remoção de NT era aproximadamente 50%, enquanto a melhora do desempenho da remoção de NT só foi constatada no 525º dia. Essas observações podem indicar que mais de um fenômeno está envolvido no aumento da eficiência de remoção de NT com a  $R_{ext}$  de 100  $\Omega$ , portanto é necessária uma análise mais detalhada para confirmar tal comportamento.

#### 4.3.1.5 Influência das FQs e da $R_{ext}$ sobre a velocidade máxima de consumo dos poluentes

Os estudos cinéticos também permitem avaliar a influência das fluoroquinolonas e da  $R_{ext}$  sobre a velocidade máxima de consumo dos poluentes ( $-r_{max}$ ). Na Figura 22 estão apresentadas as velocidades máximas de nitrificação calculadas para cada uma das 7 cinéticas nas quatro MFC em estudo. De modo geral, é possível afirmar que o comportamento das  $-r_{max}$  corrobora os resultados de eficiência de remoção discutidos anteriormente. As MFC-CTL, MFC-CIP e MFC-LEV apresentaram um aumento da  $-r_{max}$  com a redução da  $R_{ext}$  (100  $\Omega$ ) para  $6,60 \pm 0,45$ ,  $7,00 \pm 0,24$  e  $5,84 \pm 0,43$   $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , respectivamente. Somente na MFC-NOR não foi possível verificar esta relação entre a  $R_{ext}$  e a  $-r_{max}$  da nitrificação.

O efeito da concentração de fluoroquinolona e a  $-r_{max}$  da nitrificação variou entre os diferentes antibióticos estudados. A levofloxacina apresentou uma nítida relação entre a sua concentração e a  $-r_{max}$ , o que confirma o efeito inibitório deste antibiótico sobre as bactérias nitrificantes. Os resultados da MFC-NOR indicam que a  $-r_{max}$  não foi afetada pela concentração de norfloxacin. Em relação à MFC-CIP, os valores de  $-r_{max}$  não confirmam o comportamento observado durante a análise dos perfis de remoção, pois aqui verifica-se um estímulo da  $-r_{max}$ , quando a concentração de CIP aumenta de 100 para 500  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ . No entanto, cabe mencionar que nem sempre estas duas variáveis irão expressar o mesmo efeito (inibição ou estímulo), uma vez que dependem do mecanismo de ação do composto inibidor sobre os microrganismos em estudo.

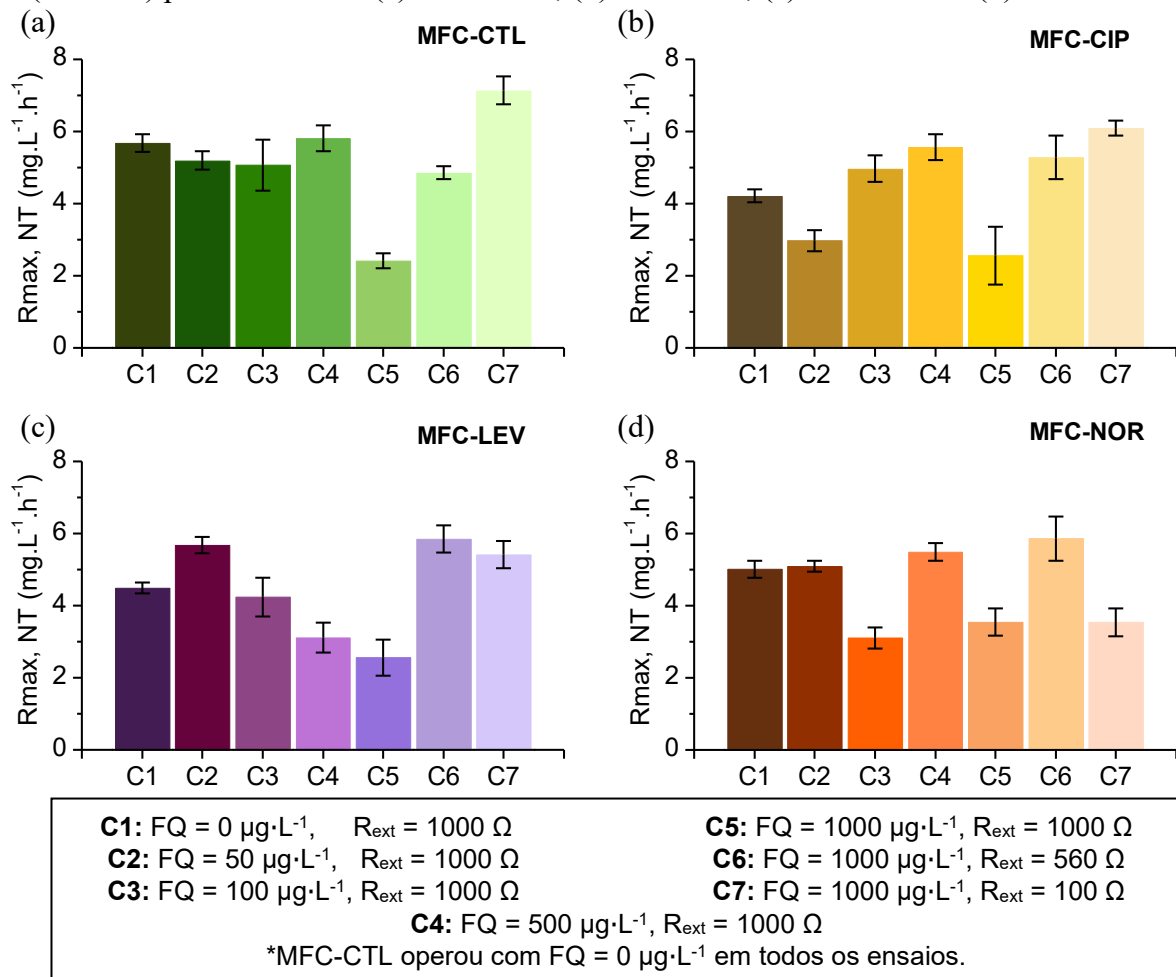
Figura 22 – Velocidades máximas de nitrificação calculadas a partir dos ensaios cinéticos (C1 a C7) para os reatores (a) MFC-CTL; (b) MFC-CIP; (c) MFC-LEV e (d) MFC-NOR.



Fonte: Elaborado pela autora.

Na Figura 23 estão apresentadas as velocidades máximas de remoção de NT calculadas em cada uma das condições operacionais avaliadas nos reatores. Novamente verifica-se um efeito positivo da redução da  $R_{ext}$  sobre a  $-r_{max}$  da MFC-CTL, MFC-CIP e MFC-LEV, que alcançaram, respectivamente, velocidades de  $6,10 \pm 0,21$  e  $5,41 \pm 0,37 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ , operando com a  $R_{ext}$  de 100  $\Omega$ . Além disso, na MFC-LEV foi confirmado que o aumento da concentração de LEV, dentro da faixa estudada, inibe a remoção de NT no cátodo. No entanto, na MFC-CIP e MFC-NOR os valores de  $-r_{max}$  não confirmam o que comportamento observado durante a análise dos perfis de remoção, para algumas das condições estudadas. Isto implica na necessidade de compreender melhor os mecanismos de ação destes antibióticos sobre os microrganismos em estudo.

Figura 23 – Velocidades máximas de remoção de NT calculadas a partir dos ensaios cinéticos (C1 a C7) para os reatores (a) MFC-CTL; (b) MFC-CIP; (c) MFC-LEV e (d) MFC-NOR.



Fonte: Elaborado pela autora.

#### 4.4 DESEMPENHO DAS MFCS PARA GERAÇÃO ELETRICIDADE

A geração direta de bioeletricidade a partir de resíduos é um dos diferenciais da MFC frente a outros bioprocessos para o tratamento de resíduos (GUDE, 2016). Por isto, as MFCS também foram monitoradas quanto à geração de eletricidade para avaliar os efeitos das fluoroquinolonas sobre tal característica.

A primeira etapa de operação dos reatores foi sob condição de circuito aberto (OCV). Esta condição é caracterizada pela máxima diferença de potencial entre os canais da MFC e pela não geração de eletricidade. Já no primeiro dia de operação dos reatores, a tensão produzida pelo sistema variou entre 370 e 430 mV na MFC-CTL, 360 a 410 na MFC-CIP, 380 e 460 mV na MFC-LEV, e 380 e 410 mV na MFC-NOR. Nos dias seguintes, houve um leve aumento da

tensão e todos os reatores apresentaram tensão máxima 560 mV, indicando que a etapa anterior de aclimação dos inóculos resultou em microrganismos ativos. No entanto, a operação em OCV foi mantida até o 109º dia operacional em razão das alterações operacionais que foram necessárias para o reestabelecimento da desnitrificação, conforme mencionado no item 4.3.

Ao longo da operação em OCV foram observadas flutuações na tensão dentro do ciclo operacional em razão da aeração intermitente e resultando na variação de OD no cátodo. Alguns estudos demonstraram que o aumento da concentração de OD no cátodo aumenta a geração de eletricidade (TAO et al., 2014; VIRDIS et al., 2010; ZHANG et al., 2020b; ZHAO et al., 2017). De acordo com Zhang et al. (2020b), o desempenho da MFC é melhorado pois, em maiores concentrações, o oxigênio fornecido à MFC é suficiente para suprir a demanda do processo de nitrificação e a produção de eletricidade. Tais oscilações foram observadas durante toda a operação das MFCs e são a razão dos elevados desvios das medições de tensão ( $E_{MFC}$ ), densidade corrente ( $I_V$ ) e densidade de potência ( $P_V$ ) apresentadas neste trabalho.

Após a operação em OCV, o modo operacional das MFCs foi alterado para circuito fechado (CCV) com a instalação de uma resistência externa ( $R_{ext}$ ) de 1000  $\Omega$  para iniciar a produção de energia. Inicialmente todos os reatores operaram sem adição de antibióticos e, em seguida, o estudo evoluiu com a exposição das MFC-CIP, MFC-LEV e MFC-NOR a concentrações progressivas das respectivas FQs. Por fim a  $R_{ext}$  foi reduzida para 560  $\Omega$  e 100  $\Omega$ . Os resultados obtidos nestas condições para cada reator estão discutidos a seguir.

Na MFC-CTL foi verificado o efeito da  $R_{ext}$  sobre a geração de eletricidade e os dados estão apresentados na Tabela 5. Vale mencionar que houve períodos de queda na tensão, nos quais esta ficou próxima a zero, porém, não foi possível encontrar uma justificativa para esta queda de desempenho com as ferramentas disponíveis. Excluindo estes períodos, na operação com 1000  $\Omega$  a MFC gerou uma tensão de  $145,24 \pm 42,99$  mV, correspondendo a  $906 \pm 268$  mA·m<sup>-3</sup> e  $144 \pm 69$  mW·m<sup>-3</sup>. Durante a aeração, quando eram alcançados os maiores valores de tensão, a MFC-CTL gerou entre 200 e 275 mV com corrente variando entre 1250 – 1719 mA·m<sup>-3</sup> e potência entre 250 – 469 mW·m<sup>-3</sup>. A redução da  $R_{ext}$  para 560  $\Omega$ , aumentou a geração de corrente, porém reduziu a potência gerada pela MFC-CTL. Nos períodos aeróbios a geração de tensão, corrente e potência a 560  $\Omega$  foram, respectivamente: 120 – 140 mV, 1313 – 1563 mA·m<sup>-3</sup> e 281 – 431 mW·m<sup>-3</sup>. Por fim, a redução da  $R_{ext}$  para 100  $\Omega$  resultou em períodos mais instáveis de operação e, na média, resultou em uma queda da corrente e da tensão no reator.

A queda da corrente na região de alta densidade de corrente é descrita na literatura como *overshoot*, porém ainda existem dúvidas a respeito dos fenômenos relacionados a este comportamento. O *overshoot* pode ser associado a problemas técnicos de medição, aclimação

dos microrganismos, aumento da resistência interna durante a operação e esgotamento de elétrons (KIM; AN; CHANG, 2017). Zhu et al. (2013), por exemplo, associou a ocorrência de *overshoot* ao potencial mais negativo do ânodo durante a aclimatação da MFC; enquanto a aclimatação em potencial mais positivo favoreceu a eletroatividade dos microrganismos na região de alta corrente e, possivelmente, fez com que as bactérias expressassem mais componentes de transferência de elétrons para funcionar nesta região e obter mais energia.

Tabela 5 – Parâmetros de geração de eletricidade obtidos para a MFC-CTL.

$R_{ext}$ ( $\Omega$ )	OCV	1000	560	100
FQ ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	0	0	0	0
<b>Tensão (mV)</b>	481,24 ± 77,49	145,24 ± 42,99	104,30 ± 16,90	11,07 ± 11,43
<b>Corrente (mA)</b>	n.a	0,145 ± 0,043	0,186 ± 0,030	0,111 ± 0,114
<b>Densidade de corrente (mA·m<sup>-3</sup>)</b>	n.a	906 ± 268	1163 ± 188	694 ± 712
<b>Potência (mW)</b>	n.a	0,023 ± 0,011	0,020 ± 0,005	0,002 ± 0,005
<b>Densidade de potência (mW·m<sup>-3</sup>)</b>	n.a	144 ± 69	125 ± 31	13 ± 31

n.a: não se aplica.

Fonte: Elaborado pela autora.

Na MFC-CIP foram investigados os efeitos da ciprofloxacina e da  $R_{ext}$  sobre a geração de eletricidade. A partir dos dados apresentados na Tabela 6, pode-se perceber que o aumento da ciprofloxacina diminuiu a geração de eletricidade na MFC com  $R_{ext} = 1000 \Omega$  em relação à operação anterior ( $R_{ext} = 1000 \Omega$ ; FQ = 0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). A potência gerada com 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de CIP representou 60% da potência produzida pelo reator sem a adição do antibiótico, enquanto a corrente foi de 80%. Tais resultados indicam inibição dos processos biológicos relacionados à geração de eletricidade. A redução da  $R_{ext}$  na MFC-CIP aumentou a geração de corrente, ao mesmo tempo que reduziu ainda mais a potência no reator em relação à operação anterior ( $R_{ext} = 1000 \Omega$ ; FQ = 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), não sendo observado o *overshoot* como na MFC-CTL.

Tabela 6 – Parâmetros de geração de eletricidade obtidos para a MFC-CIP.

$R_{ext}$ ( $\Omega$ )	OCV	1000					560	100
		0	50	100	500	1000		
FQ ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	0	0	50	100	500	1000	1000	1000
<b>Tensão (mV)</b>	466,86 $\pm 76,65$	143,18 $\pm$ 67,56	151,9 $\pm$ 25,00	99,35 $\pm$ 36,18	113,99 $\pm$ 42,04	113,62 $\pm$ 38,71	64,78 $\pm$ 16,16	17,00 $\pm$ 11,27
<b>Corrente (mA)</b>	n.a	0,143 $\pm$ 0,066	0,152 $\pm$ 0,025	0,099 $\pm$ 0,036	0,114 $\pm$ 0,042	0,114 $\pm$ 0,039	0,116 $\pm$ 0,029	0,170 $\pm$ 0,113
<b>Densidade de corrente (mA<math>\cdot</math>m<math>^{-3}</math>)</b>	n.a	894 $\pm$ 412	950 $\pm$ 156	694 $\pm$ 225	713 $\pm$ 263	713 $\pm$ 244	725 $\pm$ 181	1063 $\pm$ 706
<b>Potência (mW)</b>	n.a	0,025 $\pm$ 0,018	0,024 $\pm$ 0,008	0,011 $\pm$ 0,007	0,015 $\pm$ 0,009	0,015 $\pm$ 0,008	0,008 $\pm$ 0,004	0,004 $\pm$ 0,005
<b>Densidade de potência (mW<math>\cdot</math>m<math>^{-3}</math>)</b>	n.a	156 $\pm$ 112	150 $\pm$ 50	69 $\pm$ 44	94 $\pm$ 56	94 $\pm$ 50	50 $\pm$ 25	25 $\pm$ 31

n.a: não se aplica.

Fonte: Elaborado pela autora.

A MFC-LEV teve o pior desempenho para geração de eletricidade dentre todos os reatores e apresentou bastante instabilidade, principalmente com a  $R_{ext} = 100 \Omega$ . Os dados apresentados na Tabela 7 indicam que a levofloxacinina inibiu a atividade dos microrganismos exoeletrogênicos e, conseqüentemente, a geração de eletricidade na MFC, ainda na concentração de  $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Os efeitos foram notados logo após o início da exposição a  $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  e se mantiveram por todo o período de exposição a esta concentração. Quando a concentração de LEV aumentou para  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  houve uma queda acentuada na geração de eletricidade da MFC e durante 22 dias a tensão produzida na MFC foi de  $13,81 \pm 17,70$  mV ( $I_V = 88 \pm 113$  mA $\cdot$ m $^{-3}$ ;  $P_V = 31 \pm 11$  mW $\cdot$ m $^{-3}$ ). A partir do 23º dia verificou-se a recuperação da geração de eletricidade para os níveis apresentados na Tabela 7. As demais concentrações de LEV também apresentaram este mesmo comportamento, porém a recuperação da geração de eletricidade foi cada vez mais rápida e reduziu para 10 dias na concentração de  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Tais evidências indicam que, apesar da toxicidade da LEV aos microrganismos eletroativos, estes conseguem se adaptar ao micropoluinte e recuperar sua atividade. Além disso, dos antibióticos avaliados neste trabalho, a LEV foi a única que apresentou este comportamento em todas as concentrações estudadas. A inibição de LEV à geração de eletricidade em MFCs também foi reportada por Zheng et al. (2017). Este grupo observou que a LEV diminuiu a tensão gerada em uma MFC de cátodo a ar já na concentração de  $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  e que na faixa de  $0,1$  a  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  havia uma



correlação linear entre a tensão e a concentração de antibiótico, portanto a MFC poderia ser utilizada como um biosensor para detecção de LEV. No entanto, este comportamento linear não foi observado para a faixa de concentração explorada no presente trabalho.

Tabela 7 – Parâmetros de geração de eletricidade obtidos para a MFC-LEV.

$R_{ext}$ ( $\Omega$ )	OCV		1000			560		100
FQ ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	0	0	50	100	500	1000	1000	1000
<b>Tensão (mV)</b>	440,46 ± 54,90	109,27 ± 82,64	42,75 ± 41,64	116,47 ± 44,04	52,63 ± 41,68	110,30 ± 34,34	80,09 ± 25,34	0,30 ± 1,67
<b>Corrente (mA)</b>	n.a	0,109 ± 0,083	0,043 ± 0,042	0,116 ± 0,044	0,053 ± 0,042	0,110 ± 0,034	0,143 ± 0,045	0,003 ± 0,017
<b>Densidade de corrente (mA·m<sup>-3</sup>)</b>	n.a	681 ± 518	269 ± 262	725 ± 275	331 ± 262	688 ± 213	894 ± 281	19 ± 106
<b>Potência (mW)</b>	n.a	0,019 ± 0,023	0,004 ± 0,007	0,016 ± 0,010	0,005 ± 0,006	0,013 ± 0,008	0,013 ± 0,006	0,0002 ± 0,0002
<b>Densidade de potência (mW·m<sup>-3</sup>)</b>	n.a	119 ± 144	25 ± 44	100 ± 63	31 ± 37	81 ± 50	81 ± 38	1,25 ± 1,25

n.a: não se aplica.

Fonte: Elaborado pela autora.

A norfloxacin, foi o antibiótico que causou menos danos à geração de eletricidade na MFC. Como mostram os dados da Tabela 8, a tensão gerada pela MFC-NOR aumentou em 59% após a exposição a 50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de NOR em relação à condição anterior, enquanto a potência gerada pela MFC dobrou. Além disso, os parâmetros de geração de eletricidade da MFC-NOR após a adição de NOR foram ligeiramente superiores à MFC-CTL em todas as resistências estudadas. O trabalho de Ondon et al. (2020) também mostrou o mesmo comportamento da NOR em uma MFC de câmara única. Apesar de explorar uma faixa superior de concentrações (2 a 128  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), Ondon et al. (2020) constataram que até 8  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NOR não inibiu a geração de eletricidade. Além disso, o estímulo à geração de eletricidade também foi reportado em MFCs com sulfametoxazol e ampicilina (XUE; LI; ZHOU, 2019; BAGCHI; BEHERA, 2020).

Tabela 8 – Parâmetros de geração de eletricidade obtidos para a MFC-NOR.

$R_{ext}$ ( $\Omega$ )	OCV		1000		560		100	
	0	0	50	100	500	1000	1000	1000
<b>FQ</b> ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )								
<b>Tensão</b> (mV)	492,94 ± 40,64	101,60 ± 60,59	161,35 ± 46,58	153,74 ± 29,96	157,69 ± 34,38	157,22 ± 17,84	107,87 ± 19,49	16,11 ± 14,48
<b>Corrente</b> (mA)	n.a	0,102 ± 0,061	0,161 ± 0,047	0,154 ± 0,030	0,158 ± 0,034	0,157 ± 0,018	0,192 ± 0,035	0,161 ± 0,145
<b>Densidade de corrente</b> (mA·m <sup>-3</sup> )	n.a	638 ± 381	1006 ± 294	961 ± 187	986 ± 215	983 ± 112	1204 ± 219	1006 ± 906
<b>Potência</b> (mW)	n.a	0,014 ± 0,013	0,028 ± 0,015	0,025 ± 0,009	0,026 ± 0,010	0,025 ± 0,006	0,021 ± 0,007	0,004 ± 0,007
<b>Densidade de potência</b> (mW·m <sup>-3</sup> )	n.a	88 ± 81	175 ± 94	156 ± 56	163 ± 63	156 ± 38	131 ± 44	25 ± 44

n.a: não se aplica.

Fonte: Elaborado pela autora.

Com base no que foi discutido até aqui, as FQs podem ser ordenadas da seguinte maneira quanto aos seus efeitos inibitórios sobre o desempenho eletroquímico das MFCs: LEV > CIP > NOR. Destaca-se em especial, os efeitos antagônicos observados na operação das MFCs com LEV e NOR. Uma das possíveis causas para essa diferença pode estar relacionada à estrutura química e ao espectro de ação antimicrobiana destes compostos. A NOR é uma das primeiras fluoroquinolonas desenvolvidas, sua estrutura é mais simples e seu espectro de ação abrange somente bactérias gram negativas, à exceção das *Pseudomonas*. Por outro lado, a LEV, pertencente à terceira geração deste grupo, possui estrutura mais complexa e seu espectro de ação inclui bactérias gram-negativas e gram-positivas e patógenos atípicos (KING et al., 2000).

#### 4.4.1 Caracterização eletroquímica

Além do monitoramento contínuo da geração de eletricidade, as MFCs também foram submetidas às análises de curva de polarização e potência e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE). Estas análises foram realizadas com o intuito de compreender a performance das MFCs em diferentes regiões de corrente, definir qual seria a melhor condição para operação dos reatores e verificar os principais fenômenos que limitam a transferência de elétrons entre os canais e, conseqüentemente, a geração de eletricidade.

#### 4.4.1.1 Avaliação da máxima potência produzida nas MFCs

De acordo com Logan (2008), um dos objetivos ao operar uma MFC deve ser maximizar a geração de energia e assim, obter a maior densidade de corrente nas condições de máximo potencial. Em outras palavras, isto significa que desejamos observar uma pequena queda da tensão à medida que reduzimos a resistência externa nas curvas de polarização e potência. Tais curvas estão representadas na Figura 24 e mostram que a exposição às FQs resultou em desempenhos distintos entre as quatro MFCs. A MFC-CTL foi a que registrou maior produção de potência, seguida pela MFC-CIP, e pela MFC-NOR. A MFC-LEV apresentou o pior desempenho (Tabela 9).

Tabela 9 – Identificação da máxima potência produzida (MPP) durante as curvas de polarização e potência.

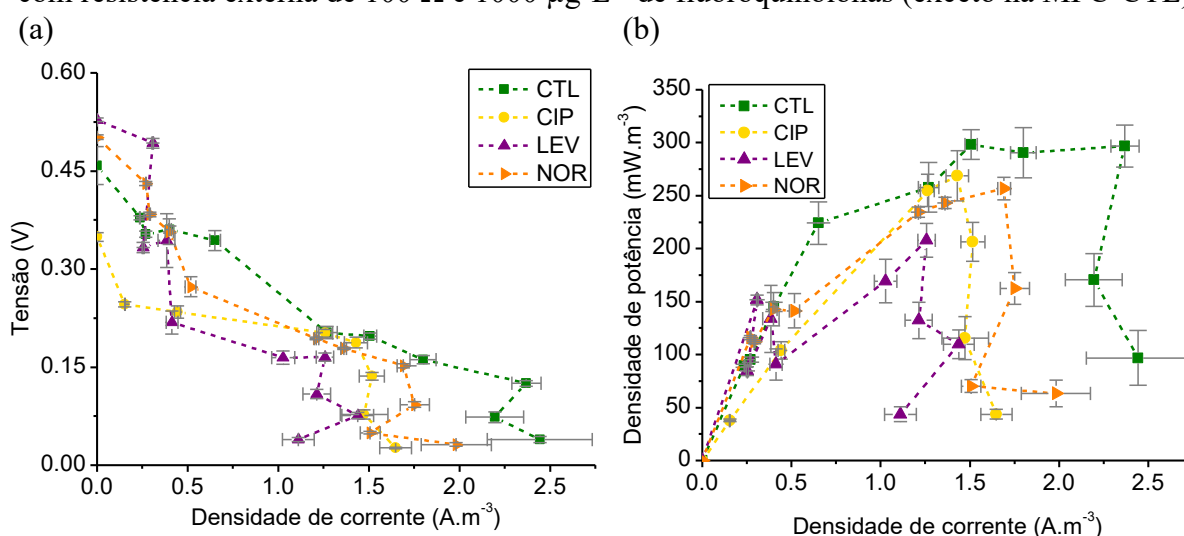
	MFC-CTL	MFC-CIP	MFC-LEV	MFC-NOR
<b>Máxima potência produzida (<math>\text{mW}\cdot\text{m}^{-3}</math>)</b>	$298,08 \pm 14,01$	$268,73 \pm 23,66$	$207,08 \pm 16,11$	$256,84 \pm 10,70$
<b>Tensão (V)</b>	$0,198 \pm 0,005$	$0,188 \pm 0,005$	$0,165 \pm 0,006$	$0,152 \pm 0,003$
<b>Densidade de corrente (<math>\text{A}\cdot\text{m}^{-3}</math>)</b>	$1,51 \pm 0,04$	$1,43 \pm 0,06$	$1,26 \pm 0,05$	$1,69 \pm 0,04$
<b>Resistência correspondente (<math>\Omega</math>)</b>	820	820	820	560

Fonte: Elaborado pela autora.

Apesar do monitoramento da geração de eletricidade indicar um desempenho superior da MFC-NOR, as curvas de polarização e potência também mostraram uma leve inibição da NOR sobre a performance da MFC. Uma justificativa para esta aparente divergência é o modo de medição para cada caso. As curvas de polarização e potência (Figura 24) foram calculadas a partir dos dados de máxima tensão obtidos durante cada ciclo, enquanto no monitoramento foram considerados todos os valores de tensão obtidos durante os ciclos operacionais. Como, no geral, a MFC-NOR apresentou as menores flutuações de tensão ao longo do ciclo, esta queda no desempenho eletroquímico durante os períodos de aeração (máxima tensão) não foi notada ao analisar os dados de monitoramento eletroquímico. Além disso, a MPP da MFC-CTL e MFC-CIP ocorreu na resistência de  $820 \Omega$ , enquanto a da MFC-NOR na resistência de  $560 \Omega$  (Tabela 9). Como a performance das MFC não foi investigada na resistência de  $820 \Omega$  e nas

1000 e 560  $\Omega$  todos os reatores apresentaram desempenho semelhantes, a verificação de possíveis efeitos inibitórios foi dificultada. Por fim, Ondon et al. (2020) também observou que a exposição a 2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de NOR aparentemente não alterou a geração de tensão nas condições de realização do experimento, porém as curvas de polarização e potência expuseram uma queda de 39% na MPP da MFC nesta concentração de antibiótico. Tais resultados reforçam a necessidade de uma caracterização eletroquímica robusta para identificar possíveis alterações causadas por micropoluentes em MFCs e estabelecer as melhores condições operacionais.

Figura 24 – Curvas de (a) polarização e (b) potência obtidas ao final da operação das MFCs com resistência externa de 100  $\Omega$  e 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de fluoroquinolonas (exceto na MFC-CTL).



Fonte: Elaborado pela autora.

Os resultados também confirmaram que a LEV foi mais prejudicial à performance eletroquímica das MFCs que as demais FQs. Apesar da MFC-LEV produzir a maior tensão em OCV ( $0,53 \pm 0,003$  V), essa se deteriorou rapidamente com a queda da resistência passando para  $0,22 \pm 0,017$  V quando a densidade de corrente era  $0,41 \pm 0,03$   $\text{A}\cdot\text{m}^{-3}$ . Esta queda acentuada da tensão na região de baixa densidade de corrente é característica de sistemas governados pelas perdas por ativação (transferência de carga entre o microrganismo e eletrodo) e é um indicativo de que tais perdas são maiores na MFC-LEV do que nos demais reatores.

As MPPs foram identificadas na resistência de 820  $\Omega$  para a MFC-CTL, MFC-CIP e MFC-LEV e em 560  $\Omega$  para a MFC-NOR (Tabela 9). Assim, do ponto de vista da geração de eletricidade o ideal seria operá-las na resistência de MPP, para garantir o máximo desempenho elétrico. No entanto, esta escolha deve ser ponderada pela eficiência de remoção dos poluentes que é fundamental no contexto do tratamento efluentes.

#### 4.4.1.2 Avaliação da resistência interna das MFCs

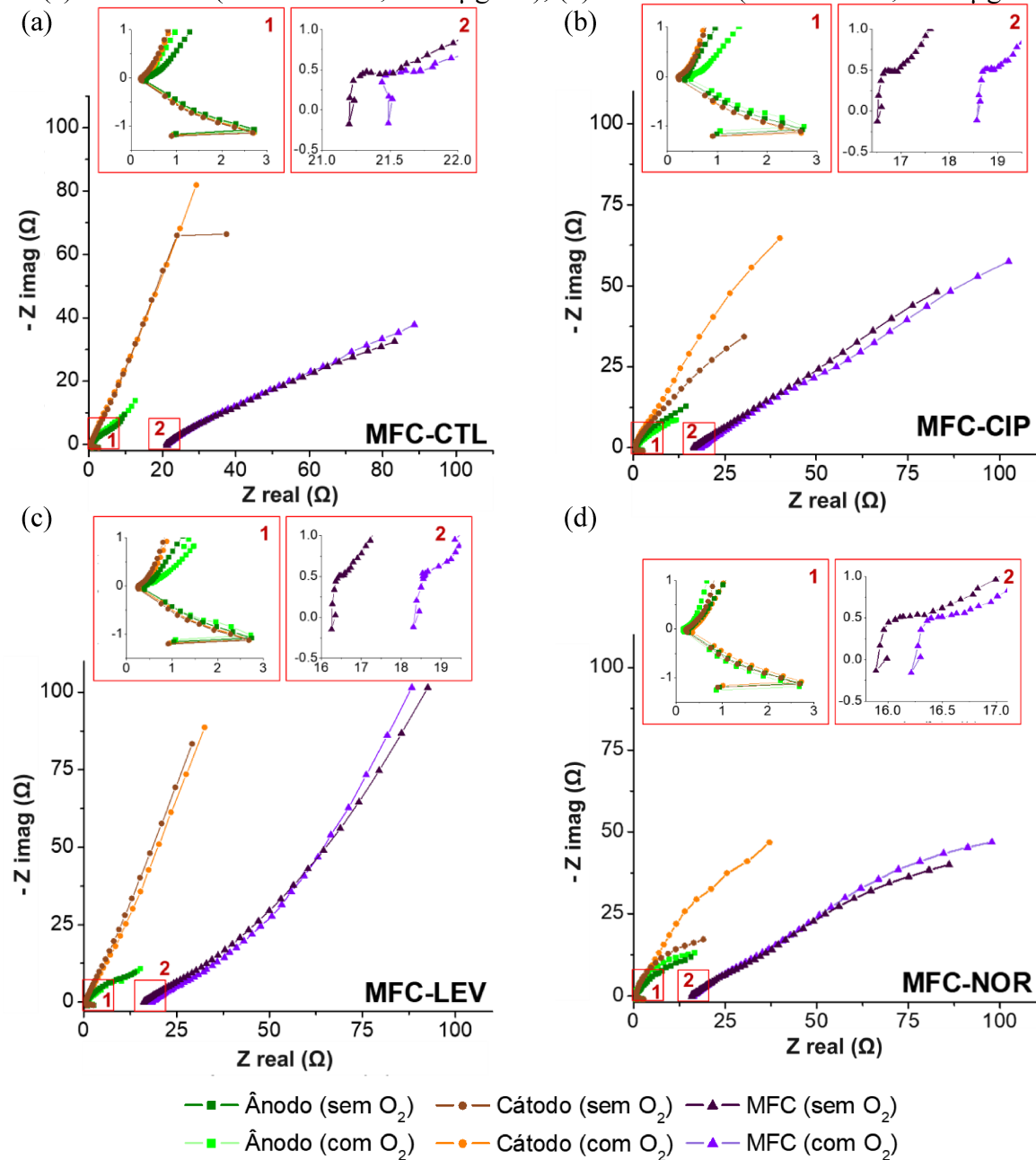
A resistência interna ( $R_{int}$ ) de uma MFC é um dos principais parâmetros a serem analisados para compreender e otimizar a geração de eletricidade em MFCs. Ela engloba fatores bióticos e abióticos que limitam a transferência de elétrons e, assim, reduzem a corrente e a potência geradas na MFC. As  $R_{int}$  das MFCs deste estudo foram obtidas a partir da espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE), pois esta permite uma análise minuciosa sobre as componentes da  $R_{int}$ . Os resultados estão apresentados na Tabela 10 e na Figura 25.

Os diagramas de Nyquist são obtidos plotando a componente imaginária negativa da impedância ( $-Z_{imag}$ ) em função da componente real da impedância ( $Z_{real}$ ), sendo a impedância equivalente à  $R_{int}$ . Neste diagrama cada ponto no plano complexo representa a impedância em uma determinada frequência (HE; MANSFELD, 2009). Os pontos medidos em alta frequência se encontram ao lado esquerdo do diagrama (mais próximo à origem) e os pontos medidos em baixa frequência estão na extremidade oposta. Os formatos observados nos diagramas de Nyquist são variados e estão intimamente relacionados com os componentes do circuito elétrico em estudo, o que permite ajustar os resultados de EIE a um modelo de circuito equivalente e identificar os valores das resistências associadas a cada uma das perdas observadas na MFC. Os formatos dos diagramas de Nyquist obtidos para este estudo são bastante divergentes daqueles usualmente observados em outras MFCs (SEKAR; RAMASAMY, 2013). No lugar de semicírculos, foram obtidas linhas com distintas inclinações, o que dificultou o ajuste dos dados a um circuito elétrico equivalente. Isto também sugere um comportamento muito complexo dos fenômenos envolvidos na resistência interna das MFCs.

De acordo com Xochitl et al. (2012), o ponto onde a curva intercepta o eixo  $Z_{real}$  na região de alta frequência do diagrama de Nyquist corresponde à resistência ôhmica ( $R_Q$ ), e a diferença entre  $R_Q$  e  $R_{int}$  corresponde à combinação das resistências associadas às perdas por ativação e transferência de massa. Os resultados apresentados na Tabela 10 indicam que, em todos os reatores,  $R_{int}$  é composta principalmente pelas resistências associadas a limitações de transferência de elétrons entre a bactéria e o eletrodo e transferência de massa ( $R_{av}$  e  $R_{TM}$ ).  $R_Q$  só apresenta valores expressivos (porém pequenos) quando a EIE foi realizada na MFC completa. Nesta configuração de análise é possível investigar os efeitos dos aspectos estruturais da MFC sobre  $R_{int}$ , os quais estão associados à  $R_Q$ . Se comparado com outros trabalhos disponíveis na literatura (Tabela 10), percebe-se que a  $R_Q$  das MFCs utilizadas neste estudo é relativamente pequena, indicando que as estratégias definidas durante o projeto dos reatores

reduziram a resistência à transferência de elétrons associada à configuração da MFC. Da mesma forma, a  $R_{int}$  também foi inferior a outros estudos realizados com reatores com configuração e processos biológicos similares.

Figura 25 – Diagramas de Nyquist obtidos por EIE para o ânodo, cátodo e célula completa das MFCs. (a) MFC-CTL (controle, sem antibiótico); (b) MFC-CIP (ciprofloxacina,  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ); (c) MFC-LEV (levofloxacina,  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ); (d) MFC-NOR (norfloxacina,  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ).



Fonte: Elaborado pela autora.

Os resultados da Tabela 10 também mostram que o cátodo é a etapa limitante para a geração de eletricidade nas MFCs, pois apresentou  $R_{int}$  superior à  $R_{int}$  do ânodo em todos os casos. Portanto, para reduzir a  $R_{int}$  das MFCs e otimizar a geração de eletricidade é mais efetivo

investir em modificações no cátodo, como a incorporação de catalisadores ou aumento do volume deste canal, por exemplo. Além disso, as  $R_{int}$  obtidas durante o período óxico do cátodo foram superiores às obtidas durante o período anóxico. A princípio este comportamento não era esperado, pois a aeração aumenta a força motriz de redução de oxigênio, o que diminui a resistência à transferência de carga (Zhang et al., 2020b). No entanto, pode também haver uma limitação à difusão do oxigênio no meio aquoso (a espessura do biofilme, por exemplo) que dificulte a trajetória do  $O_2$  até a superfície do eletrodo, aumentando a  $R_{int}$  das MFCs.

Tabela 10- Resistências internas e resistências ôhmicas obtidas a partir do espectro de EIE.

Reator/Canal	Resistência interna - $R_{int}$ ( $\Omega$ )		Resistência ôhmica ( $\Omega$ )	
	Período anóxico	Período óxico	Período anóxico	Período óxico
MFC-CTL	89,41	96,44	21,20	21,49
Ânodo	13,43	18,65	0,34	0,30
Cátodo	76,22	86,96	0,22	0,25
MFC-CIP	95,81	117,46	16,53	18,59
Ânodo	19,28	14,53	0,36	0,48
Cátodo	45,74	76,04	0,22	0,22
MFC-LEV	137,42	134,57	16,35	18,45
Ânodo	16,70	18,67	0,40	0,42
Cátodo	88,36	94,35	0,25	0,31
MFC-NOR	94,94	108,46	15,99	16,30
Ânodo	19,62	21,27	0,27	0,16
Cátodo	25,64	59,66	0,22	0,36

Fonte: Elaborado pela autora.

Dentre os antibióticos estudados, a exposição a  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de LEV foi a que mais influenciou a  $R_{int}$ , provocando um aumento de 54% e 40% em relação ao controle nos períodos anóxico e óxico, respectivamente. Isto justifica as quedas de desempenho eletroquímico observadas neste reator em relação à produção de corrente e potência. Neste caso, a hipótese levantada é que a LEV, por ser mais tóxica que os demais antibióticos para as comunidades microbianas da MFC, pode levar à morte celular e estas bactérias criariam uma barreira à transferência de elétrons, aumentando a  $R_{int}$ . Outra hipótese seria de que a LEV inibe a atividade dos microrganismos eletroativos, o que também aumenta a  $R_{int}$ . Entretanto, faz-se necessária uma análise mais profunda para confirmar estas hipóteses, como a microscopia confocal e análises de sequenciamento e expressão genética.

Tabela 11 – Parâmetros eletroquímicos obtidos em outros trabalhos da literatura.

Configuração da MFC	Processos	Volume (L)	MPP	R <sub>int</sub>	R <sub>ohm</sub>	Referência
MFC de três canais sem membrana	Oxidação anaeróbia (ânodo) + nitrificação desnitrificação simultâneas (cátodo)	3,6	47 mW·m <sup>-2</sup>	3100 Ω·m <sup>-2</sup>	2000 Ω·m <sup>-2</sup>	Chang et al. (2021)
MFC de dois canais com membrana cerâmica	Oxidação anaeróbia (ânodo) + O <sub>2</sub> dissolvido (cátodo)	2,48	2140 mW·m <sup>-3</sup>	-	47,1 Ω	Raychaudhuri, Behera (2020)
MFC de câmara tripla	Oxidação anaeróbia (ânodo) + desnitrificação (cátodo)	5	7900 mW·m <sup>-3</sup>	-	-	Xie et al. (2011)
MFC de câmara dupla	Oxidação anaeróbia (ânodo) + nitrificação (cátodo)	0,25	149,8 mW·m <sup>-2</sup>	423,07 Ω	135 Ω	Zhang et al. (2020)
MFC de câmara dupla	Oxidação anaeróbia (ânodo) + nitrificação desnitrificação simultâneas (cátodo)	3,51	2050 mW·m <sup>-3</sup>	53,5 ± 2,4 Ω	-	Zhang, Lee, Cheng (2016)
MFC de câmara dupla	Oxidação anaeróbia (ânodo) + nitrificação desnitrificação simultâneas (cátodo)	2,8	225 mW·m <sup>-3</sup>	329 Ω	-	Huang et al. (2021)
MFC de câmara única	Oxidação anaeróbia (ânodo) + redução de O <sub>2</sub> do ar (cátodo)	0,028	1497 mW·m <sup>-2</sup>	-	25 Ω	Ondon et al. (2020)
MFC de câmara dupla	Oxidação anaeróbia (ânodo) + O <sub>2</sub> dissolvido (cátodo)	0,008	420 mW·m <sup>-2</sup>	-	-	Penteado et al. (2017)
MFC de câmara dupla	Oxidação anaeróbia (ânodo) + nitrificação desnitrificação simultâneas (cátodo)	0,200	298,08 ± 14,01 mW·m <sup>-3</sup>	89,41 Ω		Este estudo

Fonte: Elaborado pela autora.

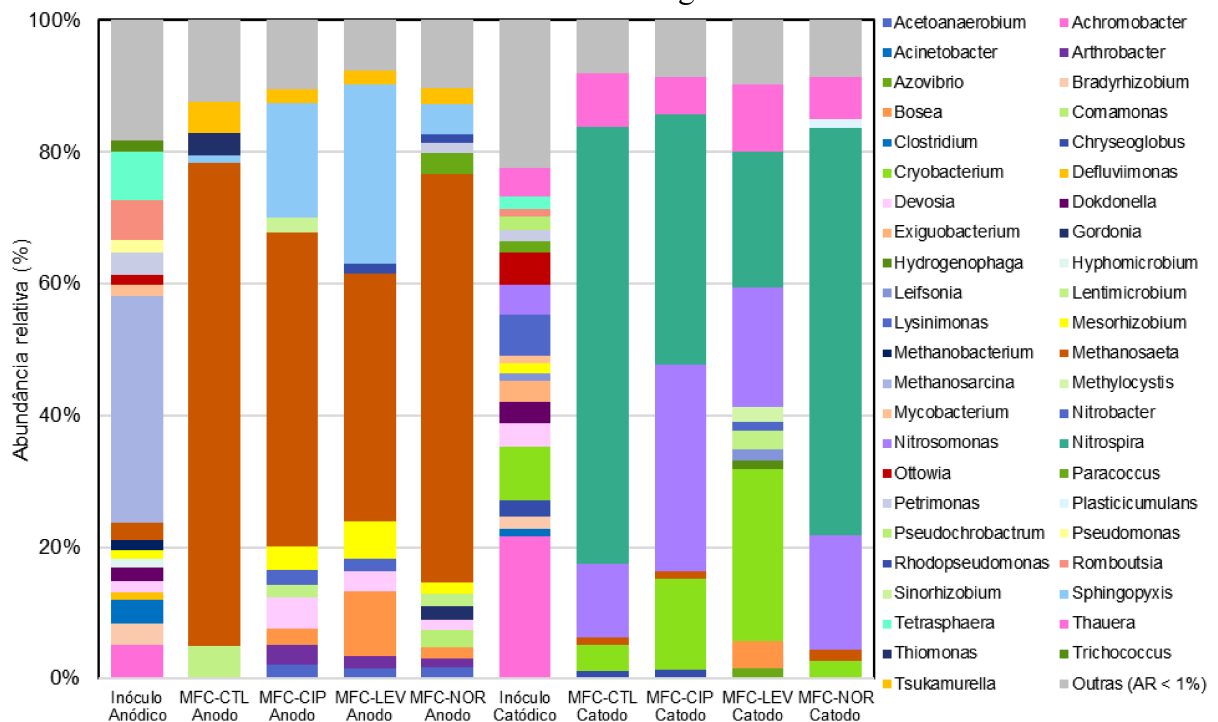


## 4.5 EFEITO DAS FLUOROQUINOLONAS SOBRE A COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE MICROBIANA

### 4.5.1 Identificação dos microrganismos desenvolvidos nas MFCs por sequenciamento genético

Após 703 dias de operação, as comunidades microbianas foram analisadas quanto à sua composição e morfologia. Os resultados de sequenciamento genético (Figura 26) mostram que as MFCs causaram uma profunda modificação na estrutura da comunidade microbiana em relação aos inóculos. Tanto no ânodo quanto no cátodo, verifica-se a seleção e enriquecimento dos microrganismos característicos a cada processo.

Figura 26 – Abundância relativa dos microrganismos desenvolvidos no ânodo e cátodo das MFCs ao nível de gênero.



Fonte: Elaborado pela autora.

Ao nível de reino, bactérias e archaeas foram os microrganismos predominantes nos ânodos. A archaea metanogênica *Methanosaeta concilii* foi o microrganismo predominante no ânodo de todas MFCs (CTL: 73,49%; CIP: 47,67%; LEV: 37,63%; NOR: 62,04%) e é frequentemente detectada no ânodo de MFCs (SOTRES et al., 2014; URIA; FERRERA; MAS,

2017; LI et al., 2019). Se comparada à sua abundância relativa (AR) no inóculo anódico (2,54%), percebe-se as MFCs proporcionaram o enriquecimento deste microrganismo em detrimento às demais archaeas metanogênicas. As archaeas da família Methanosarcinaceae, por exemplo, eram predominantes no inóculo (34,46%) e foram reduzidas para AR inferiores a 0,5% em todas MFCs.

A *M. concilii* está associada à geração de metano a partir do acetato em ambientes anaeróbios e, a princípio, competiria com os microrganismos eletroativos pelo substrato, reduzindo a geração de eletricidade na MFC. Além disso, *Methanosaeta* spp. podem interagir com microrganismos eletroativos e fermentativos através de mecanismos de transferência direta de elétrons entre espécies, para receber os elétrons gerados por estes microrganismos na geração de metano a partir do CO<sub>2</sub> (BARUA; DHAR, 2017). No entanto, Uria, Ferrera e Mas (2017) observaram que a existência de *Methanosaeta* spp. no ânodo de uma MFC não implicou na produção de metano pelo reator e que estas archaeas estariam executando metabolismo similar à oxidação do acetato sintrófico, no qual o consumo de hidrogênio impede que *Methanosaeta* spp. produza metano. Tais evidências sugerem que estas archaeas podem se utilizar de diversos metabolismos, porém não dispúnhamos de ferramentas para assegurar qual destes metabolismos estavam ocorrendo durante a operação das MFCs.

Dentre as bactérias, os filos predominantes nos ânodos foram Proteobacteria (CTL: 9,82%; CIP: 36,1%; LEV: 51,35%; NOR: 22,89%) e Actinobacteria (CTL: 6,02%; CIP: 10,9%; LEV: 7,31%; NOR: 7,3%). Além deles, Bacteroidetes e Firmicutes também foram identificados. Em todos estes filos já foram identificadas bactérias que possuem algum dos mecanismos de transferência extracelular de elétrons (KOCH; HARNISCH, 2016). Dentre eles, foram identificados nas MFCs em estudo (AR<5%) *Comamonas* spp., *Devosia* spp., *Geobacter* spp., *Paracoccus* spp. e *Rhodopseudomonas* spp.

A análise conjunta dos resultados de sequenciamento genético e geração de eletricidade sugerem que as *M. concilii* podem estar envolvidas com a geração de eletricidade nas MFCs em estudo. As MFCs com maior AR de *M. concilii*, (CTL: 73,49% e NOR: 62,04%) também registraram a maior geração de eletricidade, enquanto a menor AR de *M. concilii* foi observada na MFC-LEV (37,63%), que teve a pior performance eletroquímica. Além disso, dentre as 4 MFCs em estudo, a MFC-NOR apresentou a maior diversidade e abundância de bactérias eletroativas, como *Comamonas* spp., *Devosia* spp., *Geobacter* spp., *Paracoccus* spp., *Rhodopseudomonas*, totalizando 8,56%. Assim, também seria possível que essas bactérias atuem em simbiose com a *M. concilii*, aumentando a geração de eletricidade na MFC-NOR em relação às demais. Esta hipótese também foi levantada em outros estudos (SOTRES et al., 2014;

URIA; FERRERA; MAS, 2017; LI et al., 2019), porém ainda se conhece pouco sobre a contribuição de archaeas para a geração de eletricidade em MFCs.

No nível de classe, as Alphaproteobacteria (CTL: 6,33%; CIP: 33,24%; LEV: 48,91%; NOR: 17,16%) foram as dominantes no ânodo, com destaque para a *Sphingopyxis terrae*, que foi identificada majoritariamente nas MFCs expostas a antibióticos, com AR de 14,48% na MFC-CIP, 27,27% na MFC-LEV e 3,88% na MFC-NOR. Bactérias deste gênero possuem grande diversidade metabólica e usam de estratégias adaptativas para sobreviver na presença de xenobióticos, como hidrocarbonetos, hepatotoxinas e antibióticos (SHARMA et al., 2021). Devido a estas características, as *Sphingopyxis* spp. já foram associadas à degradação de diferentes antibióticos em sistemas biológicos, como oxitetraciclina em MFC (CHEN et al., 2018), cloranfenicol em digestão anaeróbica (GUO et al., 2019) e sulfadiazina na desnitrificação (ZHENG et al., 2020). Assim, é possível que a elevada AR das *Sphingopyxis* spp. esteja relacionada à degradação das fluoroquinolonas nas MFCs. Isto também indica que, apesar da exposição à ciprofloxacina e levofloxacina reduzir a performance das MFCs, sua operação a longo prazo favorece o crescimento de microrganismos com potencial para biodegradação destes compostos. Por outro lado, estas bactérias também podem ser potenciais hospedeiros para genes de resistência antimicrobiana (ARG) (TONG et al., 2019), portanto são necessárias análises complementares para verificar a degradação das fluoroquinolonas e a proliferação de ARGs nas MFCs em estudo.

Também foi identificado o enriquecimento de outras bactérias no biofilme anódico que podem estar associadas à degradação de antibióticos e/ou à proliferação de ARGs nas MFCs expostas às FQs como: *Bosea* spp., *Mesorhizobium* spp. e *Arthrobacter* spp. (TONG et al., 2019; ZHANG, 2018; MARTI et al., 2014). Outras bactérias identificadas nas MFCs como as *Achromobacter* spp., *Pseudoxanthomonas* spp. e *Leucobacter* spp., já foram associadas à degradação de antibióticos e compostos halogenados recalcitrantes (LIAO et al., 2016; ALEXANDRINO et al., 2017), porém a baixa AR destes microrganismos após a exposição às FQs dificulta a associação deles à degradação dos fármacos neste estudo.

A análise de sequenciamento genético também identificou a existência de *Nitrosomonas europaea* (< 1%) e *Candidatus Nitrospira defluvii* (<0,5%) nas amostras dos ânodos. Estes microrganismos são responsáveis pela nitrificação em diversos ambientes, e a sua ocorrência no ânodo corrobora os resultados das cinéticas discutidos anteriormente, pois justifica o consumo de amônia e produção de nitrato ainda no ânodo e reforça a passagem de oxigênio para este compartimento da MFC, uma vez que são microrganismos aeróbios.

Os cátodos das MFCs foram colonizados principalmente por bactérias (AR>98%), dentre as quais foram predominantes os filos Proteobacteria, Nitrospirae e Actinobactéria. Já no nível classe, Betaproteobacteria, Nitrospira e Actinobacteria representaram juntas 80% da AR dos cátodos.

Candidatus *Nitrospira defluvii* (CTL: 66,4%; CIP: 38,15%; LEV: 20,69%; NOR: 61,85%) e *Nitrosomonas europaea* (CTL: 11,01%; CIP: 31,29%; LEV: 18,25%; NOR: 17,5%) foram as bactérias dominantes no cátodo. Tais microrganismos são os principais responsáveis pela nitrificação, sendo a *N. europaea* responsável pela oxidação da amônia até nitrito enquanto a *N. defluvii* pela oxidação do nitrito a nitrato. Além delas, também foram identificadas *Nitrobacter winogradskyi* e *Nitrosomonas eutropha*, porém ambas com AR < 0,5%. Portanto, a elevada abundância das bactérias nitrificantes no cátodo corrobora os resultados de monitoramento de remoção de poluentes (item 4.3), demonstrando que a nitrificação foi bem estabelecida nos cátodos e que, considerando as condições operacionais estudadas, os antibióticos não causaram modificações expressivas neste bioprocessamento a nível microbiológico.

Ao contrário do observado para bactérias nitrificantes, foi identificada uma maior diversidade de bactérias desnitrificantes nos cátodos, porém com menor AR. No entanto, esta observação justifica a baixa eficiência da desnitrificação discutida anteriormente. Destaca-se também a presença de microrganismos desnitrificantes aeróbios (*Aquamicrobium* spp., *Hydrogenophaga* spp. e *Thauera* spp.) em detrimento a microrganismos desnitrificantes anaeróbios como as *Pseudomonas* spp., *Achromobacter* spp. e *Paracoccus* spp., que tiveram sua AR reduzida em relação ao inóculo catódico. Isto reforça a hipótese levantada no item 4.3 a respeito do período sem aeração no cátodo não ser suficiente para estabelecer um ambiente anóxico para realização da desnitrificação.

Dentre as bactérias desnitrificantes aeróbias, as *Thauera* spp. foram as mais abundantes (AR > 5%) em todos os cátodos e a *Thauera phenylacetica* a principal representante deste gênero. Esta é uma bactéria aeróbia facultativa capaz de metabolizar uma grande variedade de compostos aromáticos utilizando oxigênio, nitrito e nitrato como aceptores finais de elétrons (MECHICHI et al., 2002). *Thauera* spp. são frequentemente encontradas em MFCs e associadas à desnitrificação eletrotrófica, na qual os elétrons para redução do nitrato são obtidos através da matéria orgânica oxidada no ânodo (HUANG et al., 2019; LIANG et al., 2019; ZHANG et al. 2020).

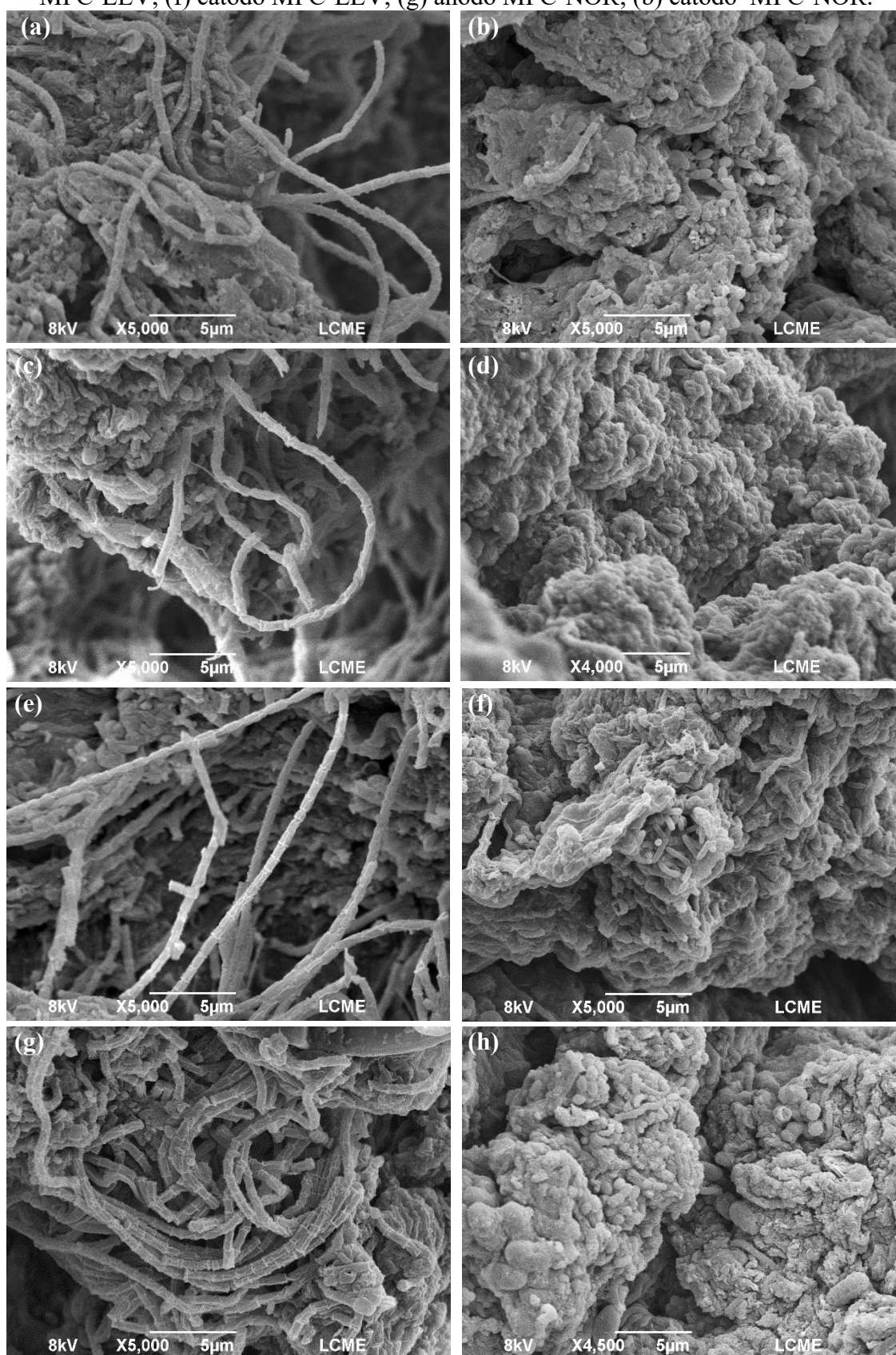
#### 4.5.2 Morfologia dos biofilmes microbianos

As micrografias obtidas por microscopia eletrônica por varredura (MEV) mostram as diferenças morfológicas entre os microrganismos desenvolvidos no ânodo e no cátodo das MFCs (Figura 27).

No ânodo de todas as MFCs (Figura 27a, c, e, g) foi constada a predominância de estruturas que remetem à archaea metanogênica *M. concilii*, o que está de acordo com resultados de sequenciamento genético discutido anteriormente. As células da *M. concilii* são bastonetes com extremidades planas envolvidas por uma bainha proteica e com dimensões de 0,8 µm de largura por 2,5 a 6,0 µm de comprimento. As colônias de *M. concilii* se desenvolvem na forma de longos filamentos (estreptobacilos) que se agregam em feixes com tampões separadores entre as células (PATEL; SPOTT, 1990). Além dela, também foram identificados microrganismos no formato de cocos, vibrios e bacilos com variados tamanhos. No entanto, as micrografias obtidas não permitiram identificar alterações entre os biofilmes das MFCs causadas pelas fluoroquinolonas.

A identificação morfológica dos microrganismos dominantes no cátodo foi dificultada pela presença de um espesso biofilme exopolimérico que recobria as bactérias. Este biofilme pôde ser verificado ainda durante a operação das MFCs e possuía um aspecto gelatinoso e coloração alaranjada. De modo geral, os biofilmes exopoliméricos são formados por polissacarídeos, proteínas, ácidos húmicos e outras substâncias que são naturalmente excretadas pelos microrganismos para facilitar a interação entre eles e a obtenção de nutrientes do ambiente (LASPIDOU; RITTMANN, 2002). A concentração e composição deste biofilme exopolimérico irá depender de diversos fatores relativos aos microrganismos que compõe o biofilme e ao ambiente em que está inserido. Ele pode, inclusive, ser produzido como um mecanismo de defesa contra compostos tóxicos (ZHANG et al., 2018). Nas MFCs, no entanto, o papel do biofilme exopolimérico ainda não está claro. Zhang et al. (2011) associou o aumento da concentração do biofilme exopolimérico ao aumento da resistência interna da MFC, enquanto Rago et al. (2017) observou que o aumento do biofilme exopolimérico aumentou a produção de eletricidade pois estes facilitariam a conexão entre os elementos condutivos das bactérias aos eletrodos e, assim, melhoraria a transferência de elétrons. No presente estudo, diversos fatores podem ter influenciado a formação deste biofilme exopolimérico, desde a passagem de corrente até a exposição aos antibióticos. No entanto, são necessárias análises quantitativas para caracterizar o biofilme e entender o seu papel neste estudo.

Figura 27 – Micrografias dos biofilmes microbianos desenvolvidos nas MFCs. (a) ânodo MFC-CTL; (b) cátodo MFC-CTL; (c) ânodo MFC-CIP; (d) cátodo MFC-CIP; (e) ânodo MFC-LEV; (f) cátodo MFC-LEV; (g) ânodo MFC-NOR; (h) cátodo MFC-NOR.



Fonte: Elaborado pela autora

Apesar do recobrimento causado pelo biofilme, é possível visualizar nas micrografias do biofilme catódico (Figura 27b, d, f, h) morfologias que remetem a algumas bactérias nitrificantes como bacilos curtos levemente curvos (*N. europaea*) e vibrios (*N. defluvii*). Além delas, também foi possível observar cocos e bacilos.

## 5 CONCLUSÃO

Este trabalho demonstrou a resiliência dos sistemas de remoção de matéria orgânica e compostos nitrogenados em MFCs de câmara dupla, com cátodo e ânodo biológicos, quando expostos a um efluente sintético contaminado com fluoroquinolonas (ciprofloxacina, levofloxacina e norfloxacina). Na ausência dos antibióticos, tal sistema alcançou remoção de matéria orgânica e de amônia superior a 90%, máxima produção de potência de  $298,08 \pm 14,01 \text{ mW} \cdot \text{m}^{-3}$  e resistência interna de  $89,41 \Omega$ , tendo o cátodo como etapa limitante da geração de eletricidade. A baixa resistência interna, em especial, demonstra que os fatores considerados durante o projeto e operação das MFCs, como dimensionamento, eletrodos (materiais, distância entre eletrodos e tamanho) e os processos biológicos, foram bem-sucedidos.

Dentre os antibióticos, a levofloxacina foi a mais tóxica sobre os microrganismos nitrificantes e eletroativos. A exposição à levofloxacina causou uma inibição temporária na geração de eletricidade em todas as concentrações investigadas neste estudo e resultou no pior desempenho eletroquímico dentre as MFCs. A inibição da nitrificação ocorreu a partir de  $500 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , porém a redução da resistência externa minimizou estes efeitos do antibiótico e recuperou parcialmente a nitrificação. Ao contrário da levofloxacina, a norfloxacina melhorou a remoção dos poluentes (com exceção do nitrato) e resultou numa produção de eletricidade mais estável, porém com máxima produção de potência inferior ao controle.

A análise da composição da comunidade microbiana por sequenciamento genético demonstrou que houve a seleção e enriquecimento de alguns grupos durante a operação das MFCs em relação aos inóculos. No longo prazo, a exposição às fluoroquinolonas nas condições de realização do experimento não alterou os principais grupos responsáveis pela remoção dos poluentes convencionais (*M. concilii* no ânodo e *N. europaea* e *N. defluvii* no cátodo), apesar de reduzir a abundância relativa destes microrganismos. Porém nos ânodos das MFC-CIP e MFC-LEV houve o enriquecimento de bactérias que podem estar relacionadas à proliferação de genes de resistência e/ou a remoção destes antibióticos pela MFC.

Por fim, a integração de diferentes bioprocessos na MFC, a saber oxidação anaeróbia, nitrificação e desnitrificação, aumentou a diversidade de microrganismos e reduziu os efeitos tóxicos das fluoroquinolonas em relação aos processos isolados relatados na literatura. Assim, a aplicação desta MFC para o tratamento de efluentes é interessante pois ela atenua os efeitos tóxicos das fluoroquinolonas sobre a eficiência do processo e ainda detecta a ocorrência de alguns destes compostos no curto prazo através da variação da tensão do sistema.



## 6 SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram a resiliência dos sistemas de remoção de matéria orgânica e compostos nitrogenados em MFCs de câmara dupla, com cátodo e ânodo biológicos, quando expostos a efluentes contaminados com fluoroquinolonas. Entretanto, ainda é possível avançar no conhecimento a respeito dos fenômenos relacionados ao tratamento de efluentes contaminados com fluoroquinolonas com MFCs e, para isto, sugere-se:

- Investigar os produtos de degradação das fluoroquinolonas na configuração de MFC proposta neste estudo, a fim de identificar as rotas metabólicas, os microrganismos/enzimas envolvidas na degradação e os metabólitos finais;
- Investigar a toxicidade do efluente antes e após o tratamento pelas MFCs;
- Investigar a proliferação de genes de resistência antimicrobiana nas MFCs;
- Otimizar as condições operacionais das MFCs a fim de aumentar a eficiência de remoção de NT;
- Otimizar as condições operacionais das MFCs a fim de reduzir as resistências internas do sistema e aumentar a geração de eletricidade das MFCs;
- Compreender o papel da archaea metanogênica *Methanosaeta concilii* na geração de eletricidade das MFCs;
- Caracterizar o biofilme exopolimérico produzido no cátodo da MFC e compreender seu papel na geração de eletricidade das MFCs.

## 7 PUBLICAÇÕES E DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA

LANGBEHN, Rayane Kunert; MICHELS, Camila; SOARES, Hugo Moreira. Antibiotics in wastewater: from its occurrence to the biological removal by environmentally conscious technologies. *Environmental Pollution*, v. 275, p. 1-16, abr. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116603>

LANGBEHN, Rayane Kunert. “Biocélulas combustíveis: a energia que vem do esgoto”. Palestra ministrada durante o XI Ciclo de seminários em Química do IFSC. 2022.

## REFERÊNCIAS

AIYER, Kartik S. How does electron transfer occur in microbial fuel cells? **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 36, n. 2, p. 19, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11274-020-2801-z>. Acesso em: 12 jun. 2021.

ALEXANDRINO, Diogo A. M.; MUCHA, Ana P.; ALMEIDA, C. Marisa R.; GAO, Wei; JIA, Zhongjun; CARVALHO, Maria F. Biodegradation of the veterinary antibiotics enrofloxacin and ceftiofur and associated microbial community dynamics. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 581–582, p. 359–368, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969716328315>. Acesso em: 28 jan. 2019.

AMINOV, Rustam I. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 1–7, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2010.00134>. Acesso em: 9 nov. 2018.7

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed., Washington, D.C.: American Public Health Association, 2005.

ANVISA. **Antimicrobianos: Bases teóricas e uso clínico**. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede\\_rm/cursos/rm\\_controle/opas\\_web/modulo1/antimicrobianos.htm#](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo1/antimicrobianos.htm#). Acesso em: 2 dez. 2017.

ASHFAQ, Muhammad et al. Occurrence, fate, and mass balance of different classes of pharmaceuticals and personal care products in an anaerobic-anoxic-oxic wastewater treatment plant in Xiamen, China. **Water Research**, [S. l.], v. 123, p. 655–667, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135417305870>. Acesso em: 23 nov. 2020.

AWFA, Dion; ATEIA, Mohamed; FUJII, Manabu; JOHNSON, Matthew S.; YOSHIMURA, Chihiro. Photodegradation of pharmaceuticals and personal care products in water treatment using carbonaceous-TiO<sub>2</sub> composites: A critical review of recent literature. **Water Research**, [S. l.], v. 142, p. 26–45, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.036>. Acesso em: 25 maio. 2020.

AYDIN, Ekrem; ŞAHİN, Mehmet; TAŞKAN, Ergin; HASAR, Halil; ERDEM, Mehmet. Chlortetracycline removal by using hydrogen based membrane biofilm reactor. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 320, p. 88–95, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030438941630735X>. Acesso em: 13 nov. 2018.

BABAUTA, Jerome; RENSLOW, Ryan; LEWANDOWSKI, Zbigniew; BEYENAL, Haluk. Electrochemically active biofilms: facts and fiction. A review. **Biofouling**, [S. l.], v. 28, n. 8, p. 789–812, 2012. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08927014.2012.710324>. Acesso em: 12 ago. 2021.

BAGCHI, Somdipta; BEHERA, Manaswini. Evaluating the Effect of the Antibiotic Ampicillin on Performance of a Low-Cost Microbial Fuel Cell. **Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste**, [S. l.], v. 24, n. 3, p. 1–6, 2020.

BAIETTO, Lorena; CORCIONE, Silvia; PACINI, Giovanni; PERRI, Giovanni; D'AVOLIO, Antonio; DE ROSA, Francesco. A 30-years Review on Pharmacokinetics of Antibiotics: Is the Right Time for Pharmacogenetics? **Current Drug Metabolism**, [S. l.], v. 15, n. 6, p. 581–598, 2014. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/article/60845>. Acesso em: 8 mar. 2021.

BARUA, Sajib; DHAR, Bipro Ranjan. Advances towards understanding and engineering direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 244, p. 698–707, 2017.

BAUDLER, André; SCHMIDT, Igor; LANGNER, Markus; GREINER, Andreas; SCHRÖDER, Uwe. Does it have to be carbon? Metal anodes in microbial fuel cells and related bioelectrochemical systems. **Energy & Environmental Science**, [S. l.], v. 8, n. 7, p. 2048–2055, 2015. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/EE/C5EE00866B>. Acesso em: 12 mar. 2019.

BECKER, Raquel W.; IBÁÑEZ, Maria; LUMBAQUE, Elisabeth C.; WILDE, Marcelo L.; FLORES DA ROSA, Tainá; HERNÁNDEZ, Félix; SIRTORI, Carla. Investigation of pharmaceuticals and their metabolites in Brazilian hospital wastewater by LC-QTOF MS screening combined with a preliminary exposure and in silico risk assessment. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 699, p. 134218, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969719341956>. Acesso em: 1 jun. 2020.

BERNET, N.; SPÉRANDIO, M. Principles of nitrifying processes. In: **Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution: Principle and Engineering**. IWA Publishing. London, UK, 2009.

BERNHARD, A.. **The Nitrogen Cycle: Processes, Players, and Human Impact**. 2010. Disponível em: <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/the-nitrogen-cycle-processes-players-and-human-15644632>. Acesso em: 05 ago. 2017.

BRESSAN, Cleo R. **Toxicidade do antibiótico sulfato de colistina empregado na suinocultura sobre processos microbiológicos relacionado ao tratamento de efluentes**. 2012. Tese (Doutorado). Curso de Engenharia Química. Departamento de Engenharia Química e de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2012.

CARNEIRO, Rodrigo B.; GONZALEZ-GIL, Lorena; LONDOÑO, Yudy Andrea; ZAIAT, Marcelo; CARBALLA, Marta; LEMA, Juan M. Acidogenesis is a key step in the anaerobic biotransformation of organic micropollutants. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 389, p. 121888, 2020.

CATAL, Tunc; YAVASER, Sehnaz; ENISOGLU-ATALAY, Vildan; BERMEK, Hakan; OZILHAN, Selma. Monitoring of neomycin sulfate antibiotic in microbial fuel cells.

**Bioresource Technology**, [S. l.], v. 268, p. 116–120, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852418310538>. Acesso em: 13 nov. 2018.

CATALDO, D. A.; MAROON, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid <sup>1</sup>. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 71–80, 1975. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00103627509366547>. Acesso em: 21 out. 2017.

CECCONET, D.; MOLOGNONI, D.; CALLEGARI, A.; CAPODAGLIO, A. G. Biological combination processes for efficient removal of pharmaceutically active compounds from wastewater: A review and future perspectives. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [S. l.], v. 5, n. 4, p. 3590–3603, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S221334371730324X>. Acesso em: 10 set. 2018.

ČELIĆ, Mira; GROS, Meritxell; FARRÉ, Marinella; BARCELÓ, Damia; PETROVIĆ, Mira. Pharmaceuticals as chemical markers of wastewater contamination in the vulnerable area of the Ebro Delta (Spain). **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 652, p. 952–963, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004896971834186X?via%3Dihub#t0005>. Acesso em: 7 nov. 2018.

CHANG, Chao Chin; LI, Shiue Lin; HU, Anyi; YU, Chang Ping. Long-term operation of biocatalyzed cathodes within continuous flow membrane-less microbial fuel cells. **Chemosphere**, [S. l.], v. 266, p. 129059, 2021. ISSN: 0045-6535. DOI: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.129059.

CHANTZIARAS, Ilias; BOYEN, Filip; CALLENS, Bénédicte; DEWULF, Jeroen. Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: A report on seven countries. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [S. l.], v. 69, n. 3, p. 827–834, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jac/dkt443>. Acesso em: 22 jun. 2020.

CHATTOPADHYAY, Madhab K. Use of antibiotics as feed additives: A burning question. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 5, n. 7, p. 1–3, 2014.

CHEN, Junfeng; HU, Yongyou; HUANG, Wantang; LIU, Yanyan; TANG, Meizhen; ZHANG, Lihua; SUN, Jian. Biodegradation of oxytetracycline and electricity generation in microbial fuel cell with in situ dual graphene modified bioelectrode. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 270, n. 8, p. 482–488, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.060>. Acesso em: 10 set. 2018.

CHEN, Qinglin; AN, Xinli; LI, Hu; SU, Jianqiang; MA, Yibing; ZHU, Yong-Guan. Long-term field application of sewage sludge increases the abundance of antibiotic resistance genes in soil. **Environment International**, [S. l.], v. 92–93, p. 1–10, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412016301064?via%3Dihub>. Acesso em: 11 nov. 2018.

CHENG, Dongle; NGO, Huu Hao; GUO, Wenshan; LIU, Yiwen; CHANG, Soon Woong; NGUYEN, Dinh Duc; NGHIEM, Long Duc; ZHOU, Junliang; NI, Bingjie. Anaerobic membrane bioreactors for antibiotic wastewater treatment: Performance and membrane fouling issues. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 267, p. 714-724, nov. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.133>. Acesso em 13 nov. 2019.

CHRISTOFF, Ana P.; SEREIA, Aline F. R.; BOBERG, Dellyana R.; MORAES, Rômulo L. V.; OLIVEIRA, Luiz F. V.. **Bacterial identification through accurate library preparation and high-throughput sequencing**. Neoprospecta Microbiome Technologies (Ed.), Florianópolis, 2017. Disponível em: <https://neoprospecta.com/>. Acesso em: 15 jun. 2021.

CUI, Hao; WANG, Shu-Ping; FU, Jin; ZHOU, Zhi-Qiang; ZHANG, Na; GUO, Li. Influence of ciprofloxacin on microbial community structure and function in soils. **Biology and Fertility of Soils**, [S. l.], v. 50, n. 6, p. 939–947, 2014. ISSN: 01782762. ISBN: 0178-2762. DOI: 10.1007/s00374-014-0914-y.

CZYRSKI, Andrzej. Analytical Methods for Determining Third and Fourth Generation Fluoroquinolones: A Review. **Chromatographia**, [S. l.], v. 80, n. 2, p. 181–200, 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10337-016-3224-8>. Acesso em: 11 mar. 2020.

DE LA CRUZ, N.; GIMÉNEZ, J.; ESPLUGAS, S.; GRANDJEAN, D.; DE ALENCASTRO, L. F.; PULGARÍN, C. Degradation of 32 emergent contaminants by UV and neutral photo-fenton in domestic wastewater effluent previously treated by activated sludge. **Water Research**, [S. l.], v. 46, n. 6, p. 1947–1957, 2012.

DINH, Quoc T.; MOREAU-GUIGON, Elodie; LABADIE, Pierre; ALLIOT, Fabrice; TEIL, Marie-Jeanne; BLANCHARD, Martine; CHEVREUIL, Marc. Occurrence of antibiotics in rural catchments. **Chemosphere**, [S. l.], v. 168, p. 483–490, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653516314977?via%3Dihub#tbl1>. Acesso em: 7 nov. 2018.

DOPSON, Mark; NI, Gaofeng; SLEUTELS, Tom H. J. A. Possibilities for extremophilic microorganisms in microbial electrochemical systems. **FEMS Microbiology Reviews**, [S. l.], v. 40, n. 2, p. 164–181, 2016. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsre/article/40/2/164/2570110>. Acesso em: 9 fev. 2022.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. **Antimicrobial consumption in the EU/EEA - Annual Epidemiological Report 2019**. Stockholm.

FENG, Lu; CASAS, Mònica E.; OTTOSEN, Lars D. M.; MØLLER, Henrik Bjarne; BESTER, Kai. Removal of antibiotics during the anaerobic digestion of pig manure. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 603–604, p. 219–225, 2017.

FERRETTI, Estela. C. **Remoção de nitrogênio via nitrito de efluentes com elevadas concentrações de nitrogênio e baixas relações DQO/N em reator operado na forma de bateladas sequenciais (SBR)**. Tese (Doutorado). Curso de Engenharia Química. Departamento de Engenharia Química e de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2009.

FREGUIA, Stefano; TSUJIMURA, Seiya; KANO, Kenji. Electron transfer pathways in microbial oxygen biocathodes. **Electrochimica Acta**, [S.l.], v. 55, n. 3, p. 813-818, jan. 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2009.09.027>. Acesso em 12 jun. 2021.

GAFFNEY, Vanessa de J.; CARDOSO, Vitor V.; CARDOSO, Eugénia; TEIXEIRA, Ana P.; MARTINS, José; BENOLIEL, Maria J.; ALMEIDA, Cristina M. M.. Occurrence and behaviour of pharmaceutical compounds in a Portuguese wastewater treatment plant: Removal efficiency through conventional treatment processes. **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 24, n. 17, p. 14717–14734, 2017. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s11356-017-9012-7>. Acesso em: 7 nov. 2018.

GALLARDO-ALTAMIRANO, M. J.; MAZA-MÁRQUEZ, P.; MONTEMURRO, N.; RODELAS, B.; OSORIO, F.; POZO, C. Linking microbial diversity and population dynamics to the removal efficiency of pharmaceutically active compounds (PhACs) in an anaerobic/anoxic/aerobic (A2O) system. **Chemosphere**, [S. l.], v. 233, p. 828–842, 2019. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.06.017.

GARCÍA-GALÁN, María Jesús; GONZÁLEZ BLANCO, Susana; LÓPEZ ROLDÁN, Ramón; DÍAZ-CRUZ, Silvia; BARCELÓ, Damiá. Ecotoxicity evaluation and removal of sulfonamides and their acetylated metabolites during conventional wastewater treatment. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 437, p. 403–412, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.08.038>. Acesso em: 23 jun. 2020.

GHATTAS, Ann-Kathrin; FISCHER, Ferdinand; WICK, Arne; TERNES, Thomas A.. Anaerobic biodegradation of (emerging) organic contaminants in the aquatic environment. **Water Research**, [S.L.], v. 116, p. 268-295, jun. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2017.02.001>. Acesso em: 23 jun. 2020.

GONZALEZ-GIL, Lorena; CARBALLA, Marta; LEMA, Juan M. Cometabolic Enzymatic Transformation of Organic Micropollutants under Methanogenic Conditions. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], v. 51, n. 5, p. 2963–2971, 2017. Disponível em: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>. Acesso em: 6 jul. 2020.

GONZALEZ-GIL, Lorena; MAURICIO-IGLESIAS, Miguel; CARBALLA, Marta; LEMA, Juan M. Why are organic micropollutants not fully biotransformed? A mechanistic modelling approach to anaerobic systems. **Water Research**, [S. l.], v. 142, p. 115–128, 2018.

GONZALEZ-MARTINEZ, A.; RODRIGUEZ-SANCHEZ, A.; MARTINEZ-TOLEDO, M. V.; GARCIA-RUIZ, M. J.; HONTORIA, E.; OSORIO-ROBLES, F.; GONZALEZ-LOPEZ, J. Effect of ciprofloxacin antibiotic on the partial-nitrification process and bacterial community structure of a submerged biofilter. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 476–477, p. 276–287, 2014. ISSN: 18791026. ISBN: 0048-9697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.01.012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.01.012>.

GRANDCLÉMENT, Camille; SEYSSIECQ, Isabelle; PIRAM, Anne; WONG-WAH-CHUNG, Pascal; VANOT, Guillaume; TILIACOS, Nicolas; ROCHE, Nicolas; DOUMENQ, Pierre. From the conventional biological wastewater treatment to hybrid processes , the evaluation of organic micropollutant removal : A review. **Water Research**, [S. l.], v. 111, p. 297–317, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.005>.

GREGORY, Kelvin B.; BOND, Daniel R.; LOVLEY, Derek R.. Graphite electrodes as electron donors for anaerobic respiration. **Environmental Microbiology**, [S. l.], v. 6, n. 6, p. 596-604, jun. 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00593.x>. Acesso em: 13 jun. 2021.

GU, Yanling; HUANG, Jinhui; ZENG, Guangming; SHI, Lixiu; SHI, Yahui; YI, Kaixin. Fate of pharmaceuticals during membrane bioreactor treatment: Status and perspectives. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 268, p. 733–748, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852418311234>. Acesso em: 13 nov. 2018.

GUDE, Veera Ganeswar. Wastewater treatment in microbial fuel cells – an overview. **Journal of Cleaner Production**, [S. l.], v. 122, p. 287–307, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959652616001670>. Acesso em: 8 jun. 2021.

GUO, Jianhua; LI, Jie; CHEN, Hui; BOND, Philip L.; YUAN, Zhiguo. Metagenomic analysis reveals wastewater treatment plants as hotspots of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements. **Water Research**, [S. l.], v. 123, p. 468–478, 2017 a.

GUO, Ning; WANG, Yunkun; TONG, Tiezheng; WANG, Shuguang. The fate of antibiotic resistance genes and their potential hosts during bio-electrochemical treatment of high-salinity pharmaceutical wastewater. **Water Research**, [S. l.], v. 133, p. 79–86, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135418300241?via%3Dihub>. Acesso em: 17 abr. 2019.

GUO, Ning; WANG, Yunkun; YAN, Lei; WANG, Xinhua; WANG, Mingyu; XU, Hai; WANG, Shuguang. Effect of bio-electrochemical system on the fate and proliferation of chloramphenicol resistance genes during the treatment of chloramphenicol wastewater. **Water Research**, [S. l.], v. 117, p. 95–101, 2017 b. ISSN: 18792448. DOI: 10.1016/j.watres.2017.03.058.

GUO, Xinyan; YAN, Zheng; ZHANG, Yi; KONG, Xiangji; KONG, Deyang; SHAN, Zhengjun; WANG, Na. Removal mechanisms for extremely high-level fluoroquinolone antibiotics in pharmaceutical wastewater treatment plants. **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 24, n. 9, p. 8769–8777, 2017 c. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-017-8587-3>. Acesso em: 23 nov. 2020.

HAAVISTO, Johanna; DESSÌ, Paolo; CHATTERJEE, Pritha; HONKANEN, Mari; NOORI, Md Tabish; KOKKO, Marika; LAKANIEMI, Aino-Maija; LENS, Piet N. L.; PUHAKKA, Jaakko A. Effects of anode materials on electricity production from xylose and treatability of TMP wastewater in an up-flow microbial fuel cell. **Chemical Engineering Journal**, [S. l.], v. 372, p. 141–150, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138589471930868X?via%3Dihub>. Acesso em: 11 jun. 2019.

HAN, Yuefei et al. Removal of veterinary antibiotics from swine wastewater using anaerobic and aerobic biodegradation. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 709, p. 136094, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.136094.



HAO, Liting et al. Effects of levofloxacin exposure on sequencing batch reactor (SBR) behavior and microbial community changes. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 672, p. 227–238, 2019. ISSN: 18791026. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.03.272.

HARB, Moustapha; WEI, Chun H.; WANG, Nan; AMY, Gary; HONG, Pei Y.. Organic micropollutants in aerobic and anaerobic membrane bioreactors: Changes in microbial communities and gene expression. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 218, p. 882–891, 2016. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.07.036.

HARNISCH, Falk; HOLTSMANN, Dirk. Electrification of Biotechnology: status quo. In: HARNISCH, Falk; HOLTSMANN, Dirk. **Bioelectrosynthesis**. Cham: Springer, 2019. p. 1-14. (Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology).

HARRABI, Malek; ALEXANDRINO, Diogo A. M.; ALOULOU, Fatma; ELLEUCH, Boubaker; LIU, Bei; JIA, Zhongjun; ALMEIDA, C. Marisa R.; MUCHA, Ana P.; CARVALHO, Maria F. Biodegradation of oxytetracycline and enrofloxacin by autochthonous microbial communities from estuarine sediments. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 648, p. 962–972, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718331498>. Acesso em: 29 jan. 2019.

HARRABI, Malek; VARELA DELLA GIUSTINA, Saulo; ALOULOU, Fatma; RODRIGUEZ-MOZAZ, Sara; BARCELÓ, Damià; ELLEUCH, Boubaker. Analysis of multiclass antibiotic residues in urban wastewater in Tunisia. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, [S. l.], v. 10, p. 163–170, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2215153217302775?via%3Dihub#tbl0005>. Acesso em: 7 nov. 2018.

HE, Ke; HAIN, Ethan; TIMM, Anne; TARNOWSKI, Mitchell; BLANEY, Lee. Occurrence of antibiotics, estrogenic hormones, and UV-filters in water, sediment, and oyster tissue from the Chesapeake Bay. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 650, p. 3101–3109, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718338944?via%3Dihub>. Acesso em: 7 nov. 2018.

HE, Zhen; MANSFELD, Florian. Exploring the use of electrochemical impedance spectroscopy (EIS) in microbial fuel cell studies. **Energy & Environmental Science**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 215–219, 2009. ISSN: 1754-5706. ISBN: 12/12/20229:5. DOI: 10.1039/B814914C. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2009/ee/b814914c>. Acesso em: 12 dez. 2022.

HERNÁNDEZ, F. et al. Occurrence of antibiotics and bacterial resistance in wastewater and sea water from the Antarctic. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 363, p. 447–456, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389418305442?via%3Dihub>. Acesso em: 7 nov. 2018.

HOU, Jie; CHEN, Zeyou; GAO, Ju; XIE, Yonglei; LI, Linyun; QIN, Songyan; WANG, Qing; MAO, Daqing; LUO, Yi. Simultaneous removal of antibiotics and antibiotic resistance genes from pharmaceutical wastewater using the combinations of up-flow anaerobic sludge bed, anoxic-oxic tank, and advanced oxidation technologies. **Water Research**, [S. l.], v. 159, p.

511–520, 2019. DOI: 10.1016/J.WATRES.2019.05.034.

HUANG, Haobin; CHENG, Shaoan; LI, Fujian; MAO, Zhengzhong; LIN, Zhufan; CEN, Kefa. Enhancement of the denitrification activity by exoelectrogens in single-chamber air cathode microbial fuel cells. **Chemosphere**, [S. l.], v. 225, p. 548–556, 2019. ISSN: 18791298. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.03.052.

HUANG, Shan; ZHANG, Jingran; PI, Jiachang; GONG, Liying; ZHU, Guangcan. Long-term electricity generation and denitrification performance of MFCs with different exchange membranes and electrode materials. **Bioelectrochemistry**, [S. l.], v. 140, p. 107748, 2021. ISSN: 1567-5394. DOI: 10.1016/J.BIOELECTCHEM.2021.107748.

HUTCHINGS, Matt; TRUMAN, Andrew; WILKINSON, Barrie. Antibiotics: past, present and future. **Current Opinion in Microbiology**, [S. l.], v. 51, p. 72–80, 2019. DOI: 10.1016/j.mib.2019.10.008.

JJEMBA, Patrick K. Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 63, n. 1, p. 113–130, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.11.011>. Acesso em: 03 abr. 2018.

K'OREJE, K. O.; VERGEYNST, L.; OMBAKA, D.; DE WISPELAERE, P.; OKOTH, M.; VAN LANGENHOVE, H.; DEMEESTERE, K. Occurrence patterns of pharmaceutical residues in wastewater, surface water and groundwater of Nairobi and Kisumu city, Kenya. **Chemosphere**, [S. l.], v. 149, p. 238–244, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653516301102?via%3Dihub#ec1>. Acesso em: 7 nov. 2018.

KATIPOGLU-YAZAN, Tugce; MERLIN, Christophe; PONS, Marie Noëlle; UBAY-COKGOR, Emine; ORHON, Derin. Chronic impact of tetracycline on nitrification kinetics and the activity of enriched nitrifying microbial culture. **Water Research**, [S. l.], v. 72, p. 227–238, 2015. ISSN: 18792448. DOI: 10.1016/j.watres.2014.12.041.

KELBERT, Maikon. **Antineoplastic drugs: Effect of doxorubicin on enriched archaea culture from anaerobic digestion and potential degradation via an enzymatic process**. 2021. [S.l.] f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2021.

KERZENMACHER, Sven. Engineering of microbial electrodes. *In: Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. [s.l.] : Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, 2019. v. 167p. 135–180. Disponível em: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/10\\_2017\\_16](https://link.springer.com/chapter/10.1007/10_2017_16). Acesso em: 6 dez. 2020.

KIM, Bongkyu; AN, Junyeong; CHANG, In Seop. Elimination of Power Overshoot at Bioanode through Assistance Current in Microbial Fuel Cells. **ChemSusChem**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. 612–617, 2017. ISSN: 1864564X. DOI: 10.1002/CSSC.201601412.

KIM, Sungpyo; EICHHORN, Peter; JENSEN, James N.; WEBER, A. Scott; AGA, Diana S. Removal of Antibiotics in Wastewater: Effect of Hydraulic and Solid Retention Times on the

Fate of Tetracycline in the Activated Sludge Process. **Environmental Science & Technology**, [S. l.], v. 39, n. 15, p. 5816–5823, 2005. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es050006u>. Acesso em: 12 nov. 2018.

KLEIN, Eili Y.; VAN BOECKEL, Thomas P.; MARTINEZ, Elena M.; PANT, Suraj; GANDRA, Sumanth; LEVIN, Simon A.; GOOSSENS, Herman; LAXMINARAYAN, Ramanan. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 115, n. 15, p. E3463–E3470, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1717295115>.

KING, DANA E.; MALONE, ROBB; LILLEY, SANDRA H. New Classification and Update on the Quinolone Antibiotics. **American Family Physician**, [S. l.], v. 61, n. 9, p. 2741–2748, 2000. Disponível em: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2000/0501/p2741.html>. Acesso em: 24 dez. 2022.

KOCH, Christin; HARNISCH, Falk. Is there a Specific Ecological Niche for Electroactive Microorganisms? **ChemElectroChem**, [S. l.], v. 3, n. 9, p. 1282–1295, 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/celec.201600079>. Acesso em: 30 nov. 2019.

KÜMMERER, Klaus. Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part I. **Chemosphere**, [S. l.], v. 75, n. 4, p. 417–434, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>. Acesso em:

LAI, Chih C.; SHIH, Tzu P.; KO, Wen C.; TANG, Hung J.; HSUEH, Po R.. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [S. l.], v. 55, n. 3, p. 105924, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924>. Acesso em: 15 fev. 2021.

LANGBEHN, Rayane K.. **Efeito inibitório da tetraciclina e oxitetraciclina em bactérias nitrificantes e nitrificantes**. 2018. 125 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

LANGBEHN, Rayane Kunert; MICHELS, Camila; SOARES, Hugo Moreira. Antibiotics in wastewater: From its occurrence to the biological removal by environmentally conscious technologies. **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 275, p. 116603, 2021. ISSN: 02697491. DOI: 10.1016/j.envpol.2021.116603.

LASPIDOU, Chrysi S.; RITTMANN, Bruce E. A unified theory for extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass. **Water Research**, [S. l.], v. 36, n. 11, p. 2711–2720, 2002. ISSN: 0043-1354. DOI: 10.1016/S0043-1354(01)00413-4. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135401004134>. Acesso em: 12 jul. 2019.

LEÓN-AGUIRRE, Karina; HERNÁNDEZ-NÚÑEZ, Emanuel; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, Avel; MÉNDEZ-NOVELO, Roger; PONCE-CABALLERO, Carmen; GIÁCOMAN-VALLEJOS, Germán. A Rapid and Green Method for the Determination of Veterinary

Pharmaceuticals in Swine Wastewater by Fluorescence Spectrophotometry. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, [S. l.], v. 103, n. 4, p. 610–616, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02701-2>. Acesso em: 7 jun. 2020.

LI, Hua; XU, Han; YANG, Yu Li; YANG, Xiao Li; WU, You; ZHANG, Shuai; SONG, Hai Liang. Effects of graphite and Mn ore media on electro-active bacteria enrichment and fate of antibiotic and corresponding resistance gene in up flow microbial fuel cell constructed wetland. **Water Research**, [S. l.], v. 165, 2019. ISSN: 18792448. DOI: 10.1016/j.watres.2019.114988.

LIANG, Dandan; HE, Weihua; LI, Chao; YU, Yanling; ZHANG, Zhaohan; REN, Nanqi; FENG, Yujie. Bidirectional electron transfer biofilm assisted complete bioelectrochemical denitrification process. **Chemical Engineering Journal**, [S. l.], v. 375, p. 121960, 2019. ISSN: 1385-8947. DOI: 10.1016/J.CEJ.2019.121960.

LIAO, Xiaobin; LI, Bingxin; ZOU, Rusen; DAI, Yu; XIE, Shuguang; YUAN, Baoling. Biodegradation of antibiotic ciprofloxacin: pathways, influential factors, and bacterial community structure. **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 23, n. 8, p. 7911–7918, 2016. ISSN: 0944-1344. DOI: 10.1007/s11356-016-6054-1. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s11356-016-6054-1>. Acesso em: 28 jan. 2019.

LOGAN, Bruce E. **Microbial fuel cells**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2008. ISBN: 978-0-470-23948-3.

LOGAN, Bruce E. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. **Nature Reviews Microbiology**, [S. l.], v. 7, n. 5, p. 375–381, 2009. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nrmicro2113>. Acesso em: 14 nov. 2019.

LOGAN, Bruce E.; HAMELERS, Bert; ROZENDAL, René; SCHRÖDER, Uwe; KELLER, Jürg; FREGUIA, Stefano; AELTERMAN, Peter; VERSTRAETE, Willy; RABAEY, Korneel. Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology. **Environmental Science & Technology**, [S. l.], v. 40, n. 17, p. 5181–5192, 2006. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es0605016>. Acesso em: 14 nov. 2019.

LOVLEY, Derek R.; PHILLIPS, Elizabeth J. P. Novel Mode of Microbial Energy Metabolism: Organic Carbon Oxidation Coupled to Dissimilatory Reduction of Iron or Manganese. **Applied and Environmental Microbiology**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC202682/pdf/aem00111-0168.pdf>. Acesso em: 11 abr. 2019.

MA, Xiaofang; GUO, Ning; REN, Shaojie; WANG, Shuguang; WANG, Yunkun. Response of antibiotic resistance to the co-existence of chloramphenicol and copper during bio-electrochemical treatment of antibiotic-containing wastewater. **Environment International**, [S. l.], v. 126, p. 127–133, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412018328320?via%3Dihub>. Acesso em: 17 abr. 2019.

MAIA, Alexandra S.; RIBEIRO, Ana R.; AMORIM, Catarina L.; BARREIRO, Juliana C.; CASS, Quezia B.; CASTRO, Paula M. L.; TIRITAN, Maria Elizabeth. Degradation of fluoroquinolone antibiotics and identification of metabolites/transformation products by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1333, p. 87–98, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/>

article/pii/S0021967314001642. Acesso em: 30 jan. 2019.

MALVANKAR, Nikhil S.; MESTER, Tünde; TUOMINEN, Mark T.; LOVLEY, Derek R. Supercapacitors Based on c-Type Cytochromes Using Conductive Nanostructured Networks of Living Bacteria. **ChemPhysChem**, [S. l.], v. 13, n. 2, p. 463–468, 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cphc.201100865>. Acesso em: 11 dez. 2021.

MAKHITAR, Muaz M. Z.; DON, Mashitah M.; TAJARUDIN, Husnul A.. Microbial Fuel Cell (MFC) Development from Anaerobic Digestion System. In: HORAN, Nigel; YASER, Abu Zahrim; WID, Newati. **Anaerobic Digestion Processes**. Green Energy and Technology. Singapore: Springer, 2018. p. 9-31.

MANAIA, Célia M. et al. Antibiotic resistance in wastewater treatment plants: Tackling the black box. **Environment International**, [S. l.], v. 115, p. 312–324, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.03.044>. Acesso em: 2 dez. 2020.

MARGOT, Jonas; LOCHMATTER, Samuel; BARRY, D. A.; HOLLIGER, Christof. Role of ammonia-oxidizing bacteria in micropollutant removal from wastewater with aerobic granular sludge. **Water Science and Technology**, [S. l.], v. 73, n. 3, p. 564–575, 2016. DOI: 10.2166/wst.2015.514.

MARTI, Elisabet; GROS, Meritxell; BOY-ROURA, Mercè; OVEJERO, Jonatan; BUSQUETS, Anna M.; COLÓN, Joan; PETROVIC, Mira; PONSÁ, Sergio. Pharmaceuticals removal in an on-farm pig slurry treatment plant based on solid-liquid separation and nitrification-denitrification systems. **Waste Management**, [S. l.], v. 102, p. 412–419, 2020. DOI: 10.1016/j.wasman.2019.11.001.

MARTI, Elisabet; HUERTA, Belinda; RODRÍGUEZ-MOZAZ, Sara; BARCELÓ, Damià; JOFRE, Juan; BALCÁZAR, José Luis. Characterization of ciprofloxacin-resistant isolates from a wastewater treatment plant and its receiving river. **Water Research**, [S. l.], v. 61, p. 67–76, 2014. ISSN: 0043-1354. DOI: 10.1016/J.WATRES.2014.05.006.

METCALF, E.; EDDY, H. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**. 5. ed. Porto Alegre: AMGH, 2016.

MICHELON, William. **Microalgae biomass from swine wastewater phycoremediation: metabolic profile and its potential applications**. 2021. 156 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2021.

MICHELS, Camila. **Efeito Inibitório de Nanopartículas de Prata na Atividade de Bactérias Oxidadoras de Amônia**. Tese (Doutorado). - Curso de Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina. 2016.

MIR-TUTUSAUS, Josep A.; BACCAR, Rim; CAMINAL, Glòria; SARRÀ, Montserrat. Can white-rot fungi be a real wastewater treatment alternative for organic micropollutants removal? A review. **Water Research** Elsevier Ltd, 2018. ISSN: 18792448. DOI: 10.1016/j.watres.2018.02.056.

MIRZAEI, Roya; YUNESIAN, Masud; NASSERI, Simin; GHOLAMI, Mitra; JALILZADEH, Esfandiyar; SHOEIBI, Shahram; MESDAGHINIA, Alireza. Occurrence and fate of most prescribed antibiotics in different water environments of Tehran, Iran. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 619–620, p. 446–459, 2018. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969717319939>. Acesso em: 24 jun. 2020.

MOHAN, S. Venkata; SRAVAN, J. Shanthi; BUTTI, Sai Kishore; KRISHNA, Vamshi; MODESTRA, J. Annie; VELVIZHI, K. G.; KUMAR, A. Naresh; VARJANI, Sunita; PANDEY, Ashok. Microbial Electrochemical Technology: Emerging and Sustainable Platform. In: MOHAN, S. Venkata; VARJANI, Sunita; PANDEY, Ashok. **Microbial Electrochemical Technology: sustainable platform for fuels, chemicals and remediation**. [S.L]: Elsevier, 2019. p. 3-18. (Biomass, Biofuels and Biochemicals).

NAÇÕES UNIDAS. **Objetivos de Desenvolvimento Sustentável**. 2015. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em: 9 fev. 2022.

NATION, J. L. A new method using hexamethyldisilazane for preparation of soft tissues for scanning electron microscopy. **Stain Technology**, v. 58, p. 347-351, 1983.

NIKHIL, G. N.; MOHAN, S. Venkata. Bioelectrochemical Energy Transitions Persuade Systemic Performance. In: MOHAN, S. Venkata; VARJANI, Sunita; PANDEY, Ashok. **Microbial Electrochemical Technology: sustainable platform for fuels, chemicals and remediation**. [S.l.]: Elsevier, 2019. p. 437-449. (Biomass, Biofuels and Biochemicals).

NGUYEN, Thanh Tin et al. Effect of ciprofloxacin dosages on the performance of sponge membrane bioreactor treating hospital wastewater. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 273, p. 573–580, 2019. ISSN: 18732976. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.11.058.

OBEROI, Akashdeep S.; JIA, Yanyan; ZHANG, Huiqun; KHANAL, Samir K.; LU, Hui. Insights into the Fate and Removal of Antibiotics in Engineered Biological Treatment Systems: A Critical Review. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], v. 53, n. 13, p. 7234–7264, 2019. Disponível em: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>. Acesso em: 23 nov. 2020.

ONDON, Brim S.; LI, Shengnan; ZHOU, Qixing; LI, Fengxiang. Simultaneous removal and high tolerance of norfloxacin with electricity generation in microbial fuel cell and its antibiotic resistance genes quantification. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 304, p. 122984, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852420302534>. Acesso em: 19 maio. 2020.

PANT, Deepak; VAN BOGAERT, Gilbert; DIELS, Ludo; VANBROEKHOVEN, Karolien. 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. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852409013595?via%3Dihub>. Acesso em 11 nov. 2019.

PARK, Soohyung; LEE, Wontae. Removal of selected pharmaceuticals and personal care products in reclaimed water during simulated managed aquifer recharge. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 640–641, p. 671–677, 2018. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718318722?via%3Dihub#t0005>. Acesso em: 7 nov. 2018.

PARPOUNAS, Andreas; LITSKAS, Vassilis; HAPESHI, Evroula; MICHAEL, Costas; FATTA-KASSINOS, Despo. Assessing the presence of enrofloxacin and ciprofloxacin in piggery wastewater and their adsorption behaviour onto solid materials, with a newly developed chromatographic method. **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 24, n. 29, p. 23371–23381, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9849-9>. Acesso em: 11 jan. 2021.

PATEL, G. B.; SPOTT, G. D. *Methanosaeta concilii* gen. nov., sp. nov. ('Methanothrix concilii') and *Methanosaeta thermoacetophila* nom. rev., comb. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, [S. l.], v. 40, n. 1, p. 79–82, 1990. ISSN: 00207713. DOI: 10.1099/00207713-40-1-79/CITE/REFWORKS. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-40-1-79>. Acesso em: 27 dez. 2022.

PATIL, Sunil; HARNISCH, Falk; SCHRÖDER, Uwe. Toxicity Response of Electroactive Microbial Biofilms-A Decisive Feature for Potential Biosensor and Power Source Applications. **ChemPhysChem**, [S. l.], v. 11, n. 13, p. 2834–2837, 2010. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/cphc.201000218>. Acesso em: 3 jun. 2020.

PENTEADO, Eduardo D.; FERNANDEZ-MARCHANTE, Carmen M.; ZAIAT, Marcelo; GONZALEZ, Ernesto R.; RODRIGO, Manuel A. Influence of carbon electrode material on energy recovery from winery wastewater using a dual-chamber microbial fuel cell. **Environmental Technology**, [S. l.], v. 38, n. 11, p. 1333–1341, 2017. DOI: 10.1080/09593330.2016.1226961. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09593330.2016.1226961>. Acesso em: 2 out. 2021.

PERAZZOLI, Simone. **Célula Microbiana de Dessalinização com Biocátodo Anódico para simultânea remoção de carbono e nitrogênio, geração de bioeletricidade e dessalinização**. 2018. 172 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

PERAZZOLI, Simone. **Avaliação do efeito das nanopartículas de óxido de ferro sobre uma comunidade de bactérias oxidadoras de amônia (BOAs)**. Dissertação (Mestrado). Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina. 2015.

PEREIRA, Camila S.. **Enzymatic process as a potential treatment technology to remove anticancer drugs from wastewater: Laccase-assisted degradation of etoposide**. 2020. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.

PHAN, Hop V.; WICKHAM, Richard; XIE, Sihuang; MCDONALD, James A.; KHAN, Stuart J.; NGO, Hao H.; GUO, Wenshan; NGHIEM, Long D. The fate of trace organic

contaminants during anaerobic digestion of primary sludge: A pilot scale study. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 256, p. 384–390, 2018. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.02.040.

PRASERTKULSAK, Sirilak; CHIEMCHAI SRI, Chart; CHIEMCHAI SRI, Wilai; YAMAMOTO, Kazuo. Removals of pharmaceutical compounds at different sludge particle size fractions in membrane bioreactors operated under different solid retention times. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 368, p. 124–132, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389419300573>. Acesso em: 24 maio. 2019.

PRAVEENA, Sarva M.; SHAI FUDDIN, Siti N. M.; SUKIMAN, Syazwani; NASIR, Fauzan A. M.; HANAFI, Zanjabila; KAMARUDIN, Norizah; ISMAIL, Tengku H. T.; ARIS, Ahmad Z.. Pharmaceuticals residues in selected tropical surface water bodies from Selangor (Malaysia): Occurrence and potential risk assessments. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 642, p. 230–240, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718321296?via%3Dihub>. Acesso em: 11 nov. 2018.

RAGO, Laura; CRISTIANI, Pierangela; VILLA, Federica; ZECCHIN, Sarah; COLOMBO, Alessandra; CAVALCA, Lucia; SCHIEVANO, Andrea. Influences of dissolved oxygen concentration on biocathodic microbial communities in microbial fuel cells. **Bioelectrochemistry**, [S. l.], v. 116, p. 39–51, 2017. ISSN: 1878562X. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2017.04.001.

RAWSON, Timothy M.; MOORE, Luke S. P.; ZHU, Nina; RANGANATHAN, Nishanth; SKOLIMOWSKA, Keira; GILCHRIST, Mark; SATTA, Giovanni; COOKE, Graham; HOLMES, Alison. Bacterial and Fungal Coinfection in Individuals With Coronavirus: A Rapid Review To Support COVID-19 Antimicrobial Prescribing. **Clinical Infectious Diseases**, [S. l.], v. 71, n. 9, p. 2459–2468, 2020. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/advance-article/doi/10.1093/cid/ciaa530/5828058>. Acesso em: 1 dez. 2020.

RAYCHAUDHURI, Aryama; BEHERA, Manaswini. Ceramic membrane modified with rice husk ash for application in microbial fuel cells. **Electrochimica Acta**, [S. l.], v. 363, p. 137261, 2020. ISSN: 0013-4686. DOI: 10.1016/J.ELECTACTA.2020.137261.

RIBEIRO DA CUNHA; FONSECA; CALADO. Antibiotic Discovery: Where Have We Come from, Where Do We Go? **Antibiotics**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 45, 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/8/2/45>. Acesso em: 14 fev. 2021.

RODRIGUEZ-MOZAZ, Sara et al. Antibiotic residues in final effluents of European wastewater treatment plants and their impact on the aquatic environment. **Environment International**, [S. l.], v. 140, p. 105733, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105733>. Acesso em: 16 mar. 2021.

ROZENDAL, René A.; HAMELERS, Hubertus V. M.; RABAEY, Korneel; KELLER, Jurg; BUISMAN, Cees J. N. Towards practical implementation of bioelectrochemical wastewater treatment. **Trends in Biotechnology**, [S. l.], v. 26, n. 8, p. 450–459, 2008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779908001595>. Acesso em: 11 nov. 2019.



SANTORO, Carlo; ARBIZZANI, Catia; ERABLE, Benjamin; IEROPOULOS, Ioannis. Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review. **Journal of Power Sources**, [S. l.], v. 356, p. 225–244, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378775317304159>. Acesso em: 31 jan. 2019.

SCHAIDER, Laurel A.; RODGERS, Kathryn M.; RUDEL, Ruthann A. Review of Organic Wastewater Compound Concentrations and Removal in Onsite Wastewater Treatment Systems. **Environmental Science & Technology**, [S. l.], v. 51, n. 13, p. 7304–7317, 2017. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.6b04778>. Acesso em: 11 nov. 2018.

SCHMIDELL, Willibaldo; SOARES, Hugo. M., *et al* (Ed.). **Tratamento Biológico de Águas Residuárias**: CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 2007.

SCOTT, Tia M.; PHILLIPS, Patrick J.; KOLPIN, Dana W.; COLELLA, Kaitlyn M.; FURLONG, Edward T.; FOREMAN, William T.; GRAY, James L. Pharmaceutical manufacturing facility discharges can substantially increase the pharmaceutical load to U.S. wastewaters. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 636, p. 69–79, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.160>. Acesso em: 13 mar. 2021.

SEKAR, Narendran; RAMASAMY, Ramaraja P. Electrochemical Impedance Spectroscopy for Microbial Fuel Cell Characterization. **J Microbial Biochem Technol**, [S. l.], p. 1948–5948, 2013. DOI: 10.4172/1948-5948.S6-004.

SHARMA, Monika; KHURANA, Himani; SINGH, Durgesh Narain; NEGI, Ram Krishan. The genus *Sphingopyxis*: Systematics, ecology, and bioremediation potential - A review. **Journal of Environmental Management**, [S. l.], v. 280, p. 111744, 2021. ISSN: 0301-4797. DOI: 10.1016/J.JENVMAN.2020.111744.

SHARMA, Prabodh C.; JAIN, Ankit; JAIN, Sandeep. Fluoroquinolone antibacterials: a review on chemistry, microbiology and therapeutic prospects. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, [S. l.], v. 66, n. 6, p. 587–604, 2010. ISSN: 0001-6837.

SIMONTE, Francesca; STURM, Gunnar; GESCHER, Johannes; STURM-RICHTER, Katrin. Extracellular Electron Transfer and Biosensors. In: HARNISCH, Falk; HOLTSMANN, Dirk. **Bioelectrosynthesis**. Cham: Springer, 2019. p. 15-38. (Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology).

SLATE, Anthony J.; WHITEHEAD, Kathryn A.; BROWNSON, Dale A. C.; BANKS, Craig E. Microbial fuel cells: An overview of current technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S. l.], v. 101, p. 60–81, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.09.044>. Acesso em: 8 jun. 2020.

SONG, Hai L.; LI, Hua; ZHANG, Shuai; YANG, Yu Li; ZHANG, Li Min; XU, Han; YANG, Xiao Li. Fate of sulfadiazine and its corresponding resistance genes in up-flow microbial fuel cell coupled constructed wetlands: Effects of circuit operation mode and hydraulic retention time. **Chemical Engineering Journal**, [S. l.], v. 350, p. 920–929, 2018. DOI: 10.1016/j.cej.2018.06.035.

SOTRES, Ana; DÍAZ-MARCOS, Jordi; GUIVERNAU, Miriam; ILLA, Josep; MAGRÍ, Albert; PRENAFETA-BOLDÚ, Francesc Xavier; BONMATÍ, August; VIÑAS, Marc. Microbial community dynamics in two-chambered microbial fuel cells: effect of different ion exchange membranes. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, [S. l.], v. 90, n. 8, p. 1497–1506, 2015. ISSN: 1097-4660. DOI: 10.1002/JCTB.4465. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jctb.4465>. Acesso em: 07 dez. 2021.

STEINMETZ, Ricardo. L. R. **Avaliação do Efeito de Drogas Veterinárias na Produção Específica de Biogás de Substratos Agropecuários**. Tese (Doutorado). Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina. 2016.

SZEKERES, Edina et al. Abundance of antibiotics, antibiotic resistance genes and bacterial community composition in wastewater effluents from different Romanian hospitals. **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 225, p. 304–315, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749116324447?via%3Dihub#mmc1>. Acesso em: 7 nov. 2018.

TADKAEW, Nichanan; HAI, Faisal I.; MCDONALD, James A.; KHAN, Stuart J.; NGHIEM, Long D. Removal of trace organics by MBR treatment: The role of molecular properties. **Water Research**, [S. l.], v. 45, n. 8, p. 2439–2451, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135411000388>. Acesso em: 21 jan. 2019.

TAO, Qinqin; LUO, Jingjing; ZHOU, Juan; ZHOU, Shaoqi; LIU, Guangli; ZHANG, Renduo. Effect of dissolved oxygen on nitrogen and phosphorus removal and electricity production in microbial fuel cell. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 164, p. 402–407, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.002>. Acesso em: 6 fev. 2022.

THAI, Phong K.; KY, Le X.; BINH, Vu N.; NHUNG, Pham H.; NHAN, Pham T.; HIEU, Ngo Q.; DANG, Nhung T. T.; TAM, Nguyen K. B.; ANH, Nguyen T. K.. Occurrence of antibiotic residues and antibiotic-resistant bacteria in effluents of pharmaceutical manufacturers and other sources around Hanoi, Vietnam. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 645, p. 393–400, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004896971832610X?via%3Dihub>. Acesso em: 7 nov. 2018.

THE CENTER FOR DISEASE DYNAMICS ECONOMICS & POLICY. **ResistanceMap: Antibiotic use**. 2020.

TIWARI, Bhagyashree; SELLAMUTHU, Balasubramanian; OUARDA, Yassine; DROGUI, Patrick; TYAGI, Rajeshwar D.; BUELNA, Gerardo. Review on fate and mechanism of removal of pharmaceutical pollutants from wastewater using biological approach. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 224, p. 1–12, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852416315577#t0005>. Acesso em: 11 nov. 2018.

TOMEI, M. Concetta; MOSCA ANGELUCCI, Domenica; MASCOLO, Giuseppe; KUNKEL, Uwe. Post-aerobic treatment to enhance the removal of conventional and emerging micropollutants in the digestion of waste sludge. **Waste Management**, [S. l.], v. 96, p. 36–46,

2019. DOI: 10.1016/j.wasman.2019.07.013.

TONG, Juan et al. Microbial community evolution and fate of antibiotic resistance genes along six different full-scale municipal wastewater treatment processes. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 272, p. 489–500, 2019. ISSN: 18732976. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.10.079.

TRAN, Ngoc Han; CHEN, Hongjie; REINHARD, Martin; MAO, Feijian; GIN, Karina Yew-Hoong. Occurrence and removal of multiple classes of antibiotics and antimicrobial agents in biological wastewater treatment processes. **Water Research**, [S. l.], v. 104, p. 461–472, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135416306406?via%3Dihub>. Acesso em: 7 nov. 2018.

TRAN, Ngoc H.; REINHARD, Martin; GIN, Karina Y.. Occurrence and fate of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plants from different geographical regions-a review. **Water Research**, [S. l.], v. 133, p. 182–207, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135417310242>. Acesso em: 17 dez. 2018.

UCAR, Deniz; ZHANG, Yifeng; ANGELIDAKI, Irini. An Overview of Electron Acceptors in Microbial Fuel Cells. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 8, n. 4, p. 643, 2017. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.00643>. Acesso em: 4 jun. 2020.

URIA, Naroa; FERRERA, Isabel; MAS, Jordi. Electrochemical performance and microbial community profiles in microbial fuel cells in relation to electron transfer mechanisms. **BMC Microbiology**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 1–12, 2017. ISSN: 14712180. DOI: 10.1186/S12866-017-1115-2/FIGURES/6. Disponível em: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-017-1115-2>. Acesso em: 06 dez. 2022.

USMAN, Muhammad; FAROOQ, Muhammad; HANNA, Khalil. Environmental side effects of the injudicious use of antimicrobials in the era of COVID-19. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 745, p. 141053, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141053>. Acesso em: 28 out. 2020.

VAN DOORSLAER, Xander; DEWULF, Jo; VAN LANGENHOVE, Herman; DEMEESTERE, Kristof. Fluoroquinolone antibiotics: An emerging class of environmental micropollutants. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 500–501, p. 250–269, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969714012546?via%3Dihub>. Acesso em: 12 abr. 2019.

VARESCHE, M. B.; ZAIAT, M.; VIEIRA, L. G. T.; VAZOLLER, R. F.; FORESTI, E. Microbial colonization of polyurethane foam matrices in horizontal-flow anaerobic immobilized-sludge reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 48, n. 4, p. 534–538, 1997. ISSN: 01757598. ISBN: 0175-7598. DOI: 10.1007/s002530051092.

VATOVEC, Christine; KOLODINSKY, Jane; CALLAS, Peter; HART, Christine; GALLAGHER, Kati. Pharmaceutical pollution sources and solutions: Survey of human and veterinary medication purchasing, use, and disposal. **Journal of Environmental**

**Management**, [S. l.], v. 285, p. 112106, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112106>. Acesso em: 13 mar. 2021.

VERLICCHI, P.; AUKIDY, M. Al; ZAMBELLO, E.. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment.: a review. **Science Of The Total Environment**, [S.l.], v. 429, p. 123-155, jul. 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.028>. Acesso em 19 abr. 2020

VIRDIS, Bernardino; RABAEY, Korneel; ROZENDAL, René A.; YUAN, Zhiguo; KELLER, Jürg. Simultaneous nitrification, denitrification and carbon removal in microbial fuel cells. **Water Research**, [S. l.], v. 44, n. 9, p. 2970–2980, 2010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135410001430>. Acesso em: 11 nov. 2019.

VIRDIS, Bernardino; RABAEY, Korneel; YUAN, Zhiguo; KELLER, Jürg. Microbial fuel cells for simultaneous carbon and nitrogen removal. **Water Research**, [S. l.], v. 42, n. 12, p. 3013–3024, 2008. DOI: 10.1016/J.WATRES.2008.03.017.

VOGEL, Arthur Israel. **Análise química quantitativa**. 6. ed., Rio de Janeiro: LTC, 2008.

VON SPERLING, Marcos. **Activated sludge and aerobic biofilm reactors**. London: IWA Publishing, 2007. ISBN: 9781843391654.

WANG, Heming; REN, Zhiyong J.. A comprehensive review of microbial electrochemical systems as a platform technology. **Biotechnology Advances**, [S. l.], v. 31, n. 8, p. 1796–1807, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975013001699>. Acesso em: 31 jan. 2019.

WANG, Jianlong; CHU, Libing; WOJNÁROVITS, László; TAKÁCS, Erzsébet. Occurrence and fate of antibiotics, antibiotic resistant genes (ARGs) and antibiotic resistant bacteria (ARB) in municipal wastewater treatment plant: an overview. **Science Of The Total Environment**, [S.l.], v. 744, p. 140997, nov. 2020 a. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140997>. Acesso em: 01 dez. 2020.

WANG, Jilu; MAO, Daqing; MU, Quanhua; LUO, Yi. Fate and proliferation of typical antibiotic resistance genes in five full-scale pharmaceutical wastewater treatment plants. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 526, p. 366–373, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.05.046>. Acesso em: 2 dez. 2020.

WANG, Lu; QIANG, Zhimin; LI, Yangang; BEN, Weiwei. An insight into the removal of fluoroquinolones in activated sludge process: Sorption and biodegradation characteristics. **Journal of Environmental Sciences**, [S. l.], v. 56, p. 263–271, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1001074216309093>. Acesso em: 29 jan. 2019.

WANG, Xiaochun; CHEN, Zhonglin; SHEN, Jimin; KANG, Jing; ZHANG, Xiaolei; LI, Ji; ZHAO, Xia. Effect of carbon source on pollutant removal and microbial community dynamics in treatment of swine wastewater containing antibiotics by aerobic granular sludge. **Chemosphere**, [S. l.], v. 260, p. 127544, 2020 b. ISSN: 18791298. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.127544.

WATSON, Valerie J.; LOGAN, Bruce E. Analysis of polarization methods for elimination of power overshoot in microbial fuel cells. **Electrochemistry Communications**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 54–56, 2011. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1388248110004765?via%3Dihub>. Acesso em: 20 abr. 2021.

WATTS, C. D.; CRATHORNE, B.; FIELDING, M.; STEEL, C. P. Identification of Non-Volatile Organics in Water Using Field Desorption Mass Spectrometry and High Performance Liquid Chromatography. In: (G. Angeletti, A. Bjørseth, Org.) ANALYSIS OF ORGANIC MICROPOLLUTANTS IN WATER 1984, Dordrecht. **Anais** [...]. Dordrecht: Springer Netherlands, 1984 p. 120–131. Disponível em: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-6345-0\\_13](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-6345-0_13). Acesso em: 14 fev. 2021.

WEN, Qinxue; YANG, Lian; ZHAO, Yaqi; HUANG, Long; CHEN, Zhiqiang. Insight into effects of antibiotics on reactor performance and evolutions of antibiotic resistance genes and microbial community in a membrane reactor. **Chemosphere**, [S. l.], v. 197, p. 420–429, 2018. ISSN: 18791298. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.01.067.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial resistance: global report on surveillance**. [s.l.: s.n.]. ISBN: 978 92 4 156474 8. Disponível em:

[http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748\\_eng.pdf;jsessionid=2FFF93894318BEDDA3D21BF99ADF4BF9?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf;jsessionid=2FFF93894318BEDDA3D21BF99ADF4BF9?sequence=1).

XIE, Shan; LIANG, Peng; CHEN, Yang; XIA, Xue; HUANG, Xia. Simultaneous carbon and nitrogen removal using an oxic/anoxic-biocathode microbial fuel cells coupled system.

**Bioresource Technology**, [S. l.], v. 102, n. 1, p. 348–354, 2011. DOI: 10.1016/J.BIORTECH.2010.07.046.

XOCHITL, Dominguez Benetton; SEVDA, Surajbhan; VANBROEKHOVEN, Karolien; PANT, Deepak. The accurate use of impedance analysis for the study of microbial electrochemical systems. **Chemical Society Reviews**, [S. l.], v. 41, n. 21, p. 7228–7246, 2012. ISSN: 1460-4744. DOI: 10.1039/C2CS35026B. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2012/cs/c2cs35026b>. Acesso em: 4 ago. 2022.

XUE, Wendan; LI, Fengxiang; ZHOU, Qixing. Degradation mechanisms of sulfamethoxazole and its induction of bacterial community changes and antibiotic resistance genes in a microbial fuel cell. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 289, 2019. ISSN: 18732976. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.121632.

YAN, Weifu et al. The changes of bacterial communities and antibiotic resistance genes in microbial fuel cells during long-term oxytetracycline processing. **Water Research**, [S. l.], v. 142, p. 105–114, 2018. ISSN: 18792448. DOI: 10.1016/j.watres.2018.05.047.

YANG, Lian; WEN, Qinxue; ZHAO, Yaqi; CHEN, Zhiqiang; WANG, Qiong; BÜRGMANN, Helmut. New insight into effect of antibiotics concentration and process configuration on the removal of antibiotics and relevant antibiotic resistance genes. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 373, p. 60–66, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.03.060>. Acesso em: 8 jul. 2020.

YIN, Fubin; DONG, Hongmin; ZHANG, Wanqin; ZHU, Zhiping; SHANG, Bin. Antibiotic degradation and microbial community structures during acidification and methanogenesis of swine manure containing chlortetracycline or oxytetracycline. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 250, p. 247–255, 2018. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.11.015.

ZHANG, Enren; YU, Qingling; ZHAI, Wenjing; WANG, Feng; SCOTT, Keith. High tolerance of and removal of cefazolin sodium in single-chamber microbial fuel cells operation. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 249, p. 76–81, 2018 a. ISSN: 18732976. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.10.005.

ZHANG, Fei; HE, Zhen. A cooperative microbial fuel cell system for waste treatment and energy recovery. **Environmental Technology**, [S. l.], v. 34, n. 13–14, p. 1905–1913, 2013. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09593330.2013.770540>. Acesso em: 4 fev. 2022.

ZHANG, Guodong; LEE, Duu Jong; CHENG, Fangqin. Treatment of domestic sewage with anoxic/oxic membrane-less microbial fuel cell with intermittent aeration. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 218, p. 680–686, 2016. ISSN: 18732976. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.07.006.

ZHANG, Huiqun; JIA, Yanyan; KHANAL, Samir Kumar; LU, Hui; FANG, Heting; ZHAO, Qing. Understanding the Role of Extracellular Polymeric Substances on Ciprofloxacin Adsorption in Aerobic Sludge, Anaerobic Sludge, and Sulfate-Reducing Bacteria Sludge Systems. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], v. 52, n. 11, p. 6476–6486, 2018 b. ISSN: 15205851. DOI: 10.1021/acs.est.8b00568. Disponível em: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>. Acesso em: 23 nov. 2020.

ZHANG, Liang; ZHU, Xun; LI, Jun; LIAO, Qiang; YE, Dingding. Biofilm formation and electricity generation of a microbial fuel cell started up under different external resistances. **Journal of Power Sources**, [S. l.], v. 196, n. 15, p. 6029–6035, 2011. ISSN: 0378-7753. DOI: 10.1016/J.JPOWSOUR.2011.04.013.

ZHANG, Min et al. Occurrence, fate and mass loadings of antibiotics in two swine wastewater treatment systems. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 639, p. 1421–1431, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969718318813?via%3Dihub#ec0005>. Acesso em: 7 nov. 2018.

ZHANG, Shuai; YANG, Yu-Li; LU, Ji; ZUO, Xiao-Jun; YANG, Xiao-Li; SONG, Hai-Liang. A review of bioelectrochemical systems for antibiotic removal: efficient antibiotic removal and dissemination of antibiotic resistance genes. **Journal Of Water Process Engineering**, [S. l.], v. 37, p. 101421, out. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101421>. Acesso em 18 set. 2020.

ZHANG, Tong; YANG, Ying; PRUDEN, Amy. Effect of temperature on removal of antibiotic resistance genes by anaerobic digestion of activated sludge revealed by metagenomic approach. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 99, n. 18, p. 7771–7779, 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-015-6688-9>. Acesso em: 2 dez. 2020.

ZHANG, Xiangyu; LI, Ruying. Electrodes bioaugmentation promotes the removal of antibiotics from concentrated sludge in microbial electrolysis cells. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 715, 2020. ISSN: 18791026. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.136997.

ZHANG, Yichong; XU, Qiang; HUANG, Guangtuan; ZHANG, Lehua; LIU, Yongdi. Effect of dissolved oxygen concentration on nitrogen removal and electricity generation in self pH-buffer microbial fuel cell. **International Journal of Hydrogen Energy**, [S. l.], v. 45, n. 58, p. 34099–34109, 2020 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.09.110>. Acesso em: 30 maio. 2021.

ZHAO, Feng; SLADE, Robert C. T.; VARCOE, John R. Techniques for the study and development of microbial fuel cells: An electrochemical perspective. **Chemical Society Reviews**, [S. l.], v. 38, n. 7, p. 1926–1939, 2009. ISSN: 14604744. DOI: 10.1039/b819866g. Disponível em: [www.rsc.org/csr](http://www.rsc.org/csr). Acesso em: 28 maio. 2021.

ZHAO, Jianqiang; WU, Jinna; LI, Xiaoling; WANG, Sha; HU, Bo; DING, Xiaoqian. The Denitrification Characteristics and Microbial Community in the Cathode of an MFC with Aerobic Denitrification at High Temperatures. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 8, n. JAN, p. 9, 2017. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.00009/full>. Acesso em: 1 fev. 2021.

ZHAO, Renxin; FENG, Jie; HUANG, Jin; LI, Xiaoyan; LI, Bing. Responses of microbial community and antibiotic resistance genes to the selection pressures of ampicillin, cephalixin and chloramphenicol in activated sludge reactors. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 755, p. 142632, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142632>. Acesso em: 2 dez. 2020.

ZHAO, Wentao; SUI, Qian; MEI, Xuebing; CHENG, Xueting. Efficient elimination of sulfonamides by an anaerobic/anoxic/oxic-membrane bioreactor process: Performance and influence of redox condition. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 633, p. 668–676, 2018. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.03.207.

ZHENG, Jierong; WANG, Sufang; ZHOU, Aijuan; ZHAO, Bowei; DONG, Jing; ZHAO, Xiaochan; LI, Peirui; YUE, Xiuping. Efficient elimination of sulfadiazine in an anaerobic denitrifying circumstance: Biodegradation characteristics, biotoxicity removal and microbial community analysis. **Chemosphere**, [S. l.], v. 252, p. 126472, 2020. ISSN: 18791298. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.126472.

ZHENG, Wei; ZHANG, Zhenya; LIU, Rui; LEI, Zhongfang. Removal of veterinary antibiotics from anaerobically digested swine wastewater using an intermittently aerated sequencing batch reactor. **Journal of Environmental Sciences (China)**, [S. l.], v. 65, p. 8–17, 2018. DOI: 10.1016/j.jes.2017.04.011.

ZHU, Guangcan; CHEN, Guiding; YU, Ran; LI, Han; WANG, Caiping. Enhanced simultaneous nitrification/denitrification in the biocathode of a microbial fuel cell fed with cyanobacteria solution. **Process Biochemistry**, [S. l.], v. 51, n. 1, p. 80–88, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359511315301136>. Acesso em: 8 mar. 2021.

ZHU, Ning; JIN, Hongmei; YE, Xiaomei; LIU, Wei; LI, Danyang; SHAH, Ghulam M.; ZHU, Yanyun. Fate and driving factors of antibiotic resistance genes in an integrated swine wastewater treatment system: From wastewater to soil. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 721, p. 137654, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137654>. Acesso em: 5 jun. 2020.

ZHU, Xiuping; TOKASH, Justin C.; HONG, Yiying; LOGAN, Bruce E. Controlling the occurrence of power overshoot by adapting microbial fuel cells to high anode potentials. **Bioelectrochemistry**, [S. l.], v. 90, p. 30–35, 2013. ISSN: 1567-5394. DOI: 10.1016/J.BIOELECTROCHEM.2012.10.004.

ZUMSTEIN, Michael T.; HELBLING, Damian E. Biotransformation of antibiotics: Exploring the activity of extracellular and intracellular enzymes derived from wastewater microbial communities. **Water Research**, [S. l.], v. 155, p. 115–123, 2019. ISSN: 18792448. DOI: 10.1016/j.watres.2019.02.024.



### APÊNDICE 1 – Concentrações de antibióticos em efluentes

Tabela A1. Faixa de concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ) de antibióticos detectados em efluente bruto e tratado de diferentes atividades humanas.

Classe de Antibióticos	Molécula	Concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )		Tipo de efluente	País	Referências
		Efluente bruto	Efluente tratado			
Aminoglicosídeos						
	Gentamicina	ND – 6060	n.r	Hospitalar	Romênia	(Szekeres et al., 2017)
	Canamicina	n.r	80 – 500	Urbano/industrial	China	(Wang et al., 2020b)
Carbapenem						
	Imipenem	ND – 14420	n.r	Hospitalar	Romênia	(Szekeres et al., 2017)
	Meropenem	264,8 – 433,6	27 – 67,9	Urbano	Singapura	(Tran et al., 2016)
Cefalosporinas						
	Cefazolina	ND – 83,42	n.r	Hospitalar	Espanha	(Rodriguez-Mozaz et al., 2015)
	Cefazolina	94,72 – 146,58	14,58 – 24,79	Urbano/Hospitalar	Espanha	(Rodriguez-Mozaz et al., 2015)
	Cefepima	5180 – 8520 †	n.r	Hospitalar	Brasil, Romênia	(Becker et al., 2020; Szekeres et al., 2017)
	Cefixima	<LOQ – 777,1	49,85 – 422,1	Urbano	Irã	(Mirzaei et al., 2018)
	Cefotaxima	143,69 – 240,38	43	Hospitalar	Espanha, Vietnã	(Rodriguez-Mozaz et al., 2015; Thai et al., 2018)
	Cefotaxima	252,83 – 363,53	207,87 – 223,36	Urbano/Hospitalar	Espanha	(Rodriguez-Mozaz et al., 2015)
	Cefotaxima	n.r	10 – 119	Industrial	Vietnã	(Thai et al., 2018)

Tabela A1. Faixa de concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ) de antibióticos detectados em efluente bruto e tratado de diferentes atividades humanas. (continuação)

Classe de Antibióticos	Molécula	Concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )		Tipo de efluente	País	Referências
	Ceftazidima	3660 – 10460	n.r	Hospitalar	Romênia	(Szekeres et al., 2017)
	Ceftiofur	569,04 – 1341,55	n.r	Hospitalar	Espanha	(Rodriguez-Mozaz et al., 2015)
	Ceftiofur	815,6 – 917,58	417,82 – 451,83	Urbano/Hospitalar	Espanha	(Rodriguez-Mozaz et al., 2015)
	Cefuroxima	n.r	284 – 3740	Industrial	Vietnã	(Thai et al., 2018)
	Cefuroxima	1052 – 1557	246	Hospitalar	Gana, Vietnã	(Azanu et al., 2018; Thai et al., 2018)
	Cefuroxima	109 – 1277	58 – 345	Urbano	Gana	(Azanu et al., 2018)
	Cefalexina	122 – 977,7	ND – 28,93	Urbano	Irã	(Mirzaei et al., 2018)
	Cefalexina	16,99 – 40,01	9,79 – 24,06	Urbano/Hospitalar	Tunísia, Espanha	(Harrabi et al., 2018; Rodriguez-Mozaz et al., 2015)
	Cefalexina	2048,43 – 2669,14	n.r	Hospitalar	China	(Wang et al., 2018)
<b>Diaminopiridinas</b>						
	Ormetoprim	n.r	ND - 48	Urbano/Hospitalar	França	(Dinh et al., 2017)
	Trimetropima	94 – 30.380 †	387 – 1870	Hospitalar	Brasil, China, Gana, Romênia, Espanha, Vietnã	(Azanu et al., 2018; Becker et al., 2020; Rodriguez-Mozaz et al., 2015; Szekeres et al., 2017; Thai et al., 2018; Wang et al., 2018)

Tabela A1. Faixa de concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ) de antibióticos detectados em efluente bruto e tratado de diferentes atividades humanas. (continuação)

Classe de Antibióticos	Molécula	Concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )		Tipo de efluente	País	Referências
	Trimetropima	35 – 72.850	1 – 255	Urbano	Antártica, Gana, Quênia, Singapura, Espanha	(Azanu et al., 2018; Hernández et al., 2019; K'oreje et al., 2016; Renau-Pruñonosa et al., 2020; Santiago-Martín et al., 2020; Tran et al., 2016)
	Trimetropima	n.r	46,4 – 241,2	Urbano/industrial	França	(Chiffre et al., 2016)
	Trimetropima	56,6 – 179,46	ND – 5316	Urbano/Hospitalar	França, Espanha, Tunísia	(Dinh et al., 2017; Harrabi et al., 2018; Rodriguez-Mozaz et al., 2015)
	Trimetropima	n.r	9,42 – 106.58697	Industrial	Coréia do Sul, Vietnã	(Park and Lee, 2018; Thai et al., 2018)
	Trimetropima	ND – 738	ND - 1630	Pecuária	China, Vietnã	(Thai et al., 2018; Zhang et al., 2018)
Fluoroquinolonas						
	Ciprofloxacina	ND – 6453	ND – 1860	Urbano	Antártica, Gana, Irã, Itália, Quênia, Portugal, Singapura, Espanha	(Azanu et al., 2018; Gaffney et al., 2017; Hernández et al., 2019; K'oreje et al., 2016; Mirzaei et al., 2018; Santiago-Martín et al., 2020; Spataro et al., 2019; Tran et al., 2016)

Tabela A1. Faixa de concentração (ng·L<sup>-1</sup>) de antibióticos detectados em efluente bruto e tratado de diferentes atividades humanas. (continuação)

Classe de Antibióticos	Molécula	Concentração (ng·L <sup>-1</sup> )		Tipo de efluente	País	Referências
	Ciprofloxacina	1223,52 – 15.733 †	14.200 – 40.900	Hospitalar	Brasil, China, Gana, Espanha, Vietnã	(Azanu et al., 2018; Becker et al., 2020; Rodriguez-Mozaz et al., 2015; Thai et al., 2018; Wang et al., 2018)
	Ciprofloxacina	295 – 1307	14 – 3403	Urbano/Hospitalar	França, Espanha, Tunísia	(Dinh et al., 2017; Harrabi et al., 2018; Rodriguez-Mozaz et al., 2015)
	Ciprofloxacina	n.r	84 - 7840	Industrial	Vietnã	(Thai et al., 2018)
	Ciprofloxacina	16 – 17.500	ND – 14.2	Pecuária	China, Chipre, Vietnã	(Pan et al., 2020; Parpounas et al., 2017; Thai et al., 2018; Zhang et al., 2018; Zhu et al., 2020)
	Ciprofloxacina	n.r	30 – 210	Urbano/industrial	China	(Wang et al., 2020)
	Dafloxacina mesilato	71	n.r	Industrial	China	(Pan et al., 2020)
	Difloxacina	ND – 33,5	ND – 34,7	Pecuária	China	(Zhang et al., 2018)
	Enrofloxacina	340,17 – 400,2	ND – 636	Urbano/Hospitalar	França, Tunísia	(Dinh et al., 2017; Harrabi et al., 2018)
	Enrofloxacina	ND – 59,72	n.r	Hospitalar	China	(Wang et al., 2018)
	Enrofloxacina	ND – 35.600	ND – 19,2	Pecuária	China, Chipre, México	(León-Aguirre et al., 2019; Parpounas et al., 2017; Zhang et al., 2018; Zhu et al., 2020)
	Levofloxacina	ND - 1550	ND	Urbano	Quênia	(K'oreje et al., 2016)
	Levofloxacina	†	n.r	Hospitalar	Brasil	(Becker et al., 2020)
	Lomefloxacina	n.r	ND – 83	Urbano/Hospitalar	França	(Dinh et al., 2017)

Tabela A1. Faixa de concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ) de antibióticos detectados em efluente bruto e tratado de diferentes atividades humanas. (continuação)

Classe de Antibióticos	Molécula	Concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )		Tipo de efluente	País	Referências
	Norfloxacina	338,13 – 575,16	ND – 9347	Urbano/Hospitalar	França, Espanha	(Dinh et al., 2017; Rodriguez-Mozaz et al., 2015)
	Norfloxacina	ND – 9177,42	147 – 736	Hospitalar	China, Espanha, Vietnã	(Rodriguez-Mozaz et al., 2015; Thai et al., 2018; Wang et al., 2018)
	Norfloxacina	1808	45 – 7690	Industrial	China, Vietnã	(Pan et al., 2020; Thai et al., 2018)
	Norfloxacina	20 – 1530	ND – 90	Pecuária	China, Vietnã	(Pan et al., 2020; Thai et al., 2018; Zhang et al., 2018; Zhu et al., 2020)
	Norfloxacina	n.r	580 – 1230	Urbano	Antártica	(Hernández et al., 2019)
	Ofloxacina	n.r	18,3 – 303	Urbano/industrial	França	(Chiffre et al., 2016)
	Ofloxacina	160,33 – 1564,6	60,87 – 8637	Urbano/Hospitalar	França, Espanha, Tunísia	(Dinh et al., 2017; Harrabi et al., 2018; Rodriguez-Mozaz et al., 2015)
	Ofloxacina	2020,94 – 13.779,7 †	6500 – 31.800	Hospitalar	Brasil, China, Espanha, Vietnã	(Becker et al., 2020; Rodriguez-Mozaz et al., 2015; Thai et al., 2018; Wang et al., 2018)
	Ofloxacina	n.r	31 – 41.595	Industrial	China, Vietnã	(Pan et al., 2020; Thai et al., 2018)
	Ofloxacina	173 – 4960	ND – 23	Pecuária	China	(Zhang et al., 2018)
	Pefloxacina	ND – 93,9	ND – 3,02	Pecuária	China	(Zhang et al., 2018)
	Sarafloxacina	n.r	1,8 – 48	Urbano/Hospitalar	França	(Dinh et al., 2017)

Tabela A1. Faixa de concentração (ng·L<sup>-1</sup>) de antibióticos detectados em efluente bruto e tratado de diferentes atividades humanas. (continuação)

Classe de Antibióticos	Molécula	Concentração (ng·L <sup>-1</sup> )		Tipo de efluente	País	Referências
	Sarafloxacina	32,3 – 82,4	ND	Pecuária	China	(Zhang et al., 2018)
Glicopeptídeos						
	Vancomicina	5030 – 13.980	n.r	Hospitalar	Romênia	(Szekeres et al., 2017)
	Vancomicina	n.r	184 – 8514	Urbano/Hospitalar	França	(Dinh et al., 2017)
	Vancomicina	131,57 – 43,740	ND – 80,68	Urbano	Itália, Singapura	(Castiglioni et al., 2020; Tran et al., 2016)
Lincosamidas						
	Clindamicina	ND – 3795,45 †	n.r	Hospitalar	Brasil, Espanha	(Becker et al., 2020; Rodriguez-Mozaz et al., 2015)
	Clindamicina	23,8 – 26,6	2,94 – 100	Urbano	Antártica, Singapura	(Hernández et al., 2019; Tran et al., 2016)
Macrolídeos						
	Azitromicina	ND – 214,5	75,46 – 156,67	Urbano/Hospitalar	Espanha, Tunísia	(Harrabi et al., 2018; Rodriguez-Mozaz et al., 2015)
	Azitromicina	20,14 – 59,94 †	54 – 799	Hospitalar	Brasil, Espanha, Vietnã	(Becker et al., 2020; Rodriguez-Mozaz et al., 2015; Thai et al., 2018)
	Azitromicina	167	19 – 2270	Industrial	China, Vietnã	(Pan et al., 2020; Thai et al., 2018)
	Azitromicina	<LOQ – 2951	8,84 – 980 ▲	Urbano	Antártica, Irã, Singapura, Espanha	(Hernández et al., 2019; Mirzaei et al., 2018; Santiago-Martín et al., 2020; Tran et al., 2016)

Tabela A1. Faixa de concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ) de antibióticos detectados em efluente bruto e tratado de diferentes atividades humanas. (continuação)

Classe de Antibióticos	Molécula	Concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )		Tipo de efluente	País	Referências
	Claritromicina	ND – 941,1	25 – 616	Hospitalar	Espanha, Vietnã	(Rodríguez-Mozaz et al., 2015; Thai et al., 2018)
	Claritromicina	460,87 – 551,3	92,26 – 129,02	Urbano/Hospitalar	Espanha	(Rodríguez-Mozaz et al., 2015)
	Claritromicina	436	19 – 2270	Industrial	China, Vietnã	(Pan et al., 2020; Thai et al., 2018)
	Claritromicina	10 – 13	n.r	Pecuária	Vietnã	(Thai et al., 2018)
	Claritromicina	401,66 – 1854	158,8 – 635,3 <sup>▲</sup>	Urbano	Antártica, Itália, Singapura, Espanha, Suíça	(Castiglioni et al., 2020; Hernández et al., 2019; Santiago-Martín et al., 2020; Tran et al., 2016)
	Eritromicina	ND – 10.613	n.r	Hospitalar	Gana, Romênia, Espanha	(Azanu et al., 2018; Rodríguez-Mozaz et al., 2015; Szekeres et al., 2017)
	Eritromicina	ND – 2300	ND – 2780	Urbano	Antártica, Gana, Irã, Portugal, Singapura, Espanha	(Azanu et al., 2018; Gaffney et al., 2017; Hernández et al., 2019; Mirzaei et al., 2018; Santiago-Martín et al., 2020; Tran et al., 2016)
	Eritromicina	ND – 4,08	ND – 1494	Urbano/Hospitalar	França, Espanha	(Dinh et al., 2017; Rodríguez-Mozaz et al., 2015)
	Eritromicina	n.r	100 – 250	Urbano/industrial	China	(Wang et al., 2020)

Tabela A1. Faixa de concentração (ng·L<sup>-1</sup>) de antibióticos detectados em efluente bruto e tratado de diferentes atividades humanas. (continuação)

Classe de Antibióticos	Molécula	Concentração (ng·L <sup>-1</sup> )		Tipo de efluente	País	Referências
	Leucomicina	416	31,1	Pecuária	China	(Zhang et al., 2018)
	Lincomicina	100,33 – 150,08	60,1 – 80,07	Urbano/Hospitalar	Tunísia	(Harrabi et al., 2018)
	Lincomicina	n.r	32,06 – 57,66	Industrial	Coréia do Sul	(Park and Lee, 2018)
	Lincomicina	1,43 – 96	3,38 – 62,5 <sup>▲</sup>	Urbano	Itália, Singapura, Espanha, Suíça	(Castiglioni et al., 2020; Santiago-Martín et al., 2020; Tran et al., 2016)
	Lincomicina	118,25 – 140,08 <sup>†</sup>	n.r	Hospitalar	Brasil, China	(Becker et al., 2020; Wang et al., 2018)
	Lincomicina	48.200 – 166.000	24,8 – 312	Pecuária	China	(Zhang et al., 2018)
	Roxitromicina	2,86 – 27,9	<LOQ – 11,7	Pecuária	China	(Zhang et al., 2018)
	Roxitromicina	127	n.r	Industrial	China	(Pan et al., 2020)
	Espiramicina	466,67 – 690,5	293,33 – 156,67	Urbano/Hospitalar	Tunísia	(Harrabi et al., 2018)
	Espiramicina	ND – 58,73	n.r	Hospitalar	China	(Wang et al., 2018)
	Tilosina	n.r	ND – 173	Urbano/Hospitalar	França	(Dinh et al., 2017)
<b>Penicilinas</b>						
	Amoxicilina	n.r	ND – 190	Urbano/Hospitalar	França	(Dinh et al., 2017)
	Amoxicilina	ND – 6516	ND – 1374,57	Urbano	Gana, Irã, Itália, Singapura	(Azanu et al., 2018; Mirzaei et al., 2018; Spataro et al., 2019; Tran et al., 2016)
	Amoxicilina	2,0 - 6,0	n.r	Hospitalar	Gana	(Azanu et al., 2018)
	Ampicilina	107 – 53.050	57	Hospitalar	Gana, Romênia, Vietnã	(Azanu et al., 2018; Szekeres et al., 2017; Thai et al., 2018)



Tabela A1. Faixa de concentração (ng·L<sup>-1</sup>) de antibióticos detectados em efluente bruto e tratado de diferentes atividades humanas. (continuação)

Classe de Antibióticos	Molécula	Concentração (ng·L <sup>-1</sup> )		Tipo de efluente	País	Referências
	Ampicilina	53,33 – 75,4	16,67 – 30,04	Urbano/Hospitalar	Tunísia	(Harrabi et al., 2018)
	Ampicilina	n.r	46 – 164	Industrial	Vietnã	(Thai et al., 2018)
	Ampicilina	40	n.r	Pecuária	Vietnã	(Thai et al., 2018)
	Ampicilina	n.r	1100 – 4100	Urbano/industrial	China	(Wang et al., 2020)
	Ampicilina	82 – 556	51 – 97	Urbano	Gana	(Azanu et al., 2018)
	Piperacilina	ND - 7810	n.r	Hospitalar	Romênia	(Szekeres et al., 2017)
	Penicilina	13,2 – 65,89	<LOQ – 31,18	Urbano	Irã	(Mirzaei et al., 2018)
<b>Quinolonas</b>						
	Enoxacina	n.r	ND – 1634	Urbano/Hospitalar	França	(Dinh et al., 2017)
	Flumequina	n.r	ND – 582	Urbano/Hospitalar	França	(Dinh et al., 2017)
	Ácido Nalidíxico	ND - 2800	ND	Urbano	Quênia	(K'oreje et al., 2016)
	Ácido Pipemídico	49,58 – 133,61	ND – 68	Urbano/Hospitalar	França, Espanha	(Dinh et al., 2017; Rodriguez-Mozaz et al., 2015)
<b>Sulfonamidas</b>						
	Sulfaclopiridazina	10 – 3.630.000	ND – 2950	Pecuária	China	(Zhang et al., 2018; Zhu et al., 2020)
	Sulfadiazina	119,24 – 125,82	n.r	Hospitalar	China	(Wang et al., 2018)
	Sulfadiazina	ND – 9290	ND – 62,8	Pecuária	China	(Zhang et al., 2018; Zhu et al., 2020)
	Sulfadimetoxina	4,49 – 25,2	ND – 5,04	Pecuária	China	(Zhang et al., 2018)

Tabela A1. Faixa de concentração (ng·L<sup>-1</sup>) de antibióticos detectados em efluente bruto e tratado de diferentes atividades humanas. (continuação)

Classe de Antibióticos	Molécula	Concentração (ng·L <sup>-1</sup> )		Tipo de efluente	País	Referências
	Sulfadimidina	20	ND	Pecuária	China	(Zhu et al., 2020)
	Sulfadoxin	710 – 3230	50 -520	Urbano	Quênia	(K'oreje et al., 2016)
	Sulfamethazine	n.r	3,51 – 4,41	Industrial	Coréia do Sul	(Park and Lee, 2018)
	Sulfamethazine	95,24 - 1814	41,1 – 260,8	Urbano	Singapura, Espanha	(García-Galán et al., 2020; Tran et al., 2016)
	Sulfametazina	ND – 11,65	n.r	Hospitalar	China	(Wang et al., 2018)
	Sulfametazina	12 - 963	6,92 – 35,4	Pecuária	China	(Pan et al., 2020; Zhang et al., 2018)
	Sulfametoxazol	ND – 6060 †	1280 – 7710	Hospitalar	Brasil, China, Gana, Romênia, Espanha, Vietnã	(Azanu et al., 2018; Becker et al., 2020; Rodriguez-Mozaz et al., 2015; Szekeres et al., 2017; Thai et al., 2018; Wang et al., 2018)
	Sulfametoxazol	ND – 54.830	ND – 4090	Urbano	China, Gana, Itália, Quênia, Portugal, Singapura, Espanha, Suíça	(Azanu et al., 2018; Castiglioni et al., 2020; Gaffney et al., 2017; García-Galán et al., 2020; K'oreje et al., 2016; Pan et al., 2020; Renau- Pruñonosa et al., 2020; Santiago-Martín et al., 2020; Spataro et al., 2019; Tran et al., 2016)
	Sulfametoxazol	n.r	615 – 1380,,4	Urbano/industrial	França	(Chiffre et al., 2016)
	Sulfametoxazol	105 – 417,43	15 – 12.848	Urbano/Hospitalar	França, Espanha, Tunísia	(Dinh et al., 2017; Harrabi et al., 2018; Rodriguez- Mozaz et al., 2015)

Tabela A1. Faixa de concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ) de antibióticos detectados em efluente bruto e tratado de diferentes atividades humanas. (continuação)

Classe de Antibióticos	Molécula	Concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )		Tipo de efluente	País	Referências
	Sulfametoxazol	55 – 395	16 – 252.081,88	Industrial	Coréia do Sul, Vietnã	(Park and Lee, 2018; Thai et al., 2018)
	Sulfametoxazol	ND – 14.147	ND – 9.748	Pecuária	México, Vietnã	(León-Aguirre et al., 2019; Thai et al., 2018)
	Sulfamonometoxina	1790 – 134.000	35,2 – 319	Pecuária	China	(Zhang et al., 2018)
	Sulfapiridina	ND – 2300	ND – 1500	Urbano	Portugal	(Gaffney et al., 2017)
	Sulfapiridina	310,03 – 365,5	200,33 – 263,3	Urbano/Hospitalar	Tunísia	(Harrabi et al., 2018)
	Sulfatiazol	n.r	3,35 – 21,67	Industrial	Coréia do Sul	(Park and Lee, 2018)
<b>Tetraciclina</b>						
	Clortetraciclina	16 - 24	n.r	Hospitalar	Gana	(Azanu et al., 2018)
	Clortetraciclina	9,2 – 15.911	6 – 1986	Urbano	Gana, Itália, Singapura	(Azanu et al., 2018; Spataro et al., 2019; Tran et al., 2016)
	Clortetraciclina	ND – 14.300	ND – 228	Pecuária	China	(Zhang et al., 2018; Zhu et al., 2020)
	Doxiciclina	<LOQ - 1140	ND – 111	Pecuária	China	(Zhang et al., 2018)
	Doxiciclina	24 – 120	n.r	Hospitalar	Gana	(Azanu et al., 2018)
	Doxiciclina	21 – 153	14 – 49	Urbano	Gana	(Azanu et al., 2018)
	Metaciclina	ND – 918.000	<LOQ – 80,6	Pecuária	China	(Zhang et al., 2018)
	Minociclina	730,9 – 3808	ND	Urbano	Singapura	(Tran et al., 2016)

Tabela A1. Faixa de concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ) de antibióticos detectados em efluente bruto e tratado de diferentes atividades humanas. (continuação)

Classe de Antibióticos	Molécula	Concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )		Tipo de efluente	País	Referências
	Oxitetraciclina	4,3 – 30,049	2,4 – 2014	Urbano	Gana, Singapura	(Azanu et al., 2018; Tran et al., 2016)
	Oxitetraciclina	75 – 1727,05	n.r	Hospitalar	China, Gana	(Azanu et al., 2018; Wang et al., 2018)
	Oxitetraciclina	ND – 76.400	ND – 1820	Pecuária	China, México	(León-Aguirre et al., 2019; Zhang et al., 2018; Zhu et al., 2020)
	Tetraciclina	ND – 1598,26	n.r	Hospitalar	China, Gana, Romênia	(Azanu et al., 2018; Szekeres et al., 2017; Wang et al., 2018)
	Tetraciclina	n.r	ND – 173	Urbano/Hospitalar	França	(Dinh et al., 2017)
	Tetraciclina	13 - 12340	11 – 1536	Urbano	Gana, Singapura	(Azanu et al., 2018; Tran et al., 2016)
	Tetraciclina	n.r	30 – 230	Urbano/industrial	China	(Wang et al., 2020)
	Tetraciclina	102 – 1730	ND – 418	Pecuária	China	(Zhang et al., 2018; Zhu et al., 2020)
$\beta$ -lactâmicos						
	Tazobactam	ND – 10260	n.r	Hospitalar	Romênia	(Szekeres et al., 2017)

Tabela A1. Faixa de concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ) de antibióticos detectados em efluente bruto e tratado de diferentes atividades humanas. (continuação)

Classe de Antibióticos	Molécula	Concentração ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )		Tipo de efluente	País	Referências
Outros						
	Cloranfenicol	ND – 160	ND – 5	Urbano	Quênia, Singapura	(K'oreje et al., 2016; Tran et al., 2016)
	Metronidazol	3,5 – 3000	3 – 170	Urbano	Antártica, Gana, Quênia, Espanha	(Azanu et al., 2018; García-Galán et al., 2020; Hernández et al., 2019; K'oreje et al., 2016; Santiago-Martín et al., 2020)
	Metronidazol	92,49 – 1399,73 †	n.r	Hospitalar	Brasil, Gana, Espanha	(Azanu et al., 2018; Becker et al., 2020; Rodríguez-Mozaz et al., 2015)
	Metronidazol	ND – 75,47	ND – 109,58	Urbano/Hospitalar	Espanha	(Rodríguez-Mozaz et al., 2015)
	Triclosan	341,1 – 743,9	8,4 – 120,8	Urbano	Singapura	(Tran et al., 2016)
	Triclocarbam	423,9 – 933,9	49,1 – 263,9	Urbano	Singapura	(Tran et al., 2016)

ND: não detectado; <LOQ: menor que o limite de quantificação; n.r: não reportado; †: Becker et al. (2020) detectou o antibiótico no efluente, porém sua concentração não foi divulgada; ▲: os dados de Santiago-Martín et al. (2020) foram apresentados graficamente (o valor pode não ser exato).

## APÊNDICE 2 – Código para coleta dos dados voltagem pelo Arduino UNO®

Este código foi desenvolvido a partir do modelo genérico “Arduino Analog Sensor Sample Code” disponibilizado por Microsoft Education Workshop – Hacking STEM (<https://create.arduino.cc/projecthub/HackingSTEM/stream-data-from-arduino-into-excel-flbede>).

```
// -----
// Voltage Sensor Code for use with Data Streamer Excel add-in
// more info available from Microsoft Education Workshop at
// http://aka.ms/hackingSTEM
//
// This project uses an Arduino UNO microcontroller board. More information can
// be found by visiting the Arduino website:
// https://www.arduino.cc/en/main/arduinoBoardUno
//
// This code reads the voltage generated in four MFC reactors during their
// long-term operation with antibiotics and prints it to serial.
//
// Comments, contributions, suggestions, bug reports, and feature requests
// are welcome! For source code and bug reports see:
// http://github.com/\[TODO github path to Hacking STEM\]
//
// Copyright 2019, Jen Fox Microsoft EDU Workshop - HackingSTEM
//
// Permission is hereby granted, free of charge, to any person obtaining a copy
// of this software and associated documentation files (the "Software"), to deal
// in the Software without restriction, including without limitation the rights to
// use, copy, modify, merge, publish, distribute, sublicense, and/or sell copies
// of the Software, and to permit persons to whom the Software is furnished to do
// so, subject to the following conditions:
//
// The above copyright notice and this permission notice shall be included in all
// copies or substantial portions of the Software.
//
// THE SOFTWARE IS PROVIDED "AS IS", WITHOUT WARRANTY OF ANY KIND, EXPRESS OR
// IMPLIED, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO THE WARRANTIES OF MERCHANTABILITY,
// FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE AND NONINFRINGEMENT. IN NO EVENT SHALL THE
// AUTHORS OR COPYRIGHT HOLDERS BE LIABLE FOR ANY CLAIM, DAMAGES OR OTHER
// LIABILITY, WHETHER IN AN ACTION OF CONTRACT, TORT OR OTHERWISE, ARISING FROM,
// OUT OF OR IN CONNECTION WITH THE SOFTWARE OR THE USE OR OTHER DEALINGS IN THE
// SOFTWARE.
// -----

// Program variables -----
const int CTL = A0; //Define analog pin A0 as MFC-CTL
float volt_CTL;
```

```

const int CIP = A1; //Define analog pin A1 as MFC-CIP
float volt_CIP;

const int LEV = A2; //Define analog pin A2 as MFC-LEV
float volt_LEV;

const int NOR = A3; //Define analog pin A3 as MFC-NOR
float volt_NOR;

float Time_OP;

// Serial data variables -----

//Incoming Serial Data Array
const byte kNumberOfChannelsFromExcel = 6;

// Interval between serial writes
long kSerialInterval = 60000;
// Timestamp to track serial interval
unsigned long serialPreviousTime;

char* arr[kNumberOfChannelsFromExcel];

// SETUP -----

void setup() {
  Serial.begin(9600);
  //Starts arduino serial communication module at a speed of 9600 ms
  analogReference (INTERNAL);
  //Changes ADC reference voltage to 1.1V to improve reading resolution
}

// START OF MAIN LOOP -----

void loop() {

  // Gather and process sensor data
  processSensors();

  // Read Excel variables from serial port (Data Streamer)
  processIncomingSerial();

  // Process and send data to Excel via serial port (Data Streamer)
  processOutgoingSerial();

}

// SENSOR INPUT CODE-----
void processSensors()
{

```

```

//Read voltage at MFC-CTL:
volt_CTL = (analogRead(CTL)*1.1/1023)*1000;

//Read voltage at MFC-CIP:
volt_CIP = (analogRead(CIP)*1.1/1023)*1000;

//Read voltage at MFC-LEV:
volt_LEV = (analogRead(LEV)*1.1/1023)*1000;

//Read voltage at MFC-NOR:
volt_NOR = (analogRead(NOR)*1.1/1023)*1000;

//Operating time:
Time_OP = millis()/60000;

}

// OUTGOING SERIAL DATA PROCESSING CODE-----

void sendDataToSerial()
{

//Send voltage data of each MFC separated by a comma:

Serial.print(Time_OP);
Serial.print(",");
Serial.print(volt_CTL);
Serial.print(",");
Serial.print(volt_CIP);
Serial.print(",");
Serial.print(volt_LEV);
Serial.print(",");
Serial.print(volt_NOR);

Serial.println(); // Add final line ending character only once
}

//-----
// DO NOT EDIT ANYTHING BELOW THIS LINE
//-----

// OUTGOING SERIAL DATA PROCESSING CODE-----
void processOutgoingSerial()
{
// Enter into this only when serial interval has elapsed
if((millis() - serialPreviousTime) > kSerialInterval)
{
// Reset serial interval timestamp
serialPreviousTime = millis();
sendDataToSerial();
}
}
}

```



```

// INCOMING SERIAL DATA PROCESSING CODE-----
void processIncomingSerial()
{
    if(Serial.available()){
        parseData(GetSerialData());
    }
}

// Gathers bytes from serial port to build inputString
char* GetSerialData()
{
    static char inputString[64]; // Create a char array to store incoming data
    memset(inputString, 0, sizeof(inputString));
    // Clear the memory from a pervious reading
    while (Serial.available()){
        Serial.readBytesUntil('\n', inputString, 64);
        //Read every byte in Serial buffer until line end or 64 bytes
    }
    return inputString;
}

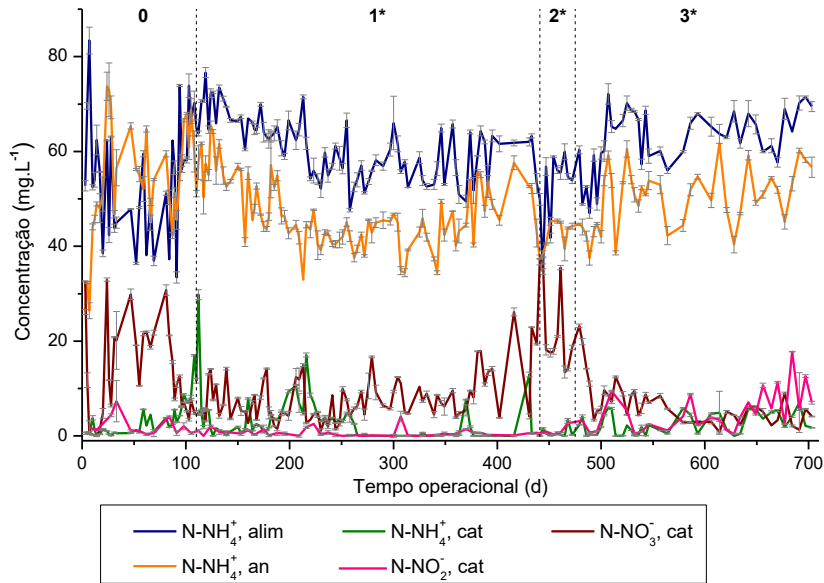
// Seperate the data at each delimiter
void parseData(char data[])
{
    char *token = strtok(data, ",");
    // Find the first delimiter and return the token before it
    int index = 0; // Index to track storage in the array
    while (token != NULL){ // Char* strings terminate w/ a Null character.
        //We'll keep running the command until we hit it
        arr[index] = token; // Assign the token to an array
        token = strtok(NULL, ","); // Conintue to the next delimiter
        index++; // incremenet index to store next value
    }
}

```

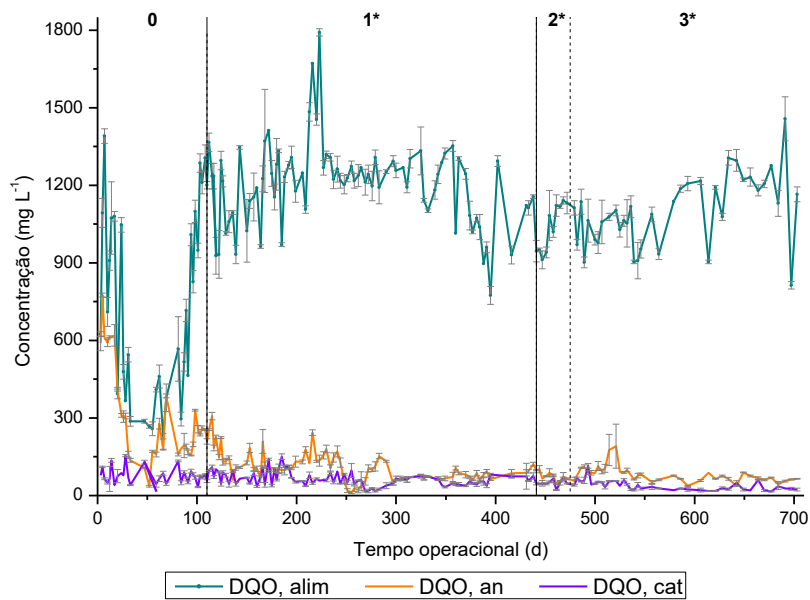
### APÊNDICE 3 – Monitoramento das formas nitrogenadas e da DQO nas MFCs

Figura A1 – Perfil das concentrações das (a) formas nitrogenadas e (b) DQO nos compartimentos da MFC-CTL. Alim: alimentação; an: saída do ânodo; cat: saída do cátodo.

(a)



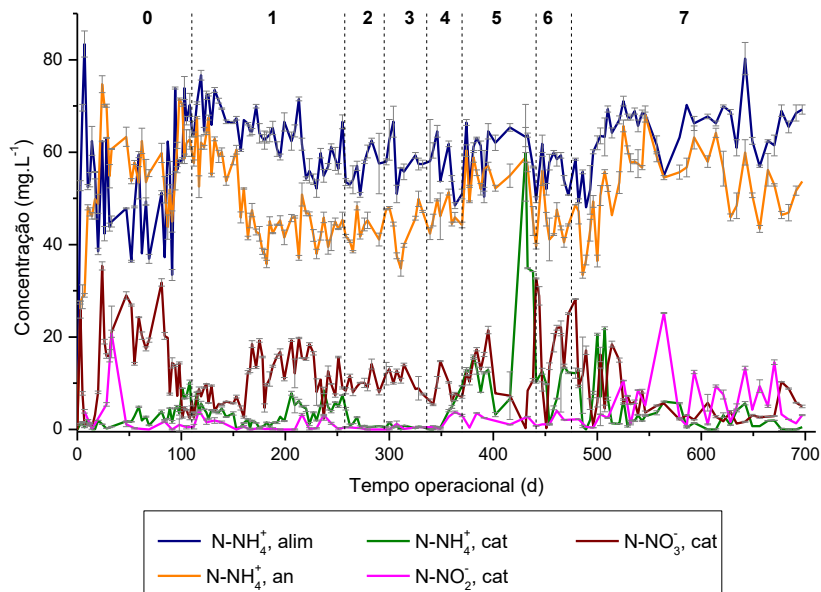
(b)



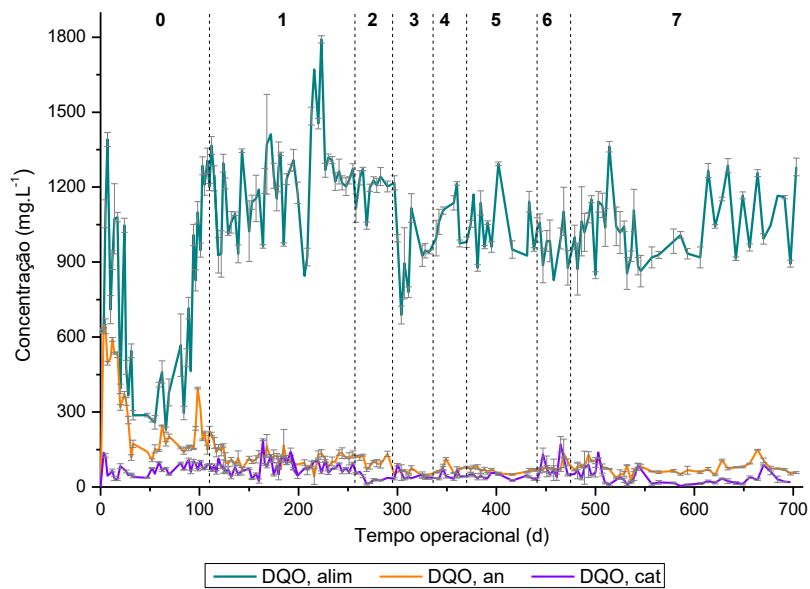
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura A2 – Perfil das concentrações das (a) formas nitrogenadas e (b) DQO nos compartimentos da MFC-CIP. Alim: alimentação; an: saída do ânodo; cat: saída do cátodo.

(a)



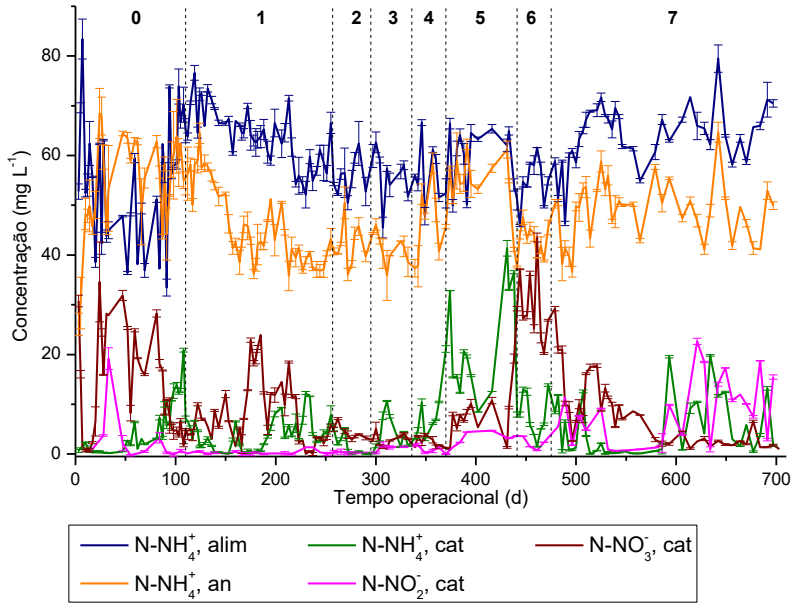
(b)



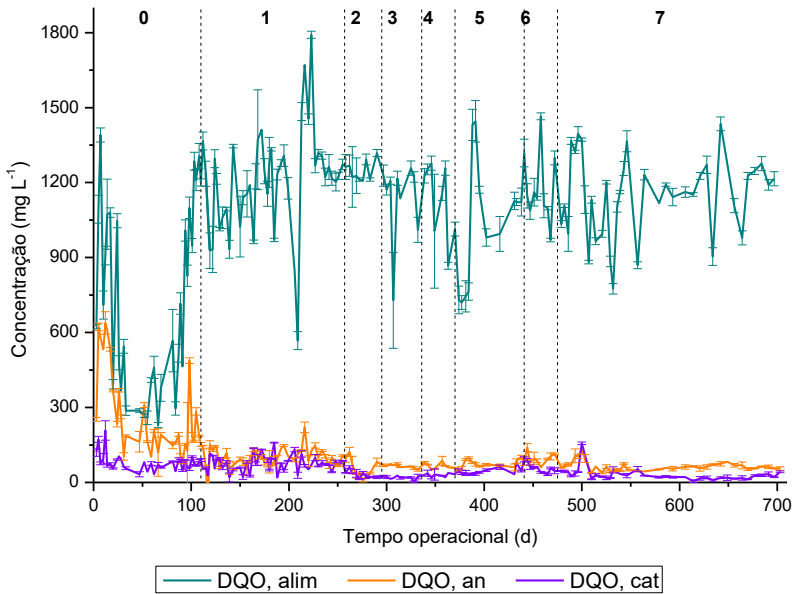
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura A3 – Perfil das concentrações das (a) formas nitrogenadas e (b) DQO nos compartimentos da MFC-LEV. Alim: alimentação; an: saída do ânodo; cat: saída do cátodo.

(a)



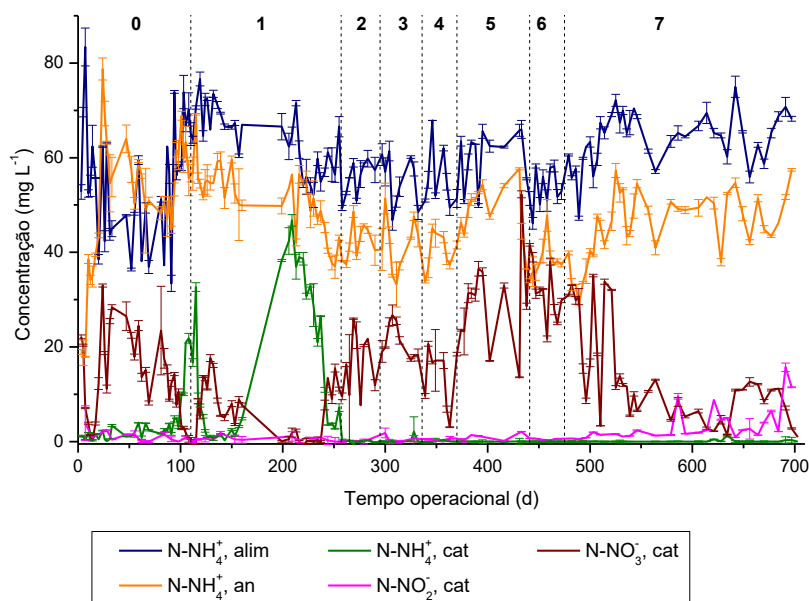
(b)



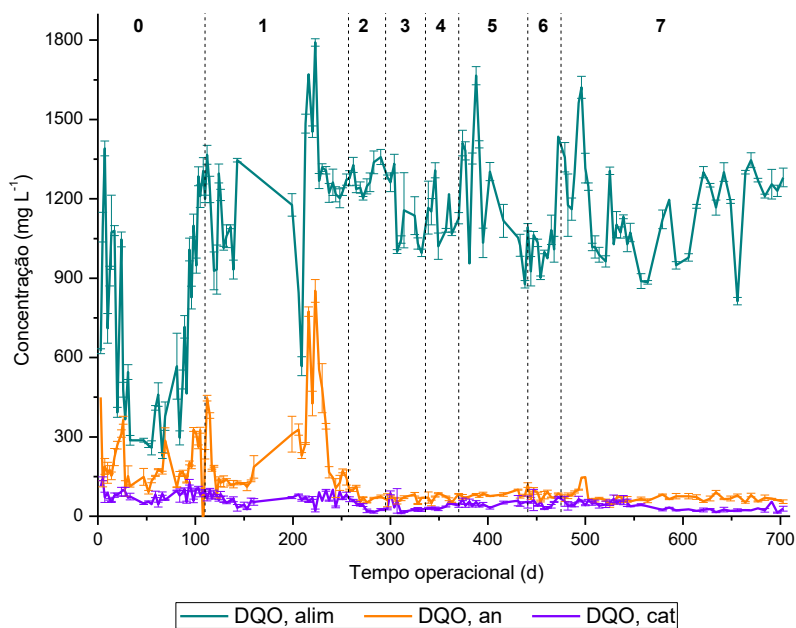
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura A4 – Perfil das concentrações das (a) formas nitrogenadas e (b) DQO nos compartimentos da MFC-NOR. Alim: alimentação; an: saída do ânodo; cat: saída do cátodo.

(a)



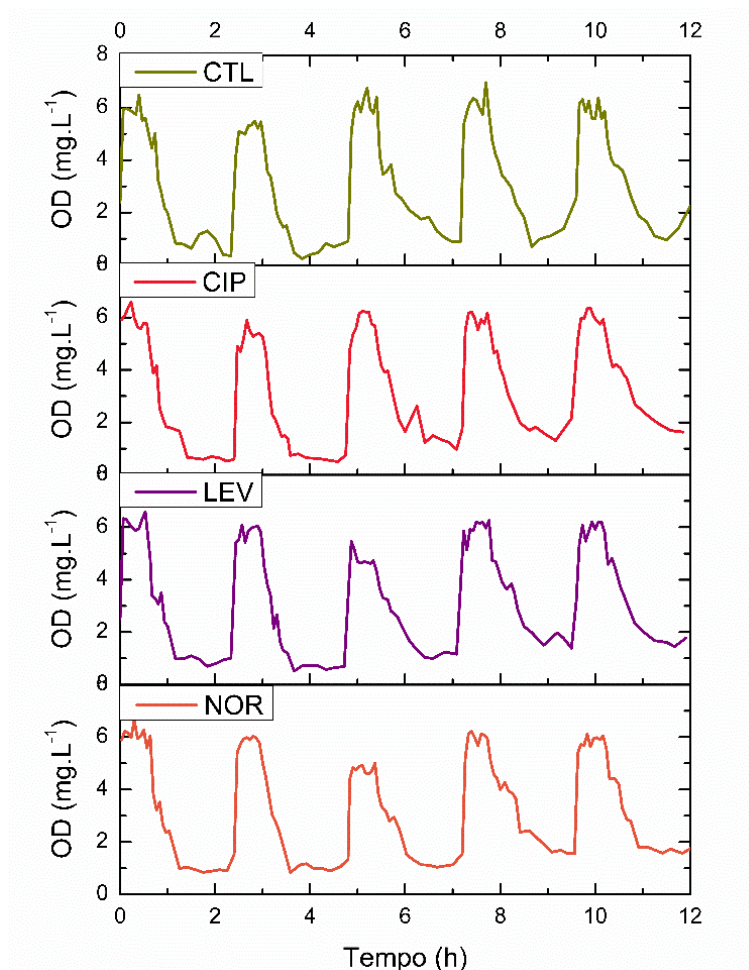
(b)



Fonte: Elaborado pela autora.

**APÊNDICE 4 – Monitoramento das formas nitrogenadas e da DQO nas MFCs**

Figura A1 – Perfil de concentração de oxigênio dissolvido (OD) no cátodo das MFCs.



Fonte: Elaborado pela autora.