



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA -
PPGBIOTEC



**GERAÇÃO DE ENERGIA A PARTIR DA DEGRADAÇÃO DE ÓLEOS
RESIDUAIS DE FRITURA POR *Shewanella putrefaciens* EM CÉLULA
A COMBUSTÍVEL MICROBIANO**

JENNIFER SALGADO DA FONSECA

MANAUS-AM

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA - PPGBIOTEC



JENNIFER SALGADO DA FONSECA

GERAÇÃO DE ENERGIA A PARTIR DA DEGRADAÇÃO DE ÓLEOS
RESIDUAIS DE FRITURA POR *Shewanella putrefaciens* EM CÉLULA
A COMBUSTÍVEL MICROBIANO

Orientadora: Professora Doutora Maria Cristina dos Santos (UFAM)
Coorientador: Professor Doutor Ricardo Lima Serudo (UEA)

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Biotecnologia da Universidade
Federal do Amazonas, como
requisito para obtenção de título de
Mestre em Biotecnologia.

Manaus - AM
2017

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

F676g Fonseca, Jennifer Salgado da
Geração de energia a partir da degradação de óleos residuais de fritura por *Shewanella putrefaciens* em Célula a Combustível Microbiano / Jennifer Salgado da Fonseca. 2017
112 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Maria Cristina dos Santos
Coorientador: Ricardo Lima Serudo
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Célula a Combustível Microbiano. 2. Planejamento experimental. 3. Óleo de fritura. 4. *Shewanella*. I. Santos, Maria Cristina dos II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

TERMO DE APROVAÇÃO

JENNIFER SALGADO DA FONSECA

GERAÇÃO DE ENERGIA A PARTIR DA DEGRADAÇÃO DE ÓLEOS
RESIDUAIS DE FRITURA POR *Shewanella putrefaciens* EM CÉLULA
A COMBUSTÍVEL MICROBIANO

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas pela seguinte banca examinadora:

Professora Doutora Maria Cristina dos Santos
Orientadora - DP/ ICB/ UFAM

Professor Doutor Carlos Gustavo Nunes da Silva
DG/ ICB/ UFAM

Professor Doutor Jozias Parente
Departamento de Engenharia Elétrica/ UEA

MANAUS

2017

Agradecimentos

A Deus e Nossa Senhora por tudo.

À Professora Doutora Maria Cristina dos Santos, meus mais sinceros agradecimentos. Você é um exemplo de profissional e uma pessoa incrível. Obrigada pelos conhecimentos transmitidos sempre com muita paciência, humor e estímulo constante para meu desenvolvimento.

Ao Professor Doutor Ricardo Serudo, pela oportunidade, apoio e ideias que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho. Mas obrigada, especialmente, por mostrar que nem todos os becos são sem saída. Na verdade, muitas vezes é uma janela para novos ângulos que não estávamos vendo antes. O senhor é uma pessoa incrível com quem tive todo o prazer de trabalhar e conviver.

Aos membros do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, pelo apoio ao longo destes dois últimos anos, sobretudo aos professores que fazem parte do corpo docente e que de certo modo contribuíram para minha formação profissional.

Aos responsáveis pelo Laboratório ILUM e de Biotecnologia do HUB, que ofereceu totais condições e suporte para realização deste trabalho.

À Professora Doutora Cláudia Candida da Universidade do Estado do Amazonas (UEA) por abrir as portas do Laboratório de Raio X para realizar as análises de metais e ao Hugo Rafael por ajudar nas análises e, com toda a paciência, explicar como interpretar os dados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de Bolsa de Mestrado.

Aos meus pais, Walmiza e Waldemar, muito obrigada pelo amor, carinho e apoio, sempre incondicionais, ao longo de toda minha vida. Vocês são os verdadeiros mercedores desta vitória.

Aos meus avós, Waldemar, Rosalina, Walter, Neomiza, Santina e Clóvis por acreditarem e apostarem sempre no meu potencial. Vocês sempre tiveram uma palavra

de sabedoria e humor, que apenas avós tem, para me fazer erguer a cabeça e seguir em frente.

À minha tia e madrinha, Filomena Salgado, por sempre dizer que confia no rumo que eu decidi seguir minha vida e, constantemente, afirmar que esse é apenas o começo do futuro que ainda está por vir.

A todos os amigos do Laboratório ILUM e Biotecnologia que estiveram ao meu lado ao longo desta caminhada, sobretudo o Waldomiro Rodrigues, o Johmar Souza, a Juliene De Marco, o Matheus Rodrigues, a Fabiane Pinho, a Claudiane Alencar, a Syra Mubarak, o Sol Praia, o Brayan Andrew e o Philipi Ricardo. Vocês tornavam o laboratório um local de trabalho agradável, harmonioso e muito divertido. Vocês são como uma segunda família para mim.

A todos os colegas do Café com Ciência, por onde passei um curto período de tempo e fui muito bem recebida. Vocês realmente me fizeram ver o projeto com outros olhos e abriram minha mente para muitas outras possibilidades.

Aos meus melhores amigos de uma vida inteira, Sayara Santos e Charles Marques, por terem ficado ao meu lado durante mais esta caminhada.

Aos amigos, Hallana Cristina, Igor Lobo, Thiza Souza, Felipe Junnot, Janilson Serudo, Priscila Mory, Pamela Mory, Patrícia Rocha, Júlia Ribeiro, Alessandra Cavalcante, Felipe Valente, Moisés Tavares, Vinícius Salomão e Rafaela Oliveira, por tornarem minha vida mais leve e sempre se mostrarem dispostos a me ajudar a qualquer instante.

**“O que prevemos raramente ocorre.
O que menos esperamos, geralmente, acontece”.**

Benjamin Disraeli

RESUMO

Células combustíveis microbianas (CCM) são dispositivos eletroquímicos que exploram a habilidade de algumas espécies de micro-organismos utilizarem eletrodos como aceptores finais de elétrons em seu metabolismo. O interesse nesta tecnologia está associado à possibilidade de empregar diferentes compostos, inclusive efluentes domésticos e industriais, na geração de energia elétrica. Neste contexto, o estudo de CCM que usem óleos de fritura residuais (OFR) como substrato ganha atenção por trazer uma alternativa tanto do ponto de vista ambiental quanto energético. Assim o objetivo deste trabalho foi modelar as melhores condições para a simultânea degradação destes OFR e geração de corrente elétrica de uma célula combustível microbiana inoculada com *Shewanella putrefaciens*. Para tal fim foi empregado um planejamento fatorial e planejamento de composto central (PCC), no qual o metabolismo microbiano foi estudado sob os efeitos de pH, temperatura, agitação do meio, concentração do óleo e tempo. Os dados experimentais foram obtidos em uma CCM de dois compartimentos, um ânodo e um cátodo, separados por uma membrana de troca de prótons. O ânodo foi inoculado com *S. putrefaciens* em condições de anaerobiose e alimentado com OFR, enquanto, o cátodo foi alimentado com água da torneira e água da torneira salinizado. No ânodo, foi empregado como eletrodo pano de grafite imobilizado com tela de polipropileno e no cátodo um dissipador de calor de alumínio. Ambos estavam conectados externamente por uma resistência elétrica. Durante a operação do sistema, o compartimento do ânodo foi operado em regime de batelada. Os resultados ilustram que em menos de dois dias de operação a geração de corrente elétrica já havia atingido um valor estável, comprovando a capacidade exoeletrogênica da bactéria. Observou-se que a *S. putrefaciens* pouco desenvolveu biofilme na superfície dos eletrodos com amostras do óleo do Restaurante Universitário (RU), mas aderiu ao eletrodo tendo óleo doméstico como substrato, demonstrando um mecanismo direto de transferência eletrônica extracelular para estabelecer o contato elétrico com o eletrodo. De maneira geral, a modelagem matemática da degradação dos óleos para simultânea geração de corrente elétrica foi possível, necessitando de maiores estudos da composição química dos óleos para a avaliação da eficiência da CCM com os parâmetros químicos, uma vez que só foi possível analisar do ponto de vista dos parâmetros elétricos. Além disso, foi possível verificar que a quantidade de colônias bacterianas não interfere na geração de tensão, sendo este gerado de forma estável com pequenas concentrações celulares.

Palavras-chaves: célula a combustível microbiano, PCC, óleo de fritura residual, *Shewanella*.

ABSTRACT

Microbial fuel cells (MFC) are electrochemical devices that exploit the ability of some species of microorganisms to use electrodes as final acceptors of electrons in their metabolism. The interest in this technology is associated with the possibility of using different compounds, including domestic and industrial effluents, in the generation of electric energy. In this context, the study of MFC that use residual frying oils (RFO) as substrate gains attention by bringing an alternative both from an environmental and an energetic point of view. The objective of this work was to model the best conditions for the simultaneous degradation of these RFO and electric current generation of a microbial fuel cell inoculated with *Shewanella putrefaciens*. For this purpose, a factorial and central compound planning (CCP) design was used, in which microbial metabolism was studied under the effects of pH, temperature, medium agitation, oil concentration and time. The experimental data were obtained in a two-chamber MFC, an anode and a cathode, separated by a proton exchange membrane. The anode was inoculated with *S. putrefaciens* under anaerobic conditions and fed with RFO, while the cathode was fed with tap water and salinized tap water. In the anode, an electrode was used as a graphite cloth with a polypropylene mesh and an aluminum heatsink on the cathode. Both were connected externally by an electrical resistance. During the operation of the system, the anode compartment was operated in batch mode. The results show that in less than two days of operation the current generation had reached a stable value, proving the exoelectrogenic capacity of the bacteria. It was observed that *S. putrefaciens* did not develop a biofilm on the surface of the electrodes with samples from the University Restaurant (UR), but adhered to the electrode with domestic oil as a substrate, demonstrating a direct mechanism of extracellular electron transfer to establish the electrical contact with The electrode. In general, the mathematical modeling of the degradation of the oils for the simultaneous generation of electric current was possible, requiring further studies of the chemical composition of the oils for the evaluation of the efficiency of the MFC with the chemical parameters, since it was only possible to analyze from the point of electrical parameters. In addition, it was possible to verify that the amount of bacterial colonies does not interfere in the generation of tension, being this one generated of stable form with small cellular concentrations.

Key-words: Microbial fuel cell, CCP, residual frying oil, *Shewanella*.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AGENEAL – Agência Municipal de Energia de Almada;

AFC – Alkaline Fuel Cell;

ATP – Adenosina trifosfato;

CCM – Célula a Combustível Microbiano;

CE – Contra-Eletrodo;

CoA- Coenzima A;

CT&I – Ciência, Tecnologia e Inovação;

DMFC – Direct Methanol Fuel Cell;

DNA – Deoxyribonucleic acid;

ddp – Diferença de potencial;

ER – Eletrodo de Referência;

ET – Eletrodo de Trabalho;

EST – Escola Superior de Tecnologia;

EUA – Estados Unidos da América;

FISH – Fluorescence in situ Hybridization;

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística;

LB – Luria-Bertani;

MCFC – Molten Carbonate Fuel Cell;

MTP – Membrana de Troca de Prótons;

MW – Megawatts;

NADH – Nicotinamide adenine dinucleotide;

NERAM - Modelo de Negócio de Energia Elétrica em Comunidades Isoladas no Amazonas;

NCBI – National Center of Biotechnology Information;

OCDE – Organização para a Coordenação e Desenvolvimento Econômico;

OD – Óleo Doméstico;

ODAT – Óleo doméstico no ânodo com água da torneira no cátodo;

ODATS – Óleo doméstico no ânodo com água da torneira e sal de cozinha no cátodo;

OFR – Óleo de Fritura Residual;

ONS – Operador Nacional do Sistema;

PAFC – Phosphoric Acid Fuel Cell;

PCR – Polymerase Chain Reaction;

PEMFC – Proton Exchange Membrane Fuel Cell;

PEV – Ponto de Entrega Voluntária;

pH– Potencial Hidrogeniônico;

PIB – Produto Interno Bruto;

PTFE – Politetrafluoretileno;

RPM – Rotações por minuto;

RU – Restaurante Universitário;

RUAT – Óleo do RU no ânodo com água da torneira no cátodo;

RUATS – Óleo do RU no ânodo com água da torneira e sal de cozinha no cátodo;

S. putrefaciens – Shewanella putrefaciens;

SEMULP - Secretaria Municipal de Limpeza Pública;

SIN – Sistema Interligado Nacional;

UEA – Universidade do Estado do Amazonas;

VC – Voltametria Cíclica;

LISTA DE SÍMBOLOS

% – Por cento;

°C – Graus Celsius;

A_r – área do retângulo

A_{sco} – área do semicírculo oco

A_{scp} – área do semicírculo preenchido

b – base;

Cl – Cloro;

d_{sco} – diâmetro do semicírculo oco;

d_{scp} – diâmetro do semicírculo preenchido;

e^- – Elétrons;

h – altura

H^+ – Prótons;

I – Corrente elétrica;

J – Densidade da corrente elétrica;

m – Massa;

Na – Sódio;

Q_d – Quantidade de dentes;

Q_{ed} – Quantidade de entre-dentes;.

Q_v – Quantidade de versos;

r – raio;

R_{ext} – Resistência;

S – Área da superfície projetada;

z – Íon;

Σ – soma;

Ω – ohm.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Perfil de produção de energia em cada região do Brasil no ano de 2015.....	22
Figura 2: Perfil de produção de energia no Amazonas em 2015.....	25
Figura 3: Pontos de Entrega Voluntária separados por zonas na cidade de Manaus.....	30
Figura 4: <i>Shewanella putrefaciens</i> cultivada em meio Luria-Bertani (LB) a 37°C.....	32
Figura 5: β -oxidação dos ácidos graxos saturados.....	34
Figura 6: Genes da via da β -oxidação ativados, em condições anaeróbicas, em <i>Shewanella putrefaciens</i>	35
Figura 7: Cascata de citocromos responsáveis pelo sistema de transporte de elétrons do gênero <i>Shewanella</i> , onde ocorre a redução de Fe de forma indireta (uso de flavinas) e direta.....	36
Figura 8: Esquema representativo do sistema de transporte de elétrons da <i>Shewanella putrefaciens</i> por (A) contato direto, (B) nanofios e (C) uso de carreadores químicos em contato com a superfície de um eletrodo.....	37
Figura 9: Esquema simplificado dos principais tipos de Células a Combustível.....	40
Figura 10: Representação da Célula a Combustível Microbiano.....	42
Figura 11: Colonização do ânodo para a formação de biofilme e transferência de elétrons em uma Célula a Combustível Microbiano.....	43
Figura 12: Planejamento do composto central de três fatores. (•) fatorial, (▪) axial e (◻) central.....	48
Figura 13: Protótipo desmembrado.....	52
Figura 14: (A) Vista frontal e (B) vista em corte frontal da (C) flange do protótipo.....	53
Figura 15: (A) Vista lateral direita, (B) vista superior e (C) vista lateral direita em corte do (D) tubo roscado do protótipo.....	53
Figura 16: Montagem do ânodo.....	54
Figura 17: Representação do ânodo de pano de grafite.....	54
Figura 18: Áreas 1, 2 e 3 do cátodo de alumínio.....	55
Figura 19: Área 4 do cátodo de alumínio.....	56
Figura 20: Áreas 5 e 6 do cátodo de alumínio.....	57
Figura 21: Áreas 7, 8 e 9 do cátodo de alumínio.....	57
Figura 22: Placa com resistores SMD soldados em placa de circuito e conectados a pinos.....	60
Figura 23: Coleta de amostras bacterianas da CCM, diluição em série das mesmas e plaqueamento.....	61
Figura 24: Célula para análise de metais junto ao papel de celulose contendo as amostras de óleo doméstico e do RU.....	63
Figura 25: Consumo de óleos vegetais pela população manauara.....	67
Figura 26: Geração de óleos residuais em residências de Manaus.....	67

Figura 27: Destinação dos óleos de fritura residuais em Manaus.....	68
Figura 28: Conhecimento a cerca de serviços de coleta e reciclagem de óleos residuais em Manaus.....	68
Figura 29: Interesse em dispositivos que usam óleos de fritura residuais para gerar energia elétrica.....	69
Figura 30: Interesse na aquisição de dispositivos que contenham micro-organismos que degradam óleo residual para gerar energia.....	69
Figura 31: Diagrama de Pareto com os fatores (eixo y) e a estimativa dos efeitos (eixo x) com $p = 0,05$ da análise do óleo doméstico.....	72
Figura 32: Valores preditos e observados do composto central do OD.....	73
Figura 33: Superfície de nível obtida a partir da equação quadrática obtida no estudo da influência dos fatores pH e temperatura na taxa de degradação do OD na condição de 20% de óleo.....	75
Figura 34: Superfície de nível obtida a partir da equação quadrática obtida no estudo da influência dos fatores concentração do óleo e temperatura na taxa de degradação do OD na condição de pH 4,3.....	76
Figura 35: Superfície de nível obtida a partir da equação quadrática obtida no estudo da influência dos fatores concentração do óleo e pH na taxa de degradação do OD na condição de 28°C.....	76
Figura 36: Diagrama de Pareto com os fatores (eixo y) e a estimativa dos efeitos (eixo x) com $p = 0,05$ da análise da amostra do óleo do RU.....	77
Figura 37: Valores preditos e observados do composto central do RU.....	78
Figura 38: Superfície de nível obtida a partir da equação quadrática obtida no estudo da influência dos fatores pH e temperatura na taxa de degradação do RU na condição de 10% de óleo.....	79
Figura 39: Superfície de nível obtida a partir da equação quadrática obtida no estudo da influência dos fatores concentração do óleo e temperatura na taxa de degradação do RU na condição de pH 4.....	79
Figura 40: Superfície de nível obtida a partir da equação quadrática obtida no estudo da influência dos fatores concentração do óleo e pH na taxa de degradação do RU na condição de 32,5°C.....	80
Figura 41: Ensaios de degradação de óleo do RU em diferentes faixas de pH (5 e 7) e temperatura (28°C e 37°C) com a ocorrência da formação de biofilme em condições ácidas.....	81
Figura 42: Amostra em condições ácidas do planejamento do composto central centrifugada.....	81
Figura 43: <i>Shewanella putrefaciens</i> em meio fermentativo com 10% de óleo do RU e pH 4, incubada a 25°C a 150 rpm, após 9 dias.	83
Figura 44: <i>Shewanella putrefaciens</i> em meio fermentativo com 10% de óleo doméstico e pH 4, incubada a 28°C sem agitação, após 9 dias.....	84
Figura 45: Biofilme formado no meio com óleo do RU (A e B) e óleo doméstico (C e D), após nove dias de cultivo, em condições anaeróbicas, em diferentes objetivas no microscópio óptico.....	85

Figura 46: Eletrodo de pano de carbono com biofilme com óleo do RU (A e B) e óleo doméstico (C e D), após nove dias de cultivo, em condições anaeróbicas, em diferentes objetivas no microscópio óptico.....	86
Figura 47: Cromatogramas dos óleos: (A) doméstico e (B) do RU.....	87
Figura 48: Cromatogramas da degradação do óleo do RU na CCM e produção de biomoléculas pela <i>Shewanella putrefaciens</i> após (A) 0 h, (B) 14 h e (C) 22 h.....	88
Figura 49: Cromatogramas da degradação do óleo do RU na CCM e produção de biomoléculas pela <i>Shewanella putrefaciens</i> após (A) 36 h e (B) 40 h.....	89
Figura 50: Cromatogramas da degradação do óleo do RU na CCM e produção de biomoléculas pela <i>Shewanella putrefaciens</i> após 50 h.....	89
Figura 51: Curva de polarização da célula a combustível microbiano tendo como fonte de carbono óleo doméstico (em meio com pH 4) e óleo do RU (em meios com o pH 4 e pH6) no compartimento anódico e água na torneira no compartimento catódico.....	92
Figura 52: Avaliação das densidades de corrente e de potência sob a curva de polarização com óleo doméstico como fonte de carbono.....	93
Figura 53: Avaliação das densidades de corrente e de potência sob a curva de polarização com óleo do RU em pH 6 como fonte de carbono.....	93
Figura 54: Avaliação das densidades de corrente e de potência sob a curva de polarização com óleo do RU em pH 4 como fonte de carbono.....	94
Figura 55: Curva de tensão com óleo doméstico e do RU (pH 4 e pH 6) em diferentes condições do eletrólito catiônico.....	94
Figura 56: Relação entre o crescimento bacteriano e a geração de tensão.....	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Levantamento socioeconômico e energético das comunidades da margem do Rio Solimões do projeto NERAM.....	26
Tabela 2 – Consumo mundial de óleos vegetais (milhões de toneladas) por tipo de óleo de 2012/13 a 2016/2017.....	28
Tabela 3 – Consumo mundial de óleos vegetais segundo os usos (alimentar e industrial), em milhões de toneladas, em 2007 e 2016.....	28
Tabela 4 – Mercado brasileiro de óleos vegetais na safra 2013/2014 (mil toneladas).....	29
Tabela 5 – Níveis das variáveis definidas para o planejamento fatorial.....	47
Tabela 6 – Planejamento fatorial do composto central utilizado.....	49
Tabela 7 – Fatores utilizados no planejamento fatorial composto central com seus respectivos níveis.....	50
Tabela 8 – Tabela de ANOVA para ajuste, método dos mínimos quadrados, de um modelo linear nos parâmetros. n_i = número de repetições no nível i ; m = número de níveis distintos da variável independente; $n = \sum n_i$ = número total de observações; p = número de parâmetros do modelo.....	51
Tabela 9 – Análise da competitividade da CCM proposta utilizando modelo de cinco de forças de Porter.....	64
Tabela 10 – Entrevistados divididos por local de moradia.....	66
Tabela 11 – Efeitos estimados dos ensaios com óleo doméstico.....	70
Tabela 12 – Efeitos estimados dos ensaios com óleo do RU.....	71
Tabela 13 – ANOVA dos ensaios com óleo doméstico.....	73
Tabela 14 – ANOVA dos ensaios do óleo do RU.....	77
Tabela 15: Moléculas presentes na amostra retirada da CCM após 50 horas de incubação.....	90
Tabela 16: Análise da composição de metais presentes no óleo doméstico e do RU em Espectrômetro de Fluorescência de Raio X.....	90
Tabela 17: Parâmetros elétricos (tensão, corrente, potência e energia) acumulados nos diferentes sistemas.....	96

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. OBJETIVOS.....	20
2.1 Objetivo geral.....	20
2.2 Objetivos específicos.....	20
3. REVISÃO.....	21
3.1 Panorama de energia no brasil.....	21
3.1.1. Panorama energético no Amazonas.....	23
3.2 Óleos vegetais.....	27
3.2.1 Consumo de óleo vegetal.....	27
3.2.2. Descarte e destinação dos óleos de fritura residuais.....	29
3.3. <i>Shewanella putrefaciens</i>	31
3.3.1 Classificação e morfologia.....	32
3.3.2 B-oxidação.....	33
3.3.3 Sistema de transporte de elétrons.....	35
3.3.4 Biofilme.....	37
3.4. Células a combustível.....	39
3.4.1 Células a combustível no Brasil.....	41
3.4.2. Célula a combustível microbiano.....	41
4. METODOLOGIA.....	45
4.1 Análise de competitividade da geração de energia usando célula a combustível microbiano (CCM).....	45
4.2 Pesquisa de opinião e mercado.....	46
4.3 Linhagem, cultivo e manutenção.....	46
4.4 Coleta de óleo.....	46
4.5 Tratamento das amostras.....	46
4.6 Planejamento de análise estatística e modelagem experimental.....	46
4.6.1 Planejamento fatorial 2^5	47
4.6.2 Planejamento experimental do composto central.....	48
4.6.3 Análise de variância.....	50
4.7 Formação de Biofilme no eletrodo.....	52
4.8 Construção da CCM.....	52
4.9 Parâmetros elétricos.....	54
4.9.1 Determinação da área de superfície dos eletrodos.....	54
4.9.2 Corrente elétrica.....	58
4.9.3 Potência.....	58
4.9.4 Energia.....	59
4.9.5 Densidade da Corrente elétrica.....	59
4.9.6 Densidade de potência.....	59
4.9.7 Curva de polarização.....	60
4.9.7 Curva de tensão.....	60
4.10 Análise do crescimento bacteriano em função da tensão gerada na CCM.....	61

4.11 Análise da composição química.....	62
4.11.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrofotômetro de massas (GC-MS).....	62
4.11.2 Análise de metais.....	62
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
5.1 Análise de competitividade da geração de energia usando célula a combustível microbiano (CCM).....	64
5.2 Pesquisa de opinião e mercado.....	66
5.3 Planejamento de análise estatística e modelagem experimental.....	70
5.3.1 Planejamento fatorial 2^5	70
5.3.2 Planejamento experimental do composto central.....	72
5.4 Formação de biofilme no eletrodo.....	82
5.5 Análise da composição química.....	87
5.6 Parâmetros elétricos.....	91
6. Conclusão.....	98
7. Referências.....	99
Anexo I.....	112

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a palavra de ordem é inovação. Se até meados do século XX uma inovação era considerada uma grande descoberta como o modelo da estrutura do DNA, no século XXI, a inovação é vinculada com o desenvolvimento de tecnologias (HIDALGO; ALBORS, 2008).

A inovação tecnológica, a qual influencia direta e indiretamente o setor produtivo, especialmente por meio dos setores de pesquisa de ponta e desenvolvimento, está por trás da consolidação da economia. Se um país quer se desenvolver e ocupar destaque no quadro mundial, os governantes devem criar leis que visem à cooperação entre empresas e institutos de pesquisa/universidades, a fim de tornar o país mais competitivo, tanto no mercado interno quanto no externo (HIDALGO; ALBORS, 2008; MATIAS-PEREIRA; KRUGLIANSKAS, 2005).

Em meados dos anos 90, houve um investimento crescente em políticas de inovação com a política dos fundos setoriais no Brasil, porém só com a elaboração dos Planos Plurianuais com bases na nova legislação que a construção de um plano estratégico para a CT&I (Ciência, Tecnologia e Inovação) foi possível (MORAIS, 2008).

A legislação atual que fornece apoio à CT&I é constituída, principalmente, pelos Fundos Setoriais de Ciência e Tecnologia, pela “Lei de Inovação” (Lei nº 10.973/2004) e Lei de incentivos fiscais à inovação e à exportação (Lei nº 11.196/2005). Além do estímulo à pesquisa e desenvolvimento, essas políticas estimularam o crescimento de incubadoras de empresas (MATIAS-PEREIRA; KRUGLIANSKAS, 2005; MORAIS, 2008).

O crescimento desordenado das áreas urbanas acarretou no aumento da demanda energética para suprir a necessidade da sociedade. Há pesquisas patrocinadas tanto pelo Governo Federal, através de editais do CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa) e outros programas, quanto por empresas privadas se voltando para o desenvolvimento de novas tecnologias, que possam vir a complementar ou substituir as já existentes e que atendam tanto as populações dos grandes centros como também as da zona rural (ROSA, 2007; TOLMASQUIM et al., 2007).

A maior parte da demanda de energia do mundo é suprida por combustíveis fósseis (petróleo, carvão e gás natural), porém estes combustíveis são fontes não renováveis e têm apresentado problemas como a emissão de dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄) e o óxido nitroso (N₂O). Estes gases agravam o efeito estufa, que é um fenômeno natural de aquecimento térmico da Terra, o qual mantém uma temperatura amena para a sobrevivência dos seres vivos que a habita (LINDEMEYER, 2008).

Alternativas energéticas eficientes e sustentáveis ainda estão em fase de desenvolvimento, porém algumas já alcançaram resultados consideráveis, como as hidrelétricas, as usinas eólicas, as usinas solares e as que aproveitam o gás metano gerado pela decomposição dos resíduos sólidos. No entanto, algumas das alternativas apresentam limitações geográficas (AGENEAL, 2016; COSTA et al., 2009; LINDEMEYER, 2008).

Em comparação com os demais países do mundo, o Brasil tem se destacado por apresentar reduzidos índices de emissão de gases em sua produção de energia, o que se deve basicamente à elevada participação de fontes renováveis na oferta energética interna, sendo as hidroelétricas as principais fontes. Embora sejam fontes renováveis a construção de hidroelétricas causa um grande impacto ao meio ambiente (IBGE, 2010; TOLMASQUIM et al., 2016).

Dentre os custos ambientais, físicos e biológicos, que envolvem a implementação de uma hidrelétrica estão o desmatamento, desequilíbrio, às vezes perda, do ecossistema, emissão de gases de efeito estufa, diminuição da correnteza do rio e criação de ambientes anóxicos (COSTA, 2015).

Assim como em qualquer obra, a construção de uma hidrelétrica necessita de um estudo de impactos ambientais antes, durante e depois de sua conclusão, porém em muitos casos isso não acontece, como no caso da Hidrelétrica de Tucuruí. Os estudos foram feitos quase que simultaneamente com a sua construção, o que elevou não só os custos da obra, mas também gerou prejuízos desnecessários ao meio ambiente (FEARNSIDE, 2015).

Em um panorama de aumento de preços do petróleo, no Brasil, aliado à instabilidade política de alguns dos principais países produtores, ao elevado custo ambiental envolvido em sua produção e aos problemas relacionados à energia nuclear

(MORTON, 2012 *in* BRAGA e BRAGA, 2012; NAKAMURA; KIKUCHI, 2011; SUZUKI, 2011), fontes renováveis e limpas se fazem cada vez mais necessárias como soluções das demandas energéticas mundiais. Células a combustível têm sido identificadas como uma das mais promissoras tecnologias para suprir essa demanda, dentre as quais uma das categorias é a célula a combustível microbiano, que usa microorganismos para decompor material orgânico e converte energia química em elétrica. (SPIEGEL, 2007; YADAV et al., 2012). O interessante desta tecnologia é a possibilidade do uso de material orgânico “descartado” como efluente industrial, óleo de fritura, etc. Por isso, o presente estudo visou o uso de óleo de fritura residual como substrato para a produção de energia pelo uso da *Shewanella putrefaciens* condicionada em um dispositivo chamado Célula a Combustível Microbiano (CCM).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Construir a Célula a Combustível Microbiano para a simultânea degradação de óleos de fritura residuais e geração de energia elétrica pela ação de bactérias *Shewanella putrefaciens*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Construir um protótipo da Célula a Combustível a Microbiano.
- 2) Analisar os constituintes químicos formados pela degradação de óleo residual de fritura pela *Shewanella putrefaciens*, ao longo da geração de energia na Célula a Combustível Microbiano;
- 3) Aplicar um modelo matemático na degradação dos óleos residuais para gerar energia elétrica no protótipo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Panorama da Energia no Brasil

Os modelos de desenvolvimento socioeconômicos implantados no mundo, ao longo do século XX, tiveram como consequência marcante o êxodo rural, isto é, a migração da população das zonas rurais para as regiões metropolitanas. Apesar de ter marcado o século XX, esse processo teve início no século XIX com a Revolução Industrial na Inglaterra e, mais tarde, foi disseminado pelos demais países da Europa, América do Norte (Estados Unidos) e outros continentes (BRAGA; BRAGA, 2012; TRIGOSO, 2004).

A demanda energética de um país está fortemente correlacionada com sua atividade econômica, ou seja, o Produto Interno Bruto (PIB). A medida desta correlação é dada pela intensidade energética do país, isto é, o quanto de energia é consumida em média no país em um dado período (LIMA et al., 2014).

No Brasil, no século XX, na década de 90, apesar do pouco crescimento em relação ao PIB, a taxa de consumo e oferta de energia foi alta, o que poderia representar um entrave futuro para a retomada rápida da trajetória de crescimento econômico sustentável, uma vez que o país não teria como investir no desenvolvimento da infraestrutura e tecnologia se não tivesse um crescimento econômico significativo (BRONZATTI; NETO, 2008; PIRES et al., 2001).

Quinze anos foram necessários para que a economia no Brasil se estabilizasse (1995 – 2010), havendo oscilações no crescimento do PIB. Apesar de o cenário aparentar não propício, houve investimentos nas fontes de energia renováveis como a eólica e, em menor escala, a solar (IBGE, 2010).

O Brasil está passando por uma crise político-financeira histórica desde meados de 2015, que só no primeiro trimestre de 2017 começou a demonstrar sinais de melhora, graças aos setores agropecuário e industrial (IPEA, 2017).

Segundo Lucon e Goldemberg (2009) em seus relatos sobre a crise financeira que assolava outros países, uma das estratégias para superá-la está no setor energético, ao criar oportunidades para fontes renováveis e a descentralização da produção de energia.

O Brasil faz parte do grupo de países em que a produção de eletricidade é proveniente, em sua maior parte, de usinas hidroelétricas. Correspondendo a 62% da capacidade instalada em 2014, geraram 82.789MW, mais do que o requerido pelo Sistema Interligado Nacional–SIN, proporcionando autossuficiência na geração de energia elétrica a baixos custos (TOLMASQUIM, 2016).

Em 2015, as usinas hidrelétricas continuaram sendo o carro-forte de geração de energia do país (Figura 1), ficando em segundo lugar as usinas termoelétricas. Estas atuam, principalmente, como uma fonte auxiliar de abastecimento, ficando inoperantes em uma fração significativa do ano, fornecendo energia, basicamente, a pedido do ONS (Operador Nacional do Sistema Elétrico) (MME, 2016; SIQUEIRA, 2012).

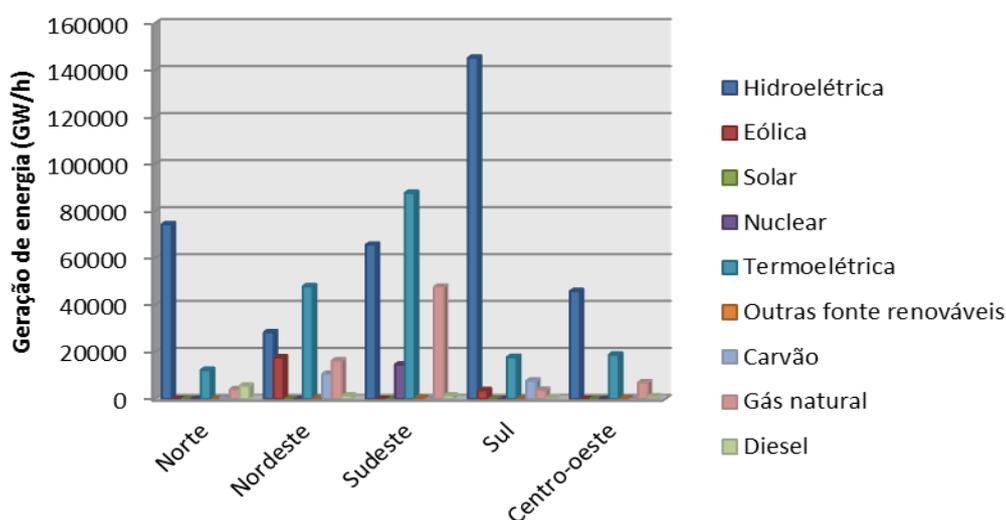


Figura 1: Perfil de produção de energia em cada região do Brasil no ano de 2015. Fonte: Adaptado de MME, 2016.

Essas usinas são tão pouco usadas por três razões: suas turbinas possuem poucos fabricantes (nenhum brasileiro), o preço do gás natural é relativamente alto e atrelado ao dólar, que tem alcançado valores cada vez mais altos, e a emissão de gases, que podem aumentar 7% ao ano até 2030, caso a utilização das termelétricas cresça (SIQUEIRA, 2012; TOLMASQUIM et al., 2007; TOLMASQUIM, 2016).

O que colabora com esses dados são os apresentados na Figura 1, onde a região Sudeste aparece como o maior produtor de energia utilizando termoelétricas e maior produtor de gás natural. Isso é possível, pois parte dessa produção de gás natural é desviada para as termoelétricas a fim de diminuir os custos (TOLMASQUIM, 2016).

O Brasil ainda possui grande potencial para a exploração do petróleo e do urânio, sendo o último um processo mais laborioso devido a questões ambientais, altos custos de investimento e a importação de tecnologia, atrasando a construção de novas usinas nucleares (BRONZATI; NETO, 2008).

Como alternativas sustentáveis, o Brasil tem explorado o potencial da Energia Eólica e Solar. Em relação à energia eólica, parte desse potencial pode ser aproveitado comercialmente nos litorais do Nordeste, Sudeste e Sul do país. Já em relação à energia solar, apesar do potencial, ainda são necessários investimentos em tecnologia para redução dos custos de implantação e geração de energia (BRONZATTI; NETO, 2008; ROSA, 2007; SANTOS et al., 1999).

3.1.1. Panorama Energético no Amazonas

Devido à configuração do panorama energético do país, onde nem todas as cidades tem acesso às tecnologias convencionais de fornecimento de energia e a falta de projetos que prevejam esse acesso, deu-se início a estudos para implantação de alternativas energéticas, focando principalmente nos Estados que compõe a Amazônia Legal: Acre, Amapá, Amazonas, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins, Maranhão e Goiás (RODRIGUES et al., 2006; SILVA et al., 2010).

O mercado de energia elétrica da região Amazônica pode ser subdividido em três tipos (SOUZA, 2003):

- 1) *Mercado das Capitais*: como o próprio nome sugere, é o mercado das capitais de cada Estado, onde, em sua maioria, é atendido por parques hidrotérmicos (hidroelétricas e termelétricas), de propriedade de concessionárias federais;
- 2) *Mercado Elétrico Concentrado*: é representado pelas áreas urbanas dos municípios do interior dos Estados e pequenas localidades que estão nas proximidades das capitais, atendidos por unidades termelétricas a óleo diesel, de médio porte com redes locais, de responsabilidade de concessionária estadual ou por empresas terceirizadas;
- 3) *Mercado Elétrico Disperso*: representados por parte da população localizadas em áreas longínquas dos Estados, que não tem acesso à

eletricidade ou possuem pequenos geradores a diesel de propriedade do município, gerando eletricidade para alguns usos específicos.

Para atender as necessidades de cada um desses mercados, são necessários estudos separados, uma vez que a realidade de cada um é bem distinta, principalmente a do *Mercado Elétrico Disperso* (SOUZA, 2003).

As principais razões para que essas populações não estejam cobertas pela rede elétrica convencional são as distâncias necessárias para atender a demanda de consumidores de baixo consumo, barreiras naturais e a falta de interesse dos serviços públicos de energia, devido aos altos custos envolvidos (MARTINS et al., 2008 *in* SILVA et al., 2010).

Além disso, ainda há barreiras burocráticas, pois, parte dessa população pertence a comunidades tradicionais e/ou moram em áreas de reservas indígenas, extrativista, de fauna ou de desenvolvimento sustentável que possuem legislação específica para cada caso (MARTINS et al., 2008 *in* SILVA et al., 2010; SOUZA, 2003).

O Estado do Amazonas abriga os seguintes rios: Amazonas, Canumã, Içá, Japurá, Jari, Juruá, Jutai, Madeira, Negro, Preto da Eva, Purus, Roosevelt, Solimões, Uaupés, Urubu e Xingu, por isso, era de se esperar que a maior fonte de energia do Estado fosse proveniente de hidrelétricas, porém corresponde apenas a 7%, segundo o Ministério de Minas e Energia (2016).

Como apresentado na Figura 2, as principais fontes de energia do Amazonas são as usinas termoelétricas e gás natural. Como no caso da região Sudeste, parte do gás natural é desviado para o acionamento das termoelétricas para a diminuição de seus custos.

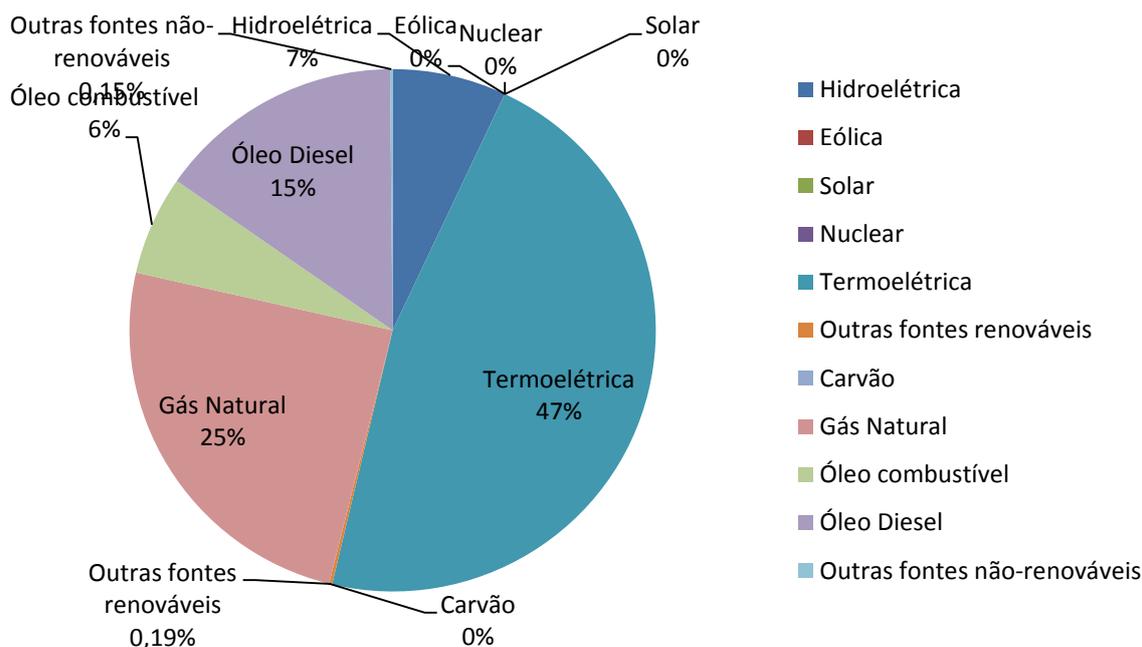


Figura 2: Perfil de produção de energia no Amazonas em 2015.

Fonte: Adaptado de MME, 2016.

As termelétricas Tambaqui e Jaraqui, situadas na cidade de Manaus, em 2013, juntas geraram 4.043 megawatts (MW) médios de energia elétrica por dia para o Sistema Interligado Nacional (SIN) e, em 2014, a geração foi de 4.761 MW médios, por pelas 21 usinas termelétricas próprias e alugadas, que compõem o parque gerador (PETROBRAS^{bc}, 2017).

O gás natural, produzido em Urucu (município de Coari - AM), é transportado pelo gasoduto Urucu-Coari-Manaus em volume diário de até 5,5 milhões de m³. Com esse gás natural transportado às usinas Manauara, Tambaqui, Jaraqui, Aparecida, Mauá, Cristiano Rocha e Ponta Negra são gerados 760 MW de energia elétrica por dia (PETROBRAS^a, 2017).

Mesmo com essa aparente abundância de energia gerada, muitas comunidades do Amazonas têm pouco ou nenhum acesso as redes de abastecimento de energia (RODRIGUES et al., 2006).

Neste cenário, foi criado o Projeto NERAM (Modelo de Negócio de Energia Elétrica em Comunidades Isoladas no Amazonas) que se propôs buscar uma solução o para suprimento energético de comunidades isoladas, pelo uso de recursos naturais renováveis disponíveis localmente. Um dos estudos dentro do projeto se voltou para as

técnicas de gaseificação, tendo como insumo energético o caroço do açaí, visando baratear a produção de energia, agregar valor ao resíduo e gerar renda para os comunitários. O resultado da análise de viabilidade deste estudo mostrou que esse custo, em média, seria de R\$0,23/kWh, o que representava quase um terço do custo de geração de energia a partir de uma planta a diesel na época (FREITAS et al., 2006). Mesmo sendo uma tecnologia relativamente mais barata, vale ressaltar que a biomassa escolhida (açaí) não está disponível em todo o território amazônico, além de ser sazonal. A maior concentração da produção está no Pará, seguida pela do Amazonas e Maranhão (NOGUEIRA; SANTANA, 2016; TURINI, 2016).

O Amazonas, estado de aplicação do projeto NERAM, sofreu uma grande perda de produção devido a cheia do Rio Solimões, em 2014, mas ainda conseguiu manter sua colocação no ranking produtivo. Como boa parte da produção do açaí é proveniente do extrativismo, isso comprometeria o projeto na ocorrência de outros eventos como esse. Para melhor atender as comunidades, seria necessária uma adaptação do processo com outras biomassas (TURINI, 2016).

Em 2006, Rodrigues e colaboradores, que estavam inseridos no projeto NERAM, avaliaram quatro comunidades localizadas às margens do Rio Solimões, nas proximidades do município de Manacapuru, para a implementação do modelo de negócio (Tabela 1). Em média, essas comunidades podiam pagar até R\$24,17 pela energia, uma vez que a renda familiar pouco se aproximava ao salário mínimo da época (R\$350,00).

Tabela 1 – Levantamento socioeconômico e energético das comunidades da margem do Rio Solimões do projeto NERAM. Fonte: RODRIGUES et al, 2006.

Comunidade	Porte (famílias)	Motor Diesel (kW)	Fonte de Renda	Renda por família (R\$)	Quanto estão dispostos a pagar por energia (R\$)
Cristo Rei	14	Motor inoperante, porque não há rede	Mandioca, Malva, Frutas e Pecuária	335	34,2
Nossa Sra. da Conceição	17	Dois geradores (um para sete casas e outro para casas e escola)	Mandioca e Frutas	386	16,9
Pentecostal do Brasil	17	Atende só a igreja	Mandioca e Frutas	252	18,5
São Francisco do Parauá	25	6,4	Agricultura	656	27,1

3.2 Óleos vegetais

Óleos e gorduras são substâncias lipofílicas amplamente utilizadas pelo homem, podendo ser de origem animal, vegetal ou mesmo bacteriana (MORETTO; FEET, 1998) e formam uma das três maiores classes de produtos alimentícios, sendo as outras constituídas por proteínas e carboidratos (NETO, 2008).

Os óleos vegetais são constituídos de lipídios encontrados nos tecidos vegetais, mais comumente extraídos das sementes ou dos grãos. Possuem, de forma geral, uma composição rica em triglicerídeos (95%), ácidos graxos livres, peróxidos, vitaminas (A, D, E e K), proteínas, hidrocarbonetos e esteróis. Os principais óleos comercializados são de origem vegetal, podendo citar os provenientes da soja, do milho e da canola (GIOIELLI, 1996; JORGE, 2005; REDA; CARNEIRO, 2007; SANTOS, 2011).

3.2.1 Consumo de óleo vegetal

O consumo mundial de óleos vegetais tem aumentado ao longo dos anos em virtude da queda no consumo de gorduras animais principalmente. Esse crescimento pode ser confirmado quando se analisa o total da produção desses óleos, sobretudo após a liberação do comércio de sementes transgênicas (COSTA, 2016).

As indústrias alimentícias, restaurantes, residências e *fast foods*, em geral, utilizam o processo de fritura por imersão para preparo dos alimentos, gerando um grande volume de óleo de fritura residual (OFR). A participação relativa do grupo dos óleos em relação ao valor energético total das refeições, nos domicílios brasileiros, aumentou de 12,55% de 1995 a 1996 para 13,45% de 2002 a 2003, provocando uma maior ingestão de óleos e gorduras após terem sido submetidos a elevadas temperaturas em processo de fritura, acarretando em produtos com mais de 50% de compostos polares, que são os produtos da degradação dos triglicerídeos (ANS et al., 1999; AMORIM et al., 2010; SANTOS, 2011).

O mercado global de consumo de óleo, como exposto na Tabela 2, se volta para os óleos de palma, soja, girassol e canola principalmente. Com um aumento de 8,8%, 15,8%, 16,16% e 12,1%, respectivamente, em média nos últimos cinco anos, as estratégias de manejo e melhoramento têm se concentrado nesses óleos, a fim de aumentar a produção e qualidade dos produtos (BIOMERCADO, 2015; STATISTA, 2017).

Tabela 2 – Consumo mundial de óleos vegetais (milhões de toneladas) por tipo de óleo de 2012/13 a 2016/2017.

Óleo	2012/2013	2013/2014	2014/2015	2015/2016	2016/2017*
Palma	55,49	58,06	58,46	60,96	64,02
Soja	42,67	45,2	48,03	51,45	53,12
Girassol	12,68	14,3	14,16	14,91	15,55
Amêndoa de palma	6,4	6,75	7,24	7,03	7,3
Amendoim	5,51	5,67	5,55	5,48	5,68
Algodão	5,21	5,08	5,05	4,53	4,46
Coco	3,75	3,41	3,32	3,31	3,38
Oliva	2,83	3,01	2,73	2,87	2,89
Canola	24,29	26,27	27,22	27,77	27,65
Total	158,83	167,75	171,76	178,31	184,05

*Estimativa

Fonte: Adaptado de Statista (2017)

Ao analisar a Tabela 3, é possível verificar que, apesar do aumento do uso industrial dos óleos de palma e canola, em termos de volumes e do número de processos industriais em que é aplicado, é na alimentação que a maior parte dos óleos vegetais é consumida – cerca de 75-90%. No entanto, esse quadro pode ser alterado com o estímulo à diversificação da matriz energética, pelo biodiesel ou do uso como substrato em Células a Combustível Microbiano, por exemplo (BIOMERCADO, 2015; CASTRO, 2016; DESER, 2007; RACHINSKI, 2010).

Tabela 3 – Consumo mundial de óleos vegetais segundo os usos (alimentar e industrial), em milhões de toneladas, em 2007 e 2016. Fonte: Adaptado de Deser (2007) e Castro (2016).

Tipo de óleo	Alimentar		Industrial	
	2007	2016	2007	2016
Palma	27,5	43,15	8,78	15,69
Soja	33,15	51,63	2,48	0,13
Girassol	9,82	15,01	0,51	0,48
Canola	12,92	19,72	4,917	7,95

No Brasil, a soja ocupava 7,7% da área destinada à agricultura em 2010, com seus derivados correspondendo a 26,7% das exportações do agronegócio do país (DALL'AGNOL et al., 2010).

Sendo o carro-chefe do agronegócio nacional, há estudos para aumentar não só a produção, mas também a área de cultivo da soja, devido à variedade de produtos derivados dessa leguminosa que se encontram no mercado e à viabilização de sua

exportação dessa leguminosa para atender a demanda de várias regiões do mundo (Tabela 4) (BIOMERCADO, 2015; DALL'AGNOL et al, 2010; GAZOLA et al, 2012).

Tabela 4 – Mercado brasileiro de óleos vegetais na safra 2013/2014 (mil toneladas).

Óleo	Produção	Consumo	Exportação	Importação
Soja	7400	5700	1700	0
Algodão	371	374	1	5
Palma	300	490	58	248
Milho	89	37	52	0
Mamona	48	51	4	7
Palmiste	38	213	0	175
Girassol	35	72	1	38
Canola	29	40	1	12
Amendoim	25	8	18	0

Fonte: Adaptado de Globo Rural (2013).

O consumidor brasileiro, apesar de muito adepto do óleo de soja, tem demonstrado interesse nos óleos de palma e palmiste, pois os índices de importação cresceram entre 2008 e 2013 (GLOBO RURAL, 2013).

O cenário atual de crise financeira colabora mais ainda para o consumo de produtos de custo reduzido, principalmente nas regiões Norte e Nordeste do país, que possuem histórico de exclusão financeira (CROCCO et al., 2013).

Como o Brasil produz muito óleo de soja, a tendência é ter um preço mais acessível no mercado nacional em comparação com os de outros gêneros. Isso explica o alto consumo do óleo de soja e indica que boa parte dos óleos de fritura residuais, que serão utilizados no modelo de Célula a Combustível Microbiano proposto, será originária da soja, em caso de chegar no mercado. Porém, esse não é único tipo de óleo que pode ser usado nesse sistema.

3.2.2 Descarte e destinação dos óleos de fritura residuais

No Brasil, há poucas ações de políticas públicas sobre coleta e conscientização, assim como da iniciativa privada. Algumas cidades, como Florianópolis, são exceção e possuem um programa de coleta dos óleos usados que chegam a ser referência internacional, porém a maioria das cidades do país carece de postos de coleta e programas que recolham o óleo usado (TOMASI et al., 2014; ZUCATTO et al., 2013).

Estabelecimentos comerciais e residências seja por desconhecimento, cultura ou falta de local adequado para a destinação, acabam descartando inadequadamente, causando poluição ao meio ambiente, mesmo já havendo alguns direcionamentos para os óleos como: a produção de sabão, detergente, ração animal e biodiesel (GOMES et al., 2013; TOMASI et al., 2014).

Em Manaus, desde 2010, há uma lei municipal (Lei 1.536), que dispõe sobre as medidas de reaproveitamento destes óleos residuais. O decreto nº815/2011, que regulamenta a lei, prevê que empresas que fazem uso de óleos vegetais são obrigadas a implantar um sistema de coleta para o aproveitamento. Muitos estabelecimentos optam por contratar uma empresa especializada para coletar esses resíduos (BARROS et al., 2009; SANTOS, 2011).

Segundo dados divulgados, em 2012, no site da Secretaria Municipal de Limpeza Pública (SEMULSP), existem sete Pontos de Entrega Voluntários (PEV) espalhados pela cidade (Figura 3): Distrito de Obras da Cidade Nova, Parque do Mindu, Fórum Henocho Reis, Supermercado Makro, Parque dos Bilhares, Parque Lagoa do Japiim e Praça do Dom Pedro, sendo os dois últimos que recebem doações com mais frequência.



Figura 3: Pontos de Entrega Voluntária separados por zonas na cidade de Manaus.
Fonte: Adaptado de Barros et al, 2009 in Santos, 2011.

Em 2015, a quantidade de PEV foi reduzida, estando em operação os localizados no Dom Pedro, Parque dos Bilhares, Lagoa do Japiim e Parque do Mindú e, ainda, foi criado o programa CEDOLP (Coleta Seletiva Porta a Porta), que recolhe lixo reciclado em vários bairros semanalmente, mas que não recebem óleos residuais (SEMULSP, 2017).

Um dos motivos de tanta preocupação é que a presença de óleos de fritura residuais (OFR) nos corpos d'água pode criar uma barreira que impede a entrada de luz e a oxigenação da água, uma vez que o óleo é imiscível em água, podendo comprometer, em vários níveis de gravidade a base da cadeia alimentar nesses ambientes e até contribuir para a ocorrência de enchentes (GOMES et al., 2013; SANTOS, 2011; TOMASI et al., 2014).

Para entender o nível da proporção dos problemas ambientais, estima-se que para diluir um litro de OFR são necessários cerca de um milhão de litros de água, equivalente ao consumo de uma pessoa em 14 anos. O processo para eliminar esse material e desobstruir os encanamentos requer o uso de produtos químicos tóxicos, criando assim uma cadeia de tratamentos não só para remover os dejetos de gorduras, mas também para remover esses produtos tóxicos utilizados, de modo que o valor dos serviços de tratamento de água e esgoto de uma cidade pode ser acrescido cerca de 50% (BARROS et al., 2010; JORGE et al., 2005; MACHADO et al., 2014; ZUCATTO et al., 2013).

Outra razão de preocupação com a qualidade dos OFR são as toxinas presentes nos óleos depois de expostos a temperaturas elevadas, como os altos índices de peróxidos e carbonilas. Moléculas como o 4-hidroxinonenal, um aldeído produto da oxidação do ácido linoleico, é uma das substâncias mais comumente encontradas (GUILLÉN; URIARTE, 2011; IZAKI et al., 1984; SEPPANEN; CSALLANY, 2002; SEPPANEN; CSALLANY, 2004).

Por outro lado, esses OFR, dependendo das condições de fritura e estocagem posteriores, podem ser redirecionados para a aplicação em Células a Combustível Microbiano como fonte de carbono para micro-organismos eletroativos para a geração de energia (FONSECA, 2013).

3.3 *Shewanella putrefaciens*

Em 1931, a primeira *Shewanella* sp. foi isolada dentre o conjunto de micro-organismos responsáveis pela putrefação da manteiga, porém os taxonomistas da época (Derby e Hammer) a identificaram como *Achromobacter putrefaciens*. Após dez anos, o grupo taxonômico foi renomeado para *Pseudomonas* sp., pois houve avanços nas

análises bioquímicas e de caracterização de espécimes, que apontavam semelhanças entre os gêneros *Shewanella* sp. e *Pseudomonas* sp. (HAU; GRALNICK, 2007).

Em 1960, Shewan e colaboradores confirmaram que a *Shewanella putrefaciens* pertencia ao gênero *Pseudomonas*, pela presença de flagelos e a caracterização da reação oxidativa positiva, entretanto no período entre 1972 e 1977 houve avanços nos estudos genômicos, acarretando na mudança no grupo taxonômico para *Alteromonas* sp., mesmo que a *Pseudomonas putrefaciens* não tenha passado por análise. Somente em 1985, com os estudos de MacDonell e Colwell, o gênero *Shewanella* foi reconhecido pela utilização de técnicas de sequenciamento da região 5S do rRNA e a *Alteromonas putrefaciens* finalmente foi classificada como *Shewanella putrefaciens* (HAU; GRALNICK, 2007; VIGNIER et al., 2013).

3.3.1. Classificação e morfologia

Shewanella putrefaciens está classificada taxonomicamente no Reino Monera, Filo Proteobacteria, Classe Gammaproteobacteria, Ordem Alteromonadales, Família Shewanellaceae, gênero *Shewanella*, complexo de espécies *Shewanella putrefaciens* (NCBI, 2016).

Tanto em meio sólido quanto líquido de Luria-Bertani (LB) a *Shewanella putrefaciens* exibe uma cor salmão (Figura 4) com seu crescimento rápido (cerca de 24 horas) e colônias redondas. Em placas com Ágar Sangue, ocorre uma mudança na pigmentação, apresentando uma cor marrom e colônias convexas e largas (HOLT et al., 2005; JORGENSEN; PFALLER, 2011).

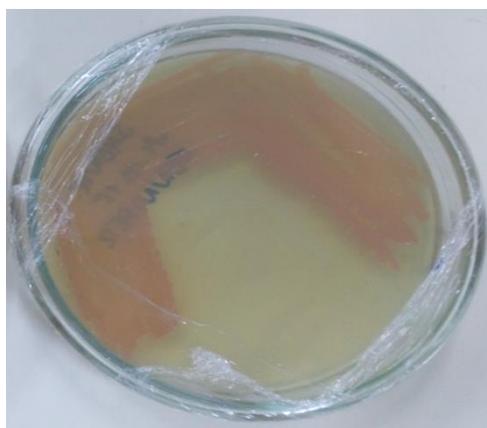


Figura 4: *Shewanella putrefaciens* cultivada em meio Luria-Bertani (LB) a 37°C.
Foto: Jennifer Salgado.

O gênero *Shewanella sp.* é encontrado, comumente, em ambientes marinhos, podendo ser psicrófila, barófila (piezófila) ou mesófila. É um dos modelos para estudar as respostas a estresses ambientais no nível genômico e fenotípico por sua capacidade de se adaptar a uma vasta gama de ambientes, além de possuir respiração anaeróbia facultativa e utilizar diversos receptores de elétrons como fumarato, tiosulfato, nitrito, nitrato de ferro, crômio e manganês (KATO; NOGI, 2001; YIN; GAO, 2002).

A *Shewanella putrefaciens* é conhecida como uma redutora de ferro e de óxidos de manganês, enxofre e tiosulfato elementar. Por ser anaeróbica facultativa, possui a capacidade de reduzir uma grande variedade de aceptores de elétrons, incluindo N-óxido de trimetilamina e produção de sulfureto de hidrogênio. Sendo assim, pode ser aplicada amplamente em dejetos que contenham altas concentrações de metais, como os óleos de frituras residuais que se ligam a metais diversificados, dependendo do utensílio utilizado (HEIDELBERG et al., 2002; SANTOS, 2011).

3.3.2 β -oxidação

A oxidação de ácidos graxos de cadeia longa é uma via liberadora de energia nos animais, muitos protistas e algumas bactérias. O processo pelo qual o ácido graxo é convertido em acetil-CoA é chamado de β -oxidação, que ocorre na mitocôndria (NELSON; COX, 2011).

Na β -oxidação (Figura 5), o ácido graxo sofre remoção de dois átomos de carbonos, começando pela extremidade da carboxila, para a formação, a cada quebra de: uma molécula de acetil-Coenzima A, uma de NADH e uma de FADH₂ (NELSON; COX, 2011).

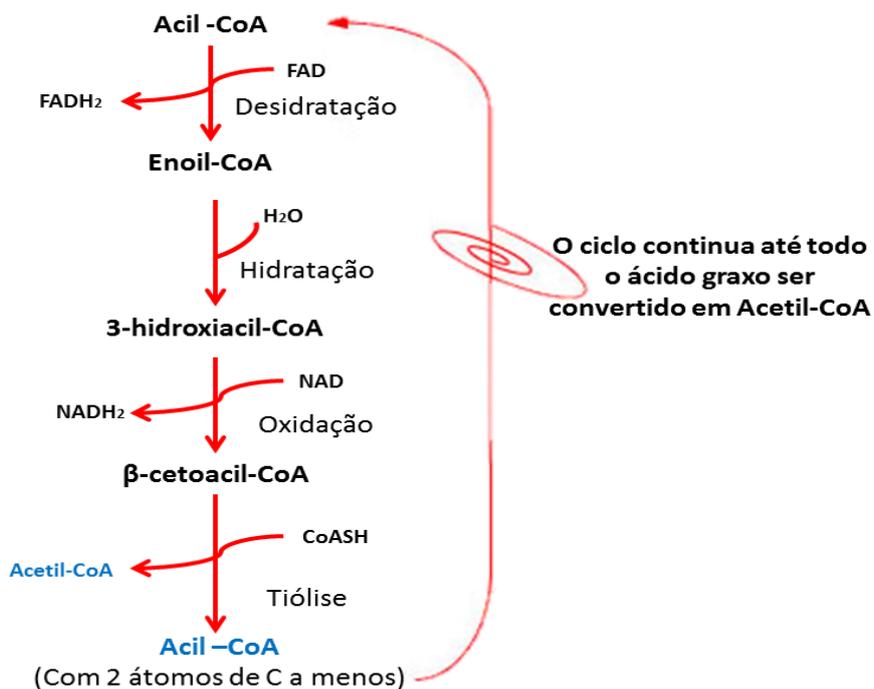


Figura 5: β -oxidação dos ácidos graxos saturados.
 Fonte: Adaptado de Nelson; Cox, 2011.

A quebra do ácido graxo em moléculas de acetil-CoA se deve a quatro reações consecutivas que constituem a β -oxidação: desidratação, hidratação, oxidação e tiólise. O produto da via (Acetil-CoA) é direcionado para o ciclo do ácido cítrico e depois para a fosforilação oxidativa para a produção de adenosina trifosfato, o ATP (GASQUES, 2008; NELSON; COX, 2011).

Shewanella putrefaciens pode utilizar ácidos graxos com diferentes tamanhos de cadeia como fonte de carbono, uma vez que possui a via da β -oxidação. Porém, a utilização de ácidos graxos de cadeia longa é realizada por meio de enzimas responsáveis pelo transporte do ácido graxo do meio extracelular para o intracelular, pela ativação do ácido graxo e pelo funcionamento da via a produção de acetil-CoA, as quais são reguladas pelo produto do gene *FadR*, responsável pela repressão da via (CHO, 2006; RODIONOV et al., 2011).

Do ponto de vista genético, em condições anaeróbicas, ácidos graxos de cadeia longa (Figura 6) são transportados/ativados por meio de uma proteína de membrana externa, *FadL*, que está associada a uma proteína da membrana interna, *FadD* (acil-CoA sintase).

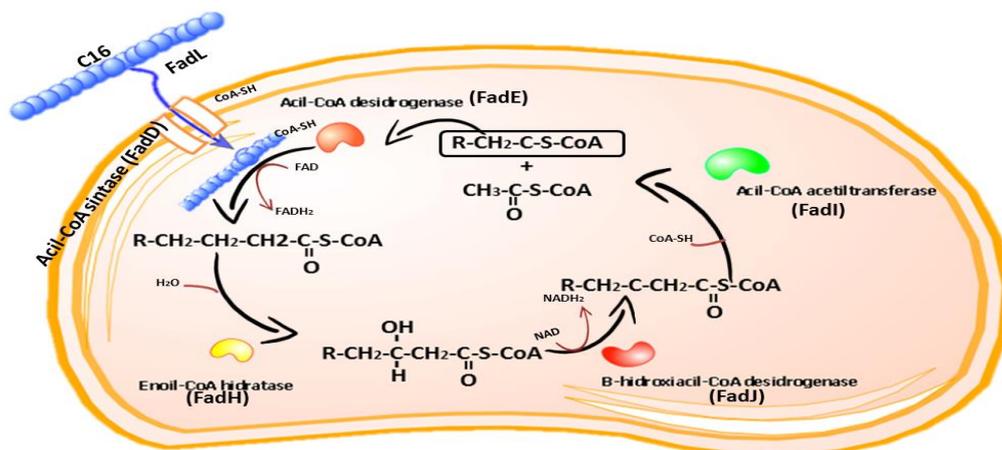


Figura 6: Genes da via da β -oxidação ativados, em condições anaeróbicas, em *Shewanella putrefaciens*.
Fonte: Própria.

O primeiro passo na via da β -oxidação envolve a conversão do acil-CoA em enoil-CoA, catalisada pela acil-CoA desidrogenase (FadE). O enoil-CoA é então convertido em 3-acetoacil-CoA por meio de hidratação e de oxidação, reações estas catalisadas pelas enzimas enoil-CoA hidratase (FadH) e 3-hidroxiacil-CoA desidrogenase (FadJ), respectivamente. A etapa final é catalisada pela 3-cetoacil-CoA tiolase (FadI) que cliva o 3-cetoacil-CoA resultando na formação de acetil-CoA. Contudo, na ausência de ácido graxo de cadeia longa, os genes FadL, FadI e FadJ têm suas expressões reprimidas pela proteína FadR (FUJITA, 2007; RODIONOV et al., 2011).

3.3.3 Sistema de Transporte de Elétrons

A transferência de elétrons para o meio extracelular por bactérias eletroativas ocorre, naturalmente, durante a metabolização de compostos orgânicos (glicose, ácidos graxos, lactato, etc) e de metais no ambiente ao oxidarem uma grande variedade de ácidos carboxílicos de cadeia curta e longa, a fim de criar equivalentes de redução que podem ser externalizados pelas cascatas de citocromo de membrana externa para receptores de elétrons solúveis e insolúveis (FITZGERALD et al., 2012; PEIXOTO, 2012).

Os elétrons são entregues à matriz extracelular a partir do periplasma por um complexo de porina-citocromo que atravessa a membrana externa. Os primeiros estudos, referentes aos citocromos do gênero *Shewanella sp*, foram realizados por Myers, Myers e Nealson (1988, 1990, 1992, 1997, 2000), indicando que o transporte de

elétrons é facilitado por um tipo específico de citocromo C, o CymA (RABAEY et al., 2010; MARRIT et al., 2012).

O CymA é expresso constitutivamente, mas regulado quando o fumarato, nitrato, ferro (III) ou um eletrodo servem como aceitador terminal de elétrons (Figura 7). A formação transitória de complexos de CymA redutase facilita a distribuição de elétrons que estão na quinona para os demais citocromos C (MtrC e OmcA), os quais fazem parte de um conjunto complexo de citocromo transmembranar envolvendo mais de 40 proteínas e desempenham um papel-chave no mecanismo de transferência de elétrons (MYERS; MYERS, 2000; CARMONA-MARTINEZ et al., 2012; MARRIT et al., 2012).

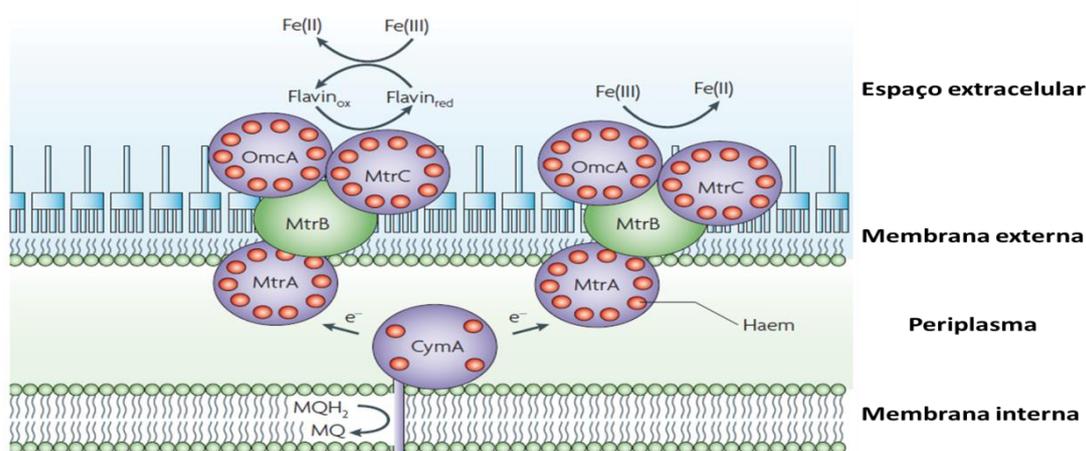


Figura 7: Cascata de citocromos responsáveis pelo sistema de transporte de elétrons do gênero *Shewanella*, onde ocorre a redução de Fe de forma indireta (uso de flavinas) e direta.
Fonte: Adaptado de FREDRICKSON et al., 2008.

Independentemente da natureza e localização do receptor de elétrons terminal, o ciclo redox de Q (quinona) e sua forma reduzida de elétrons QH₂ (quinol) na membrana interna é fundamental para a conservação da energia respiratória da bactéria. Os elétrons provenientes da metabolização de alguma molécula orgânica são levados à redução de Q a QH₂, sendo então dirigidos para o periplasma pelo CymA (MARRIT et al., 2012).

Colocando esse maquinário bioquímico a favor da geração de novas tecnologias, foi elucidado que há três formas de se transferir elétrons para eletrodos (Figura 8): por contato direto, formando um biofilme; por meio de suas fímbrias (nanofios) e/ ou pela produção ou a utilização de pequenas moléculas solúveis (carreadores químicos) que atiram elétrons do lado de fora da membrana celular para os terminais dos receptores de

elétrons (GORBY et al., 2006; RABAEY et al., 2010; CARMONA-MARTINEZ et al., 2012).

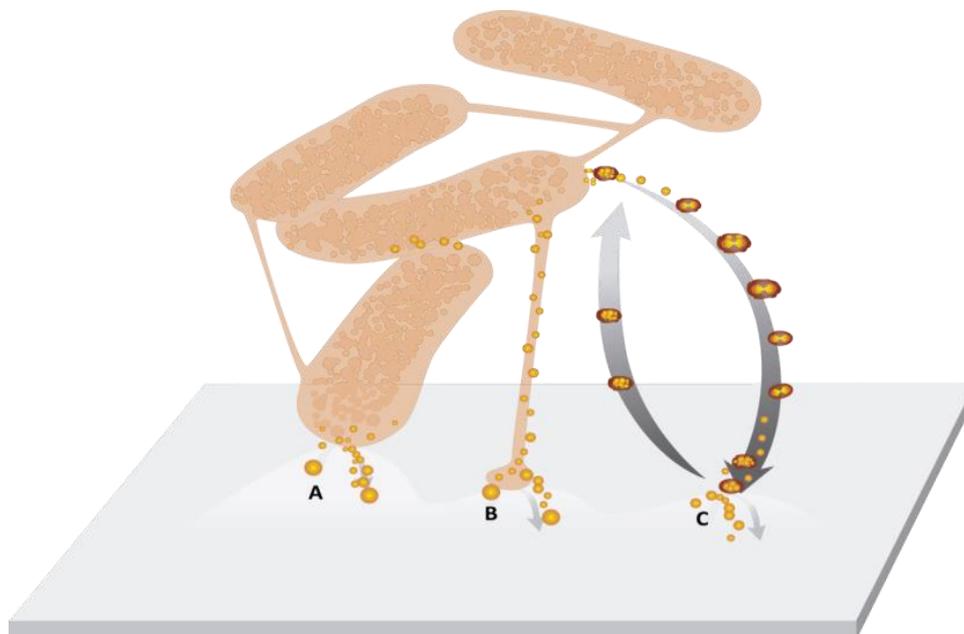


Figura 8: Esquema representativo do sistema de transporte de elétrons da *Shewanella putrefaciens* por (A) contato direto, (B) nanofios e (C) uso de carreadores químicos em contato com a superfície de um eletrodo.

Fonte: Jennifer Salgado e Júlia Ribeiro.

A *Shewanella putrefaciens*, assim como as demais espécies do gênero, possui o citocromo C, localizado comumente na membrana externa da bactéria, podendo ser encontrado no periplasma e membrana interna, pois participam de vias de transferência de elétrons, criando um potencial elétrico que é aproveitado em Células a Combustível Microbiano para gerar energia (CARMONA-MARTÍNEZ et al., 2012; MEYER et al., 2004; PARNEL et al., 2011; RABAEY et al., 2010).

3.3.4 Biofilme

O biofilme bacteriano é uma estrutura resistente e sensível ao ambiente, apresentando estruturas tridimensionais (substâncias poliméricas extracelulares), que imobilizam as células bacterianas, possibilitando uma comunicação célula-célula por meio de sinalizações bioquímicas complexas (FLEMMING; WINGENDER, 2010; SCHECHTER et al., 2014).

O biofilme tem por função proteger os organismos contra a dessecação, oxidantes ou biocidas carregados, alguns antibióticos e cátions metálicos, radiação ultravioleta e defensores imunológicos do hospedeiro. Porém, o biofilme também

atua como um centro de reciclagem, mantendo todos os componentes de células lisadas disponíveis, tais como o DNA, que pode ser usado na transferência horizontal de genes. Além de servir como fonte de nutrientes, embora seja lentamente degradado, devido à alta complexidade de componentes do biofilme e a necessidade de uma ampla gama de enzimas (FLEMMING; WINGENDER, 2010).

Lozano (2007) aponta que os estudos dos transportes de elementos gasosos e químicos pelo biofilme indicam menor taxa de acesso ao oxigênio e aos nutrientes. No entanto, os dados levantados por Flemming e Wingender (2010) elucidam que há uma retenção de enzimas extracelulares no interior do biofilme, criando um sistema digestivo externo versátil, que capta nutrientes dissolvidos em partículas na fase aquosa tornando-os fontes de nutrientes e energia.

A taxa de crescimento celular, assim como a morfologia e fisiologia das bactérias, quando formam e são aprisionadas no biofilme, exibem diferentes respostas fisiológicas ao ambiente e à composição nutricional do meio. Em estudos anteriores, referentes à formação de biofilme em *Shewanella oneidensis*, concluíram, a partir da quantificação de metabólitos, análise por PCR (em português, Reação em cadeia da polimerase) e FISH (em português, hibridização fluorescente *in situ*), que no biofilme ocorre uma estratificação de colônias bacterianas, isto é, formam camadas que promovem uma heterogeneidade entre as células imobilizadas, tendo atividade celular e metabolismo diferentes (LOZANO, 2007; PORTELLA, 2014; TEAL et al., 2006; WERNER et al., 2004).

Os estudos de biofilmes, principalmente os formados por *Geobacter* sp. e *Shewanella* sp., são conduzidos a fim de identificar as melhores configurações eletroquímicas, para aplicação desses biofilmes em Células a Combustível Microbiano (CCM), para gerar energia de vários processos ambientais, além das reações bioquímicas envolvidas (BABAUTA et al., 2012).

Um dos principais pontos é o quanto o biofilme coopera ou atrapalha a transferência de elétrons no sistema. Até o presente momento, estudos têm demonstrado que o biofilme coopera, uma vez que as proteínas MtrC e OmcA se associam as estruturas tridimensionais que o compõem (BABAUTA et al., 2012; CAO et al., 2011; LOWER et al., 2009; REARDON et al., 2011).

3.4 Células a Combustível

Células a combustível são dispositivos capazes de converter energia química (proveniente de muitas fontes) em energia elétrica de forma contínua e direta, produzindo água como subproduto. A maioria destas células conta com ao menos dois eletrodos: catodo (positivo) e o anodo (negativo), separados por eletrólitos e conectados por um circuito externo. As reações para a geração de energia ocorrem nesses eletrodos (CALIMAN, 2013; KIRUBAKARAN et al., 2009; ZEN, 2008).

Apesar de o conceito existir há mais de 160 anos, somente em 1959 a primeira Célula a Combustível foi construída com sucesso por Bacon (BACON, 1960 in ZEN, 2008).

Os estudos e investimentos empregados nessa tecnologia se devem às suas principais características: confiabilidade, alta eficiência, baixa (ou nenhuma) emissão de poluentes e pouco ruído durante seu funcionamento (SPIEGEL, 2007). Em contrapartida, temos como sua principal desvantagem os altos custos para a confecção das células, pois materiais como o eletrodo de platina e a membrana Nafion® têm custos altíssimos. Muitos estudos visam novos materiais de baixo custo, como a membrana a base de polipropileno proposto por Zen, em 2008.

Há várias aplicações para essa tecnologia, sendo que cada tipo de Célula a Combustível é mais apropriado para determinada aplicação do que outro, por exemplo, energia portátil, energia reserva, transporte e energia estacionária (SPIEGEL, 2007).

As Células a Combustível são classificadas de acordo com a escolha do eletrólito e do combustível (Figura 9), mas também podem ser separadas pela temperatura em que operam (KIRUBAKARAN et al., 2009; LINARDI et al., 2011; VILLULLAS et al., 2002; SPIEGEL, 2007). Podemos citar:

- *Célula a Combustível Alcalina (AFC)*: o eletrólito é uma solução concentrada de KOH (30-50% m/m), operando a 80°C. Essa é a que tem melhor desempenho, apesar de ser afetada por CO₂ atmosférico;
- *Célula a Combustível de Ácido Fosfórico (PAFC)*: o eletrólito é o ácido fosfórico concentrado (90-100% m/m), operando entre 160°C a 220°C, está com o desenvolvimento mais avançado;

- *Célula a Combustível Biológico (BFC)*: converte energia bioquímica em eletricidade usando como catalisador um agente biológico (micro-organismo ou enzima) e utiliza como eletrólito uma membrana polimérica, operando em temperatura ambiente ($\pm 30^{\circ}\text{C}$);
- *Célula a Combustível de Carbonato de Molten (MCFC)*: o eletrólito é uma mistura de carbonatos de lítio, potássio e sódio, operando entre 600°C e 800°C ;
- *Célula a Combustível de Membrana de Troca de Prótons (PEMFC)*: ao contrário das demais células, utiliza como eletrólito uma membrana polimérica, como o Nafion®. Normalmente, atuam entre 85°C e 105°C , porém há entre seus subtipos as que operam em temperaturas mais amenas;
- *Célula a Combustível de Metanol Direto (DMFC)*: Essa célula foge à classificação por eletrólito, sendo classificada pelo seu combustível, o metanol. Seu sistema é baseado nas PEMFC, então usa como eletrólito uma membrana e opera entre 60°C e 120°C .

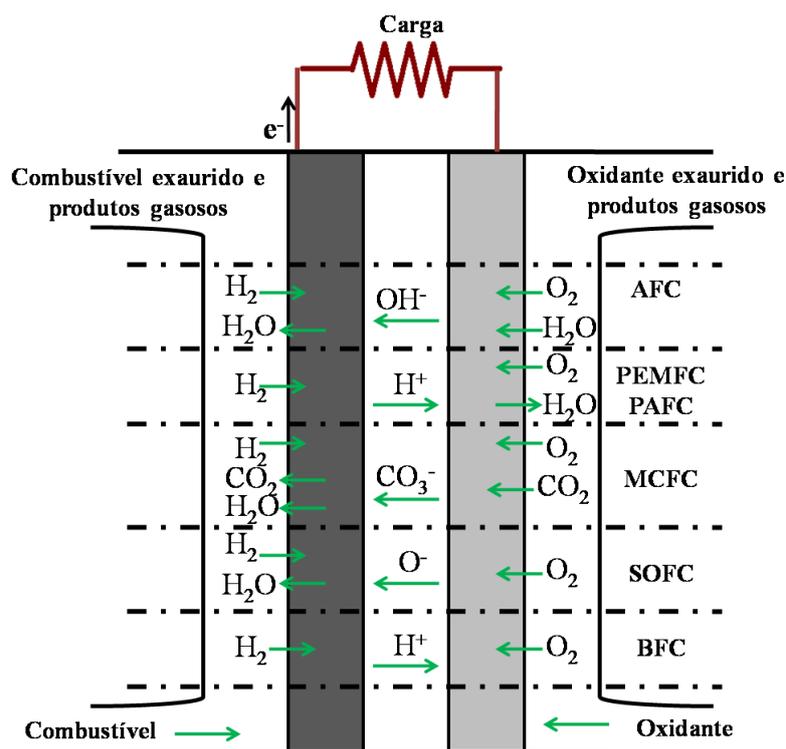


Figura 9: Esquema simplificado dos principais tipos de Células a Combustível.
Fonte: Adaptado de LINARDI, 2011 e SPIEGEL, 2007.

Dentre os tipos de Células citados, o presente estudo tem seu foco em Células a Combustível Microbiano (CCM), que se enquadram no tipo BFC.

3.4.1. Células a Combustível no Brasil

Células a Combustível no Brasil, apesar de terem estudos no âmbito acadêmico, ainda estão longe de serem incorporadas no sistema energético do país.

Em 2002, o Ministério de Ciência e Tecnologia criou o Programa Brasileiro de Hidrogênio e Sistemas Células a Combustível, em parceria com universidades e centros de pesquisa, com o objetivo de promover ações integradas e cooperadas, que viabilizassem o desenvolvimento nacional da tecnologia de hidrogênio e de sistemas Célula a Combustível, além de dar suporte ao desenvolvimento e ao estabelecimento de indústrias nacionais especializadas em Células a Combustível. Esse Ministério prevê que Células de Hidrogênio estarão incorporadas na matriz energética até 2020, o que é bem possível devido aos resultados promissores e aos projetos fortemente ligados aos aspectos ambientais (LINARDI, 2011).

Em 2013, Silva e colaboradores simularam um projeto-piloto da implantação de um sistema híbrido fotovoltaico/Células de Hidrogênio no Estado de Tocantins, levando em consideração as condições climáticas do local em um período de um ano. Pelos resultados, a tecnologia oferece menos custos que o sistema a diesel e necessita de menos manutenção, porém não era economicamente viável pela baixa produção de Hidrogênio no país, além do alto custo dos painéis solares.

3.4.2. Célula a Combustível Microbiano

A primeira CCM foi proposta por Potter, em 1910, sendo composta por um eletrodo aniônico e um catiônico, similar a uma bateria comum. Dentre os tipos de CCM que já foram desenvolvidas, a mais tradicional é a de duas câmaras, uma anaeróbica (ânodo) e outra aeróbica (cátodo), sendo separadas por uma membrana de troca de prótons (BELAFI-BAKO et al., 2014).

Mahadevan, Gunawardena e Fernando, em 2014, listam cinco categorias de CCM:

- 1) Desacoplada: um compartimento separado onde os organismos produzem o hidrogênio (combustível) e que o hidrogênio é alimentado em uma pilha de combustível do hidrogênio;

- 2) Integrada: produção de hidrogênio e de eletricidade na mesma câmara;
- 3) Com transferência de elétrons mediada: onde moléculas mediadoras (ubiquinonas, corantes e/ou metais) transferem elétrons de células microbianas para o eletrodo;
- 4) Com transferência de elétrons direta: onde a transferência de elétrons para o eletrodo ocorre sem a presença de qualquer molécula mediadora;
- 5) Microfluídica: um tipo emergente de CCM que elimina o uso de mediadores e membranas de troca catiônica.

O princípio dessa tecnologia é utilizar microrganismos, para degradar e oxidar os compostos orgânicos como óleos graxos, amido, esgoto doméstico, gorduras animais e vegetais, glicose entre outros na câmara anaeróbica e gerar elétrons (e^-) e prótons (H^+), isto é, converter energia química gerada na degradação da fonte biológica em energia elétrica (Figura 10). Os elétrons gerados são carreados do ânodo ao cátodo por um circuito externo, enquanto os prótons permeiam a membrana de troca de prótons (MTP) para migrar para a câmara aeróbica, onde ocorre a redução do oxigênio à água (CARVALHO, 2010; DU et al., 2007; HE; ANGENENT, 2006; PEIXOTO, 2012; POTTER, 1911; YADAV et al., 2012).

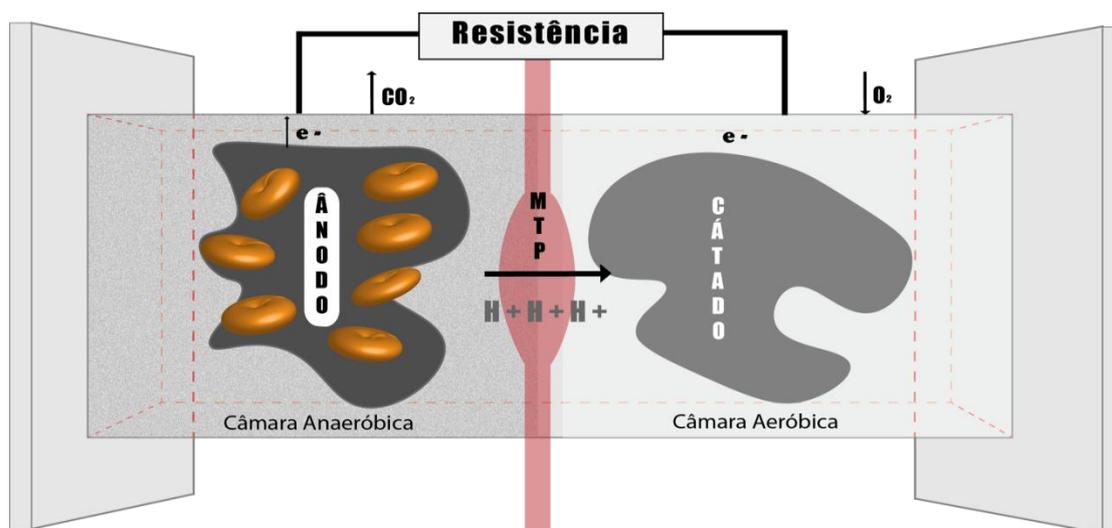


Figura 10: Representação da Célula a Combustível Microbiano.
Fonte: Jennifer Salgado e Júlia Ribeiro.

O Nafion® é uma das membranas mais utilizadas em Células a Combustíveis que necessitam de MTP, possuindo uma condutividade de $10^{-2} \Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$ a temperatura ambiente, sendo que a condutividade é inversamente proporcional a temperatura a que é exposta (ZAWODZINSKI et al., 1993).

Em nível macroscópico, membranas de Nafion® são convenientes por apresentarem uma durabilidade satisfatória e facilidade de processamento. Microscopicamente, a água é seletivamente incorporada aos domínios hidrofílicos, facilitando a condutividade protônica por solvatação dos fragmentos, inchamento dos polos hidrofílicos e formação de caminhos contínuos de condução através da membrana. Além disso, é importante ressaltar que quanto maior o volume do meio rico em H^+ a que for exposto, maior seu desempenho no transporte destes prótons (ZAWODZINSKI et al., 1993).

Nesse tipo de célula, é bem comum o uso de bactérias eletroativas, pois podem colonizar os eletrodos ao formar um biofilme e conseguem transferir elétrons para a superfície do eletrodo sem a necessidade de mediadores redox (PEIXOTO, 2012). No modelo empregado, neste estudo, a reação ocorre como o ilustrado na figura 11.

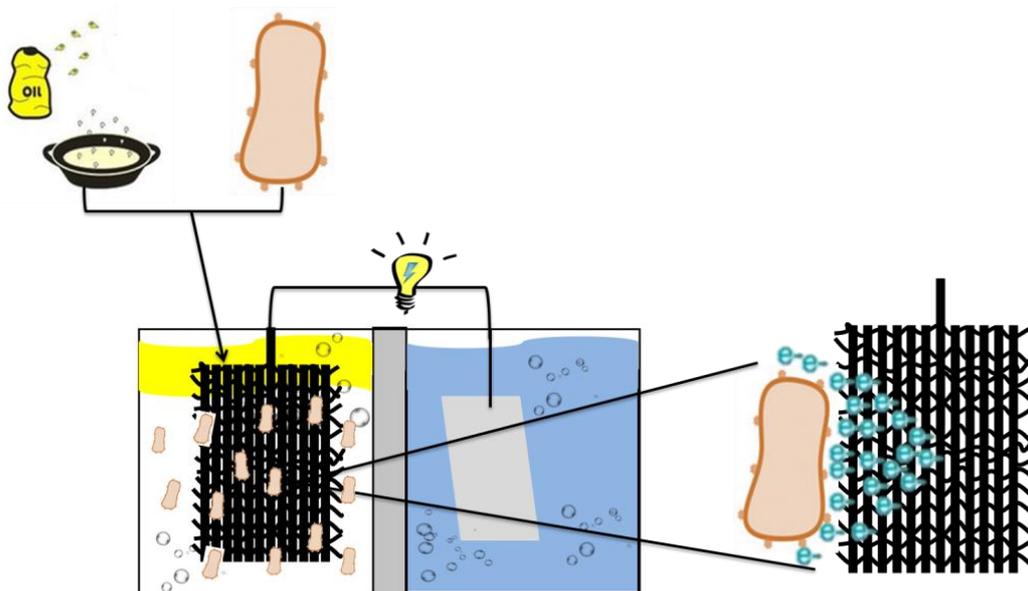


Figura 11: Colonização do ânodo para a formação de biofilme e transferência de elétrons em uma Célula a Combustível Microbiana.

Fonte: Própria

Algumas espécies de bactérias já identificadas em CCM montadas em laboratório são: *Shewanella putrefaciens*, *Geobacter sulfurreducens*, *Geobacter*

metallireducens e *Rhodoferax ferrireducens*, as quais são normalmente encontradas em sedimento marinho ou fluvial, além de esgotos (RACHINSKI et al., 2010; TENDER, 2002).

Rabaey e Verstraete, em 2005, em seus estudos com *S. putrefaciens* metabolizando lactato para geração de energia, obtiveram uma corrente de 0,04 mA, enquanto, Fonseca, em 2013, obteve 2,3 mA utilizando OFR doméstico de soja. Uma vez que o lactato ($C_3H_6O_3$) é uma molécula relativamente simples em comparação ao OFR, que é composto por diversos ácidos graxos, como o palmitato ($C_{16}H_{32}O_2$), é esperado que tenha um rendimento inferior.

Por isso, o presente estudo visou à utilização de óleo de fritura residual como substrato para a produção de energia pelo uso da *Shewanella putrefaciens* condicionada em uma Célula a Combustível Microbiano (CCM).

4. METODOLOGIA

4.1 ANÁLISE DE COMPETITIVIDADE DA GERAÇÃO DE ENERGIA USANDO CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANO (CCM)

Foi adotada a metodologia de Porter (1986), analisando a interação de cinco forças que colaboram no desenvolvimento estratégico de tomada de decisões:

1. Ameaça a novos entrantes: análise da possibilidade da entrada de concorrentes que possam ganhar uma parcela do mercado, assim como recursos. Essa ameaça está diretamente ligada às barreiras existentes para tal em conjunto com a reação que o novo concorrente espera da parte dos concorrentes já existentes;
2. Poder de barganha dos fornecedores: possuem maior poder quando o setor é dominado por poucas empresas fornecedoras e/ou seus produtos são exclusivos ou diferenciados. Também é levado em consideração se o custo para trocar de fornecedor é muito alto. Pode ocorrer, em casos em que setor de negócios da empresa em questão não ter representatividade no faturamento deste fornecedor, da recusa do fornecedor em fechar contrato;
3. Poder de barganha dos compradores: relacionado com o poder de decisão dos compradores sobre os atributos do produto quanto a preço e qualidade. Os compradores tem poderes, principalmente, quando: as compras do setor são de grande volume, os produtos a serem comprados são padronizados e/ou há possibilidade do consumidor fabricar o produto com baixo custo.
4. Ameaça de produtos substitutos: análise da relação preço-desempenho dos substitutos, uma vez que podem acarretar na redução das margens de lucro de uma empresa;
5. Competição entre as empresas concorrentes: vista por muitos como a principal força a ser analisada, considera-se aqui a atividade e agressividade dos concorrentes diretos, isto é, que atuam no mesmo ramo e visam os mesmos mercados.

4.2 PESQUISA DE OPINIÃO E MERCADO

Foi realizada uma pesquisa *on-line* pelo sítio SURVIO (www.survio.com em março de 2016), onde se foi aplicado um questionário com seis (6) perguntas (vide ANEXO 1). Como estava disponível na *on-line*, não ficou restrito a população de Manaus, alcançando outros Estados, tais como Rio de Janeiro, Espírito Santo, São Paulo, Paraná e Pernambuco, além de outros países como Argentina, Estados Unidos e Japão.

4.3 LINHAGEM, CULTIVO E MANUTENÇÃO

Neste trabalho, utilizou-se a linhagem de *Shewanella putrefaciens*, adquirida da Fundação Andre Tosello, em 2013, pelo Laboratório de DNA da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). A bactéria foi consentida e se encontra preservada na bacterioteca do Laboratório de Biotecnologia – ILUM, situado no HUB – UEA (Universidade do Estado do Amazonas), unidade EST (Escola Superior de Tecnologia), sendo reativada em meio LB (Luria-Bertani) líquido a 30°C a 150 rpm.

4.4 COLETA DE ÓLEO

Cerca de 4000 mL de óleo residual de fritura de peixe foram obtidos no Restaurante Universitário (RU), unidade EST, da UEA durante um mês (março/2016). Amostras de óleo de fritura doméstico (OD), sem seletividade do tipo de fritura, também foram analisadas e obtidas por doação de colaboradores do projeto.

4.5 TRATAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras de óleo residual de fritura foram peneiradas e filtradas sob vácuo com auxílio de funil de buchner, kitassato e papel de filtro para remoção dos resíduos sólidos de alimentos, sendo armazenados em bombonas de PTFE sem O₂ (bombeamento de gás nitrogênio para expulsar o oxigênio).

4.6 PLANEJAMENTO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA E MODELAGEM EXPERIMENTAL

O estudo das variáveis (ou fatores) que afetam o sistema em estudo e a extensão desta influência, a fim de melhorar o processo de uma maneira geral, é de interesse

tanto do ponto de vista científico quanto comercial, pois objetiva reduzir tempo e custos.

Basicamente, o método multivariado consiste em estabelecer e conduzir o menor número de experimentos necessários para extrair o máximo de informação dos dados coletados de modo a avaliar e/ou otimizar um produto ou processo. Para isto, todos os fatores relevantes são alterados simultaneamente em um conjunto de experimentos pré-determinados e os resultados são utilizados para a construção de modelos matemáticos que descrevem o comportamento do sistema dentro do domínio experimental investigado (BREITKREITZ; SOUZA; POPPI, 2014).

Os testes procederam utilizando meio mínimo M9 líquido nas condições indicadas no planejamento experimental descritos nos itens 4.6.1 e 4.6.2, gerados pelo programa Statistica versão 12.0, em condições anaeróbicas com diferentes concentrações de óleo de fritura residual doméstico e do R.U., tanto em fase estacionária quanto agitada, além de avaliar simultaneamente a influência do pH, tempo em horas e o efeito de diferentes temperaturas.

4.6.1 Planejamento fatorial 2^5

Foi realizado um planejamento fatorial $k=5$ que permitiu obter estimativas dos efeitos principais e das interações de segunda ordem (LAW e KELTON, 2000 *in* FILHO, 2006). As variáveis escolhidas para a elaboração do planejamento da combinação de fatores estão listadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Níveis das variáveis definidas para o planejamento fatorial.

Variáveis	Nível Baixo	Nível Alto
Óleo (%)	5	15
pH	5	7
Agitação (rpm)	0	110
Temperatura (°C)	28	37
Tempo (horas)	24	48

4.6.2 Planejamento experimental do composto central

Um planejamento composto central para k fatores, devidamente codificados como (x_1, \dots, x_k) , é formado de três partes: Uma parte chamada **fatorial** (ou cúbica) contendo um total de n_{fat} pontos de coordenadas $x_i = -1$ ou $x_i = +1$, para todos os $i = 1, \dots, k$; Uma parte **axial** (ou em estrela), formada por $n_{\text{ax}} = 2k$ pontos com todas as coordenadas nulas exceto uma, que é igual a um determinado valor α (ou $-\alpha$). Um total de n_{centr} ensaios feitos no ponto **central**, onde $x_1 = \dots = x_k = 0$ (BARROS NETO et al, 2010).

Para fazer planejamento composto central, precisa-se definir como seria cada uma das três partes que a envolve. Um planejamento com $k = 3$ é mostrado na Figura 12, onde se pode perceber a parte cúbica, a parte estrela e o ponto central (BREITKREITZ; SOUZA; POPPI, 2014; SALES et al., 2010).

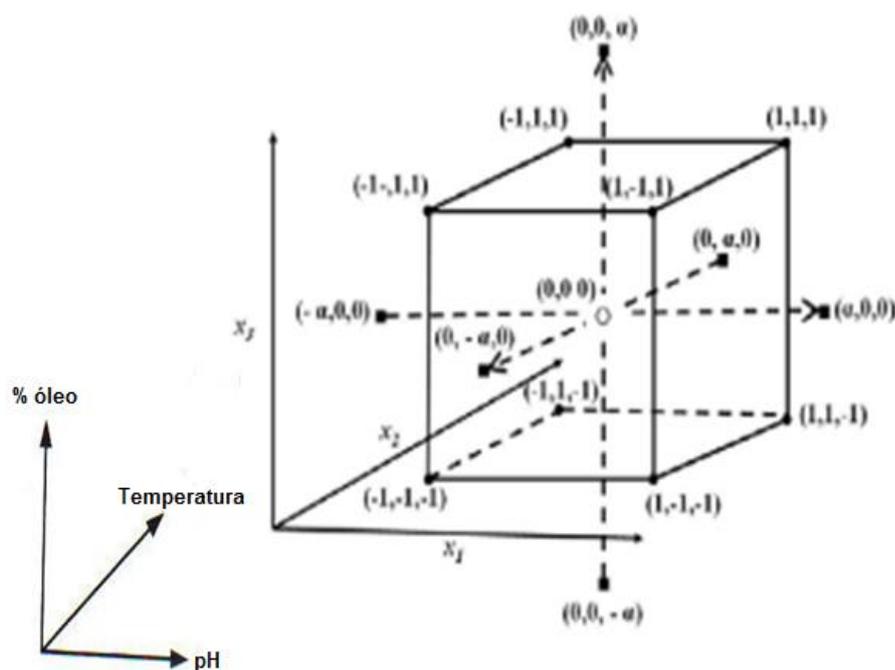


Figura 12: Planejamento do composto central de três fatores. (●) fatorial, (■) axial e (□) central.

Fonte: Adaptado de TEÓFILO e FERREIRA, 2006.

Nesse tipo de modelagem, inserimos dados relevantes aos experimentos, sendo nesse estudo as variáveis de interesse a concentração do óleo (%) no meio, o pH e a temperatura ($^{\circ}\text{C}$), nas faixas de trabalho de interesse e modelando a melhor abordagem experimental com os mesmos, além de inserir os pontos extremos e aleatoriedade de

forma a minimizar o número de experimentos (HECK et al., 2005; POPPI, 2014; SALES et al., 2010).

Os pontos cúbicos são idênticos aos de um fatorial de dois níveis. Os pontos axiais dependem do valor de α que costuma variar de 1 à $k^{1/2}$. Para a escolha do valor de α utilizou-se o conceito de rotabilidade como critério. Segundo esse conceito um planejamento é considerado rodável se a variância de suas estimativas depender somente da distância em relação ao ponto central, isto é, se a precisão da resposta prevista for a mesma em todos os pontos situados numa dada hiperesfera com centro no próprio centro do planejamento (BARROS NETO et al, 2010).

O critério matemático de rotabilidade é que $\alpha = k^{1/4}$. Portanto, como o planejamento proposto na Tabela 6 é um planejamento rodável ($\alpha = 3^{1/4} = \pm 1,682$), quatro ensaios no ponto central estabilizam a variância da resposta prevista e fornece uma medida do erro puro.

Tabela 6 – Planejamento fatorial do composto central utilizado.

Parte do Planejamento	Ensaio	X ₁	X ₂	X ₃
Fatorial	1	-1	-1	-1
	2	1	-1	-1
	3	-1	1	-1
	4	1	1	-1
	5	-1	-1	1
	6	1	-1	1
	7	-1	1	1
	8	1	1	1
Axial	9	-1,682	0	0
	10	1,682	0	0
	11	0	-1,682	0
	12	0	1,682	0
	13	0	0	-1,682
	14	0	0	1,682
Central	15	0	0	0
	16	0	0	0
	17	0	0	0
	18	0	0	0

Devido aos resultados obtidos no estudo fatorial (item 4.6.1) dos efeitos que afetam o sistema, foi determinado como fatores para o composto central pH, temperatura e concentração do óleo na composição do meio de cultivo.

Os ensaios ocorreram com o tempo de 48h fixo para todos os experimentos, porém há diferença na agitação nos experimentos com o OD e RU, sem agitação e com agitação de 150 rpm, respectivamente. Na tabela 7, estão descritos os fatores utilizados com seus respectivos valores, correspondendo aos escalonados na tabela 6.

Tabela 7 – Fatores utilizados no planejamento fatorial composto central com seus respectivos níveis.

Fatores	Valores escolhidos		Níveis obtidos no planejamento estatístico				
	Mínimo	Máximo	-1,68	-1	0	+1	+1,68
	-1,68	+1,68					
Temperatura (°C)	25	40	25	28	32,5	37	40
pH	4,3	7,6	4,3	5	6	7	7,6
Concentração de óleo (%)	1,5	18,5	1,5	5	10	15	18,5

4.6.3 Análise de variância

A principal técnica utilizada para encontrar soluções para um dado problema é a Análise de variância (ANOVA), que foi desenvolvida pelo estatístico R. A. Fisher. Ele criou esta técnica, inicialmente, para análise de experimentos agrícolas, porém sua aplicação não mais se limita a este campo (COSTA NETO, 1977).

Uma ANOVA, de modo simplificado, é a comparação entre a variação devido aos tratamentos com a variação devido ao acaso ou resíduo. Para fazer esta análise, é necessário o cálculo de graus de liberdade, das somas quadráticas e das médias quadráticas do modelo empírico. Esta técnica somente é indicada para experimentos que sejam, de início, similares e é essencial que os tratamentos tenham sido designados às unidades por processo aleatório, como os descritos nos itens 4.6.1 e 4.6.2 (VIEIRA, 1999).

O estudo dos resíduos de modelos empíricos é fundamental para a avaliação da qualidade do ajuste de qualquer modelo. O método de ANOVA é o mais utilizado para se avaliar numericamente a qualidade deste ajuste, necessitando de uma decomposição algébrica dos desvios das respostas observadas em relação à resposta global pelas equações ilustradas da Tabela 8 (BARROS NETO et al, 2010).

Tabela 8 – Tabela de ANOVA para ajuste, método dos mínimos quadrados, de um modelo linear nos parâmetros. n_i = número de repetições no nível i ; m = número de níveis distintos da variável independente; $n = \sum n_i$ = número total de observações; p = número de parâmetros do modelo. Fonte: Barros Neto et al, 2010.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Nº de grau de liberdade	Média Quadrática
Regressão	$SQ_R = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{Y}_i - \bar{Y})^2$	$p - 1$	$MQ_R = \frac{SQ_R}{p - 1}$
Resíduos	$SQ_r = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (Y_{ij} - \hat{Y}_i)^2$	$n - p$	$MQ_r = \frac{SQ_r}{n - p}$
Falta de ajuste	$SQ_{faj} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{Y}_i - \bar{Y}_i)^2$	$m - p$	$MQ_{faj} = \frac{SQ_{faj}}{m - p}$
Erro puro	$SQ_{ep} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (Y_{ij} - \bar{Y}_i)^2$	$n - m$	$MQ_{ep} = \frac{SQ_{ep}}{n - m}$
Total	$SQ_T = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (Y_{ij} - \bar{Y})^2$	$n - 1$	
% Variação explicada			$\frac{SQ_R}{SQ_T}$
% Variação explicável			$\frac{SQ_T - SQ_{ep}}{SQ_T}$

A variável p corresponde ao nível de estudo, isto é, 2, pois o planejamento do composto central é de 2^k . Na tabela 6, temos a matriz do planejamento, contendo o número de ensaios estabelecidos, o que corresponde a n . Na tabela 7, temos os níveis obtidos para fazer o estudo do cubo, o que equivale ao valor de m . Os valores para

efetuar os cálculos são gerados a partir dos resultados do planejamento do composto central descrito item no 4.6.2.

4.7 FORMAÇÃO DE BIOFILME NO ELETRODO

Nas condições ideais especificadas no planejamento de composto central tanto para o OD quanto RU, o eletrodo que compõe o ânodo em dimensões menores (2x2cm) foi inoculado, em condições anaeróbicas, por 10 dias. Antes de incubar, o eletrodo foi pesado (seco e úmido) para depois ser pesado de 24-24h e observado em microscópio trinocular (FWL1500T) para o acompanhamento da formação de biofilme.

4.8 CONSTRUÇÃO DA CCM

O protótipo foi projetado com o software Inventor 2017, prevendo três compartimentos (Figura 13), onde um é designado para área do ânodo, um para aprisionamento da membrana de Nafion perflorado (Sigma) e outro para o cátodo. Os compartimentos possuem três cavidades distintas para o influente e efluente do eletrólito, assim como para um conector do eletrodo.

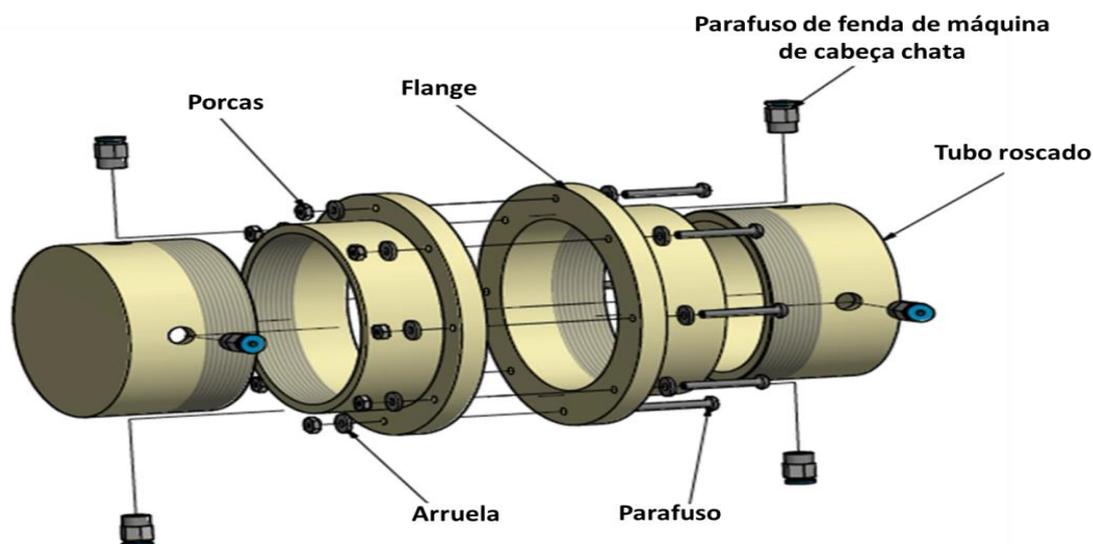


Figura 13: Protótipo desmembrado.

Fonte: Própria.

O polímero poliacetal (polioximetileno) foi utilizado como matriz para a usinagem do protótipo por apresentar propriedades interessantes tais como elevada rigidez, baixo desgaste, boa resistência e baixa absorção de água (<0,5%) (VICENTE, 2009).

As medidas utilizadas para a confecção de cada peça estão ilustradas nas Figuras 14 e 15.

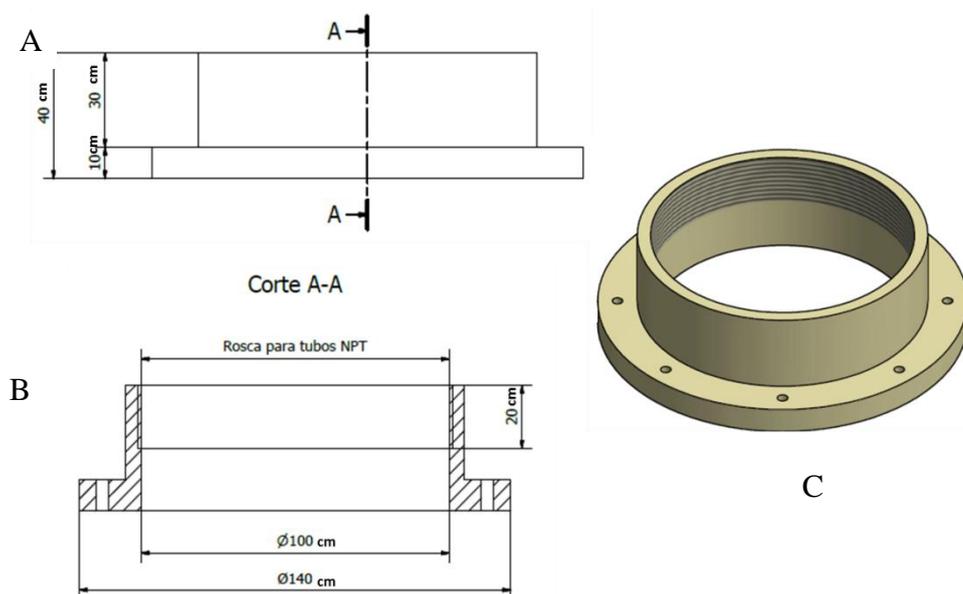


Figura 14: (A) Vista frontal e (B) vista em corte frontal da (C) flange do protótipo.
Fonte: Própria.

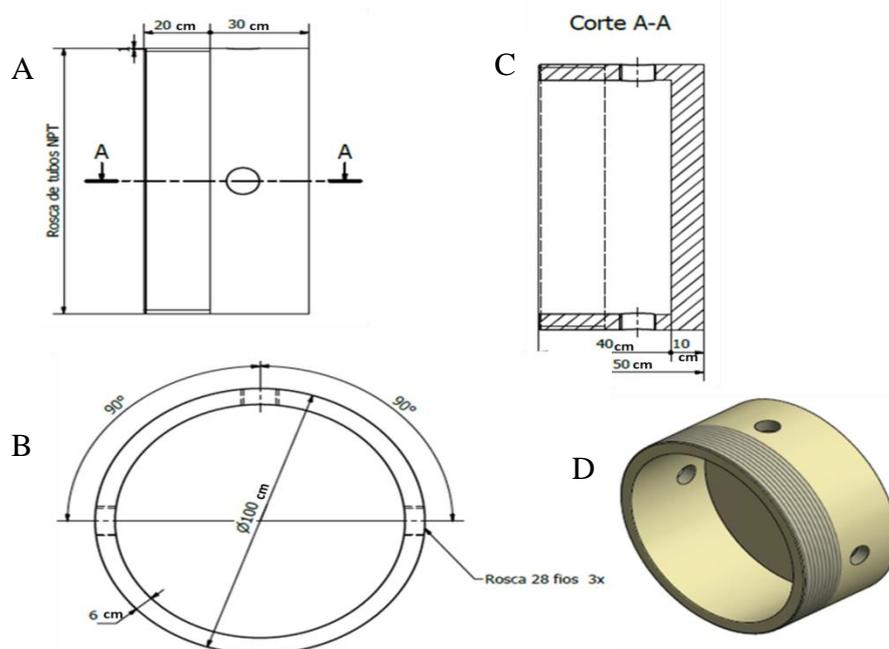


Figura 15: (A) Vista lateral direita, (B) vista superior e (C) vista lateral direita em corte do (D) tubo roscado do protótipo.
Fonte: Própria.

O ânodo é constituído de fibra de carbono em formato de tecido (tramado) aprisionado em rede de polipropileno (Figura 16), a fim de evitar seu o desgaste precoce, enquanto é usado como cátodo um dissipador de calor de alumínio removido

de placas de circuitos descartados. Os dois são conectados a um fio de alumínio ligado a uma resistência, formando um circuito externo.



Figura 16: Montagem do ânodo.

Fonte: Própria.

4.9 PARÂMETROS ELÉTRICOS

4.9.1 Determinação da área de superfície dos eletrodos

Como o ânodo possui poros (Figura 17), devido a seu tramado, um fio de fibra de carbono foi pesado (0,0145g) e depois o eletrodo (1,981g), de forma a estabelecer uma relação entre área superficial do fio com o peso do ânodo.

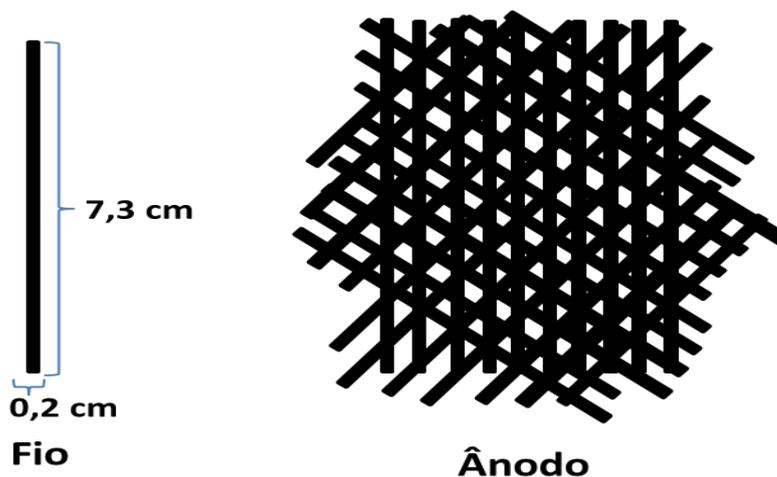


Figura 17: Representação do ânodo de pano de grafite.

Fonte: Própria.

O cálculo da área de um fio de pano de grafite é obtido usando a Equação 1, obtendo o valor de $2,92 \text{ cm}^2$.

$$Apg = b \times h \times Qv \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

$b = \text{base (cm)}$

$h = \text{altura (cm)}$

$Qv = \text{quantidade de versos}$

Para a determinação da área superficial geométrica total do ânodo, aplica-se uma regra de três simples para correlacionar o peso e a área de um fio de pano de grafite com o seu tramado sem estar aprisionado pela rede de polipropileno.

$$\begin{array}{r} 2,92\text{cm}^2 \quad \text{—————} \quad 0,0145\text{g} \\ X \quad \text{—————} \quad 1,9810\text{g} \\ X = 398,93 \text{ cm}^2 \end{array}$$

O cátodo, por outro lado, por ter um formato mais definido, foi subdividido em áreas (Figura 18, 19, 20 e 21) para o cálculo da área.

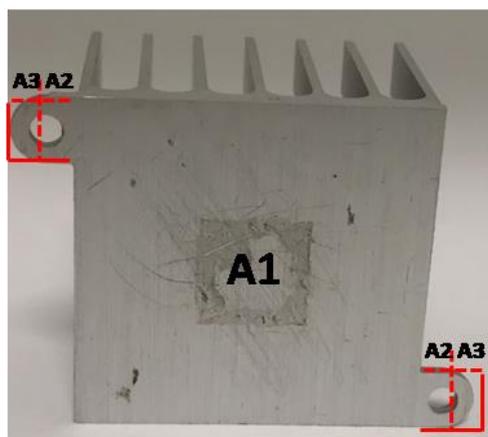


Figura 18: Áreas 1, 2 e 3 do cátodo de alumínio.

Fonte: Própria.

$$\begin{aligned} A1 &= b \times h \times Qv \quad (\text{Equação 2}) \\ A1 &= 14,06 \text{ cm}^2 \end{aligned}$$

$$A2 = Ar - Asc \quad (\text{Equação 3})$$

$$A2 = (b \times h \times Qv) - (\pi r^2 / 2)$$

$$A2 = 0,49 \text{ cm}^2$$

$$A3 = Asc - Asco \quad (\text{Equação 4})$$

$$A3 = \left[\frac{\pi \left(\frac{dscp}{2} \right)^2}{2} \right] \times Qv - \frac{\pi \left(\frac{dsc0}{2} \right)^2}{2}$$

$$A3 = 0,062 \text{ cm}^2$$

Onde:

A_r – área do retângulo (cm)

A_{sco} – área do semicírculo oco (cm)

A_{scp} – área do semicírculo preenchido (cm)

b – base (cm)

d_{sco} – diâmetro do semicírculo oco (cm)

d_{scp} – diâmetro do semicírculo preenchido (cm)

h – altura (cm)

r – raio (cm)

Q_v – quantidade de versos

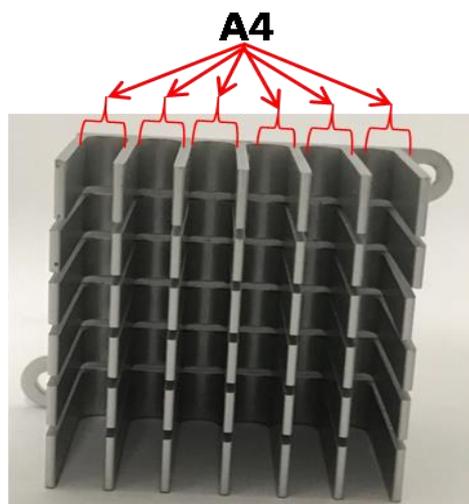


Figura 19: Área 4 do cátodo de alumínio
Fonte: Própria.

$$A4 = b \times h \times Q_{ed} \quad (\text{Equação 5})$$

$$A4 = 13,32 \text{ cm}^2$$

Onde:

b – base (cm)

h – altura (cm)

r – raio (cm)

Q_{ed} – quantidade de entre-dentes.

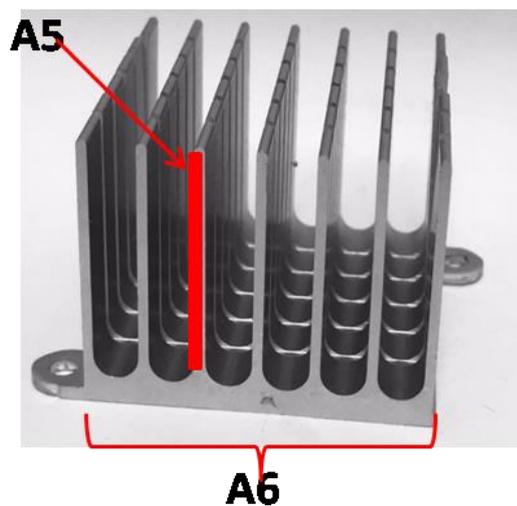


Figura 20: Áreas 5 e 6 do cátodo de alumínio.
Fonte: Própria.

$$A5 = b \times h \times Qd \times Qv \quad (\text{Equação 6})$$

$$A5 = 24,84 \text{ cm}^2$$

$$A6 = b \times h \times Qv \quad (\text{Equação 7})$$

$$A6 = 2,16 \text{ cm}^2$$

Onde:

b – base (cm)

h – altura (cm)

Qd – quantidade de dentes

Qv – quantidade de versos

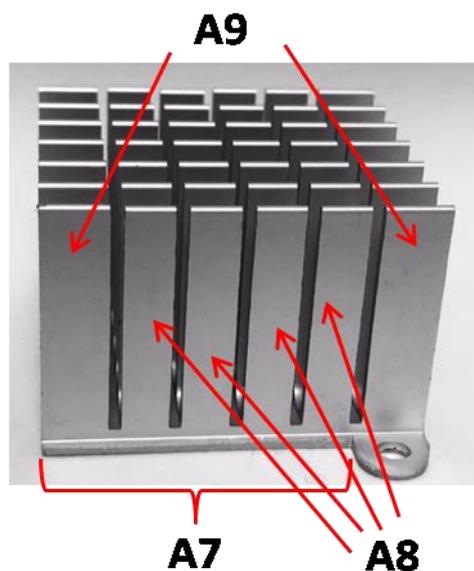


Figura 21: Áreas 7, 8 e 9 do cátodo de alumínio.
Fonte: Própria.

$$A7 = b \times h \times Qv \quad (\text{Equação 8})$$

$$A7 = 2,22 \text{ cm}^2$$

$$A8 = b \times h \times Qd \times Qv \quad (\text{Equação 9})$$

$$A8 = 43,68 \text{ cm}^2$$

$$A9 = b \times h \times Qd \times Qv \quad (\text{Equação 10})$$

$$A9 = 58,24 \text{ cm}^2$$

Onde:

b – base (cm)

h – altura (cm)

Qd – quantidade de dentes

Qv – quantidade de versos

Por fim, para a determinação da área superficial geométrica total do cátodo, os valores obtidos anteriormente são utilizados na Equação 11.

$$A_{total} = A1 + A2 + A3 + A4 + A5 + A6 + A7 + A8 + A9 \quad (\text{Equação 11})$$

$$A_{total} = 156,092 \text{ cm}^2$$

4.9.2 Corrente Elétrica

Quando um circuito elétrico é submetido a uma diferença de potencial elétrico entre suas extremidades, campos elétricos atuam no interior do material, exercendo força sobre os elétrons, fazendo-os se mover, estabelecendo uma corrente elétrica (TELEKEN, 2013). A corrente pode ser calculada pela Equação 12.

$$I = \frac{V}{R} \quad (\text{Equação 12})$$

Onde I é a corrente (A), V é a tensão (V) e R a resistência (Ω) externa empregada no sistema.

4.9.3 Potência

Há várias formas de analisar o desempenho de uma CCM, dentre as quais a mais utilizada é a avaliação de potência (TELEKEN, 2013). A potência P (W) pode ser calculada pela Equação 13.

$$P = I \times V \quad (\text{Equação 13})$$

Onde P é a potência (W), I é a corrente elétrica (A) e V a tensão (V) gerados no sistema.

4.9.4 Energia

Para determinar o quanto de energia está sendo formada por hora durante a curva de tensão, utilizou-se a Equação 14.

$$E = P \times \Delta t \quad (\text{Equação 14})$$

Onde E é a energia (W-h) e P é a potência (W) gerados no sistema em um dado tempo (Δt) em horas.

4.9.5 Densidade da Corrente Elétrica

Para a determinação da densidade da corrente elétrica (J) é necessário estabelecer o valor da corrente (I) que passa no circuito quando campos carregados eletricamente atuam no interior da CCM, devido à movimentação dos elétrons que são transferidos da *Shewanella putrefaciens* para o ânodo, por contato direto ou pelos nanofios da bactéria. Podemos calcular pela Equação 15.

$$J = \frac{I}{S} \quad (\text{Equação 15})$$

Onde J é a densidade de corrente (mA/cm²), I é a corrente (mA) e S é área do ânodo (cm²).

4.9.6 Densidade de potência

Densidade de potência é a quantidade de potência (taxa temporal de transferência de energia) gerada por unidade de uma área. É um aspecto importante a ser considerado quando há limitações de espaço, isto é, ao obter uma alta densidade de potência, pode-se miniaturizar os protótipos para torná-los portáteis ou vestíveis. Podemos calcular a densidade de potência com a Equação 16.

$$D = \frac{P}{S} \quad (\text{Equação 16})$$

Onde D é a densidade de potência (mW/cm²), P é a potência (mW) e S é área do eletrodo (cm²).

4.9.7 Curva de polarização

A obtenção da curva de polarização é formulada por um conjunto de resistores com valores conhecidos que foram utilizados na conexão elétrica entre o ânodo e o cátodo da célula eletroquímica e, com o suporte de um multímetro digital FLUKE 209, mensurou-se a tensão (mV) gerada no dispositivo para cada uma das resistências.

As curvas de polarização foram produzidas pela variação da resistência externa do circuito, empregando-se resistores na faixa de $1,8 \Omega$ a $1 \text{ M}\Omega$ (Figura 22). Cada resistência (R_{ext}) foi mantida na CCM por 10 minutos para que a tensão no dispositivo estabilizasse.



Figura 22: Placa com resistores SMD soldados em placa de circuito e conectados a pinos.

Fonte: Própria.

Na câmara anaeróbica (ânodo), o combustível testado seguiu o modelo gerado no planejamento do composto central tanto para óleo doméstico quanto para o do RU, porém uma condição a mais foi analisada para o RU, pela baixa resposta obtida nesta e nas etapas subsequentes. Na câmara aeróbica (cátodo), foi utilizado como eletrólito água da torneira sem adição de sal em todos os testes.

4.9.8 Curva de tensão

Com a determinação do resistor ideal, de acordo com o item 4.9.5, foi realizada uma curva de tensão nas condições ideais estabelecidas tanto para o OD quanto para o RU, de acordo com o item 4.6.2 e uma a mais para o RU.

Além disso, a composição do eletrólito da câmara catódica foi variada, a fim de verificar a estabilidade do sistema, a influência do mesmo sob a tensão e a tensão máxima gerada.

Como eletrólito, foi utilizado água da torneira, sem nenhum tratamento, e água da torneira com adição de 4g de sal de cozinha (1g NaCl/100mL água), pois o projeto visa o desenvolvimento de um produto que possa ser utilizado, sem gastos extras exorbitantes com reagentes puros, em residências.

4.10 ANÁLISE DO CRESCIMENTO BACTERIANO EM FUNÇÃO DA TENSÃO GERADA NA CCM

Uma vez condicionada na CCM, foi levantada a hipótese de que a quantidade de células bacterianas viáveis interferia, positiva ou negativamente, na tensão gerada. Afim de elucidar esta questão, durante um período de 50 h, foram retiradas alíquotas de 1mL de 2 – 2 horas da câmara anódica e plaqueadas em meio LB a 30°C por 24hrs para contagem das unidades formados de colônias (UFC). Para possibilitar a contagem das colônias, foi realizada uma diluição sucessiva das alíquotas (Figura 23).

Este experimento ocorreu com 10% de óleo do RU, pH 6, 32,5°C e com agitação de ± 150 rpm na câmara anódica e água filtrada na câmara catódica. Vale ressaltar que as mesmas alíquotas coletadas para este procedimento também foram utilizadas para análise da composição química em GC-MS descrito no item 4.11.1

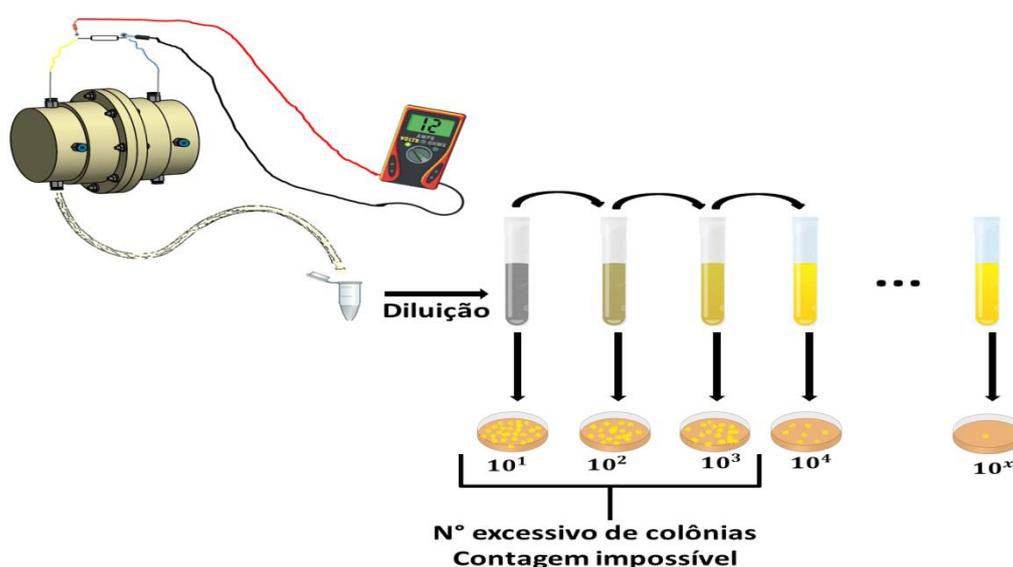


Figura 23: Coleta de amostras bacterianas da CCM, diluição em série das mesmas e plaqueamento.
Fonte: Própria

4.11 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA

4.11.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrofotômetro de massas (GC-MS)

Amostras dos óleos residuais de fritura doméstico e do RU, assim como as amostras coletadas da CCM de duas em duas horas por um período de 50 horas, cujo combustível era de M9 (pH 6), 10% de óleo do RU e 5% da bactéria, para determinação da composição química dos óleos antes e depois de entrarem em contato com a bactéria.

As análises foram feitas em Cromatógrafo Gasoso acoplado a espectrometria de massas (GCMS – QP2010 Ultra) da SHIMADZU no Laboratório de Cromatografia – ILUM, situado no HUB – UEA, unidade EST.

Foi usado gás hélio (He) como fase móvel, a injeção de 1µL de amostra com tempo de corrida de 39 minutos (dois minutos iniciais sem leitura) e temperatura final de 300°C, sendo que a velocidade de aquecimento se deu com 50°C a cada dois minutos. O range de detecção foi de 40-500 *m/z*, temperatura de superfície do íon de 200°C e a de linha de transferência do íon de 300°C.

Foi utilizada a coluna Rtx®-5MS de 30m, 0,25mm de largura e 0,25µm de porosidade com fase estacionária de baixa polaridade.

4.11.2 Análise de metais

As análises foram realizadas em Espectrômetro de Fluorescência de Raio X Dispersivo de Comprimento de Onda Sequencial de Bancada (WDXRF) Supermini 200 da marca Rigaku no Laboratório de Raio – X, coordenado pela Profa. Dra. Cláudia Candida, na UEA, unidade EST.

Em células próprias, foram pipetados 10µL da amostra de óleo do doméstico e do RU em papel de celulose (Figura 24) para análise.



Figura 24: Célula para análise de metais junto ao papel de celulose contendo as amostras de óleo doméstico e do RU.

Foto: Philipi Ricardo e Jennifer Salgado.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise de competitividade da geração de energia usando célula a combustível microbiano (CCM)

No caso em estudo, o processo de inovação tecnológica possui origem tanto nas instituições de C,T&I quanto no mercado, ocorrendo predominantemente com origem nas instituições de pesquisa (JÚNIOR; LASMAR; ROCHA, 2015 *in* MAFRA et al, 2015).

A inovação se mostra aliada da competitividade empresarial e preconizada como necessária para sustentabilidade empresarial, principalmente no setor de bionegócios. No caso do Amazonas, a eficácia e eficiência de empresas desenvolvidas na região demandam esforços não apenas na dinamização das atividades econômicas baseadas na biodiversidade, mas também no desenvolvimento de processos que possam ser implementados em escalas industriais de forma a atender não somente o mercado local (ARAÚJO FILHO, 2010 *in* MAFRA et al, 2015).

Deste modo, as variáveis expressas na Tabela 9, foram baseadas nas análises das respostas obtidas durante a aplicação do questionário, ao longo do desenvolvimento do projeto.

Tabela 9 – Análise da competitividade da CCM proposta utilizando modelo das cinco forças de Porter.

Ameaça a novos entrantes	Poder de barganha dos fornecedores	Poder de barganha dos compradores	Ameaça de produtos substitutos	Competição entre as empresas concorrentes
Produção mais eficiente de energia	Coleta dos óleos residuais	Aumento da produção	Existência de outras CCMs com o uso de bactérias diferentes, como a <i>Geobacter</i>	Aumento do grau de competitividade e das matrizes energéticas
Produtos com qualidade superior		Produtos com qualidade superior		
Modificações gênicas na bactéria	Aumento dos preços dos eletrodos e materiais	Capacidade de atender novos mercados	Utilização dos óleos residuais para outros fins como a produção de sabão	Capacidade de atender novos mercados
Aumento da confiabilidade da CCM				

A tecnologia desenvolvida neste estudo configura, por si só, uma barreira à entrada de outros competidores, devido à necessidade de investimentos em P&D e economia de

escala, além de conhecimentos de *know-how* específicos. Por outro lado, cobrindo esses dois obstáculos e, ao mesmo tempo, oferecendo um produto com qualidade superior e/ou de menor custo, há risco da concorrência se estabelecer e tornar o protótipo obsoleto.

Este cenário, até o presente momento, é improvável por utilizar como insumo óleos de fritura, um poluente ambiental, cuja coleta tem se provado um desafio.

As novas tecnologias sugerem um aumento do poder de barganha dos fornecedores, devido à logística que será desenvolvida para fazer uma coleta eficiente dos óleos, uma vez que não há um sistema eficaz, para este tipo de resíduo.

Se a tecnologia se consagrar, é possível que as tecnologias de suporte, como os eletrodos, se tornem mais caros, pois serão adaptados e refinados para compor especificamente a CCM. Para contornar isto, é essencial a busca por eletrodos de material de baixo custo, sem perda na eficiência de captação de elétrons. Um fator atenuador, caso os eletrodos sejam caros, é o uso de insumos (óleos residuais) a serem fornecidos pela população, não necessitando comprar do fornecedor do protótipo.

Já o poder de barganha dos compradores é reduzido com a possibilidade da matriz energética atender outros mercados com níveis de exigência superior, afetando a oferta da CCM.

Assim como se pode usar espécimes do gênero *Shewanella* sp., é possível que outro gênero bacteriano apresente um desempenho similar ou superior para concorrer como produtos substitutos. No entanto, são poucas as instituições que investem nessa linha de pesquisa e, menor ainda, as empresas que desenvolvem essas tecnologias com capacidade de prover oferta confiável e contínua para grandes empresas ou mercados.

As inovações tecnológicas aumentam em quantidade e qualidade de tecnologias emergentes, como a CCM, tornando a rivalidade entre as empresas tradicionais (petroleiras e hidrelétricas) e as empresas que investem em tecnologias renováveis (eólica e solar) mais acirradas. Neste contexto, a disputa se estende para novos mercados consumidores e, no caso local, permite o acesso facilitado a linhas de crédito para financiamento de investimentos em infraestrutura, capacitação de mão-de-obra e em P&D.

5.2 Pesquisa de opinião e mercado

A biotecnologia é um dos ramos em constante busca da inovação no desenvolvimento de produtos e processos para atender as necessidades da sociedade, porém muitas vezes as pesquisas científicas não estão em sintonia com as suas demandas.

A pesquisa de mercado, de forma qualitativa, auxilia no levantamento de problemas, assim como na validação de uma hipótese (SEBRAE, 2017).

Neste caso, o objetivo da pesquisa foi identificar o uso e manipulação de óleos de fritura e o potencial interesse na tecnologia desenvolvida neste estudo, a CCM.

A amostragem teve maior concentração nos habitantes do Amazonas, portanto, os dados aqui expostos (Tabela 10) se referem a essa população.

Tabela 10 – Entrevistados *on-line* no período de Março de 2016 foram separados de acordo com o local de moradia.

Local	Entrevistados
Amazonas	308
Ceará	7
Distrito Federal	4
Espírito Santo	1
Exterior (Argentina, E.U.A e Japão)	4
Minas Gerais	11
Não especificado	36
Pará	2
Paraná	4
Rio de Janeiro	6
Rio Grande do Norte	4
Rio Grande do Sul	3
Rondônia	1
Roraima	1
São Paulo	14
Total	406

Conforme as respostas coletadas do questionário do ANEXO 1, é possível inferir que a população manauara acrescenta óleos vegetais na sua dieta (Figura 25 e 26), porém não em grandes quantidades, isto é, faz pouco uso do cozimento por imersão.

Na sua casa, é utilizado óleo de cozinha?

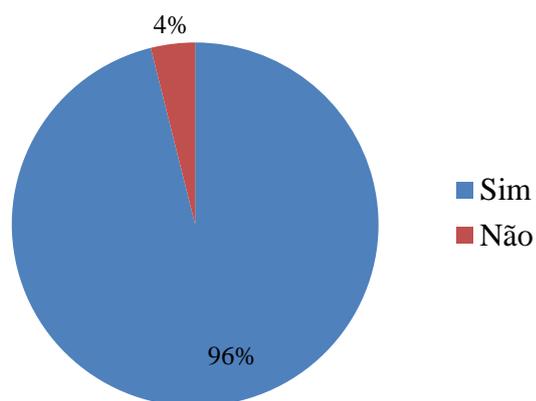


Figura 25: Consumo de óleos vegetais pela população manauara.

Os entrevistados que alegaram não utilizar óleo assim o justificaram por buscar um estilo de vida mais saudável, livre de gorduras e frituras.

Geração de óleos residuais em residências de Manaus

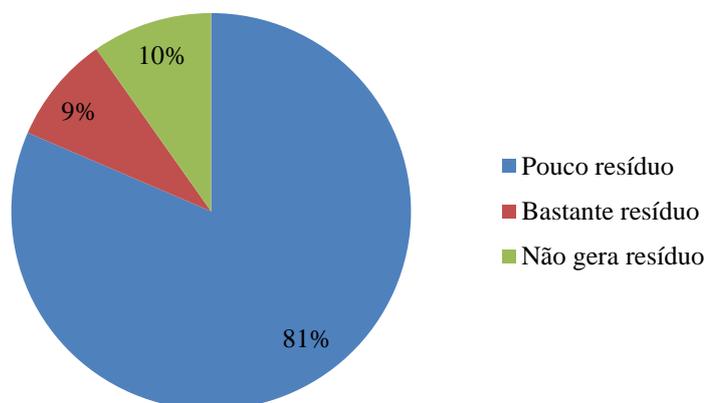


Figura 26: Geração de óleos residuais em residências de Manaus.

Os entrevistados foram questionados quanto à destinação dos resíduos gerados (Figura 27) e evidenciou-se que a realidade constatada, em 2009, por Barros e colaboradores persiste com aproximadamente 50% da população descartando o resíduo pela pia, acarretando em entupimentos das tubulações e contaminação da água dos rios.

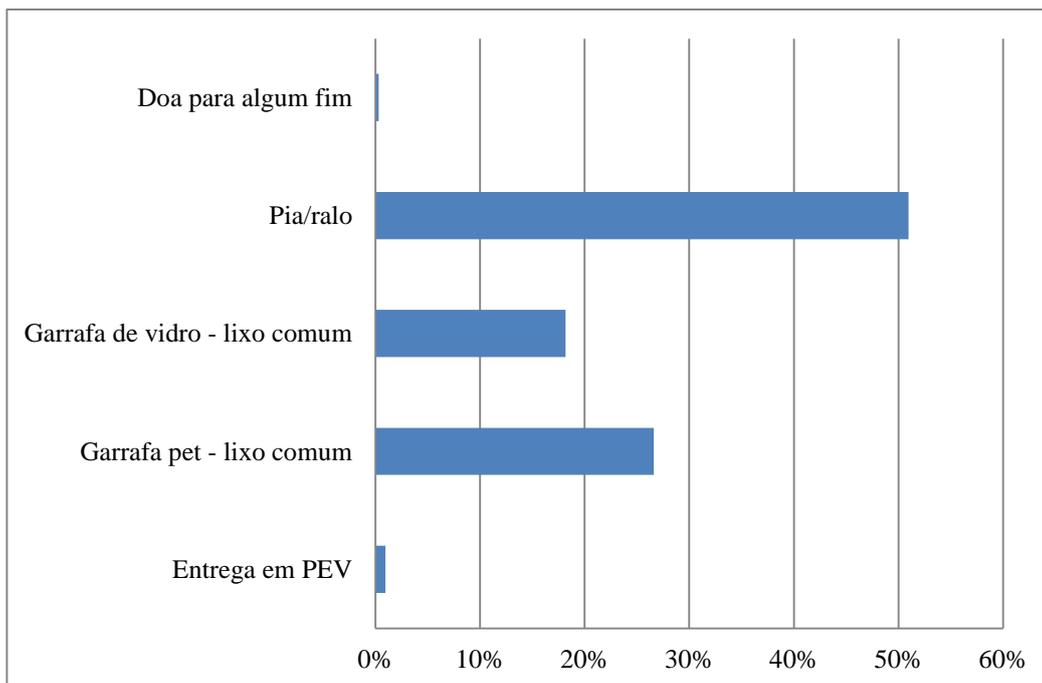


Figura 27: Destinação dos óleos de fritura residuais em Manaus.

Os entrevistados alegam, na sua maioria, que não tem conhecimento de serviços ou projetos que colem estes resíduos (Figura 28). Isto demonstra a falta de informação e interesse da população na preservação do ambiente, e uma oportunidade de melhoria para o Governo na divulgação dos locais onde há essa coleta e na inclusão do óleo de cozinha como um dos resíduos coletados no serviço de reciclagem, que atende em alguns dos bairros da cidade de Manaus.

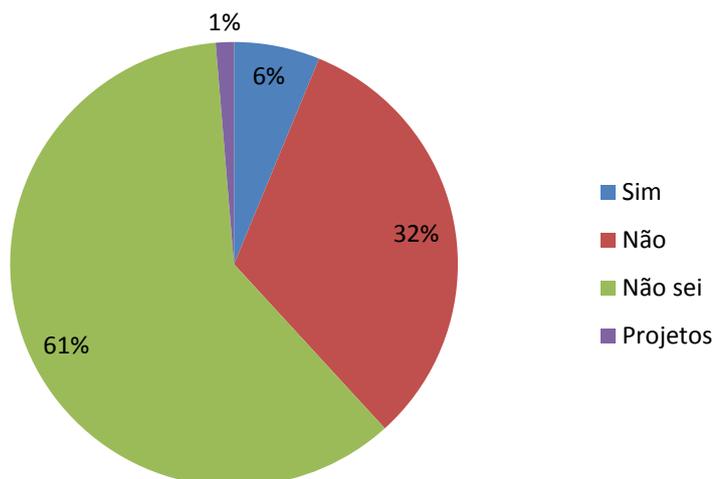


Figura 28: Conhecimento a cerca de serviços de coleta e reciclagem de óleos residuais em Manaus.

Os dados levantados validam nossa hipótese de que há uma carência de soluções para os óleos residuais em Manaus, porém ainda se fazia necessário identificar o interesse do consumidor em tecnologias que as ofereçam, de forma que o questionário aplicado também abrangeu este aspecto.

Observamos que há um grande interesse numa tecnologia que não apenas apresenta uma solução para os óleos, mas que também ofereça outra vantagem, geração de energia elétrica.

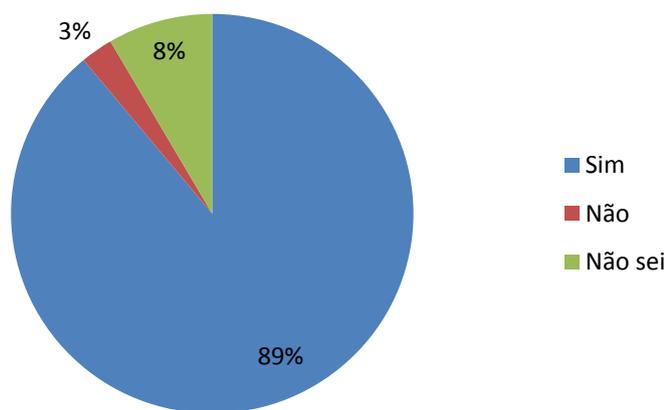


Figura 29: Interesse em dispositivos que usam óleos de fritura residuais para gerar energia elétrica.

Naturalmente, quando a tecnologia envolve micro-organismos, há mais cautela da parte do consumidor, já que têm sua imagem muito atrelada há problemas de saúde. Dito isso, esperava-se uma forte resistência na adoção dessa tecnologia, porém 68% dos entrevistados se demonstraram abertos a usar sem a necessidade de nenhum artifício de convencimento que teria que ser aplicado nos 18% que se mostraram indecisos.

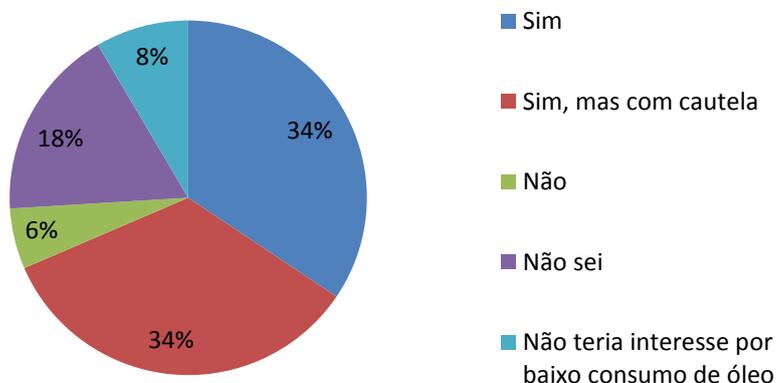


Figura 30: Interesse na aquisição de dispositivos que contenham micro-organismos que degradam óleo residual para gerar energia.

Estes resultados se mostram ainda mais interessantes por haver a distinção entre os consumidores que rejeitaram a tecnologia pela presença de micro-organismos (6%) daqueles que não estariam interessados, por não fazer um consumo relevante de óleo. Este segundo tipo, caso haja um aumento no consumo de óleo, poderia ainda ser captado para adquirir o produto.

5.3 Planejamento de análise estatística e modelagem experimental

5.3.1 Planejamento fatorial 2⁵

A necessidade de avaliar os efeitos de dois ou mais fatores sugerem a adoção de técnicas de experimentos fatoriais, que fornecem um estudo estatístico das interações entre os fatores de interesse (VIERA, 1999), feitos e acordo com o item 4.6.1.

Ambos os resultados (Tabela 11 e 12) foram obtidos analisando as interações entre concentração do óleo, pH, temperatura, agitação e tempo, estimando a significância de cada variável no modelo de degradação.

Na Tabela 11, vemos que os efeitos significativos dentro do modelo estão em vermelho, no caso pH e concentração do óleo.

Tabela 11 – Efeitos estimados dos ensaios com óleo doméstico.

Fator	Efeitos	Teste T	Intervalo de confiança (-95%)	Intervalo de confiança (+95%)
Média/Interação	49,9875	27,68198	46,1594	53,8156
(1)pH	-8,6417	-2,39278	-16,298	-0,9855
(2)Temperatura	6,05834	1,67749	-1,5978	13,7145
(3)%óleo	-17,475	-4,83864	-25,131	-9,8188
(4)Agitação (rpm)	-4,23	-1,16986	-11,881	3,43116
(5)Tempo (h)	6,025	1,6826	-1,6312	13,6812
1 x 2	0,775	0,21459	-6,8812	8,43116
1 x 3	-2,1917	-0,60685	-9,8478	5,46448
1 x 4	6,05834	1,67749	-1,5978	13,7145
1 x 5	4,475	1,23908	-3,1812	12,1312
2 x 3	-1,8917	-0,52378	-9,5478	5,76448
2 x 4	1,6917	0,4684	-5,9644	-9,3478
2 x 5	0,4417	0,12229	-7,2144	8,09782
3 x 4	0,725	0,20074	-6,9312	8,38116
3 x 5	-2,525	-0,69914	-10,181	5,13116
4 x 5	-1,9417	-0,53763	-9,5978	5,71448

Quanto menor o pH e óleo, melhor será a taxa de degradação, mas não podemos ignorar os demais fatores, afinal temos um fator biológico (bactéria) que tem seu metabolismo afetado também pela temperatura e condições de agitação em que é condicionado, como é possível verificar a partir dos efeitos positivos que ocorrem quando o pH (1), temperatura (2) e agitação (4) interagem de modo sinérgico.

Deste modo, ainda analisando a Tabela 12, observamos que são necessárias: temperatura mais elevada, baixa ou nenhuma agitação e um tempo maior, para obter bons resultados de degradação.

Quando analisado os efeitos sob o óleo do RU (Tabela 12), vemos que apenas o óleo, em baixas concentrações, é significativo, porém permanece o mesmo fator biológico apontado no caso do óleo doméstico, apesar do estudo dos efeitos da interação aparentar serem antagônicos.

Tabela 12 – Efeitos estimados dos ensaios com óleo do RU.

Fator	Efeito	Teste T	Intervalo de confiança (-95%)	Intervalo de confiança (+95%)
Média/Interação	38,5437	16,27509	33,5232	43,5643
(1)pH	-3,2208	-0,68	-13,2618	6,8202
(2)Temperatura	-8,6625	-1,82887	-18,7035	1,3785
(3)%óleo	-23,3125	-4,92185	-33,3535	-13,2715
(4)Agitação (rpm)	2,7875	0,58851	-7,2535	12,8285
(5)Tempo (h)	-1,3542	-0,2859	-11,3952	8,6868
1 x 2	-1,9375	-0,40905	-11,9785	8,1035
1 x 3	0,3792	0,08005	-9,6618	10,4202
1 x 4	1,0458	0,2208	-8,9952	11,0868
1 x 5	-0,9125	-0,19265	-10,9535	9,1285
2 x 3	-0,9625	-0,20321	-11,0035	9,0785
2 x 4	-4,2625	-0,89992	-14,3035	5,7785
2 x 5	-4,9375	-1,04243	-14,9785	5,1035
3 x 4	-4,0125	-0,84714	-14,0535	6,0285
3 x 5	-1,0542	-0,22256	-11,0952	8,9828
4 x 5	2,6125	0,55156	-7,4285	12,6535

Assim como no caso anterior, também é apontada a necessidade de utilizar faixas tamponantes mais ácidas, mas os demais fatores já divergem. Para obter uma boa resposta degradativa, são necessárias faixa de temperatura mais baixa, uma agitação maior e menos tempo de incubação.

Estes fenômenos ocorrem tanto para OD quanto o RU em decorrência da adaptação da *S. putrefaciens* a composição desses resíduos. Por ser um dos modelos de estudo de estresse ambiental, é natural que requeira condições diferenciadas para degradar amostras diferentes, apesar de muito semelhantes (YIN; GAO, 2002).

5.3.2 Planejamento do composto central

A partir dos dados levantados no planejamento fatorial, foi aplicado o método do composto central descrito no item 4.6.2 para a obtenção de resultados que possibilitassem a aplicação de análise de variância descrita no item 4.6.3, que gera a Tabela 13.

Na Figura 31, temos o diagrama de Pareto demonstrando os efeitos estudados no composto central do OD. Tanto o óleo quanto a temperatura apresentam significância em faixas baixas, porém quando estudada a interação entre o óleo e o pH, este se torna significativo para explicar o fenômeno de degradação e compor um modelo.

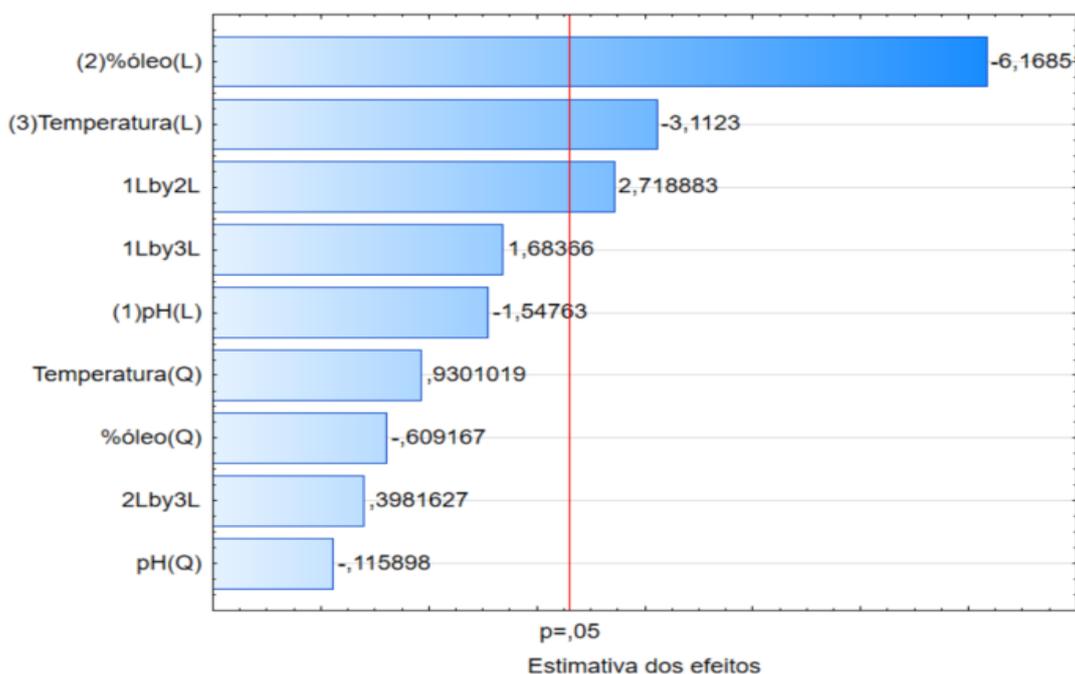


Figura 31: Diagrama de Pareto com os fatores (eixo y) e a estimativa dos efeitos (eixo x) com $p = 0,05$ da análise do óleo doméstico.

A significância da interação óleo-pH ocorre pela oxidação lipídica que é aumentada em pH ácidos, principalmente, na presença de íons de ferro (BRANCO, 2011) que estão presentes no óleo doméstico, conforme é apresentado no item 5.5.

Tabela 13 – ANOVA dos ensaios com óleo doméstico.

Fonte de variação	Soma quadrática	Número de graus de liberdade	Média quadrática
Regressão	4.242,493	1	4.242,493
Resíduos	549,481	16	35,583
Falta de ajuste	513,481	3	6,619
Erro puro	36	13	42,467
Total	4.811,831	17	-
% de variação explicada			88,16%
% de variação explicável			99,25%

A porcentagem de explicação indica quanto da variação do fenômeno é explicado e a porcentagem de variação explicável é o quanto pode ser explicado pelo modelo proposto. Se os ajustes apontados fossem corrigidos (Figura 32), 11,09% do modelo seria explicado, o que poderia mudar as condições ótimas de trabalho delineadas pelo modelo quadrático (BARROS NETO et al, 1995).

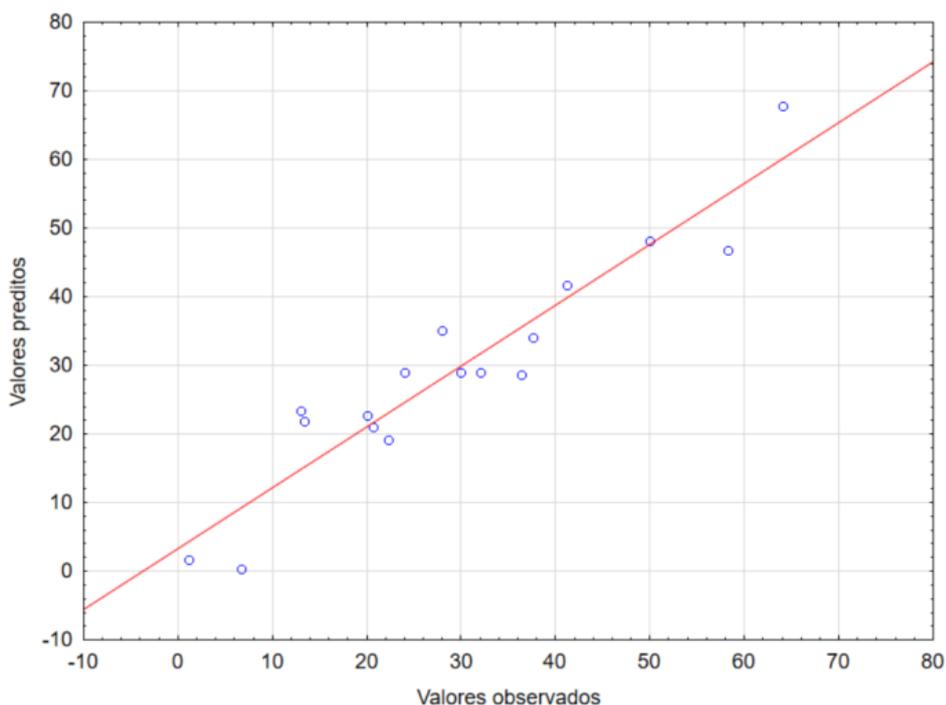


Figura 32: Valores preditos e observados do composto central do OD.

Uma vez que a regressão é o modelo proposto e os resíduos são os fenômenos que ficaram fora do modelo e não são explicados, a fim de validar a modelagem experimental foi realizado o teste F (Equação 17), onde se observa que a média quadrática da regressão é muito superior à da média quadrática do resíduo, ilustrando que a regressão é significativa, há uma relação entre os fatores estudados para compor o modelo quadrático e poucos fatores externos poderiam afetar o sistema.

$$\frac{\text{Média quadrática da regressão}}{\text{Média quadrática resíduo}} = 123,53 \gg 4,49 = F_{1,16} \quad (\text{Equação 17})$$

Como demonstrado na Tabela 14, há variáveis referentes à falta de ajustes experimentais e erro puro, sendo assim feito um teste F para averiguar se há como melhorar o modelo apresentado. Como descrito na Equação 18, a média quadrática da falta de ajuste é maior que a média quadrática do erro experimental, o que demonstra que é possível melhorar o modelo.

$$\frac{\text{Média quadrática devido a falta de ajuste}}{\text{Média quadrática erro experimental}} = 61,8 > 3,41 = F_{3,13} \quad (\text{Equação 18})$$

Como resultado dessa regressão, foi obtido uma equação quadrática que modela a influência dos fatores pH (pH), temperatura (temp) e concentração do óleo (oil) no meio na taxa de degradação desse resíduo (%Consumo):

$$\begin{aligned} \%Consumo = & 28,9729 - 3,5031pH - 13,8397oil - 7,0057temp - 0,2775pH^2 - \\ & 1,4182oil^2 + 2,194temp^2 + 7,9667pHoil + 4,9333pHtemp + 1,667 oil.temp \end{aligned}$$

(Equação 19)

Essa equação pode ser mais bem interpretada quando analisada pelos gráficos de superfície de nível gerados dessa equação, usando os resultados da metodologia descrita no item 4.7.2.

Na Figura 33, temos como pontos de análise a relação do pH e da temperatura quanto a taxa de degradação. Nesse tipo de gráfico, quanto mais vermelha é a região, melhor são os resultados obtidos. Como pode ser observado, quanto maior a faixa do pH, mais estreita é a faixa de temperatura em que se pode trabalhar, porém a taxa de degradação do óleo aumenta de forma significativa.

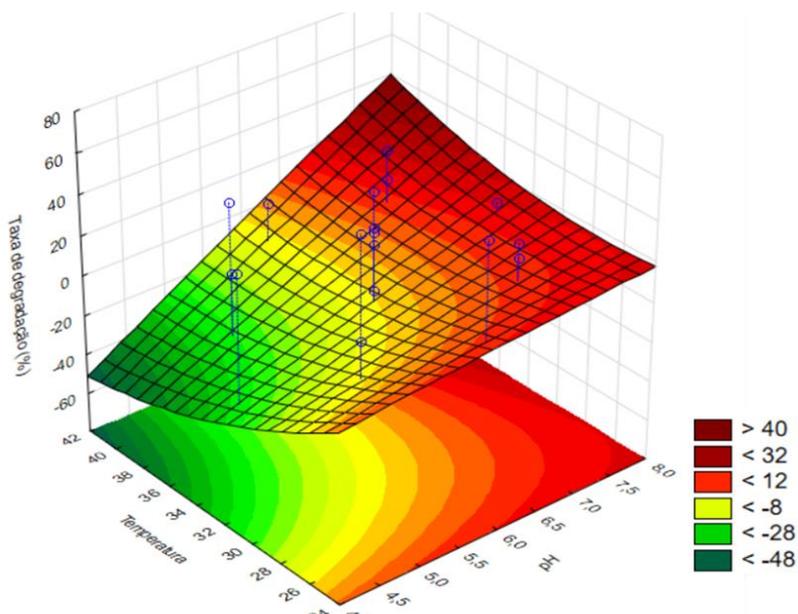


Figura 33: Superfície de nível obtida a partir da equação quadrática obtida no estudo da influência dos fatores pH e temperatura na taxa de degradação do OD na condição de 20% de óleo.

Neste caso, o sistema está sob condições extremas tanto de concentração de óleo quando de pH, o que pode sobrecarregar demais a bactéria, levando-a a morte prematura.

Na Figura 34, temos como pontos de análise a relação da concentração do óleo e da temperatura. Como pode ser observado, a faixa de temperatura é insignificante, se formos considerar uma degradação a partir de 60% como uma boa resposta, quando o pH é tão ácido (pH 4,3), porém a resposta só é elevada quando houver baixas concentrações do óleo no meio (1-10%) e uma temperatura mais amena (26°C – 30°C)

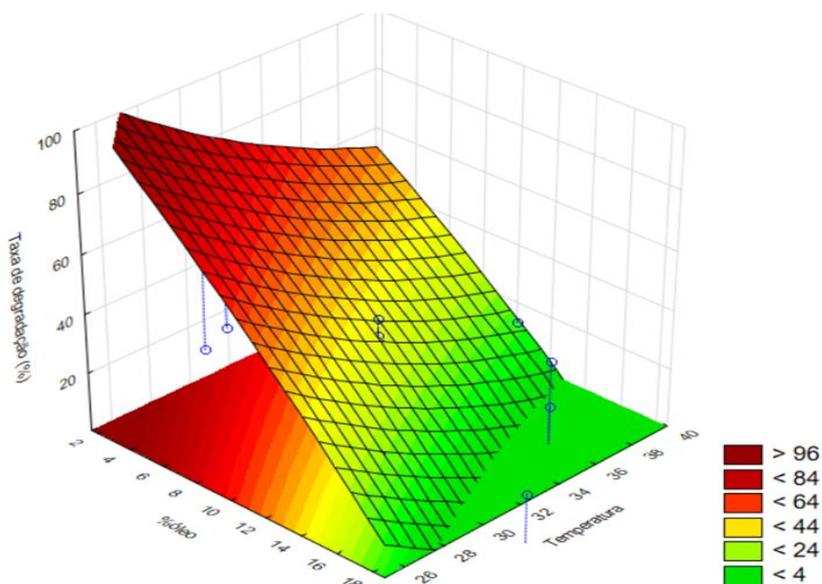


Figura 34: Superfície de nível obtida a partir da equação quadrática obtida no estudo da influência dos fatores concentração do óleo e temperatura na taxa de degradação do OD na condição de pH 4,3.

Na Figura 35, temos como pontos de análise a relação da concentração do óleo e do pH. Como pode ser observada, a faixa de pH se restringe a faixa ácida numa temperatura de 28°C, havendo alta degradação se a concentração do óleo for entre 1-6%.

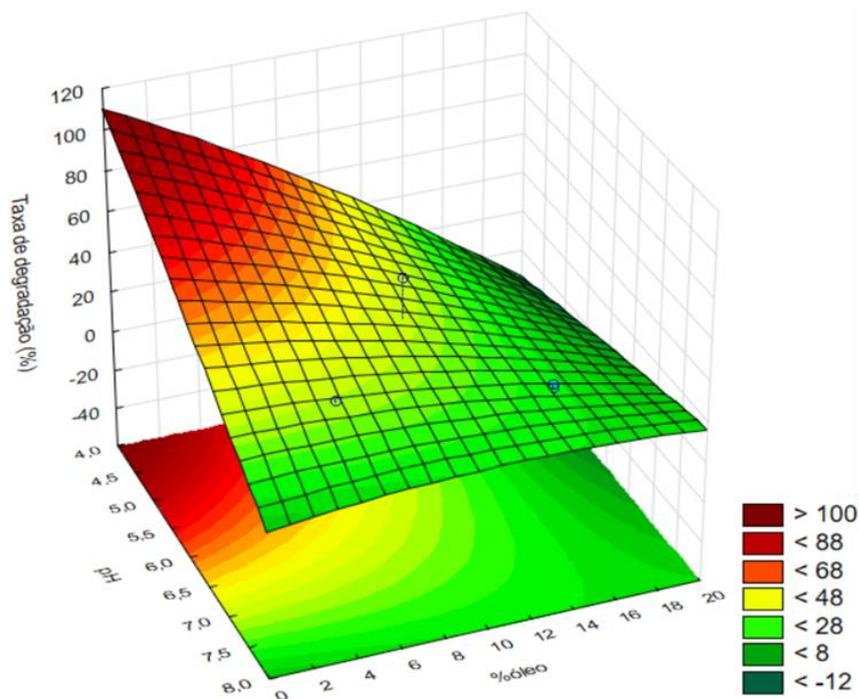


Figura 35: Superfície de nível obtida a partir da equação quadrática obtida no estudo da influência dos fatores concentração do óleo e pH na taxa de degradação do OD na condição de 28°C.

Ao fazer o tratamento final dos dados, obtemos que para aperfeiçoar a taxa de degradação do óleo, as melhores condições são: temperatura de 28°C, pH 4 e 10% de óleo no modelo de degradação do óleo doméstico.

Em relação às análises do óleo do RU, temos que o óleo e a temperatura são significativos, mas a interação entre eles não apresenta significância, assim como o pH (Figura 36), apesar de ter níveis de íons de ferro similar aos encontrados no óleo doméstico.

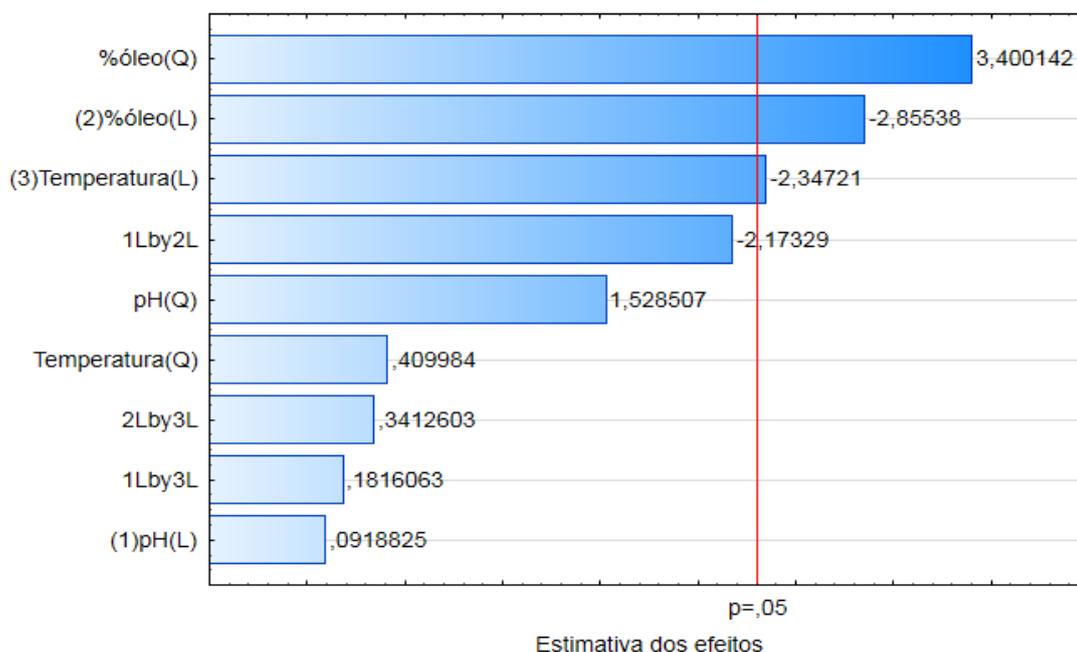


Figura 36: Diagrama de Pareto com os fatores (eixo y) e a estimativa dos efeitos (eixo x) com $p = 0,05$ da análise da amostra do óleo do RU.

Apesar de terem concentrações similares de íons de ferro, a concentração de alumínio no óleo do RU é maior, o que pode estar interferindo no metabolismo lipídico da bactéria e/ou fazendo um leve efeito bactericida (ALVEZ, 2010).

Tabela 14 – ANOVA dos ensaios do óleo do RU.

Fonte de variação	Soma quadrática	Número de graus de liberdade	Média quadrática
Regressão	4548,689	1	4548,689
Resíduos	869,623	16	56,04
Falta de ajuste	1049,183	3	349,727
Erro puro	66,75	13	5,13
Total	5445,312	17	-
% de variação explicada		83,53%	
% de variação explicável		98,77%	

Assim como no modelo do óleo doméstico, se os ajustes apontados fossem corrigidos (Figura 37), 15,24% do modelo seria explicado, o que poderia mudar as condições ótimas de trabalho delineadas pelo modelo quadrático (BARROS NETO et al, 1995).

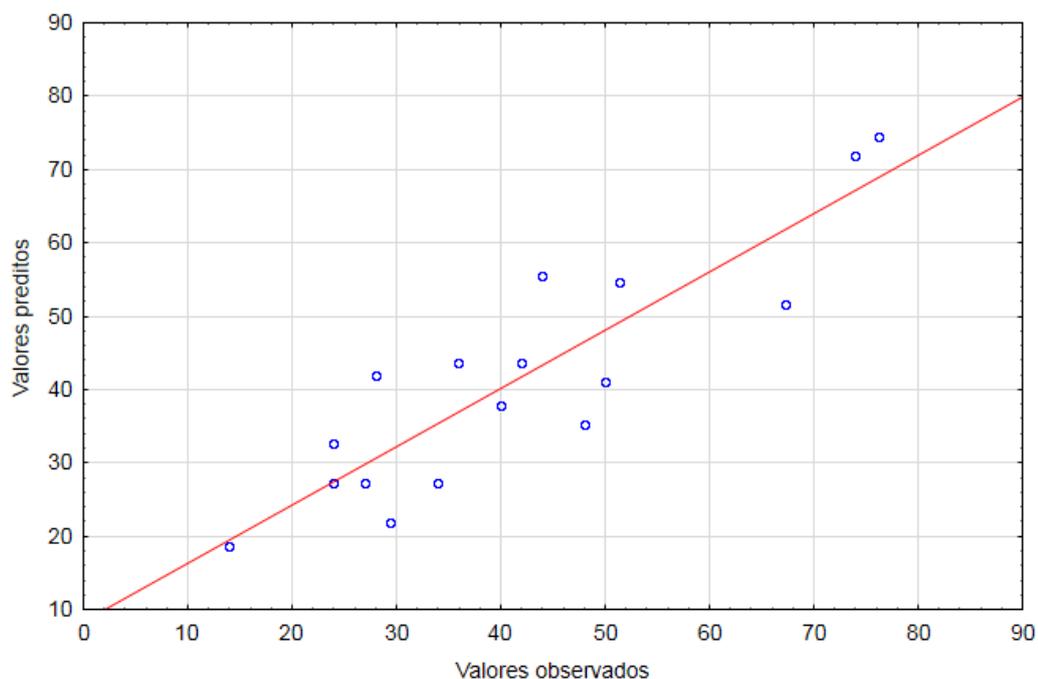


Figura 37: Valores preditos e observados do composto central do RU.

A fim de validar a modelagem experimental (Equação 20) e verificar a possibilidade de melhorar o modelo (Equação 21), foram realizados testes F.

$$\frac{\text{Média quadrática da regressão}}{\text{Média quadrática resíduo}} = 81,17 \gg 4,49 = F_{1,16} \quad (\text{Equação 20})$$

$$\frac{\text{Média quadrática devido a falta de ajuste}}{\text{Média quadrática erro experimental}} = 68,17 > 3,41 = F_{3,13} \quad (\text{Equação 21})$$

Nas equações 20 e 21, houve um comportamento similar ao do óleo doméstico, onde se observa que há poucos fatores externos que poderiam afetar o sistema e que é possível melhorar o modelo.

Como resultado dessa regressão, foi obtido uma equação quadrática que modela a influência dos fatores pH (pH), temperatura (temp) e concentração do óleo (oil) no meio na taxa de degradação do mesmo (%Consumo):

$$\begin{aligned} \%Consumo = & 27,24709 + 0,29638pH - 9,12967oil + 11,28103temp + \\ & 5,21623pH^2 + 11,28103oil^2 + 1,37823temp^2 - 9,075pHoil + 0,7583pHtemp + \\ & 1,425oil.temp \quad (\text{Equação 22}) \end{aligned}$$

Essa equação, assim como à gerada nos resultados do OD, pode ser interpretada melhor, quando analisada nos gráficos de superfície de nível gerados.

Na Figura 38, a interação entre o pH e a temperatura numa concentração de 10% de óleo é melhor quando o pH é ácido ou alcalino. Por outro lado, a faixa de temperatura em que se pode trabalhar é restrita ($24^{\circ}\text{C} - 30^{\circ}\text{C}$).

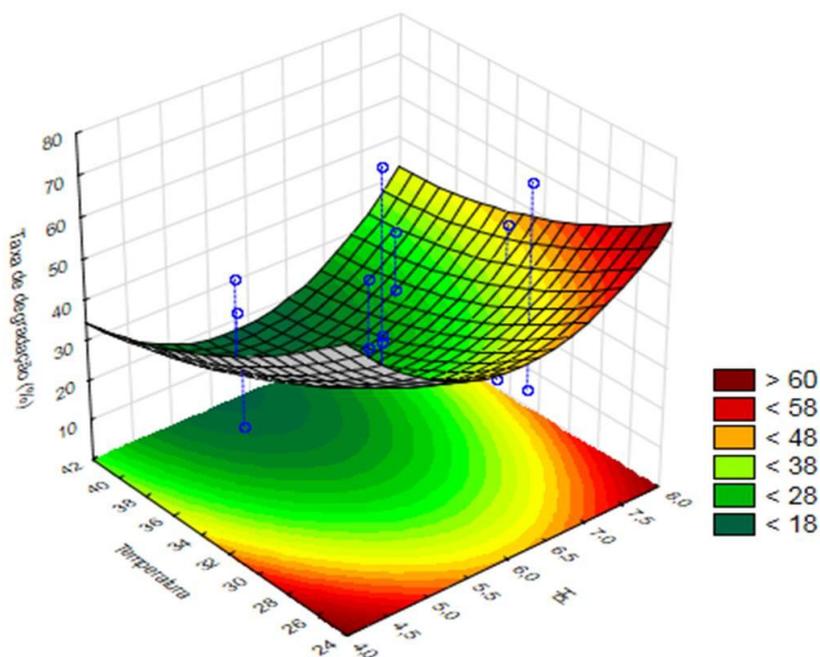


Figura 38: Superfície de nível obtida a partir da equação quadrática obtida no estudo da influência dos fatores pH e temperatura na taxa de degradação do RU na condição de 10% de óleo.

Na Figura 39, a faixa de temperatura é insignificante em altas concentrações de óleo quando o pH é tão ácido (pH 4), porém se houver pouca amostra de óleo é recomendado trabalhar numa faixa mais amena de temperatura ($26^{\circ}\text{C} - 30^{\circ}\text{C}$).

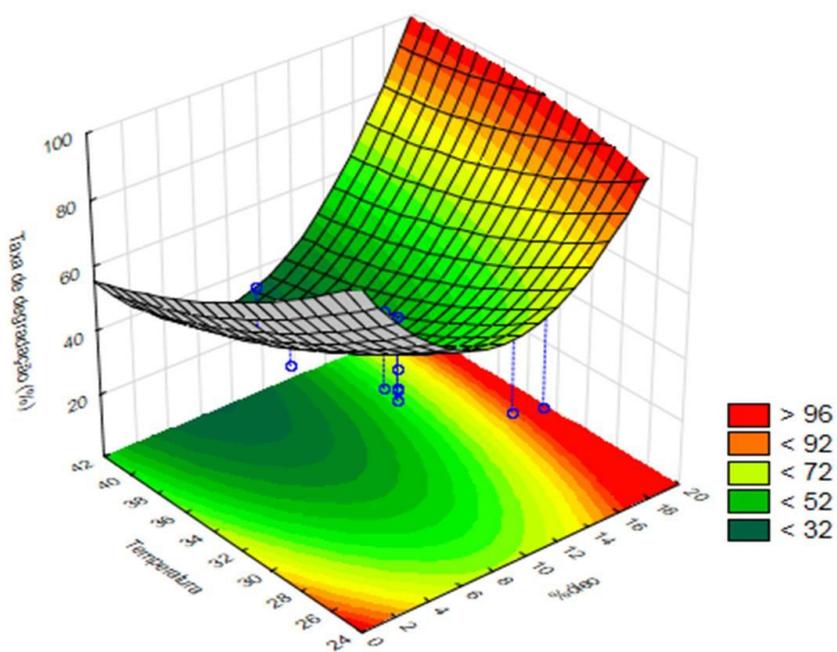


Figura 39: Superfície de nível obtida a partir da equação quadrática obtida no estudo da influência dos fatores concentração do óleo e temperatura na taxa de degradação do RU na condição de pH 4.

Na Figura 40, como pode ser observado, a faixa de pH é bem ampla em condições alcalinas com baixas concentrações de óleo, porém se for requisitada a degradação de uma amostra maior de óleo, a faixa ácida é mais indicada.

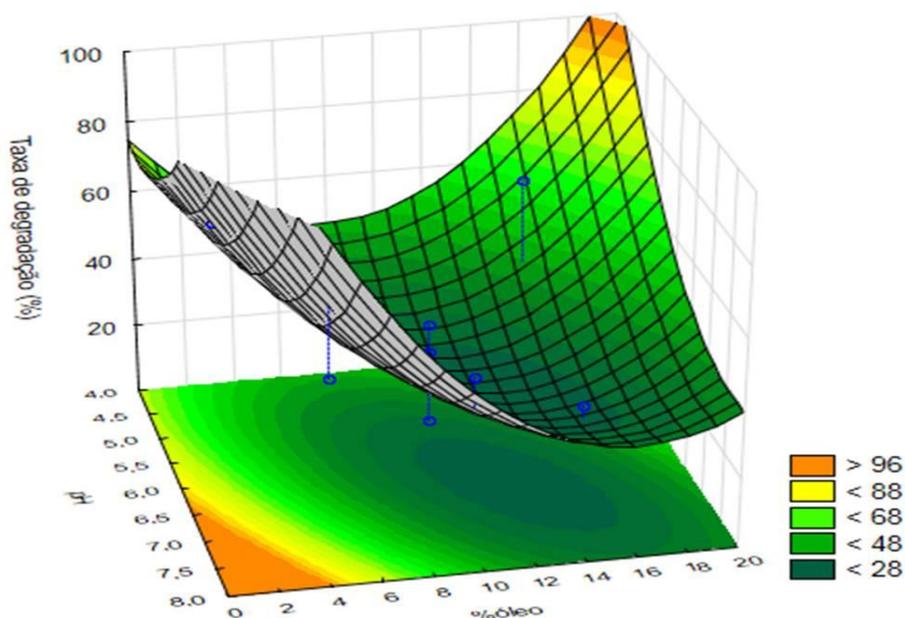


Figura 40: Superfície de nível obtida a partir da equação quadrática obtida no estudo da influência dos fatores concentração do óleo e pH na taxa de degradação do RU na condição de 32,5°C.

Uma vez que a *S. putrefaciens*, em condições normais seja mesófila (25°C – 30°C), ainda assim é possível que sobreviva a temperaturas mais altas (40-45°C), uma vez que possui mecanismos de adaptabilidade para ambientes extremos (FURUKAWA; DALE, 2013; HAN; GRALNICK, 2007). Convenientemente, o processo de degradação de óleo é mais eficiente em condições brandas de temperatura, o que reduz gastos com sistemas de aquecimento.

Ao longo dos experimentos foi observado, com o óleo do RU, a formação de biofilme (Figura 41), em faixas mais ácidas (pH 4,3 e 5), o que é interessante para ser considerado como fator para determinar as condições ótimas, pois os estudos de Furukawa e Dale, em 2013, constataram que os elétrons são melhores entregues aos eletrodos com biofilme na faixa de pH 4-6.

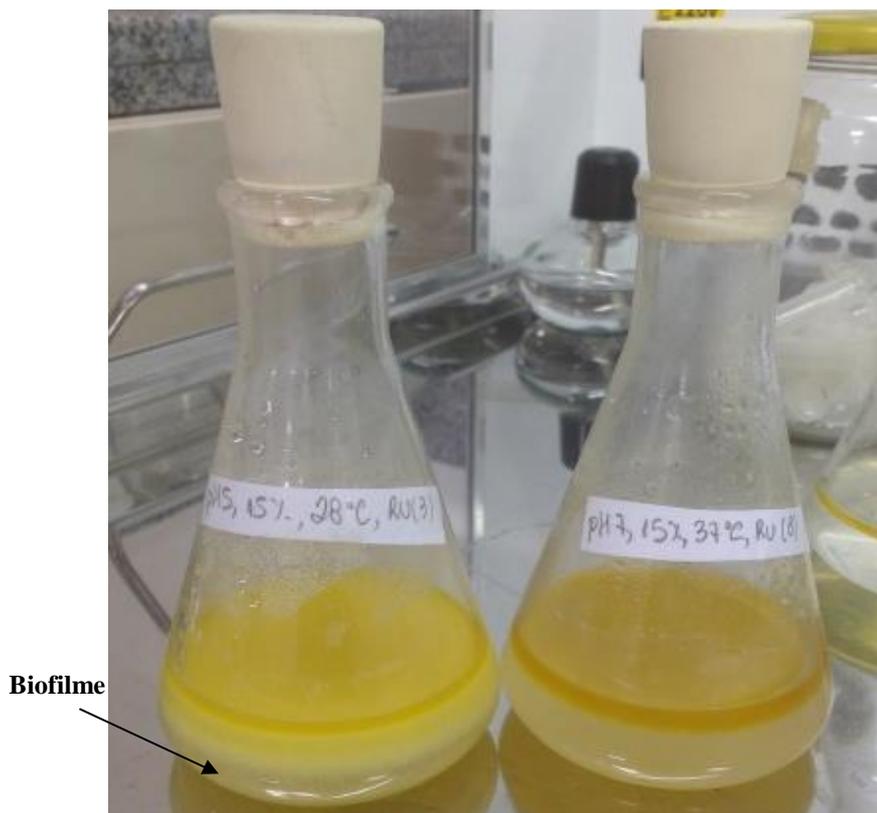


Figura 41: Ensaios de degradação de óleo do RU em diferentes faixas de pH (5 e 7) e temperatura (28°C e 37°C) com a ocorrência da formação de biofilme em condições ácidas.

Foto: Jennifer Salgado.

Na Figura 41, vemos que no frasco do lado esquerdo, em pH 5, há três fases: óleo, espuma e meio M9. Nesta espuma, estão os fragmentos de biofilme, que só ficam mais evidentes quando meio é centrifugado (Figura 42).

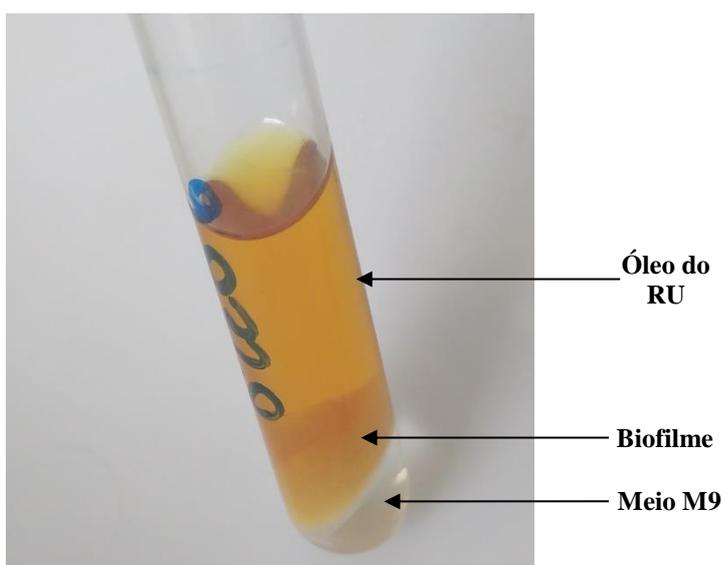


Figura 42: Amostra em condições ácidas do planejamento do composto central centrifugada.

Foto: Jennifer Salgado.

Ao fazer o tratamento final dos dados e considerar outros fenômenos que ocorreram durante os experimentos, obtemos que para aperfeiçoar a taxa de degradação do óleo, as melhores condições são: temperatura de 25°C, pH 4 e 10% de óleo no modelo de degradação do óleo do RU.

Estas condições são bem similares às recomendadas para o óleo doméstico, diferindo na temperatura, além da agitação previamente estabelecida. Essas diferenças nas condições de degradação dos óleos estão diretamente ligadas à composição química dos substratos que exige uma resposta metabólica diferente da *S. putrefaciens* (SCHECHTER et al., 2014)

Ambos os modelos gerados visam à degradação dos óleos, ao invés da eficiência energética, porém é um dado que colabora para adequar o uso da *S. putrefaciens* na CCM.

5.4 Formação de biofilme no eletrodo

Estudos indicam que os biofilmes são um ponto estável em um ciclo biológico que inclui iniciação, maturação, manutenção e dissolução, sendo uma estrutura resistente e sensível ao ambiente. Apresenta uma composição complexa que muda conforme a disponibilidade de nutrientes no ambiente, mesmo que seja produzido pelo mesmo microorganismo. Além disso, imobiliza as células bacterianas, possibilitando uma comunicação célula-célula por meio de sinalizações bioquímicas complexas (FLEMMING; WINGENDER, 2010; O'TOOLE; KAPLAN; KOLTER, 2000; SCHECHTER et al., 2014).

A formação de biofilmes por *Shewanella* sp. é afetada por vários fatores, entre os quais o oxigênio pode desempenhar um papel crítico. Como um oxidante ubíquo na natureza, o oxigênio pode afetar significativamente o pH, o estado redox e o potencial de redução em muitos sistemas abióticos e bióticos. Vale ressaltar que as espécies de *Shewanella* prosperam em interfaces aeróbio-anaeróbio, onde a condição redox muda rapidamente nos principais aceitadores de elétrons (WU et al, 2013).

Isso elucidava uma das razões para que o biofilme se forme mais lentamente em condições anaeróbicas no presente estudo. A outra razão, atribuímos a composição do meio em si.

Como o óleo não foi dissolvido no meio, formaram-se duas fases, porém o meio com RU estava sob agitação, logo a superfície de contato da bactéria com sua fonte de carbono foi maximizada. Como comentado anteriormente, em condições ácidas foi

observado a formação de biofilme no meio, porém em pH 4 era pouco evidente nas primeiras 48 horas. Com 72 horas, o pouco biofilme formado foi dissolvido e o meio fermentativo ficou completamente branco (Figura 43) e só ficou evidente a formação de biofilme, novamente, no nono dia de cultivo.

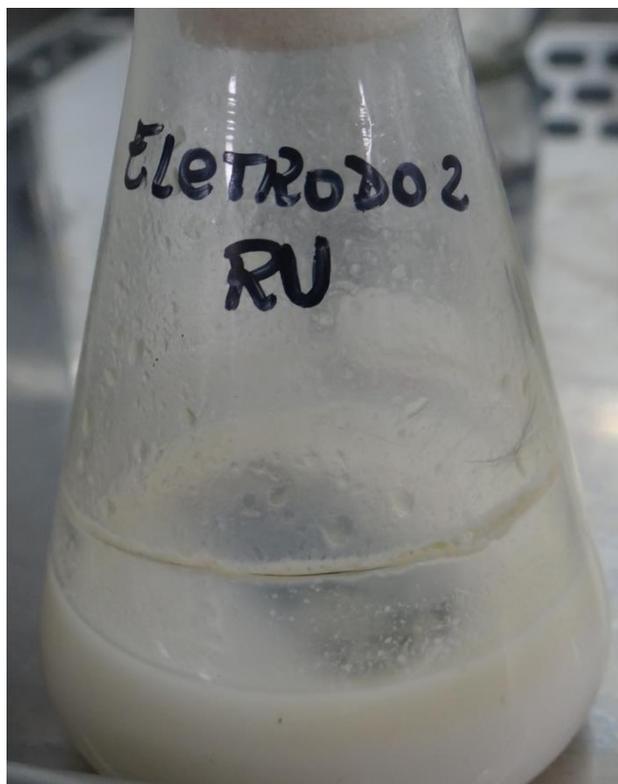


Figura 43: *Shewanella putrefaciens* em meio fermentativo com 10% de óleo do RU e pH 4, incubada a 25°C a 150 rpm, após 9 dias.

Foto: Jennifer Salgado.

O mesmo comportamento não foi observado no meio fermentativo com óleo doméstico que, apesar de estar na mesma condição de pH, ficou em estado estacionário, dificultando o acesso da bactéria a sua fonte de carbono. Nos primeiros oito dias, não ficou evidente a formação de biofilme, porém no nono dia se formou uma película em toda a superfície do meio e do eletrodo inoculado (Figura 44).

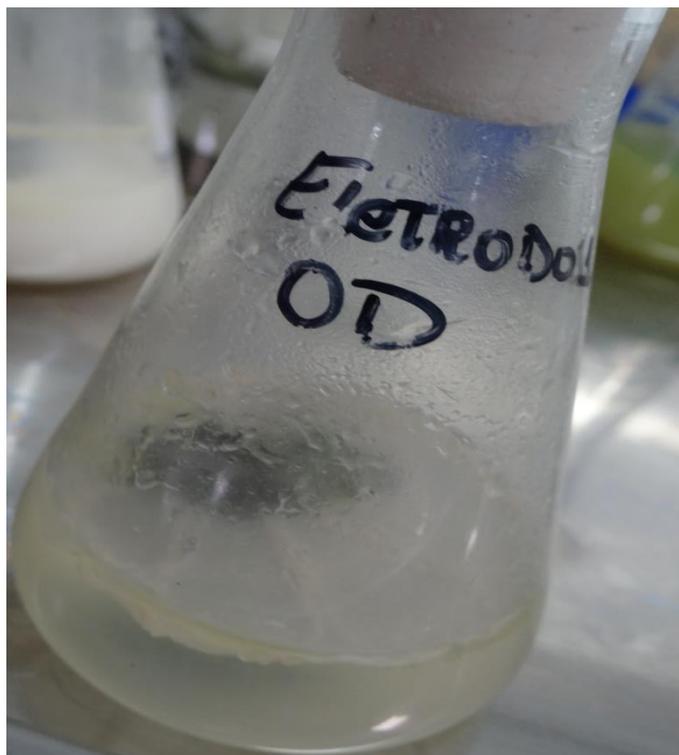


Figura 44: *Shewanella putrefaciens* em meio fermentativo com 10% de óleo doméstico e pH 4, incubada a 28°C sem agitação, após 9 dias.

Foto: Jennifer Salgado.

Tanto as películas de biofilmes formados no meio fermentativo quanto os eletrodos inoculados foram observados em microscópio óptico (Figura 45 e 46), a fim de verificar se havia diferenças físicas entre eles, pois biofilmes formados em condições aeróbicas mostram uma estrutura de dispersão oca e semeadura, enquanto uma estrutura redonda e densamente embalada em condições anaeróbicas (WU et al, 2013).

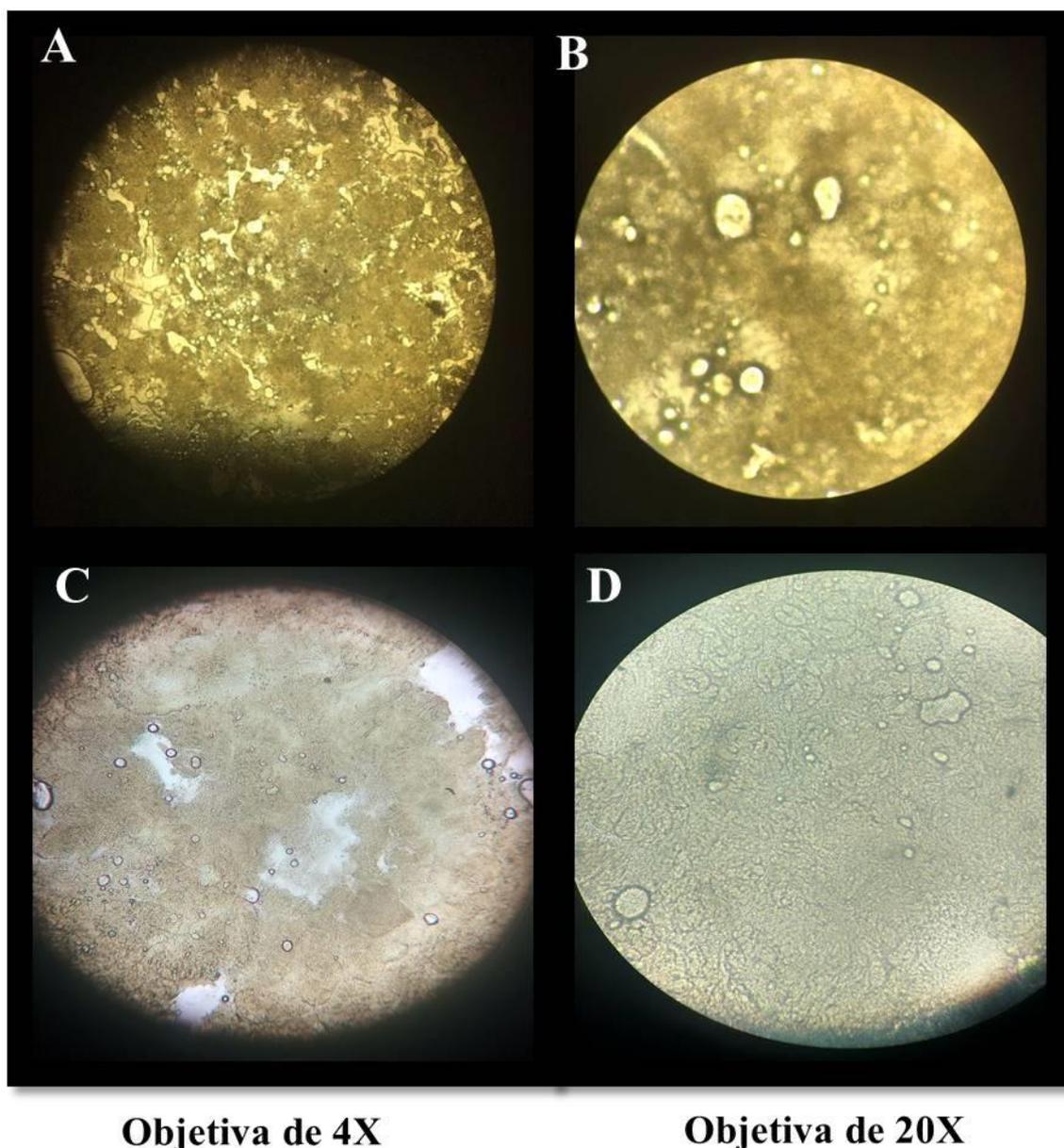
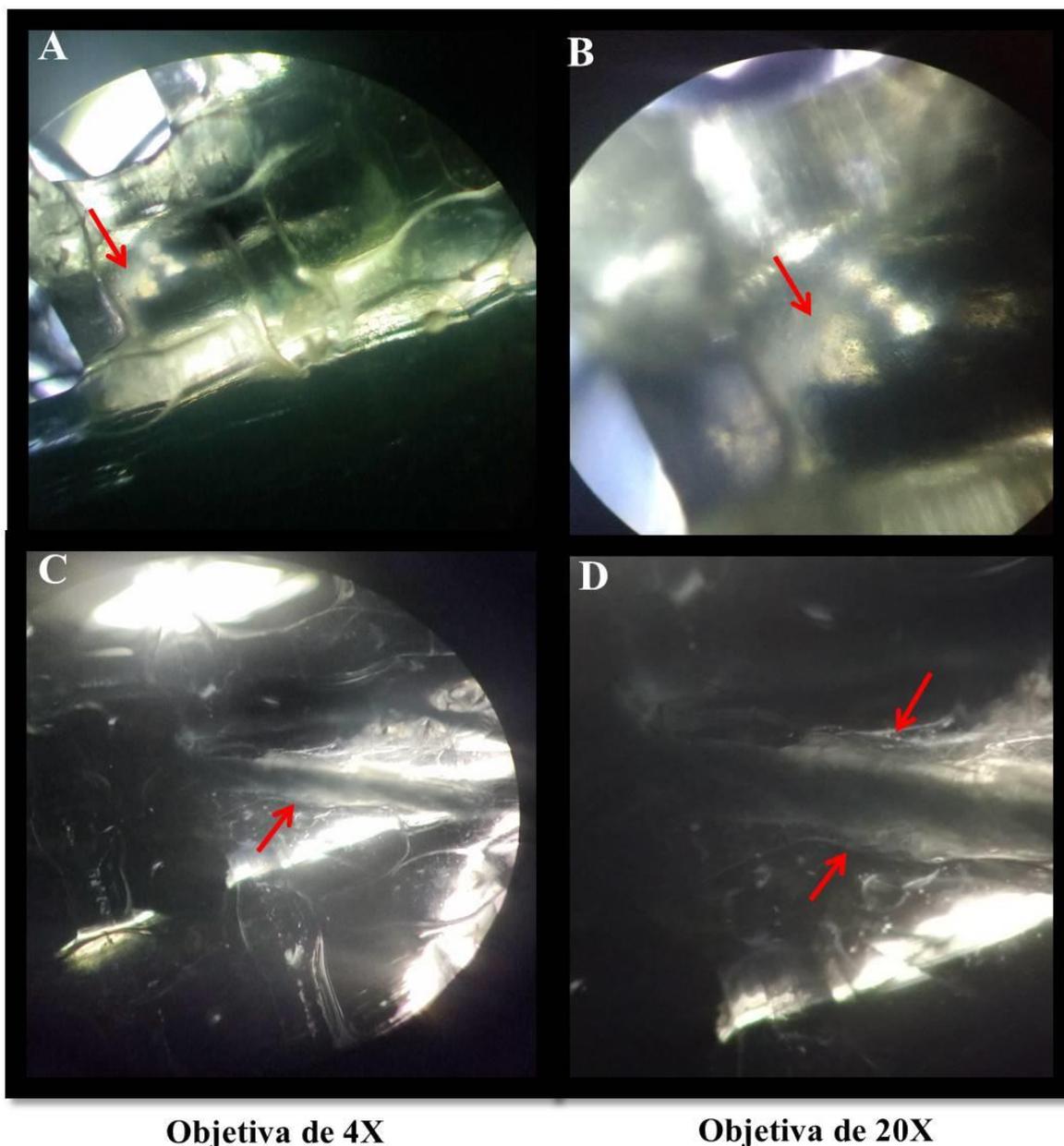
**Objetiva de 4X****Objetiva de 20X**

Figura 45: Biofilme formado no meio com óleo do RU (A e B) e óleo doméstico (C e D), após nove dias de cultivo, em condições anaeróbicas, em diferentes objetivas no microscópio óptico.

Foto: Jennifer Salgado e Waldomiro Rodrigues.

Apesar de ambos os óleos utilizados no estudo serem de soja, o processo de fritura acarretou em modificações na sua composição ao ponto de serem quimicamente diferentes e influenciando de forma distinta a formação de biofilme. Enquanto no meio com óleo do RU, temos um biofilme mais denso, escuro e liso, já no meio com óleo doméstico é mais claro e enrugado.

Na Figura 46, há tanto o eletrodo inoculado no meio com óleo do RU quanto no com óleo doméstico, onde se percebe outro comportamento no biofilme.



Objetiva de 4X

Objetiva de 20X

Figura 46: Eletrodo de pano de carbono com biofilme com óleo do RU (A e B) e óleo doméstico (C e D), após nove dias de cultivo, em condições anaeróbicas, em diferentes objetivas no microscópio óptico.

Foto: Jennifer Salgado

Enquanto no eletrodo com óleo do RU vemos pequenas formações de biofilme no espaço entre fios do pano de grafite e da tela de polipropileno, no com óleo doméstico a tendência foi envolver os fios do eletrodo. É possível que isso tenha ocorrido em decorrência da agitação (ou na sua falta).

No meio com óleo doméstico, não havia forças mecânicas externas que dificultassem a formação do biofilme. O eletrodo ficou diretamente exposto à fase com óleo, absorvendo parte da fonte de carbono da bactéria, o que estimulou a mesma a envolver os fios do pano de grafite para obter o óleo absorvido.

No meio com óleo do RU, a agitação promoveu a dispersão do óleo no meio, sendo consumido pela bactéria. O pouco resíduo absorvido pelo eletrodo representou sua única fonte de carbono, porém a agitação impediu o envelhecimento dos fios do ânodo, sendo possível produzir biofilme entre os poros que davam maior suporte físico.

5.5 Análise da composição química

A fritura por imersão é um método de cozimento tradicional e popular usado em todo o mundo por causa de sua conveniência e efeitos únicos no sabor e na textura do alimento. As reações químicas ocorridas durante o processo incluem oxidação, hidrólise, polimerização e fissão, o que pode induzir a geração de mais 400 produtos diferentes pelo calor no óleo de fritura, a maioria dos quais são absorvidos pelos alimentos fritos, sendo alguns destes prejudiciais à saúde (SEBASTIAN et al, 2014). Por isso a necessidade de analisar a composição química do óleo doméstico e do RU.

Conforme pode ser observado na Figura 47, no óleo doméstico, os compostos mais apolares (2,5 – 15 min) estão mais em evidência do que no óleo do RU, enquanto os menos apolares (15 – 37,5 min) estão bem semelhantes, com exceção dos picos em 17,5 e em 22,5 min que estão mais evidenciados no óleo doméstico. Os picos entre 27,5 – 31 min possuem um perfil de moléculas similar em ambos os óleos, porém com menor concentração no RU.

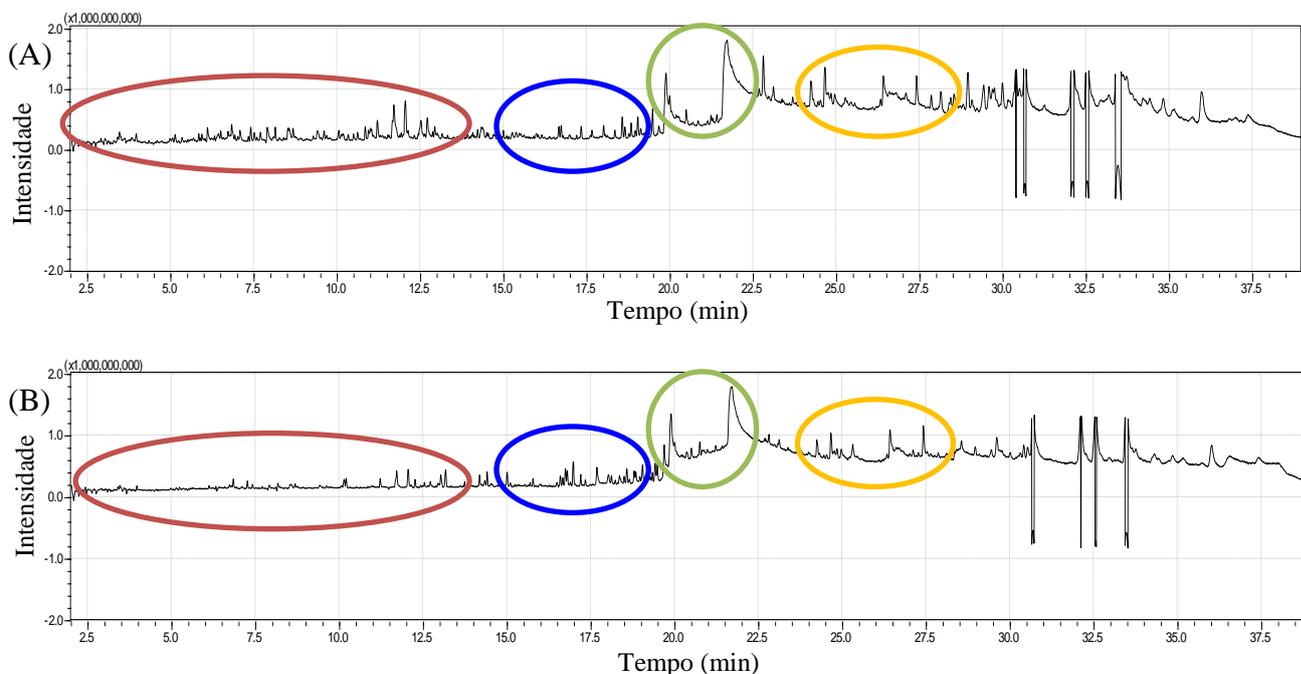


Figura 47: Cromatogramas dos óleos: (A) doméstico e (B) do RU.

Apesar da impossibilidade de identificar e quantificar as moléculas da composição dos óleos, uma vez que o método escolhido não separou bem o suficiente para tal, é

possível inferir que há uma diferença entre eles na qualidade, estando o óleo do RU mais degradado do que o doméstico, pela baixa ocorrência de moléculas menos apolares de massa leve, isto é, os ácidos graxos de cadeia curta. Nota-se também uma maior quantidade de picos no RU, entre 15-20 min de corrida, que podem ser os ácidos graxos de cadeia média-longa que foram degradados durante o processo de fritura.

A fim de acompanhar a degradação do óleo e a produção de outras biomoléculas durante um dos ensaios na CCM, foram coletadas amostras de acordo com o item 4.8.1.

Nas primeiras 22 horas (Figura 48), há uma redução visível na intensidade e quantidade de picos de 16 – 22,5 min e de 30 – 35 min, porém há aumento de 22,5 – 27,5 min. até às 14 horas (Figura 48B) e subsequente queda com 22 horas (Figura 48C).

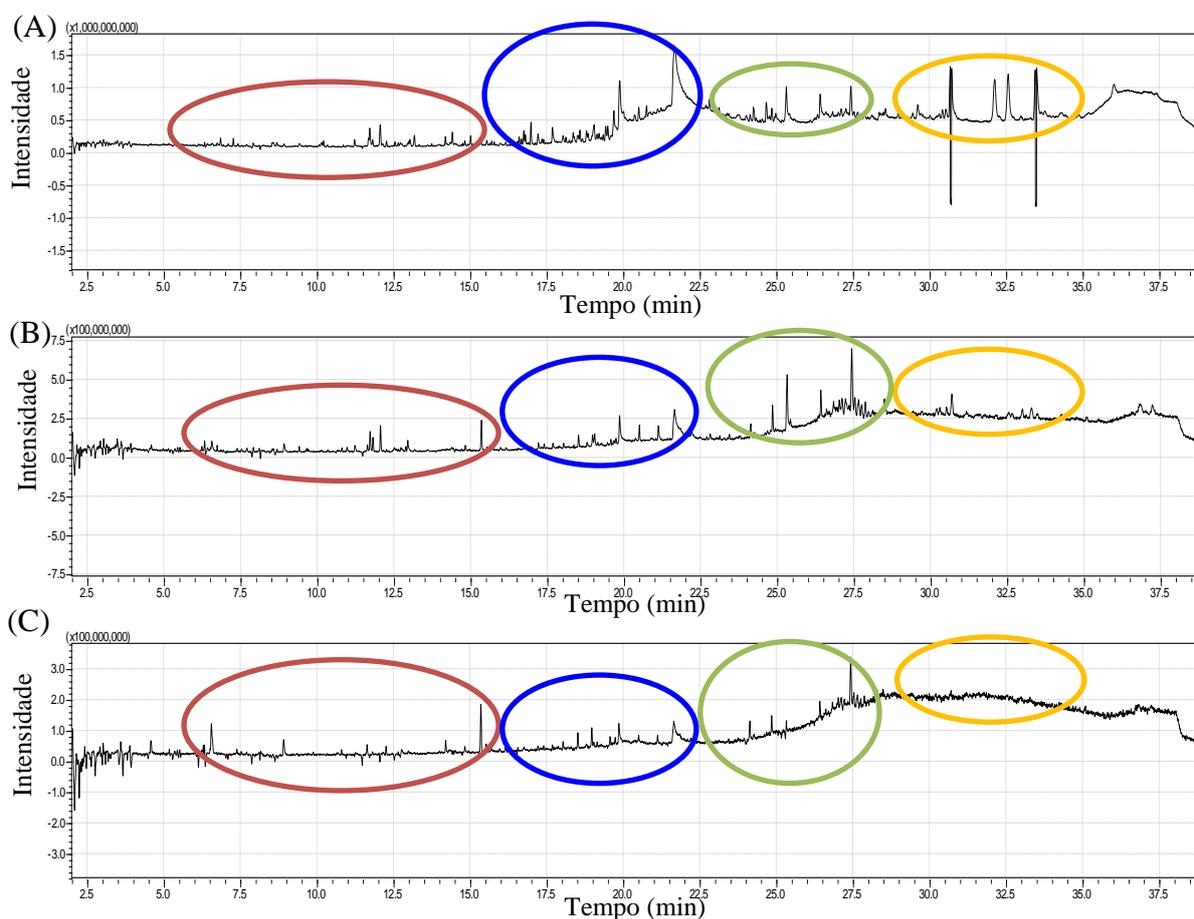


Figura 48: Cromatogramas da degradação do óleo do RU na CCM e produção de biomoléculas pela *Shewanella putrefaciens* após (A) 0 h, (B) 14 h e (C) 22 h.

Este comportamento indica como a β -oxidação da bactéria está atuando, consumindo os ácidos graxos de cadeia curta e os de cadeia longa, gerando os de cadeia média para posterior degradação, sem aparente seletividade.

Entre 36 e 40 horas (Figura 49), o perfil cromatográfico muda, de modo a ilustrar não apenas a degradação das biomoléculas, mas também a produção de alguns compostos.

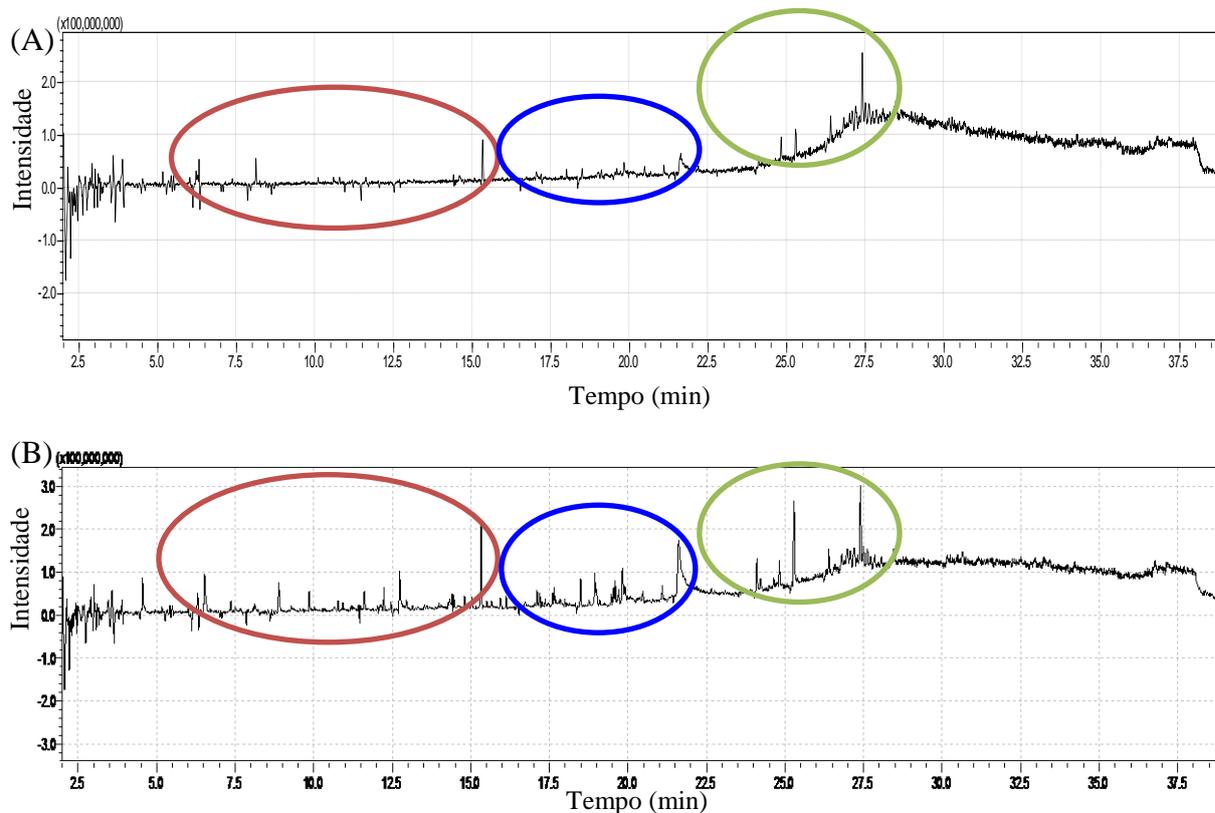


Figura 49: Cromatogramas da degradação do óleo do RU na CCM e produção de biomoléculas pela *Shewanella putrefaciens* após (A) 36 h e (B) 40 h.

Com 50 horas (Figura 50), por haver menos biomoléculas, foi possível cruzar os dados com a biblioteca do equipamento de modo a indagar, qualitativamente, a identificação de algumas das moléculas (Tabela 15), havendo ainda a necessidade de rever a metodologia de análise para afirmar com mais propriedade a identidade das moléculas.

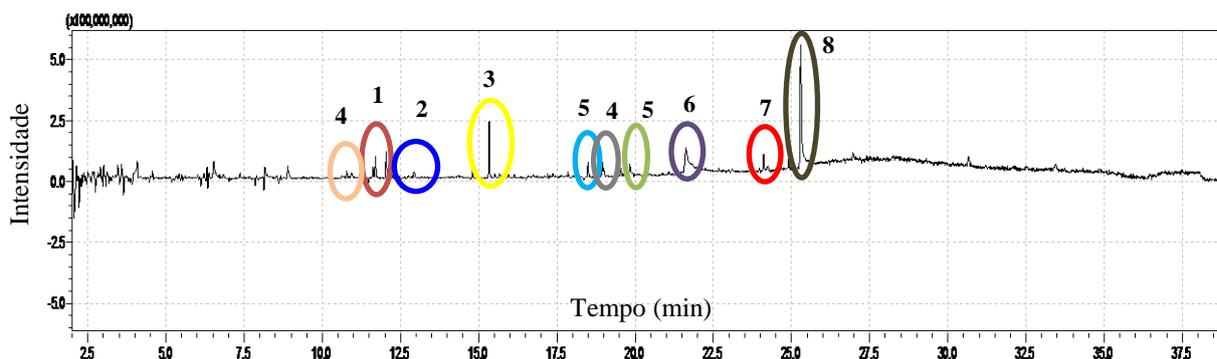


Figura 50: Cromatogramas da degradação do óleo do RU na CCM e produção de biomoléculas pela *Shewanella putrefaciens* após 50 h.

Tabela 15: Moléculas presentes na amostra retirada da CCM após 50 horas de incubação.

Nº	Composto químico	Fórmula química	Tempo de retenção (min)
1	Ácido Pterin-6-carboxílico	C ₇ H ₅ N ₅ O ₃	13
2	Caproico	C ₆ H ₁₂ O ₂	14,44
3	Trans-epoxyoctane	C ₁₀ H ₁₀ O	15,33
4	Laurico	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	11,6 e 19,89
5	Oleico	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	18 e 21,69
6	Linoleato de metilo	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	22,06
7	Linolênico	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	24,11
8	α-colesterol	C ₂₇ H ₄₆ O	25,44

A aparição do colesterol, após 36 horas, indica que dentro do sistema está ocorrendo reações lentas de esterificação dos ácidos graxos de cadeia longa, pois não há um catalisador no meio que a acelere como o ácido sulfúrico (H₂SO₄) ou ácido clorídrico (HCl) (NELSON; COX, 2011). Se essa reação está sendo possível, pode-se dizer que a bactéria não está consumindo os ácidos graxos de cadeia longa, dando preferência aos de cadeia média e baixa para obter energia.

Como relatado, anteriormente, a *S. putrefaciens* possui diversos receptores de elétrons como os de ferro, cromo e manganês (YIN; GAO, 2002), os quais estão presentes no óleo doméstico e do RU (Tabela 16) e que podem ser reduzidos durante a produção de energia na CCM.

Tabela 16: Análise da composição de metais presentes no óleo doméstico e do RU em Espectrômetro de Fluorescência de Raio X

Metal	RU		OD	
	µg/cm ²	%	µg/cm ²	%
Alumínio (Al)	114,94	0,157	87,93	0,12
Cálcio (Ca)	-	-	1,71	0,0023
Cloro (Cl)	3,38	0,0046	2,83	0,0039
Cobre (Cu)	0,71	0,0006	0,96	0,0008
Crômio (Cr)	2,83	0,0037	4,76	0,0063
Enxofre (S)	3,12	0,0043	2	0,0028
Ferro (Fe)	3,13	0,0037	3,15	0,0037
Fósforo (P)	1,12	0,0015	0,88	0,0012
Manganês (Mn)	-	-	1,40	0,0018
Potássio (K)	13,34	0,0182	14,62	0,02
Silício (Si)	10,76	0,0147	13	0,0177
Sódio (Na)	28,67	0,0393	-	-
Zinco (Zn)	1,24	0,001	0,57	0,0004

Dentre os metais analisados, apenas o alumínio apresentou uma quantidade relevante, porém o seu teor não representa 1% nos óleos testados. A quantidade elevada do alumínio pode ser atribuída ao utensílio em que foi frito os alimentos.

A contribuição do cozimento de alimentos em panelas de alumínio na dissolução e transferência desse elemento para a dieta humana tem sido avaliada desde a década de 80, pelo aumento de casos de intoxicação por alumínio (DANTAS et al, 2007; LIUKKONEN-LILJA; PIEPPONEN, 1992).

Vários são os fatores que podem influenciar no aumento da dissolução do elemento da panela para o alimento, como o pH do alimento, o tempo de uso do utensílio, o tempo de cozimento, a presença de sal ou açúcar, etc. Embora alguns dados se diferenciem, em geral, a migração de alumínio é importante em alimentos ácidos e em casos de tempo de cozimento muito prolongado (DANTAS et al, 2007).

5.6 Parâmetros elétricos

Uma vez que as fontes de carbono empregadas no sistema são complexas e não foi possível quantificar, ainda, as moléculas que as compõem, não foi possível calcular a eficiência de Coulomb. Todos os parâmetros avaliados da célula são de caráter elétrico.

A passagem de íons dentro de uma fase de resistência finita cria uma perda de tensão chamada polarização ôhmica, isto é, quando se aplica uma resistência superior ao suportado há perda de tensão. A curva de polarização é a primeira etapa para se iniciar o estudo e otimização da CCM, uma vez que é através dela que podemos determinar a resistência externa ideal para aplicar nos testes posteriores (SPIEGEL, 2007).

Mesmo quando se trabalha com sistemas relativamente parecidos (mesmo volume, micro-organismo, pH, etc.), a mínima diferença pode mudar completamente o comportamento da geração de energia, como pode ser observado na Figura 51 (MAHADEVAN; GUNAWARDENA; FERNANDO, 2014).

O sistema com óleo doméstico tem a tensão elevada gradualmente até 100 k Ω , onde se mantém relativamente estável até 1 M Ω , mas visando o máximo de tensão (mV) e de potência (mW), a resistência de 200 k Ω se demonstrou mais adequada para aplicar nos testes subsequentes.

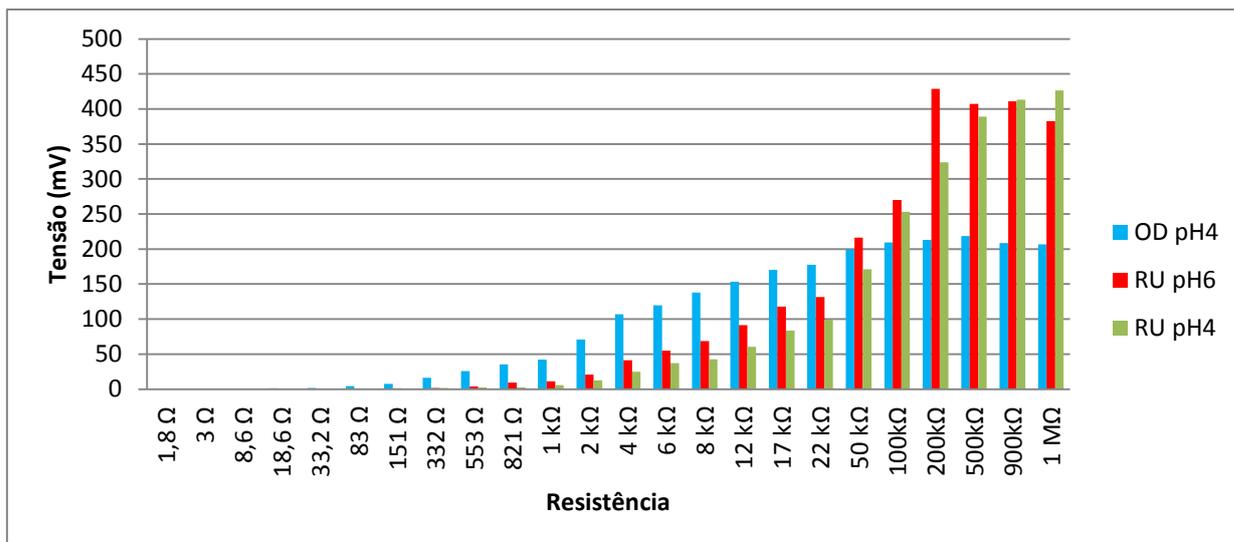


Figura 51: Curva de polarização da célula a combustível microbiano tendo como fonte de carbono óleo doméstico (em meio com pH 4) e óleo do RU (em meios com o pH 4 e pH6) no compartimento anódico e água da torneira no compartimento catódico.

O mesmo perfil não foi observado com o óleo do RU, tanto em pH 4 quanto pH 6. Em pH 4, a tensão aumentou em saltos e não sofreu queda em nenhuma das resistências testadas, porém a diferença entre as tensões geradas na faixa de 500kΩ a 1MΩ foi de 4-10 mV, então visando o máximo de tensão e de potência a resistência de 500kΩ se demonstrou mais adequada para ser aplicada nos testes subsequentes. No caso do pH 6, o resistor de 200kΩ se destaca e há visivelmente uma queda de tensão com os resistores maiores.

Para compreender o que está acontecendo durante a curva de polarização, precisamos observar o comportamento da densidade de potência e de corrente em função da tensão. Se a densidade potencial for alta, está ocorrendo um problema no transporte de massas e se a densidade de corrente for alta e houver um baixo potencial, há uma alta concentração de polarização (MAHADEVAN; GUNAWARDENA; FERNANDO, 2014; SPIEGEL, 2007).

Na Figura 52, temos o perfil da polarização do óleo doméstico em que vemos uma elevada polarização entre 1,8Ω e 4kΩ devido à alta densidade de corrente, mas sem aparente problema no transporte de massas devido a baixa densidade de potência. Entre 1kΩ e 22kΩ já ocorre um decréscimo da densidade de corrente, mas a de potência se eleva, acarretando em problemas no transporte elétrons e cátions. As condições ideais para não haver uma diferença de potencial (ddp) e problemas no transporte de massas se dá a partir da análise com 200kΩ, o que reforça que esse é o resistor ideal.

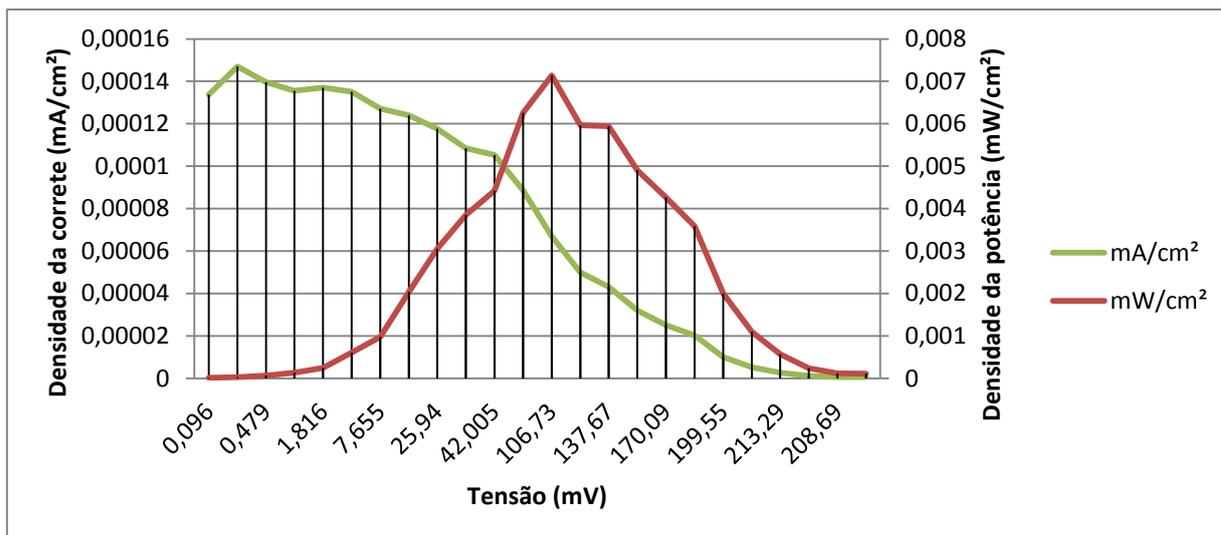


Figura 52: Avaliação das densidades de corrente e de potência sob a curva de polarização com óleo doméstico como fonte de carbono.

Na Figura 53 e 54, temos o perfil da polarização do óleo do RU. Em ambos, na primeira metade do ensaio, há uma alta densidade de corrente, mas sem aparente problema no transporte de massas devido à baixa densidade de potência. Na segunda metade, a situação se inverte, havendo alta densidade de potência e baixa de corrente. A região em que entram em harmonia é de $500\text{ k}\Omega - 1\text{ M}\Omega$, o que coincide com o resistor ideal em meio de pH 4, mas conflita com o de pH 6, pois haveria perda de tensão com um resistor dessa região.

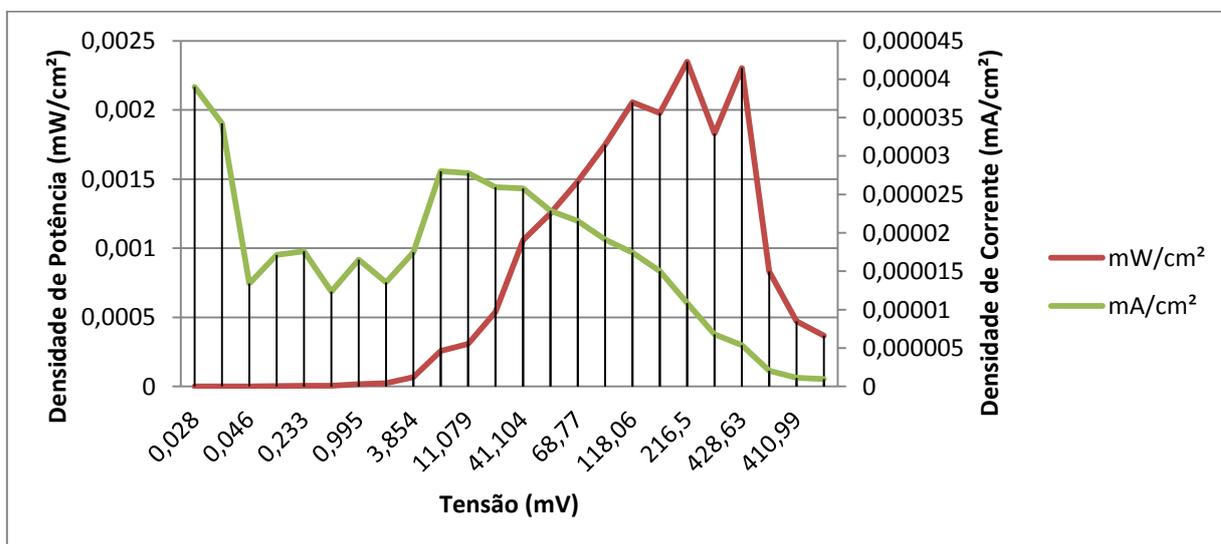


Figura 53: Avaliação das densidades de corrente e de potência sob a curva de polarização com óleo do RU em pH 6 como fonte de carbono.

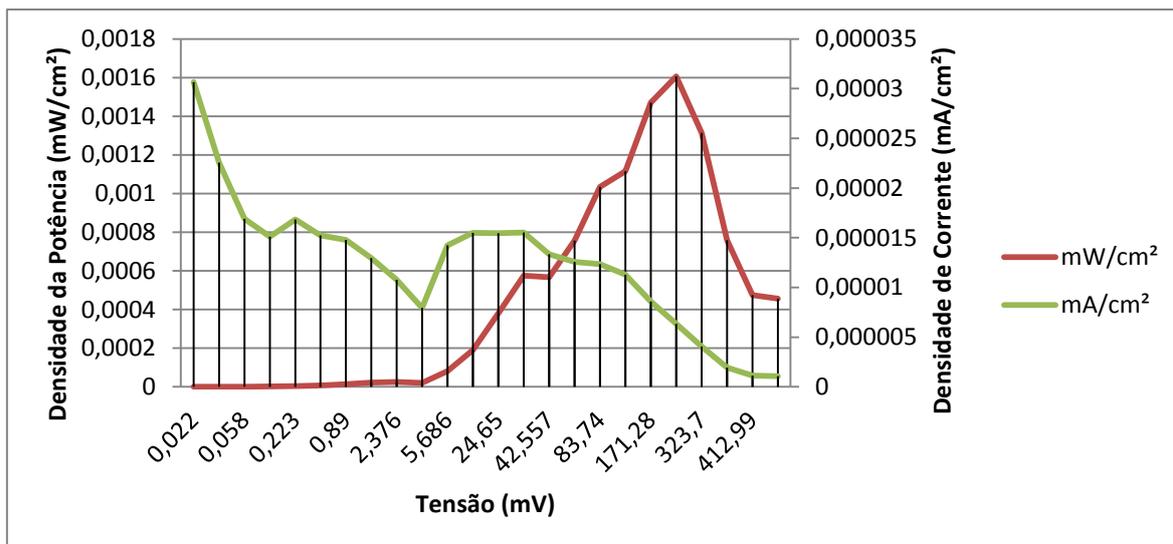


Figura 54: Avaliação das densidades de corrente e de potência sob a curva de polarização com óleo do RU em pH 4 como fonte de carbono.

De acordo com Rabaey e colaboradores, em 2010, uma das soluções para diminuir a resistência interna da célula e a sua polarização é aumentar o fluxo de oxigênio na câmara com o cátodo. Alguns autores, também recomendam usar eletrólitos salinos, como o ferrocianeto ($C_6N_6FeK_4$), principalmente (KIELY et al, 2010; NUNES, 2010; TELEKEN, 2013). Desta forma, foi utilizado um fluxo de 15mL/min de oxigênio na câmara aeróbica e testada influência dos sais (Figura 55).

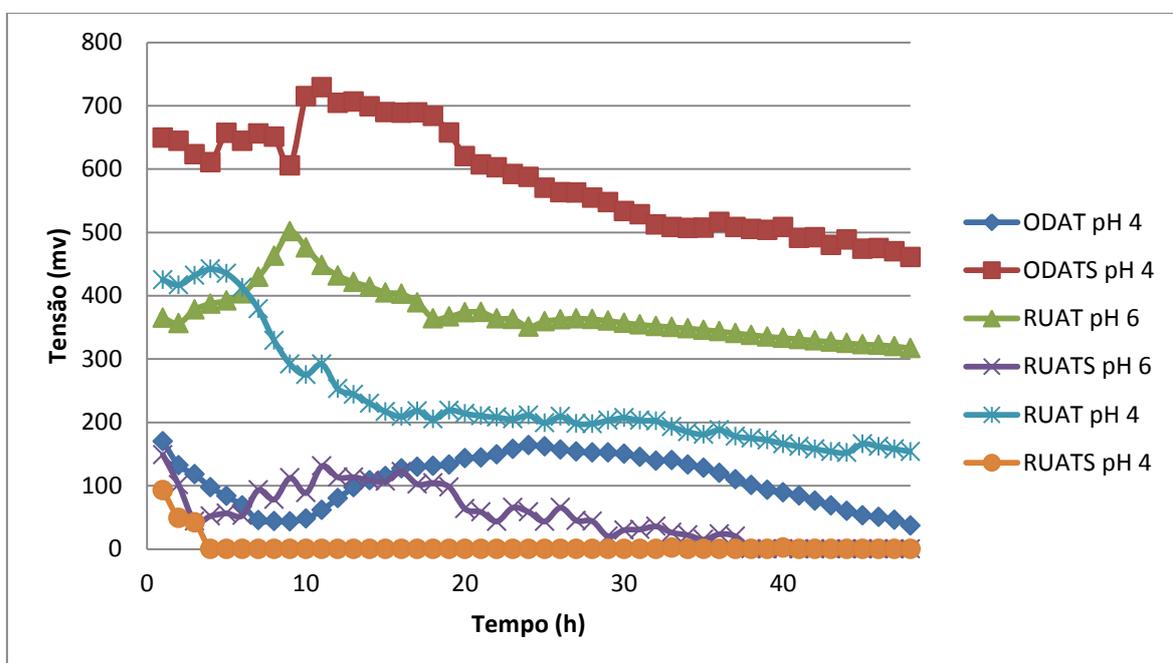


Figura 55: Curva de tensão com óleo doméstico e do RU (pH 4 e pH 6) em diferentes condições do eletrólito catiônico. ODAT – Óleo doméstico no ânodo com água da torneira no cátodo; ODATS – Óleo doméstico no ânodo com água da torneira e sal de cozinha no cátodo; RUAT – Óleo do RU no ânodo com água da torneira no cátodo; RUATS – Óleo do RU no ânodo com água da torneira e sal de cozinha no cátodo.

Aumentar o fluxo de oxigênio, aparentemente, melhorou o desempenho da curva de tensão com óleo do RU pH 6, havendo água da torneira sem adição de sal no cátodo com resultados melhores do que do RU pH 4. Por outro lado, quando foi acrescentado sal, o desempenho de ambos caiu. Portanto, acredita-se que a presença de sódio na composição química do óleo do RU esteja interferindo na transferência de elétrons, de forma que o acréscimo de sal de cozinha no cátodo cause efeito oposto ao desejado, aumentando a polarização e a resistência interna do sistema, o que foi observado nos estudos de Kiely e colaboradores, em 2010, ao acrescentar NaNO_3 na câmara anódica, na qual ocorreu um decréscimo da tensão de até 45%.

No óleo doméstico, o comportamento se inverte, havendo um aumento na tensão quando acrescentado o sal, reforçando a teoria da interferência do sódio no RU, uma vez que não tem rastros de sódio no OD. O que também pode estar cooperando é a presença de manganês, atuando no ânodo como mediador químico ao ser reduzido pela bactéria (VARIA et al, 2014; ZHANG et al, 2014).

Kiely e colaboradores, em 2010, empregaram a *Shewanella putrefaciens* para a degradação de efluente de uma clarificação primária e simultânea geração de energia e obtiveram tensão máxima de 150 mV, o que se aproxima dos obtidos do ODAT (164 mV), RUATS pH 4 (92,96 mV) e RUATS pH 6 (131 mV), mas sendo muito inferior aos do ODATS (729 mV), RUAT pH 4 (442 mV) e RUAT pH 6 (501 mV).

Fonseca, em 2013, degradando OFR de soja de origem doméstica em pH 6 com inóculo de *S. putrefaciens*, obteve tensão de 358 mV, potência de 667,6 μW , corrente de 2,3 mA e energia de $208\mu\text{Wh}^{-1}$ pela da modelagem matemática da degradação do óleo com 76,5% de explicação, o que demonstra que ao melhorar a modelagem experimental, mais nos aproximamos das condições ideais não apenas para degradar o substrato, mas também melhorar a performance da célula.

Ainda nos estudo de Fonseca (2013), foi gerado ao todo $1918,06\mu\text{Wh}^{-1}$, o que poderia sustentar um multímetro Agilent U1252A por cerca de 5 min. Usando os dados obtidos com cada teste da Tabela 17, poderíamos sustentar o mesmo multímetro por entorno de 121 h, 3540 h, 1437 h, 29 h, 230 h e 4 min, respectivamente.

Tabela 17: Parâmetros elétricos (tensão, corrente, potência e energia) acumulados nos diferentes sistemas.

Teste	Tensão (V)		Corrente (mA)		Potência (W)		Densidade de corrente (mA/m ²)		Energia (Wh ⁻¹)	
	Média	Total	Média	Total	Média	Total	Média	Total	Média	Total
^a ODAT pH 4	0,108	5,19	0,54	25,95	0,058	134,68	13,53	650,49	1,215	2,80
^b ODATS pH 4	0,582	27,97	2,91	139,85	1,693	3911,6	72,94	3505,62	35,28	81,49
^c RUAT pH 6	0,371	17,82	1,855	89,1	0,688	1587,76	46,5	2233,47	14,33	33,08
^d RUATS pH 6	0,053	2,537	0,265	12,68	0,014	32,18	6,64	317,97	0,29	0,67
^c RUAT pH 4	0,253	11,29	0,506	22,59	0,128	255,2	12,68	566,31	2,66	5,31
^d RUATS pH 4	0,004	0,19	0,008	0,37	0,000032	0,07	0,2	9,42	0,00067	0,0015

^a Óleo doméstico no ânodo com água da torneira no cátodo;

^b Óleo doméstico no ânodo com água da torneira e sal de cozinha no cátodo;

^c Óleo do RU no ânodo com água da torneira no cátodo;

^d Óleo do RU no ânodo com água da torneira e sal de cozinha no cátodo.

Qiao, Wu e Li, em 2014, estudaram a interface da transferência de elétrons realizada pela *S. putrefaciens* em pano de grafite e pano de grafite modificado com óxido de níquel (NiO), mas a densidade de corrente obtida com ambos os eletrodos ($10.2 \mu\text{A cm}^{-2}$ e $19.5 \mu\text{A cm}^{-2}$, respectivamente) é muito inferior ao observado no presente estudo (Tabela 17). Além disso, a densidade de potência nos estudos de Qiao ficou muito elevada (303 mW.m^{-2}), ilustrando um extenso problema no transporte de massas no seu estudo.

Vale lembrar que todos os testes foram realizados em uma única célula, podendo apresentar resultados melhores se forem colocados em série.

Como já exposto neste trabalho, OFR são fontes de carbono complexas para serem degradadas, quando comparado à glicose (fonte de carbono mais comum em meios de cultura) e, além de não se misturarem com o meio M9, as células bacterianas levam mais tempo para obter sua fonte de energia e retardam seu crescimento (FONSECA, 2013).

Por isso, foi levantado o questionamento se há relação entre o crescimento bacteriano e a geração de tensão, seguindo a classificação cinética de Gaden, onde os resultados estão ilustrados na Figura 56.

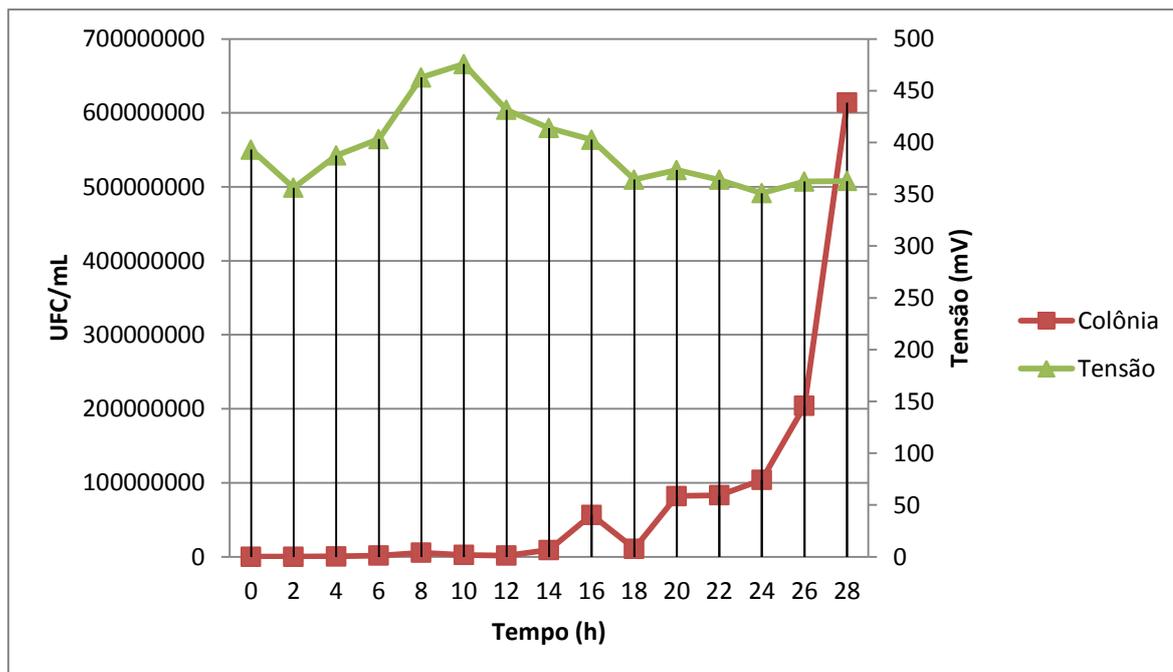


Figura 57: Relação entre o crescimento bacteriano e a geração de tensão usando óleo do RU em pH 6.

Observa-se uma produção semi-associada ao crescimento bacteriano, mas com efeito negativo, pois a tensão é mais alta em baixas concentrações celulares e decresce levemente quando a concentração celular aumenta, ainda encontrando estabilidade.

O que pode estar acontecendo no processo, quando a concentração bacteriana se eleva, é uma competição pelo substrato e uma maior necessidade dos elétrons formados no metabolismo bacteriano, acarretando numa queda de tensão. Por outro lado, a massa celular pode estar fisicamente atrapalhando o transporte de elétrons (RABAEY, 2010; WU et al, 2013). Para melhor elucidar este fenômeno, serão necessários estudos em períodos maiores de tempo.

6. CONCLUSÃO

A célula combustível inoculada com o *Shewanella putrefaciens* foi capaz de gerar energia elétrica em paralelo ao consumo de matéria orgânica (óleo doméstico e do RU), o que nos traz dois possíveis cenários da modelagem experimental obtida: um processo voltado para degradação de óleos residuais descartados no meio ambiente (rios, por exemplo) e o desenvolvimento de uma tecnologia verde que possa complementar a matriz energética, necessitando ainda de muitos estudos para chegar ao mercado.

Foi observado que a formação de biofilme se dá mais lentamente e não se concentra na área superficial do eletrodo, o que por um lado pode ser um bom indicativo para usos prolongados sem queda de eficiência por barreiras físicas, mas por outro pode significar dificuldades na entrega dos elétrons ao eletrodo.

Para obtermos os dados da eficiência da célula, pela Lei Coulomb, há necessidade de um método mais apropriado para a análise da composição química dos óleos residuais, mas os resultados obtidos usando os parâmetros elétricos já são um indicativo do potencial comercial quando a CCM estiver otimizada, apesar dos ensaios terem um tempo curto de análise (48h).

Para próximos estudos, a célula será colocada em série e em fluxo contínuo e de semi-batelada, além de averiguar novos designers para o protótipo.

7. REFERÊNCIAS

- Agência Municipal de Energia de Almada. **Espaço Energia – Energias Não-Renováveis**. Disponível em: <http://www.ageneal.pt/content01.asp?BTreeID=00/01&treeID=00/01&newsID=7>. Acessado em 21 de janeiro de 2016;
- ALVEZ, T.V.B. **Estudos de complexos binários de alumínio (III) com aminoácidos sulfurados e ligantes fosfatados**. Dissertação de Mestrado em Química, 2010;
- AMORIM, M.M.A.; JUNQUEIRA, R.G.; JOKL, L. Consumo de óleo e gordura nas preparações do almoço *self service*. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.21, 2010;
- ANS, V. G.; MATTOS, E. S.; JORGE, N. Avaliação da qualidade dos óleos de fritura usados em restaurantes, lanchonetes e similares. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, 1999;
- ARAÚJO FILHO, G. Iniciativas em bionegócios e o programa Pape-subvenção no Estado do Amazonas. **Revista T & C Amazônia**, vol. 19, 2010;
- BABAUTA, J.; RENSLOW, R.; LEWANDOWSKI, Z.; BEYENAL, H. Electrochemically active biofilms: facts and fiction. A review. **Biofouling**, 2012;
- BACON, F.T. The high pressure hydrogen-oxygen fuel cell. **Fuel Cells**, vol. 52, 1960;
- BARROS, P.R.S.; HEITKOETTER, B.F.A.; BELDERRAIN, M.C.N. **Estruturação do problema da coleta de óleo residual**. XXX Encontro Nacional de Engenharia de Produção. São Carlos- SP, 2010;
- BARROS NETO, B; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos – aplicações na ciência e na indústria**. 4ª ed., Bookman, 2010;
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. 2ª ed., Campinas: Unicamp, 1995;
- BELAFI-BAKO, K.; VAJDA, B.; BAKONYI, P.; NEMESTOTHY, N. Removal of COD by two-chamber Microbial Fuel Cells. In: WANG, C. (org). **Technology and Application of Microbial Fuel Cells**. INTECH, 2014, p. 77- 87;
- BIOMERCADO. **Boletim Complexo Soja - Março 2015**. Disponível em: <http://www.biomercado.com.br/imagens/boletim/arquivo166.pdf>. Acessado em 12 de janeiro de 2016;
- BRAGA, C.F.G.V.; BRAGA, L.V. Desafios da energia no Brasil: panorama regulatório da produção e comercialização do biodiesel. **Cad. EBAPE.BR**, v. 10, nº 3, opinião 4, Rio de Janeiro, 2012;

- BRANCO, G. F. **Aplicação de técnicas fatoriais de planejamento no desenvolvimento de um modelo de avaliação da oxidação em óleos e emulsões.** Dissertação de Mestrado em Ciências dos Alimentos, São Paulo, 2011;
- BREITKREITZ, M.C.; SOUZA, A.M.; POPPI, R.J. Experimento didático de quimiometria para planejamento de experimentos: avaliação das condições experimentais na determinação espectrofotométrica de ferro II com *o*-fenantrolina. Um tutorial, parte III. **Química Nova**, vol. 37, 2014;
- BRONZATTI, F.L.; NETO, A.I. **Matrizes Energéticas no Brasil: cenário 2010-2030.** XXVII Encontro Nacional de Engenharia da Produção, Rio de Janeiro, RJ, 2008;
- CALIMAN, C.C. **Estudo da eletro-oxidação de álcoois em catalisadores do tipo PtSnNiTi para aplicação em células a combustível.** Dissertação de Mestrado em Química, Vitória – UFES, 2013;
- CAO, B.; SHI, L.; BROWN, R.N.; XIONG, Y.; FREDRICKSON, J.K.; ROMINE, M.F.; MARSHALL, M.J.; LIPTON, M.S.; BEYENAL, H. Extracellular polymeric substances from *Shewanella* sp. HRCR-1 biofilms: characterization by infrared spectroscopy and proteomics. **Environmental Microbiology**, vol. 13, 2011;
- CARMONA-MARTÍNEZ, A.A.; HARNISCH, F.; KUHLCHE, U.; NEU, T.R.; SCHRÖDER, U. Electron transfer and biofilm formation of *Shewanella putrefaciens* as function of anode potencial. **Bioelectrochemistry**, 2012;
- CARVALHO, T.J.L. **Estudo da produção de energia elétrica a partir de uma célula de combustível microbiana.** Dissertação de Mestrado (Mestrado Integrado em Engenharia Química), Universidade do Porto, 2010;
- CARVALHO, A. P. **Estratégias para o poder público municipal promover a inovação tecnológica.** Dissertação de Mestrado em Engenharia de Produção, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2012;
- CHO, B.K. et al.. Transcriptional regulation of the fad regulon genes of *Escherichia coli* by ArcA. **Microbiology**, 2006;
- COSTA NETO, P.L.O. **Estatística.** São Paulo, Edgar Blücher, 1977;
- COSTA, L.S. Analisando a substitutibilidade no mercado mundial de óleos vegetais via transmissão de preços. **Revista Contemporânea de Economia e Gestão**, vol. 14, 2016;
- COSTA, R.A.; CASOTTI, B.P.; AZEVEDO, R.L.S. Um Panorama da Indústria de Bens de Capital relacionados à Energia Eólica. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, 2009;

- COSTA, V.T.R. **Avaliação comparativa de impactos ambientais entre pequenas e grandes centrais hidrelétricas: estudo de caso na bacia hidrográfica do rio Itabapoana, Macaé – RJ.** Dissertação de Mestrado em Engenharia Ambiental, 2015;
- COUTINHO, L.; FERRAZ, J. C. **Estudo da competitividade da indústria brasileira.** 4 ed. Campinas: Papirus, 2002;
- CROCCO, M.A.; SANTOS, F.; FIGUEIREDO, A. Exclusão financeira no Brasil: uma análise regional exploratória. **Revista de Economia Política**, vol. 33, 2013;
- DALL’AGNOL, A.; LAZAROTTO, J.J.; HIRAKURI, M. H. **Desenvolvimento, Mercado e Rentabilidade da Soja Brasileira.** Circular Técnico – EMBRAPA, 2010. Disponível em: http://www.cnpso.embrapa.br/download/CT74_eletronica.pdf. Acessado em 14 de janeiro de 2016;
- DANTAS, S.T.; SARON, E.S.; DANTAS, F.B.H.; YAMASHITA, D.M.; KIYATAKA, P.H.M. Determinação da dissolução de alumínio durante cozimento de alimentos em panelas de alumínio. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, vol. 27, 2007;
- DERBY, H.; HAMMER, B. Bacteriology of butter. - Bacteriological studies of surface taint butter. **Iowa Agric. Exp. Stn. Res. Bull**, 1931;
- DU, Z.; LI, H.; GU, T.; A state of the art review on microbial fuel cells: a promising technology for waste water treatment and bioenergy. **Biotechnology Advances**, vol. 25, 2007;
- FEARNside, P.M. **Hidrelétricas na Amazônia: Impactos ambientais e sociais na tomada de decisões sobre grandes obras.** INPA, 2015;
- FILHO, R. G. A. **Planejamento Fatoriais Fracionados para Análise de Sensibilidade de Modelos de Simulação de Eventos Discretos.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção). Universidade Federal de Itajubá. Itajubá – MG, 2006;
- FITZGERALD, L.A.; PETERSEN, E.R.; RAY, R.I.; LITTLE, B.J.; COOPER, C.J.; HOWARD, E. C.; RIGEISEN, B.R.; BIFFINGER, J.C. *Shewanella oneidensis* MR-1 Msh pilin proteins are involved in extracellular electron transfer in microbial fuel cells. **Process Biochemistry**, 2012;
- FONSECA, J.S. **Degradação de óleos de fritura residual (OFR) por *Shewanella putrefaciens* para produção de eletricidade.** Trabalho de Conclusão de Curso em Biotecnologia, UFAM – Manaus, 2013;

- FREDRICKSON, J.K.; ROMINE, M.F.; BELIAEV, A.S. et al. Towards environmental systems biology of *Shewanella*. **Nature Reviews**, 2008;
- FREITAS, K.T.; SOUZA, R.C.R.; SEYE, O.; SANTOS, E.C.S.; XAVIER, D.J.C.; BACELLAR, A.A. Custo de geração de energia elétrica em comunidade isolada do Amazonas: estudo preliminar do projeto NERAM. **Revista Brasileira de Energia**, vol. 12, 2006;
- FURUKAWA, Y.; DALE, J.R. The surface properties of *Shewanella putrefaciens* 200 and *S. oneidensis* MR-1: the effect of pH and terminal electron acceptors. **Geochemical transactions**, vol. 14, 2013;
- GASQUES, L.S. **Oxidação de ácidos graxos**, 2008. Disponível em: <http://lsgasques.blogs.unipar.br/files/2008/10/oxidacao-de-acidos-graxos.pdf>. Acessado em 20 de dezembro de 2015;
- GAZOLA, K. S.; MELZ, L.J.; TORRES, A.L.; ANUNCIATO, K.M. Evolução do nível de concentração e produção da soja no Brasil e Mato Grosso do ano 2000 a 2010. **Revista UNEMAT de Contabilidade**, v. 1, 2012;
- GIOIELLI, L. A. Óleos e gorduras vegetais: Composição e tecnologia. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v.5, 1996;
- GLOBO RURAL, **A evolução dos óleos vegetais**, 2013. Disponível em: <http://revistagloborural.globo.com/Revista/Common/0,,EMI332209-18xx1,00-A+EVOLUCAO+DOS+OLEOS+VEGETAIS.html>. Acessado em 15 de janeiro de 2016;
- GOMES, A.P.; CHAVES, T.F.; BARBOSA, J.N.; BARBOSA, E.A. **A questão do descarte de óleos e gorduras vegetais hidrogenadas residuais em indústrias alimentícias**. XXXIII Encontro Nacional de Engenharia de Produção, Salvador – BA, 2013;
- GORBY, Y.A.; YANINA, S.; MCLEAN, J.S. ROSSO, K.M.; MOYLES, D. et al. Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. **PNAS**, vol. 103, 2006;
- GUILLÉN, M.D.; URIARTE, P.S. Aldehydes contained in edible oils of a very different nature after prolonged heating at frying temperature: Presence of toxic oxygenated α,β unsaturated aldehydes. **Food Technology**, 2011;
- HAU, H.H.; GRALNICK, J.A. Ecology and Biotechnology of the Genus *Shewanella*. **Annual Reviews of Microbiology**, 2007;

- HE, Z.; ANGENENT, L. T. Application of Bacterial Biocathodes in Microbial Fuel Cells. **Electroanalysis**, 2006;
- HOLT, H.M.; GAHRN-HANSEN, B.; BRUUN, B. *Shewanella algae* and *Shewanella putrefaciens*: clinical and microbiological characteristics. **Clinical Microbiology and Infection**, vol.11, 2005;
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, **Indicadores de Desenvolvimento Humano**, Rio de Janeiro, 2010;
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Inovação Tecnológica (PINTEC 2011)**. Rio de Janeiro, 2014;
- INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA. **Carta de conjuntura nº34**, 2017. Disponível em: <http://www.ipea.gov.br/cartadeconjuntura/>. Acessado em 04 de abril de 2017;
- IZAKI, Y.; YOSHIKAWA, S.; UCHIYAMA, M. Effect of ingestion of thermally oxidized frying oil on peroxidative criteria in rats, **Lipids**, vol. 19, 1984;
- JORGE, N.; DAMY, P. C.; CORSINI, M.S.; DEL RÉ, P.V. Medidas oxidativas e compostos polares totais do óleo de soja refinado e da gordura vegetal hidrogenada em frituras. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 2005;
- JORGENSEN, J. H.; PFALLER, M. A. **Manual of Clinical Microbiology**. ASM Press, 10^a ed., 2011;
- JÚNIOR, M.C.O.; LASMAR, D.J.; ROCHA, A.C.B. Inovações não tecnológicas e tecnológicas em empresas de bionegócios. *In*: MAFRA, R. Z.; JÚNIOR, M.C.O.; SOUZA, A.L.C.; SOUZA, A.O. (Org). **Gestão em Biotecnologia na Amazônia**, 1^a ed., Manaus, EDUA, p. 95 –113, 2015;
- KIELY, P. D.; CALL, D. F.; YATES, M. D.; REGAN, J. M.; LOGAN, B.E. Anodic Biofilms in microbial fuel cells harbor low numbers of higher-power-production bacteria than abundant genera. **Bioenergy and Biofuels**, vol. 88, 2010;
- LIMA, M.T.S.L.; SOUZA, M.C.; FLORES, T.S.; et al. Sobre a Situação Energética Brasileira: De 1970 a 2030. **Ciência e Natura**, vol. 37, 2014;
- LINARDI, M. Hidrogênio e células a combustível: Programa brasileiros de I&D. **Ciência & Tecnologia dos Materiais**, vol. 23, 2011;
- LINDEMEYER, R.M. **Análise da viabilidade econômico-financeira do uso biogás como fonte de energia elétrica**. Trabalho de conclusão de estágio, Florianópolis, UFSC, 2008;

- LIUKKONEN-LILJA, H.; PIEPPONEN, S. Leaching of aluminium from aluminium dishes and packages. **Food Additives and Contaminants**, v. 9, n. 3, p. 213-223, 1992;
- LOZANO, A.R. **Evaluation of the transfer of *Listeria monocytogenes*: A study at the macroscopic and cellular level**. Tese de Doutorado. University of Massachusetts – Amherst, 2007;
- LOWER, B.H.; YOUNGSUNTHON, R.; SHI, L.; WILDLING, L.; GRUBER, H. et al. Antibody recognition force microscopy shows that outer membrane cytochromes OmcA and MtrC are expressed on the exterior surface of *Shewanella oneidensis* MR-1. **Applied Environmental Microbiology**, vol. 75, 2009;
- LUCON, O.; GOLDEMBERG, J. Crise financeira, energia e sustentabilidade no Brasil. **Estudos Avançados**, vol. 23, 2009;
- MACDONELL, M.; COLWELL, R. Phylogeny of the Vibrionaceae, and recommendation for two new genera, *Listonella* and *Shewanella*. **Systematic and Applied Microbiology**, 1985;
- MACHADO, T. L. S.; PRIETO, T.A.; LUZIA, D.M.M.; COSTA-SINGH, T.; JORGE, N. Avaliação da qualidade de óleos de fritura utilizados em restaurante universitário. **Revista Ciência em Extensão**, v.10, 2014;
- MAFRA, R. Z.; JÚNIOR, M.C.O.; SOUZA, A.L.C.; SOUZA, A.O. (Org). **Gestão em Biotecnologia na Amazônia**. 1ª ed., Manaus, EDUA, 2015;
- MAHADEVAN, A.; GUNAWARDENA, D. A.; FERNANDO, S. Biochemical and electrochemical perspectives of the anode of a microbial fuel cell. In: WANG, C. (org). **Technology and Application of Microbial Fuel Cells**. INTECH, p. 13- 32, 2014;
- MARRIT, S.J.; LOWE, T.G.; BYE, J.; McMILLAN, D.G.G.; SHI, L.; FREDRICKSON, J. et al. A functional description of CymA, an electron-transfer hub supporting anaerobic respiratory flexibility in *Shewanella*. **Biochemistry Journal**, 2012;
- MARTINS, F.R.; PEREIRA, E.B.; ABREU, S.L.; COLLE, S. Solar energy scenarios in Brazil. Part one: resource assessment. **Energy Policy**, vol. 36, 2008;
- MATIAS-PEREIRA, J.; KRUGLIANSKAS, I. Gestão de inovação: a lei de inovação tecnológica como ferramenta de apoio às políticas industrial e tecnológica do Brasil. **RAE-eletrônica**, v. 4, n. 2, Art. 18, 2005;

- MEYER, T.E. TSAPIN, A.I.; VANDENBERGHE, I.; DE SMET, L.; FRISHMAN, D. NEALSON, K.H. CUSANOVICH, M.A.; VAN BEEUMEN, J.J. Identification of 42 possible cytochrome c genes in the *Shewanella oneidensis* genome and characterization of six soluble cytochrome. **OMICs-aIntegr. Biol.**, vol. 8, 2004;
- MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. Balanço energético nacional 2016: ano base 2015. **Empresa de Pesquisa Energética**, 2016;
- MORAIS, J.M. **Uma avaliação de programas de apoio financeiros à inovação tecnológica com base nos fundos setoriais e na lei de inovação**. Cap. 2 in NEGRI, J.A.; KUBOTA, L.C. (org). Políticas de Incentivo à Inovação Tecnológica no Brasil. Brasília – IPEA, 2008;
- MORETTO, E.; FEET, R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras vegetais na Indústria de Alimentos**, 1ª ed., São Paulo: Varela Editora e Livraria, 1998;
- MORTON, O. The dream that failed: Special Report Nuclear Energy. **The Economist**, 2012;
- MYERS, C.R.; MYERS, J.M. Cloning and Sequence of *cymA*, a Gene Encoding a Tetraheme Cytochrome c Required for Reduction of Iron(III), Fumarate and Nitrate by *Shewanella putrefaciens* MR-1. **Journal of Bacteriology**, vol. 179, 1997;
- MYERS, C.R.; MYERS, J.M. Isolation and sequence of *omcA*, a gene encoding a decaheme outermembrane cytochrome c of *Shewanella putrefaciens* MR-1, and detection of *omcA* homologs in other strains of *S. putrefaciens*. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1998;
- MYERS, C.R.; MYERS, J.M. Localization of cytochromes to the outer membrane of anaerobically grown *Shewanella putrefaciens* MR-1. **Journal of Bacteriology**, vol. 174, 1992;
- MYERS, C.R.; MYERS, J.M. Role of the Tetraheme Cytochrome CymA in Anaerobic Electron Transport in Cells of *Shewanella putrefaciens* MR-1 with Normal Levels of Menaquinone. **Journal of Bacteriology**, vol. 182, 2000;
- MYERS, C.R.; NEALSON, K.H. Microbial reduction of manganese oxides: interactions with iron and sulfur. **Geochim.Cosmochim. Acta**, vol. 52, 1988;
- MYERS, C.R.; NEALSON, K.H. Respiration-linked proton translocation coupled to anaerobic reduction of manganese (IV) and iron (III) in *Shewanella putrefaciens* MR-1 **Journal of Bacteriology**, vol. 172, 1990;

- NAKAMURA, A.; KIKUCHI, M. What we know and what we have not yet learned: triple disasters and the Fukushima nuclear fiasco in Japan. **Public Administration Review**, v.71, 2011;
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *Shewanella*. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=22&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s>. Acessado em 14 de janeiro de 2016;
- NELSON, D.L.; COX, M. M. **Lehninger: Princípios de Bioquímica**, 5ª ed. São Paulo: Sarvier, 2011;
- NETO, F.F.G. **Classificação de óleos vegetais utilizando voltametria de onda quadrada e métodos quimiométricos**. Dissertação de Mestrado, João Pessoa – UFPB, 2008;
- NOGUEIRA, A.K.M.; SANTANA, A.C. Benefícios socioeconômicos da adoção de novas tecnologias no cultivo do açaí no Estado do Pará. **Revista Ceres**, vol 63, 2016;
- NUNES, G. M. F. **Caracterização de pilha de combustível de hidrogênio e monitorização de célula individual**. Dissertação de Mestrado em Engenharia Mecânica, Universidade Técnica de Lisboa, 2010;
- OH, S.; LOGAN, B.E. Hydrogen and electricity production from a food processing wastewater using fermentation and microbial fuel cell technologies. **Water Research**, vol. 39, p. 4673-4682, 2005;
- OH, S.; LOGAN, B. Proton exchange membrane and electrode surface areas as factors that affect power generation in microbial fuel cells. **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 70, p. 162-169, 2006;
- ORGANIZAÇÃO PARA A COORDENAÇÃO E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO. **Manual de Oslo: Proposta de Diretrizes para a Coleta e Interpretação de dados sobre Inovação Tecnológica**. 3 ed. Brasília, 2006;
- O'TOOLE, G.O.; KAPLAN, H. B.; KOLTER, R. Biofilm Formation as Microbial Development. **Annual Reviews in Microbiology**, vol. 54, 2000;
- PARNEL, J.J.; CALLISTER, S.J.; ROMPATO, G.; NICORA, C.D.; PAS'A-TOLIC, L.; WILLIAMSON, A.; PFRENDER, M.E. Time-course analysis of the *Shewanella amazonensis* SB2B proteome in response to sodium chloride shock. **Nature: Scientific reports**, 2011;

- PEIXOTO, L.J.S. **Microbial Fuel Cells for autonomous systems: Kinetics and technological advances in wastewater treatment and sensor applications**. Tese de Doutorado em Engenharia Química e Biológica. Universidade de Minho, 2012;
- PETROBRAS^a. **Gasoduto Urucu-Coari-Manaus**. Disponível em: <http://www.petrobras.com.br/pt/nossas-atividades/principais-operacoes/gasodutos/urucu-coari-manaus.htm>. Acessado em 22 de janeiro de 2017;
- PETROBRAS^b. **Termelétrica Jaraqui**. Disponível em: <http://www.petrobras.com.br/pt/nossas-atividades/principais-operacoes/termelétricas/jaraqui.htm>. Acessado em 20 de fevereiro de 2017;
- PETROBRAS^c. **Termelétrica Tambaqui**. Disponível em: <http://www.petrobras.com.br/pt/nossas-atividades/principais-operacoes/termelétricas/tambaqui.htm>. Acessado em 20 de fevereiro de 2017;
- PORTELLA, R. W. S. Isolamento de caracterização de cepas de *Shewanella sp.* do cultivo heterotrófico de *Litopenaeus vannamei*. Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pernambuco, 2014;
- PORTER, M. E. **Estratégia Competitiva: Técnicas para análise de indústrias e da concorrência**. 7 ed. Rio de Janeiro: Campus, 1986;
- POTTER, M.C. Electrical Effects accompanying the Decomposition of Organic Compounds. *Proceedings of the Royal Society of London*, Vol. 84, 1911;
- QIAO, Y.; WU, X.S., LI, C.M. Interfacial Electron Transfer of *Shewanella putrefaciens* Enhanced by Nanoflaky Nickel Oxide Array in Microbial Fuel Cells. **Journal of Power Sources**, 2014;
- RABAEY, K.; ANGENET, L.; SCHRÖDER, U.; KELLER, J. **Bioelectrochemical Systems: from extracellular electron transfer to biotechnological application**. IWA publishing, 1^a ed., 2010;
- RABAEY, K.; VERSTRAETE, W. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. **TRENDS in Biotechnology**, 2005;
- RACHINSKI, S.; CARUBELLI, A.; MANGONI, A.P.; MANGRICH, A.S. Pilhas de combustíveis microbianas utilizadas na produção de eletricidade a partir de rejeitos orgânicos: uma perspectiva do futuro. **Química Nova**, Vol. 33, 2010;
- REARDON, C.; DOHNALKOVA, A.; NACHIMUTHU, P.; KENNEDY, D. et al. Role of outer membrane cytochromes MtrC and OmcA in the biomineralization of ferrihydrite by *Shewanella oneidensis* MR-1. **Geobiology**, vol.8, 2010;

- REDA, S.Y.; CARNEIRO, P.I.B. Óleos e gorduras: aplicações e implicações. **Revista Analytica**, 2007;
- RODIONOV, D.A.; NOVICHKOV, P.S.; STAVROVSKAYA, E.D.; RODIONOVA, I.A.et al. Comparative genomic reconstruction of transcriptional networks controlling central metabolism in the *Shewanella* genus. **BMC Genomics**, 2011;
- RODRIGUES, M.; XAVIER, D.; SOUZA, R.; SEYE, O.; SANTOS, E.; FREITAS, K; MORAES, M. O projeto NERAM – modelo de negócio de energia elétrica em comunidades isoladas na Amazônia. **Enc. Energ. Meio Rural**, 2006;
- ROSA, V.H.S. **Energia elétrica renovável em pequenas comunidades no Brasil: em busca de um modelo sustentável**. Tese de Doutorado, Universidade de Brasília, Brasília, 2007;
- SAID, S.; PIETRO, R.C.L.R. **Enzimas como agentes biotecnológicos**. 1ª edição, Ribeirão Preto: Legis Summa, 2004;
- SALES, M. R.; MOURA, R. B.; PORTO, T. S.; MACEDO, G. R.; PORTO, A. L. F. Variáveis que influenciam a produção de celulases e xilanase por espécies de *Aspergillus*. **Pesquisa. Agropecuária brasileira**, v. 45, n. 11, p. 1290 – 1296, Brasília, 2010;
- SAMBROOK, J.; RUSSEL, D.W. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. **Cold Spring Harbor Laboratory**; 3ª ed., 2001;
- SANTOS, A.G.; LOREGIAN, H.B.; SOARES, J.; BRASIL, A.N.; NUNES, D. L. **Alterações ocorridas no óleo de cozinha durante o processo de fritura**. Anais do 6º Congresso Brasileiro de Plantas oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel, 2009. Disponível em: http://oleo.ufla.br/anais_06/artigos/568.pdf. Acessado em 20 de dezembro de 2016;
- SANTOS, R.R.; MERCEDES, S.S.P.; SAUER, I.L. A reestruturação do setor elétrico brasileiro e a universalização do acesso ao serviço de energia elétrica. **Revista Brasileira de Energia**, 1999;
- SANTOS, V.O. **Aproveitamento do óleo de fritura residual para produção de biodiesel em Manaus**. Dissertação de Mestrado em Química, Manaus - UFAM, 2011;
- SCHECHTER, M.; SCHECHTER, A.; ROZENFELD, S.; EFRAT, E.; CAHAN, R. Anode biofilm. In: WANG, C. (org). **Technology and Application of Microbial Fuel Cells**. INTECH, 2014, p. 57 – 75;
- SEBASTIAN, A.; GHAZANI, S.M.; MARANGONI, A.G. Quality and safety of frying oils used in restaurants. **Food Research Internacional**, vol. 64, 2014;

- SEBRAE, **Pesquisa de mercado.** Disponível em: [http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/24131C962E2F9B6C0325714700683043/\\$File/NT00031FF6.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/24131C962E2F9B6C0325714700683043/$File/NT00031FF6.pdf). Acessado em 15 de maio de 2017;
- SECRETARIA MUNICIPAL DE LIMPEZA PÚBLICA. **Todos os PEVs estão recolhendo óleo de cozinha,** 2012. Disponível em: <http://semulsp.manaus.am.gov.br/todos-os-pevs-estao-recolhendo-oleo-de-cozinha/>. Acessado em 10 de abril de 2017;
- SECRETARIA MUNICIPAL DE LIMPEZA PÚBLICA. **Coleta Seletiva.** Disponível em: <http://semulsp.manaus.am.gov.br/coleta-seletiva/>. Acessado em 07 de abril de 2017;
- SEPPANEN, C.M.; CSALLANY, A.S. Formation of 4-hydroxynonenal, a toxic aldehyde, in soybean oil at frying temperature. **JAOCs**, vol.79, 2002;
- SEPPANEN, C.M.; CSALLANY, A.S. Incorporation of the toxic aldehyde 4-hydroxy-2-trans-nonenal into food fried in thermally oxidized soybean oil. **JAOCs**, vol. 81, 2004;
- SHEWAN, J.; HOBBS, G.; HODGKISS W.A. determinative scheme for the identification of certain genera of gram-negative bacteria, with special reference to the *Pseudomonadaceae*. **Journal of Applied Bacteriology**, 1960;
- SILVA, S.B.; OLIVEIRA, M.A.G.; SEVERINO, M.M. Economic evaluation and optimization of a photovoltaic-fuel cell-batteries hybrid system for use in the Brazilian Amazon. **Energy Policy**, 2010;
- SILVA,S.B.; SEVERINO, M.M.; OLIVEIRA, M.A.G. A stand-alone hybrid photovoltaic, fuel cell and battery system: a case study of Tocantis, Brazil. **Renewable Energy**, vol. 57, 2013;
- SIQUEIRA, J.C. **Análise de Técnicas para Controle de Energia Elétrica para Dados de Alta Frequência: Aplicação à Previsão de Carga.** Dissertação de Mestrado em Engenharia Elétrica – PUC-RJ, 2012;
- SOUZA, R.C.R. Energias alternativas: Desafios e possibilidades para a Amazônia. **T&C Amazônia**, 2003. Disponível em: http://amazonialivre.org/energias_alternativas.pdf;
- SPIEGEL, C.S. **Designing & Building Fuel Cells.** McGraw-Hill, 1a ed., 2007;

- STATISTA. **Vegetable oils: global consumption by oil type 2012/13 to 2016/2017**, 2017. Disponível em: <https://www.statista.com/statistics/263937/vegetable-oils-global-consumption/>. Acessado em 27 de março de 2017;
- SUZUKI, T. Deconstructing the zero-risk mind set: the less on sand future responsibilities for a post-Fukushima nuclear Japan. **Bulletin of the Atomic Scientists**, v.67. 2011;
- TEAL, T. K.; LIES, D. P.; WOLD, B. J. & NEWMAN, D. K. Spatio metabolic Stratification of *Shewanella oneidensis* Biofilms. **Applied and Environmental Microbiology**.v.72, n. 11, p. 7324.2006;
- TELEKEN, J. T. **Modelagem matemática da geração de corrente elétrica em uma célula combustível microbiana inoculada com micro-organismos marinhos**. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, UFSC, 2013;
- TENDER, L.M.; REIMERS, C.E.; STECHER III, H.A. HOLMES, D. E.; BOND, D.R.; LOWY, D.A.; POLIBELLO, K.; FERTIG, J.S.; LOVLEY, D.R. Harnessing microbially generated power on the sea floor. **Nature Biotechnology**, v. 20, 2002;
- TEÓFILO, R.F. e FERREIRA, M.M. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, 2006;
- THORMANN, K. M.; DUTTLER, S.; SAVILLE, R. M.; HYODO, M.; SHUKLA, S.; HAYAKAWA, Y.; SPORMANN, A. M. Control of Formation and Cellular Detachment from *Shewanella oneidensis* MR-1 Biofilms by Cyclic di-GMP. **Journal of Bacteriology**. v.188, n. 7, p. 2681–2691. 2006;
- TOLMASQUIM, M.T.; GUERREIRO, A.; GORINI, R. Matriz energética brasileira. **Novos Estudos**, vol. 79, 2007;
- TOLMASQUIM, M. T. **Energia Termelétrica: gás natural, biomassa, carvão e nuclear**. EPE – Rio de Janeiro, 2016;
- TOMASI, K.; FERNANDES, S. B. V.; LUCHESE, O.A.; UHDE, L. T.; BUSNELLO, M. B. Perfil de consumo e descarte de óleo comestível no município de Ijuí – RS. **Revista Contexto & Saúde**, vol. 14, 2014;
- TRIGOSO, F.B.M. **Demanda de Energia Elétrica e Desenvolvimento Socioeconômico: o caso das comunidades rurais eletrificadas com sistemas fotovoltaicos**. Tese de Doutorado do Programa Interunidades de Pós-Graduação em Energia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004;

- TSAI, M.S.; YOU, H.L.; TANG, Y.F.; LIU, J.W. *Shewanella* soft tissue infection: case report and literature review. **International Journal of Infectious Disease**, vol. 12, 2008;
- TURINI, E. **Conjuntura do Açaí**. CONAB, 2016. Disponível em <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_05_09_11_55_19_conjuntura_de__acai_abr_-16-1.pdf>;
- VARIA, J.C.; MARTINEZ, S. S.; VELASQUEZ-ORTA, S.; BULL, S. Microbiological influence of metal ion electrodeposition: studies using grafite electrodes, $[AuCl_4]^-$ and *Shewanella putrefaciens*. **Electrochimica Acta**, vol. 115, 2014;
- VICENTE, J.A. Materiais plásticos de engenharia e suas aplicações (poliamida e poliacetal). Monografia em Produção de Plásticos, FATEC – São Paulo, 2009;
- VIEIRA, S. **Estatística experimental**. São Paulo - Atlas, 2ª ed, 1999;
- VIGNIER, N.; BARREAU, M.; OLIVE, C.; BAUBION, E.; THEODOSE, R.; HOCHEDÉZ, P CABIÉ, A. Human Infection with *Shewanella putrefaciens* and *Shewanella algae*: Report of 16 cases in Martinique and Review of the Literature. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 2013
- VILLULLAS, H.M.; TICIANELLI, E.A.; GONZÁLEZ, E.R. Células a combustível: energia limpa a partir de fontes renováveis. **Química Nova na Escola**, 2002;
- WERNER, E., ROE, F.; BUGNICOURT, A.; FRANKLIN, M. J.; HEYDORN, A.; MOLIN, S.; PITTS, B. & STEWART, P. S. Stratified growth in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Applied and Environmental Microbiology**. v.70, p.6188–6196. 2004;
- YIN, J.; GAO, H. Stress response of *Shewanella*. **International Journal of Microbiology**, 2011;
- ZAWODZINSKI, T.A.; DEROUIN, C.; RADZINSKI, S.; SHERMAN, R.J.; SMITH, V.T.; SPRINGER, T.E.; GOTTESFELD, S. Water uptake by transport through Nafion® 117 membranes. **Journal of Electrochemical Society**, vol. 140, 1993;
- ZEN, H.A. Obtenção de membrana trocadora de prótons para uso em célula a combustível, à base de polipropileno (PP). Dissertação de Mestrado em Ciências na área de Tecnologia Nuclear – Materiais, São Paulo –IPEN, 2008;
- ZUCATTO, L.C.; WELLE, I.; SILVA, T.N. Cadeia reversa do óleo de cozinha: coordenação, estrutura e aspectos relacionais. **Revista de Administração de Empresas**, vol. 53, 2013.

ANEXO I

1) Na sua casa, é utilizado óleo de cozinha?

- a) Sim
- b) Não
- c) Não sei

2) Quando você cozinha usando óleo, fica resíduo?

- a) Sim, mas pouco
- b) Bastante, pois cozinho muito por imersão
- c) Não.

3) Você armazena esse óleo ou descarta?

- a) Armazeno em uma garrafa pet
- b) Descarto na pia depois que uso
- c) Acumulo uma certa quantidade e depois joga no lixo
- d) Não uso óleo, portanto não tenho o que armazenar ou jogar.

4) Sua cidade possui um serviço de coleta/aproveitamento desses óleos residuais? Por favor, nos diga qual é a sua cidade e seu estado.

5) Se estivesse disponível no mercado uma máquina que usasse esse resíduo de óleo para gerar energia elétrica, você estaria interessado? Salientando que essa energia gerada não entraria na sua conta de luz e diminuiria um pouco o consumo de energia da sua casa.

- a) Sim
- b) Não
- c) Não sei

6) Se dentro dessa máquina houvesse bactérias que degradassem esses resíduos de óleo para gerar energia, ainda assim você gostaria de adquirir?

- a) Sim, claro
- b) Não, porém seria mais cauteloso
- c) Não
- d) Não sei
- e) Não teria interesse, uma vez que não uso e/ou armazeno uma quantidade significativa de óleo.