



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

WEVERTON VIRGILINO OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DO ACOPLAMENTO DO PROCESSO ELETRO-
FENTON COM CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIANA PARA A
DEGRADAÇÃO DE GLIFOSATO EM MEIO AQUOSO**

***EVALUATION OF ELECTRO-FENTON PROCESS COUPLED
WITH MICROBIAL FUEL CELL FOR DEGRADATION OF
GLYPHOSATE IN AQUEOUS PHASE***





**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

WEVERTON VIRGILINO OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DO ACOPLAMENTO DO PROCESSO ELETRO-
FENTON COM CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIANA PARA A
DEGRADAÇÃO DE GLIFOSATO EM MEIO AQUOSO**

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Química da Universidade Federal de
Sergipe para a obtenção do título de
Mestre em Química

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Luciane Pimenta Cruz Romão

Coorientador: Dr. Bruno Rafael Araújo

***EVALUATION OF ELECTRO-FENTON PROCESS COUPLED
WITH MICROBIAL FUEL CELL FOR DEGRADATION OF
GLYPHOSATE IN AQUEOUS PHASE***

*Master's dissertation presented to the
Postgraduate Programm in Chemistry at
the Federal University of Sergipe to
obtain MSc. in Chemistry*



FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

- O48a Oliveira, Weverton Virgilino
Avaliação do acoplamento do processo *eletro-fenton* com célula combustível microbiana para a degradação de glifosato em meio aquoso / Weverton Virgilino Oliveira ; orientadora Luciane Pimenta Cruz Romão - São Cristóvão, 2024.
91 f. : il.
- Dissertação (mestrado em Química) – Universidade Federal de Sergipe, 2024.
1. Oxidação. 2. *Serratia marcescens*. 3. Células à combustível. 4. Turfa. Romão, Luciane Pimenta Cruz Romão orient. II. Título.

CDU 544.6

COMISSÃO EXAMINADORA:

ORIENTADOR: Prof^a. Dr^a. Luciane Pimenta Cruz Romão

COORDINADOR: Dr. Bruno Rafael Araújo

1º MEMBRO TIT.: Prof. Dr. Alberto Wisniewski Junior

2º MEMBRO TIT.: Prof^a. Dr^a. Fabiane Caxico de Abreu Galdino

SÃO CRISTÓVÃO – SE

JULHO, 2023

RESUMO

O acoplamento do processo eletro-Fenton (EF) com célula combustível microbiana (CCM), denominado bioeletro-Fenton (BEF), é um sistema bioeletroquímico que tem sido aplicado como uma tecnologia promissora para a degradação de contaminantes emergentes. Nesta dissertação, foi avaliado o desempenho do sistema BEF na degradação do glifosato em meio aquoso. Para este fim, foi construída uma CCM de câmara dupla, sendo o ânodo formado de feltro de carbono, enquanto o cátodo foi um eletrodo de difusão de gás (EDG). Um nanocompósito de polipropileno-argila foi utilizado como membrana de troca catiônica. Para os ensaios de biodegradação realizados na câmara anódica, o microorganismo utilizado foi uma bactéria da espécie *Serratia sp.* isolada de uma turfeira tropical localizada no município de Santo Amaro das Brotas, estado de Sergipe, Brasil (36°58'52.93 "W, 10°49'3.63 "S). As taxas de degradação do glifosato na aplicação da solução aquosa sintética foram determinadas no ânodo da CCM, obtendo valores de 8,4%, 53,0% e 100,0% em 48 h de experimento para o controle abiótico, circuito aberto (CCM CA) e circuito fechado (CCM CF), respectivamente. No cátodo, as taxas de degradação em 48 h foram de 4,8%, 13,0% e 69,4% para CCM CA, sistema sem adição de íons Fe^{2+} , e CCM CF, respectivamente. A formação de um biofilme foi identificada no feltro de carbono no compartimento anódico e comprovada por espectroscopia de infravermelho (FTIR) e microscopia eletrônica de varredura com espectroscopia por energia dispersiva (MEV-EDS). Ocorreu 100,0% de biodegradação e degradação de glifosato em ambos os compartimentos do sistema BEF, utilizando amostras de campo (água de açude) fortificadas, em 36 h de experimentos. Para AMPA, ocorreu a diminuição em 66,5% da concentração inicial após 24 h de experimento no compartimento anódico e a completa degradação e mineralização no compartimento catódico. Portanto, os resultados mostraram a eficiência do sistema BEF na eliminação do herbicida e que a bactéria *Serratia sp.* possui características eletrogênicas suficientes para gerar corrente, o que permite o uso deste microorganismo em técnicas acopladas.

Palavras-chave: Contaminantes emergentes. Bioeletro-Fenton. *Serratia sp.* Eletrogênese. Célula combustível microbiana. Turfa.

ABSTRACT

*The coupling of the electro-Fenton (EF) process with a microbial fuel cell (MFC), known as bioelectro-Fenton (BEF), is a bioelectrochemical system that has been applied as a promising technology for the degradation of emerging contaminants. In this dissertation, the performance of the BEF system in the degradation of glyphosate in aqueous media was evaluated. For this purpose, a double-chamber MCC was built, with the anode made of carbon felt, while the cathode was a gas diffusion electrode (GDE). A polypropylene-clay nanocomposite was used as the cation exchange membrane. For the biodegradation tests carried out in the anode chamber, the microorganism used was a bacterium of the species *Serratia* sp. isolated from a tropical peat bog located in the municipality of Santo Amaro das Brotas, state of Sergipe, Brazil (36°58'52.93"W, 10°49'3.63"S). The degradation rates of glyphosate in the application of the synthetic aqueous solution were determined at the anode of the MCC, obtaining values of 8.4%, 53.0% and 100.0% in 48 h of experiment for the abiotic control, open circuit (MCC CA) and closed circuit (MCC CF), respectively. At the cathode, the degradation rates in 48 h were 4.8%, 13.0% and 69.4% for CCM CA, the system without the addition of Fe²⁺ ions, and CCM CF, respectively. At the cathode, the degradation rates in 48 h were 4.8%, 13.0% and 69.4% for CCM CA, the system without the addition of Fe²⁺ ions, and CCM CF, respectively. The formation of a biofilm was identified on the carbon felt in the anode compartment and confirmed by infrared spectroscopy (FTIR) and scanning electron microscopy with energy dispersive spectroscopy (SEM-EDS). There was 100.0% biodegradation and degradation of glyphosate in both compartments of the BEF system, using fortified field samples (weir water), in 36 h of experiments. For AMPA, there was a 66.5% decrease in initial concentration after 24 h of experimentation in the anodic compartment and complete degradation and mineralization in the cathodic compartment. Therefore, the results showed the efficiency of the BEF system in eliminating the herbicide and that the bacterium *Serratia* sp. has sufficient electrogenic characteristics to generate current, which allows the use of this microorganism in coupled techniques.*

Keywords: Emerging contaminants. Bioelectro-Fenton. *Serratia* sp. Electrogenesis. Microbial fuel cell. Peat.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Processos oxidativos de degradação do glifosato	2
1.2	Biodegradação do glifosato	5
1.3	Turfa.....	8
1.3.1	Turfeira de Santo Amaro das Brotas	10
1.4	Acoplamento de processos para degradação do glifosato	11
1.5	Propriedades físico-químicas do glifosato e do AMPA e seus comportamentos no ambiente	14
1.6	Determinação de resíduos de glifosato e ácido aminometilfosfônico em águas superficiais	16
1.7	Contaminação e impactos do glifosato.....	18
1.7.1	Contaminação por glifosato na água	19
1.7.2	Impactos do glifosato na saúde humana	19
2	OBJETIVOS.....	21
2.1	Objetivo geral	21
2.2	Objetivos específicos	21
3	MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1	Reagentes e padrões analíticos.....	22
3.2	Determinação do glifosato e do ácido aminometilfosfônico.....	22
3.2.1	Derivatização do glifosato e do ácido aminometilfosfônico.....	22
3.2.2	Condições cromatográficas de análise	24
3.2.3	Preparo das curvas analíticas.....	25
3.3	Experimentos de (bio)degradação utilizando solução aquosa sintética.....	25
3.3.1	Configuração da célula combustível microbiana (CCM)	25

3.3.2	Inoculação e cultivo da bactéria.....	27
3.3.3	Aclimação ao meio suplementado e suspensão das culturas bacterianas	28
3.3.4	Montagem do sistema de biodegradação/degradação	30
3.4	Aquisição dos dados temporais de tensão de saída da CCM	33
3.5	Descarte dos resíduos experimentais	34
3.6	Caracterização dos materiais empregados nos experimentos de (bio)degradação	35
3.6.1	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e Reflectância Total Atenuada (FTIR-ATR)	35
3.6.2	Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectroscopia por Energia Dispersiva (MEV-EDS)	35
3.7	Condições de análise por cromatografia de íons	36
3.8	Aplicação de amostra de campo ao sistema Bioeletro-Fenton (BEF) .	36
3.9	Identificação dos subprodutos iônicos da (bio)degradação.....	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1	Otimização das condições cromatográficas de análise e reação de derivatização	38
4.2.1	Limite de detecção e limite de quantificação	41
4.3	Eletrogeração do peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)	42
4.4	Crescimento dos microrganismos durante o período de aclimação .	43
4.5	Biodegradação do glifosato no bioânodo da célula combustível microbiana (CCM)	46
4.6	Avaliação da degradação de glifosato no compartimento catódico da célula combustível microbiana (CCM) com eletro-Fenton.....	50
4.7	Caracterização do feltro de carbono do bioânodo e do nanocompósito polimérico utilizados nos experimentos eletroquímicos	56
4.7.1	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	56

4.7.2	Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectroscopia por Energia Dispersiva (MEV-EDS)	59
4.8	Aplicação de amostra de campo ao sistema Bioeletro-Fenton (BEF) .	63
4.9	Identificação dos produtos iônicos de (bio)degradação das amostras de campo.....	66
5	CONCLUSÕES.....	71
6	PERSPECTIVAS DO TRABALHO.....	74
7	REFERÊNCIAS	75

Dedico este trabalho aos amigos e familiares. Em especial aos meus pais (José e Luzinete), ao meu irmão (Wadson), aos amigos (Vaneide, Felipe, Valdirene, Mércia, Luana e Hermógenes), ao meu namorado (Willames), aos meus orientadores (Prof^a. Dra. Luciane Pimenta Cruz Romão e Dr. Bruno Rafael Araújo) e agradeço a todas as pessoas que passaram pela minha história e me transformaram com conselhos, palavras e bençãos.

“Ele me invocará, e eu lhe responderei; estarei com ele na angústia; dela o retirarei, e o glorificarei.”

(Salmos 91:15)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pela força concedida para enfrentar inúmeros desafios nessa jornada. Aos meus pais (José e Luzinete) e meu irmão (Wadson) pelo incentivo e paciência comigo. Aos meus orientadores, Prof^a. Dr^a. Luciane Pimenta Cruz Romão e Dr. Bruno Rafael Araújo, por todos os ensinamentos e conselhos, apoio, paciência e confiança depositada em mim durante a pesquisa. Á todos os meus amigos, em especial a Vaneide, Valdirene, Mércia, Luana, Felipe, Hermógenes e Diego. Aos colegas do Laboratório de Estudos da Matéria Orgânica Natural (LEMON/UFS) pelas contribuições, não somente nesse estudo, mas por todo o companheirismo de sempre. Agradeço a equipe gestora da Escola Estadual Professor Arthur Ramos, pertencente a 12^a gerência regional de educação da Secretaria de Estado da Educação de Alagoas (SEDUC-AL), pela assistência e compreensão durante o período de conciliação entre o mestrado e o início da minha carreira docente no Estado. Da mesma forma, agradeço ao *CNPQ* pelo apoio financeiro durante os meses em que dispunha da bolsa de mestrado, a Companhia de Saneamento de Sergipe (DESO), a Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), INCT-DATREN e ao Centro de Laboratórios de Química Multiusuários (CLQM/UFS) pelo suporte nas análises realizadas no estudo.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Vias de degradação do glifosato no ambiente.....	6
Figura 2: Esquema típico de um sistema BEF.....	12
Figura 3: Representação estrutural da molécula do glifosato.....	14
Figura 4: Representação estrutural da molécula do AMPA.....	15
Figura 5: Esquema da reação de derivatização de GLI e AMPA com FMOC-Cl.....	17
Figura 6: Etapas da reação de derivatização pré-coluna dos analitos GLI e AMPA.....	22
Figura 7: Tratamento dos eletrodos previamente aos ensaios de (bio)degradação. Condições: 250 mL de solução aquosa de H_2SO_4 em concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, densidade de corrente de $33,3 \text{ mA cm}^{-2}$, $t = 180 \text{ min}$	26
Figura 8: Configuração básica da CCM de câmara dupla utilizada nos ensaios de (bio)degradação do glifosato.....	27
Figura 9: Etapas realizadas para aclimação e suspensão da linhagem de bactérias inoculadas em meio suplementado com glifosato até a medição de sua densidade ótica, em 610 nm, com espectrofotômetro UV-Vis.....	29
Figura 10: Sistema utilizado nos testes de biodegradação/degradação: à esquerda, compartimento anódico com as bactérias em meio mineral M9; à direita, compartimento catódico com a solução de $50 \text{ mmol L}^{-1} \text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ preparada em PBS.....	32
Figura 11: Cromatogramas obtidos por CLAE/DAD. (a) solução sem a presença dos analitos, (b) solução padrão de GLI derivatizado na concentração de $25,0 \text{ mg L}^{-1}$, (c) solução padrão de AMPA derivatizado na concentração de $25,0 \text{ mg L}^{-1}$ (d) mistura das soluções padrão dos analitos, GLI e AMPA derivatizados....	39
Figura 12: Espectros de UV-Vis. (a) solução padrão de glifosato derivatizados (GLI-FMOC) na concentração de $25,0 \text{ mg L}^{-1}$ e (b) solução padrão de ácido	

aminometilfosfônico derivatizado (AMPA-FMOC) na concentração de 25,0 mg L ⁻¹	40
Figura 13: Curva analítica para determinação de a) glifosato (GLI) e b) ácido aminometilfosfônico derivatizados.....	41
Figura 14: Curva de calibração para a determinação do H ₂ O ₂ por UV-Vis, no comprimento de onda em 328 nm.....	43
Figura 15: Curva de crescimento da bactéria <i>Serratia sp.</i> durante o período de aclimação com glifosato. Condições de teste: T = 28 ± 2 °C, pH = 7,0, [GLI] inicial = 50,0 mg L ⁻¹	44
Figura 16: Monitoramento das concentrações de GLI e AMPA no compartimento anódico durante os experimentos de biodegradação em a) controle abiótico e b) circuito aberto (CCM CA).....	47
Figura 17: Acompanhamento das concentrações de glifosato e AMPA e tensão de saída no compartimento anódico da CCM durante os experimentos de (bio)degradação em circuito fechado. Condições de teste: T=28 ± 2 °C, pH=7,0, [GLI] Inicial = 50 ± 2 mg L ⁻¹ , [CH ₃ COONa] Inicial = 0,30 mg L ⁻¹ e resistência externa = 100 Ω.....	49
Figura 18: Eletrogeração de H ₂ O ₂ <i>in situ</i> durante os experimentos eletroquímicos em sistema eletro-Fenton integrado a CCM. Condições: cátodo = EDG com feltro de carbono, solução de trabalho = 200 mL de Na ₂ SO ₄ (0,05 mol L ⁻¹), fluxo de ar = 1,0 L min ⁻¹ , pH = 3,0.....	51
Figura 19: Taxas de degradação de glifosato e AMPA no compartimento catódico durante os experimentos de degradação em a) circuito fechado sem a adição de Fe ²⁺ e b) circuito aberto com a adição de Fe ²⁺	52
Figura 20: Acompanhamento das concentrações de glifosato e AMPA no compartimento catódico da CCM durante os experimentos de degradação em circuito fechado. Condições de teste: cátodo = EDG com feltro de carbono, solução de trabalho = 200 mL de Na ₂ SO ₄ (0,05 mol L ⁻¹) com FeSO ₄ (2,3 mmol L ⁻¹), fluxo de ar = 1,0 L min ⁻¹ , pH = 3,0.).....	55

- Figura 21: : Espectros de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para as amostras do feltro de carbono antes (FC0h) e após (FC48h) os experimentos eletroquímicos na CCM e de bactéria da espécie *Serratia sp.*.....57
- Figura 22: Espectros de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) do nanocompósito polimérico antes (NC0h) e após 48 h (NC48h) os experimentos eletroquímicos.....58
- Figura 23: Fotomicrografias e espectros obtidos por MEV-EDS para os eletrodos de feltro de carbono, antes da aplicação em sistema BEF (FC0H): a) EDS e b) fotomicrografia com magnificação de 100 vezes; e após a aplicação (FC48h): c) EDS e d) fotomicrografia com magnificação de 100 vezes.....60
- Figura 24: Fotomicrografia e espectro obtido por MEV-EDS para a bactéria *Serratia sp.*: e) EDS e f) fotomicrografia com magnificação de 100 vezes.....61
- Figura 25: Fotomicrografias e espectros obtidos por MEV-EDS para as membranas nanocompósito, antes da aplicação em sistema BEF (NC0H): a) EDS e b) fotomicrografia com magnificação de 100 vezes; e após a aplicação (NC48h): c) EDS e d) fotomicrografia com magnificação de 100 vezes.....62
- Figura 26: Monitoramento das concentrações residuais de glifosato e AMPA em amostra de campo fortificada aplicada ao sistema BEF nos compartimentos anódico (a) e catódico (b), durante 36 h de experimento.....64
- Figura 27: Cromatogramas obtidos por CLAE/DAD das amostras de campo aplicadas ao sistema BEF e derivatizadas. (a) em 0 h no compartimento catódico, (b) em 36 h no compartimento catódico, (c) em 0 h no compartimento anódico (d) em 36 h no compartimento anódico.....65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Íons identificados por cromatografia de íons na amostra do açude Marcela <i>in natura</i> (AR0h)	66
Tabela 2: Íons identificados por cromatografia de íons nas soluções aquosas, anódica (SA_AC0h) e catódica (SC_AC0h), preparadas com a amostra de campo antes da aplicação no sistema BEF.....	68
Tabela 3: Íons identificados por cromatografia de íons na água do açude, anódico (EA_AC36h) e catódico (EC_AC36h) após 36 h de experimento em sistema BEF.....	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC0h – Amostra de campo em 0 h;

AMPA - Ácido Aminometilfosfônico;

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária;

Arg. – Argila;

ASTM – Sigla em inglês para sociedade americana de testes e materiais;

ATR - Reflexão total atenuada

BEF - Bioeletro-Fenton;

BMMIM - 1-butil-2,3-dimetilimidazólio;

CCM - Célula de combustível microbiana;

CCM CA – Célula de combustível microbiana com corrente aberta;

CCM CF - Célula de combustível microbiana com corrente fechada;

CEM - Célula de eletrólise microbiana;

CG - Cromatografia Gasosa;

CL - Cromatografia Líquida;

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência;

CLQM - Centro de Laboratórios de Química Multiusuários;

COGERP - Coordenadoria Geral de Perícias;

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente;

DAD - Detector de Arranjo de Diodos;

DESO – Companhia de Saneamento de Sergipe;

DO -Densidade Ótica;

EA_AC36h – Efluente anódico da amostra de campo em 36 h;

EC_AC36h - Efluente catódico da amostra de campo em 36 h;

EDG – Eletrodo de Difusão de Gás;

EDS - Espectroscopia por Energia Dispersiva;

EF - Eletro-Fenton;

EF-Fe-ox - Eletro-Fenton com ânodo de sacrifício;

EF-Fe-re - Eletro-Fenton com regeneração;

EF-H2O2 – Eletro-Fenton catódico;

EF-H₂O₂-Fe-re - Eletro-Fenton catódico com regeneração de Fe²⁺;

EPSP - 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato;

EUA – Estados Unidos da América;

FAO - Sigla em inglês para Organização para a Alimentação e Agricultura;

FC0h – Filtro de carbono em 0 h;

FC48h – Filtro de carbono em 48 h;

FLU - Detector de Fluorescência;

FMOC-Cl - Cloroformiato de 9-fluorenilmetila;

FTIR – Sigla em inglês para Espectroscopia de absorção na região de infravermelho com transformada de Fourier;

GC – Grupo de controle;

GLI - Abreviatura para Glifosato;

HPLC - Sigla em inglês para cromatografia líquida de alta eficiência;

IA – Ingrediente Ativo;

IARC – Sigla em inglês para Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer;

LD – Limite de detecção;

LEMON - Laboratório de Estudos da Matéria Orgânica Natural;

LMA - Laboratório de Microbiologia Aplicada;

LQ – Limite de quantificação;

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura;

NC0h – Nanocompósito em 0 h;

NC48h – Nanocompósito em 48 h;

NDS - Nitrificação e desnitrificação simultânea

OMS - Organização Mundial da Saúde;

PBS – Sigla em inglês para Solução salina tamponada com fosfato;

PH - Eletrodo Padrão de Hidrogênio;

pH - Potencial hidrogeniônico;

POAEs - Processos oxidativos avançados eletroquímicos;

POAs - Processos oxidativos avançados;

PP – Polipropileno;

SA_AC0h – Solução anódica preparada com amostra de campo em 0 h;
SC-AC0h - Solução catódica preparada com amostra de campo em 0 h;
SSP/SE - Secretaria de Segurança Pública de Sergipe;
TDAH - Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade;
TEMs - Tecnologias eletroquímicas microbianas;
UFC – Unidade formadora de colônias;
UFS – Universidade Federal de Sergipe;
US – Sigla em inglês para Estados Unidos;
USEPA – Sigla em inglês para Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos;
UV-Vis - Ultravioleta e visível;
Y4B - Código das bactérias da espécie *Stenotrophomonas acidaminiphila*.

1 INTRODUÇÃO

Os herbicidas são substâncias químicas ou agentes biológicos que possuem a capacidade de inibir o crescimento de plantas daninhas que competem com outras culturas vegetais por espaço, nutrientes e água [1]. Um dos herbicidas organofosforados mais utilizados é o glifosato (N-(fosfometil)glicina). Desde o final da década de 1970 até 2016, foi registrado em todo o mundo um aumento de 100 vezes na frequência e no volume de aplicação de formulações à base de glifosato [2].

Devido a sua ampla utilização, o glifosato (GLI) e seu principal metabólito, o ácido aminometilfosfônico (AMPA), são frequentemente detectados em diversos compartimentos ambientais, a exemplo do solo e água [2]. No solo, o potencial de acumulação de GLI está relacionado à sua capacidade de se ligar a óxidos de alumínio e ferro. No entanto, quando atingida a saturação do solo, o glifosato pode ser transportado para corpos d'água por lixiviação, contaminando as águas superficiais ou subterrâneas [3].

Deste modo, a remediação do glifosato é uma questão ambiental importante pois, por ser um dos herbicidas mais usados na agricultura, é um composto persistente no ambiente, podendo causar danos à saúde humana e aos ecossistemas, afetando a biodiversidade e a qualidade da água [4,5]. Assim, há uma crescente necessidade de desenvolver novas tecnologias para remediação de resíduos de glifosato com a aplicação de diferentes metodologias visando a sua degradação, que sejam eficientes, econômicas e sustentáveis.

Dentre as tecnologias emergentes para a degradação de poluentes orgânicos, destaca-se o acoplamento do processo eletro-Fenton com células combustíveis microbianas (CCMs) [6]. Em síntese, o processo eletro-Fenton consiste na geração *in situ* de radicais hidroxila, que são fortes agentes oxidantes, a partir da reação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) com íons Fe^{2+} [7]. As CCMs são dispositivos que convertem energia química em energia elétrica através da atividade metabólica de microrganismos vivos, como as bactérias eletrogênicas.

Uma das configurações mais comuns das CCMs é a de câmara dupla, que consiste em dois compartimentos, um anódico e um catódico, separados por uma membrana de troca catiônica [8]. O ânodo é o aceptor final de elétrons que são gerados pelos microrganismos através da oxidação do substrato orgânico durante o processo de biodegradação. Os elétrons são transferidos para o cátodo através de um circuito externo, enquanto os prótons atravessam a membrana. No compartimento catódico, o oxigênio (O_2) é reduzido por meio de uma reação eletroquímica a peróxido de hidrogênio, fornecendo uma fonte contínua de H_2O_2 para reação de Fenton, gerando os radicais hidroxila que são as espécies responsáveis pela oxidação do contaminante [9].

Apesar de promissor, a implementação do acoplamento do processo eletro-Fenton com as CCMs ainda é recente e enfrenta alguns desafios [10]. Esses desafios incluem a otimização das condições operacionais, a seleção adequada dos materiais, eletrodos e membrana, bem como a avaliação do impacto ambiental decorrente dessa implementação [11]. Por essas razões, torna-se evidente a necessidade de realizar estudos adicionais, visando avançar no desenvolvimento e na aplicação dessa tecnologia, inclusive em amostras ambientais naturais.

1.1 Processos oxidativos de degradação do glifosato

Com o aumento da disponibilidade do glifosato em água, estudos têm sido desenvolvidos para a implementação de processos que visem degradar o herbicida. Dentre os processos existentes para a degradação/remoção de poluentes ambientais destacam-se a adsorção [12], membrana biopolimérica [13], a eletrocoagulação e/ou eletrooxidação [14] e os métodos biológicos [15]. No entanto, estas técnicas podem apresentar problemas relacionados a formação, no entanto, estas técnicas podem apresentar problemas relacionados a formação de resíduos indesejados, ocasionando um tratamento incompleto e agravando os problemas ambientais [16].

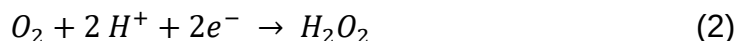
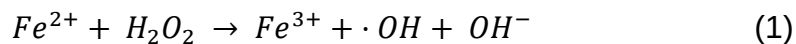
Uma técnica alternativa para a eliminação de compostos poluentes é a aplicação de métodos eletroquímicos para degradação em conjugação a processos oxidativos avançados (POAs) para maximizar a eficiência [17]. Esses Processos Oxidativos Avançados Eletroquímicos (POAEs), como ficou conhecida a referida conjugação, favorecem a degradação de compostos orgânicos em meio aquoso em menor intervalo de tempo, que é uma das vantagens da técnica, em comparação a outros processos de remoção de poluentes [18].

Os POAs e POAEs baseiam-se na produção de radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$), os quais possuem alta capacidade oxidante, são não seletivos e são potenciais agentes de degradação de contaminantes emergentes, como pesticidas [19], produtos farmacêuticos [20] e corantes [21]. Ademais, os radicais hidroxila podem ser produzidos em sistemas homogêneos ou heterogêneos, ou seja, em solução ou em uma superfície catalítica [17], tanto na presença quanto na ausência de radiação ultravioleta (UV).

A oxidação Fenton tem sido relatada como uma tecnologia exitosa no tratamento de glifosato [15]. Trata-se de um processo de oxidação indireta em que os contaminantes orgânicos são degradados por espécies oxidantes potencialmente reativas produzidas *in situ*, sendo essa geração facilitada pela adição de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e reagente de Fenton (mistura de H_2O_2 e íons Fe^{2+}) na solução aquosa. Dessa forma, no tratamento de efluentes são processos amplamente utilizados devido ao seu baixo custo e natureza prontamente disponível [22].

Entre os processos Fenton, o tratamento eletro-Fenton (EF) é considerado uma tecnologia bastante promissora e que promove a oxidação de compostos orgânicos, podendo alcançar a mineralização do contaminante, gerando radicais $\cdot\text{OH}$ continuamente na solução aquosa por meio de reagente de Fenton gerado eletroquimicamente, conforme eq. (1). Estes radicais gerados no sistema reagem vigorosamente com os contaminantes orgânicos produzindo gás carbônico (CO_2), moléculas de água (H_2O) e demais produtos finais inorgânicos [22]. A referida geração de peróxido é obtida pela redução eletroquímica de oxigênio (O_2) no cátodo, de acordo com eq. (2). Enquanto,

simultaneamente, os íons Fe^{3+} são reduzidos, regenerando-se os íons Fe^{2+} no cátodo, conforme eq. (3). A espécie Fe^{2+} é o catalisador do processo em meio ácido [16].



O processo EF pode ser classificado em quatro tipos diferentes, dependendo da adição e formação do reagente de Fenton, que são: (i) EF catódico (EF – H_2O_2), em que os íons Fe^{2+} são adicionados externamente no sistema e o peróxido de hidrogênio é, ao mesmo tempo, formado na superfície do cátodo pela redução eletroquímica do O_2 , o que reduz o risco de transporte, manipulação e armazenamento de H_2O_2 ; (ii) EF com regeneração de Fe^{2+} (EF-Fe-re), neste processo, os íons Fe^{2+} e o H_2O_2 são adicionados externamente na célula eletrolítica e simultaneamente os íons Fe^{2+} são regenerados através da redução dos íons Fe^{3+} no cátodo; (iii) Processo EF catódico com regeneração de Fe^{2+} (EF- H_2O_2 -Fe-re), que é uma combinação dos dois últimos processos relatados e (iv) EF com ânodo de sacrifício (EF-Fe-ox), em que o H_2O_2 é adicionado externamente e o Fe^{2+} é eletrogerado através do ânodo de sacrifício [23–26].

Uma tecnologia mais recente da oxidação Fenton é o bioeletro-Fenton (BEF). O BEF é o acoplamento de um sistema bioeletroquímico com o processo eletro-Fenton, que tem sido aplicado como uma tecnologia promissora para a degradação de diversos contaminantes emergentes, incluindo corantes, produtos farmacêuticos, produtos de cuidados pessoais e estrogênios [27]. Em uma configuração do processo BEF, uma célula combustível microbiana (CCM) alimenta o processo eletro-Fenton (EF). A CCM utiliza a matéria orgânica presente no efluente como substrato para gerar corrente elétrica e prótons (H^+). Os prótons são então utilizados na redução eletroquímica do oxigênio (O_2) para a produção do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) no compartimento catódico, que

reagem com os íons ferro(II) em solução gerando os radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$) que são capazes de oxidar os contaminantes emergentes [28].

Compreende-se, portanto, que o BEF é um processo que deve ser melhor investigado devido a sua capacidade de degradação de contaminantes orgânicos emergentes a um custo reduzido [27]. Dessa forma, para a ampliação do conhecimento sobre o potencial do processo bioeletro-Fenton (BEF) na degradação do glifosato, faz-se necessário investigar os mecanismos de biodegradação relatados na literatura e as fontes de isolamento dos microrganismos empregados na célula combustível microbiana para a melhor compreensão do acoplamento dos processos, desenvolvimento de materiais e otimização do processo.

1.2 Biodegradação do glifosato

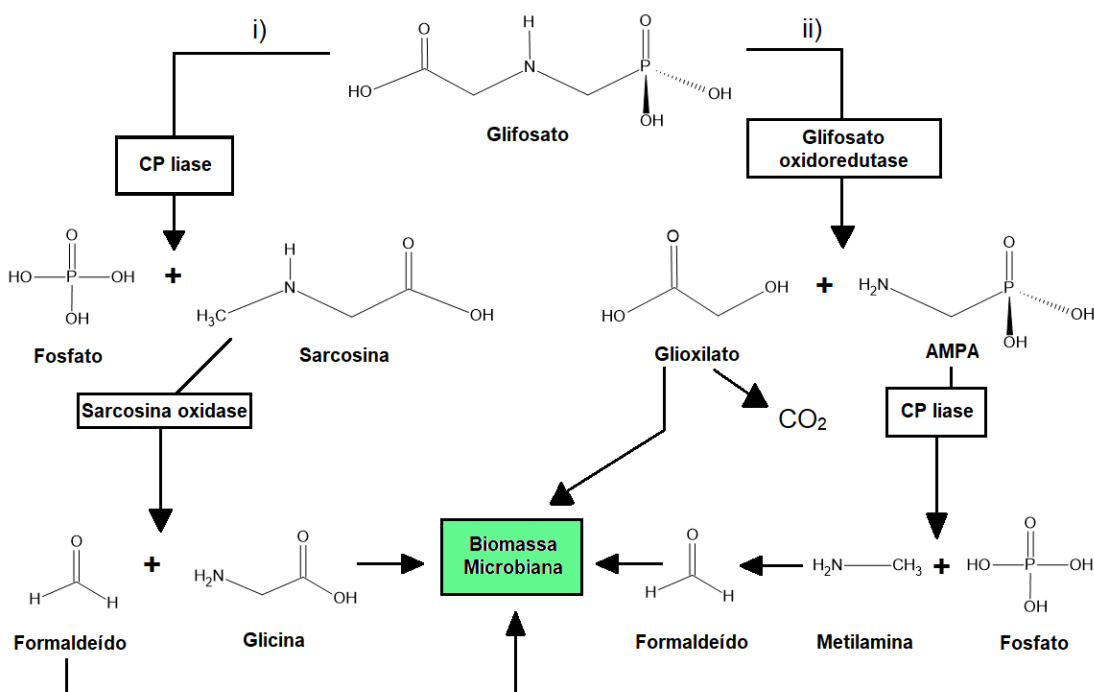
A biodegradação do glifosato é um processo complexo que envolve o uso de microrganismos e de enzimas degradadoras de glifosato, a exemplo da glifosato oxidoredutase e da carbono-fósforo liase, capazes de quebrar a molécula do herbicida em moléculas menores [29]. Esses processos de degradação utilizando microrganismos têm sido relatados como uma proposta segura, de baixo custo e confiável para a remediação de glifosato em água [30].

Alguns estudos abordaram a degradação de glifosato por diferentes microrganismos, como bactérias e fungos. No entanto, as bactérias são os microrganismos mais relatados [31,32]. A degradação bacteriana do glifosato ocorre por diferentes espécies de bactérias, formando espécies que são utilizados como fonte de carbono, nitrogênio e fósforo por estes microrganismos e que são elementos importantes para o seu desenvolvimento [33].

As bactérias podem degradar o glifosato através de duas vias metabólicas: i) via da enzima carbono-fósforo liase (CP liase ou via da sarcosina) e a ii) via da enzima glifosato oxidoredutase (ou via do AMPA) [34]. A via da enzima CP liase envolve a clivagem da ligação carbono-fósforo (CP) da molécula

de glifosato pela enzima CP liase, liberando fósforo inorgânico e sarcosina [35]. A degradação pela via da enzima glifosato oxidoreductase envolve a clivagem da ligação carbono-nitrogênio (CN) da molécula de glifosato pela enzima glifosato oxidoreductase, que libera o ácido aminometilfosfônico (AMPA) e o glioxilato. Posteriormente, o glioxilato é metabolizado e convertido em glicina, ou biomassa microbiana e dióxido de carbono através do ciclo do glioxilato [36]. Por outro lado, o AMPA pode ser degradado pela enzima CP liase, resultando na liberação de fósforo inorgânico e metilamina. A metilamina é posteriormente degradada em formaldeído e incorporada à biomassa microbiana [35]. Na Figura 1 são apresentadas as vias de biodegradação do glifosato no ambiente.

Figura 1: Vias de degradação do glifosato no ambiente.



Fonte: Adaptado de Rossi et al. [37]. Elaborado com ACD/ChemSketch

Cada vez mais pesquisas têm contribuído para melhorar a elucidação das vias de biodegradação e identificação de outras espécies de bactérias potencialmente degradadoras de glifosato. É o caso do estudo de Grube,

Kalnenieks e Muter (2019), que relataram um crescimento positivo das bactérias da espécie *Serratia sp.* sob a influência de diferentes combinações de concentrações de herbicidas à base de glifosato, permitindo que os autores concluíssem que essa espécie exibe o potencial de degradação de formulações à base de glifosato [38]. Além disso, outras pesquisas também evidenciaram a utilização de bactéria *Serratia sp.* como promissora para o tratamento de poluentes orgânicos em águas residuárias [39].

A pesquisa em biorremediação tem se concentrado amplamente em processos bacterianos, que têm inúmeras aplicações [40,41]. Entre as principais tecnologias, os consórcios microbianos e as células de combustível microbianas (CCMs e biorreatores) são dois novos desenvolvimentos em biorremediação que estão sendo usados para degradar compostos orgânicos recalcitrantes [42].

Estratégias de biorremediação de poluentes orgânicos empregando consórcios microbianos podem ser vantajosas em comparação com a utilização de um único microrganismo. Isso ocorre porque diferentes espécies microbianas trabalham em cooperação para aproveitar todos os substratos disponíveis, conferindo ao consórcio multifuncionalidade e maior resistência [43]. No entanto, é importante ter cautela ao aplicar consórcios microbianos em biorremediação, pois existem diversos fatores ambientais que podem influenciar o seu desempenho, como pH, temperatura, umidade e concentração inicial do poluente; interações microbianas como efeitos sinérgicos e antagônicos, cepas iguais ou diferentes em uma mesma cultura, e composição do consórcio (livre ou imobilizado) também são considerações relevantes [44].

Nesse sentido, um dos benefícios da aplicação de uma única espécie de microrganismo em processos de biorremediação é a possibilidade de selecionar o organismo mais adequado para degradar um determinado contaminante, o que pode otimizar a eficiência e a velocidade da remoção [45]. Além disso, o uso de uma única espécie facilita o monitoramento e o controle das condições ambientais necessárias para o crescimento e a atividade do microrganismo, bem como a avaliação dos possíveis impactos ecológicos da introdução de um novo agente biológico no ambiente [45].

Apesar do tratamento biológico ser conhecido como um método eficiente e ecologicamente correto para remover poluentes orgânicos do ambiente aquoso, um processo geralmente não é eficiente o suficiente para atingir altas taxas de degradação [29]. Nesse sentido, a combinação de tratamentos biológicos com outros processos pode melhorar, por exemplo, a eficiência de degradação do glifosato e seus metabólitos [29]. Recentemente, dentre diferentes processos, a combinação de Processos Oxidativos Avançados (POAs) e tratamento biológico, como o processo BEF, tem se tornado um método promissor para o tratamento de água residuária contaminada por poluentes orgânicos.

Da mesma forma que se torna importante o conhecimento sobre a potencialidade de novas tecnologias de tratamento de água residuária contaminadas com glifosato e de espécies de bactérias degradadoras desse pesticida, também é fundamental investigar novas fontes de isolamento desses microrganismos para a ampliação do conhecimento sobre seus metabolismos e como as características físico-químicas desses locais influenciam a biodegradação em áreas contraminadas, contribuindo para a avaliação do acoplamento dos processos eletro-Fenton com células combustíveis microbianas.

1.3 Turfa

O solo representa uma importante fonte global de diversidade de microrganismos, em que a turfa é um dos tipos de solo com um potencial promissor para a prospecção de microrganismos. A turfa é um sedimento orgânico formado por processos contínuos e complexos de decomposição da matéria vegetal em ambientes ácidos, úmidos e de baixa oxigenação, resultante da atividade de oxidação microbiana [46,47].

As turfeiras desempenham um papel importante na provisão de serviços para o ecossistema terrestre, com destaque para sua contribuição no sequestro de carbono, o que as torna de grande valor e importância ambiental [48]. No

Brasil, estima-se que a área ocupada por turfeiras corresponda a aproximadamente 24000 km² [49], sendo encontradas em regiões alagadiças, como várzeas de rios, planícies costeiras e regiões lacustres [50–52].

A degradação da matéria orgânica da turfa, processo conhecido como humificação, está relacionada às suas propriedades físicas, químicas e biológicas. Trata-se de um processo complexo que envolve múltiplas variáveis ambientais e reações de síntese, que dependem das condições geográficas e das características climáticas específicas [53].

A formação de turfeiras tropicais difere daquelas formadas em regiões boreais e temperadas devido às características climáticas particulares e aos diferentes tipos de vegetação. Nas turfeiras boreais e temperadas, localizadas em climas mais frios, a turfa é principalmente gerada por *Sphagnummusgo* e é coberta por vegetação herbácea. Por outro lado, as propriedades físicas e químicas de turfas tropicais são resultados de diversos fatores, incluindo conteúdo vegetal, atividade microbiana e grau de decomposição [54,55]. Apesar dessas diferenças, existem substâncias intrínsecas à composição das turfas, como a lignina, a celulose e as substâncias húmicas [56].

Além da composição química, as turfeiras são reconhecidas por serem uma rica fonte de diversidade microbiana, abrigando espécies microbianas com ampla atividade metabólica e que podem ser exploradas em aplicações biotecnológicas. Por exemplo, em um estudo conduzido por Garcia et al. (2019), uma cepa bacteriana denominada *Serratia sp.* AC-11 foi isolada da turfa tropical localizada em Santo Amaro das Brotas, no Estado de Sergipe, Brasil (36°58'52.93"W, 10°49'3.63"S). Essa cepa foi utilizada na biodegradação do fluoranteno, resultando em uma taxa de degradação de 56% desse composto em 24 h, evidenciando o potencial dos microrganismos presentes na turfa para a biodegradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) [57].

Consequentemente, o resultado obtido no estudo de Garcia et al. (2019) abre caminho para futuras investigações sobre o potencial de utilização da bactéria *Serratia sp.* em aplicações biotecnológicas. Além disso, o estudo também permite uma maior compreensão das características físico-químicas específicas do local de isolamento, o que influencia o metabolismo dos

microrganismos presentes na turfa tropical durante os processos de biodegradação.

1.3.1 Turfeira de Santo Amaro das Brotas

No estado de Sergipe, Brasil, existem 21 áreas de turfeiras distribuídas em quase todo território estadual, com uma estimativa de produção de 774 mil toneladas de turfa em base seca [47,58]. A turfeira localizada no município de Santo Amaro das Brotas, em Sergipe, tem sido alvo de investigação em relação à sua composição química, capacidade de adsorção de compostos orgânicos e inorgânicos, bem como sua capacidade de degradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) [57,59–61].

A turfeira de Santo Amaro das Brotas está localizada em uma região lagunar com planícies costeiras, sendo assim classificada como uma turfeira parállica. Essa turfeira possui uma vegetação característica composta por pteridófitas, briófitas (*Sphagnum*) e ciperáceas, sendo que as ciperáceas predominam no estrato herbáceo de cobertura [56]. O solo apresenta uma coloração que varia de castanho-escuro a preto, típico de um solo rico em matéria orgânica, e está constantemente alagado [62].

As características microscópicas e espectroscópicas da turfa de Santo Amaro das Brotas foram elucidadas no estudo de Romão et al. (2007) [59]. Posteriormente, outros estudos investigaram a aplicação dessa turfa como material adsorvente para pesticidas [63,64], trihalometanos [60] e crômio [52,65]. Mais recentemente, estudos de biodegradação do fluoranteno foram desenvolvidos utilizando microrganismos isolados dessa turfeira, e também foi realizada a caracterização físico-química do solo [47,57].

Dessa forma, esses estudos comprovam a versatilidade da aplicação da turfa de Santo Amaro das Brotas na remediação de poluentes orgânicos e inorgânicos. Além disso, eles evidenciam o potencial de aplicação de sua microbiota em processos biotecnológicos, incentivando ainda mais a realização

de estudos adicionais na perspectiva de biodegradação e biorremediação ambiental.

1.4 Acoplamento de processos para degradação do glifosato

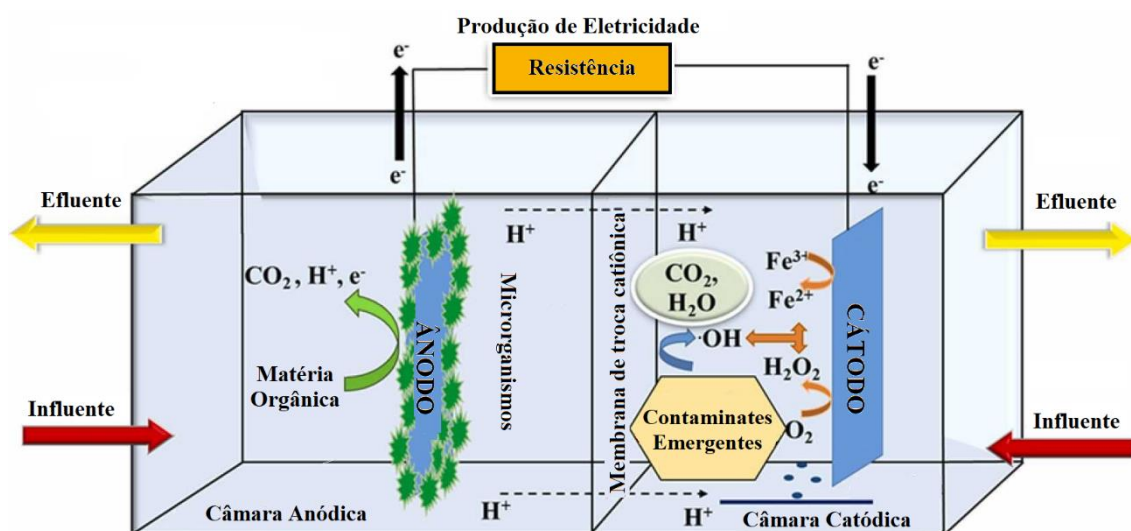
Com base nos estudos mencionados na seção 1.1, os Processos Oxidativos Avançados Eletroquímicos (POAEs) destacam-se no tratamento de um grupo considerável de poluentes orgânicos [66]. No entanto, quando se trata de uma aplicação prática desses processos, surgem desafios na implementação relacionados ao custo do material, como o eletrodo de diamante dopado com boro ou platina, e aos custos operacionais, como o consumo de energia elétrica. Esses custos, em sua maioria, são elevados e dispendiosos, o que resulta em gastos para a aplicação do processo.

Nesse contexto, propõe-se o acoplamento do processo eletro-Fenton com processos bioeletroquímicos, como a célula combustível microbiana (CCM) como uma alternativa promissora que tem despertado o interesse de diversos pesquisadores, os quais apontam vantagens dessa combinação em comparação aos métodos tradicionais [22,67,68]. O acoplamento dessas técnicas é denominado de bioeletro-Fenton (BEF), sendo considerado uma tecnologia com potencial para tratamento de águas residuais [66].

O processo BEF utiliza elétrons gerados a partir do metabolismo microbiano em uma CCM para alimentar o processo EF [69]. No sistema BEF, os microrganismos oxidam o substrato orgânico na câmara anódica, enquanto os elétrons gerados migram para a câmara catódica para a produção *in situ* de H_2O_2 por meio da redução eletroquímica de O_2 nesse compartimento [70]. Em seguida, o peróxido formado reage com os íons Fe^{2+} provenientes de uma fonte, como o sulfato de ferro(II), gerando radicais hidroxila *in situ*. Esse processo facilita a degradação eficiente de contaminantes orgânicos complexos no cátodo, enquanto simultaneamente regenera os íons Fe^{2+} nesse eletrodo [22,71].

Nos sistemas BEF, para obter um alto desempenho de degradação de contaminantes, torna-se necessária uma alta produção de H_2O_2 [70]. Esse aumento pode ser significativo ao selecionar o material apropriado e o potencial catódico aplicado ao sistema [72]. Além disso, as CCMs de câmara dupla são a configuração mais comuns em sistemas BEF, pois permitem a separação dos compartimentos anódico e catódico por meio de uma membrana de troca iônica. Essa separação evita a interferência do oxigênio na reação anódica e melhora o desempenho da célula [73]. A Figura 2 ilustra o esquema típico de uma célula combustível microbiana empregada em um sistema BEF.

Figura 2: Esquema típico de um sistema BEF.



Fonte: Adaptado de Priyadarshini, Ahmad e Ghangrekar [22]

Os sistemas bioeletroquímicos utilizados na degradação de poluentes orgânicos representam métodos alternativos e promissores para superar as limitações da aplicação do processo eletro-Fenton tradicional em aplicações de tratamento de águas residuais em escala industrial [74]. O processo Bioeletro-Fenton apresenta a vantagem de reduzir significativamente o consumo de energia e o custo do catalisador, uma vez que utiliza elétrons gerados por

bactérias que degradam resíduos orgânicos no ânodo para produzir H_2O_2 no cátodo. Além disso, esse processo tem a capacidade de eliminar tanto compostos orgânicos biodegradáveis da câmara anódica quanto contaminantes biorrefratários da câmara catódica [75].

Os processos BEF não apenas geram bioeletricidade e recuperam produtos de valor agregado a partir do tratamento de águas residuárias, mas também possuem a capacidade de degradar contaminantes emergentes. Além disso, eles podem ser utilizados como biossensores para detectar diversos tipos de poluentes orgânicos, monitorando o mecanismo de transferência de elétrons entre os microrganismos eletroativos e o ânodo [76]. Ainda, é relatado na literatura que poucos pesquisadores conseguiram auto-operar essas tecnologias por meio da energia captada pelas tecnologias eletroquímicas microbianas (TEMs) como o BEF, demonstrando assim a sustentabilidade dessas tecnologias [77].

Uma ampla variedade de substâncias orgânicas pode ser decomposta em CCMs, permitindo o tratamento e a recuperação de recursos [78]. Tecnologias de eletroconversão, como sistemas eletro-Fenton e oxidação anódica, também se destacam por degradar poluentes orgânicos com altas taxas e eficiência, incluindo os mais recalcitrantes [79–81]. O acoplamento dessas tecnologias em sistemas bioeletroquímicas poderia torná-las mais sustentáveis e economicamente eficientes [82]. No entanto, como a tecnologia BEF é recente, mais estudos são necessários para avaliar sua aplicação em relação a contaminantes emergentes, como os poluentes organofosforados, a exemplo do glifosato.

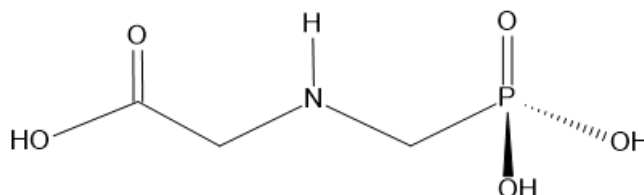
No que diz respeito aos microrganismos utilizados nos processos BEF, as bactérias eletroativas mais estudadas são *Geobacter* e *Shewanella spp.* [83]. No entanto, existem outras bactérias que também podem desempenhar esse papel, como as do gênero *Serratia*, encontradas em diversos ambientes e com potencial em aplicações biotecnológicas. Alguns estudos relatam a capacidade desse gênero como potenciais degradadoras de poluentes orgânicos, como o glifosato [84,85]. Portanto, é necessário realizar mais estudos que utilizem bactérias da espécie *Serratia sp.* nesses processos, uma vez que elas podem

apresentar vantagens como maior tolerância a condições adversas, maior diversidade metabólica e maior capacidade de colonização no material do bioânodo das CCMS.

1.5 Propriedades físico-químicas do glifosato e do AMPA e seus comportamentos no ambiente

O herbicida glifosato (fórmula molecular $C_3H_8NO_5P$, massa molar $169,05 \text{ g mol}^{-1}$) possui estrutura química relativamente pequena e polar [86]. Conforme apresentado na Figura 3, sua estrutura molecular é única quando comparado a outros herbicidas, pois apresenta cadeia carbônica linear com uma ligação carbono-nitrogênio mais fraca, enquanto 95% das substâncias da mesma classificação possuem estrutura de anel aromático [87].

Figura 3: Representação estrutural da molécula do glifosato.



Fonte: Autoria própria. Elaborado com ACD/ChemSketch

O glifosato é um ácido poliprótico ($pK_{a1} = 2,32$, $pK_{a2} = 5,86$ e $pK_{a3} = 10,86$) formado por três grupos funcionais polares: amino, ácido carboxílico e fosfonato [88]. É solúvel em água ($11,6 \text{ g L}^{-1}$ a 20°C) [89], porém é insolúvel em solventes orgânicos como etanol, acetona, benzeno e outros [90,91].

A mobilidade do glifosato no ambiente é considerada baixa [92]. Todavia, a baixa mobilidade é dependente das condições climáticas e geográficas do local onde ocorre sua aplicação [93]. Alguns experimentos de campo sugerem que a meia-vida do glifosato varia de alguns dias a um ano em alguns casos,

persistindo durante o inverno em um clima mais frio onde o solo é congelado sazonalmente [94,95].

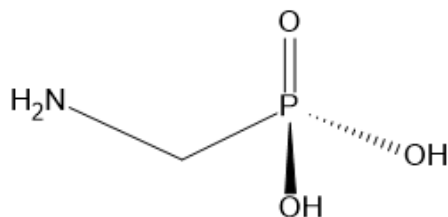
Estudos realizados em Alberta, Canadá, revelaram que aplicações de glifosato em condições de tempo seco resultam em alta deposição atmosférica provocados pela sorção em partículas de poeira, que se depositam principalmente no solo (até $1,67 \text{ g g}^{-1}$ de capacidade de sorção) e águas superficiais (até $6,08 \text{ g L}^{-1}$). Em clima úmido, a redução da deposição atmosférica gera menor presença no solo (até $0,75 \text{ g g}^{-1}$ de capacidade de sorção) e na água ($<0,2 \text{ g L}^{-1}$) [96].

As atividades agrícolas, assim como as mudanças na cobertura do solo decorrentes dessas atividades, podem favorecer a contaminação de corpos d'água como resultado do escoamento de resíduos de agrotóxicos aplicados às culturas, que atingem os sistemas aquáticos através de processos como derramamento, escoamento superficial e/ou lixiviação desses contaminantes para o ambiente [97,98].

Um exemplo de contaminação de ambientes aquáticos ligado ao uso de agrotóxicos, especificamente por glifosato, em regiões com intensa atividade agrícola foi investigado por Pires et al. (2020), que estudou amostras de água coletadas na região do planalto de Santarém, oeste do estado do Pará, Brasil. Nesse estudo, foram coletadas e analisadas um total de 28 amostras de água subterrânea e superficial, detectando-se a presença de glifosato em 11 amostras com concentrações entre $1,5$ e $9,7 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ [97].

O ácido aminometilfosfônico (AMPA), principal metabólito do glifosato, possui características semelhantes ao seu precursor. É um composto polar, não volátil e altamente solúvel em água (50 g L^{-1} , $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$) [99]. Na Figura 4 é apresentada a estrutura molecular do AMPA.

Figura 4: Representação estrutural da molécula do AMPA.



Fonte: Autoria própria. Elaborado com ACD/ChemSketch

O AMPA (fórmula molecular $\text{CH}_6\text{NO}_3\text{P}$, massa molar $111,03 \text{ g mol}^{-1}$) é um ácido orgânico fraco com um grupo fosfonato em sua estrutura [100,101]. Seu coeficiente de sorção (K_{oc}) é de aproximadamente $9,75 \text{ L kg}^{-1}$ [102]. Ambas as moléculas, GLI e AMPA, são *zwitterions* e são encontradas carregadas negativamente em pH superior a 6 [103].

1.6 Determinação de resíduos de glifosato e ácido aminometilfosfônico em águas superficiais

A ampla utilização de glifosato tem motivado a realização de estudos com foco no desenvolvimento de técnicas de determinação desse herbicida e do AMPA, seu principal produto de degradação, em matrizes ambientais como solo e água [104–106]. No entanto, pesquisas recentes apontam dificuldades analíticas como empecilhos na definição de estratégias eficazes para melhor compreender a exposição alimentar humana a esses compostos, sua destinação ambiental e seus impactos nos ecossistemas [107].

A determinação dos resíduos de glifosato e AMPA em baixas concentrações ($\mu\text{g L}^{-1}$, por exemplo) é um desafio tendo em vista o seu forte caráter iônico ($\log P_{\text{GLI}} = -3,2$; $\log P_{\text{AMPA}} = -1,6$), alta solubilidade em água (GLI: $11,6 \text{ g L}^{-1}$ e AMPA: 50 g L^{-1} a 20°C), baixa massa molar (GLI: $169,01 \text{ g mol}^{-1}$;

AMPA: $111,03 \text{ g mol}^{-1}$) [108] e baixa volatilidade (pontos de ebulição: $465,8 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e $358,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ para GLI e AMPA, respectivamente) [109,110].

A Organização Mundial da Saúde (OMS) aponta que GLI e AMPA possuem níveis toxicológicos semelhantes, sendo ambas as espécies consideradas de baixa toxicidade. Estudos na área da saúde estabeleceram valores de $0,9 \text{ mg L}^{-1}$ como dose diária aceitável para AMPA sozinho ou quando combinado com o glifosato de $0-0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ de massa corporal por dia. No entanto, a OMS também afirmou que estabelecer um valor seguro de concentração destes compostos em água para consumo humano é uma tarefa desafiadora [111].

Nesse sentido, agências reguladoras estabeleceram valores máximos permitidos em concentração do glifosato na água potável. Nos Estados Unidos, o nível máximo para GLI é de $700 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ [112]. Na União Europeia, foi estabelecido um valor paramétrico para a concentração total máxima permitida pela legislação de $0,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e de $0,1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ no caso da concentração individual de pesticidas [113]. Por fim, no Brasil a legislação estabelece que a soma das concentrações de glifosato e AMPA não pode exceder $65 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ [114].

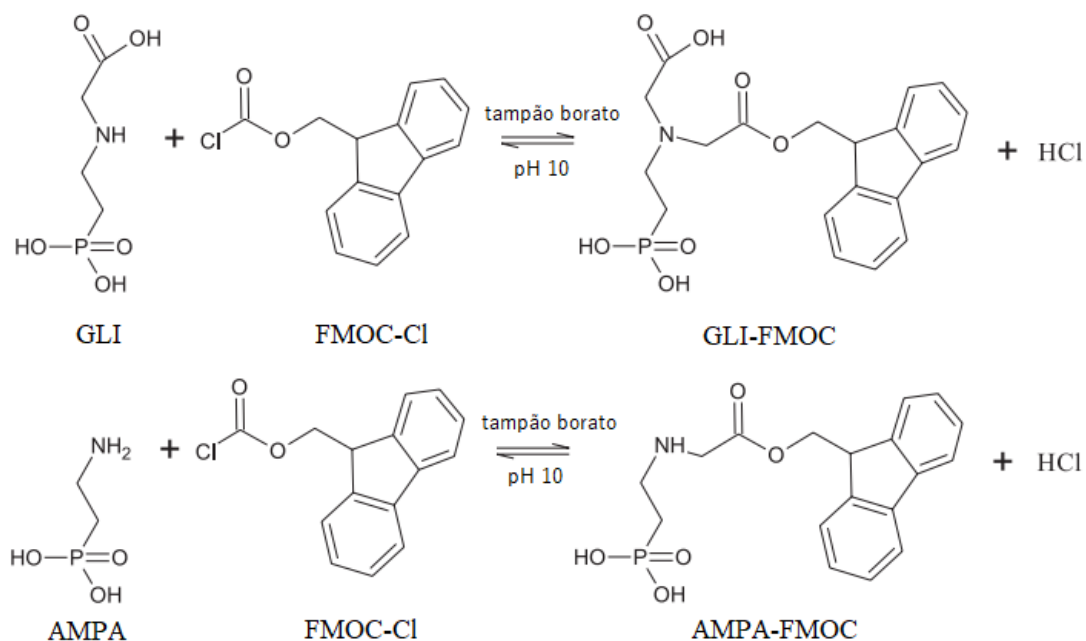
Para a determinação de glifosato e AMPA em meio aquoso, as técnicas cromatográficas são as mais utilizadas, a exemplo da cromatografia gasosa (CG) e da cromatografia líquida (CL) [115].

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é adequada para a análise de compostos organofosforados que são fortemente polares e/ou difíceis de volatilizar. Além disso, o instrumento moderno de CLAE é equipado com detectores bastante sensíveis, a exemplo do detector espectrofotométrico com arranjo de diodos (DAD), permitindo a análise completa de amostras em microlitros [116]. Vale destacar que, normalmente, a literatura aborda a necessidade da etapa de derivatização desses compostos em análises por CL devido à ausência de grupos cromóforos [117].

Para tanto, o cloroformiato de 9-fluorenilmetila (FMOC-Cl) é um dos principais agentes derivatizantes empregados para formação de derivados fluorescentes, o que contribui para uma melhor detecção e/ou para reduzir o caráter polar dos analitos organofosforados, facilitando a retenção

cromatográfica [118]. A Figura 5 mostra o esquema da reação de derivatização de GLI e AMPA com FMOC-Cl.

Figura 5: Esquema da reação de derivatização de GLI e AMPA com FMOC-Cl.



Fonte: Adaptado de Catrinck et al. [119]

1.7 Contaminação e impactos do glifosato

O glifosato, devido ao seu uso generalizado na agricultura, tem sido detectado em matrizes ambientais, como solos e corpos d'água. Como consequência, tem sido observado que além das plantas daninhas, espécies não-alvo que são expostas ao glifosato sofrem com os impactos diretos devido à presença desse composto no ambiente [120].

1.7.1 Contaminação de água por glifosato

No ambiente aquático, devido à atividade da microbiota, o glifosato é rapidamente convertido em seu metabólito primário, o AMPA, que possui a maioria das propriedades prejudiciais do composto precursor [121]. Além disso, o AMPA é mais persistente, com período de meia-vida variando de 76 a 240 dias [122]. Tendo em vista que a aplicação de glifosato em campos de cultivo ocorre principalmente pela pulverização de suas formulações, uma porcentagem significativa do herbicida pode ser encontrada em amostras aquosas, principalmente devido ao escoamento superficial, incluindo as águas subterrâneas [123].

Diferentes concentrações residuais de glifosato foram encontradas em águas superficiais e subterrâneas, sendo este último uma fonte essencial de abastecimento de água potável [121]. Além disso, vários relatórios sugerem que o abastecimento de água em áreas com intensa atividade agrícola são potenciais focos de contaminação pelo herbicida [124].

No Brasil, estudos como de Fernandes et al. (2019) comprovaram a presença de glifosato e seu metabólito AMPA em biofilmes epilíticos, que consistem em uma comunidade microbiológica, em uma bacia hidrográfica no sul do país, variando de acordo com a estação e as condições climáticas [125]. Em outro estudo, Moreira et al. (2012) relatam a detecção de glifosato em águas pluviais de uma região do Estado do Mato Grosso, que corrobora a hipótese de que também ocorre contaminação atmosférica em várias regiões agrícolas do Brasil [126,127].

1.7.2 Impactos do glifosato na saúde humana

Os impactos do glifosato na saúde humana dependem da concentração, duração e da frequência da exposição ao herbicida [121]. Estudos têm demonstrado a presença de glifosato na urina, no sangue e no leite materno

humano [128]. Além disso, pesquisas recentes em animais têm relacionado o glifosato e/ou suas formulações a propriedades de desregulação endócrina [129–131]. Também foi relatada insuficiência hepática devido à exposição ao herbicida [132].

Apesar da toxicidade aguda do glifosato ser baixa para os mamíferos, estudos revelaram que produtos contendo formulações com o ingrediente ativo são mais prejudiciais que o glifosato isolado, gerando preocupações sobre seu real impacto nos seres humanos, especificamente em relação a sua contribuição no surgimento de câncer e transtornos mentais [133]. Além disso, vários experimentos estabeleceram uma possível correlação entre os efeitos das formulações do herbicida glifosato e o câncer [134]. A Agência Internacional de Pesquisas sobre o Câncer (IARC, do inglês *International Agency for Research on Cancer*) classificou o glifosato como “provavelmente cancerígeno” em seres humanos após mais de 40 anos de uso generalizado [135].

Apesar dos avanços nas pesquisas, ainda existe uma falta de resposta definitiva entre as agências reguladoras sobre os efeitos tóxicos do glifosato e aos riscos da contaminação pelas formulações do herbicida aos quais a população está exposta. Como exemplo, faltam informações para elucidar os efeitos ecotóxicos do AMPA, que é o metabólito mais persistente e recalcitrante do glifosato [128]. Logo, torna-se importante realizar mais estudos para compreender as propriedades do AMPA, avaliar sua toxicidade e investigar os riscos da contaminação por esse produto de transformação [121].

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o desempenho do acoplamento de processo eletro-Fenton (EF) com célula combustível microbiana (CCM) na degradação simultânea anódica e catódica do glifosato em meio aquoso.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o crescimento da bactéria *Serratia sp.* em meio suplementado com glifosato através da medição da densidade ótica (DO) com espectrofotômetro UV-Vis;
- Construir a CCM de câmara dupla para os ensaios de biodegradação/degradação utilizando bactérias da espécie *Serratia sp.*;
- Ajustar as condições experimentais/operacionais dos ensaios de biodegradação/degradação de glifosato (GLI) e ácido aminometilfosfônico (AMPA) na CCM, como pH, temperatura, concentração inicial de glifosato e dos eletrólitos, fluxo de ar e distância entre os eletrodos;
- Monitorar a tensão de saída da CCM através da utilização do sistema embarcado com placa de Arduino™ para a análise da capacidade de geração de bioeletricidade do sistema BEF;
- Ajustar as condições experimentais/operacionais das etapas de preparo de amostra para derivatização e análise cromatográfica de glifosato;
- Caracterizar os materiais feltro de carbono e nanocompósito polimérico utilizados na CCM por microscopia eletrônica de varredura com espectroscopia por energia dispersiva (MEV-EDS) e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR);
- Avaliar a (bio)degradação do glifosato e do ácido aminometilfosfônico em amostra de água coletada em campo nas melhores condições previamente definidas;
- Identificar os subprodutos da (bio)degradação por cromatografia de íons.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e padrões analíticos

Os padrões analíticos glifosato (98,0% de pureza) e ácido aminometilfosfônico (99,0% de pureza) foram adquiridos da Sigma Aldrich®. Soluções padrão de glifosato e do ácido aminometilfosfônico foram preparadas em água ultrapura produzida por sistema de purificação Millipore Direct-Q® 3 UV.

Para o preparo das soluções tampão foram utilizados o tetraborato de sódio decahidratado ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$) (99,5% de pureza, Neon®), fosfato de sódio monobásico monohidratado ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (98,0% de pureza, Synth®), ácido orto-fosfórico (85% de pureza, Neon®) e hidróxido de sódio (98,9% de pureza Neon®).

O reagente de derivatização cloroformiato de 9-fluorenilmetila (FMOC-Cl) (97,0% de pureza) foi adquirido da Sigma Aldrich®, e as soluções padrão foram preparadas em acetonitrila (99,9 % de pureza, Merck®). Acetato de etila (99,5% de pureza, Supelco®) foi utilizado como solvente extrator após reação de derivatização.

3.2 Determinação do glifosato e do ácido aminometilfosfônico

3.2.1 Derivatização do glifosato e do ácido aminometilfosfônico

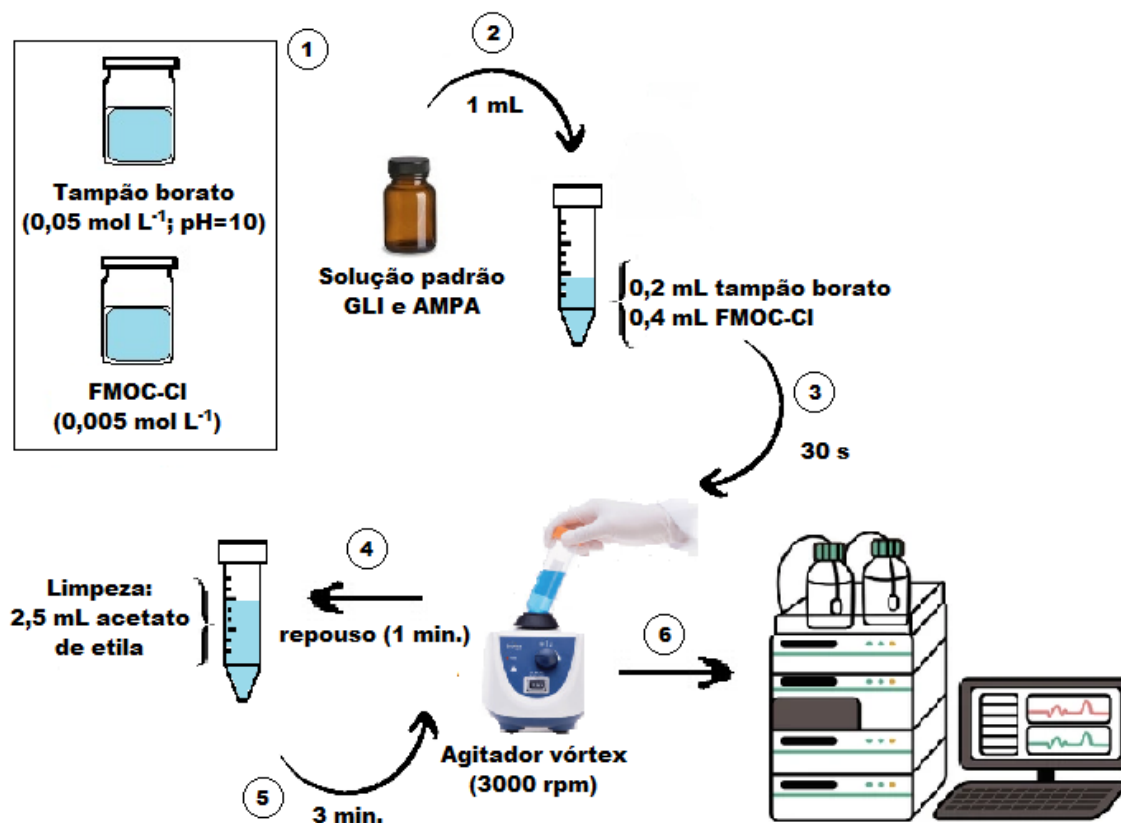
A reação de derivatização dos analitos seguiu a metodologia adotada por Olivo et al. (2015) [136], com algumas modificações: uso da quantidade de 0,4 mL de FMOC-Cl ($0,005 \text{ mol L}^{-1}$), o solvente extrator utilizado foi acetato de etila na quantidade de 2,5 mL e agitação do sistema reacional por 30 s em agitador vórtex (3000 rpm).

Inicialmente, foram preparados 100 mL da solução tampão borato pH 10, e em concentração de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, foram preparados 50,0 mL da

solução aquosa $0,005 \text{ mol L}^{-1}$ de cloroformiato de 9-fluorenilmetila (FMOC-Cl) (1).

Uma alíquota de 1,0 mL da solução padrão aquosa de glifosato e ácido aminometilfosfônico nas concentrações utilizadas para a obtenção da curva foi adicionada em tubos tipo Falcon (2). Em seguida, 0,2 mL do tampão borato ($0,0500 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 10) e 0,4 mL da solução do derivatizante FMOC-Cl ($0,005 \text{ mol L}^{-1}$ preparado em acetonitrila) foram adicionados aos tubos e o sistema foi submetido a agitação por 30 s, em agitador vórtex (3000 rpm) (3). Após agitação, as amostras foram deixadas em repouso por 1,0 min (4) e, em seguida, 2,5 mL de acetato de etila foram adicionados para a etapa de limpeza/extração do excesso de FMOC-Cl e submetido a agitação por 3,0 min (5). A fase aquosa foi recolhida e transferida para *vials* de vidro de 1,5 mL para ser analisada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD) (6). O esquema e as etapas da reação de derivatização dos analitos são apresentados nas Figuras 5 e 6, respectivamente.

Figura 6: Etapas da reação de derivatização pré-coluna dos analitos GLI e AMPA.



Fonte: Autoria Própria

O FMOC-Cl e o glifosato são compostos que sofrem alterações em seus grupos funcionais em pH básico. O FMOC-Cl é um derivatizante que reage com grupos amina primários e secundários, formando derivados fluorescentes que podem ser detectados por cromatografia líquida. No entanto, em pH básico, o FMOC-Cl também reage com a água, formando o produto FMOC-OH, que interfere na detecção dos derivados. Por isso, é necessário usar um excesso de FMOC-Cl e controlar o pH da solução para evitar a hidrólise do reagente [137]. O glifosato é um herbicida que contém um grupo fosfonato e um grupo carboxílico. Em pH básico, esses grupos se ionizam, formando ânions que aumentam a solubilidade do glifosato na água [138].

3.2.2 Condições cromatográficas de análise

As concentrações do glifosato e do ácido aminometilfosfônico derivatizados foram determinadas utilizando um cromatógrafo líquido modelo Prominence (LC-20AT) da marca Shimadzu (Quioto, Japão), composto por um sistema binário de bombeamento (LC-20AT HT), degaseificador (DGU-20A₃), forno para a coluna (CTO-20A), detector de arranjo de diodos (DAD) (SPD-M20A), módulo de comunicação (CBM-20A), sistema de injeção automática (SIL-20A HT), coluna cromatográfica C18 (Shim-Pack VP-ODS) com dimensões (250 mm x 4,6 mm, 5 µm, 100 Å), com coluna de guarda de mesma fase estacionária, e *software* de gerenciamento de dados *LC solution*.

A fase móvel usada foi uma mistura de acetonitrila e tampão ácido fosfórico (60:40 v/v) em pH 2,5. A vazão da fase móvel foi de 0,8 mL min⁻¹ em modo isocrático de eluição, temperatura do forno da coluna em 30 °C, volume de injeção das amostras de 20 µL e tempo total da corrida cromatográfica de 10 min. O comprimento de onda utilizado para a detecção dos analitos derivatizados foi de 265 nm, e a determinação foi realizada pelo método de padronização externa.

A utilização de uma fase móvel em pH ácido apresenta vantagens na detecção de glifosato e AMPA derivatizados com FMOC-Cl usando um sistema de cromatografia líquida com detector de arranjo de diodos e coluna

cromatográfica C18. Em primeiro lugar, um valor de pH ácido evita a hidrólise do FMOC-Cl, o que reduz o rendimento da derivatização e interfere na detecção dos derivados [139]. Em segundo lugar, a acidez favorece a ionização dos grupos carboxílicos dos derivados, aumentando sua retenção na coluna cromatográfica C18, que é uma fase estacionária hidrofóbica e seletiva para compostos apolares [140]. Em terceiro lugar, a acidez melhora a estabilidade dos derivados na fase móvel, evitando a sua decomposição e perda de fluorescência [141]. Por fim, a acidez aumenta a sensibilidade e a seletividade do detector de arranjo de diodos, permitindo a quantificação dos derivados em baixas concentrações e a confirmação da sua identidade por meio da análise dos espectros de absorção [139–141].

3.2.3 Preparo das curvas analíticas

As concentrações utilizadas para a construção das curvas analíticas foram de 1,00, 5,00, 10,0, 25,0, 35,0 e 50,0 mg L⁻¹ obtidas a partir da diluição das soluções estoque de 100,0 mg L⁻¹ dos padrões de GLI e de AMPA em água ultrapura. Após derivatização, as amostras foram analisadas em triplicata.

A partir da obtenção dos dados relativos às áreas dos picos cromatográficos, as curvas analíticas foram obtidas com o auxílio do *software OriginPro*® 2023 com licença estudantil fornecida pela empresa OriginLab®.

3.3 Experimentos de (bio)degradação utilizando solução aquosa sintética

3.3.1 Configuração da célula combustível microbiana (CCM)

A configuração básica da célula combustível microbiana (CCM) consistiu em uma modificação feita a partir de Priyadarshini et al. (2022) [22]. Deste modo, foi construída uma célula combustível microbiana de câmara dupla utilizando acrílico, no qual cada câmara apresentou um volume útil de 340 mL. Os eletrodos

utilizados foram de feltro de carbono, sendo que no ânodo, uma das superfícies do feltro teve como suporte uma tela de níquel-cromo. O cátodo utilizado foi um eletrodo de difusão de gás (EDG) de polipropileno, no qual o ar foi injetado na parte superior de sua estrutura através da utilização de um compressor de ar com fluxo de $1,0 \text{ L min}^{-1}$. Ademais, um resistor externo de $100 \, \Omega$ foi conectado entre os eletrodos por meio de fios de níquel-cromo.

Um par de eletrodos com área geométrica de $3,0 \text{ cm}^2$ e distância constante de $4,0 \text{ cm}$ foi utilizado [142]. Antes dos ensaios de biodegradação, os eletrodos foram submetidos a um tratamento com 200 mL de solução aquosa de H_2SO_4 em concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (volume da solução trabalho), conforme ilustrado na Figura 7. Para a ativação do eletrodo de difusão de gás (EDG) e remoção das impurezas da superfície anódica, foi aplicada uma densidade de corrente de $33,3 \text{ mA cm}^{-2}$ por meio de uma fonte de alimentação (W.E.P OS-305D) durante 180 min de tratamento.

Figura 7: Tratamento dos eletrodos previamente aos ensaios de (bio)degradação. Condições: 250 mL de solução aquosa de H_2SO_4 em concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, densidade de corrente de $33,3 \text{ mA cm}^{-2}$, $t = 180 \text{ min}$.



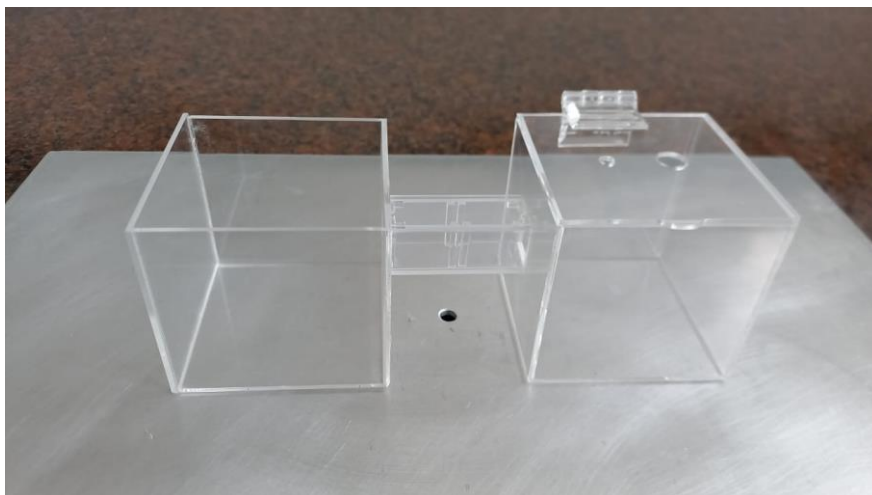
Fonte: Autoria própria

A separação das câmaras catódica e anódica foi realizada com o uso de uma nanocompósito polipropileno-argila modificada com 5% do líquido iônico

hexafluorofosfato de 1-butil-2,3-dimetilimidazolio (PP/Arg. 5% [BMMIM]PF₆) com função de troca catiônica. A mencionada membrana foi desenvolvida por pesquisadores do Grupo de Polímeros do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, sob a coordenação dos professores Dr. Caio Marcio Paranhos da Silva e Dr. Adhemar Collà Ruvolo Filho, e gentilmente cedida para aplicação em troca catiônica. A reação de síntese do líquido iônico está publicada [143]; as caracterizações e aplicações da membrana em questão ainda não foram publicados pelo grupo de pesquisa mencionado.

A configuração básica da CCM utilizada nos ensaios de biodegradação do glifosato é apresentada na Figura 8.

Figura 8: Configuração básica da CCM de câmara dupla utilizada nos ensaios de (bio)degradação do glifosato.



Fonte: Autoria Própria

3.3.2 Inoculação e cultivo da bactéria

Para o estudo de degradação do glifosato foi utilizada uma cultura de bactéria da espécie *Serratia sp.* (código de estocagem, AC-11).

A bactéria foi previamente isolada a partir da turfa, um solo orgânico coletado na turfeira localizada no município de Santo Amaro das Brotas, no estado de Sergipe, Brasil (36°58'52.93"W, 10°49'3.63"S), por Garcia (2016)

[144], no Laboratório de Estudos da Matéria Orgânica Natural (LEMON) do Departamento de Química (DQI) da Universidade Federal de Sergipe (UFS), sendo fornecida parte da cultura estocada para esta pesquisa.

O procedimento de inoculação da cultura selecionada foi realizado no Laboratório de Estudos da Matéria Orgânica Natural (LEMON), seguindo as recomendações de biossegurança do Laboratório de Microbiologia Aplicada (LMA) da Universidade Federal de Sergipe (UFS), coordenado pelo prof. Dr. Antônio Márcio Barbosa Júnior. Para isto, foi utilizada uma câmara de fluxo laminar (modelo FUH09, Veco®) e os materiais foram esterilizados em autoclave (modelo CS, Primatec®).

Inicialmente, foi preparado o meio de cultivo, uma solução cuja formulação continha 5 g de ágar, 2,5 g de peptona e 1,25 g de NaCl adicionados a um frasco Erlenmeyer de 500 mL, juntamente com 250 mL de água ultrapura. Posteriormente, 15 placas de Petri e o meio de cultivo foram autoclavados sob pressão de 1 atm, em temperatura de 121 °C, durante 15 min. Todo o material esterilizado foi levado à câmara de fluxo laminar e o meio foi distribuído em cada placa de Petri, sendo aguardado o resfriamento e a solidificação da solução para posterior inversão das placas, de forma que o meio ficasse para cima.

Posteriormente, a bactéria *Serratia sp.* foi inoculada por meio da técnica de esgotamento em placa em meio sólido, e as placas foram mantidas em incubação a uma temperatura de 28 °C por 48 h.

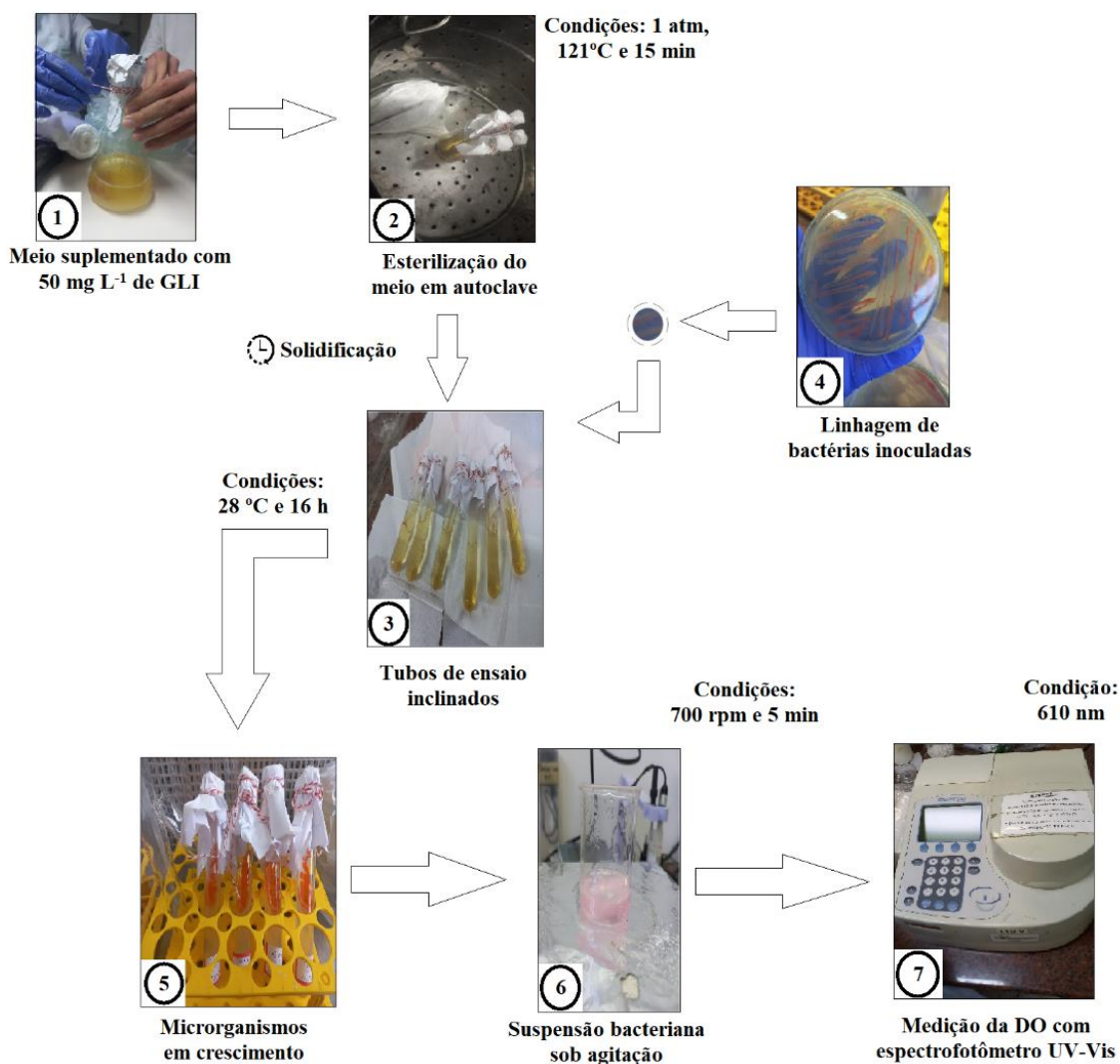
3.3.3 Aclimação ao meio suplementado e suspensão das culturas bacterianas

As etapas de aclimação e suspensão da linhagem bacteriana foram realizadas conforme a metodologia adotada por Garcia (2016) [144], com algumas modificações.

Após o período de crescimento da bactéria inoculada, procedeu-se a etapa de aclimação da cultura a um novo meio, que foi suplementado com uma solução aquosa comercial com uma concentração final de 50 mg L⁻¹ de glifosato produzida a partir de uma formulação à base do herbicida. A Figura 9 ilustra as

etapas de aclimação e suspensão bacteriana, bem como a medição da densidade ótica (DO).

Figura 9: Etapas realizadas para aclimação e suspensão da linhagem da *bactéria Serratia sp.* inoculada em meio suplementado com glifosato até a medição de sua densidade ótica, em 610 nm, com espectrofotômetro UV-Vis.



Fonte: Autoria Própria

O meio suplementado (1) foi preparado adicionando 3,8 g de ágar, 2,0 g de peptona, 1,0 g de NaCl e 0,6 g de caldo nutriente (NB) a um frasco Erlenmeyer de 500 mL e foi adicionado uma alíquota da solução comercial de glifosato perfazendo uma concentração final de 50 mg L⁻¹, completando-se o preparo do

meio com a adição de água ultrapura para um volume final de 200 mL. O procedimento de esterilização (2) do meio foi realizado conforme descrito na seção 3.3.2, exceto pela distribuição em tubos de ensaio inclinados (3). Em seguida, uma amostra da linhagem da *bactéria Serratia sp.* inoculada (4) foi transferida para o meio suplementado e incubada por 16 h a 28 °C nos tubos de ensaio.

Em seguida, foi conduzida a etapa de preparação da suspensão bacteriana, na qual uma amostra das células cultivadas (5) foi adicionada em 9 mL de uma solução salina estéril de NaCl 0,85% (v/v). A suspensão foi agitada com uma barra magnética a 700 rpm por 5 min (6) e, em seguida, transferida para tubos de ensaio. A leitura da medição da densidade ótica (DO) da suspensão (7) foi realizada a 610 nm usando um espectrofotômetro UV-Vis (modelo Genesis 10-S, Thermo Scientific®). Com base na curva do crescimento dos microrganismos ao meio suplementado, foi escolhida como cultura semeada para o sistema bioeletro-Fenton a suspensão das células bacterianas com maior densidade ótica (DO) no período avaliado.

3.3.4 Montagem do sistema de biodegradação/degradação

Todas as condições operacionais adotadas nesta fase experimental seguiram a metodologia utilizada por Zhao e Zhang (2021) [145].

Para o preparo da solução anódica (solução de crescimento bacteriano e eletrólito), o meio mineral M9 foi utilizado, sendo preparado conforme Hassan et al. (2016) [146], com adaptações.

O meio mineral M9 consiste em uma solução aquosa preparada utilizando-se 0,2% de uma solução de glicose 0,01 mol L⁻¹, 0,30 g de extrato de levedura e uma mistura de sais mineiras contendo 0,30 g de NH₄Cl, 0,90 g de KH₂PO₄, 1,80 g de Na₂HPO₄, 1,50 g de NaCl, 0,50 g de MgSO₄ e 0,03 g de CaCl₂. Os componentes foram adicionados a um frasco erlenmeyer de 500 mL e homogeneizados com 300 mL de água ultrapura. O pH da solução foi ajustado para 7,0 usando uma solução de NaOH (1,0 mol L⁻¹) e o meio foi esterilizado por

autoclavagem a 121 °C por 15 min. Após o resfriamento, a solução de glicose esterilizada (600 µL) foi adicionada ao meio utilizando-se filtro de seringa com porosidade de 0,22 µm. A absorbância inicial da solução foi medida em 610 nm utilizando um espectrofotômetro UV-Vis.

Posteriormente, a solução catódica inicial foi preparada mediante utilização de hexacianoferrato(III) de potássio ($K_3[Fe(CN)_6]$) na concentração de 50 mmol L⁻¹, dissolvido em 250 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS 50 mmol L⁻¹).

Quantidades iguais de 200 mL (volume de trabalho) das soluções anódica e catódica foram então transferidas para o sistema eletroquímico. Glifosato e acetato de sódio (fonte de carbono) foram adicionados ao eletrólito para obter concentrações finais de 50 mg L⁻¹ e 0,30 mg L⁻¹, respectivamente.

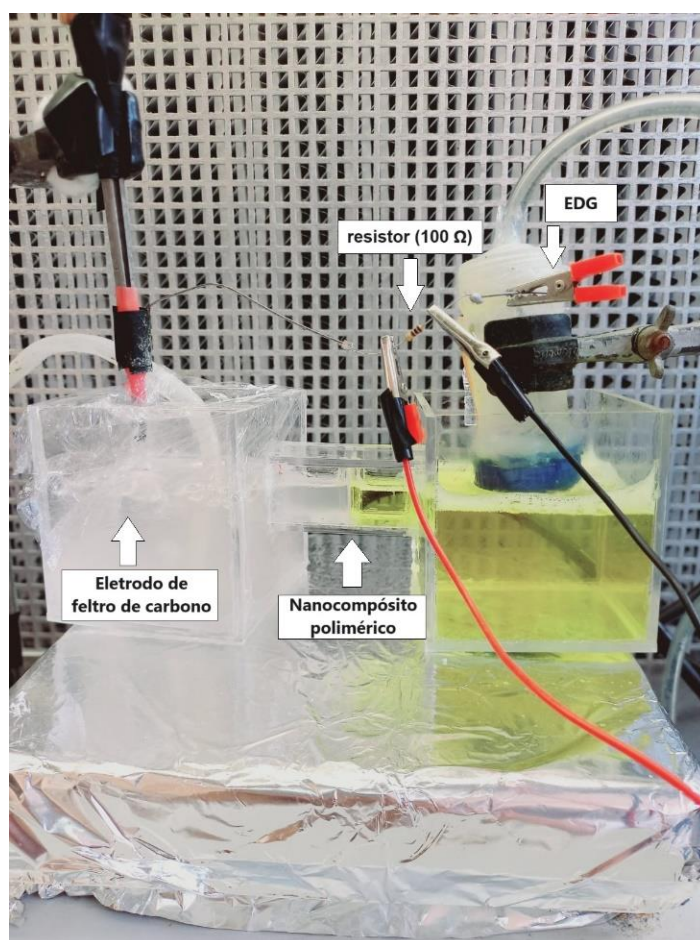
Inicialmente, para avaliar a possibilidade de adsorção física pelo feltro de carbono e a influência do metabolismo microbiano na degradação da molécula-alvo, dois grupos de controle (GC) foram estabelecidos na célula combustível microbiana: 1) abiótico, no qual os testes foram realizados sem a presença de microrganismos; 2) fermentativo convencional (CCM CA), no qual os testes foram realizados em circuito aberto sem circulação de corrente entre os compartimentos e sem resistência externa, mas com a presença de microrganismo (3,0 mL da suspensão bacteriana) em um sistema aerado.

Após a realização dos testes com os grupos de controle, os testes com circuito fechado foram iniciados com a adição de um resistor (100 Ω) no circuito, permitindo a realimentação das soluções anódicas e catódicas. Na câmara anódica, foram adicionados 3,0 mL da suspensão bacteriana e a aeração foi fornecida ao sistema por meio de um compressor de ar com fluxo de 1,2 L min⁻¹. O sistema foi novamente iniciado com a aclimação da bactéria ao meio M9, e o crescimento celular foi monitorado por meio da medição da densidade ótica (DO) em 610 nm, utilizando o espectrofotômetro UV-Vis.

Após a formação do biofilme anódico, foi realizada uma nova medição de DO da solução. Neste momento, foram adicionados glifosato e acetato de sódio como fontes de carbono à solução anódica, nas concentrações finais de 50,0 mg L⁻¹ e 0,30 mg L⁻¹, respectivamente. O eletrólito do compartimento catódico foi

substituído por uma solução de Na_2SO_4 (50 mmol L^{-1}) para aumentar a produção de H_2O_2 . Em seguida, foram adicionados glifosato e FeSO_4 ao novo eletrólito do compartimento catódico nas concentrações finais de $50,0 \text{ mg L}^{-1}$ e $2,3 \text{ mmol L}^{-1}$, respectivamente. A Figura 10 apresenta a imagem do sistema usado durante os testes de (bio)degradação.

Figura 10: Sistema utilizado nos testes de biodegradação/degradação: à esquerda, compartimento anódico com as bactérias em meio mineral M9; à direita, compartimento catódico com a solução de $50 \text{ mmol L}^{-1} \text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ preparada em PBS.



Fonte: Autoria Própria

Durante o experimento de avaliação do desempenho do sistema BEF na degradação do herbicida glifosato, foram coletadas alíquotas de $1,5 \text{ mL}$ dos compartimentos eletroquímicos em intervalos regulares de tempo (de 4 a 48 h).

As alíquotas foram filtradas usando filtros de seringa da marca Filtrilo®, fabricados com membrana de nylon hidrofílico, diâmetro de 25 mm e porosidade de 0,22 µm. Em seguida, as amostras foram derivatizadas e posteriormente analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD), conforme condições descritas nas seções 3.2.1 e 3.2.2, respectivamente.

A concentração de H₂O₂ gerado eletroquimicamente no compartimento catódico foi determinada seguindo a metodologia proposta por Chai et al. (2004) [147]. Nesse método, 0,5 mL da amostra foi adicionada a 5,0 mL de uma solução de (NH₄)₆Mo₇O₂₄ com concentração de 0,0024 mol L⁻¹, preparada em uma solução aquosa de H₂SO₄ com concentração de 0,5 mol L⁻¹. As medidas de absorvância foram realizadas no comprimento de onda 328 nm utilizando um espectrofotômetro UV-Vis (modelo Genesis 10-S, Thermo Scientific®). Além disso, os valores de absorvância das amostras foram medidos para avaliar o crescimento bacteriano no compartimento anódico e produção de peróxido de hidrogênio no compartimento catódico.

3.4 Aquisição dos dados temporais de tensão de saída da CCM

A aquisição de dados de tensão de saída de uma célula combustível microbiana (CCM) é importante para o entendimento da degradação de um pesticida, uma vez que permite avaliar a eficiência do processo e a atividade dos microrganismos envolvidos.

A CCM é um dispositivo que converte energia química em energia elétrica, utilizando resíduos orgânicos como substrato e bactérias como catalisadores. A degradação do herbicida ocorre na câmara anódica da CCM, onde os microrganismos oxidam o composto e liberam elétrons que são transferidos para o cátodo por meio de um circuito externo. A tensão de saída da CCM é diretamente proporcional à corrente gerada pela oxidação do herbicida e reflete a capacidade dos microrganismos em utilizar o substrato como fonte de carbono e energia. Portanto, a medição da tensão de saída da CCM é uma ferramenta

valiosa para monitorar a degradação do herbicida e otimizar as condições operacionais da CCM [148].

Durante os experimentos de biodegradação, a tensão de saída da célula combustível microbiana foi monitorada continuamente ao longo do tempo. Para isso, os dados foram adquiridos utilizando um sistema embarcado com placa Arduino TM UNO® Rev3 equipada com microprocessador ATmega328.

A leitura de tensão do sistema foi realizada utilizando um sensor de voltagem. As entradas de alimentação (VCC - tensão e GND - neutro) foram conectadas às extremidades de um resistor de 100 Ω por meio de fios de cobre, e as saídas do sensor foram conectadas à placa Arduino.

A análise da capacidade de geração de bioeletricidade do sistema foi realizada a partir da aquisição dos dados temporais de voltagem e da construção do gráfico de tensão de saída da CCM em função do tempo.

3.5 Descarte dos resíduos experimentais

Todos os resíduos gerados durante o experimento, incluindo as soluções resultantes das etapas de derivatização, preparo das curvas, inoculação do microrganismo e montagem do sistema de degradação/biodegradação, foram devidamente transferidos para frascos de vidro âmbar. Esses frascos foram devidamente rotulados para especificar suas composições químicas. Os resíduos foram armazenados realizado em um local apropriado dentro do Laboratório de Estudos da Matéria Orgânica Natural (LEMON) para serem posteriormente coletados pela empresa responsável pelo serviço de descarte adequado desses resíduos.

3.6 Caracterização dos materiais empregados nos experimentos de (bio)degradação

3.6.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e Reflectância Total Atenuada (FTIR-ATR)

Os espectros de FTIR-ATR das amostras de feltro de carbono e do nanocompósito polimérico foram obtidos utilizando um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier e reflectância total atenuada (FTIR-ATR) da marca Agilent (modelo Cary 360), no Laboratório de Química Forense do Instituto de Análises e Pesquisas Forenses (IAPF), Coordenadoria Geral de Perícias (COGERP), Secretaria de Segurança Pública de Sergipe (SSP/SE). As amostras foram previamente secas e submetidas à varredura na faixa espectral entre 4000 a 650 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} . Foram realizados 32 *scans* por amostra, sendo que o espectro do ar foi utilizado como *background*.

3.6.2 Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectroscopia por Energia Dispersiva (MEV-EDS)

A análise morfológica da superfície e a composição química elementar das amostras (feltro de carbono bioânodo e do nanocompósito polimérico) foram utilizando o sistema de microscopia eletrônica de varredura acoplado a um espectrômetro de dispersão de energia (MEV-EDS) da marca Hitachi TM 3000, instalado no Centro de Laboratórios de Química Multiusuários (CLQM), na Universidade Federal de Sergipe - UFS. As amostras foram depositadas em fita de carbono e as análises foram realizadas com o equipamento operando sob baixo vácuo, voltagem de aceleração de 5 kV e corrente de filamento de 1850 mA.

3.7 Condições de análise por cromatografia de íons

Inicialmente, as amostras coletadas em campo foram caracterizadas por cromatografia de íons com detector condutométrico supressor, utilizando um cromatógrafo de íons PeakNet 6 Dionex ICS 3000, equipado com colunas de troca iônica IonPac AS18 e IonPac CS12A (4 mm x 250 mm) para a separação de ânions e cátions, respectivamente.

Previamente as análises, o equipamento foi calibrado com padrões de íons de concentrações conhecidas e foram verificados a linearidade, precisão e exatidão do método. As fases móveis utilizadas foram soluções aquosas de hidróxido de sódio (30 mmol L⁻¹) e ácido metanossulfônico (20 mmol L⁻¹), com vazão de 1,0 mL min⁻¹. Foram injetados 10 µL das amostras para a análise dos ânions e 50 µL das amostras para a análise dos cátions no cromatógrafo e os cromatogramas obtidos foram utilizados para a identificação e quantificação dos íons presentes nas amostras.

As análises foram realizadas pela Companhia de Saneamento de Sergipe (DESO) seguindo os procedimentos descritos nos métodos US EPA 300.1 [149] e ASTM D6919-17 [150].

3.8 Aplicação de amostra de campo ao sistema Bioeletro-Fenton (BEF)

Para avaliar a eficiência do processo de (bio)degradação utilizando o acoplamento dos processos eletro-Fenton integrado a célula combustível microbiana, foi utilizada uma amostra de água coletada do açude Marcela (10°40'17"S, 37°24'58"W), localizado no município de Itabaiana, estado de Sergipe, Brasil.

Para avaliar a presença de GLI e AMPA na água do açude, as amostras foram derivatizadas conforme descrito na seção 3.2.1 e, posteriormente, as concentrações de GLI e AMPA foram determinadas por CLAE-DAD, conforme descrito na seção 3.2.2.

A amostra de água do açude foi fortificada em 20 mg L⁻¹ com solução comercial de glifosato e posteriormente utilizada no sistema BEF operando nas mesmas condições de trabalho aplicadas aos experimentos com solução sintética, conforme descrito na seção 3.3.4 com algumas modificações: testes sem a resistência e sem a adição do acetato de sódio e solução de glicose.

As concentrações residuais de GLI e AMPA após os experimentos de biodegradação/degradação com amostra de campo fortificada foram determinadas utilizando as condições cromatográficas descritas na seção 3.2.2 previamente à reação de derivatização (seção 3.2.1)

3.9 Identificação dos subprodutos iônicos da (bio)degradação

Após os experimentos de biodegradação/degradação realizados com a aplicação das amostras de campo fortificadas e coletadas no açude Marcela, os subprodutos gerados foram analisados por cromatografia de íons com detecção condutimétrica supressora, realizada no Companhia de Saneamento de Sergipe (DESO) conforme condições descritas na seção 3.7.

Previamente às análises, as amostras foram condicionadas em frascos de polietileno lavados com solução aquosa de ácido nítrico a 10% e água destilada, e armazenadas em geladeira a 4°C até o momento da análise. Anterior à análise por cromatografia de íons, as amostras foram filtradas com filtro de seringa com membrana de 0,45 µm de porosidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

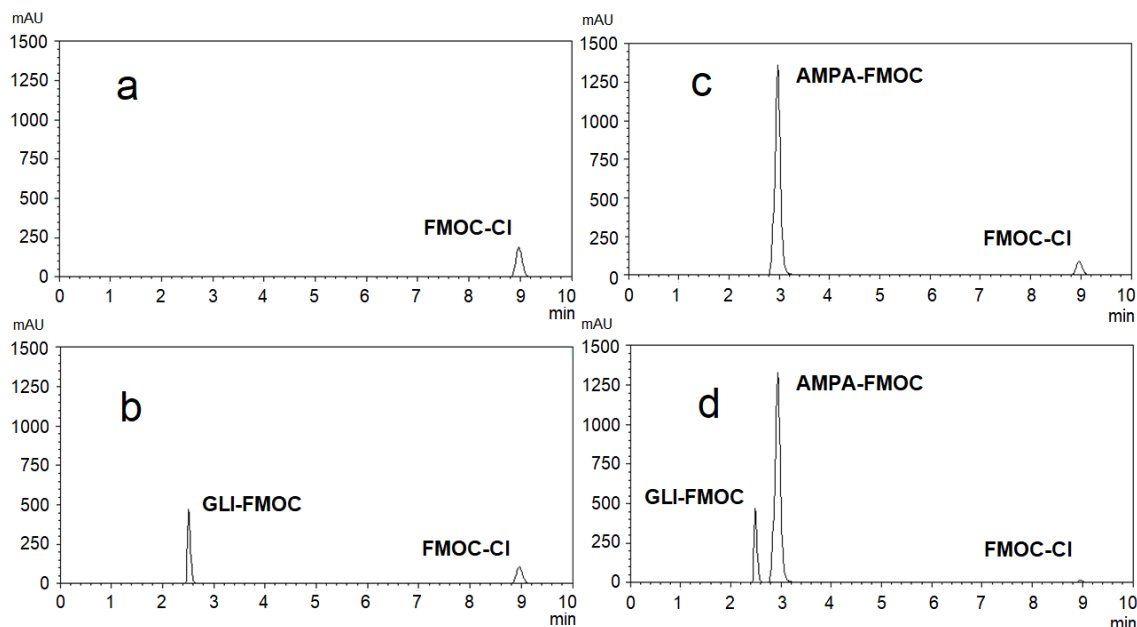
4.1 Otimização das condições cromatográficas de análise e reação de derivatização

Antes da determinação do glifosato (GLI) e do seu produto de biodegradação ácido aminometilfosfônico (AMPA), por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD) é necessária uma reação de modificação das estruturas dos analitos, uma vez que a ausência de grupos cromóforos nas moléculas do GLI e do AMPA impossibilita a sua detecção direta por detectores espectrofotométricos [151]. Esta reação prévia à análise é denominada derivatização [136].

Neste trabalho, a derivatização consistiu na reação do glifosato e do ácido aminometilfosfônico em meio aquoso, com o reagente de derivatização cloroformiato de 9-fluorenilmetila (FMOC-Cl), no qual introduz grupos cromóforos aos analitos GLI e AMPA, possibilitando a determinação por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD).

Os testes de separação cromatográfica foram realizados com solução aquosa de GLI e AMPA na concentração de 25,0 mg L⁻¹ após derivatização com FMOC-Cl, no modo isocrático de eluição, o qual foi observada nos cromatogramas a presença de dois picos com tempos de retenção de 2,5 e 3,0 minutos para os analitos GLI e AMPA, respectivamente (Figura 11 a-d).

Figura 11: Cromatogramas obtidos por CLAE/DAD. (a) solução sem a presença dos analitos, (b) solução padrão de GLI derivatizado na concentração de 25,0 mg L⁻¹, (c) solução padrão de AMPA derivatizado na concentração de 25,0 mg L⁻¹ (d) mistura das soluções padrão dos analitos, GLI e AMPA derivatizados.

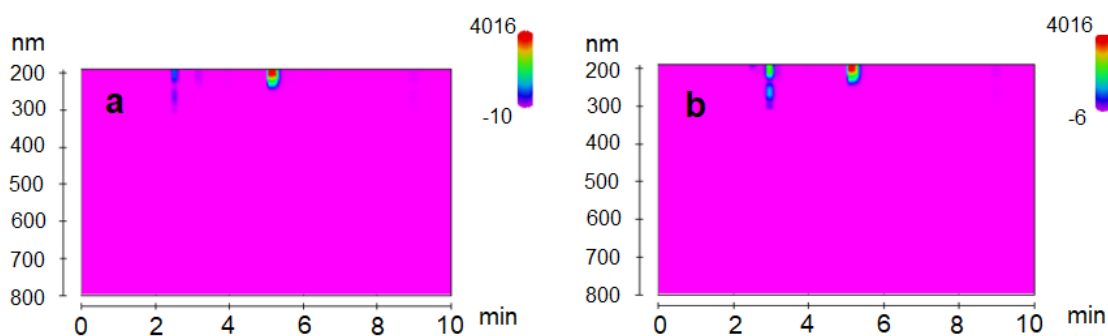


Após análise dos cromatogramas, observou-se que na solução branco (Figura 11.a), não foram identificados picos nos tempos de retenção de 2,5 e 3,0 min, e um único pico foi detectado em 9 min que corresponde a detecção do derivatizante FMOC-Cl. Esses resultados confirmam a detecção dos analitos GLI e AMPA nos tempos de retenção de 2,5 e 3,0 min, respectivamente.

A derivatização com FMOC-Cl fez com que o AMPA, que tem uma molécula menor que o glifosato, interagisse mais fortemente com a fase estacionária apolar e apresentasse um tempo de retenção maior que o glifosato na coluna C18 empregando uma fase móvel ácida. A polaridade dos derivados do glifosato e do AMPA depende da ionização dos grupos ácido carboxílico e fosfonato, que é afetada pelo pH da fase móvel. Em pH ácido, os grupos carboxílicos e fosfonato estão protonados e não contribuem para a polaridade dos derivados. Nesse caso, o derivado do AMPA é menos polar que o derivado do glifosato que tem um grupo ácido carboxílico adicional na estrutura derivatizada [152].

Os espectros de UV-Vis obtidos com as condições cromatográficas utilizadas neste trabalho são apresentados na Figura 12 para o GLI (a) e AMPA (b).

Figura 12: Espectros de UV-Vis. (a) solução padrão de glifosato derivatizados (GLI-FMOC) na concentração de $25,0 \text{ mg L}^{-1}$ e (b) solução padrão de ácido aminometilfosfônico derivatizado (AMPA-FMOC) na concentração de $25,0 \text{ mg L}^{-1}$.

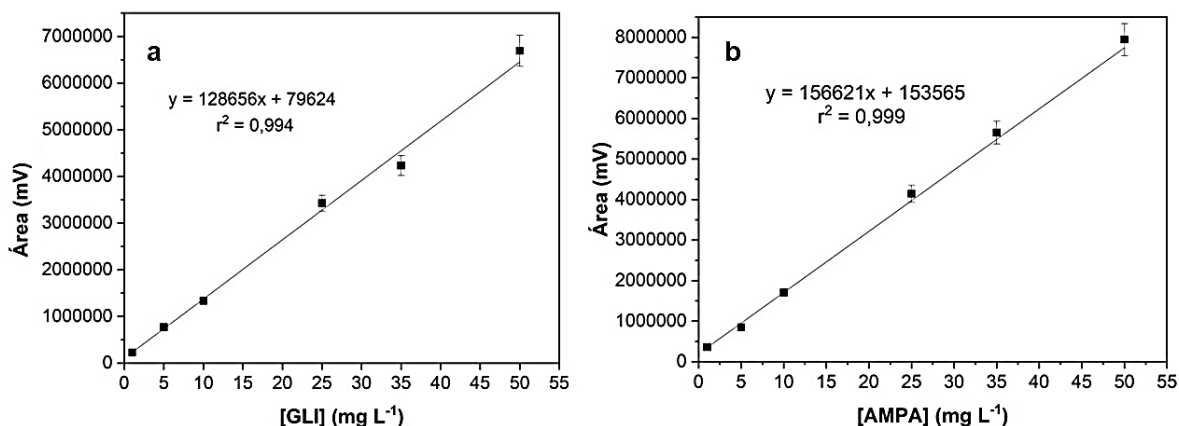


Conforme mostrado nos espectros da Figura 12 para GLI-FMOC e AMPA-FMOC derivatizados, o comprimento de onda de 265 nm foi selecionado por apresentar máximo de absorção, estando de acordo com a literatura [153].

4.2 Linearidade das curvas analíticas para determinação de glifosato (GLI) e ácido aminometilfosfônico (AMPA)

A linearidade foi avaliada para as concentrações utilizando seis pontos na faixa de trabalho correspondentes a 1,0, 5,0, 10,0, 25,0, 35,0, e 50,0 mg L^{-1} para as soluções aquosas de GLI e AMPA derivatizadas com cloroformiato de 9-fluorenilmetila (FMOC-Cl), no qual cada concentração foi determinada em triplicata (Figuras 13 a-b).

Figura 13: Curva analítica para determinação de a) glifosato (GLI) e b) ácido aminometilfosfônico derivatizados.



As equações da reta foram obtidas conforme regressão linear da curva analítica, em que $y = 128656x + 79624$, com coeficiente de determinação (r^2) de 0,994 e correlação (r) de 0,997 para GLI e $y = 156621x + 153565$, com coeficientes de determinação (r^2) de 0,999 e correlação (r) de 0,999 para AMPA.

De acordo com a Resolução RDC nº166, de 24 de julho de 2017, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a avaliação da relação linear entre as variáveis de um método analítico deve apresentar os coeficientes de correlação (r) e de determinação (r^2), sendo que o r deve ser superior a 0,990 [154]. Neste contexto, os valores obtidos para os coeficientes de correlação (r) obtidos foram superiores ao estabelecido pelo órgão regulador, indicando que o método de determinação de GLI e AMPA derivatizados foi linear na faixa de trabalho estudada.

4.2.1 Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram calculados pelo método baseado nos parâmetros da curva analítica como sendo 3,3 e 10 vezes a relação desvio padrão (D) do intercepto por valor da inclinação (I) da curva analítica, respectivamente, conforme as eq. (4) e (5) [155].

$$LD = \frac{3,3 \times D_{curva}}{I_{curva}} \quad (4)$$

$$LQ = \frac{10 \times D_{curva}}{I_{curva}} \quad (5)$$

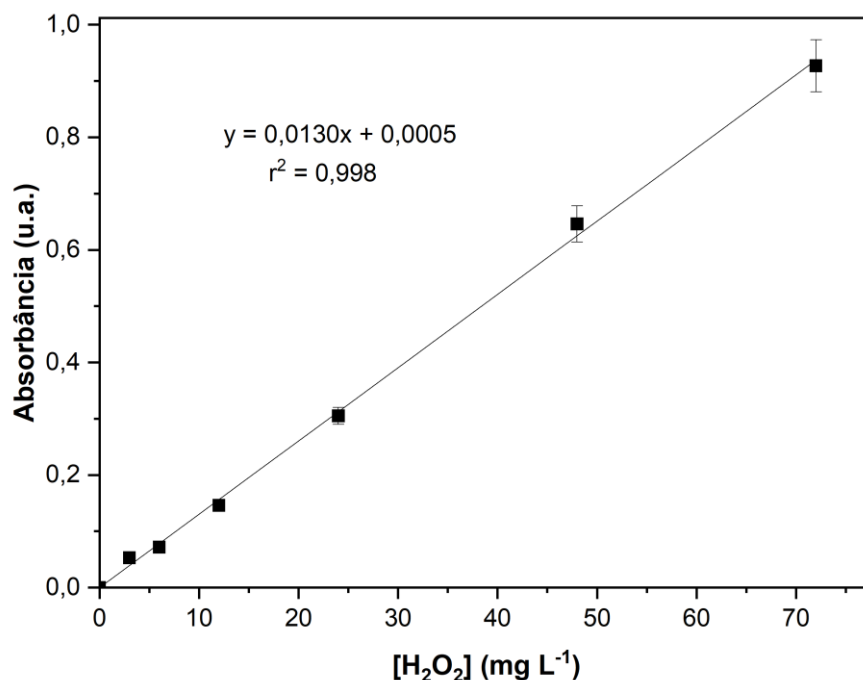
Os valores de LD calculados foram de 0,69 mg L⁻¹ e 0,20 mg L⁻¹ para GLI e AMPA, respectivamente. Os valores de LQ calculados foram de 2,10 mg L⁻¹ e 0,62 mg L⁻¹ para GLI e AMPA, respectivamente.

4.3 Eletrogeração do peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

O processo eletro-Fenton (EF) baseia-se na eletrogeração *in situ* contínua de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), o que elimina a aquisição, transporte e armazenamento desse reagente no processo. Além disso, íon ferro(II) é adicionado como catalisador da reação para a produção da espécie oxidante ($\cdot$ OH). Assim, o acompanhamento e a melhoria da geração eletroquímica do H₂O₂ são cruciais para aumentar a eficiência do processo [156].

Para isto, um método espectrofotométrico conforme descrito na seção 3.3.4 foi utilizado para a determinação de H₂O₂ eletrogerado no processo eletro-Fenton (EF). A Figura 14 apresenta a curva de calibração utilizada na quantificação do peróxido de hidrogênio, a qual foi construída em triplicata (Figura 14).

Figura 14: Curva de calibração para a determinação do H_2O_2 por UV-Vis, no comprimento de onda em 328 nm.



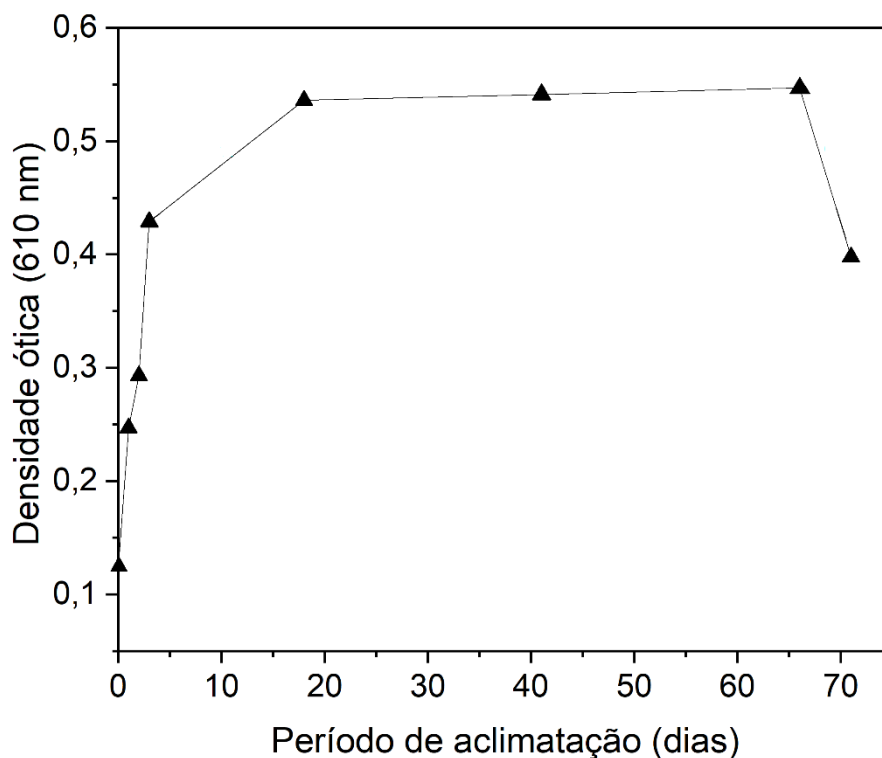
A curva apresentou a equação da reta $y = 0,0130x + 0,0005$ e o coeficiente de determinação (r^2) igual 0,998, indicando linearidade na faixa de trabalho estudada (0 – 72 mg L⁻¹). Além disso, o coeficiente de correlação foi de 0,999, o que atende às diretrizes da RDC n°166 da ANVISA [154].

4.4 Crescimento dos microrganismos durante o período de aclimação

As bactérias pertencentes a espécie *Serratia sp.* foram aclimatadas em meio de cultivo contendo uma solução comercial com concentração final de 50 mg L⁻¹ de glifosato, preparada a partir de uma formulação comercial do herbicida. O período de aclimação teve a duração de 70 dias, os quais a densidade ótica

das células bacterianas foi monitorada por meio de leituras de absorbância. Os resultados das medidas espectrofotométricas estão ilustrados na Figura 15.

Figura 15: Curva de crescimento da bactéria *Serratia sp.* durante o período de aclimação com glifosato. Condições de teste: $T = 28 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 7,0$, $[\text{GLI}]$ inicial = $50,0 \text{ mg L}^{-1}$.



O crescimento bacteriano é normalmente caracterizado por três fases distintas e explicada por modelos sigmoidais [157]. Os estágios de crescimento são divididos em fase lag (fase de latência), exponencial ou fase log (multiplicação celular) e estacionário (população constante) ou morte celular [158].

Ao analisar a Figura 15, é possível observar um rápido crescimento das bactérias da espécie *Serratia sp.* no meio de cultivo suplementado, especialmente nos primeiros dias de aclimação, sem a presença da fase de latência (fase lag). Este resultado sugere boa adaptação da cultura ao meio

suplementado e uma eficiente capacidade dos microrganismos em utilizar o glifosato como substrato de crescimento [144]. A fase de multiplicação celular (fase log ou exponencial) da cultura durou até próximo do vigésimo dia, apresentando um crescimento mais lento no intervalo de 72h a 20 dias, com posterior fase estacionária.

A fase estacionária durou de 20 a 66 dias (46 dias). As taxas de crescimento e morte das células microbianas estão relativamente em equilíbrio durante a fase estacionária. Os microrganismos são geralmente tolerantes ao aparecimento de condições adversas na fase estacionária do que na fase exponencial devido à integridade da membrana e capacidade de produzir camadas protetoras, como cápsula e bainhas. As reações metabólicas na fase estacionária são direcionadas principalmente para manter ou preservar a viabilidade das células (metabolismo de manutenção). A fase estacionária às vezes é seguida por uma fase de morte, quando a taxa de morte das células se torna significativamente maior que a taxa de crescimento. Dessa forma, pode-se inferir a cessão da fonte de carbono ou aumento da concentração de algum metabólito tóxico para a bactéria [159].

Dessa forma, pode-se concluir que a bactéria *Serratia sp.* é bastante resistente a condições adversas frente ao glifosato e os metabólitos gerados, tolerando as condições adversas ou restaura bem a condição ideal de crescimento.

Outros estudos também relataram um crescimento eficiente de culturas de bactérias em períodos de aclimação com pesticidas organofosforados. Em seus estudos de biodegradação do glifosato utilizando bactérias da espécie *Stenotrophomonas acidaminiphila* Y4B, Li et al. (2022) relataram que o crescimento celular da espécie se correlacionou positivamente com a degradação do herbicida em uma ampla faixa de concentração (50 – 800 mg L⁻¹), sendo obtida uma taxa de degradação superior a 98% após 72 h de experimentos e utilizando-se a concentração inicial de 50 mg L⁻¹ do glifosato. Além disso, o autor relata no estudo que houve um crescimento rápido no início e uma eficiente capacidade de degradação do glifosato com ausência de uma fase lag [34]. Cabe destacar ainda que a cepa Y4B relatada no estudo tem a

mesma classificação das bactérias da espécie *Serratia sp.*, sendo caracterizadas como bactérias Gram-negativas. É relatado na literatura que após a aplicação de glifosato no ambiente a abundância de bactérias Gram-negativas geralmente aumenta, indicando que esses microrganismos são provavelmente eficientes espécies degradadoras de glifosato [160,161].

A curva de crescimento da cultura da bactéria *Serratia sp.* em meio suplementado com glifosato permitiu inferir sua eficiente capacidade de utilização do herbicida como substrato e como um potencial microrganismo em estudos de biodegradação.

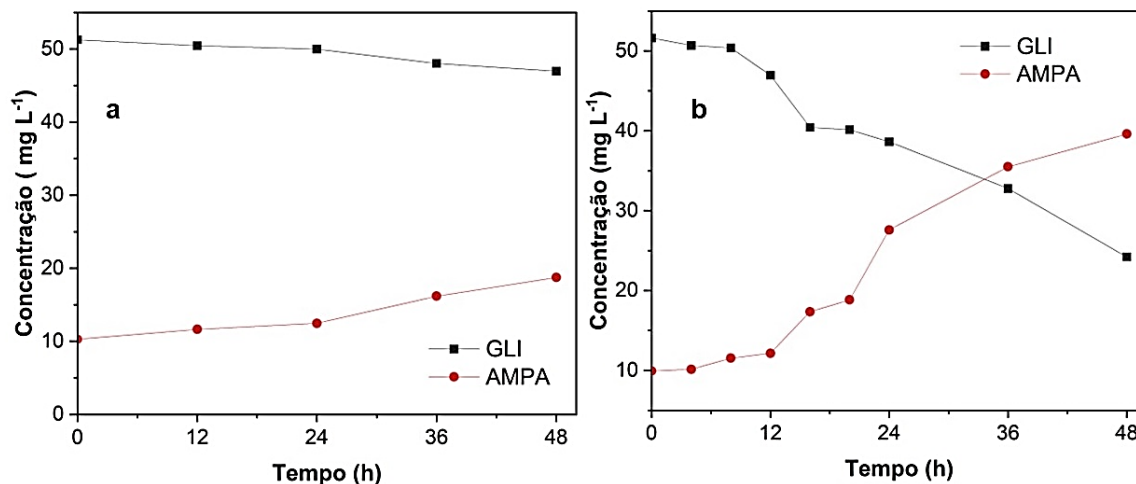
Deste modo, além de destacar as mudanças fisiológicas das células bacterianas em resposta a suplementação de glifosato ao meio, a curva de crescimento foi utilizada para selecionar o maior valor de densidade ótica (DO medida no 66º dia de 0,547 em 610 nm), e assim garantir uma maior quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC) nos experimentos de biodegradação do glifosato.

4.5 Biodegradação do glifosato no bioânodo da célula combustível microbiana (CCM)

O ácido aminometilfosfônico, principal produto de degradação do glifosato, é uma substância importante na etapa de avaliação da degradação do seu precursor e, além disso, é uma potencial preocupação para agências reguladoras ambientais e de saúde, sendo fundamental a sua determinação conjunta em experimentos de biodegradação do glifosato.

Nos experimentos de biodegradação no compartimento anódico da célula combustível microbiana (CCM), inicialmente, as concentrações de glifosato (GLI) e ácido aminometilfosfônico (AMPA) foram monitoradas em dois grupos de controle, sendo um em condição abiótica (sem a presença de *Serratia sp.*) e outro com a presença de *Serratia sp.* e em circuito aberto (CCM CA) (Figura 16).

Figura 16: Monitoramento das concentrações de GLI e AMPA no compartimento anódico durante os experimentos de biodegradação em a) controle abiótico e b) circuito aberto (CCM CA).



No controle abiótico, foi observada uma diminuição na concentração de glifosato (de 51,3 mg L⁻¹ para 47,0 mg L⁻¹), o que representa uma taxa de degradação de 8,4% em 48 h de experimento (Figura 16-a). Este comportamento sugere que a contribuição da adsorção física do glifosato no eletrodo de feltro de carbono é insignificante, e qualquer maior depleção de glifosato no ânodo pode estar relacionada ao processo de biodegradação do herbicida pela bactéria *Serratia sp.*

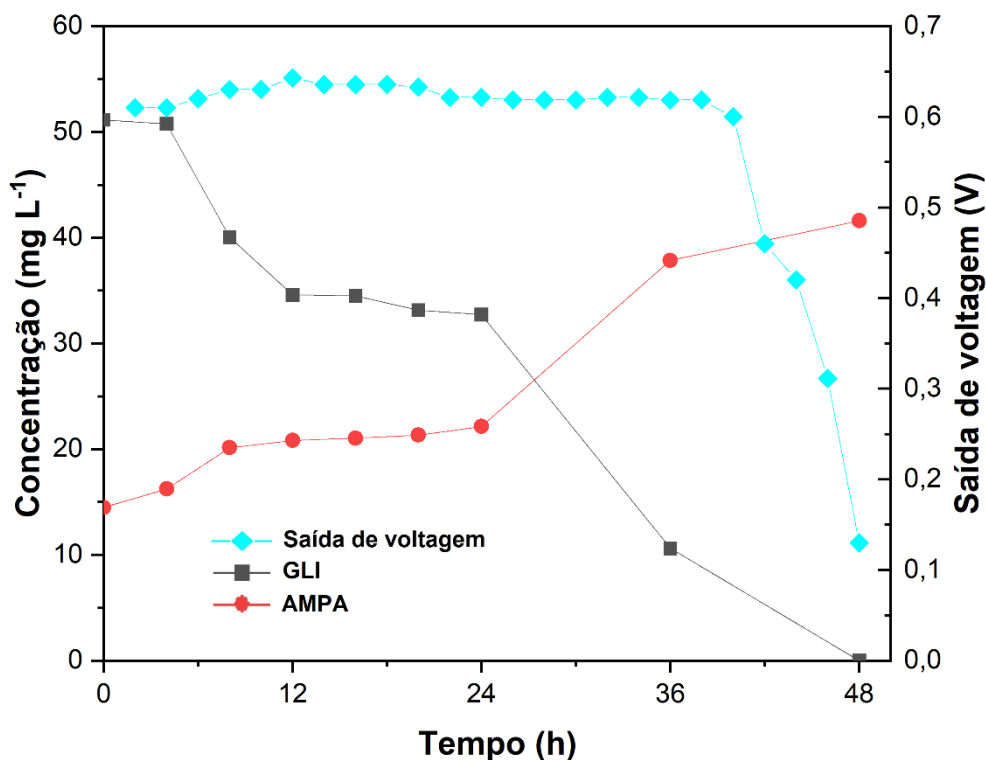
Observou-se a presença de AMPA na solução aquosa inicial preparada a partir da formulação comercial a base de glifosato, na concentração de 10,3 mg L⁻¹ (Figura 16-a), o que pode ser oriunda do processo de fabricação da formulação ou derivada da degradação de glifosato por fatores intrínsecos ao armazenamento para fins comerciais. Além disso, foi possível observar que AMPA também foi gerado a partir da degradação de seu precursor em condições abióticas, após 24 h de experimento, o que reforça a possibilidade de ocorrer fotodegradação do glifosato, uma vez que o sistema permaneceu com iluminação durante todo o experimento (luz solar no período diurno e artificial no período noturno), e à composição da solução, cuja combinação pode ter

favorecido o processo de fotólise da molécula de glifosato [162,163] com gradativa diminuição da sua concentração e consequentemente foi observado o aumento da concentração de AMPA (de 10,3 mg L⁻¹ para 18,7 mg L⁻¹).

Os resultados das curvas de concentração de GLI e AMPA obtidos utilizando a bactéria *Serratia sp.* e em circuito aberto (CCM CA) (Figura 16-b) sugerem que o AMPA é o principal produto de degradação do glifosato e que a bactéria *Serratia sp.* utilizou a via do AMPA durante o experimento. Nestas condições, foi observado um aumento progressivo da concentração de AMPA ao longo do experimento, variando de 10,0 mg L⁻¹ em tempo inicial para 39,6 mg L⁻¹ no tempo final do experimento (48 h), o que representa um aumento de 29,6 mg L⁻¹ na concentração de AMPA. Em contrapartida, uma diminuição da concentração de GLI foi observada no valor de 27,4 mg L⁻¹ em relação à sua concentração inicial (51,6 mg L⁻¹), que resultou em uma concentração final no valor de 24,2 mg L⁻¹ de glifosato após 48 h de experimento.

Nos experimentos de biodegradação do glifosato pela bactéria *Serratia sp.* no compartimento anódico da célula combustível microbiana realizados na condição de circuito fechado (CCM CF) também foi observada a diminuição da concentração de glifosato ao longo do experimento. Após 48 h, não foi detectada a presença de glifosato no compartimento anódico da CCM (100,0% de biodegradação), sugerindo que o período investigado foi suficiente para a completa biodegradação do poluente em meio aquoso (Figura 17). Por outro lado, em circuito aberto (CCM CA) e no mesmo período de análise, foi observada uma taxa de degradação de 53,0%.

Figura 17: Acompanhamento das concentrações de glifosato e AMPA e tensão de saída no compartimento anódico da CCM durante os experimentos de (bio)degradação em circuito fechado. Condições de teste: $T=28 \pm 2$ °C, $\text{pH}=7,0$, $[\text{GLI}]$ Inicial = 50 ± 2 mg L⁻¹, $[\text{CH}_3\text{COONa}]$ Inicial = $0,30$ mg L⁻¹ e resistência externa = 100Ω .



Da mesma forma, foi observada a formação do ácido aminometilfosfônico no compartimento anódico da CCM sob circuito fechado durante a biodegradação do glifosato. Em 48 h a concentração de AMPA atingiu um valor máximo de $41,6$ mg L⁻¹, enquanto nesse período houve a completa degradação de glifosato, cuja concentração inicial era de $51,1$ mg L⁻¹.

Investigações apontam que as bactérias pertencentes a família *Enterobacteriaceae*, que inclui a espécie *Serratia sp.*, são bactérias eletrogênicas com capacidade de transferir elétrons para os eletrodos e também são espécies que exibem alta abundância relativa em biofilmes formados em ânodos produzidos com feltro de carbono [164–166].

Durante o experimento de biodegradação do glifosato em circuito fechado (CCM CF), a tensão de saída da CCM permaneceu constante, atingindo valor

máximo de 0,64 V, com corrente máxima equivalente de 6,40 mA (Figura 17). Este resultado indica que a bactéria eletroativa *Serratia sp.* foi provavelmente enriquecida no bioânodo, formando um biofilme estável capaz de biodegradar o glifosato durante todo o experimento realizado [167].

Uma possível explicação para a completa degradação do glifosato no compartimento anódico em CCM CF pode estar relacionada ao aumento da atividade metabólica da bactéria *Serratia sp.* com consequente enriquecimento do biofilme, devido a demanda de elétrons durante a alimentação do processo eletro-Fenton no compartimento catódico.

O campo elétrico produzido pelo microrganismo pode ter aumentado a permeabilidade do biofilme e estimulado indiretamente o metabolismo microbiano [168,169]. Isso favoreceu a formação de biofilme estável sobre o ânodo em condição de circuito fechado com o aperfeiçoamento do transporte de elétrons devido a um eficiente contato entre as células bacterianas e a superfície do eletrodo, contribuindo dessa forma para a completa biodegradação observada [170,171].

4.6 Avaliação da degradação de glifosato no compartimento catódico da célula combustível microbiana (CCM) com eletro-Fenton

Os sistemas híbridos que integram células combustíveis microbianas (CCM) com outras tecnologias são considerados uma abordagem atraente para melhorar o seu desempenho autônomo, contribuindo assim para a produção de bioeletricidade, de bioprodutos e para a biorremediação de sítios contaminados [172]. Dentro dessa categoria, o sistema eletro-Fenton *in situ* integrado com sistemas CCM é uma tecnologia eficiente para degradar poluentes orgânicos em águas residuárias [173,174].

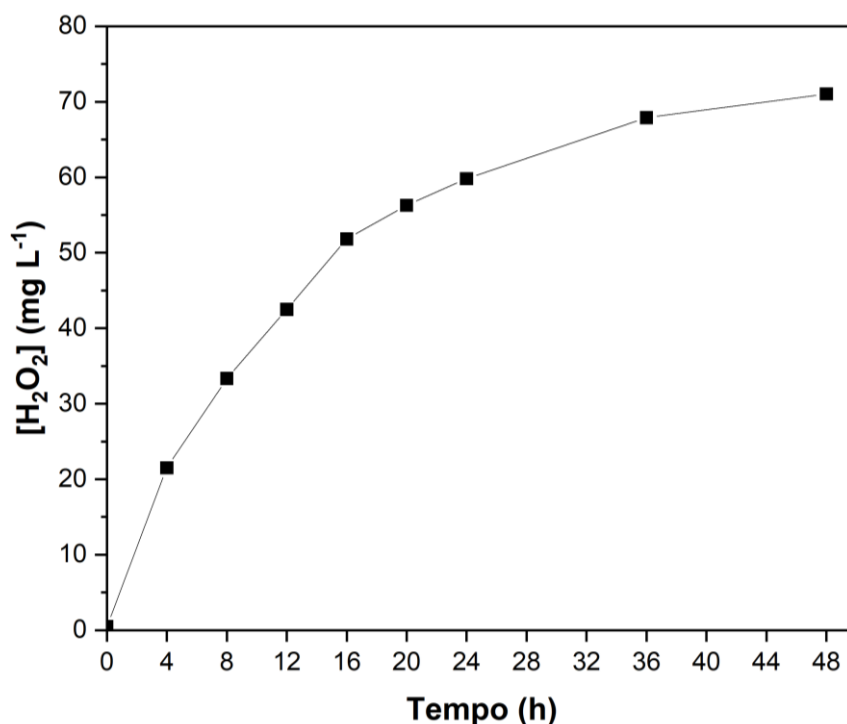
Neste sistema híbrido ocorre o acoplamento de biooxidação anódica e de reações catódicas de eletro-Fenton em um único reator integrado, e uma característica importante do processo é a produção contínua de peróxido de

hidrogênio (H_2O_2) *in situ* através da redução do O_2 em uma via de dois elétrons, que reagem com o Fe^{2+} (produzido ou adicionado) para gerar Fe^{3+} e um radical fortemente oxidante $\cdot\text{OH}$ [172].

Na avaliação do acoplamento do processo eletro-Fenton integrado a CCM, é importante avaliar a eletrogeração de H_2O_2 pelo sistema, tendo em vista que a degradação do glifosato no compartimento catódico depende de sua produção, para então ser reduzido a O_2 em uma via de dois elétrons e reagir com os íons Fe^{2+} para gerar Fe^{3+} e um radical fortemente oxidante $\cdot\text{OH}$ [172].

Conforme mostra a Figura 18, houve a produção progressiva de H_2O_2 no compartimento catódico da CMM no intervalo de tempo experimental, atingindo um valor máximo de concentração de $70,0 \text{ mg L}^{-1}$ em 48 h. A concentração de H_2O_2 obtida neste estudo foi relativamente superior àquelas encontradas em outros estudos que utilizaram Na_2SO_4 como eletrólito de suporte e/ou EDG de feltro de carbono como cátodo [175–178].

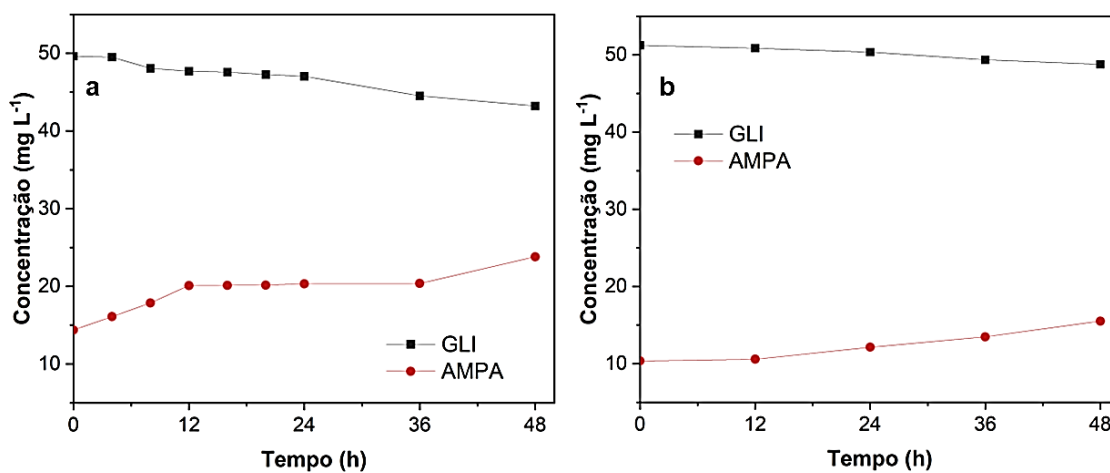
Figura 18: Eletrogeração de H_2O_2 *in situ* durante os experimentos eletroquímicos em sistema eletro-Fenton integrado a CCM. Condições: cátodo = EDG com feltro de carbono, solução de trabalho = 200 mL de Na_2SO_4 ($0,05 \text{ mol L}^{-1}$), fluxo de ar = $1,0 \text{ L min}^{-1}$, pH = 3,0.



Após avaliação da eletrogeração de H_2O_2 , a oxidação do glifosato pelo processo eletro-Fenton homogêneo foi avaliada no compartimento catódico da CCM em duas condições operacionais: a) circuito fechado sem a adição de íons Fe^{2+} e b) circuito aberto com a adição da solução de íons Fe^{2+} (Figura 19), que foram utilizados como grupos de controle que permitem investigar a importância da presença simultânea de corrente em um circuito fechado e da presença de íons ferro(II) para que a oxidação do contaminante seja efetiva por oxidação através da reação de Fenton.

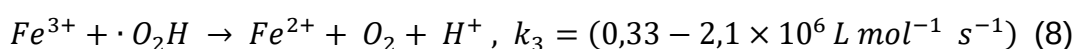
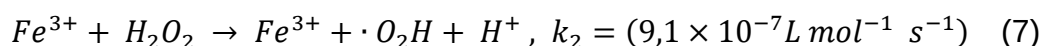
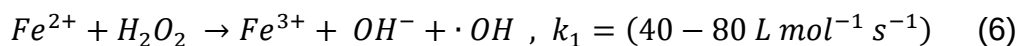
O pH do meio foi ajustado para 3,0, enquanto foi fornecido um fluxo de ar de $1,0 \text{ L min}^{-1}$ e o sistema foi operado a uma temperatura de $28 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$). Então, 0,07 g de FeSO_4 foi adicionado ao volume de trabalho (200 mL), para obtenção de uma concentração de $2,3 \text{ mmol L}^{-1}$ de FeSO_4 na solução catódica como catalisador da reação de geração de H_2O_2 .

Figura 19: Taxas de degradação de glifosato e AMPA no compartimento catódico durante os experimentos de degradação em a) circuito fechado sem a adição de Fe^{2+} e b) circuito aberto com a adição de Fe^{2+} .



No experimento com circuito fechado e ausência de íons Fe^{2+} na solução catódica (Figura 19-a), que continha apenas os íons Fe^{3+} proveniente do $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN}_6)]$, foi observada uma pequena diminuição da concentração de glifosato (de $49,6 \text{ mg L}^{-1}$ para $43,2 \text{ mg L}^{-1}$), que representou uma taxa de

degradação de 13,0%, e a formação de AMPA com uma concentração no valor máximo de 23,8 mg L⁻¹ em 48 h de experimento. Esse resultado pode ser melhor compreendido ao se considerar o mecanismo de geração das principais espécies ativas no sistema Fenton convencional, apresentado nas eq. 6-8 [179–182].



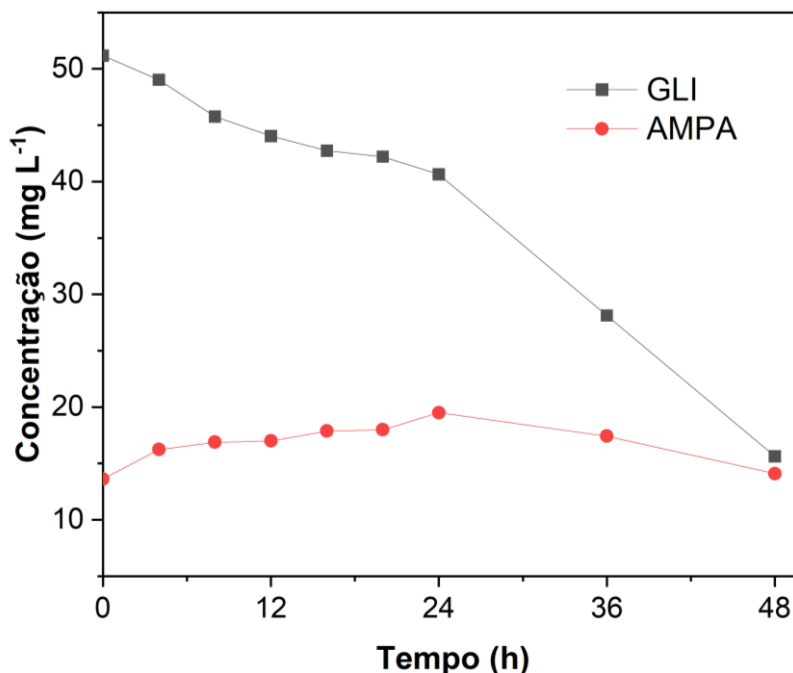
Devido ao alto valor de k_1 (Eq. 6) e o baixo valor de k_2 (Eq. 7), o íon Fe^{3+} gerado a partir da Eq. (6) não pode ser reduzido a tempo a íon Fe^{2+} , o que acaba impedindo o ciclo entre Fe^{2+}/Fe^{3+} . Com isso, uma grande quantidade de H_2O_2 e Fe^{2+} é necessária para que a reação ocorra [183]. Entretanto, a diferença nas concentrações de GLI e AMPA observadas entre os sistemas com a presença e a ausência de íons Fe^{2+} pode ser atribuída à maior quantidade do catalisador, que favorece a reação de oxidação do glifosato e a consequente formação do ácido aminometilfosfônico pelo processo eletro-Fenton no compartimento catódico.

Na condição de sistema com circuito aberto, devido à ausência do fluxo de elétrons entre os compartimentos, observou-se uma diminuição da concentração de glifosato (de 51,2 mg L⁻¹ para 48,8 mg L⁻¹) que, no entanto, permaneceu constante com uma baixa taxa de degradação de 4,8%, sendo também observada a formação de AMPA com uma concentração máxima no valor de 15,5 mg L⁻¹ em 48 h de experimento. Esses resultados evidenciam a importância da geração de corrente pela integração da CCM ao sistema eletro-Fenton. Adicionalmente, pode-se desprezar a hipótese de adsorção física pelo feltro de carbono, uma vez que a variação da concentração de glifosato foi insignificante nesta condição experimental.

Nas CCMs, os elétrons são produzidos através da oxidação do substrato orgânico por microrganismos eletrogênicos no ânodo e transferidos para o cátodo através de um circuito externo. No cátodo, o aceptor de elétrons comum é o oxigênio. Isso se deve ao fato de que o potencial redox $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ é de 0,77 V (vs. Eletrodo Padrão de Hidrogênio - EPH), o que é aproximadamente o mesmo potencial teórico de redução de oxigênio na CCM (0,805 V vs. EPH). Além disso, o Fe^{3+} também pode atuar como um aceptor de elétrons no cátodo do sistema. Desta forma, a combinação do eletro-Fenton (EF) integrado a CCM permite acelerar a regeneração e produção de íons Fe^{2+} por meio da redução de Fe^{3+} . Isso, por sua vez, aumenta a eficiência de corrente para a oxidação dos poluentes por meio do sistema EF [184].

Na Figura 20, é possível observar que houve uma maior diminuição da concentração de glifosato (de 51,1 mg L⁻¹ para 15,6 mg L⁻¹) com uma taxa de degradação significativamente maior no valor de 69,4% na condição de circuito fechado em 48 h de experimento. Esse resultado era esperado devido a combinação do processo de biodegradação anódica que possibilitou o fluxo contínuo de elétrons alimentando o processo oxidativo pela reação de Fenton. Em contraste, as outras condições investigadas, como circuito aberto e experimentos sem a presença dos íons Fe^{2+} , apresentaram taxas de degradação menores, sendo 4,8% e 13,0%, respectivamente, em 48 h.

Figura 20: Acompanhamento das concentrações de glifosato e AMPA no compartimento catódico da CCM durante os experimentos de degradação em circuito fechado. Condições de teste: cátodo = EDG com feltro de carbono, solução de trabalho = 200 mL de Na_2SO_4 ($0,05 \text{ mol L}^{-1}$) com FeSO_4 ($2,3 \text{ mmol L}^{-1}$), fluxo de ar = $1,0 \text{ L min}^{-1}$, pH = 3,0.).



Além disso, durante o experimento em circuito fechado com a presença dos íons Fe^{2+} no compartimento catódico também foi possível observar uma diminuição da concentração do ácido aminometilfosfônico, cuja concentração inicial foi de $13,6 \text{ mg L}^{-1}$, atingindo um máximo de $19,5 \text{ mg L}^{-1}$ em 24 h de experimento e posteriormente sua concentração reduziu para $14,10 \text{ mg L}^{-1}$ em 48 h, ou seja, levando-se em consideração que AMPA já estava presente na solução preparada a partir da formulação comercial no valor de aproximadamente 10 mg L^{-1} , todo o AMPA gerado no processo de degradação do glifosato foi degradado pelo processo eletro-Fenton como resultado da sua capacidade em oxidar ambas as espécies, glifosato e AMPA.

Portanto, os resultados obtidos indicaram que o acoplamento dos processos eletro-Fenton *in situ* integrado à célula combustível microbiana possui

uma alta eficiência de degradação de glifosato através dos processos simultâneos de oxidação Fenton e degradação microbiana utilizando as bactérias da espécie *Serratia Sp.*

4.7 Caracterização do feltro de carbono do bioânodo e do nanocompósito polimérico utilizados nos experimentos eletroquímicos

4.7.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

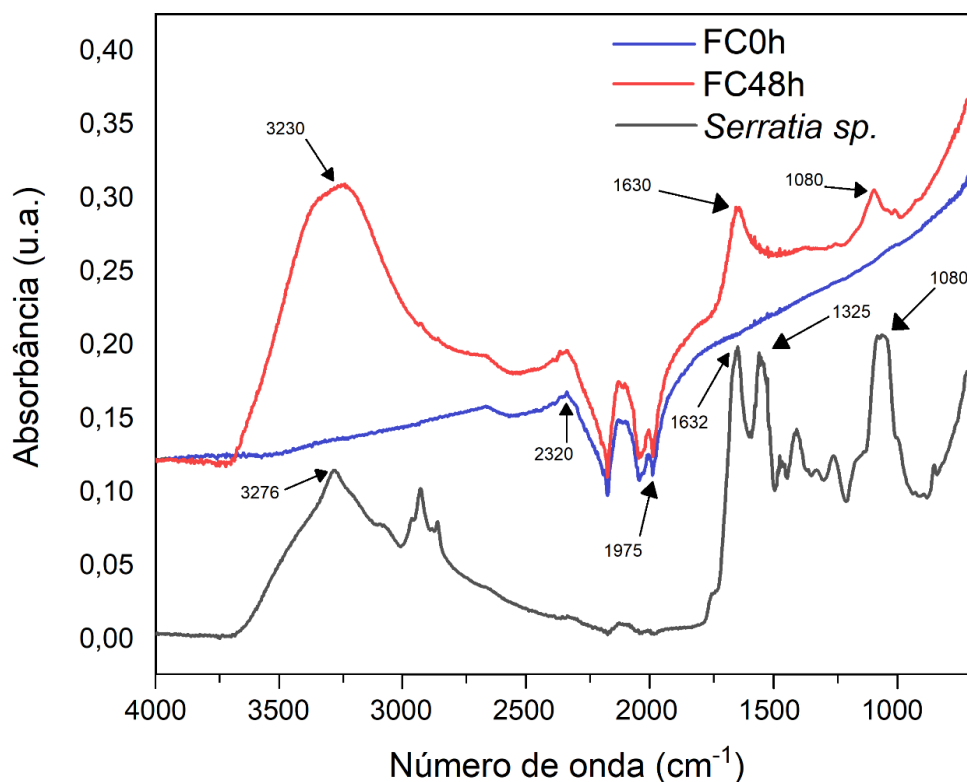
A técnica de espectroscopia vibracional de absorção na região infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é uma ferramenta importante para a caracterização do feltro de carbono usado como bioânodo e da membrana de troca catiônica em processos Bioeletro-Fenton (BEF). O FTIR permite identificar os grupos funcionais presentes na superfície desses materiais, bem como as possíveis alterações causadas pelo tratamento BEF [185,186].

No espectro de infravermelho com transformada de Fourier com reflectância total atenuada (FTIR-ATR) para o feltro de carbono do bioânodo após 48 h de experimento (FC48h) (Figura 21) foi observado o surgimento de uma banda larga de absorção em 3230 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da ligação O-H em ligações de hidrogênio. A presença desse grupo funcional no feltro de carbono após 48 h de experimento pode estar relacionado a estruturas lipídicas e de carboidratos presentes na bactéria *Serratia sp.* e que formou o biofilme bacteriano na superfície do eletrodo, sendo confirmado pelo aparecimento da banda de absorção em 3276 cm^{-1} no espectro de FTIR-ATR da bactéria *Serratia sp.* (Figura 21) [47,187].

As bandas de absorção nas regiões entre $2320 - 1975\text{ cm}^{-1}$ presentes em ambos os espectros do feltro de carbono, antes (FC0h) e após 48 h de experimento (FC48h), são atribuídas ao estiramento da ligação C-H de estruturas alifáticas, como os hidrocarbonetos, que são típicas estruturas de materiais carbonáceos de feltro de carbono [188,189]. A banda de absorção em 1630 cm^{-1} do espectro FC48h foi atribuída ao estiramento da ligação C=O de

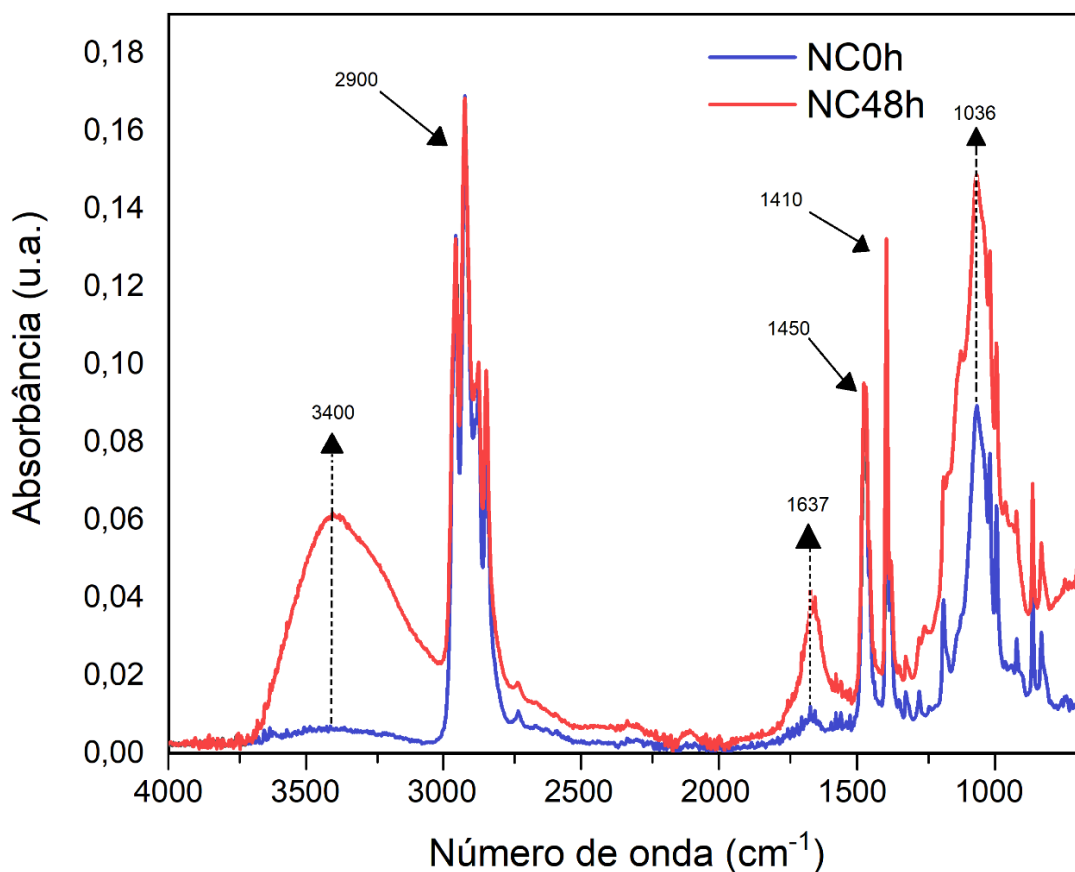
amida, oriunda de biomoléculas como peptídeos e proteínas da estrutura da bactéria, sendo confirmada pela banda correspondente em 1632 cm^{-1} no espectro da bactéria *Serratia sp* (Figura 21 x), indicando a formação de biofilme microbiano no feltro de carbono. Além disso, as bandas em 1632 cm^{-1} e 1325 cm^{-1} , que correspondem ao estiramento e dobramento N-H de amida, respectivamente, são frequentemente observadas em espectros de FTIR de bactérias [190,191]. na formação do biofilme, A banda em 1080 cm^{-1} é atribuída ao estiramento simétrico da ligação C-O-C em polissacarídeos [192], que são um dos principais componentes de substâncias poliméricas extracelulares e que compõem uma matriz tridimensional, semelhante a um gel, altamente hidratada nos agregados microbianos, facilitando a fixação, a incorporação e a imobilização dos microrganismos [193]. Esses resultados indicam, portanto, a formação do biofilme das bactérias da espécie *Serratia sp.* no eletrodo de feltro de carbono.

Figura 21: Espectros de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para as amostras do feltro de carbono antes (FC0h) e após (FC48h) os experimentos eletroquímicos na CCM e de bactéria da espécie *Serratia sp.*



Nos espectros de absorção no infravermelho do nanocompósito polimérico utilizado com membrana de troca catiônica (Figura 22 a-b), foram identificadas bandas de absorção em 3400 cm^{-1} em 1637 cm^{-1} em ambos os materiais antes (NC0h) e após (NC48h) os experimentos eletroquímicos. Essas bandas atribuídas ao estiramento da ligação O-H e à vibração de flexão das moléculas das moléculas de H_2O , respectivamente, aprisionadas no líquido iônico hexafluorofosfato de 1-butil-2,3-dimetilimidazolio ([BMMIM]PF₆) presente no nanocompósito [194]. A banda de absorção em torno de 2900 cm^{-1} é atribuída à vibração de estiramento da ligação C-H na cadeia alifática. As bandas centradas em torno de 1450 cm^{-1} e 1410 cm^{-1} são atribuídas a deformação axial simétrica C=C e C=N do anel imidazólico [194]. As bandas em 1036 cm^{-1} presentes nos espectros de ambos os materiais são associadas a formação da sílica condensada (Si-O-Si) da argila [195].

Figura 22: Espectros de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) do nanocompósito polimérico antes (NC0h) e após 48 h (NC48h) os experimentos eletroquímicos.



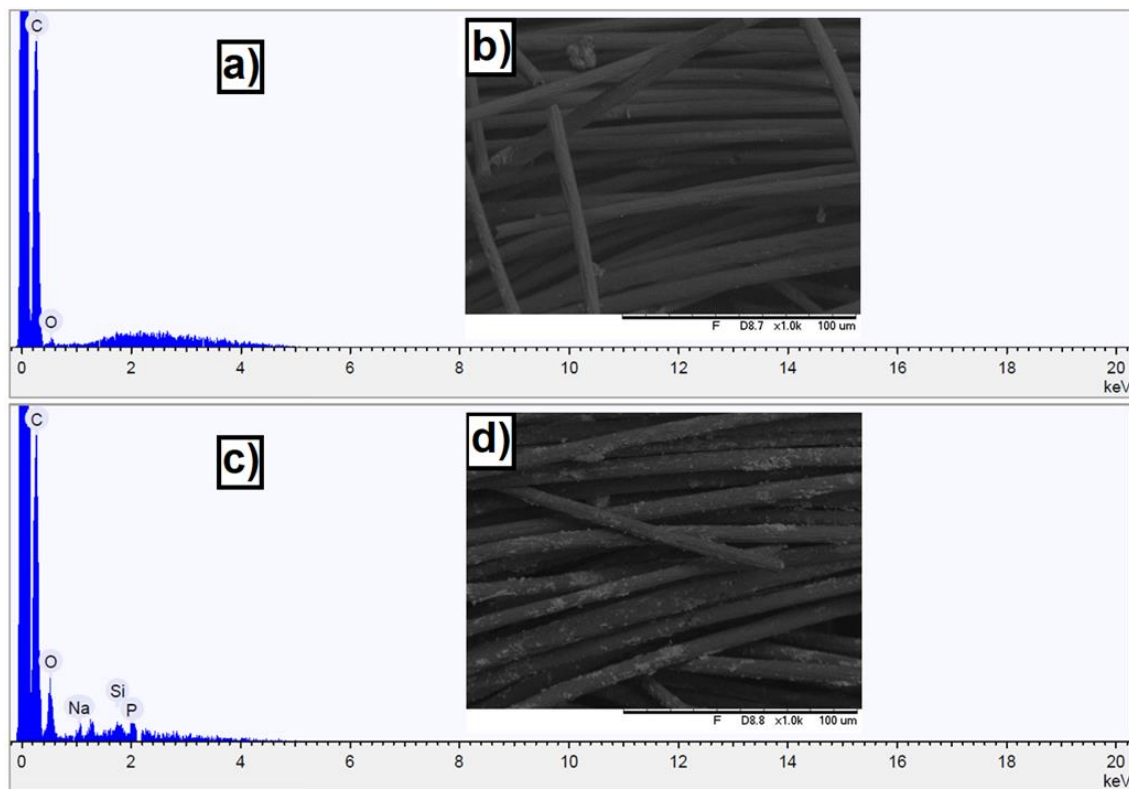
4.7.2 Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectroscopia por Energia Dispersiva (MEV-EDS)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) fornece imagens nítidas que permitem o estudo das microestruturas presentes na superfície dos materiais. Quando combinada a espectroscopia por energia dispersiva (EDS, do inglês *Energy Dispersion Spectroscopy*) possibilita a obtenção de informações qualitativas dos elementos que os compõe [196,197]. Deste modo, a técnica MEV-EDS foi utilizada para caracterizar o bioânodo depositado no eletrodo feltro de carbono, bem como o nanocompósito polimérico empregado como membrana de troca catiônica, antes e após sua utilização.

As Figuras 23 a-d exibem as fotomicrografias e os espectros obtidos nas análises de MEV-EDS para os eletrodos de feltro de carbono antes (FC-0h) e após a aplicação no sistema BEF (FC-48h). Com magnificação de 100 vezes nas fotomicrografias foi possível observar a superfície lisa do eletrodo feltro de carbono sem a presença de aglomerados, mostrando a eficiência do processo de limpeza do eletrodo empregado antes dos experimentos de biodegradação no compartimento anódico da CCM (Figura 23 b). Em adição, os espectros de EDS obtidos para FC-0h indicaram o carbono como composto majoritário e uma pequena composição de grupos oxigenados, características químicas do tipo do material utilizado como eletrodo (Figura 23 a).

Foram observados pontos esbranquiçados distribuídos na superfície do eletrodo feltro de carbono após utilização nos experimentos de biodegradação no compartimento anódico da CCM (Figura 23 d), os quais podem ser atribuídos à formação de biofilme bacteriano da *Serratia sp.* na superfície do feltro de carbono. Analisando os espectros EDS (Figura 23 c), observou-se a presença de elementos químicos inerentes ao processo, como o sódio (Na), proveniente do meio mineral M9; fósforo (P) proveniente do glifosato, e sílica (Si) da composição da bactéria *Serratia sp.*

Figura 23: Fotomicrografias e espectros obtidos por MEV-EDS para os eletrodos de feltro de carbono, antes da aplicação em sistema BEF (FC0H): a) EDS e b) fotomicrografia com magnificação de 100 vezes; e após a aplicação (FC48h): c) EDS e d) fotomicrografia com magnificação de 100 vezes.

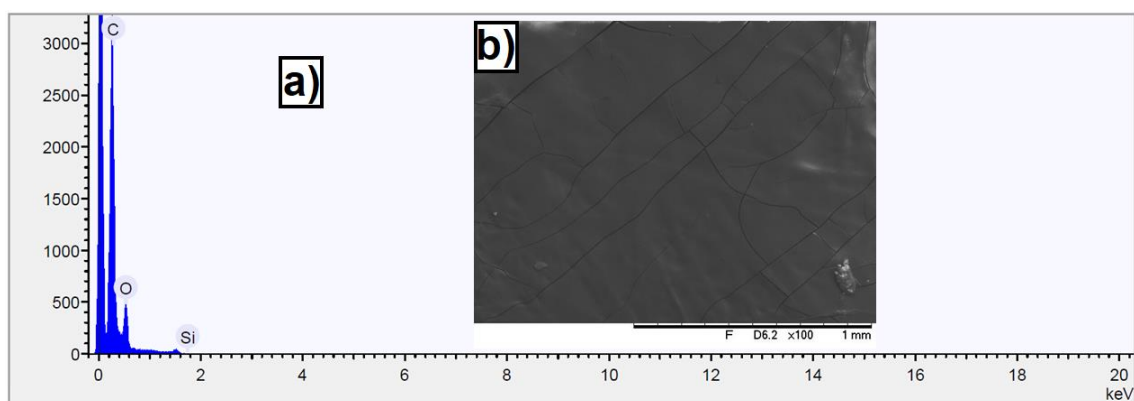


Com magnificação de 1000 vezes foi possível observar que a morfologia do eletrodo feltro de carbono é composta por fios lisos e uniformes transpassados (Figura 23 b). Entretanto, após 48 h de operação do eletrodo no compartimento anódico da CCM, o feltro de carbono passou a conter microestruturas de pontos esbranquiçados impregnados e distribuídos pela superfície dos fios (Figura 23 d), o que comprova a formação do biofilme devido a impregnação da bactéria *Serratia sp.* nos fios de feltro carbono.

As Figuras 24 a-b exibem as fotomicrografias e o espectro obtidos nas análises de MEV-EDS para a bactéria *Serratia sp.* Com magnificação de 100 vezes, foi observada uma superfície celular lisa característica da presença da cultura pura analisada e que foi inoculada em meio simples, tendo em vista que mecanismo de bioissorção, incluindo a adsorção, de elementos e sedimentos

provenientes de águas residuais podem tornar a superfície celular rugosa [198,199]. O conteúdo elementar caracterizado por MEV-EDS revelou a presença de elementos comuns, como carbono e oxigênio na superfície celular, bem como a presença de sílica (Si), sugerindo que esse último elemento na análise elementar do eletrodo de feltro de carbono após a aplicação do sistema BEF (FC48h) deve-se a impregnação da bactéria nos fios de carbono durante a formação do biofilme.

Figura 24: Fotomicrografia e espectro obtido por MEV-EDS para a bactéria *Serratia sp.*: e) EDS e f) fotomicrografia com magnificação de 100 vezes.

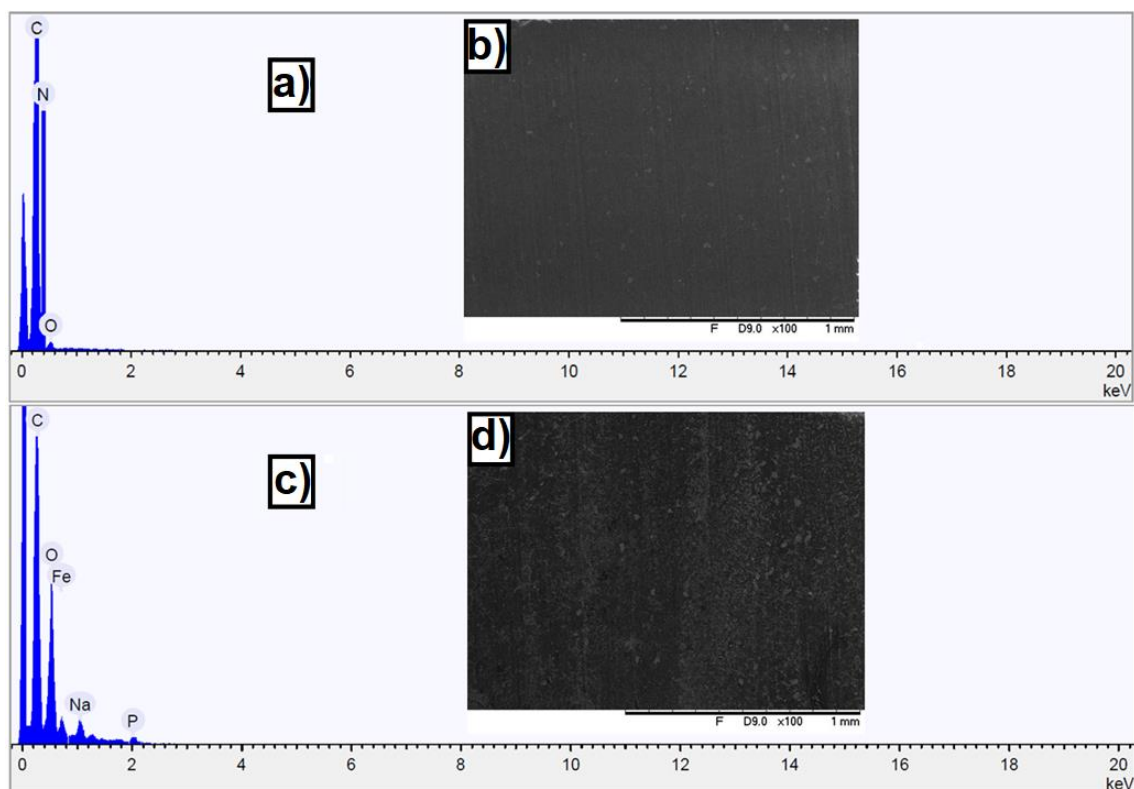


Conforme mostrado nas fotomicrografias obtidas neste trabalho, pode-se inferir que ocorreu a formação do biofilme na superfície do ânodo de feltro de carbono, comprovando sua imobilização e a ocorrência da biooxidação anódica durante a degradação do glifosato.

Para o nanocompósito empregado como membrana de troca catiônica na CCM, as micrografias e os espectros obtidos nas análises de MEV-EDS antes (NC0h) e depois (NC48h) da aplicação em sistema BEF são apresentadas na Figura 25 a-d. A informação elementar em NC0h é dada por carbono e oxigênio devido a sua natureza polimérica, e nitrogênio decorrente dos anéis imidazólicos presentes na estrutura (Figura 25 a) . Após a utilização como membrana de troca catiônica, foram observados os elementos Na, P e ferro (Fe) na superfície do nanocompósito (Figura 25 c). A presença desses elementos é atribuída ao

contato da membrana com as soluções eletrolíticas das células anódica e catódica, bem como a presença do elemento Fe na membrana ser um indicativo da adsorção dos íons $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ na estrutura do nanocompósito.

Figura 25: Fotomicrografias e espectros obtidos por MEV-EDS para as membranas nanocompósito, antes da aplicação em sistema BEF (NC0H): a) EDS e b) fotomicrografia com magnificação de 100 vezes; e após a aplicação (NC48h): c) EDS e d) fotomicrografia com magnificação de 100 vezes.



De acordo com Sowmya et al. [200] a presença de heteroátomos eletronegativos em redes poliméricas potencializa a adsorção de íons metálicos. Por isso, no presente estudo provavelmente o nitrogênio presente no nanocompósito promoveu a formação de interações eletrostáticas com os íons ferro, e consequentemente produziu sua remoção do meio aquoso. A menor disponibilidade de íons ferro no meio aquoso, pode resultar na redução das reações de Fenton e, consequentemente, em menores taxas de degradação de glifosato por essa via de degradação. Para evitar o problema mencionado, uma

opção é a utilização do processo eletro-Fenton heterogêneo, que faz uso de catalisadores sólidos reduzindo as perdas de ferro por adsorção. Além disso a utilização de catalisadores heterogêneos contendo óxidos de ferro ao invés de sais solúveis em processos eletro-Fenton pode diminuir os riscos associados a contaminação ambiental e potencializar a utilização de tecnologias acopladas para a remediação *in situ* de águas residuais [201].

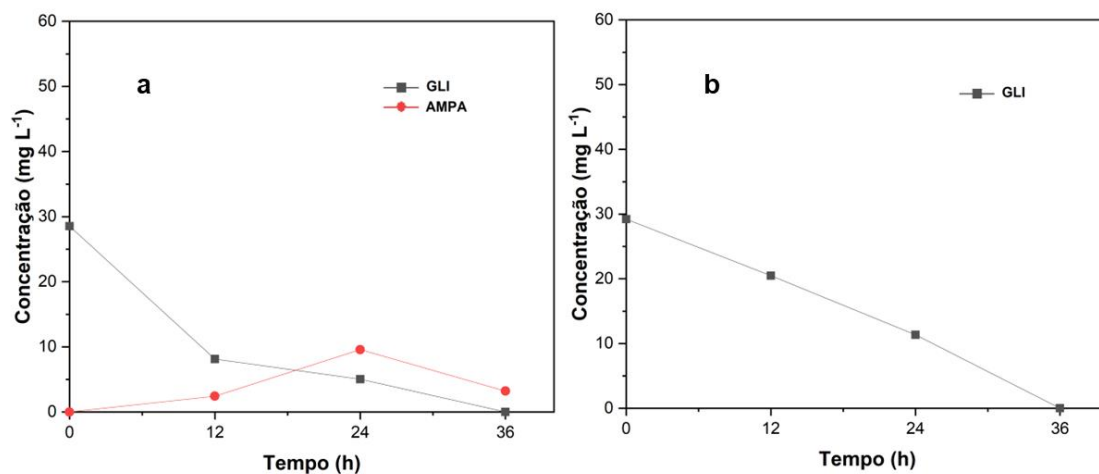
4.8 Aplicação de amostra de campo ao sistema Bioeletro-Fenton (BEF)

Após os experimentos eletroquímicos para o estudo de (bio)degradação através do processo Bioeletro-Fenton (BEF) dos analitos GLI e AMPA em solução sintética, uma amostra de campo coletada no Açude da Marcela foi utilizada para avaliação do funcionamento da CCM frente a interferentes orgânicos e inorgânicos comumente encontrados em águas naturais.

Inicialmente, a amostra *in natura* foi derivatizada conforme descrito na seção 3.2.1 para a determinação das concentrações de GLI e AMPA utilizando CLAE-DAD conforme as condições descritas na seção 3.2.2. Deste modo, a concentração de GLI encontrada na amostra de campo foi de $16,4 \text{ mg L}^{-1}$, não sendo detectado a presença do AMPA.

A amostra foi fortificada em $30,0 \text{ mg L}^{-1}$ de GLI com adição do produto comercial a base de glifosato para ser aplicada nos processos de biodegradação na célula anódica e eletro-Fenton na célula catódica, conforme as condições experimentais descritas na seção 3.8. As concentrações residuais dos analitos na amostra de água do açude após a biodegradação/degradação nos compartimentos anódico e compartimento catódico estão apresentadas nas Figuras 26 a-b.

Figura 26: Monitoramento das concentrações residuais de glifosato e AMPA em amostra de campo fortificada aplicada ao sistema BEF nos compartimentos anódico (a) e catódico (b), durante 36 h de experimento.



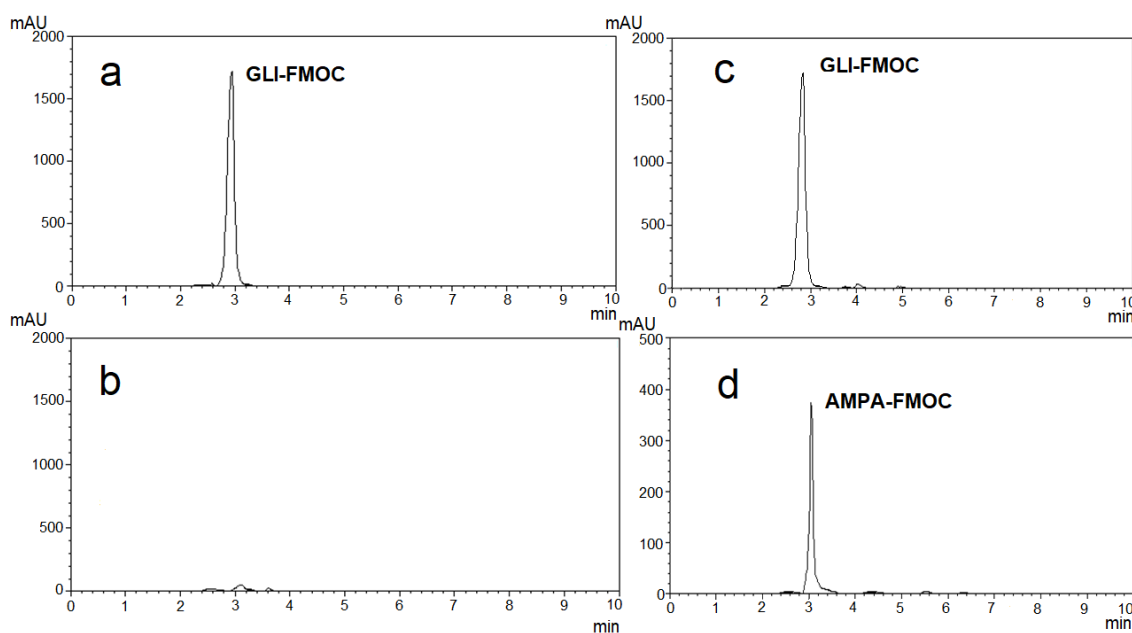
Com a aplicação do processo BEF na amostra de campo fortificada, foi possível obter 100,0% de degradação de GLI no compartimento anódico, com concentração inicial de GLI de 28,5 mg L⁻¹ e não sendo detectado GLI nesse compartimento após 36 h de experimento, sugerindo que o período investigado foi suficiente para a completa biodegradação do poluente em meio aquoso (Figura 26 a).

Para AMPA, apesar da fortificação prévia aos experimentos eletroquímicos, não foi possível detectar a sua presença na solução anódica. Entretanto, devido ao processo de biodegradação de GLI que ocorreu no compartimento anódico, foi observado um aumento de sua concentração, atingindo um máximo de 9,6 mg L⁻¹ em 24 h de experimento, com posterior diminuição da concentração para 3,2 mg L⁻¹ em 36 h de experimento. Uma vez que, acetato de sódio não foi adicionado à amostra de campo como fonte de carbono, a diminuição de sua disponibilidade devido à biodegradação do herbicida estimulou a biodegradação do metabólito ácido aminometilfosfônico, o que levou à diminuição da sua concentração após 24 h de experimento.

No compartimento catódico, não foi detectado a presença de GLI após 36 h de experimentos (100,0% de degradação), com concentração inicial do analito

de 29,1 mg L⁻¹. Durante os experimentos, não foi possível detectar a presença de AMPA com o processo de degradação de seu precursor pelo processo eletro-Fenton catódico, indicando que todo o AMPA gerado no processo de degradação do glifosato foi degradado pelo processo oxidativo de Fenton como resultado da sua capacidade em oxidar ambas as espécies, glifosato e AMPA. As Figuras 27 a-d apresentam os cromatogramas e das amostras de campo derivatizadas antes e após a aplicação no processo BEF.

Figura 27: Cromatogramas obtidos por CLAE/DAD das amostras de campo aplicadas ao sistema BEF e derivatizadas. (a) em 0 h no compartimento catódico, (b) em 36 h no compartimento catódico, (c) em 0 h no compartimento anódico (d) em 36 h no compartimento anódico.



Os resultados obtidos mostraram que o processo BEF foi capaz de degradar completamente o glifosato em ambos os compartimentos com a aplicação da amostra de campo fortificada com glifosato. Para o AMPA, ocorreu uma degradação parcial desse metabólito no compartimento anódico em 36 h de experimento, que não ocorreu nos experimentos no compartimento anódico em circuito fechado com a solução sintética. Esse comportamento pode ser atribuído

a biodegradação de AMPA pela bactéria *Serratia sp.* a partir da diminuição da concentração de GLI como fonte de carbono e energia.

4.9 Identificação dos produtos iônicos de (bio)degradação das amostras de campo

A amostra de água do açude Marcela foi analisada para a identificação dos compostos iônicos e os resultados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Íons identificados por cromatografia de íons na amostra do açude Marcela in natura (AC0h).

Amostra de campo <i>in natura</i> (AC0h)			
Íons	Concentração	Unidade	LD
Amônio	4,7	mg L ⁻¹	0,1
Nitrato	10,8	mg L ⁻¹	0,1
Nitrito	n.d.*	mg L ⁻¹	0,1
Fosfato	4,4	mg L ⁻¹	0,0
Cloreto	179,9	mg L ⁻¹	0,2
Fluoreto	0,3	mg L ⁻¹	0,0
Sulfato	40,2	mg L ⁻¹	0,2
Bromato	n.d.*	µg L ⁻¹	0,0
Cálcio	100,2	mg L ⁻¹	0,2
Magnésio	57,9	mg L ⁻¹	0,2
Potássio	35,9	mg L ⁻¹	0,2
Sódio	123,7	mg L ⁻¹	0,4
Clorito	n.d.*	mg L ⁻¹	0,1
Glifosato	n.d.*	µg L ⁻¹	100,0

*n.d.: não detectado (ou seja, a concentração é inferior ao limite de detecção desse composto/íon)

Os compostos identificados majoritariamente na amostra de campo *in natura* são oriundos de atividades antrópicas em torno do açude e de origem natural como resultado de degradação da matéria orgânica. A presença de nitrato, amônia e fósforo nessa amostra pode indicar contaminação no ambiente, sendo o nitrogênio amoniacal indicativo de aporte antropogênico de nutrientes, principalmente nitrogênio (N) e fósforo (P), por processo de eutrofização, ocasionado por poluição doméstica e lixiviação de componentes presentes em drenados agrícolas (pesticidas) utilizados na agricultura.

O açude Marcela é um reservatório que foi projetado para a irrigação de hortaliças e é conhecido pela destinação inadequada de esgotos domésticos que são descarregados sem tratamento nesse reservatório [202,203]. Além disso, os valores de concentração de magnésio, cálcio e cloreto obtidos na análise por cromatografia de íons estão associados a dureza e a salinidade da água do açude [203].

Para avaliar a influência das concentrações dos sais adicionados na amostra de campo durante o preparo das soluções, anódica e catódica, utilizadas no processo BEF, foi realizado a análise dessas soluções iniciais antes da aplicação das amostras no sistema BEF, com o objetivo de comparar esses resultados com aqueles obtidos após o experimento eletroquímico. A Tabela 2 apresenta os resultados dos compostos identificados por cromatografia iônica.

Tabela 2 - Íons identificados por cromatografia de íons nas soluções aquosas, anódica (SA_AC0h) e catódica (SC_AC0h), preparadas com a amostra de campo antes da aplicação no sistema BEF.

Íons	Solução anódica (SA_AC0h)	Solução catódica (SC_AC0h)	Unidade	LD
	Concentração	Concentração		
Amônio	408,6	33,4	mg L ⁻¹	0,1
Nitrato	3,9	10,7	mg L ⁻¹	0,1
Nitrito	5,8	n.d.*	mg L ⁻¹	0,1
Fosfato	0,3	4,0	mg L ⁻¹	0,0
Cloreto	5568,3	183,6	mg L ⁻¹	0,2
Fluoreto	2,4	0,6	mg L ⁻¹	0,0
Sulfato	668,4	5376,5	mg L ⁻¹	0,2
Bromato	n.d.*	n.d.*	µg L ⁻¹	0,0
Cálcio	283,9	58,1	mg L ⁻¹	0,2
Magnésio	219,9	38,9	mg L ⁻¹	0,2
Potássio	847,5	38,4	mg L ⁻¹	0,2
Sódio	3733,6	2443,2	mg L ⁻¹	0,4
Clorito	n.d.*	n.d.*	mg L ⁻¹	0,1
Glifosato	n.d.*	n.d.*	µg L ⁻¹	100,0

*n.d.: não detectado (ou seja, a concentração é inferior ao limite de detecção desse composto/íon)

Analisando os resultados obtidos para as soluções aquosas anódica e catódica preparadas para aplicação no sistema BEF, é possível observar que o aumento na concentração de alguns compostos em comparação a análise da amostra *in natura* (Tabela 1) deve-se a adição dos sais durante o preparo das amostras. O aumento da concentração de amônia, cloreto, sulfato, cálcio, magnésio, potássio e sódio deve-se a adição dos componentes para formação do meio mineral M9 (ver seção 3.3.4).

Após a aplicação das amostras de campo no sistema BEF, foi realizado a análise dos produtos obtidos com o processo de (bio)degradação na CCM. A

Tabela 3 mostra os resultados dos compostos identificados por cromatografia iônica para os efluentes anódico (EA_AC36h) e catódico (EC_AC36h) após 36 h de experimento.

Tabela 3 - Íons identificados por cromatografia de íons na água do açude, anódico (EA_AC36h) e catódico (EC_AC36h) após 36 h de experimento em sistema BEF.

Íons	Efluente anódico (EA_AC36h)	Efluente catódico (EC_AC36h)	Unidade	LD
	Concentração	Concentração		
Amônio	181,6	62,0	mg L ⁻¹	0,1
Nitrato	6,5	12,9	mg L ⁻¹	0,1
Nitrito	3,8	n.d.*	mg L ⁻¹	0,1
Fosfato	0,3	197,9	mg L ⁻¹	0,0
Cloreto	4414,6	1192,6	mg L ⁻¹	0,2
Fluoreto	1,4	1,7	mg L ⁻¹	0,0
Sulfato	716,9	6031,8	mg L ⁻¹	0,2
Bromato	n.d.*	n.d.*	µg L ⁻¹	0,0
Cálcio	60,7	44,2	mg L ⁻¹	0,2
Magnésio	93,7	39,0	mg L ⁻¹	0,2
Potássio	1037,7	202,7	mg L ⁻¹	0,2
Sódio	4086,6	3082,5	mg L ⁻¹	0,4
Clorito	n.d.*	n.d.*	mg L ⁻¹	0,1
Glifosato	n.d.*	n.d.*	µg L ⁻¹	100,0

*n.d.: não detectado (ou seja, a concentração é inferior ao limite de detecção desse composto/íon)

Comparando-se os resultados obtidos para a amostra de campo antes e após a sua aplicação no sistema BEF, foi possível observar mudanças nas concentrações de alguns íons devido aos processos de biodegradação e degradação na CCM. No compartimento anódico foi observado a diminuição da concentração de íons amônio como resultado do processo de oxidação biológica desse composto a nitrato pela bactéria *Serratia sp.* em processos de nitrificação

e desnitrificação simultânea (NDS), tendo em vista que bactérias do gênero *Serratia* são capazes de realizar NDS [204].

Estudos recentes têm buscado identificar esses microrganismos, principalmente bactérias, que podem participar de processos de NDS e possuem um vasto potencial para tratamento e remoção de nitrogênio de águas residuárias [205]. Além disso, o processo de oxidação da amônia a nitrato, degradação do glifosato e consequente bioacumulação de fosfato pela bactéria *Serratia sp.* durante o processo SND, pode ter favorecido o direcionamento do fluxo de elétrons no biofilme para o compartimento catódico, uma vez que a escolha dessa fonte de carbono e de sua concentração contribuem para direcionar o fluxo de elétrons no processo de remoção de nitrogênio [205].

No compartimento catódico, a análise do efluente permitiu confirmar que o aumento das concentrações de íons amônio, nitrato e, principalmente, de fósforo inorgânico proveniente do fosfato devido a mineralização do glifosato por eletrooxidação do herbicida através da reação de Fenton [206]. Além disso, pode-se também confirmar que o AMPA foi degradado simultaneamente nesse compartimento.

Dessa forma, os íons identificados nas amostras de campo por cromatografia de íons a partir da aplicação dessas amostras em sistema BEF permitiu avaliar que os produtos de degradação formados são resultado das reações bioquímicas de oxidação de glifosato pela bactéria *Serratia sp.* e que contribui para a geração de um fluxo de elétrons que alimentou a reação de Fenton no compartimento catódico possibilitando também a degradação e mineralização de glifosato e ácido aminometilfosfônico em meio aquoso.

5 CONCLUSÕES

O estudo propôs a avaliação do acoplamento de processo de biodegradação microbiana e oxidação por processo eletro-Fenton com a utilização de uma célula combustível microbiana (CCM) de câmara dupla para a degradação simultânea do herbicida glifosato e seu principal produto de degradação, o ácido aminometilfosfônico.

Desde a fase de aclimação da bactéria *Serratia sp.* ao meio suplementado com glifosato tinham-se indícios de que os microrganismos iriam se adaptar rapidamente às condições experimentais e promover uma eficiente degradação do glifosato em solução aquosa. Na avaliação do seu crescimento, foi observado uma boa adaptação das bactérias ao meio de cultivo com ausência de fase de latência nos primeiros dias de aclimação, o que permitiu a utilização desses microrganismos nos testes de biodegradação.

Com a realização dos testes de biodegradação/degradação em diferentes condições experimentais, inicialmente a hipótese de adsorção física pelo material dos eletrodos foi considerada insignificante com base nos baixos valores das taxas de degradação de glifosato obtidas durante 48 h de experimento no controle abiótico em comparação aos obtidos na CCM com circuito aberto avaliados no compartimento anódico. Nesse mesmo compartimento, houve uma eficiente remoção de glifosato nos testes com circuito fechado (CCM CF), sendo obtida a completa degradação do herbicida em 48 h de experimento, que pode estar relacionada a uma forte formação de biofilme no ânodo a partir dessa condição, que estimulou o metabolismo microbiano na geração de corrente para alimentação do sistema eletro-Fenton no compartimento catódico.

As taxas de degradação do glifosato obtidas no compartimento catódico também permitem inferir que o fluxo de elétrons proveniente da integração da biodegradação microbiana favoreceu a remoção do glifosato através do processo eletro-Fenton no cátodo da CCM. Em condição de circuito fechado e em solução aquosa contendo íons Fe^{2+} , foi obtido uma alta taxa de degradação de glifosato em 48 h de experimento. Nesse ponto, os resultados de degradação evidenciaram a importância da presença dos íons Fe^{2+} aliado a produção

progressiva de H_2O_2 no meio reacional para favorecer a reação de oxidação do contaminante pelo processo eletro-Fenton.

Além disso, a evidência de degradação do ácido aminometilfosfônico, produto de degradação do glifosato, no experimento em circuito fechado com a presença de íons Fe^{2+} na solução catódica permitiu inferir a capacidade do processo eletro-Fenton ter promovido a oxidação de ambos os analitos nessa condição experimental, fenômeno que não foi observado nos demais testes realizados na fase experimental.

Os resultados de FTIR e MEV permitiram a caracterização de cada material avaliado, feltro de carbono e nanocompósito polimérico. O FTIR mostrou as bandas características dos grupos funcionais presentes nos materiais, antes e após o processo de aplicação em sistema BEF, sendo permitido inferir a formação do biofilme das bactérias *Serratia sp* no feltro de carbono após a colonização microbiana. No caso do nanocompósito polimérico a análise por FTIR permitiu a identificação de grupos funcionais típicos dos materiais oriundos do seu processo de fabricação, permitindo inferir a estabilidade estrutural do material empregado como membrana de troca catiônica.

Já o MEV-EDS revelou a morfologia e a distribuição dos materiais antes e após a aplicação do feltro de carbono e do nanocompósito poliméricos no sistema BEF. Sendo destaca a formação de estruturas esbranquiçadas no feltro de carbono após os experimentos eletroquímicos, associadas ao biofilme bacteriano, comprovadas pela comparação elementar por MEV-EDS do feltro de carbono após o processo biooxidativo (FC48h) e da superfície celular da bactéria *Serratia sp*.

Para o nanocompósito polimérico, a análise elementar por MEV-EDS confirmou a presença de elementos inerentes as estruturas que compõem o material, assim como a constatação da possibilidade de ter ocorrido a adsorção física de Fe no nanocompósito, sendo a utilização eletro-Fenton heterogêneo apresentada como uma alternativa para mitigar esse fenômeno e, ainda, ser ambientalmente mais amigável em processos de tratamento, reduzindo as perdas de ferro por adsorção e os problemas de contaminação ambientais pelas espécies de ferro.

Na aplicação da amostra de campo no sistema BEF, foi possível constatar a presença de glifosato na amostra, avaliando-se a descontaminação da amostra devido a degradação do glifosato em ambos os compartimentos no período avaliado. No compartimento anódico foi observado a redução da concentração de AMPA atribuída a biooxidação do composto pela bactéria *Serratia sp.* após 24 h de experimento.

A identificação dos produtos de (bio)degradação da amostra de campo aplicada ao sistema BEF por cromatografia de íons confirmou o surgimento de produtos iônicos, fosfato, amônio e nitrato, inerentes aos processos de biodegradação e degradação na CCM. No compartimento anódico a redução da concentração de amônia e aumento da concentração de nitrato é indicativo de processos de nitrificação desse composto que favoreceu o direcionamento do fluxo de elétrons no biofilme bacteriano. Já no compartimento catódico, a observação do aumento das concentrações de íons amônio, nitrato e de fósforo inorgânico, proveniente de fosfato, confirmou a degradação e mineralização do glifosato e do AMPA através do processo eletro-Fenton, resultados esperados tendo em vista a eficiência desse processo obtido nos experimentos com solução sintética.

Portanto, depreende-se que o acoplamento dos processos de biodegradação anódica usando a bactéria *Serratia sp.* com processo eletro-Fenton através da oxidação do contaminante no cátodo da célula combustível microbiana foi eficiente na degradação simultânea do glifosato, obtendo-se altas taxas de degradação do pesticida no tempo experimental, tanto com a aplicação da solução sintética quanto da amostra de campo no sistema BEF, permitindo a sua avaliação como uma tecnologia promissora que pode contribuir significativamente para a degradação de contaminantes emergentes.

6 PERSPECTIVAS DO TRABALHO

São perspectivas do trabalho a realização das seguintes atividades:

- Realizar testes em controle abiótico e circuito aberto (CCM CA) da aplicação da amostra de campo ao sistema BEF;
- Utilizar eletro-Fenton heterogêneo acoplado a célula combustível microbiana para a avaliação da eficiência de degradação do glifosato em meio aquoso;
- Identificar os produtos de (bio)degradação do glifosato através da análise por cromatografia líquida e espectrometria de massas de alta resolução;
- Publicar artigos em periódico especializado Qualis A ou B.

7 REFERÊNCIAS

- [1] Repositório Institucional da UFMG: Extração de glifosato e ácido aminometilfosfônico da madeira de eucalipto e quantificação por HPLC-ICP-MS/MS <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/NCAP-AKHJ46> (accessed Jul 27, 2022).
- [2] van Bruggen, A.H.C.; He, M.M.; Shin, K.; Mai, V.; Jeong, K.C.; Finckh, M.R.; Morris, J.G. Environmental and Health Effects of the Herbicide Glyphosate. *Science of The Total Environment*, **2018**, 616–617, 255–268.
- [3] Brovini, E.M.; Cardoso, S.J.; Quadra, G.R.; Vilas-Boas, J.A.; Paranaíba, J.R.; Pereira, R. de O.; Mendonça, R.F. Glyphosate Concentrations in Global Freshwaters: Are Aquatic Organisms at Risk? *Environmental Science and Pollution Research*, **2021**, 28, 60635–60648.
- [4] Jain, M.; Khan, S.A.; Sharma, K.; Jadhao, P.R.; Pant, K.K.; Ziora, Z.M.; Blaskovich, M.A.T. Current Perspective of Innovative Strategies for Bioremediation of Organic Pollutants from Wastewater. *Bioresour Technol*, **2022**, 344, 126305.
- [5] Gandhi, K.; Khan, S.; Patrikar, M.; Markad, A.; Kumar, N.; Choudhari, A.; Sagar, P.; Indurkar, S. Exposure Risk and Environmental Impacts of Glyphosate: Highlights on the Toxicity of Herbicide Co-Formulants. *Environmental Challenges*, **2021**, 4, 100149.
- [6] Choe, Y.J.; Kim, J.; Byun, J.Y.; Kim, S.H. An Electro-Fenton System with Magnetite Coated Stainless Steel Mesh as Cathode. *Catal Today*, **2021**, 359, 16–22.
- [7] Thomas, N.; Dionysiou, D.D.; Pillai, S.C. Heterogeneous Fenton Catalysts: A Review of Recent Advances. *J Hazard Mater*, **2021**, 404, 124082.
- [8] Obileke, K.; Onyeaka, H.; Meyer, E.L.; Nwokolo, N. Microbial Fuel Cells, a Renewable Energy Technology for Bio-Electricity Generation: A Mini-Review. *Electrochem commun*, **2021**, 125, 107003.
- [9] Zhang, F.; Zhou, L.; Ma, S.; He, Y.; Li, P.; Zhang, X.; Lei, L. Highly Efficient Heterogeneous Electro-Fenton Degradation of Organic Pollutants Using a FeNi-OH/NF Cathode. *Sep Purif Technol*, **2023**, 314, 123604.
- [10] Li, S.; Hua, T.; Li, F.; Zhou, Q. Bio-electro-Fenton Systems for Sustainable Wastewater Treatment: Mechanisms, Novel Configurations, Recent Advances, LCA and Challenges. An Updated Review. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **2020**, 95, 2083–2097.
- [11] Soltani, F.; Navidjouy, N.; Rahimnejad, M. A Review on Bio-Electro-Fenton Systems as Environmentally Friendly Methods for Degradation of Environmental Organic Pollutants in Wastewater. *RSC Adv*, **2022**, 12, 5184–5213.

- [12] Dotor-Robayo, M.Y.; Guerrero-Dallos, J.A.; Martínez-Cordón, M.J. Influence of Monoammonium Phosphate on Glyphosate Adsorption-Desorption in Tropical Soils: Effect of the Order of Sorbate Additions. *Chemosphere*, **2022**, *303*, 135030.
- [13] Carneiro, R.T.A.; Taketa, T.B.; Gomes Neto, R.J.; Oliveira, J.L.; Campos, E.V.R.; de Moraes, M.A.; da Silva, C.M.G.; Beppu, M.M.; Fraceto, L.F. Removal of Glyphosate Herbicide from Water Using Biopolymer Membranes. *J Environ Manage*, **2015**, *151*, 353–360.
- [14] Biswas, B.; Goel, S. Electrocoagulation and Electrooxidation Technologies for Pesticide Removal from Water or Wastewater: A Review. *Chemosphere*, **2022**, *302*, 134709.
- [15] Feng, D.; Soric, A.; Boutin, O. Treatment Technologies and Degradation Pathways of Glyphosate: A Critical Review. *Science of The Total Environment*, **2020**, *742*, 140559.
- [16] Tran, M.H.; Nguyen, H.C.; Le, T.S.; Dang, V.A.D.; Cao, T.H.; Le, C.K.; Dang, T.-D. Degradation of Glyphosate Herbicide by an Electro-Fenton Process Using Carbon Felt Cathode. *Environ Technol*, **2021**, *42*, 1155–1164.
- [17] da Silva, V.E.C.; Tadayozzi, Y.S.; Putti, F.F.; Santos, F.A.; Forti, J.C. Degradation of Commercial Glyphosate-Based Herbicide via Advanced Oxidative Processes in Aqueous Media and Phytotoxicity Evaluation Using Maize Seeds. *Science of The Total Environment*, **2022**, *840*, 156656.
- [18] Feng, D.; Malleret, L.; Soric, A.; Boutin, O. Kinetic Study of Glyphosate Degradation in Wet Air Oxidation Conditions. *Chemosphere*, **2020**, *247*, 125930.
- [19] Brillas, E. Recent Development of Electrochemical Advanced Oxidation of Herbicides. A Review on Its Application to Wastewater Treatment and Soil Remediation. *J Clean Prod*, **2021**, *290*, 125841.
- [20] Olvera-Vargas, H.; Gore-Datar, N.; Garcia-Rodriguez, O.; Mutnuri, S.; Lefebvre, O. Electro-Fenton Treatment of Real Pharmaceutical Wastewater Paired with a BDD Anode: Reaction Mechanisms and Respective Contribution of Homogeneous and Heterogeneous OH. *Chemical Engineering Journal*, **2021**, *404*, 126524.
- [21] Alderete, B.L.; da Silva, J.; Godoi, R.; da Silva, F.R.; Taffarel, S.R.; da Silva, L.P.; Garcia, A.L.H.; Júnior, H.M.; de Amorim, H.L.N.; Picada, J.N. Evaluation of Toxicity and Mutagenicity of a Synthetic Effluent Containing Azo Dye after Advanced Oxidation Process Treatment. *Chemosphere*, **2021**, *263*, 128291.
- [22] Priyadarshini, M.; Ahmad, A.; Das, S.; Ghangrekar, M.M. Application of Innovative Electrochemical and Microbial Electrochemical Technologies for the Efficacious Removal of Emerging Contaminants from Wastewater: A Review. *J Environ Chem Eng*, **2022**, *10*, 108230.
- [23] Babuponnusami, A.; Muthukumar, K. A Review on Fenton and Improvements to the Fenton Process for Wastewater Treatment. *J Environ Chem Eng*, **2014**, *2*, 557–572.
- [24] Badellino, C.; Rodrigues, C.A.; Bertazzoli, R. Oxidation of Pesticides by in Situ Electrogenerated Hydrogen Peroxide: Study for the Degradation of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid. *J Hazard Mater*, **2006**, *137*, 856–864.

- [25] Kurt, U.; Apaydin, O.; Gonullu, M.T. Reduction of COD in Wastewater from an Organized Tannery Industrial Region by Electro-Fenton Process. *J Hazard Mater*, **2007**, *143*, 33–40.
- [26] Rahim Pouran, S.; Abdul Aziz, A.R.; Wan Daud, W.M.A. Review on the Main Advances in Photo-Fenton Oxidation System for Recalcitrant Wastewaters. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, **2015**, *21*, 53–69.
- [27] Sathe, S.M.; Chakraborty, I.; Dubey, B.K.; Ghangrekar, M.M. Microbial Fuel Cell Coupled Fenton Oxidation for the Cathodic Degradation of Emerging Contaminants from Wastewater: Applications and Challenges. *Environ Res*, **2022**, *204*, 112135.
- [28] Zhang, L.-J.; Tao, H.-C. Bioelectro-Fenton System for Environmental Pollutant Degradation. In *Bioelectrochemistry Stimulated Environmental Remediation*; Springer Singapore: Singapore, **2019**; pp. 245–267.
- [29] Feng, D.; Soric, A.; Boutin, O. Treatment Technologies and Degradation Pathways of Glyphosate: A Critical Review. *Science of The Total Environment*, **2020**, *742*, 140559.
- [30] Sviridov, A. V.; Shushkova, T. V.; Ermakova, I.T.; Ivanova, E. V.; Epiktetov, D.O.; Leontievsky, A.A. Microbial Degradation of Glyphosate Herbicides (Review). *Appl Biochem Microbiol*, **2015**, *51*, 188–195.
- [31] Zhan, H.; Feng, Y.; Fan, X.; Chen, S. Recent Advances in Glyphosate Biodegradation. *Appl Microbiol Biotechnol*, **2018**, *102*, 5033–5043.
- [32] Feng, D.; Soric, A.; Boutin, O. Treatment Technologies and Degradation Pathways of Glyphosate: A Critical Review. *Science of The Total Environment*, **2020**, *742*, 140559.
- [33] Hove-Jensen, B.; Zechel, D.L.; Jochimsen, B. Utilization of Glyphosate as Phosphate Source: Biochemistry and Genetics of Bacterial Carbon-Phosphorus Lyase. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **2014**, *78*, 176–197.
- [34] Li, J.; Chen, W.-J.; Zhang, W.; Zhang, Y.; Lei, Q.; Wu, S.; Huang, Y.; Mishra, S.; Bhatt, P.; Chen, S. Effects of Free or Immobilized Bacterium *Stenotrophomonas Acidaminiphila* Y4B on Glyphosate Degradation Performance and Indigenous Microbial Community Structure. *J Agric Food Chem*, **2022**, *70*, 13945–13958.
- [35] Rossi, F.; Carles, L.; Donnadieu, F.; Batisson, I.; Artigas, J. Glyphosate-Degrading Behavior of Five Bacterial Strains Isolated from Stream Biofilms. *J Hazard Mater*, **2021**, *420*, 126651.
- [36] Borggaard, O.K.; Gimsing, A.L. Fate of Glyphosate in Soil and the Possibility of Leaching to Ground and Surface Waters: A Review. *Pest Manag Sci*, **2008**, *64*, 441–456.
- [37] Rossi, F.; Carles, L.; Donnadieu, F.; Batisson, I.; Artigas, J. Glyphosate-Degrading Behavior of Five Bacterial Strains Isolated from Stream Biofilms. *J Hazard Mater*, **2021**, *420*, 126651.
- [38] Grube, M.; Kalnenieks, U.; Muter, O. Metabolic Response of Bacteria to Elevated Concentrations of Glyphosate-Based Herbicide. *Ecotoxicol Environ Saf*, **2019**, *173*, 373–380.

- [39] Najme, R.; Hussain, S.; Maqbool, Z.; Imran, M.; Mahmood, F.; Manzoor, H.; Yasmeen, T.; Shahzad, T. Biodecolorization of Reactive Yellow-2 by *Serratia* Sp. RN34 Isolated from Textile Wastewater. *Water Environment Research*, **2015**, *87*, 2065–2075.
- [40] Krzmarzick, M.J.; Taylor, D.K.; Fu, X.; McCutchan, A.L. Diversity and Niche of Archaea in Bioremediation. *Archaea*, **2018**, *2018*, 1–17.
- [41] Sonawane, J.M.; Rai, A.K.; Sharma, M.; Tripathi, M.; Prasad, R. Microbial Biofilms: Recent Advances and Progress in Environmental Bioremediation. *Science of The Total Environment*, **2022**, *824*, 153843.
- [42] Bala, S.; Garg, D.; Thirumalesh, B.V.; Sharma, M.; Sridhar, K.; Inbaraj, B.S.; Tripathi, M. Recent Strategies for Bioremediation of Emerging Pollutants: A Review for a Green and Sustainable Environment. *Toxics*, **2022**, *10*, 484.
- [43] Abatenh, E.; Gizaw, B.; Tsegaye, Z.; Wassie, M. The Role of Microorganisms in Bioremediation- A Review. *Open Journal of Environmental Biology*, **2017**, *2*, 038–046.
- [44] Khanpour-Alikelayeh, E.; Partovinia, A. Synergistic and Antagonistic Effects of Microbial Co-Culture on Bioremediation of Polluted Environments. In; **2021**; pp. 229–265.
- [45] Vishwakarma, G.S.; Bhattacharjee, G.; Gohil, N.; Singh, V. Current Status, Challenges and Future of Bioremediation. In *Bioremediation of Pollutants*; Elsevier, **2020**; pp. 403–415.
- [46] Couillard, D. The Use of Peat in Wastewater Treatment. *Water Res*, **1994**, *28*, 1261–1274.
- [47] Garcia, A.; Birolli, W.; Araújo, B.; Barbosa-Junior, , Antônio; Diniz, L.; Porto, A.; Romão, L. Biodegradation of the Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Fluoranthene by Fungi Strains from a Brazilian Tropical Peat. *J Braz Chem Soc*, **2021**.
- [48] Byg, A.; Martin-Ortega, J.; Glenk, K.; Novo, P. Conservation in the Face of Ambivalent Public Perceptions – The Case of Peatlands as ‘the Good, the Bad and the Ugly.’ *Biol Conserv*, **2017**, *206*, 181–189.
- [49] Mondial L, C. DE. Word Energy Resources: Peat. **2013**.
- [50] Romão, L.P.C.; Lead, J.R.; Rocha, J.C.; Oliveira, L.C. de; Rosa, A.H.; Mendonça, A.G.R.; Ribeiro, A. de S. Structure and Properties of Brazilian Peat: Analysis by Spectroscopy and Microscopy. *J Braz Chem Soc*, **2007**, *18*, 714–720.
- [51] Mohan, D.; Pittman Jr., C.U. Activated Carbons and Low Cost Adsorbents for Remediation of Tri- and Hexavalent Chromium from Water. *J Hazard Mater*, **2006**, *137*, 762–811.
- [52] Batista, A.P.S.; Romão, L.P.C.; Arguelho, M.L.P.M.; Garcia, C.A.B.; Alves, J.P.H.; Passos, E.A.; Rosa, A.H. Biosorption of Cr(III) Using in Natura and Chemically Treated Tropical Peats. *J Hazard Mater*, **2009**, *163*, 517–523.
- [53] Klavins, M.; Purmalis, O.; Rodinov, V. Peat Humic Acid Properties and Factors Influencing Their Variability in a Temperate Bog Ecosystem. *Estonian Journal of Ecology*, **2013**, *62*, 35.

- [54] Page, S.E.; Rieley, J.O.; Wüst, R. Chapter 7 Lowland Tropical Peatlands of Southeast Asia. In; **2006**; pp. 145–172.
- [55] Lourençato, L.F.; Bernardes, M.C.; Buch, A.C.; Silva-Filho, E.V. Lignin Phenols in the Paleoenvironmental Reconstruction of High Mountain Peatlands from Atlantic Rainforest, SE - Brazil. *Catena (Amst)*, **2019**, *172*, 509–515.
- [56] Garcia, A.C.F.S. Bioprospecção e Obtenção de Um Bioproduto Utilizando Micro-Organismos Da Turfa Para a Biodegradação de Hidrocarboneto Policíclico Aromático (HPA), **2016**.
- [57] Garcia, A.C.F.S.; Araújo, B.R.; Birolli, W.G.; Marques, C.G.; Diniz, L.E.C.; Barbosa, A.M.; Porto, A.L.M.; Romão, L.P.C. Fluoranthene Biodegradation by *Serratia* Sp. AC-11 Immobilized into Chitosan Beads. *Appl Biochem Biotechnol*, **2019**, *188*, 1168–1184.
- [58] Por, O.; Alves, R.; Adriano, S.; Martins, A.M.; Pedreira, J.; Rômulo, N.; Leal, A. Geologia e Recursos Minerais Do Estado de Sergipe. **1998**.
- [59] Romão, L.P.C.; Lead, J.R.; Rocha, J.C.; Oliveira, L.C. de; Rosa, A.H.; Mendonça, A.G.R.; Ribeiro, A. de S. Structure and Properties of Brazilian Peat: Analysis by Spectroscopy and Microscopy. *J Braz Chem Soc*, **2007**, *18*, 714–720.
- [60] Cunha, G. da C.; Romão, L.P.C.; Santos, M.C.; Araújo, B.R.; Navickiene, S.; de Pádua, V.L. Adsorption of Trihalomethanes by Humin: Batch and Fixed Bed Column Studies. *Bioresour Technol*, **2010**, *101*, 3345–3354.
- [61] Costa, A.S.; Romão, L.P.C.; Araújo, B.R.; Lucas, S.C.O.; Maciel, S.T.A.; Wisniewski, A.; Alexandre, M.R. Environmental Strategies to Remove Volatile Aromatic Fractions (BTEX) from Petroleum Industry Wastewater Using Biomass. *Bioresour Technol*, **2012**, *105*, 31–39.
- [62] LIMA, R.C.C. da; COSTA, I.V.G. da; SILVA, J.F. da; TESCH, N.A.; VARÃO, P.H.M.; SILVA, J.C.V.G. da; DELGADO, I.M. de; PEDREIRA, A.J. Projeto Turfa Na Faixa Costeira Bahia-Sergipe: Relatório Final. **1983**.
- [63] Carvalho, P.H.V. de; Jesus, A.M.D. de; Prata, V.M.; Bezerra, D.S.S.; Romão, L.P.C.; Navickiene, S. Tropical Peat as a Versatile Material for Solid-Phase Extraction of Pesticides from Medicinal Plant *Cordia Salicifolia*. *J Braz Chem Soc*, **2010**, *21*, 659–664.
- [64] Santos, A.S.M.S.J.; Aquino, A.; Romão, L.P.C.; Navickiene, S. A Novel Application of Natural Peat for Solid-Phase Extraction of Pyrimethanil, Flumetralin, and Kresoxim-Methyl in Water Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *ISRN Chromatography*, **2012**, *2012*, 1–5.
- [65] Cerqueira, S. da C.A.; Romão, L.P.C.; Lucas, S.C.O.; Fraga, L.E.; Simões, M.L.; Hammer, P.; Lead, J.R.; Mangoni, A.P.; Mangrich, A.S. Spectroscopic Characterization of the Reduction and Removal of Chromium (VI) by Tropical Peat and Humin. *Fuel*, **2012**, *91*, 141–146.
- [66] Nadais, H.; Li, X.; Alves, N.; Couras, C.; Andersen, H.R.; Angelidaki, I.; Zhang, Y. Bio-Electro-Fenton Process for the Degradation of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in Wastewater. *Chemical Engineering Journal*, **2018**, *338*, 401–410.

- [67] Ziembowicz, S.; Kida, M. Limitations and Future Directions of Application of the Fenton-like Process in Micropollutants Degradation in Water and Wastewater Treatment: A Critical Review. *Chemosphere*, **2022**, 296, 134041.
- [68] Raj, R.; Tripathi, A.; Das, S.; Ghangrekar, M.M. Removal of Caffeine from Wastewater Using Electrochemical Advanced Oxidation Process: A Mini Review. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, **2021**, 4, 100129.
- [69] Li, S.; Hua, T.; Yuan, C.-S.; Li, B.; Zhu, X.; Li, F. Degradation Pathways, Microbial Community and Electricity Properties Analysis of Antibiotic Sulfamethoxazole by Bio-Electro-Fenton System. *Bioresour Technol*, **2020**, 298, 122501.
- [70] Sathe, S.M.; Chakraborty, I.; Dubey, B.K.; Ghangrekar, M.M. Microbial Fuel Cell Coupled Fenton Oxidation for the Cathodic Degradation of Emerging Contaminants from Wastewater: Applications and Challenges. *Environ Res*, **2022**, 204, 112135.
- [71] Koffi, N.J.; Okabe, S. Bioelectrochemical Anoxic Ammonium Nitrogen Removal by an MFC Driven Single Chamber Microbial Electrolysis Cell. *Chemosphere*, **2021**, 274, 129715.
- [72] Wang, Y.; Feng, C.; Li, Y.; Gao, J.; Yu, C.-P. Enhancement of Emerging Contaminants Removal Using Fenton Reaction Driven by H₂O₂-Producing Microbial Fuel Cells. *Chemical Engineering Journal*, **2017**, 307, 679–686.
- [73] Sathe, S.M.; Chakraborty, I.; Sankar Cheela, V.R.; Chowdhury, S.; Dubey, B.K.; Ghangrekar, M.M. A Novel Bio-Electro-Fenton Process for Eliminating Sodium Dodecyl Sulphate from Wastewater Using Dual Chamber Microbial Fuel Cell. *Bioresour Technol*, **2021**, 341, 125850.
- [74] Hussain, S.; Aneggi, E.; Briguglio, S.; Mattiussi, M.; Gelao, V.; Cabras, I.; Zorzenon, L.; Trovarelli, A.; Goi, D. Enhanced Ibuprofen Removal by Heterogeneous-Fenton Process over Cu/ZrO₂ and Fe/ZrO₂ Catalysts. *J Environ Chem Eng*, **2020**, 8, 103586.
- [75] Aboudalle, A.; Djelal, H.; Domergue, L.; Fourcade, F.; Amrane, A. A Novel System Coupling an Electro-Fenton Process and an Advanced Biological Process to Remove a Pharmaceutical Compound, Metronidazole. *J Hazard Mater*, **2021**, 415, 125705.
- [76] Zhang, F.; Tian, L.; He, Z. Powering a Wireless Temperature Sensor Using Sediment Microbial Fuel Cells with Vertical Arrangement of Electrodes. *J Power Sources*, **2011**, 196, 9568–9573.
- [77] Koffi, N.J.; Okabe, S. Bioelectrochemical Anoxic Ammonium Nitrogen Removal by an MFC Driven Single Chamber Microbial Electrolysis Cell. *Chemosphere*, **2021**, 274, 129715.
- [78] Nastro, R.A.; Flagiello, F.; Silvestri, N.; Gambino, E.; Falcucci, G.; Chandrasekhar, K. Use of Biochar-Based Cathodes and Increase in the Electron Flow by *Pseudomonas Aeruginosa* to Improve Waste Treatment in Microbial Fuel Cells. *Processes*, **2021**, 9, 1941.
- [79] Gökkuş, Ö.; Yıldız, N.; Koparal, A.S.; Yıldız, Y.Ş. Evaluation of the Effect of Oxygen on Electro-Fenton Treatment Performance for Real Textile Wastewater

Using the Taguchi Approach. *International Journal of Environmental Science and Technology*, **2018**, 15, 449–460.

- [80] Mousset, E.; Doudrick, K. A Review of Electrochemical Reduction Processes to Treat Oxidized Contaminants in Water. *Curr Opin Electrochem*, **2020**, 22, 221–227.
- [81] Mousset, E.; Oturan, N.; Oturan, M.A. An Unprecedented Route of OH Radical Reactivity Evidenced by an Electrocatalytical Process: Ipso-Substitution with Perhalogenocarbon Compounds. *Appl Catal B*, **2018**, 226, 135–146.
- [82] Nidheesh, P.V.; Ganiyu, S.O.; Kuppam, C.; Mousset, E.; Samsudeen, N.; Olvera-Vargas, H.; Kumar, G. Bioelectrochemical Cells as a Green Energy Source for Electrochemical Treatment of Water and Wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, **2022**, 50, 103232.
- [83] Li, S.; Hua, T.; Yuan, C.-S.; Li, B.; Zhu, X.; Li, F. Degradation Pathways, Microbial Community and Electricity Properties Analysis of Antibiotic Sulfamethoxazole by Bio-Electro-Fenton System. *Bioresour Technol*, **2020**, 298, 122501.
- [84] Grube, M.; Kalnenieks, U.; Muter, O. Metabolic Response of Bacteria to Elevated Concentrations of Glyphosate-Based Herbicide. *Ecotoxicol Environ Saf*, **2019**, 173, 373–380.
- [85] Najme, R.; Hussain, S.; Maqbool, Z.; Imran, M.; Mahmood, F.; Manzoor, H.; Yasmeen, T.; Shahzad, T. Biodecolorization of Reactive Yellow-2 by *Serratia* Sp. RN34 Isolated from Textile Wastewater. *Water Environment Research*, **2015**, 87, 2065–2075.
- [86] Pereira, H.A.; Hernandez, P.R.T.; Netto, M.S.; Reske, G.D.; Vieceli, V.; Oliveira, L.F.S.; Dotto, G.L. Adsorbents for Glyphosate Removal in Contaminated Waters: A Review. *Environ Chem Lett*, **2021**, 19, 1525–1543.
- [87] National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID (2020) 3496, Glifosato. *PubChem*, **2023**.
- [88] Borggaard, O.K.; Gimsing, A.L. Fate of Glyphosate in Soil and the Possibility of Leaching to Ground and Surface Waters: A Review. *Pest Manag Sci*, **2008**, 64, 441–456.
- [89] Carretta, L.; Cardinali, A.; Marotta, E.; Zanin, G.; Masin, R. A New Rapid Procedure for Simultaneous Determination of Glyphosate and AMPA in Water at Sub Mg/L Level. *J Chromatogr A*, **2019**, 1600, 65–72.
- [90] Giesy, J.P.; Dobson, S.; Solomon, K.R. Ecotoxicological Risk Assessment for Roundup® Herbicide, **2000**, 35–120.
- [91] Siehl, D.L. Inhibitors of EPSP Synthase, Glutamine Synthetase and Histidine Synthesis. *Herbicide Activity: Toxicology, Biochemistry and Molecular Biology*, **1997**, 1, 37–68.
- [92] Schuette, Jeff. Environmental Fate of Glyphosate. *Monitoring & Pest Management Department of Pesticide Regulation Sacramento, CA.*, **1998**, 1, 1–13.
- [93] Bai, S.H.; Ogbourne, S.M. Glyphosate: Environmental Contamination, Toxicity and Potential Risks to Human Health via Food Contamination. *Environmental Science and Pollution Research*, **2016**, 23, 18988–19001.

- [94] Szekacs, A.; Darvas, B. Forty Years with Glyphosate. *Herbicides - Properties, Synthesis and Control of Weeds*, **2012**, 247–284.
- [95] Laitinen, P.; Siimes, K.; Eronen, L.; Rämö, S.; Welling, L.; Oinonen, S.; Mattsoff, L.; Ruohonen-Lehto, M. Fate of the Herbicides Glyphosate, Glufosinate-Ammonium, Phenmedipham, Ethofumesate and Metamitron in Two Finnish Arable Soils. *Pest Manag Sci*, **2006**, 62, 473–491.
- [96] Souza, D.R. de; Trovó, A.G.; Antoniosi Filho, N.R.; Silva, M.A.A.; Machado, A.E.H. Degradation of the Commercial Herbicide Glyphosate by Photo-Fenton Process: Evaluation of Kinetic Parameters and Toxicity. *J Braz Chem Soc*, **2013**.
- [97] Pires, N.L.; Passos, C.J.S.; Morgado, M.G.A.; Mello, D.C.; Infante, C.M.C.; Caldas, E.D. Determination of Glyphosate, AMPA and Glufosinate by High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection in Waters of the Santarém Plateau, Brazilian Amazon. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, **2020**, 55, 794–802.
- [98] de Azeredo Morgado, M.G.; Passos, C.J.S.; Garnier, J.; de Lima, L.A.; de Alcântara Mendes, R.; Samson-Brais, É.; Lucotte, M. Large-Scale Agriculture and Environmental Pollution of Ground and Surface Water and Sediment by Pesticides in the Brazilian Amazon: The Case of the Santarém Region. *Water Air Soil Pollut*, **2023**, 234, 150.
- [99] Okada, E.; Coggan, T.; Anumol, T.; Clarke, B.; Allinson, G. A Simple and Rapid Direct Injection Method for the Determination of Glyphosate and AMPA in Environmental Water Samples. *Anal Bioanal Chem*, **2019**, 411, 715–724.
- [100] Nowack, B.; Stone, A.T. Manganese-Catalyzed Degradation of Phosphonic Acids. *Environ Chem Lett*, **2003**, 1, 24–31.
- [101] Wang, S.; Seiwert, B.; Kästner, M.; Miltner, A.; Schäffer, A.; Reemtsma, T.; Yang, Q.; Nowak, K.M. (Bio)Degradation of Glyphosate in Water-Sediment Microcosms – A Stable Isotope Co-Labeling Approach. *Water Res*, **2016**, 99, 91–100.
- [102] Levine, S.L.; von Mérey, G.; Minderhout, T.; Manson, P.; Sutton, P. Aminomethylphosphonic Acid Has Low Chronic Toxicity to *Daphnia Magna* and *Pimephales Promelas*. *Environ Toxicol Chem*, **2015**, 34, 1382–1389.
- [103] Villamar-Ayala, C.A.; Carrera-Cevallos, J.V.; Vasquez-Medrano, R.; Espinoza-Montero, P.J. Fate, Eco-Toxicological Characteristics, and Treatment Processes Applied to Water Polluted with Glyphosate: A Critical Review. *Crit Rev Environ Sci Technol*, **2019**, 49, 1476–1514.
- [104] Carretta, L.; Cardinali, A.; Marotta, E.; Zanin, G.; Masin, R. A New Rapid Procedure for Simultaneous Determination of Glyphosate and AMPA in Water at Sub Mg/L Level. *J Chromatogr A*, **2019**, 1600, 65–72.
- [105] Yusà, V.; Sanchís, Y.; Dualde, P.; Carbonell, E.; Coscollà, C. Quick Determination of Glyphosate and AMPA at Sub Mg/L in Drinking Water by Direct Injection into LC-MS/MS. *Talanta Open*, **2021**, 4, 100061.
- [106] Demonte, L.D.; Michlig, N.; Gaggiotti, M.; Adam, C.G.; Beldoménico, H.R.; Repetti, M.R. Determination of Glyphosate, AMPA and Glufosinate in Dairy Farm Water from Argentina Using a Simplified UHPLC-MS/MS Method. *Science of The Total Environment*, **2018**, 645, 34–43.

- [107] Huhn, C. More and Enhanced Glyphosate Analysis Is Needed. *Anal Bioanal Chem*, **2018**, *410*, 3041–3045.
- [108] Bento, M. Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid (AMPA) Behavior in Loess Soils and off-Site Transport Risk Assessment Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid (AMPA) Behavior in Loess Soils and off-Site Transport Risk Assessment-Célia P.
- [109] (Aminomethyl)phosphonic acid CAS#: 1066-51-9
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB5139354_EN.htm
 (accessed Jul 28, 2022).
- [110] 1071-83-6 CAS MSDS (Glyphosate) Melting Point Boiling Point Density CAS Chemical Properties
https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_US_CB7680517.aspx
 (accessed Jul 28, 2022).
- [111] WHO. Guidelines for Drinking-Water Quality, 4th Edition, Incorporating the 1st Addendum. **2017**.
- [112] National Primary Drinking Water Regulations | US EPA
<https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations> (accessed Jul 28, 2022).
- [113] Álvarez Bayona, M.A.; Maturana Córdoba, A.; Gallardo Amaya, R.J.; Muñoz Acevedo, A. Occurrence of Glyphosate in Surface and Drinking Water Sources in Cúcuta, Norte de Santander, and Its Removal Using Membrane Technology. *Front Environ Sci*, **2022**, *10*.
- [114] Cristofaro, C.D.S.; Branco, C.W.C.; Rocha, M.I. de A.; Portugal, S.D.G.M. Assessing Glyphosate Concentrations in Six Reservoirs of Paraíba Do Sul and Guandu River Basins in Southeast Brazil. *Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, **2021**, *16*, 1.
- [115] Yusà, V.; Sanchís, Y.; Dualde, P.; Carbonell, E.; Coscollà, C. Quick Determination of Glyphosate and AMPA at Sub Mg/L in Drinking Water by Direct Injection into LC-MS/MS. *Talanta Open*, **2021**, *4*, 100061.
- [116] Jia, Y.; Sun, S.; Wang, S.; Yan, X.; Qian, J.; Pan, B. Phosphorus in Water: A Review on the Speciation Analysis and Species Specific Removal Strategies. *Crit Rev Environ Sci Technol*, **2023**, *53*, 435–456.
- [117] Shu, H.; Wang, S.; Liu, B.; Ma, J. Effects of Salt Matrices on the Determination of Glyphosate, Glufosinate, Aminomethylphosphonic Acid and 2-Aminoethylphosphonic Acid Using Reversed-Phase Liquid Chromatography after Fluorescence Derivatization. *Microchemical Journal*, **2022**, *179*, 107659.
- [118] Martin-Reina, J.; Dahiri, B.; Carbonero-Aguilar, P.; Soria-Díaz, M.E.; González, A.G.; Bautista, J.; Moreno, I. Validation of a Simple Method for the Determination of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in Human Urine by UPLC-MS/MS. *Microchemical Journal*, **2021**, *170*, 106760.
- [119] Catrinck, T.C.P.G.; Dias, A.; Aguiar, M.C.S.; Silvério, F.O.; Fidêncio, P.H.; Pinho, G.P. A Simple and Efficient Method for Derivatization of Glyphosate and AMPA Using 9-Fluorenylmethyl Chloroformate and Spectrophotometric Analysis. *J Braz Chem Soc*, **2014**.

- [120] Tarazona, J. v.; Court-Marques, D.; Tiramani, M.; Reich, H.; Pfeil, R.; Istace, F.; Crivellente, F. Glyphosate Toxicity and Carcinogenicity: A Review of the Scientific Basis of the European Union Assessment and Its Differences with IARC. *Arch Toxicol*, **2017**, *91*, 2723–2743.
- [121] Gandhi, K.; Khan, S.; Patrikar, M.; Markad, A.; Kumar, N.; Choudhari, A.; Sagar, P.; Indurkar, S. Exposure Risk and Environmental Impacts of Glyphosate: Highlights on the Toxicity of Herbicide Co-Formulants. *Environmental Challenges*, **2021**, *4*, 100149.
- [122] Vereecken, H. Mobility and Leaching of Glyphosate: A Review. *Pest Manag Sci*, **2005**, *61*, 1139–1151.
- [123] Ruiz-Toledo, J.; Castro, R.; Rivero-Pérez, N.; Bello-Mendoza, R.; Sánchez, D. Occurrence of Glyphosate in Water Bodies Derived from Intensive Agriculture in a Tropical Region of Southern Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol*, **2014**, *93*, 289–293.
- [124] Cengiz, M.; Basancelebi, O.; of, Y.K.-T.T.J.; 2017, undefined. Glyphosate Residues in Drinking Waters and Adverse Health Effects. *dergipark.org.tr*, **2017**, *2*, 247–258.
- [125] Fernandes, G.; Aparicio, V.C.; Bastos, M.C.; de Gerónimo, E.; Labanowski, J.; Prestes, O.D.; Zanella, R.; dos Santos, D.R. Indiscriminate Use of Glyphosate Impregnates River Epilithic Biofilms in Southern Brazil. *Science of The Total Environment*, **2019**, *651*, 1377–1387.
- [126] Moreira, J.C.; Peres, F.; Simões, A.C.; Pignati, W.A.; Dores, E. de C.; Vieira, S.N.; Strüssmann, C.; Mott, T. Contaminação de Águas Superficiais e de Chuva Por Agrotóxicos Em Uma Região Do Estado Do Mato Grosso. *Cien Saude Colet*, **2012**, *17*, 1557–1568.
- [127] Marques, J.G. de C.; Veríssimo, K.J. da S.; Fernandes, B.S.; Ferreira, S.R. de M.; Montenegro, S.M.G.L.; Motteran, F. Glyphosate: A Review on the Current Environmental Impacts from a Brazilian Perspective. *Bull Environ Contam Toxicol*, **2021**, *107*, 385–397.
- [128] Ojelade, B.S.; Durowoju, O.S.; Adesoye, P.O.; Gibb, S.W.; Ekosse, G.-I. Review of Glyphosate-Based Herbicide and Aminomethylphosphonic Acid (AMPA): Environmental and Health Impacts. *Applied Sciences*, **2022**, *12*, 8789.
- [129] Ingaramo, P.; Alarcón, R.; Muñoz-de-Toro, M.; Luque, E.H. Are Glyphosate and Glyphosate-Based Herbicides Endocrine Disruptors That Alter Female Fertility? *Mol Cell Endocrinol*, **2020**, *518*, 110934.
- [130] Jarrell, Z.R.; Ahammad, M.U.; Benson, A.P. Glyphosate-Based Herbicide Formulations and Reproductive Toxicity in Animals. *Vet Anim Sci*, **2020**, *10*, 100126.
- [131] Muñoz, J.P.; Bleak, T.C.; Calaf, G.M. Glyphosate and the Key Characteristics of an Endocrine Disruptor: A Review. *Chemosphere*, **2021**, *270*, 128619.
- [132] Khot, R.S.; Bhise, A.; Joshi, R.; Patil Ambade, N. Glyphosate Poisoning with Acute Fulminant Hepatic Failure. *Asia Pac J Med Toxicol*, **2018**, *7*, 86–88.

- [133] Richard, S.; Moslemi, S.; Sipahutar, H.; Benachour, N.; Seralini, G.-E. Differential Effects of Glyphosate and Roundup on Human Placental Cells and Aromatase. *Environ Health Perspect*, **2005**, *113*, 716–720.
- [134] Agostini, L.P.; Dettogni, R.S.; dos Reis, R.S.; Stur, E.; dos Santos, E.V.W.; Ventorim, D.P.; Garcia, F.M.; Cardoso, R.C.; Graceli, J.B.; Louro, I.D. Effects of Glyphosate Exposure on Human Health: Insights from Epidemiological and in Vitro Studies. *Science of The Total Environment*, **2020**, *705*, 135808.
- [135] Guyton, K.Z.; Loomis, D.; Grosse, Y.; el Ghissassi, F.; Benbrahim-Tallaa, L.; Guha, N.; Scoccianti, C.; Mattock, H.; Straif, K.; Blair, A.; Fritschi, L.; McLaughlin, J.; Sergi, C.M.; Calaf, G.M.; le Curieux, F.; Baldi, I.; Forastiere, F.; Kromhout, H.; 't Mannetje, A.; Rodriguez, T.; Egeghy, P.; Jahnke, G.D.; Jameson, C.W.; Martin, M.T.; Ross, M.K.; Rusyn, I.; Zeise, L. Carcinogenicity of Tetrachlorvinphos, Parathion, Malathion, Diazinon, and Glyphosate. *Lancet Oncol*, **2015**, *16*, 490–491.
- [136] Olivo, V.E.; Tansini, A.; Carasek, F.; Cordenuzzi, D.; Fernandes, S.; Fiori, M.A.; Frago, A.; Dal Magro, J. Rapid Method for Determination of Glyphosate in Groundwater Using High Performance Liquid Chromatography and Solid-Phase Extraction after Derivatization. *Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, **2015**, *10*.
- [137] Martin-Reina, J.; Dahiri, B.; Carbonero-Aguilar, P.; Soria-Diaz, M.E.; González, A.G.; Bautista, J.; Moreno, I. Validation of a Simple Method for the Determination of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in Human Urine by UPLC-MS/MS. *Microchemical Journal*, **2021**, *170*, 106760.
- [138] Alonso, B.; Griffero, L.; Bentos Pereira, H.; Pareja, L.; Pérez Parada, A. Determination of Glyphosate and AMPA in Freshwater and Soil from Agroecosystems by 9-Fluorenylmethoxycarbonyl Chloride Derivatization and Liquid Chromatography - Fluorescence Detection and Tandem Mass Spectrometry. *MethodsX*, **2022**, *9*, 101730.
- [139] Alonso, B.; Griffero, L.; Bentos Pereira, H.; Pareja, L.; Pérez Parada, A. Determination of Glyphosate and AMPA in Freshwater and Soil from Agroecosystems by 9-Fluorenylmethoxycarbonyl Chloride Derivatization and Liquid Chromatography - Fluorescence Detection and Tandem Mass Spectrometry. *MethodsX*, **2022**, *9*, 101730.
- [140] Gotti, R.; Fiori, J.; Bosi, S.; Dinelli, G. Field-Amplified Sample Injection and Sweeping Micellar Electrokinetic Chromatography in Analysis of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in Wheat. *J Chromatogr A*, **2019**, *1601*, 357–364.
- [141] Martin-Reina, J.; Dahiri, B.; Carbonero-Aguilar, P.; Soria-Diaz, M.E.; González, A.G.; Bautista, J.; Moreno, I. Validation of a Simple Method for the Determination of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in Human Urine by UPLC-MS/MS. *Microchemical Journal*, **2021**, *170*, 106760.
- [142] Halfeld, G.G.; de Almeida, E.J.R.; Reginatto, V.; de Andrade, A.R. Acclimatization of a Microbial Consortium into a Stable Biofilm to Produce Energy and 1,3-Propanediol from Glycerol in a Microbial Fuel Cell. *Int J Hydrogen Energy*, **2022**, *47*, 21241–21252.

- [143] Costa, J.A.S.; Vedovello, P.; Paranhos, C.M. Use of Ionic Liquid as Template for Hydrothermal Synthesis of the MCM-41 Mesoporous Material. *Silicon*, **2020**, *12*, 289–294.
- [144] Garcia, A.C.F.S. Bioprospecção e Obtenção de Um Bioproduto Utilizando Micro-Organismos Da Turfa Para a Biodegradação de Hidrocarboneto Policíclico Aromático (HPA), Universidade Federal de Sergipe : São Cristóvão, **2016**.
- [145] Zhao, H.; Zhang, Q. Performance of Electro-Fenton Process Coupling with Microbial Fuel Cell for Simultaneous Removal of Herbicide Mesotrione. *Bioresour Technol*, **2021**, *319*, 124244.
- [146] Hassan, H.; Jin, B.; Dai, S.; Ma, T.; Saint, C. Chemical Impact of Catholytes on Bacillus Subtilis-Catalysed Microbial Fuel Cell Performance for Degrading 2,4-Dichlorophenol. *Chemical Engineering Journal*, **2016**, *301*, 103–114.
- [147] Chai, X.-S.; Hou, Q.X.; Luo, Q.; Zhu, J.Y. Rapid Determination of Hydrogen Peroxide in the Wood Pulp Bleaching Streams by a Dual-Wavelength Spectroscopic Method. *Anal Chim Acta*, **2004**, *507*, 281–284.
- [148] Zhang, C.; Lu, Y.-N.; Wu, W.-Q.; Wang, L. Recent Progress of Minimal Voltage Losses for High-Performance Perovskite Photovoltaics. *Nano Energy*, **2021**, *81*, 105634.
- [149] EPA Method 300.1, Revision 1.0: Determination of Inorganic Anions in Drinking Water by Ion Chromatography | US EPA <https://www.epa.gov/esam/epa-method-3001-revision-10-determination-inorganic-anions-drinking-water-ion-chromatography> (accessed Jun 27, 2023).
- [150] D6919 Standard Test Method for Determination of Dissolved Alkali and Alkaline Earth Cations and Ammonium in Water and Wastewater by Ion Chromatography <https://www.astm.org/d6919-17.html> (accessed Jun 27, 2023).
- [151] Hottes, E.; Bauerfeldt, G.F.; Herbst, M.H.; Castro, R.N.; Gil, R.A. da S.S. RAPID QUANTIFICATION OF RESIDUAL GLYPHOSATE IN WATER TREATED WITH LAYERED DOUBLE HYDROXIDES USING LIQUID CHROMATOGRAPHY / QUANTIFICAÇÃO RÁPIDA DE GLIFOSATO RESIDUAL EM ÁGUA TRATADA COM HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES USANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA. *Brazilian Journal of Development*, **2021**, *7*, 20923–20938.
- [152] Chen, X.-Q.; Shen, T.; Fang, S.-J.; Sun, X.-M.; Li, G.-Y.; Li, Y.-F. Protein Homeostasis in Aging and Cancer. *Front Cell Dev Biol*, **2023**, *11*.
- [153] Duarte, R.P. Otimização e Validação de Um Método SPE-HPLC-DAD Para Quantificação Do Glifosato Em Águas Superficiais. **2019**.
- [154] RESOLUÇÃO RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017 - Imprensa Nacional https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412 (accessed Aug 16, 2022).
- [155] Stradiotto, N.R.; Yamanaka, H.; Zanoni, M.V.B.; Sotomayor, M.D.P.T. *Métodos Eletroanalíticos: Conceitos, Experimentos e Aplicações*; Acadêmica, C., Ed.; 1st ed.; São Paulo, **2021**; Vol. 1.

- [156] Zhou, L.; Hu, Z.; Zhang, C.; Bi, Z.; Jin, T.; Zhou, M. Electrogeneration of Hydrogen Peroxide for Electro-Fenton System by Oxygen Reduction Using Chemically Modified Graphite Felt Cathode. *Sep Purif Technol*, **2013**, *111*, 131–136.
- [157] Bukhman, Y. v.; DiPiazza, N.W.; Piotrowski, J.; Shao, J.; Halstead, A.G.W.; Bui, M.D.; Xie, E.; Sato, T.K. Modeling Microbial Growth Curves with GCAT. *Bioenergy Res*, **2015**, *8*, 1022–1030.
- [158] Pandey, P.P.; Jain, S. Analytic Derivation of Bacterial Growth Laws from a Simple Model of Intracellular Chemical Dynamics. *Theory in Biosciences*, **2016**, *135*, 121–130.
- [159] *Metabolomics*; Bhattacharya, S.K., Ed.; Springer New York: New York, NY, **2019**; Vol. 1996.
- [160] Muskus, A.M.; Miltner, A.; Hamer, U.; Nowak, K.M. Microbial Community Composition and Glyphosate Degradation of Two Soils under the Influence of Temperature, Total Organic Carbon and PH. *Environmental Pollution*, **2022**, *297*, 118790.
- [161] Lancaster, S.H.; Hollister, E.B.; Senseman, S.A.; Gentry, T.J. Effects of Repeated Glyphosate Applications on Soil Microbial Community Composition and the Mineralization of Glyphosate. *Pest Manag Sci*, **2010**, *66*, 59–64.
- [162] Chen, Y.; Wu, F.; Lin, Y.; Deng, N.; Bazhin, N.; Glebov, E. Photodegradation of Glyphosate in the Ferrioxalate System. *J Hazard Mater*, **2007**, *148*, 360–365.
- [163] Carles, L.; Gardon, H.; Joseph, L.; Sanchís, J.; Farré, M.; Artigas, J. Meta-Analysis of Glyphosate Contamination in Surface Waters and Dissipation by Biofilms. *Environ Int*, **2019**, *124*, 284–293.
- [164] Rabaey, K.; Lissens, G.; Siciliano, S.D.; Verstraete, W. A Microbial Fuel Cell Capable of Converting Glucose to Electricity at High Rate and Efficiency. *Biotechnol Lett*, **2003**, *25*, 1531–1535.
- [165] Yoshida, N.; Miyata, Y.; Mugita, A.; Iida, K. Electricity Recovery from Municipal Sewage Wastewater Using a Hydrogel Complex Composed of Microbially Reduced Graphene Oxide and Sludge. *Materials*, **2016**, *9*, 742.
- [166] Fu, L.; Wang, H.; Huang, Q.; Song, T.; Xie, J. Modification of Carbon Felt Anode with Graphene/Fe₂O₃ Composite for Enhancing the Performance of Microbial Fuel Cell. *Bioprocess Biosyst Eng*, **2020**, *43*, 373–381.
- [167] Logan, B.E.; Rabaey, K. Conversion of Wastes into Bioelectricity and Chemicals by Using Microbial Electrochemical Technologies. *Science (1979)*, **2012**, *337*, 686–690.
- [168] Rittmann, B.E.; McCarty, P.L. *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*; McGraw-Hill Education, **2001**.
- [169] Kim, T.; An, J.; Jang, J.K.; Chang, I.S. Coupling of Anaerobic Digester and Microbial Fuel Cell for COD Removal and Ammonia Recovery. *Bioresour Technol*, **2015**, *195*, 217–222.
- [170] Rafieenia, R.; Mahmoud, M.; El-Gohary, F.; Rossa, C.A. The Degradation of Glyphosate Is Enhanced in a Microbial Fuel Cell: Electrochemical Performance,

- Degradation Efficiency, and Analysis of the Anodic Microbial Community. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, **2022**, 54, 102805.
- [171] Gupta, P.; Pandey, K.; Verma, N. Improved Oxygen Reduction and Simultaneous Glyphosate Degradation over Iron Phthalocyanine and Reduced Graphene Oxide–dispersed Activated Carbon Fiber Electrodes in a Microbial Fuel Cell. *J Power Sources*, **2021**, 514, 230592.
- [172] Zhang, Y.; Liu, M.; Zhou, M.; Yang, H.; Liang, L.; Gu, T. Microbial Fuel Cell Hybrid Systems for Wastewater Treatment and Bioenergy Production: Synergistic Effects, Mechanisms and Challenges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **2019**, 103, 13–29.
- [173] Chen, J.; Li, N.; Zhao, L. Three-Dimensional Electrode Microbial Fuel Cell for Hydrogen Peroxide Synthesis Coupled to Wastewater Treatment. *J Power Sources*, **2014**, 254, 316–322.
- [174] Luo, Y.; Zhang, R.; Liu, G.; Li, J.; Qin, B.; Li, M.; Chen, S. Simultaneous Degradation of Refractory Contaminants in Both the Anode and Cathode Chambers of the Microbial Fuel Cell. *Bioresour Technol*, **2011**, 102, 3827–3832.
- [175] Dong, H.; Liu, X.; Xu, T.; Wang, Q.; Chen, X.; Chen, S.; Zhang, H.; Liang, P.; Huang, X.; Zhang, X. Hydrogen Peroxide Generation in Microbial Fuel Cells Using Graphene-Based Air-Cathodes. *Bioresour Technol*, **2018**, 247, 684–689.
- [176] An, J.; Gao, Y.; Lee, H.-S. Induction of Cathodic Voltage Reversal and Hydrogen Peroxide Synthesis in a Serially Stacked Microbial Fuel Cell. *J Environ Manage*, **2019**, 241, 84–90.
- [177] Li, N.; Wang, S.; An, J.; Feng, Y. Acid Pretreatment of Three-Dimensional Graphite Cathodes Enhances the Hydrogen Peroxide Synthesis in Bioelectrochemical Systems. *Science of The Total Environment*, **2018**, 630, 308–313.
- [178] Li, N.; An, J.; Zhou, L.; Li, T.; Li, J.; Feng, C.; Wang, X. A Novel Carbon Black Graphite Hybrid Air-Cathode for Efficient Hydrogen Peroxide Production in Bioelectrochemical Systems. *J Power Sources*, **2016**, 306, 495–502.
- [179] Xing, M.; Xu, W.; Dong, C.; Bai, Y.; Zeng, J.; Zhou, Y.; Zhang, J.; Yin, Y. Metal Sulfides as Excellent Co-Catalysts for H₂O₂ Decomposition in Advanced Oxidation Processes. *Chem*, **2018**, 4, 1359–1372.
- [180] Mirzaee, R.; Darvishi Cheshmeh Soltani, R.; Khataee, A.; Boczkaj, G. Combination of Air-Dispersion Cathode with Sacrificial Iron Anode Generating Fe²⁺+Fe³⁺+2O₄ Nanostructures to Degrade Paracetamol under Ultrasonic Irradiation. *J Mol Liq*, **2019**, 284, 536–546.
- [181] Darvishi Cheshmeh Soltani, R.; Mashayekhi, M.; Jorfi, S.; Khataee, A.; Ghanadzadeh, M.-J.; Sillanpää, M. Implementation of Martite Nanoparticles Prepared through Planetary Ball Milling as a Heterogeneous Activator of Oxone for Degradation of Tetracycline Antibiotic: Ultrasound and Peroxy-Enhancement. *Chemosphere*, **2018**, 210, 699–708.
- [182] Sajjadi, S.; Khataee, A.; Darvishi Cheshmeh Soltani, R.; Bagheri, N.; Karimi, A.; Ebadi Fard Azar, A. Implementation of Magnetic Fe₃O₄@ZIF-8 Nanocomposite to Activate Sodium Percarbonate for Highly Effective Degradation of Organic

- Compound in Aqueous Solution. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, **2018**, 68, 406–415.
- [183] Yan, H.; Pan, Y.; Liao, X.; Zhu, Y.; Huang, R.; Pan, C. Significantly Enhanced Fenton-Based Oxidation Processes with CuS-Cu₉S₈ as Co-Catalyst by Accelerating the Fe³⁺/Fe²⁺ cycles. *Appl Surf Sci*, **2021**, 559, 149952.
- [184] Wang, D.; Hu, J.; Liu, B.; Hou, H.; Yang, J.; Li, Y.; Zhu, Y.; Liang, S.; Xiao, K. Degradation of Refractory Organics in Dual-Cathode Electro-Fenton Using Air-Cathode for H₂O₂ Electrogeneration and Microbial Fuel Cell Cathode for Fe²⁺ Regeneration. *J Hazard Mater*, **2021**, 412, 125269.
- [185] Srivastava, R.K.; Boddula, R.; Pothu, R. Microbial Fuel Cells: Technologically Advanced Devices and Approach for Sustainable/Renewable Energy Development. *Energy Conversion and Management: X*, **2022**, 13, 100160.
- [186] Ying, X.; Feng, H.; Shen, D.; Wang, M.; Xu, Y.; Chen, T.; Zhu, Y. Sustainable Synthesis of Novel Carbon Microwires for the Modification of a Ti Mesh Anode in Bioelectrochemical Systems. *Science of The Total Environment*, **2019**, 669, 294–302.
- [187] Mulugeta, K.; Kamaraj, M.; Tafesse, M.; Kebede, G.; Gemechu, G.; Chandran, M. Biomolecules from *Serratia* Sp. CS1 Indigenous to Ethiopian Natural Alkaline Lakes: Biosurfactant Characteristics and Assessment of Compatibility in a Laundry Detergent. *Environ Monit Assess*, **2022**, 194, 873.
- [188] Hosseini, M.G.; Mousavihashemi, S.; Murcia-López, S.; Flox, C.; Andreu, T.; Morante, J.R. High-Power Positive Electrode Based on Synergistic Effect of N- and WO₃-Decorated Carbon Felt for Vanadium Redox Flow Batteries. *Carbon N Y*, **2018**, 136, 444–453.
- [189] Chen, S.; Tang, L.; Feng, H.; Zhou, Y.; Zeng, G.; Lu, Y.; Yu, J.; Ren, X.; Peng, B.; Liu, X. Carbon Felt Cathodes for Electro-Fenton Process to Remove Tetracycline via Synergistic Adsorption and Degradation. *Science of The Total Environment*, **2019**, 670, 921–931.
- [190] Naumann, D. Infrared Spectroscopy in Microbiology. *Spectroscopy in microbiology*, 1–29.
- [191] Faghihzadeh, F.; Anaya, N.M.; Schiffman, L.A.; Oyanedel-Craver, V. Fourier Transform Infrared Spectroscopy to Assess Molecular-Level Changes in Microorganisms Exposed to Nanoparticles. *Nanotechnology for Environmental Engineering* 2016 1:1, **2016**, 1, 1–16.
- [192] Pousti, M.; Zarabadi, M.P.; Abbaszadeh Amirdehi, M.; Paquet-Mercier, F.; Greener, J. Microfluidic Bioanalytical Flow Cells for Biofilm Studies: A Review. *Analyst*, **2018**, 144, 68–86.
- [193] Huang, L.; Jin, Y.; Zhou, D.; Liu, L.; Huang, S.; Zhao, Y.; Chen, Y.; Huang, L.; Jin, Y.; Zhou, D.; Liu, L.; Huang, S.; Zhao, Y.; Chen, Y. A Review of the Role of Extracellular Polymeric Substances (EPS) in Wastewater Treatment Systems. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2022, Vol. 19, Page 12191, **2022**, 19, 12191.

- [194] Costa, J.A.S.; Vedovello, P.; Paranhos, C.M. Use of Ionic Liquid as Template for Hydrothermal Synthesis of the MCM-41 Mesoporous Material. *Silicon*, **2020**, *12*, 289–294.
- [195] Costa, J.A.S.; de Jesus, R.A.; da Silva, C.M.P.; Romão, L.P.C. Efficient Adsorption of a Mixture of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) by Si–MCM–41 Mesoporous Molecular Sieve. *Powder Technol*, **2017**, *308*, 434–441.
- [196] de Souza, G.A.G.R.; Sigifredo Cortés Paredes, R.; Saicla Barros, F.; Bavaresco Sucharski, G.; Ribeiro Junior, S.; Dalmaso Neto, C.; Ribas Santos, L.; Ferreira NTchalá, W.; Bavaroski Toledo Costa, F. Characterization of a Coating for Radioprotection, by X-Ray Diffraction, Scanning Electron Microscopy, and Dispersive Energy Spectroscopy. *Constr Build Mater*, **2022**, *321*, 126326.
- [197] (Porikli) Durdağı, S.; Al- Jalawee, A.H.H.; Yalçın, P.; Bozkurt, A.S.; Salcan, S. Morphological Characterization and Phase Determination of Kidney Stones Using X-Ray Diffractometer and Scanning Electron Microscopy. *Chinese Journal of Physics*, **2023**, *83*, 379–388.
- [198] Liang, C.; Shen, J. Removal of Yttrium from Rare-Earth Wastewater by *Serratia Marcescens*: Biosorption Optimization and Mechanisms Studies. *Sci Rep*, **2022**, *12*, 4861.
- [199] Shen, J.; Liang, C.; Zhong, J.; Xiao, M.; Zhou, J.; Liu, J.; Liu, J.; Ren, S. Adsorption Behavior and Mechanism of *Serratia Marcescens* for Eu(III) in Rare Earth Wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, **2021**, *28*, 56915–56926.
- [200] Sowmya, P.; Prakash, S.; Joseph, A. Adsorption of Heavy Metal Ions by Thiophene Containing Mesoporous Polymers: An Experimental and Theoretical Study. *J Solid State Chem*, **2023**, *320*, 123836.
- [201] Poza-Nogueiras, V.; Rosales, E.; Pazos, M.; Sanromán, M.Á. Current Advances and Trends in Electro-Fenton Process Using Heterogeneous Catalysts – A Review. *Chemosphere*, **2018**, *201*, 399–416.
- [202] Santos Silva, I.; Alexandre Borges Garcia, C.; Leite Garcia, H.; Caroline Silva Mendonça, M.; Ferreira da Silva, A.; do Patrocínio Hora Alves, J.; Silvério Lopes da Costa, S.; Geovanny Oliveira Araújo, R. Assessment of Water Quality Using Principal Component Analysis: A Case Study of the Açude Da Macela-Sergipe-Brazil . *Modern Environmental Science and Engineering*, **2017**, *3*, 690–700.
- [203] Sousa, I.F. de; Monteiro, A.S.C.; Santana, N.R.F. *Olhar Dos Recursos e Do Meio Ambiente Do Estado de Sergipe*; Editora Poisson, **2020**.
- [204] Huang, G.; Ou, L.; Pan, F.; Wang, Y.; Fan, G.; Liu, G.; Wang, W. Isolation of a Novel Heterotrophic Nitrification–Aerobic Denitrification Bacterium *Serratia Marcescens* CL1502 from Deep-Sea Sediment. <https://home.liebertpub.com/ees>, **2017**, *34*, 453–459.
- [205] Shukla, S.; Rajta, A.; Setia, H.; Bhatia, R. Simultaneous Nitrification–Denitrification by Phosphate Accumulating Microorganisms. *World J Microbiol Biotechnol*, **2020**, *36*, 151.
- [206] Alulema-Pullupaxi, P.; Fernández, L.; Debut, A.; Santacruz, C.P.; Villacis, W.; Fierro, C.; Espinoza-Montero, P.J. Photoelectrocatalytic Degradation of

Glyphosate on Titanium Dioxide Synthesized by Sol-Gel/Spin-Coating on Boron Doped Diamond (TiO₂/BDD) as a Photoanode. *Chemosphere*, **2021**, 278, 130488.