

REVISTA AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:
Investigación, desarrollo y práctica.

INFLUÊNCIA DO ALQUILBENZENO LINEAR SULFONATO NA PERFORMANCE DA CÉLULA COMBUSTÍVEL MICROBIANA

Renata Cristina Galera¹

Ana Carolina Vieira Araújo¹

Moema Hausen²

Pierre Ferreira do Prado³

* Iolanda Cristina Silveira Duarte¹

INFLUENCE OF LINEAR ALKYL BENZENE SULFONATES ON THE PERFORMANCE OF MICROBIAL FUEL CELLS

Recibido el 6 de febrero de 2018; Aceptado el 16 de octubre de 2018

Abstract

Linear alkylbenzene sulfonate (LAS) is the most commonly used anionic surfactant in cleaning products. Due to its wide distribution in domestic and industrial wastewater, its presence in microbial fuel cell (MFC) was evaluated regarding the generation of electricity and removal of organic matter. A two-chambers, type "H", MFC was constructed in PVC, carbon cloths were used as electrodes and resistors of 100 Ω and 1 K Ω as external loads. The anode chambers were filled with synthetic substrate and soil, enriched with sodium acetate, was used as inoculum. The maximum power density generated by the MFC with LAS (MFC 2- 0.12 mW m⁻² and MFC 4- 1.31 mW m⁻²) was lower than the MFC without LAS (MFC 1 - 1.72 mW m⁻² and MFC 3- 2.48 mW m⁻²). Removal of organic matter was comparatively higher in the presence of LAS. Confocal laser scanning microscopy examinations carried out on the electrodes revealed that the anodes of the MFC operating with LAS presented less biofilm on it despite presenting the same bacterial diversity. We concluded that the LAS influenced the generation of electrical energy in these systems and it occurred more intensively when external load was 1 K Ω .

Keywords: bioenergy, detergents, electricity, organic material.

¹ Departamento de Biologia, Universidade Federal de São Carlos – Campus Sorocaba, Brasil.

² Departamento de Ciências Fisiológicas, Pontifícia Universidade Católica – Sorocaba, Brasil.

³ Universidade Estadual Paulista, Brasil.

*Autor correspondente: Departamento de Biologia, Universidade Federal de São Carlos, João Leme dos Santos, Km 110, SP 264, Zipcode 18052-780, Sorocaba, SP, Brasil. Phone +55 16 32295985. E-mail: iolanda.duarte@gmail.com

Resumo

O linear alquilbenzeno sulfonado (LAS) é o surfactante aniônico mais comumente utilizado em produtos de limpeza. Devido a sua ampla distribuição em efluentes domésticos e industriais, sua presença na célula a combustível microbiana (CCM) foi avaliada quanto à geração de eletricidade e remoção de matéria orgânica. CCM de duas câmaras, tipo "H", foram construídas em PVC, tecidos de carbono foram utilizados como eletrodos e resistores de 100 Ω e 1 K Ω como cargas externas. As câmaras dos ânodos foram preenchidas com substrato sintético e o solo enriquecido com acetato de sódio foi usado como inóculo. A densidade máxima de potência gerada pelo CCM com LAS (CCM 2- 0,12 mW m⁻² e CCM 4-1,31 mW m⁻²) foi menor que a CCM sem LAS (CCM1 – 1.72 mW m⁻² e CCM 3- 2.48 mW m⁻²). A remoção da matéria orgânica foi comparativamente maior na presença de LAS. Os exames de microscopia confocal por varredura a laser, realizados nos eletrodos, revelaram que os ânodos da CCM operando com LAS apresentaram menos biofilme, apesar de apresentarem a mesma diversidade bacteriana. Concluímos que o LAS influenciou na geração de energia elétrica nesses sistemas.

Palavras chave: bioenergia, detergentes, eletricidade, matéria orgânica.

Introdução

Linear alquilbenzeno sulfonado (LAS) é um surfactante aniônico amplamente usado na formulação de produtos de limpeza e frequentemente atingem o ambiente devido a falhas de gerenciamento de efluentes líquidos domésticos e industriais. O LAS pode impactar negativamente o ambiente aquático devido a formação de espumas em rios, reduzindo a disponibilidade de oxigênio para diversas espécies (Guan *et al.*, 2016). Em estações de tratamento de esgoto, o LAS pode ser degradado, no entanto, devido à sua porção hidrofílica, uma parcela desse surfactante permanece adsorvido no lodo que, geralmente, é depositado em aterros sanitários (Gong *et al.*, 2016).

O LAS é uma mistura de homólogos e isômeros com 10 a 16 átomos de carbonos. As variações mais comuns têm de 10 a 13 carbonos em cadeia linear, o que os tornam mais biodegradáveis. O grupo fenil, presente na molécula, pode ocupar a posição de qualquer um dos carbonos, excetuando-se o primeiro e o último (Budikania *et al.*, 2015).

A molécula de LAS pode ser usada como fonte de carbono por bactérias aeróbias e anaeróbias, especialmente, quando não há outra fonte de carbono disponível. Muitos trabalhos sobre a biodegradação da LAS vêm sendo desenvolvidas em condições anaeróbias (Duarte *et al.*, 2010; Okada *et al.*, 2013).

A Célula Combustível Microbiana (CCM) é um biorreator que viabiliza a conversão de energia química em energia elétrica originada na quebra de ligações químicas presentes na matéria orgânica como consequência do metabolismo de microrganismos denominados exoeletrogênicos. A CCM pode produzir eletricidade ao degradar compostos orgânicos presentes em águas residuárias (Khater *et al.*, 2017). Este biorreator é objeto de intensa investigação

científica e também pode ser modificado para a produção de hidrogênio e aplicado como biossensor (Logan *et al.*, 2015), entre outros usos.

Devido a comum presença de LAS em diferentes águas residuárias em várias regiões do mundo, em especial as menos desenvolvidas economicamente, este estudo objetivou analisar a influência do LAS na geração de eletricidade e remoção de matéria orgânica. Para este fim, optamos por uma configuração de CCM de construção simples e de baixo custo, no contexto da promoção e disseminação do uso de equipamentos “DIY - do it your self”. A CCM do tipo H usada possui duas câmaras e foi operada com duas cargas externas diferentes e resistivas.

Métodos

Configuração da Célula Combustível Microbiana - CCM

A CCM tipo H, de duas câmaras, foi construída em tubos de PVC de uso residencial, com 150 mm de diâmetro e capacidade de 7L em cada câmara. As CCM foram operadas sem mediadores químicos para direcionar dos elétrons para o ânodo e em 4 condições distintas: 1) CCM 1 - sem adição de LAS; 2) CCM 2-LAS, com adição de LAS, ambas com carga externa resistiva de 1K Ω e 3) CCM 3, sem adição de LAS e 4) CCM 4 – LAS, com adição de LAS, ambas com resistor de 100 Ω . CCM 1 e CCM2-LAS operaram por 17 dias, CCM 3 e CCM4-LAS por 29.

Na câmara catódica, ar foi fluxionado por meio de uma bomba de aquário (Sharma e Kundu, 2010). A membrana de troca de íons H⁺ foi, similarmente, de confecção própria baseada em ágar bacteriológico, com 150 mm de diâmetro e 6 cm de espessura (Cheng *et al.*, 2006).

Fragmentos retangulares de tecidos de carbono foram usados como eletrodos. O ânodo foi composto por três partes de tecido, duas medindo 14 x 30 cm cada e uma medindo 5 x 30 cm. O cátodo foi composto por duas partes de 14 x 30 cm cada.

Inóculo e substrato

As câmaras anódicas foram inoculadas com 1000g de substrato comercial de jardim, denominado neste trabalho como solo, previamente enriquecido com solução de acetato de sódio (Lee *et al.*, 2003), e então preenchidas com 7000 mL de substrato sintético descrito por Carosia *et al.* (2014), excluindo-o se o componente sabão em pó. As câmaras catódicas foram preenchidas com 7 L de solução tampão fosfato com pH 7.5 (Mohan *et al.*, 2008).

As CCM 2-LAS e CCM4-LAS iniciaram as operações com 13 mg L⁻¹ de LAS. Em 173 horas e 192 horas de operação foram adicionados 26 mg L⁻¹ de LAS nas CCM2-LAS e CCM4-LAS, respectivamente. Em 316 horas e 325 horas de operação foram adicionados 52 mg L⁻¹ de LAS nas CCM4-LAS e CCM2-LAS, respectivamente.

Medidas Eletroquímicas

Valores de tensão elétrica na carga externa foram adquiridos por meio de multímetro digital (MINIPA ET-2517A) e respectivos acessórios para interface com um computador pessoal (PC), em intervalos de 1 hora.

A corrente elétrica foi calculada a partir da lei de ohm ($U=IR$) e a potência elétrica pela fórmula $P=UI$, na qual $U(V)$ é a tensão elétrica, $R(\Omega)$ é a resistência externa, $I(A)$ é a corrente elétrica e $P(W)$ é a potência elétrica. Densidade de potência (mWm^{-2}) e energia acumulada ($mWhm^{-2}$) foram calculadas em relação a área projetada de superfície do ânodo. A razão da eficiência coulombiana foi baseada na formulação preconizada por Logan *et al.* (2008).

No início e final da operação da operação da CCM, foram determinados a matéria orgânica do substrato de forma indireta pela Demanda Química de Oxigênio (DQO) por meio de espectrometria (kit DQO HACH®) e pH (APHA, 2005).

A determinação da concentração de LAS dissolvido foi realizada pelo método de substâncias reativas ao azul de metileno (MBAS) seguindo protocolo de Jurado *et al.* (2006). O LAS adsorvido no inóculo por meio da extração com metanol (Duarte *et al.*, 2006).

Determinação da capacidade de adsorção do eletrodo

Adsorção de LAS no eletrodo foi avaliada com amostras do tecido de carbono (1 cm^2) em contato com 200 mL de solução de LAS (1 g L^{-1}) por 24 horas. A concentração de LAS na solução foi medida no início do ensaio e após 24 horas para fins de sequente cálculo do balanço de massa.

Análises da Comunidade Microbiana

Microscopia

Os biofilmes dos ânodos das CCM3 e CCM4-LAS foram corados com fluoróforo DAPI e analisados em Microscopia Confocal de Varredura à Laser (LSCM) usando a linha laser 405 com potência de 10%, na faixa de emissão de 450-550 nm, em um equipamento modelo LEICA TCS SP8q. Os ânodos escolhidos foram os relativos a operação com resistor de $100\ \Omega$, que apresentaram os melhores resultados quanto a produção de energia elétrica. O controle negativo (tecido de carbono não utilizado na operação da CCM) foi corado e não apresentou autofluorescência com o fluoróforo (DAPI).

Diversidade bacteriana

Extração e Amplificação do DNA

O solo enriquecido com acetato foi usado como inóculo após a separação da solução de acetado por meio de centrifugação. Ao solo, foi adicionado substrato sintético e ou substrato sintético mais LAS por 24 horas para adaptação e inserido na câmara anódica. O DNA dos inóculos (solo enriquecido após adaptação), dos biofilmes dos ânodos e do sedimento da câmara anódica das

CCM 3 e CCM4-LAS (final da operação) foram extraídos usando o protocolo fenol-clorofórmio (Tsai *et al.*, 1991). O DNA foi purificado usando o kit de purificação de DNA Genomic GeneJET (Thermo Scientific, Lithuania, EU). O gene RNA ribossomal 16S foi amplificado usando o conjunto de iniciadores 954f (5' GCA CAA GCG GTG GAG CAT GTG G 3') com GC-clamp e 1369r (5' GCC CGG GAA CGT ATT CAC CG 3') (Yu e Morrison, 2004).

Eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE)

Alíquotas de 15 μ l do material amplificado foi aplicado em gel de poliacrilamida com gradiente de desnaturação de 40-60% (Muyzer *et al.*, 1993). A eletroforese foi realizada a 60 °C e tensão elétrica constante de 60 V durante 18 horas utilizando do DCode Universal Mutation Detection System (Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA). Sequencialmente, o gel foi corado com nitrato de prata. Os perfis foram alinhados e a presença/ausência de bandas foi usada para análise de agrupamentos usando o método UPGMA (Sneath e Sokal, 1973). O coeficiente de similaridade de dados foi analisado usando PAST versão 2.17 (Hammer, 2001).

Resultados e Discussão

Resposta elétrica das CCM

A CCM 1, operada com um resistor de 1 K Ω , produziu uma densidade de potência máxima de 1,72 mW m⁻² (Figura 1). A média da densidade de potência durante a operação foi de 0,6 mW m⁻² (Figura 1) e energia acumulada de 245 mWh m⁻² (Figura 3)

- ◇— Densidade de potência CCM1 (mW m⁻²)
- Densidade de potência CCM2 (mW m⁻²)
- ◇— Densidade de potência Média CCM1 (mW m⁻²)
- ◇— Densidade de potência Média CCM2 (mW m⁻²)

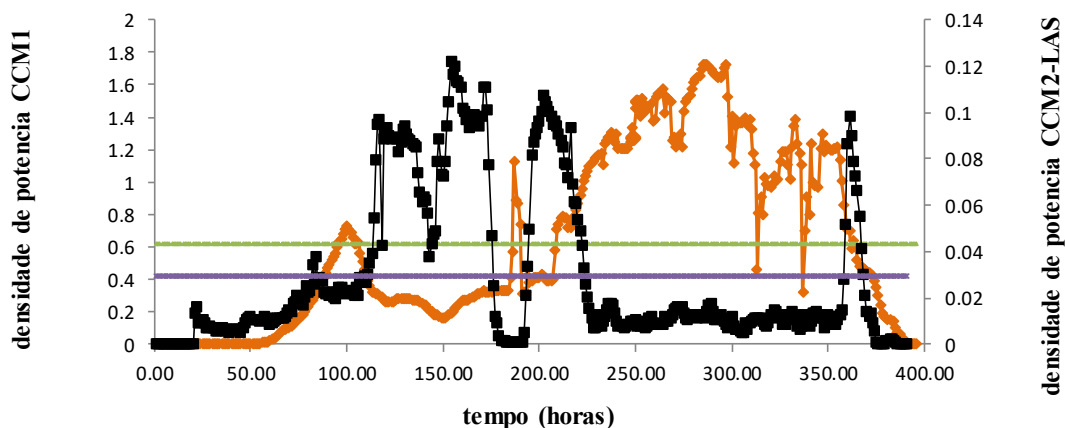


Figura 1. Densidades de potência da CCM 1 e CCM 2-LAS

A operação da CCM2-LAS foi iniciada com 13 mg L^{-1} de LAS e atingiu uma densidade de potência máxima de 0.12 mW m^{-2} (Figura 2 e a energia acumulada foi de 11.6 mWh m^{-2} (Figura 3) .

A operação da CCM 3 usando resistor de 100Ω , produziu densidade de potência máxima de 2.48 mW m^{-2} (Figura 2). A densidade de potência média durante a operação foi de 1.0 mW m^{-2} e energia acumulada foi de $691.44 \text{ mWh m}^{-2}$, superior a CCM1 operada nas mesmas condições.

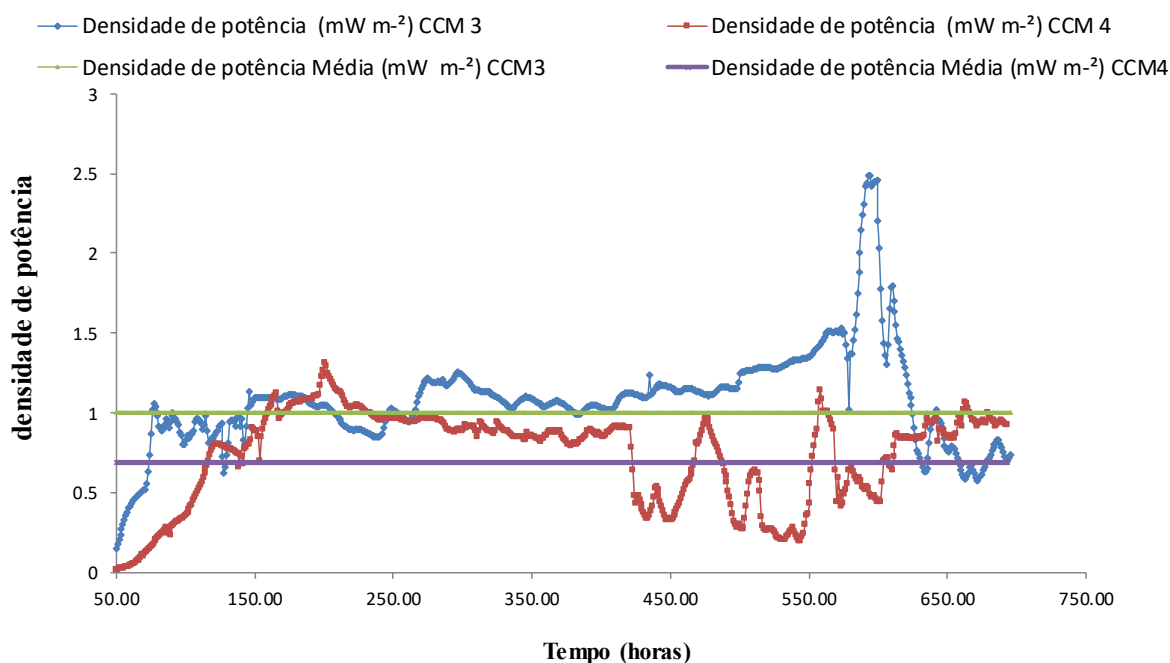


Figura 2. Densidades de potência da CCM 3 e CCM 4-LAS.

A CCM 4 - LAS operada inicialmente com 13 mg L^{-1} apresentou densidade de potência máxima de 1.31 mW m^{-2} . A densidade de potência média durante a operação foi 0.68 mW m^{-2} (Figura 2) e a energia acumulada foi de 474.0 mWh m^{-2} (Figura 3). Com ambos resistores avaliados foram verificadas alterações relevantes nas densidades de potência na operação com e sem LAS. Com resistor de $1 \text{ k}\Omega$ a CCM 1 e CCM2-LAS apresentaram energia acumulada de 245.0 mWh m^{-2} e 11.6 mWh m^{-2} , respectivamente. Com resistor de 100Ω a CCM3 e CCM4 – LAS apresentaram energia acumulada de 691.4 mWh m^{-2} e 474.0 mWh m^{-2} , respectivamente. Wen *et al.* (2011) também observaram redução da densidade de potência quando utilizaram como substrato o surfactante catiônico (Tween 80) na concentração de 80 mg L^{-1} e 1 g L^{-1} de glicose. A CCM estudada foi de câmara única resultando na diminuição de densidade de potência de 0.6 W m^{-2} para 5.2 W m^{-2} . As CCM 2-LAS e CCM 4-LAS obtiveram eficiências coulombianas inferiores à CCM 1 e a CCM 3, respectivamente.

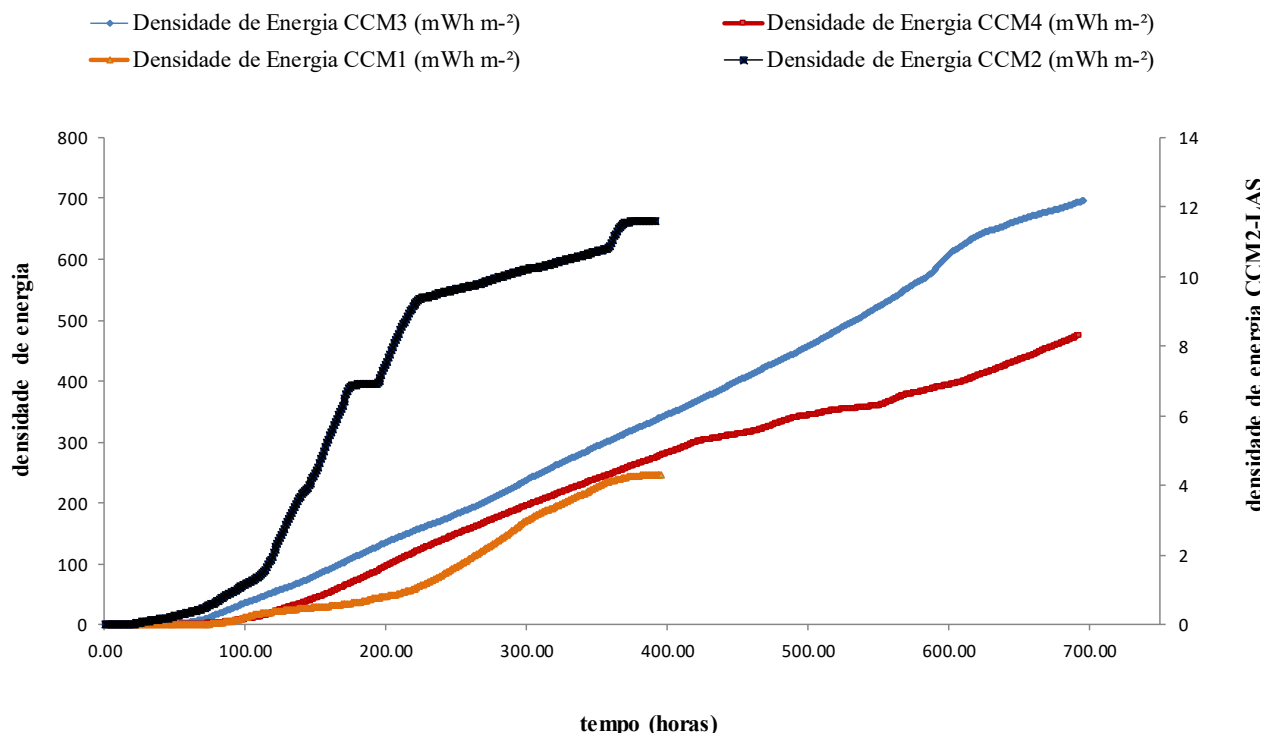


Figura 3. Energia acumulada por área do eletrodo da CCM 1, CCM 2-LAS, CCM3 e CCM 4-LAS ao longo da operação do reator

A massa de LAS adicionada nas CCM 2-LAS e CCM4 - LAS foi de 637 mg. Deste total, aproximadamente, 300 mg (47%) estava adsorvida no solo usado como inóculo e 98 mg (15%) permaneceu na fase aquosa no final da operação. O restante (38%) pode ter sido degradado ou adsorvido pelo eletrodo. Não foi possível estimar a degradação pois de acordo com testes prévios, o tecido de carbono demonstrou elevado poder adsorvente, com capacidade de adsorver até 3.75 g de LAS por centímetro quadrado. A adsorção do LAS no tecido pode ter reduzido a geração de energia, dificultando a passagem de elétrons. Estes resultados ressonam com Yang *et al.* (2016), que avaliaram a adsorção de ácido húmico pelo eletrodo de tecido de carbono e concluíram que a intensa adsorção prejudicou a geração de energia, resultando numa menor densidade de potência.

A razão entre as eficiências coulombianas da CCM3 e da CCM4 foi de 1.44 e entre CCM1/CCM2 de 7.65, em ambos os casos o possível efeito do LAS foi de reduzir a potência média. No entanto, verificou-se que no caso da utilização do resistor 1k Ω (CCM1 e CCM2-LAS) o efeito do LAS foi mais significativo.

A remoção de matéria orgânica e o pH

A DQO do substrato utilizado foi de 560 mg L⁻¹ e as maiores eficiências de remoção de matéria orgânica foram obtidas nas CCM operadas com LAS. As CCM 1 e CCM3 apresentaram eficiências de 51.3% e 56.25%, respectivamente. Eficiências mais elevadas foram obtidas no final da operação das CCM2-LAS e CCM4-LAS (86.4% e 66.9%, respectivamente). Xu *et al.* (2015) observaram remoções de carbono orgânico total de 58.91% e bifenilas policloradas de 43.26% em CCM sedimentar operadas com surfactantes na proporção (1:1) de SDS e Tween 80.

Os valores de pH não apresentaram variações intensas durante a operação das CCM permanecendo entre 6.7 e 7.8. Na CCM1, o pH variou de 7.2 a 7.8, CCM 2-LAS de 7.2 a 7.5, para CCM 3 foi de 6.8 a 7.7 e de 6.7 a 7.4 para CCM 4-LAS. Stein *et al.* (2010) e Peixoto *et al.* (2011) afirmaram que, independente da configuração da CCM ou fonte de carbono, o pH aproximadamente 7 é o valor ótimo para operação. Gil *et al.* (2003) observaram correntes elétricas mais intensas em pH entre 7 e 8 em uma CCM com membrana de troca iônica e bactérias exoelétricas aderidas ao ânodo e transferindo elétrons diretamente a este não requerendo mediadores químicos.

Biofilmes

No final da operação, amostras dos ânodos da CCM3 e CCM4-LAS foram examinadas por microscopia confocal a laser o que evidenciou a presença de biofilme mais intensa sobre o ânodo da CCM3 (Figura A B). Sais autofluorescentes foram mais evidentes nas imagens do ânodo da CCM4-LAS (Figura 4 A), possivelmente, estes sais estão relacionados a um processo de lixiviação no substrato favorecido pelo surfactante e, possivelmente, promovendo o metabolismo de bactérias planctônicas e aderidas ao sedimento diminuindo a eficiência coulombiana. Este favorecimento é corroborado pelos valores de remoção de DQO maiores e menores densidades de potência médias, seja com resistor de 100 Ω ou 1k Ω como carga externa.

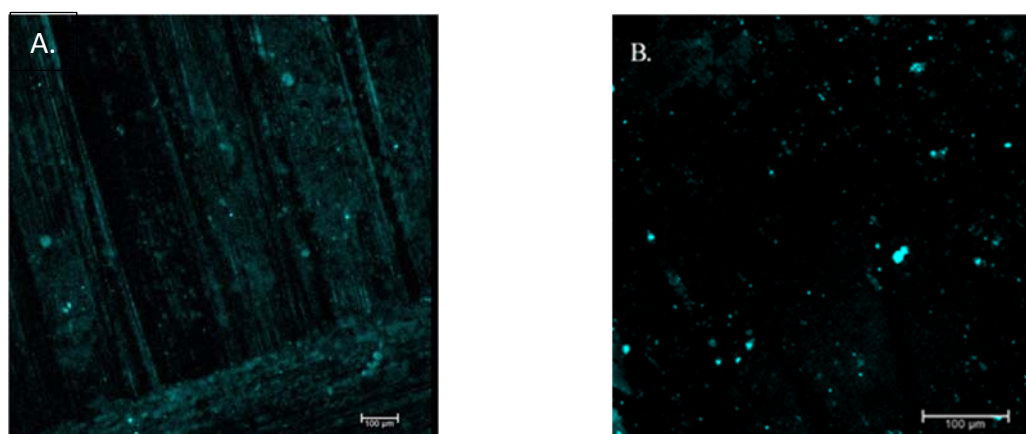


Figura 4. Imagem de microscopia confocal de varredura à laser dos ânodos corados com DAPI. (A) CCM 3; (B) CCM 4-LAS

Os autores destes experimentos desconhecem a existência de outros trabalhos utilizando LAS como substrato em CCM, no entanto, SDS também é um surfactante aniônico e efeitos negativos destes nos biofilmes de ânodos foram reportados por Fregoso (2011) em CCM de uma câmara e catodo ao ar. Fregoso (2011) inferiu que alteração na concentração de SDS, de 10 mg L^{-1} para 100 mg L^{-1} , provocou uma redução na densidade de potência máxima de 544 mW m^{-2} , para 245 mW m^{-2} , na eficiência coulombiana de 12.3% para 9.4% e aumento da resistência interna de 322Ω para 758Ω . Estes autores sugerem maiores investigações quanto aos variados tipos de moléculas surfactantes com foco no aumento da escala das CCM para sistemas tratando efluentes em situações reais.

A comunidade microbiana envolvida nas operações das CCM3 e CCM4-LAS foram monitoradas por PCR/DGGE (Figura 5). O tempo de operação das CCM possivelmente favoreceu alguns grupos de microrganismos, o que pode ser observado na dissimilaridade apresentada no perfil do DGGE dos inóculos e ânodos. Kim *et al.* (2006) e Pierangel *et al.* (2013) observaram alterações nas comunidades bacterianas presentes nos biofilmes devido ao tempo de operação e a composição do substrato corroborando as observações deste trabalho.

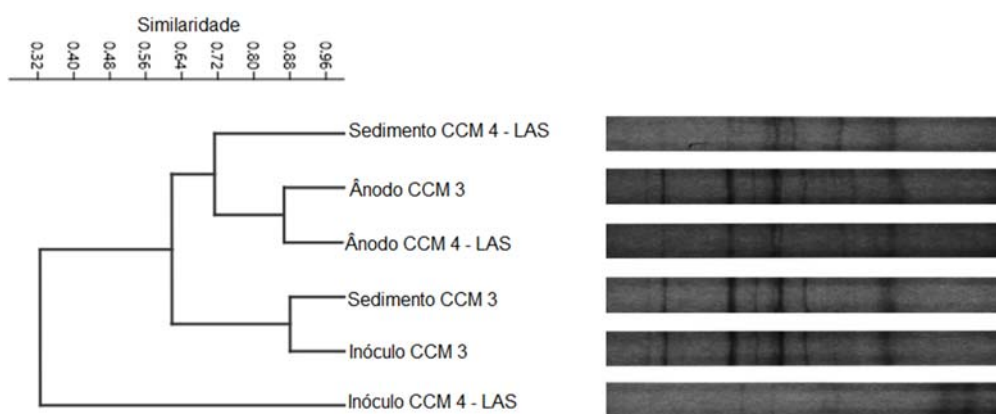


Figura 5. Análise de clusters de padrões de bandas do DGGE a partir das amostras das CCMs 3 e 4-LAS. O dendrograma foi construído por análise de agrupamento UPGMA. O comprimento do ramo indica a similaridade no intervalo de 0 a 1 referente a dissimilar e similar, respectivamente.

Maiores similares entre as comunidades foram observadas entre os ânodos (87%), mesmo com a presença de LAS. Esta inferência talvez se relaciona com uma ação não seletiva do LAS que pode ter desfavorecido quantitativamente todas as comunidades igualmente, mas manteve a similaridade qualitativa.

O inóculo da CCM4-LAS apresentou a maior dissimilaridade com as demais amostras, neste caso, o contato do solo enriquecido com o LAS, antes de ser inserido na câmara anódica, pode ter afetado drasticamente a diversidade bacteriana, contudo, a similaridade entre os perfis dos ânodos sugere que a diferenciação que afastou inóculo do sedimento tenha ocorrido somente em virtude da operação da CCM4. Destaca-se também que a maior remoção de DQO foi observada na CCM 4-LAS o que provavelmente indica que comunidades presentes no sedimento tenham contribuído para essa remoção adicional.

Conclusão

As CCM que operaram com LAS apresentaram menores produções de energia elétrica e melhores eficiências de remoção de matéria orgânica, independentemente da carga externa. Considerando que a diversidade de bactérias dos biofilmes dos anodos é similar, a diferença na remoção de matéria orgânica está, provavelmente, relacionada com as bactérias presentes no sedimento da câmara anódica.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Referências bibliográficas

- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (1998) 20th edn, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA.
- Budikania, T., Ibrahim, Febiyanti, I. A., Utami, N., Saksono, N. (2015) Degradation of linear alkylbenzene sulfonate with contact glow discharge electrolysis, *AIP Conference Proceedings*, **1699** (1), 060014-1 – 060014-7. doi: [org/10.1063/1.4938368](https://doi.org/10.1063/1.4938368).
- Carosia, M. F., Okada, D. Y., Sakamoto, I. K., Silva, E. L., Varesche, M. B. A. (2014) Microbial characterization and degradation of linear alkylbenzene sulfonate in an anaerobic reactor treating wastewater containing soap powder, *Bioresource Technology*, **167**, 316-23. doi: [10.1016/j.biortech.2014.06.002](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.002).
- Cheng, S., Liu, H., Logan, B. E. (2006) Power densities using different cathode catalysts (Pt and CoTMPP) and polymer binders (Nafion and PTFE) in single chamber microbial fuel cells, *Environmental Science Technology*, **40**(1) 364–369. doi: [10.1021/es0512071](https://doi.org/10.1021/es0512071).
- Duarte, I. C. S., Oliveira, L. L., Mayor, M. S., Okada, D. Y., Varesche, M. B. A. (2010) Degradation of detergent (linear alkylbenzene sulfonate) in an anaerobic stirred sequencing-batch reactor containing granular biomass, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **64**(2) 129-134. doi: [10.1016/j.ibiod.2009.12.003](https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.12.003).
- Duarte, I. C. S., Oliveira, L. L., Buzzini, A. P., Adorno, M. A. T., Varesche, M. B. A. (2006) Development of a method by HPLC to determine LAS and its application in anaerobic reactors, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **17**(7), 1360–1367. doi: [10.1590/S0103-50532006000700025](https://doi.org/10.1590/S0103-50532006000700025).
- Fregoso, L. E. J. (2011). Effect of sodium dodecyl sulfate (SDS) and Tween 80 on cell viability in an air-cathode microbial fuel cell. Thesis. King Abdullah University of Science and Engineering, 118 pp.

- Gil, G. C., Chang, I. S., Kim, B. H., Kim, M., Jang, J. K., Park, H. S. (2003) Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell, *Biosensors & Bioelectronics*, **18**(4) 327-334. doi: 10.1016/S0956-5663(02)00110-0.
- Gong, T., Zhang, X., Li, Y., Xian, Q. (2016) Formation and toxicity of halogenated disinfection byproducts resulting from linear alkylbenzene sulfonates, *Chemosphere*, **149**, 70-75. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.01.067.
- Guan, Z., Tang, X. Y., Nishimura, T., Huang, Y. M., Reid, B. J. (2016) Adsorption of linear alkylbenzene sulfonates on carboxyl modified multi-walled carbon nanotubes, *Journal of Hazardous Materials*, **322**(Part A), 205-214. doi: 10.1016/j.jhazmat.2016.02.067.
- Hammer, H. D. A. T., Ryan, P. D. (2001) *PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis*, Palaeontologia Electronica, 49 pp.
- Jurado E., Fernández-Serrano M., Núñez-Olea J., Luzón G., Lechuga M. (2006) Simplified spectrophotometric method using methylene blue for determining anionic surfactants: Applications to the study of primary biodegradation in aerobic screening tests, *Chemosphere*, **65**(2), 278-285. doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.02.044.
- Khater, D. Z., El-Khatib, K.M., Hassan, H. M. (2017) Microbial diversity structure in acetate single chamber microbial fuel cell for electricity generation, *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, **15**(1), 127-137. doi: 10.1016/j.jgeb.2017.01.008.
- Kim, G. T., Webster, G., Wimpenny, J. W. T., Kim, B. H., Kim, H. J., Weightman, A. J. (2006) Bacterial community structure, compartmentalization and activity in a microbial fuel cell, *Journal of Applied Microbiology*, **101**, 698-710. doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.02923.x.
- Lee, J., Phung, N. T., Chang, I. S., Kim, B. H., Sung, H. C. (2003) Use of acetate for enrichment of electrochemically active microorganisms and their 16S rDNA analyses, *FEMS Microbiology Letters*, **223**(2), 185-191. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00356-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00356-2).
- Logan, B. (2008) *Microbial fuel cells*. Willey-Interscience, Hoboken, N. J.
- Logan, E.B., Wallack, M. J., Kim, K. Y., He, W., Feng, Y., Saikaly, P. E. (2015) Assessment of microbial fuel cell configurations and power densities, *Environmental Science & Technology Letters*, **2**(8), 206-214. doi: 10.1021/acs.estlett.5b00180.
- Mohan, V. S., Raghavulu, S. V., Sarma, P. N. (2008) Influence of anodic biofilm growth on bioelectricity production in single chambered mediatorless microbial fuel cell using mixed anaerobic consortia, *Biosensors & bioelectronics*, **24**(1), 41-47. doi: 10.1016/j.bios.2008.03.010.
- Muyzer, G., De Waal, E. C., and Uitterlinden, A. G. (1993) Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA, *Applied Environmental Microbiology*, **59**(3), 695-700.
- Okada, D. Y., Delforno, T. P., Esteves, A. S., Sakamoto, I. K., Duarte, I. C. S., Varesche, M. B. A. (2013) Optimization of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) degradation in UASB reactors by varying bioavailability of LAS, hydraulic retention time and specific organic load rate, *Bioresource Technology*, **128**, 125-133.
- Peixoto, L., Min, B., Martins, G., Brito, A. G., Kroff, P., Parpot, P. (2011) In situ microbial fuel cell-based biosensor for organic carbon, *Bioelectrochemistry*, **81**(2), 99-103. doi: 10.1016/j.bioelechem.2011.02.002.
- Pierangel, C., Franzetti, A., Gandolfi, I., Guerrini, E., Bestetti, G. (2013) Bacterial DGGE fingerprints of biofilms on electrodes of membraneless microbial fuel cells, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **84**, 211-219. doi: 10.1016/j.ibiod.2012.05.040.
- Sharma, V., Kundu, P. P. (2010) Biocatalysts in microbial fuel cells, *Enzyme Microbiology & Technology*, **47**(5), 179-188. doi: 10.1016/j.enzmictec.2010.07.001.
- Sneath P. H. A., Sokal R. R. (1973) *Numerical Taxonomy - the principles and practice of numerical classification*. *Numerical taxonomy — the principles and practice of numerical classification*, W. H. Freeman and company. San Francisco, EUA.

- Stein, N. E., Hamelers, H, V. M., Buisman, C. N. J. (2010) Stabilizing the baseline current of a microbial fuel cell-based biosensor through overpotential control under non-toxic conditions, *Bioelectrochemistry* **78**(1), 87-91. doi: 10.1016/j.bioelechem.2009.09.009.
- Tsai, Y. and Land, B. H. (1991) Olson Rapid method for direct extraction of DNA from soil and sediments, *Applied Environmental & Microbiology*, **57**(4), 1070-1074.
- Wen, Q., Kong, F., Ma, F., Ren, Y., Pan, Z. (2011) Improved performance of air-cathode microbial fuel cell through additional Tween 80, *Journal of Power Sources*, **196**(3), 899-904. doi: 10.1016/j.jpowsour.2010.09.009.
- Xu, X., Zhao, Q. L., Wu, M. S. (2015) Improved biodegradation of total organic carbon and polychlorinated biphenyls for electricity generation by sediment microbial fuel cell and surfactant addition, *RSC Advances*, **77**(5), 62534-62538. doi: 10.1039/C5RA12817J.
- Yang, W., Watson, V. J., Logan, B. E. (2016) Substantial humic acid adsorption to activated carbon air cathodes produce a small reduction in catalytic activity, *Environmental Science Technology*, **50**(16), 8904-8909. doi: 10.1021/acs.est.6b00827.
- Yu, Z., Morrison, M. (2004) Comparisons of different hypervariable regions of rrs genes for use in fingerprinting of microbial communities by PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Applied Environmental Microbiology*, **70**(8), 4800-4806. doi: 10.1128/AEM.70.8.4800-4806.2004.