



Instituto Politécnico  
de Viana do Castelo

Patrícia Moreira da Fonte

Produção de eletricidade em células de  
combustível microbianas com plantas – Um  
novo serviço de ecossistema das  
infraestruturas verdes

Mestrado em Engenharia do Território e do Ambiente

Trabalho efetuado sob a orientação de:

Professora Doutora Ana Cristina Pontes de Barros Rodrigues

Doutora Luciana de Jesus dos Santos Peixoto

dezembro de 2023

*As doutrinas expressas neste  
trabalho são da exclusiva  
responsabilidade do autor*



ÍNDICE	
RESUMO.....	iii
ABSTRACT .....	v
LISTA DE FIGURAS .....	vi
LISTA DE QUADROS .....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	x
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Células de combustível microbianas.....	3
2.2. Potenciais aplicações das células de combustível microbianas .....	5
2.3. Limitações das MFCs.....	5
2.4. Células de combustível microbianas associadas a plantas .....	7
2.5. Coberturas e paredes verdes.....	9
2.6. Caracterização da <i>Mentha pulegium</i> e <i>Mentha piperita</i> .....	11
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	13
3.1. Avaliação do impacto do jardim vertical no efeito de ilha de calor .....	13
3.2. Avaliação do potencial de células de combustível microbianas com plantas para produção de eletricidade.....	16
3.2.1. Montagem das PMFC's .....	17
3.2.2. Início dos ensaios, manutenção e monitorização das PMFC's ...	19
3.2.3. Análise da comunidade microbiana .....	20
3.3. Análise estatística .....	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	22
4.1. Avaliação do impacto do jardim vertical no efeito de ilha de calor .....	22
4.1.1. Avaliação do impacto do jardim vertical no efeito de ilha de calor no inverno	22
4.1.2. Avaliação do impacto do jardim vertical no efeito de ilha de calor no verão	24

4.2.	Monitorização das PMFC's .....	27
4.2.1.	Análise do sistema solo – planta.....	27
4.2.2.	Comparação entre o crescimento da <i>Mentha pulegium</i> integrada na PMFC e a planta controlo.....	29
4.2.3.	Comparação entre o crescimento da <i>Mentha piperita</i> integrada na PMFC e a planta controlo.....	32
4.3.	Produção de eletricidade pelas PMFC.....	35
4.3.1.	Diferença de potencial nos ensaios com <i>Mentha pulegium</i> (PE)	35
4.3.2.	Diferença de potencial nos ensaios com <i>Mentha piperita</i> (HE) ..	37
4.3.3.	Diferença de potencial para o grupo controlo MFC (E).....	39
4.4.	Curvas de polarização e potência .....	41
4.4.1.	PMFC com <i>Mentha pulegium</i> .....	42
4.4.2.	PMFC com <i>Mentha piperita</i> .....	46
4.4.3.	Grupo controlo com MFC.....	51
4.5.	Análise da comunidade microbiana .....	56
5.	CONCLUSÃO .....	61
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
	ANEXOS .....	65
	Anexo 1 – Protocolo Extração DNA bacteriano .....	65
	Anexo 2 – Protocolo PCR.....	65
	Anexo 3 – Protocolo Purificação DNA amplificado .....	65
	Anexo 4 – Protocolo de quantificação de DNA no NanoDrop.....	66
	Anexo 5 – Classes de salinidade do solo e reação das culturas aos sais (adaptado de Veloso et al., 2022).....	67
	Anexo 6 – Identificação dos isolados.....	67

## RESUMO

A instalação de infraestruturas verdes para a adaptação dos meios urbanos e periurbanos às alterações climáticas e aos padrões meteorológicos pode aumentar a resiliência dos edifícios e do território. Tanto as coberturas verdes como os telhados verdes são um exemplo de uma abordagem de adaptação para reforçar a capacidade de lidar com as mudanças climáticas, bem como uma forma de aproveitamento das águas pluviais. A associação destas infraestruturas verdes a células de combustível microbianas (MFCs) constitui uma Solução de Base Natural para a produção de eletricidade. As MFCs são uma fonte alternativa de produção de energia renovável, através da oxidação de matéria orgânica por microrganismos, gerando corrente elétrica. Neste contexto, o presente estudo focou-se, por um lado, na avaliação do impacto do jardim vertical instalado na Escola Superior Agrária do IPVC (ESA-IPVC) no efeito de ilha de calor através da recolha e análise de imagens termográficas e, por outro lado, na avaliação do potencial de produção de eletricidade por células de combustível microbianas associadas a plantas (PMFC) existentes nesta infraestrutura verde. As plantas selecionadas para este estudo foram a *Mentha pulegium* e a *Mentha piperita*, que são plantas aromáticas, medicinais e condimentícias.

Através da análise de imagens termográficas verificou-se que a temperatura do jardim em zonas de maior desenvolvimento vegetativo (20,1°C e 28,9°C no inverno e verão, respetivamente) era menor do que em zonas de menor densidade de vegetação (33,7°C e 42,9°C no inverno e verão, respetivamente), o que demonstra que esta infraestrutura verde pode desempenhar um papel importante na mitigação do efeito de “ilha de calor”. Nos ensaios realizados com PMFC comprovou-se a produção de energia elétrica por parte destas duas plantas. Na PMFC com *Mentha pulegium* obteve-se uma tensão média de 376mV e na PMFC com *Mentha piperita* de 201mV. Relativamente à potencia máxima obtida, esta foi de 4,92mW/m<sup>2</sup> e de 5,24 mW/m<sup>2</sup> para a *Mentha pulegium* e para a *Mentha piperita*, respetivamente. Com análises à comunidade microbiana presente, quer no rizoma da planta, quer no ânodo da PMFC, foi possível perceber que os microrganismos predominantes são do género *pseudomonas sp* e *Stapylococcus*.

**Palavras-chave:** PMFC, *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, bioeletricidade, paredes verdes.

Dezembro de 2023

## ABSTRACT

Installing green infrastructure to adapt urban and peri-urban environments to climate change and weather patterns can increase the resilience of buildings and the territory. Both green covers and green roofs are an example of an adaptation approach to strengthen the capacity to deal with climate change, as well as a way of using rainwater. Combining these green infrastructures with microbial fuel cells (MFCs) is a Natural Based Solution for electricity production. MFCs are an alternative source of renewable energy through the oxidation of organic matter by microorganisms, generating electric current. In this context, this study focused on one hand, on assessing the impact of the vertical garden installed at the IPVC Escola Superior Agrária (ESA-IPVC) on the heat island effect through the collection and analysis of thermographic images and, on the other hand, on assessing the potential for electricity production by plant-associated microbial fuel cells (PMFC's) in this green infrastructure. The plants selected for this study were *Mentha pulegium* and *Mentha piperita*, which are aromatic, medicinal and condiment plants.

Analysis of thermographic images showed that the temperature of the garden in areas with more vegetation (20.1°C and 28.9°C in winter and summer, respectively) was lower than in areas with less vegetation (33.7°C and 42.9°C in winter and summer, respectively), demonstrating that this green infrastructure can play an important role in mitigating the "heat island" effect. In the tests carried out with PMFC, the production of electricity by these two plants was proven. In the PMFC with *Mentha pulegium* obtained an average voltage of 376mV and in the PMFC with *Mentha piperita* 201mV. The maximum power obtained was 4,92 mW/m<sup>2</sup> and 5,24 mW/m<sup>2</sup> for *Mentha pulegium* and *Mentha piperita*, respectively. Analysis of the microbial community present, both in the rhizome of the plant and in the anode of the PMFC, revealed that the predominant microorganisms were of the *pseudomonas sp* and *stapylococcus* types.

**Keywords:** PMFC, *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, bioelectricity, green walls.

December 2023



## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Esquema de uma MFC (Peixoto et al., 2013). .....	3
Figura 2.2. Eléctrodo revestido com catalisador metálico (Lehnen, 2014).....	7
Figura 3.1. Jardim Vertical (Sistema WallGreen, da LandLab) instalado na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo. ....	14
Figura 3.2. Fachada do edifício onde foram efetuadas as recolhas das imagens termográficas.....	15
Figura 3.3. Câmara térmica Flir® E75.....	16
Figura 3.4. Preparação da mistura de solo para a utilização nas PMFC's e nos ensaios controlo. ....	19
Figura 3.5. Material que constitui a PMFC (à esquerda) e a PMFC em montagem (à direita). ....	19
Figura 3.6. Medição da voltagem da PMFC no primeiro dia de ensaio. ....	20
Figura 4.1. Dados termográficos do jardim vertical recolhidos em novembro de 2022. ....	22
Figura 4.2. Imagem da parede do edifício de betão, sem jardim vertical, obtida no inverno, com a câmara termográfica. ....	24
Figura 4.3. Dados termográficos do jardim vertical recolhidos em junho de 2023. ....	25
Figura 4.4. Parede do edifício de betão, sem jardim vertical, no verão. ....	26
Figura 4.5. PMFC com <i>Mentha pulegium</i> na primeira semana de operação (triplicados dos ensaios).....	29
Figura 4.6. PMFC com <i>Mentha pulegium</i> na décima quinta semana de operação (triplicados dos ensaios).....	29
Figura 4.7. Comparação do comprimento e da largura das folhas no ensaio P1E ( <i>Mentha pulegium</i> PMFC) e o ensaio P3 ( <i>Mentha pulegium</i> controlo). ....	30
Figura 4.8. Comparação do número de caules entre os ensaios P1E ( <i>Mentha pulegium</i> PMFC) e o ensaio P3 ( <i>Mentha pulegium</i> controlo), ao longo do tempo. ....	31

Figura 4.9. Comparação do comprimento dos caules entre os ensaios P1E ( <i>Mentha pulegium</i> PMFC) e o ensaio P3 ( <i>Mentha pulegium</i> controlo), ao longo do tempo. ....	32
Figura 4.10. Comparação do número de folhas entre os ensaios P1E ( <i>Mentha pulegium</i> PMFC) e o ensaio P3 ( <i>Mentha pulegium</i> controlo), ao longo do tempo. ....	32
Figura 4.11. Comparação da largura e comprimento das folhas para os ensaios H1E e H2, ao longo do tempo. ....	33
Figura 4.12. Comparação do número de caules entre os ensaios H1E ( <i>Mentha piperita</i> PMFC) e o ensaio H2 ( <i>Mentha piperita</i> controlo), ao longo do tempo. ....	34
Figura 4.13. Comparação do comprimento dos caules entre os ensaios H1E ( <i>Mentha piperita</i> PMFC) e o ensaio H2 ( <i>Mentha piperita</i> controlo), ao longo do tempo. ....	34
Figura 4.14. Comparação do número de folhas por caule no ensaio H1E ( <i>Mentha piperita</i> PMFC) e no ensaio H2 ( <i>Mentha piperita</i> controlo), ao longo do tempo. ....	35
Figura 4.15. Intensidade de corrente ( $\mu\text{A}$ ) para os ensaios P1E, P2E e P3E correspondentes a PMFC com <i>Mentha pulegium</i> , ao longo do tempo. ....	36
Figura 4.16. Média da diferença de potencial (mV) dos ensaios da <i>Mentha pulegium</i> , ao longo do tempo. ....	37
Figura 4.17. Intensidade de corrente ( $\mu\text{A}$ ) para os ensaios H1E, H2E e H3E da <i>Mentha piperita</i> , ao longo do tempo. ....	38
Figura 4.18. Média da diferença de potencial (mV) dos ensaios da <i>Mentha piperita</i> , ao longo do tempo. ....	38
Figura 4.19. Intensidade de corrente ( $\mu\text{A}$ ) para os ensaios E1, E2 e E3 para o grupo controlo, ao longo do tempo. ....	40
Figura 4.20. Média da diferença de potencial (mV) dos ensaios E1, E2 e E3 (grupo controlo), ao longo do tempo. ....	40
Figura 4.21. Curvas de polarização iniciais para os ensaios P1E, P2E e P3E. ....	42
Figura 4.22. Curvas de potência iniciais para os ensaios P1E, P2E e P3E. ....	43

Figura 4.23. Curvas de polarização intermédias para os ensaios P1E e P2E.	44
Figura 4.24. Curvas de potência intermédias para os ensaios P1E e P2E. ....	44
Figura 4.25. Curvas de polarização finais para os ensaios P1E e P2E.....	45
Figura 4.26. Curvas de potência finais para os ensaios P1E e P2E. ....	46
Figura 4.27. Curvas de polarização iniciais para os ensaios H1E, H2E e H3E.	47
Figura 4.28. Curvas de potência para os ensaios H1E, H2E e H3E. ....	48
Figura 4.29. Curvas de polarização intermédias para os ensaios H1E e H2E.	49
Figura 4.30. Curvas de potência intermédias para os ensaios H1E e H2E.....	49
Figura 4.31. Curvas de polarização finais para os ensaios H1E e H2E. ....	50
Figura 4.32. Curvas de potência finais para os ensaios H1E e H2E.....	51
Figura 4.33. Curvas de polarização iniciais para os ensaios E1, E2 e E3.....	52
Figura 4.34. Curvas de potência iniciais para os ensaios E1, E2 e E3. ....	52
Figura 4.35. Curvas de polarização intermédias para os ensaios E1 e E2. ....	53
Figura 4.36. Curvas de potência intermédias para os ensaios E1 e E2.....	54
Figura 4.37. Curvas de polarização finais para os ensaios E1 e E2. ....	55
Figura 4.38. Curvas de potência finais para os ensaios E1 e E2. ....	55
Figura 4.39. Amostra analisada em microscópio eletrónico de varrimento (SEM), parte do ânodo do ensaio com o grupo controlo com MFC (E2).....	58
Figura 4.40. Ampliação da amostra do ânodo do grupo controlo com MFC (E2). .....	58

## LISTA DE QUADROS

Quadro 3.1. Parâmetros analisados e métodos utilizados na análise ao solo utilizado nas PMFC's.....	17
Quadro 3.2. Resultados da análise efetuada à terra, substrato e mistura de ambos utilizada na preparação das PMFC's.....	17
Quadro 4.1. Temperaturas registadas em vários pontos da parede do edifício, com e sem jardim vertical, no inverno e no verão. ....	26
Quadro 4.2. Resultados das análises do solo dos ensaios com PMFC e MFC. ....	28
Quadro 4.3. Resistências das PMFC's.....	41
Quadro 4.4. Número de isolados em cada meio de cultura. ....	56

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

A – Amperes

An – Ânodo

Ca – Cálcio

CBO – Carência bioquímica de oxigénio

E – Ensaio com o grupo controlo

H – Ensaio de controlo com a planta *Mentha piperita*

EAB – Bactérias electroquimicamente ativas

ESA – Escola Superior Agrária

HE – Ensaio com a planta *Mentha piperita* + eléctrodo

K<sub>2</sub>O – Óxido de potássio

Meio TSA – Ágar Tryptic Soy

MFC – Microbial Fuel Cell

Mg – Magnésio

mV – Milivolts

OCV – Tensão de circuito aberto

P – Ensaio de controlo com a planta *Mentha pulegium*

P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – Pentóxido de fósforo

PE – Ensaio com a planta *Mentha pulegium* + eléctrodo

PMFC – Plant Microbial Fuel Cell

SbN – Solução de Base Natural

SEIVA – Sistemas Energéticos e Infraestruturas Verdes para Agricultura

SEM – Microscópio electrónico de varrimento

## 1. INTRODUÇÃO

A promoção de infraestruturas verdes é, atualmente, um objetivo prioritário da União Europeia, pelos inúmeros benefícios e serviços de ecossistema que proporcionam, sejam eles económicos (pelo aumento da eficiência energética, aumento do isolamento térmico, aumento da longevidade do edificado e valorização imobiliária), ambientais (pelo aumento da biodiversidade e área verde em contexto urbano, redução da poluição atmosférica, regulação do clima e do ciclo hidrológico) ou sociocomunitários (pelo potencial para produção de alimentos e melhoria da qualidade de vida). Os habitantes de edifícios com coberturas ou paredes verdes poderão efetivamente beneficiar de redução de consumos energéticos, atenuação do ruído e de um espaço verde disponível para atividades culturais, recreativas e até terapêuticas, com reconhecidos benefícios para a saúde.

Em Portugal, o Programa do XXII Governo Constitucional pretendeu “Incentivar a instalação de fachadas e coberturas verdes como forma de promoção de eficiência energética, gestão de água e qualidade do ar em estruturas e edifícios” e “Promover a utilização das coberturas de edifícios para a produção de produtos hortícolas nas cidades em conjugação com a promoção da biodiversidade e a produção de energia renovável”. Neste contexto, a associação de Células de Combustível Microbianas com Plantas (PMFC) que compõem as coberturas e paredes verdes, afigura-se com um interessante potencial para a produção de bioeletricidade.

Na atualidade, a energia elétrica produzida mundialmente provém sobretudo do carvão, gás natural e também de energia nuclear, tendo em conta a facilidade de acesso a tais recursos o que se traduz numa maior viabilidade económica (Oliveira et al., 2016). Todavia, o uso intensivo de combustíveis fósseis e o facto de serem finitos, bem como a poluição associada à sua utilização, têm contribuído para aumentar o interesse e a procura de fontes alternativas e renováveis de energia, como forma de alcançar a tão almejada neutralidade carbónica, minimizando, tanto quanto possível, os impactes ambientais negativos.

Neste contexto, a produção de eletricidade a partir de matéria orgânica com células de combustível microbianas é um conceito que remonta a quase 100 anos (Lovley, 2006).

O sistema PMFC consiste na associação de plantas a Células de Combustível Microbianas e utiliza processos que ocorrem naturalmente nas raízes das plantas para produzir eletricidade.

A planta produz matéria orgânica através da fotossíntese sob a influência da luz solar. Até 60% dessa matéria orgânica acaba no solo como material radicular ou exsudado. Os exsudatos são oxidados por bactérias que se encontram nas células de combustível microbianas. Durante o processo de oxidação dos compostos orgânicos, as bactérias libertam elétrons que são transferidos para o ânodo da Célula de Combustível Microbiana. O ânodo é acoplado a um cátodo, no qual o oxigénio juntamente com os elétrons e os prótons são reduzidos a água. Desta forma, a eletricidade pode ser gerada diretamente, mantendo a vegetação. Esta tecnologia é relativamente recente, mas tem sido objeto de estudo nas últimas décadas, com aplicação, principalmente, no tratamento de águas residuais e na alimentação de sensores em locais remotos, onde a substituição de baterias ou pilhas não é viável. Estudos mais recentes têm demonstrado o seu potencial na monitorização de parâmetros ambientais em coberturas verdes, nomeadamente o conteúdo em água, como forma de orientar para um uso sustentável deste recurso (Tapia et al., 2017).

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo principal, avaliar o contributo das infraestruturas verdes com células combustível microbianas associadas a plantas (*Mentha pulegium* e *Mentha piperita*) para a neutralidade carbónica.

Os objetivos específicos foram:

- i. Avaliar o impacto de jardins verticais com plantas aromáticas, medicinais e condimentícias na mitigação do efeito de ilha de calor;
- ii. Evidenciar a produção de eletricidade em PMFC como um novo serviço de ecossistema das infraestruturas verdes, sem prejudicar outros, como a produção de plantas para alimentação.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Células de combustível microbianas

A tecnologia das células de combustível tem sido amplamente estudada e desenvolvida graças ao seu potencial para conversão de energia química em energia elétrica em diversas aplicações. Dos diversos tipos de células de combustível, as Células de Combustível Microbianas, do inglês Microbial Fuel Cells (MFC) são bastante promissoras, visto que produzem eletricidade a partir de águas residuais que contêm microrganismos e substratos orgânicos, ou a partir dos resíduos produzidos pelo homem. Estas células tornam possível a degradação de compostos orgânicos que a sociedade produz e a sua conversão em eletricidade. Contudo, esta tecnologia ainda não alcançou o nível de eficiência desejável, pois é necessário ultrapassar vários desafios tecnológicos (Pinto, 2014).

A célula de combustível microbiana converte a energia química armazenada nos compostos orgânicos em energia elétrica por meio de reações catalíticas levadas a cabo por microrganismos que, incorporados em biofilmes, crescem em condições anaeróbicas sobre os elétrodos. A figura 2.1 apresenta um esquema geral de uma MFC com duas câmaras, uma anódica e uma catódica, separadas por uma membrana de troca de prótons (Peixoto et al., 2013).

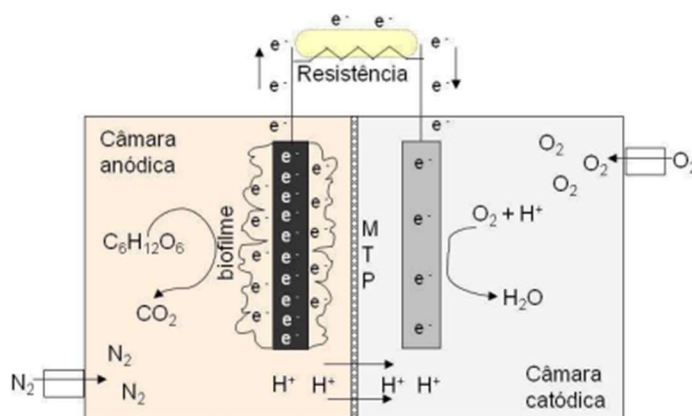


Figura 2.1. Esquema de uma MFC (Peixoto et al., 2013).

Neste tipo de dispositivos a câmara anódica e a câmara catódica, são separadas por um membrana de troca catiónica que permite a separação seletiva dos



eletrões e prótons. A fim de que ocorra a libertação de eletrões resultantes da oxidação da matéria orgânica, é essencial que sejam promovidas no ânodo, condições anaeróbias.

Desta forma, na zona do ânodo de uma MFC, as bactérias encontram-se em condições anaeróbias, ou seja, não há oxigénio no meio em que se encontram e, os eletrões libertados migram do ânodo para o cátodo, através de uma resistência externa, gerando uma corrente elétrica. Já os prótons, provenientes da degradação da matéria orgânica, atravessam uma membrana seletiva até chegarem ao cátodo onde o oxigénio é reduzido a água, o que requer que, no lado do cátodo, o oxigénio funcione como um aceitador de eletrões.

Deste modo, os prótons e eletrões resultantes da degradação da matéria orgânica movimentam-se da zona anaeróbia para a aeróbia, onde ocorre a aceitação de eletrões, existindo uma barreira, a membrana seletiva, que permite apenas a passagem de prótons, sendo os eletrões obrigados a migrar através de um circuito externo. E esta é a condição de funcionamento de uma célula combustível microbiana.

No ânodo, encontram-se os microrganismos, matéria orgânica que funciona como substrato para os mesmos e também, um eletrodo composto essencialmente por carbono (em forma de placa ou escovilhão). Conforme a geometria usada, a eficiência da célula poderá alterar-se de forma significativa. No caso do uso de um escovilhão com fibras de carbono, a área para a formação do biofilme aumentará, o que pode conduzir a uma maior produção e captação de eletrões provenientes da vizinhança do mesmo e da atividade microbiana presente na sua superfície.

O biofilme formado no eletrodo é uma comunidade estruturada e complexa de microrganismos, envolvidos por uma matriz extracelular de polissacarídeos, ligados entre si e a uma superfície. O desenvolvimento do biofilme compreende várias etapas: a adesão inicial à superfície, seguida da formação de microcolónias e, em alguns casos, uma diferenciação das microcolónias em macrocolónias envolvidas numa matriz de exo polissacarídeos (Shukla et al., 2004).

## **2.2. Potenciais aplicações das células de combustível microbianas**

Relativamente às potenciais aplicações das células de combustível microbianas, estas têm sido estudadas como um processo alternativo de produção de energia elétrica, porém a sua aplicação está muito limitada a algumas áreas e certas utilidades. Algumas das aplicações passam pelo tratamento de águas residuais/produção de energia (Shukla et al., 2004), monitorização da carência bioquímica de oxigénio (CBO) associada à emissão de poluentes (Pinto, 2014), produção de hidrogénio e fonte de alimentação para sensores remotos.

Com o avanço da microeletrónica, a exigência de energética dos dispositivos eletrónicos diminui consideravelmente. Usualmente, as baterias são utilizadas para sensores químicos de alimentação, porém em algumas aplicações a regular substituição das mesmas pode se revelar dispendioso, demorado e pouco prático. Logo, uma possível solução para este problema é a utilização de fontes de energia autorrenováveis, como se usa nas MFCs, que conseguem operar por um longo período utilizando recursos locais (Shantaram, 2005).

## **2.3. Limitações das MFCs**

Nos últimos anos, as MFCs têm recebido cada vez mais atenção devido às suas aplicações no tratamento de águas residuais, biorremediação e geração de eletricidade, contudo é necessário aumentar a quantidade de energia produzida para que se tornem competitivas com outras fontes de energia renovável. Ainda não é conhecido o limite superior da potência atingida nas MFCs por causa da alta resistência interna que limita a densidade de potência máxima. Vários estudos realizados com MFCs em que se aplicam substratos e microrganismos semelhantes, foram comparadas em relação à densidade de potência máxima obtida, tendo-se verificado a existência de até uma ordem de magnitude neste parâmetro (Cheng et al., 2006). Isto comprova que o desempenho da MFC é determinado por fatores relativos à configuração do reator, o qual é limitado por fatores que aumentam a resistência, como o consumo de água e nutrientes inorgânicos, bem como diferenças no material utilizado nos elétrodos. É necessário que haja uma otimização da configuração do reator e dos eletrólitos para permitir a operação das MFCs com todo o potencial catalítico dos microrganismos (Lehnen, 2014).

A ação das células de combustível microbianas também está limitada por fatores, como a resistência interna do meio que está dependente da condutividade elétrica do mesmo e da membrana seletiva, assim como a resistência de contacto entre os elétrodos. Uma outra limitação está relacionada com o metabolismo dos microrganismos, dependente da temperatura ótima de crescimento dos mesmos e da sua capacidade para formar biofilme e consequentemente gerar mais energia. O transporte dos eletrões até ao eléctrodo é também um fator que influencia a eficiência do sistema e, por esta razão é um fator limitante, tendo em conta que muitos microrganismos dispersos no meio podem não conseguir fornecer os eletrões que produzem para o sistema (Daniel et al., 2009).

O comportamento das MFCs, bem como de outras células de combustível, é determinado pela corrente, taxa de oxidação do combustível e densidade de potência. Vários são os fatores que podem influenciar a taxa de oxidação de combustível compreendendo a atividade catalítica do ânodo, difusão do substrato (combustível), difusão e consumo de eletrões e prótons que juntos formam a resistência interna da célula. Nas células de combustível microbianas, a taxa de consumo dos prótons no cátodo é superior à taxa de transferência destes através da membrana. As MFCs utilizam uma variedade de compostos inorgânicos essenciais para o crescimento das bactérias, além do substrato (Oh et al., 2004).

A principal reação que ocorre no compartimento catódico é a redução de oxigénio por estar sempre disponível e sem custos, na forma de ar. Porém, a cinética da redução do oxigénio nas MFCs é lenta e tem impulsionado o desenvolvimento de novas estruturas catódicas assim como cátodos revestidos por catalisadores metálicos com o objetivo de acelerar essa reação.

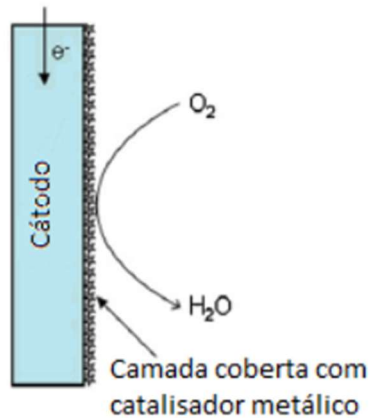


Figura 2.2. Eléttrodo revestido com catalisador metálico (Lehnen, 2014)

O carbono é o material mais frequentemente usado no eléttrodo, contudo é um catalisador pobre para a reduçãoo do oxigénio. A adiçãoo de um catalisador, como platina, ao cátodo para promover a reaçãoo de reduçãoo de oxigénio foi observada para melhorar o desempenho da célula, porém o seu elevado custo limita a sua utilizaçãoo, especialmente quando aplicada em larga escala, como para o tratamento de águas residuais (Yang et al., 2014).

Um outro composto utilizado no compartimento catódico é o ferricianeto. Este possui maior cinética de reduçãoo do que o oxigénio no cátodo e relativamente alto potencial de reduçãoo. O ferricianeto é reduzido a ferrocianeto, logo é necessário substituí-lo após ser consumido, o que o torna desvantajoso em relaçãoo ao oxigénio.

Estudos demonstram que as densidades de potência continuam a aumentar quando o tamanho do ânodo é reduzido em até 40%, ou então quando o tamanho do cátodo é aumentado, evidenciando que o cátodo, mesmo na presença de catalisadores continua limitado cineticamente (Cheng e Logan, 2007).

#### **2.4. Células de combustível microbianas associadas a plantas**

Em 2012, Timmers et al. Associou MFC a plantas (PMFC). Esta tecnologia que deriva das MFC, utiliza rizodepósitos excretados nas raízes de plantas para alimentar diretamente as bactérias electroquimicamente ativas (EAB) do ânodo, para produzir bioeletricidade (Kabutey et al., 2019). A energia solar é utilizada pelas PMFC para ser transformada em eletricidade por meio da oxidaçãoo de

compostos orgânicos provenientes da fotossíntese e deposição de compostos orgânicos das plantas na rizosfera (Timmers et al., 2012).

Na PMFC, os prótons, elétrons e dióxido de carbono são produzidos pela oxidação de compostos orgânicos excretados pelas raízes das plantas no ânodo. Para o eletrodo do ânodo são transferidos os elétrons que posteriormente são consumidos no compartimento do cátodo por redução de oxigênio a água (Timmers et al., 2010 e Timmers et al., 2012).

Ainda que as PMFC's tenham sido apontadas como uma abordagem alternativa para o uso de plantas como fonte de energia, a aplicação de uma PMFC convencional agregada a rizodepósitos é bastante limitada devido a fatores ambientais e pelas espécies de plantas que têm essa capacidade de excreção. Visto que as plantas contribuem para a captura de CO<sub>2</sub> e operam como coletores de energia solar, fotossintetizadores de combustíveis e reservatórios de energia na natureza, devem ser adotadas condutas mais ecológicas e diretas quando se usar as plantas como fonte de energia alternativa e renovável (Lu et al., 2020).

As PMFC's, como mencionado anteriormente, fornecem uma fórmula alternativa para usar a bioenergia da fotossíntese pelas plantas de uma maneira mais direta e amiga do ambiente em comparação com outros procedimentos, incluindo a formação de longo prazo de combustíveis fósseis, pirólise, fermentação anaeróbia para biogás ou biocombustíveis e liquefação hidrotérmica, em que exigem o consumo de energia e altas temperaturas. De forma simultânea, a produção de bioeletricidade e biomassa tornam as PMFC uma opção atraente para a futura energia verde. A energia solar, eólica, geotérmica e hidrelétrica sem dúvida diminuem as pegadas de CO<sub>2</sub>. Contudo, estas energias apresentam desvantagens, como a transformação da paisagem, limitações geográficas e processos de uso intensivo de energia. Em contraste, as PMFC podem criar energia contínua sem competição por alimentos e podem ser operados em simultâneo com a produção de alimento e em qualquer local (Nitisoravut e Regmi, 2017).

A rizosfera é a região próxima às raízes e à superfície da raiz estendendo-se até cerca de 4 mm onde os eletrodos são inseridos durante a instalação da PMFC. Esta suporta uma diversidade de microrganismos pois oferece superfícies favoráveis à fixação bacteriana devido à libertação de elevadas quantidades de

rizodepósitos pelas raízes das plantas (Kabutey et al., 2019). Nas PMFC's, as comunidades microbianas presentes na rizosfera variam com o tipo de exsudados radiculares (que diferem dentro e entre as espécies de plantas) e a matriz de suporte ou inóculo e as condições de operação.

As raízes das plantas libertam inúmeros compostos na rizosfera. Os exsudados radiculares iniciam e controlam as interações entre os micróbios do solo e as raízes da planta. A exsudação radicular está envolvida no processo de rizodeposição, uma das principais causas da libertação de carbono orgânico no solo pelas raízes das plantas. As características dos exsudados radiculares são definidas pela espécie vegetal, idade da planta e fatores externos como stress biótico e abiótico. A libertação de compostos orgânicos das raízes é um componente essencial na mineralização dos nutrientes adquiridos e na mediação das interações planta-micróbio (Sophia e Sreeja, 2017).

## **2.5. Coberturas e paredes verdes**

A implementação de infraestruturas verdes, sobretudo em meios urbanos, para adaptação às alterações climáticas e aos padrões meteorológicos mutáveis pode aumentar a resiliência dos edifícios dos territórios. A renovação do edificado é uma medida eficaz de adaptação para aumentar a resiliência dos edifícios, bem como reduzir as necessidades energéticas. Aplicando camadas adicionais de isolamento térmico e janelas energeticamente eficientes ao edifício, a transferência de calor entre o ambiente exterior e interior diminui, reduzindo deste modo a quantidade de energia necessária para atingir as condições de conforto no interior do edifício. Outras alternativas de renovação passam pela aplicação de revestimentos da envolvente com materiais de baixa absorção e elevada refletividade, de modo a reduzir os ganhos de calor solar (Andric et al., 2020).

Telhados e coberturas verdes são uma metodologia de adaptação para aumentar a resiliência às alterações climáticas. Paredes verdes, também denominadas de fachadas verdes, são utilizadas há séculos para reduzir a temperatura da parede, e conseqüentemente alcançar a temperatura de conforto térmico. Os telhados verdes são equivalentes às paredes verdes, onde a vegetação é adicionada ao telhado do edifício.

Uma cobertura verde é uma cobertura de um edifício que está total ou parcialmente coberta por vegetação e solo sobre uma membrana impermeável. Estas podem incluir um sistema de drenagem e irrigação e também uma camada adicional que poderá funcionar como uma barreira contra raízes. Também pode ser descrita como verde, se conter algum elemento “verde”, ou seja, na medida em que proporciona benefícios ambientais, tais como sistemas fotovoltaicos e painéis solares (Martins, 2010).

Existem dois tipos principais de coberturas verdes, em função da escolha da vegetação: coberturas verdes intensivas e coberturas verdes extensivas.

- a) As **coberturas verdes intensivas** apresentam uma finalidade menos utilitária e mais paisagística. São caracterizadas pelo uso de plantas que necessitam maior consumo de água e precisam de sistemas de irrigação, adubo e manutenção de forma geral, tais como os jardins tradicionais. O substrato exige uma espessura mínima de 15 cm e pode chegar a 2 m. Os custos são mais elevados, tanto na fase de implementação como nas fases de manutenção, devido aos gastos com os materiais e com a mão de obra. Este tipo de cobertura é adequado para inclinações de 0° a 1,2°. As coberturas intensivas mais simples são compostas por relvados e plantas de cobertura de solo, opções que exigem manutenção regular (Nascimento et al., 2008 e Neoturf, 2017).
- b) As **coberturas extensivas** são as mais resistentes e requerem pouca ou nenhuma manutenção. Estas são mais simples, exibem um aspeto mais natural e a origem da sua composição sobrecarrega menos a estrutura dos edifícios. A sua espessura varia entre os 5 e 10 cm. O abastecimento de água e de substâncias nutritivas ocorre por processos naturais. As coberturas extensivas são altamente resistentes às variações pluviais, uma vez que é usada vegetação de pequeno porte, frequentemente autóctone, com capacidade de adaptação a condições severas e locais e com características de alta regeneração. Exemplos de flora que se enquadra a este perfil são os musgos, ervas, gramíneas, suculentas e relva, sendo estas a vegetação comumente utilizada (Nascimento et al., 2008).

Tanto as coberturas verdes como os telhados verdes apresentam inúmeras vantagens como desvantagens. As vantagens passam pela diminuição da poluição e melhoramento da qualidade do ar das cidades, uma vez que as plantas absorvem substâncias tóxicas. A utilização destas estruturas atrai insetos, pássaro, abelhas, entre outros, o que significa que se criam e preservam-se habitats aumentando a biodiversidade. Uma outra vantagem passa pelo melhoramento do isolamento térmico do edifício, protegendo o interior dos edifícios contra as temperaturas elevadas do verão e ajuda a manter a temperatura no inverno, o que leva a uma diminuição de consumo energético em equipamentos de ar condicionado. Melhora, também, o isolamento acústico da edificação, visto que a vegetação minimiza os impactes da poluição sonora. Outro benefício refere-se à capacidade de retenção de águas das chuvas, controlando e evitando cheias graças à impermeabilização dos solos (Almeida, 2019).

Relativamente às desvantagens, destaca-se o facto de este tipo de estrutura poder ter um investimento inicial elevado, necessitar de manutenção para manter a estrutura “saudável” e com aspeto visual agradável, precisar de mão-de-obra especializada para a instalação, assim como acesso conveniente ao topo do edifício, para além de também serem necessárias medidas de proteção contra o vento e o fogo.

Apesar de existirem desvantagens, os benefícios que este tipo de estrutura proporciona ao meio ambiente envolvente, sobretudo em termos de promoção da biodiversidade e bem-estar, compensam largamente as desvantagens.

## **2.6. Caraterização da *Mentha pulegium* e *Mentha piperita***

*Mentha pulegium*, comumente conhecida como poejo, é uma espécie de erva medicinal da família Lamiaceae que cresceu na Europa, Ásia, Norte de África, e cresce selvagem em Portugal. É comum encontrar esta planta em locais húmidos, ao longo de estradas solarengas e perto de água (Dehghani et al., 2018; Póvoa et al., 2006). É uma espécie herbácea perene, de 10 a 50 cm de altura, com caules eretos. As folhas são pequenas, opostas, ovais e lanceoladas. As flores, dispostas em espigões, interrompidas nas axilas das folhas e ramos superiores do caule, são pequenas e lilás ou rosa-pálido, e por vezes brancas.



Floresce de julho a outubro (Muñoz, 1986). Quanto às condições de crescimento, cresce em altitudes até 1500 m, com preferência para climas temperados, embora seja resistente à geada e ao frio e viva em solos calcários, mas prefere solos leves, ricos em matéria orgânica, frescos e irrigados (Muñoz, 1986). Tradicionalmente, o poejo tem sido utilizado como antisséptico para o tratamento de sintomas de gripe, sinusite, intoxicação alimentar, entre outros (Mahboubi e Haghi, 2008).

A *Mentha piperita*, comumente conhecida como hortelã/menta, é uma espécie perene, aromática, herbácea, com caules e folhas púrpuras. Apresenta flores púrpura pálidas no final do verão. A altura desta planta pode variar entre 0,5 m a 1 m, demorando de 2 a 5 anos a atingir a sua altura máxima. As condições de crescimento da *Mentha piperita* são solos húmidos, mas bem drenados e o solo deve ser argiloso ou arenoso com uma ampla gama de pH. Cresce melhor quando tem sombra parcial (The Royal Horticultural Society, 2022).

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

Para a realização do presente estudo e consecução dos seus objetivos, foram definidas as seguintes etapas metodológicas: i) avaliação do impacto do jardim vertical no efeito de ilha de calor; ii) avaliação do potencial de células de combustível microbianas com plantas para produção de eletricidade.

#### **3.1. Avaliação do impacto do jardim vertical no efeito de ilha de calor**

O jardim vertical (figura 3.1) da ESA - IPVC foi instalado na parede do Pavilhão 2, pela empresa NEOTURF no âmbito do projeto SEIVA – Sistemas Energéticos e Infraestruturas Verdes para Agricultura, com financiamento do Fundo Ambiental (Aviso n.º 6700/2021). A estrutura utilizada foi o WallGreen da LandLab, que corresponde a um sistema de jardim vertical modular, fabricado em plástico reciclado, sendo que grande parte deste plástico foi recolhido do mar. Esta estrutura é de fácil manutenção e possui um sistema de irrigação automático e individualizado para cada planta. O tipo de irrigação que se utiliza é a técnica de rega gota a gota. Algumas características deste jardim vertical justificam o seu contributo para a sustentabilidade, designadamente pela necessidade de manutenção ser mínima, mínimo consumo de água, estrutura facilmente desmontável para o transporte do sistema para outro local, possibilidade de troca individualizada das plantas do sistema, entre outras. Este jardim vertical é composto por plantas aromáticas, medicinais e condimentícias, entre as quais a *Mentha pulegium* e a *Mentha piperita*.



Figura 3.1. Jardim Vertical (Sistema WallGreen, da LandLab) instalado na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo.

A avaliação do impacto do jardim vertical no efeito ilha de calor foi efetuada através da recolha de imagens termográficas em duas paredes pertencentes ao mesmo lado do edifício (figura 3.2), uma com jardim vertical e outra sem qualquer infraestrutura verde. As imagens foram recolhidas em novembro (temperaturas mais baixas) de 2022 e no final de junho (temperaturas mais elevadas) de 2023. A fachada do edifício, de onde foram recolhidas as imagens, esteve exposta às mesmas condições, aquando da recolha das imagens. O jardim vertical instalado apresenta as seguintes dimensões: 4,5 m de comprimento; 1,80 m de altura e 20 cm de profundidade.



Figura 3.2. Fachada do edifício onde foram efetuadas as recolhas das imagens termográficas.

A recolha de imagens decorreu com o auxílio de um sensor térmico portátil Flir® E75 (figura 3.3). Este equipamento é uma câmara portátil (Flir® E75), que contém uma lente de 42°, estando a mesma equipada com um microbolómetro que possui um sistema de arrefecimento, uma sensibilidade de 17  $\mu\text{m}$ , com uma resolução de lente de 42°x32°, sendo que a sua imagem é captada com uma frequência de 30 Hz, apresentando esta uma resolução de 320x240 píxeis, com uma variação espectral entre 7,5 e 14  $\mu\text{m}$  e a sua gama térmica, em termos de precisão, varia entre -20 °C e 1000 °C (Flir, 2017). A câmara ainda apresenta a capacidade de captar uma imagem RGB (imagem em cor real), uma imagem de infravermelhos, imagem MSX e capacidade de medição da distância da câmara até ao local da captura através de um laser.



Figura 3.3. Câmara térmica Flir® E75.

### **3.2. Avaliação do potencial de células de combustível microbianas com plantas para produção de eletricidade**

As Células de Combustível Microbianas com Plantas (PMFC) utilizadas no presente estudo foram construídas a partir do kit MudWatt, comercializado pela QeRetail. Este kit inclui 1 ânodo, 1 cátodo, 1 vaso e 1 BlinkerBoard. O BlinkerBoard consiste num circuito de LED pisca-pisca, um microchip de aumento de voltagem e uma tomada de 8 pinos de encaixe. Tanto o ânodo como o cátodo são feitos de feltro de fibra de grafite de alta superfície e o material dos elétrodos utilizados foi fio de titânio. As dimensões do ânodo são 0,5 cm de altura e 8 cm de diâmetro, e o cátodo tem 1 cm de altura e 8,5 cm de diâmetro. Relativamente ao vaso, este é feito de plástico transparente. As plantas utilizadas nos ensaios foram a *Mentha pulegium* e a *Mentha piperita*, que compõem o jardim vertical da ESA-IPVC (tal como descrito na secção 3.1 do presente relatório).

No total, foram preparadas 9 PMFC's, de acordo com o seguinte desenho experimental:

- i. Ensaio 1 (P1E), 2 (P2E) e 3 (P3E) continham um elétrodo mais a planta *Mentha pulegium* (PE);

- ii. Ensaio 4 (H1E), 5 (H2E) e 6 (H3E) continham um elétrodo mais a planta *Mentha piperita* (HE);
- iii. E os ensaios 7 (E1), 8 (E2) e 9 (E3) apenas continham o elétrodo e serviam de grupo controlo (E).

Para além das PMFC's, foram ainda preparados 6 ensaios de controlo com planta e sem eletrodo, designadamente:

- i. Ensaio 10 (P1), 11 (P2) e 12 (P3): *Mentha pulegium*;
- ii. Ensaio 13 (H1), 14 (H2) e 15 (H3): *Mentha piperita*.

### 3.2.1. Montagem das PMFC's

Para a montagem da PMFC's, utilizou-se uma mistura de substrato comercial Floragard (40g), terra recolhida num jardim da ESA (110g) e 100mL de água destilada. Esta mistura, bem como o solo utilizado e o substrato foram analisados, no que se refere aos parâmetros e métodos apresentados no quadro 3.1.

Quadro 3.1. Parâmetros analisados e métodos utilizados na análise ao solo utilizado nas PMFC's.

Parâmetros analisados	Método
Textura	Manual
pH	Extrato em água
Matéria orgânica (%)	Colorimétrico
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (µg g <sup>-1</sup> )	Método colorimétrico Egner-Rien/H <sub>2</sub> O
K <sub>2</sub> O (µg g <sup>-1</sup> )	Fotometria de chama Egner-Rien/H <sub>2</sub> O
Ca (µg g <sup>-1</sup> )	Absorção atômica (H <sub>2</sub> O, acetato de amonia)
Mg (µg g <sup>-1</sup> )	Absorção atômica (H <sub>2</sub> O, acetato de amonia)

A composição da terra, do substrato e da mistura (terra + substrato) utilizada nos ensaios realizados encontra-se descrita nos quadros 3.2.

Quadro 3.2. Resultados da análise efetuada à terra, substrato e mistura de ambos utilizada na preparação das PMFC's.

Parâmetros analisados	Terra	Substrato	Mistura
Textura	Mediana	Ligeira	Ligeira a mediana
pH	5,5	5,7	6,3
Matéria orgânica (%)	3,6	>15	13,7

P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (µg g <sup>-1</sup> )	191	421	286
K <sub>2</sub> O (µg g <sup>-1</sup> )	241	516	298
Ca (µg g <sup>-1</sup> )	752	6538	2555
Mg (µg g <sup>-1</sup> )	84	646	218

A Adaptação do kit Mudwatt de modo a converter o sistema numa PMFC, fez-se com uma abertura de cerca de 1 cm de diâmetro no centro do cátodo, para que a planta pudesse atravessar e ficar em contacto com o solo. O ânodo foi colocado acerca de 1 cm acima do fundo do vaso, em cima da mistura (terra + substrato) preparada. De seguida colocou-se o resto da mistura terra/substrato e a planta, e por fim colocou-se o cátodo à superfície, pousado sobre o solo húmido e estar exposto ao ar. Relativamente aos ensaios de controlo só com elétrodo e sem planta (MFC), estes foram preparados de igual forma, com a exceção de que não foi colocada qualquer planta.

Quanto aos ensaios de controlo só com planta e sem elétrodo, também foram montados com a mesma mistura de solo usada nas PMFC's, só não continham o elétrodo. O processo de montagem encontra-se representado nas seguintes figuras.



Figura 3.4. Preparação da mistura de solo para a utilização nas PMFC's e nos ensaios controle.



Figura 3.5. Material que constitui a PMFC (à esquerda) e a PMFC em montagem (à direita).

### 3.2.2. Início dos ensaios, manutenção e monitorização das PMFC's

Os ensaios decorreram entre 30 de março de 2022 e 12 de julho de 2023, correspondendo a 463 dias de operação e monitorização das PMFC's.

Os sistemas foram colocados numa câmara Fitoclima PLH "Walk-In" da ARALAB, com as seguintes condições de operação: Temperatura a 23°C; Humidade a 60%; Fotoperíodo de 12h luz/12h escuro.

Para a manutenção dos sistemas, estes foram regados três vezes por semana. A quantidade de água utilizada na rega foi sempre a mesma em cada ensaio. Nos dias e que os sistemas eram regados, procedeu-se à sua pesagem e medição das voltagens das PMFC's e MFC's, com recurso a um multímetro (MAMMOOTH A170 702 Multímetro), antes e após a rega e registavam-se os respetivos valores (figura 3.5). Foram também determinadas as curvas de polarização para cada sistema PMFC/MFC com o auxílio de uma caixa de resistências, perfazendo, no total, seis curvas de polarização.





Figura 3.6. Medição da voltagem da PMFC no primeiro dia de ensaio.

Foi ainda elaborado um registo da evolução do crescimento das plantas e recolhidos alguns dados, para se avaliar o efeito da PMFC no crescimento da planta. Para tal, foi realizado um registo fotográfico entre a 1<sup>a</sup> e a 15<sup>a</sup> semanas de operação. Entre o 34<sup>o</sup> e o 101<sup>o</sup> dias de operação foram ainda recolhidos outros dados sobre a planta, designadamente, o número de caules, a altura do caule (cm), o número de folhas por caule, a largura e comprimento da folha (cm) por amostragem.

### **3.2.3. Análise da comunidade microbiana**

Para cada ensaio com PMFC's, selecionou-se o sistema que registava o valor tensão mais elevado, para se proceder a uma identificação e caracterização preliminar da comunidade bacteriana presente na superfície do elétrodo do ânodo e no rizoma da planta. De forma a remover cuidadosamente o elétrodo do ânodo sem danificar o biofilme, a camada de solo foi retirada até que o elétrodo ficasse completamente exposto. De seguida, retirou-se o elétrodo do ânodo do vaso e colocou-se, em solução PBS (ph 7), bem como as raízes da planta. Estes foram deixados em solução durante 24 h. Posteriormente, procedeu-se à inoculação de placas com meio de agar-sangue e agar TSA com diferentes

diluições (de  $10^{-2}$  a  $10^{-10}$ ) das soluções previamente preparadas e à sua incubação a 30 °C, de forma a permitir o crescimento dos microrganismos.

Após o período de incubação (máximo de 48 h) procedeu-se ao isolamento de espécies bacterianas, com base nas diferentes características morfológicas das colónias formadas. Depois de se obterem os isolados, procedeu-se à extração, purificação e quantificação do DNA de cada isolado. Posteriormente, a sequenciação do DNA permitiu identificar alguns grupos bacterianos presentes. Os protocolos utilizados para a extração do DNA encontram-se descritos em anexo.

### **3.3. Análise estatística**

Os resultados obtidos nas leituras de diferença de potencial dos vários ensaios foram analisados com o auxílio do programa estatístico SPSS Statistics 29, através do teste T-Test, para um nível de confiança de 95%, a fim de se avaliar a existência de diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados obtidos na avaliação do impacto do jardim vertical no efeito de ilha de calor através das medições realizadas com a câmara termográfica, assim como os resultados da monitorização das PMFC's.

### 4.1. Avaliação do impacto do jardim vertical no efeito de ilha de calor

#### 4.1.1. Avaliação do impacto do jardim vertical no efeito de ilha de calor no inverno

A figura 4.1 apresenta uma imagem termográfica recolhida em novembro de 2022, com temperatura ambiente de cerca de 18°C e humidade relativa do ar de 79%.

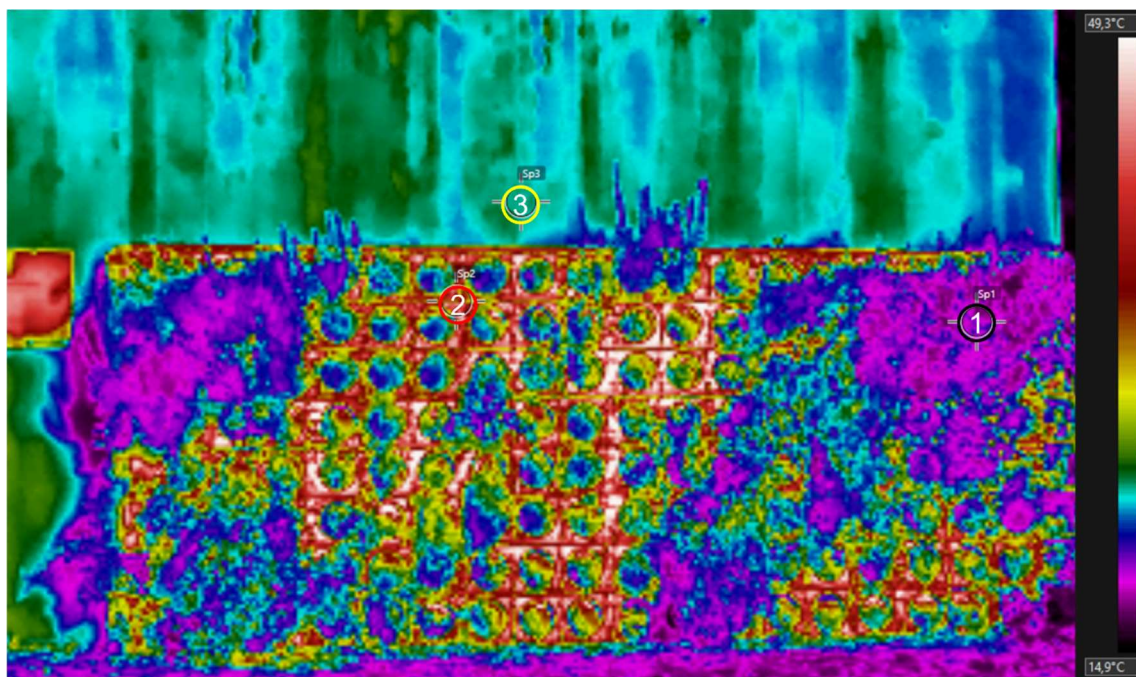


Figura 4.1. Dados termográficos do jardim vertical recolhidos em novembro de 2022.

Após a recolha dos dados termográficos, as imagens obtidas foram analisadas com o auxílio do programa Flir Tools. Este programa permite seleccionar vários pontos na imagem e determinar a temperatura nesses mesmos pontos. Analisando a figura 4.1, foi possível destacar três pontos com diferentes temperaturas. Dois desses pontos encontram-se localizados na estrutura do

jardim vertical (assinalados na figura como 1 e 2) e o terceiro ponto localiza-se acima da estrutura do jardim vertical (ponto 3). Com base nesta análise, as temperaturas detetadas nos pontos 1, 2 e 3, assinalados na figura 4.1, foram de 20,1°C, 33,7°C e 25,1°C, respetivamente.

Tendo em atenção os pontos que foram assinalados no jardim vertical (ponto 1 e 2) verifica-se que entre eles existe uma diferença de temperatura de 13,6°C, a qual pode ser explicada pelo facto de o ponto 1 corresponder ao vaso que contém a planta, localizando-se, portanto, numa zona onde a vegetação é densa e o ponto 2 corresponder à estrutura de plástico negro (exposta ao sol) que serve de suporte para o jardim vertical e, como tal, encontra-se numa zona onde a vegetação ainda é escassa, pois as plantas ainda estavam numa fase de crescimento inicial. O facto de a estrutura do jardim vertical ser feita com plástico de cor preta, e esta cor ter uma baixa refletividade da radiação solar faz com que retenha maior quantidade de calor. Posto isto, as zonas que aparecem com uma cor vermelha, são regiões de baixa densidade vegetativa e onde a estrutura de plástico negro do jardim estaria mais exposta, logo são zonas onde a temperatura é consideravelmente superior relativamente à temperatura registada noutras áreas do jardim e até mesmo na parede de betão, sem jardim (ponto 3). O ponto 3, situado ligeiramente acima do jardim vertical, sobre a parede de betão, apresenta uma temperatura ligeiramente superior à do ponto 1 (situado sobre a vegetação). Como o edifício onde o jardim vertical está instalado é feito de betão, este mesmo material utilizado retém calor, razão pela qual a temperatura do ponto 3 (25,1°C) é superior à temperatura ambiente (18°C) e à temperatura do ponto 1 (20,1°C), o que leva a concluir que a presença de uma infraestrutura verde promove a mitigação do efeito de “ilha de calor”, evitando o sobreaquecimento das paredes do edifício.

Paralelamente, foram recolhidas imagens, com a câmara termográfica, da parede de betão, situada ao lado do jardim vertical, na mesma face do edifício (figura 4.2), no mês de novembro de 2022 (período de inverno).

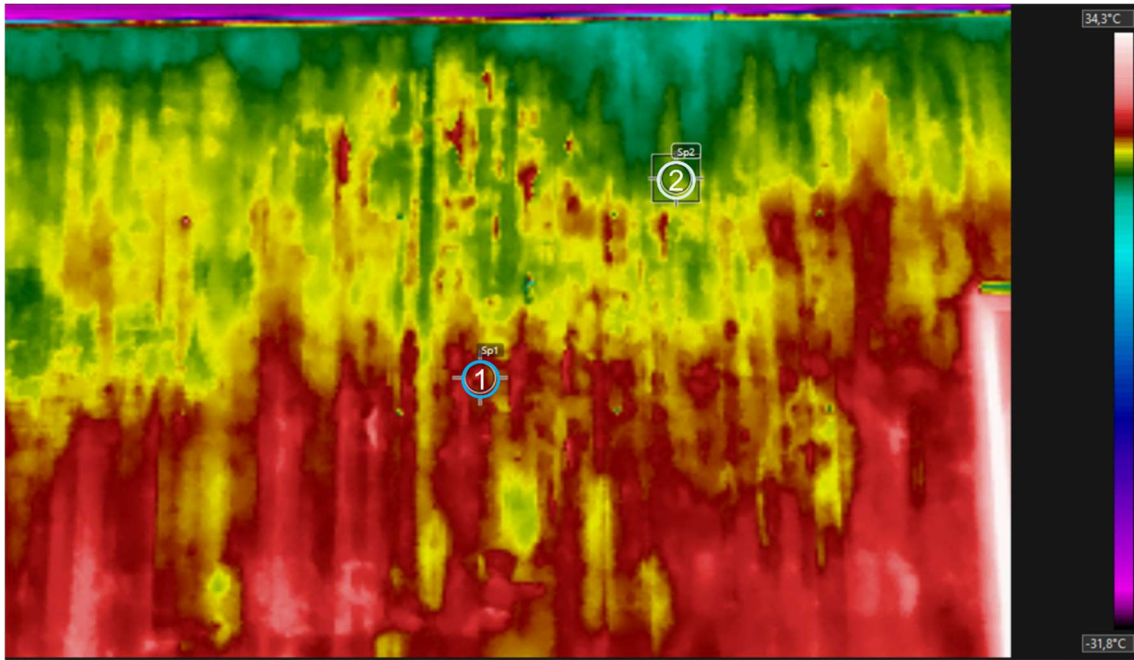


Figura 4.2. Imagem da parede do edifício de betão, sem jardim vertical, obtida no inverno, com a câmara termográfica.

Analisando a figura 4.2, verifica-se que existem três regiões distintas de temperatura, ou seja, a zona onde sobressai o vermelho é uma zona onde a temperatura se encontra mais elevada e a zona onde predomina a cor verde é onde a temperatura se encontra mais baixa, para além da zona a amarelo que corresponde a uma área de transição. O ponto 1 está localizado no centro da parede do edifício e apresenta uma temperatura de 26,5°C e o ponto 2, localizado mais perto do topo da parede apresenta uma temperatura de 23,8°C.

#### **4.1.2. Avaliação do impacto do jardim vertical no efeito de ilha de calor no verão**

A figura 4.3 representa a imagem termográfica recolhida na parede com jardim vertical, em junho de 2023, num dia com temperatura ambiente de cerca de 37°C e humidade relativa do ar de 21%. Importa destacar que, nesta altura, a vegetação do jardim vertical já estava bastante desenvolvida e, conseqüentemente, a estrutura de plástico negro que suporta o jardim vertical já não se encontrava tão exposta à radiação solar por estar coberta pela vegetação em grande parte da sua área superficial.

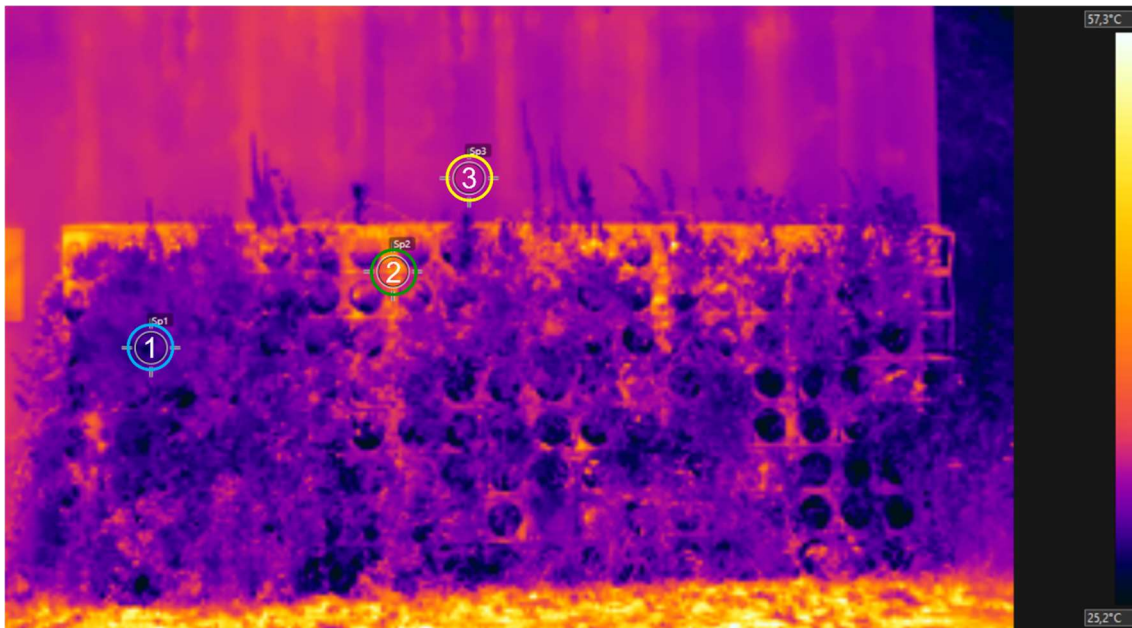


Figura 4.3. Dados termográficos do jardim vertical recolhidos em junho de 2023.

Para a análise dos dados termográficos foram selecionados 3 pontos na imagem da figura 4.3 e determinadas as respetivas temperaturas. O ponto 1 apresenta uma temperatura de 28,9°C e encontra-se numa região de vasta vegetação, o ponto 2 de 42,9°C e foi marcado onde a estrutura estava exposta ao sol e por fim o ponto 3 apresenta uma temperatura de 33,8°C e foi assinalado acima da estrutura do jardim, na parede de betão. Neste caso, também se verifica que a presença de uma infraestrutura verde contribui para mitigar o efeito “ilha de calor” e para evitar o sobreaquecimento do edifício. Se toda a estrutura do jardim vertical estivesse coberta pela vegetação seria de esperar que a temperatura do mesmo rondasse os 28/29°C, conforme se pode verificar pela zona assinalada com o ponto 1. Este valor é o 8°C inferior à temperatura ambiente, registada no dia de recolha da imagem (37°C) e 4°C inferior à temperatura da parede de betão, acima da estrutura do jardim vertical.

A figura 4.4 apresenta a imagem termográfica da parede do edifício de betão, sem jardim vertical, no verão.

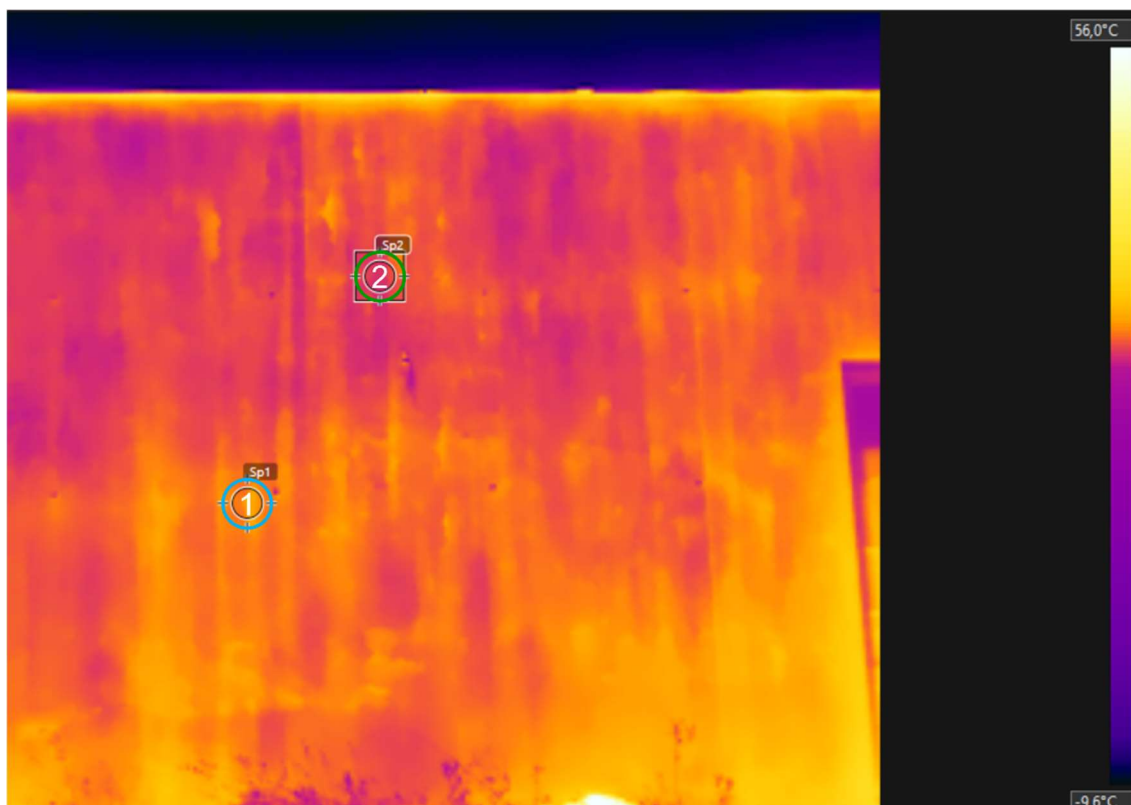


Figura 4.4. Parede do edifício de betão, sem jardim vertical, no verão.

Através da análise da figura 4.4 verifica-se que a região da parede mais próxima do solo apresenta uma temperatura bastante superior quando comparada com a região mais afastada do solo. O ponto 1 apresenta uma temperatura de 36,4°C e está localizado no centro da parede do edifício e o ponto 2, mais afastado do solo, apresenta uma temperatura de 33,2°C. Tal como verificado nas medições efetuadas no inverno, na zona da parede junto ao solo as temperaturas são, em geral, mais levadas, pois o solo também irradia calor. O quadro 4.1 apresenta um resumo das temperaturas registadas em vários pontos da parede do edifício, com e sem jardim vertical, no inverno e no verão.

Quadro 4.1. Temperaturas registadas em vários pontos da parede do edifício, com e sem jardim vertical, no inverno e no verão.

	Inverno $T_{amb}=18^{\circ}\text{C}$		Verão $T_{amb}=37^{\circ}\text{C}$	
	Parede com jardim	Parede sem jardim	Parede com jardim	Parede sem jardim
T1 – zona de vegetação	20,1°C	T1 – centro 26,5°C	T1 – zona de vegetação 28,9°C	T1 – centro 36,4°C

T2 – estrutura de plástico negro	33,7°C	T2 – ponto mais afastado do solo	23,8°C	T2 – estrutura de plástico negro	42,9°C	T2 – ponto mais afastado do solo	33,2°C
T3 – parede de betão acima do jardim vertical	25,1°C	-	-	T3 – parede de betão acima do jardim vertical	33,8°C	-	-

Os resultados obtidos, que se apresentam no quadro 4.1, sugerem que o jardim vertical com plantas aromáticas, medicinais e condimentícias, num estado de desenvolvimento vegetativo avançado, contribuiu para reduzir em cerca de 5 – 7°C a temperatura, relativamente à registada na parede de betão, sem jardim vertical, tanto no inverno, como no verão.

## 4.2. Monitorização das PMFC's

Como referido anteriormente, os ensaios de produção de eletricidade com PMFC decorreram entre 30 de março de 2022 e 12 de julho de 2023, correspondendo a 463 dias de operação e monitorização dos sistemas.

### 4.2.1. Análise do sistema solo – planta

No final do período experimental, foram recolhidas amostras de solo de cada um dos sistemas, para análise (quadro 4.5).

Comparando os resultados obtidos com os das análises realizadas ao solo no início do ensaio, verifica-se que houve uma ligeira acidificação do solo, mais notória nos ensaios com PMFC do que com MFC. Além disso, a percentagem de matéria orgânica diminuiu, com exceção do ensaio com PMFC com *Mentha piperita*, em que se manteve. Em todos os ensaios realizados com PMFC, se verificou uma diminuição dos teores de fosforo, potássio e magnésio, porém verificou-se um aumento do teor de cálcio. Quanto à condutividade elétrica, esta relaciona-se com o teor de sais solúveis existentes no solo, logo valores inferiores a 0,40 dS/m (valor de referência, anexo 5) como os obtidos no presente estudo indicam um solo com baixa salinidade. Num solo quanto maior for a concentração de nutrientes, maior será a condutividade elétrica.



Quadro 4.2. Resultados das análises do solo dos ensaios com PMFC e MFC.

Parâmetros analisados	Solo inicial	Solo da PMFC com <i>Mentha pulegium</i> no final do ensaio	Solo da PMFC com <i>Mentha piperita</i> no final do ensaio	Solo da MFC no final do ensaio
Textura	Ligeira a mediana	Ligeira a mediana	Ligeira a mediana	Ligeira a mediana
pH	6,3	5,1	4,9	5,5
Matéria orgânica (%)	13,7	12,1	14,0	10,0
Cond. Eléct. (mS/cm)	n.d.	0,180	0,162	0,258
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (µg g <sup>-1</sup> )	286	177	167	188
K <sub>2</sub> O (µg g <sup>-1</sup> )	298	122	117	128
Ca (µg g <sup>-1</sup> )	2555	2726	2996	3068
Mg (µg g <sup>-1</sup> )	218	179	173	179

Moqsud et al. (2015) e Arulmani et al. (2021) nos seus estudos utilizaram solos com um pH entre os 6,9 e 7,6, que consideram ser um pH recomendado e ideal para o crescimento das plantas e microrganismos associados às suas raízes. Comparando estes valores com os resultados obtidos no presente estudo, nas análises realizadas ao solo, verifica-se que o pH foi sempre inferior. Porém, em relação à condutividade elétrica, os solos utilizados no presente estudo apresentam valores superiores aos descritos na literatura. Moqsud et al., (2015), apresenta valores de condutividade elétrica que rondam os 0,10-0,12 mS/cm.

Ao longo do período em que decorreram os ensaios foram-se observando diferenças nas plantas utilizadas nas PMFC, tal como se verifica nas figuras 4.5 e 4.6.



Figura 4.5. PMFC com *Mentha pulegium* na primeira semana de operação (triplicados dos ensaios).

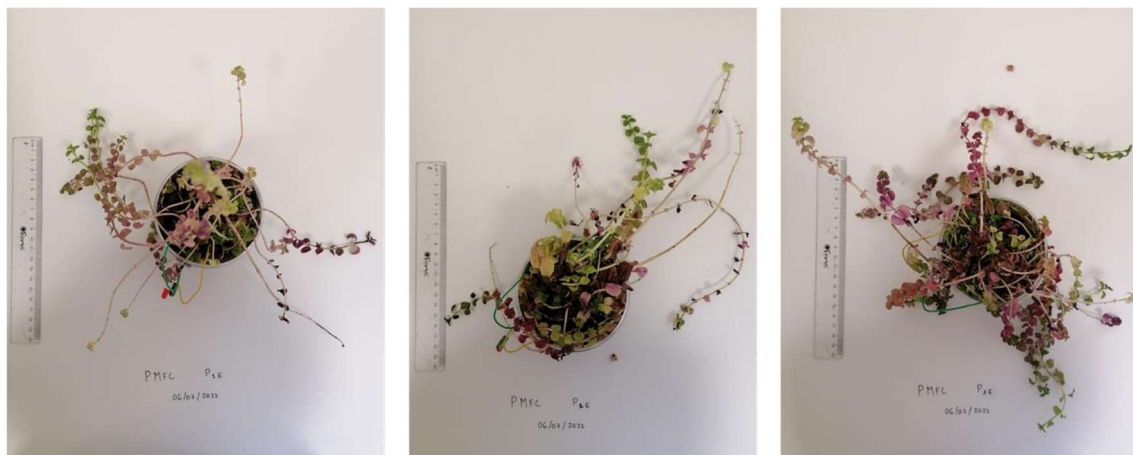


Figura 4.6. PMFC com *Mentha pulegium* na décima quinta semana de operação (triplicados dos ensaios).

Para que fosse possível perceber se a integração da planta numa PMFC tem efeitos sobre a evolução da mesma, foram preparadas plantas controlo em solo sem eléctrodos, para efeitos de comparação (ensaios 10 a 15, tal como se descreve em 3.2). Esta análise teve início no 34º dia de operação e terminou no 101º dia, ou seja, no total foram monitorizados 67 dias de crescimento das plantas.

#### 4.2.2. Comparação entre o crescimento da *Mentha pulegium* integrada na PMFC e a planta controlo

Na figura 4.7 está retratada a comparação entre o comprimento e a largura das folhas para os ensaios P1E (PMFC com *Mentha pulegium*) e P3 (controlo com *Mentha pulegium*).

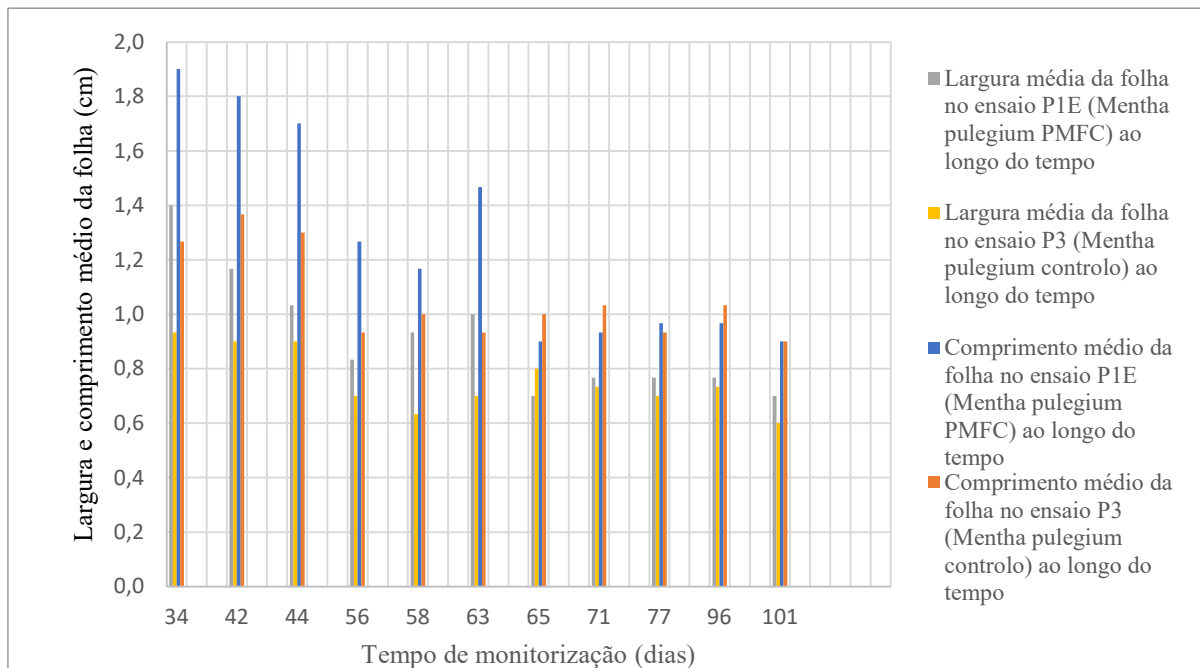


Figura 4.7. Comparação do comprimento e da largura das folhas no ensaio P1E (*Mentha pulegium* PMFC) e o ensaio P3 (*Mentha pulegium* controlo).

Através do gráfico consegue-se observar que nos primeiros dias de monitorização do crescimento das plantas, tanto o comprimento como a largura das folhas eram superiores nas plantas integradas no PMFC. Porém, nos últimos dias da monitorização, os resultados obtidos em ambos os casos foram praticamente idênticos.

Na figura 4.8 está representado o número de caules por planta no ensaio P1E (*Mentha pulegium* PMFC) e o ensaio P3 (*Mentha pulegium* controlo). A partir do gráfico consegue-se perceber que as plantas integradas no PMFC apresentam um melhor desenvolvimento quando comparadas as plantas controlo, ao longo do tempo.

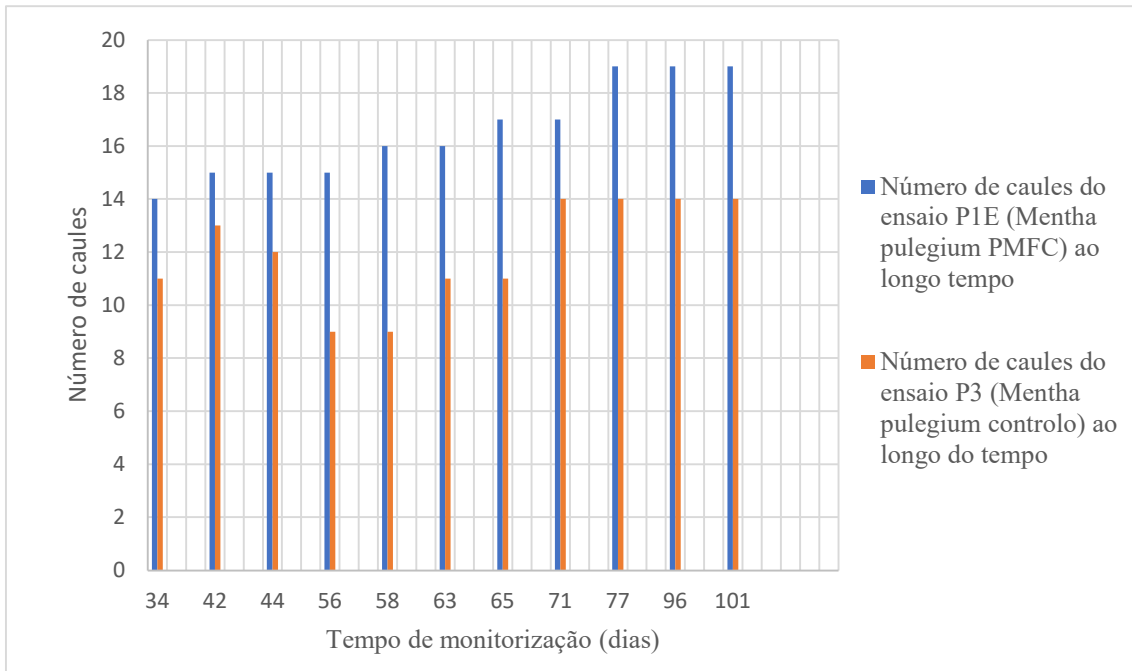


Figura 4.8. Comparação do número de caules entre os ensaios P1E (*Mentha pulegium* PMFC) e o ensaio P3 (*Mentha pulegium* controlo), ao longo do tempo.

Na figura 4.9 encontra-se representado a comparação do comprimento dos caules entre o ensaio P1E (*Mentha pulegium* PMFC) e o ensaio P3 (*Mentha pulegium* controlo), ao longo do tempo. No que se refere ao comprimento do caule é notável que a planta integrada na PMFC apresenta um tamanho de caule superior ao da planta controlo.

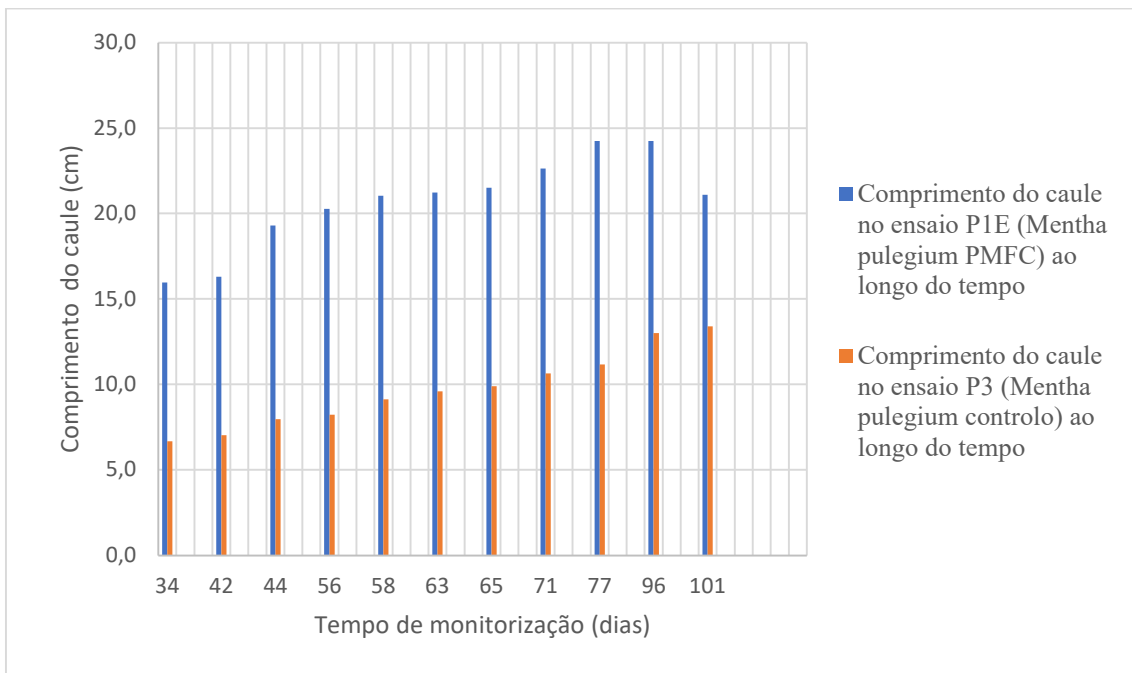


Figura 4.9. Comparação do comprimento dos caules entre os ensaios P1E (*Mentha pulegium* PMFC) e o ensaio P3 (*Mentha pulegium* controlo), ao longo do tempo.

Na figura 4.10. está retratada a comparação do número de folhas entre o ensaio P1E (*Mentha pulegium* PMFC) e o ensaio P3 (*Mentha pulegium* controlo). Através da observação do gráfico é possível concluir que as plantas integres na PMFC apresentam um maior número de folhas quando comparadas com a planta controlo.

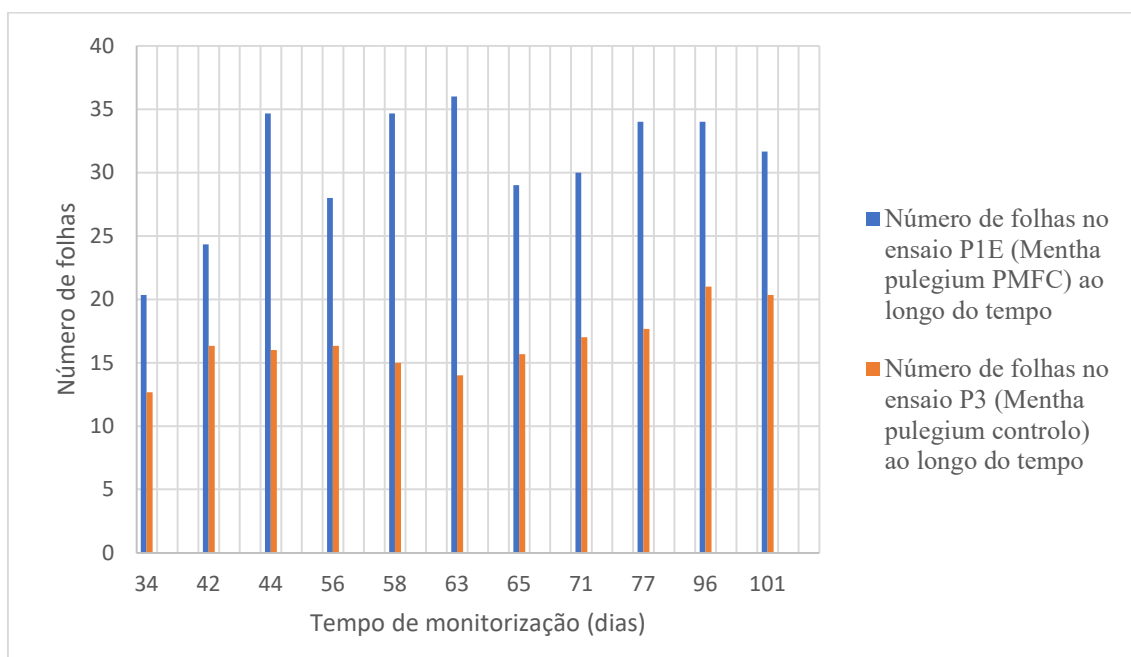


Figura 4.10. Comparação do número de folhas entre os ensaios P1E (*Mentha pulegium* PMFC) e o ensaio P3 (*Mentha pulegium* controlo), ao longo do tempo.

De uma maneira geral, os resultados apresentados anteriormente sugerem que o crescimento da planta pode ser melhorado quando a mesma é integrada numa célula de combustível microbiana vegetal.

#### 4.2.3. Comparação entre o crescimento da *Mentha piperita* integrada na PMFC e a planta controlo

A figura 4.5 apresenta a comparação entre o comprimento e largura da folha para os ensaios H1E (*Mentha piperita* PMFC) e H2 (*Mentha piperita* controlo).

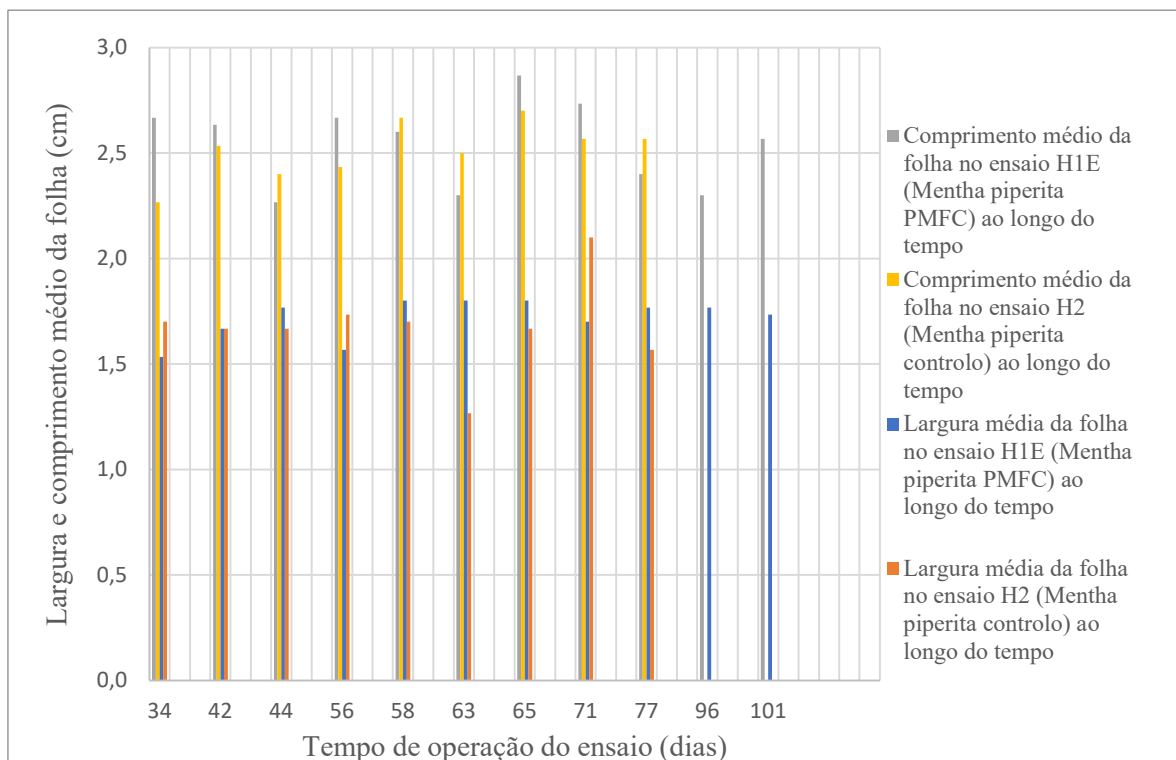


Figura 4.11. Comparação da largura e comprimento das folhas para os ensaios H1E e H2, ao longo do tempo.

Analisando a figura 4.11 é possível perceber que, quer para a largura quer para o comprimento das folhas, os resultados foram semelhantes para ambos os ensaios, ou seja, neste caso a integração da planta na PMFC parece não afetar negativamente o seu desenvolvimento.

A figura 4.12 retrata a comparação do número de caules entre os ensaios H1E e H2, sendo possível verificar que a planta integrada na PMFC (ensaio H1E) apresenta maior número de caules do que a planta controlo. De facto, nos primeiros dias de monitorização a planta controlo manteve o número de caules e após o 58º dia o número de caules duplicou-se mantendo-se até ao 77º dia e sempre em número inferior ao da planta integrada na PMFC.

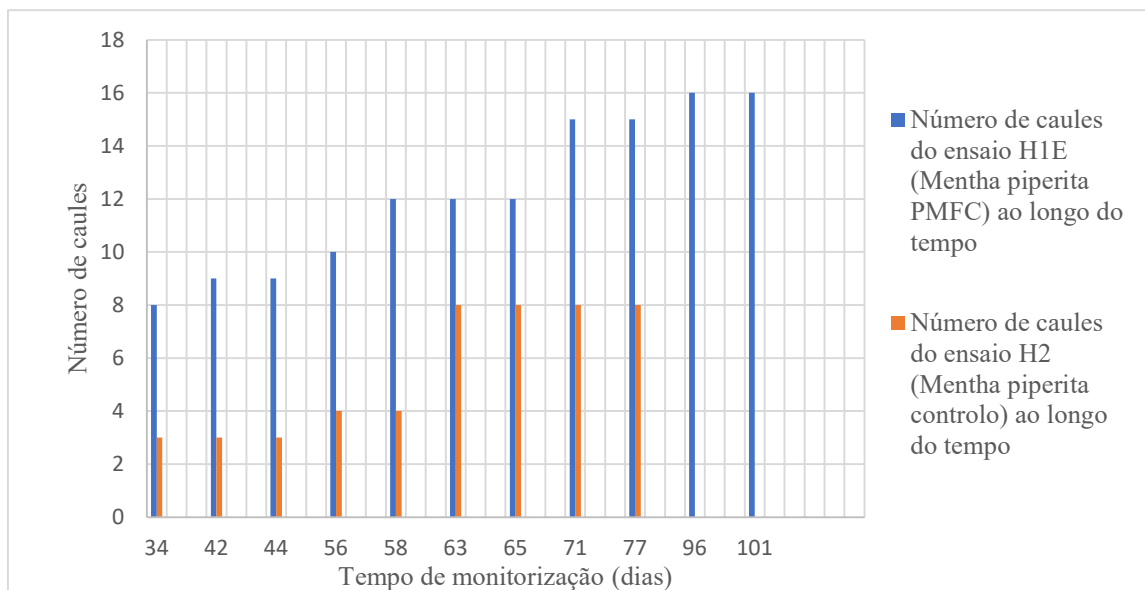


Figura 4.12. Comparação do número de caules entre os ensaios H1E (*Mentha piperita* PMFC) e o ensaio H2 (*Mentha piperita* controlo), ao longo do tempo.

Na figura 4.13 está representado um gráfico com a comparação do comprimento médio do caule entre a *Mentha piperita* integrada na PMFC e *Mentha piperita* controlo. Como se pode observar no gráfico, a planta integrada na PMFC apresentou um desenvolvimento vegetativo superior ao da planta controlo, no que se refere ao comprimento médio do caule.

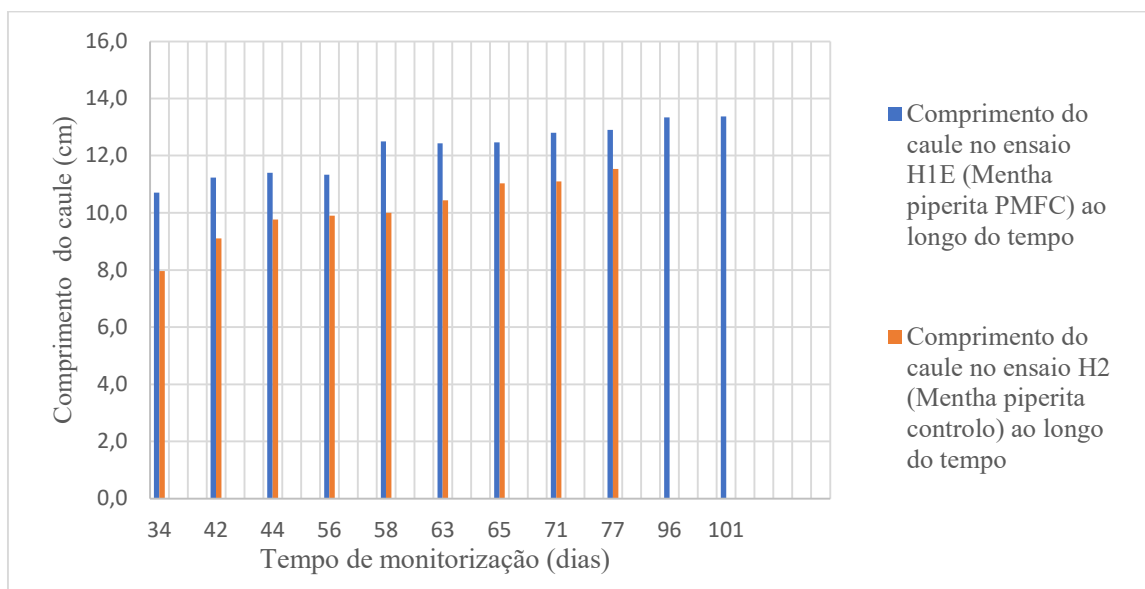


Figura 4.13. Comparação do comprimento dos caules entre os ensaios H1E (*Mentha piperita* PMFC) e o ensaio H2 (*Mentha piperita* controlo), ao longo do tempo.

Por último, a figura 4.14 apresenta o gráfico com a comparação do número de folhas por caule entre o ensaio H1E e o ensaio H2. Os resultados retratados no gráfico, ao contrário do esperado, o número de folhas por caule na planta controlo foi superior ao da planta integrada no PMFC.

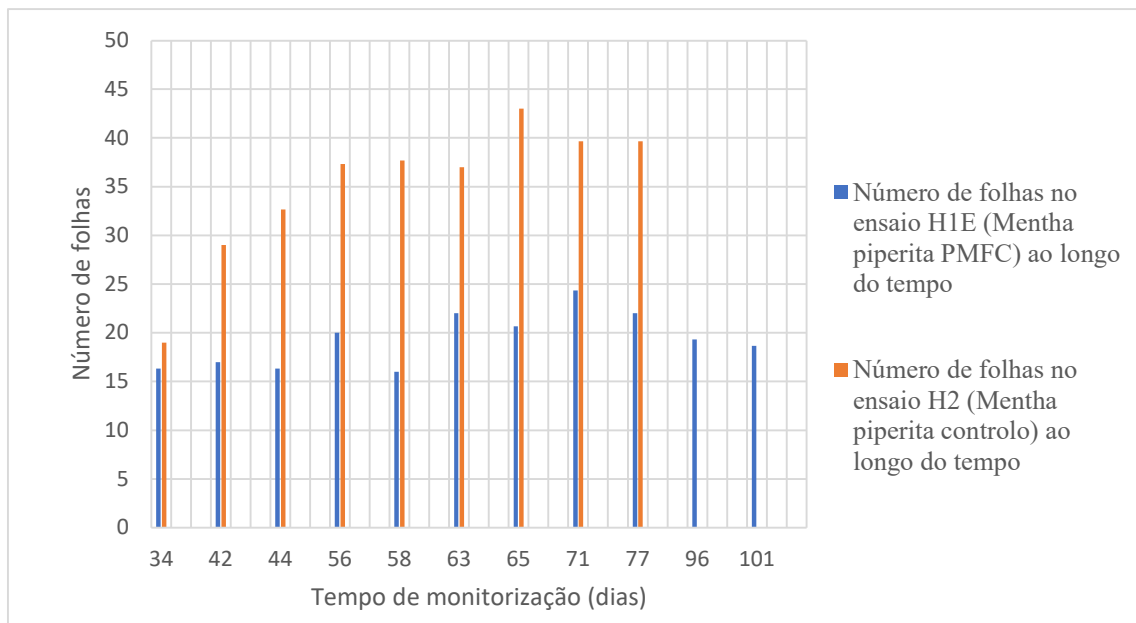


Figura 4.14. Comparação do número de folhas por caule no ensaio H1E (*Mentha piperita* PMFC) e no ensaio H2 (*Mentha piperita* controlo), ao longo do tempo.

Apesar de no presente estudo, nunca se ter adicionado outra fonte de nutrientes, verifica-se que as plantas apresentaram um melhor desenvolvimento vegetativo quando as mesmas foram cultivadas em reatores de PMFC's do que em vasos. De facto, quando as plantas estão instaladas nas PMFC's o teor de humidade do solo é maior pois tanto o eléctrodo do ânodo como do cátodo retém alguma da água, criando condições mais favoráveis para o crescimento da planta.

### 4.3. Produção de electricidade pelas PMFC

#### 4.3.1. Diferença de potencial nos ensaios com *Mentha pulegium* (PE)

A diferença de potencial, também denominada de tensão elétrica (V) é uma grandeza física que esta intimamente ligada ao conceito de corrente elétrica. Na figura 4.15 estão representados os resultados da medição da diferença de potencial para os três ensaios com *Mentha pulegium* e a figura 4.16 apresenta o gráfico com a tensão média produzida pelas PMFC.



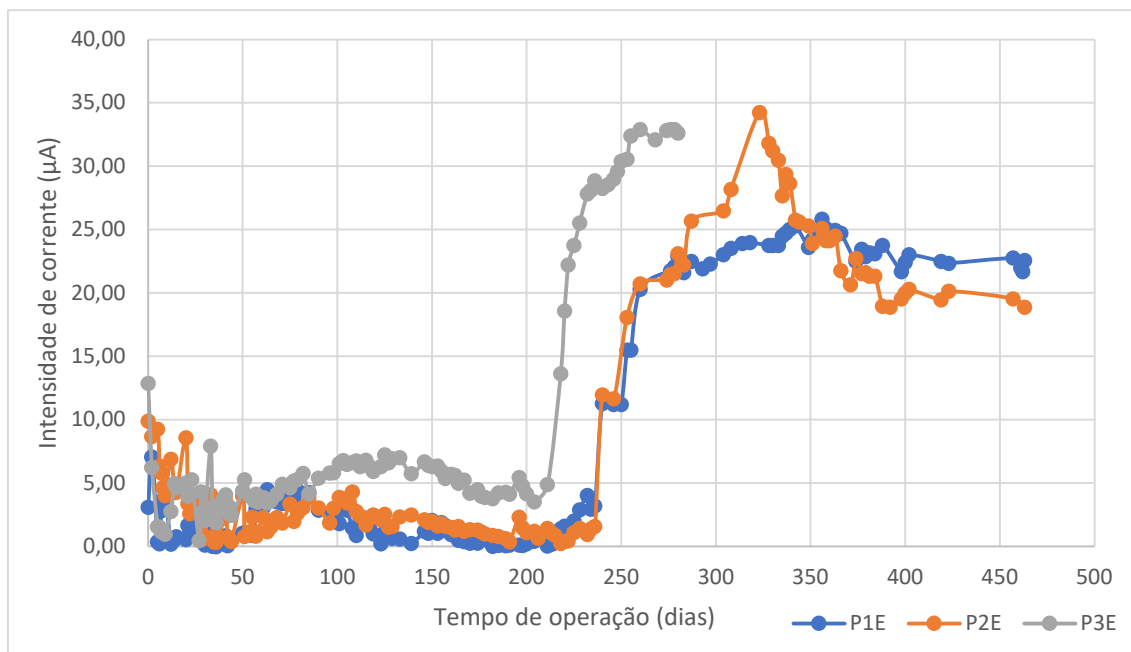


Figura 4.15. Intensidade de corrente ( $\mu\text{A}$ ) para os ensaios P1E, P2E e P3E correspondentes a PMFC com *Mentha pulegium*, ao longo do tempo.

Através da figura 4.15. é possível compreender que nos primeiros dias de monitorização dos ensaios existiram vários picos de tensão, e após o 200º dia observa-se uma acentuada subida das tensões nos três ensaios. Para o ensaio P1E e P2E, essa subida decorre de forma gradual e é observada a partir do 240º dia. Contudo também se verificam algumas descidas que poderão estar relacionadas com a falta de água no solo. Para o ensaio P1E o valor de tensão mais alto registado foi de 350 mV, o que corresponde a uma intensidade de corrente de 25,83  $\mu\text{A}$ , no 356º dia, para o ensaio P2E registou-se a tensão mais alta de 464 mV, que se traduz numa intensidade de corrente de 34,24  $\mu\text{A}$ , no 323º dia, e para o ensaio P3E o valor mais alto registado foi de 446 mV, que corresponde a 32,92  $\mu\text{A}$ . Com estes resultados é possível confirmar que a PMFC tem a capacidade de produzir energia elétrica, uma vez que no decorrer do ensaio sempre que a tensão acumulada era superior a 250 mV, ou seja, uma intensidade de corrente superior a 18,45  $\mu\text{A}$ , o led integrado no sistema da PMFC piscava. Através de uma análise estatística é possível verificar que entre os 3 ensaios não existiram diferenças significativas.

Relativamente à figura 4.16, esta apresenta a tensão média obtida nos três ensaios e o respetivo desvio padrão. Embora todos os ensaios tenham sido montados e mantidos nas mesmas condições, a quantidade de tensão

acumulada foi diferente nos três PMFC com *Mentha pulegium*. Contudo, a partir do 218º dia verificou-se um aumento gradual na tensão acumulada, mantendo-se essa tensão superior aos 230 mV, o que corresponde a uma intensidade de corrente de 16,97  $\mu$ A.

Os diferentes estados de desenvolvimento vegetativo ou até fatores de stress a que a planta possa estar sujeita, podem ser algumas das razões para os diferentes resultados obtidos.

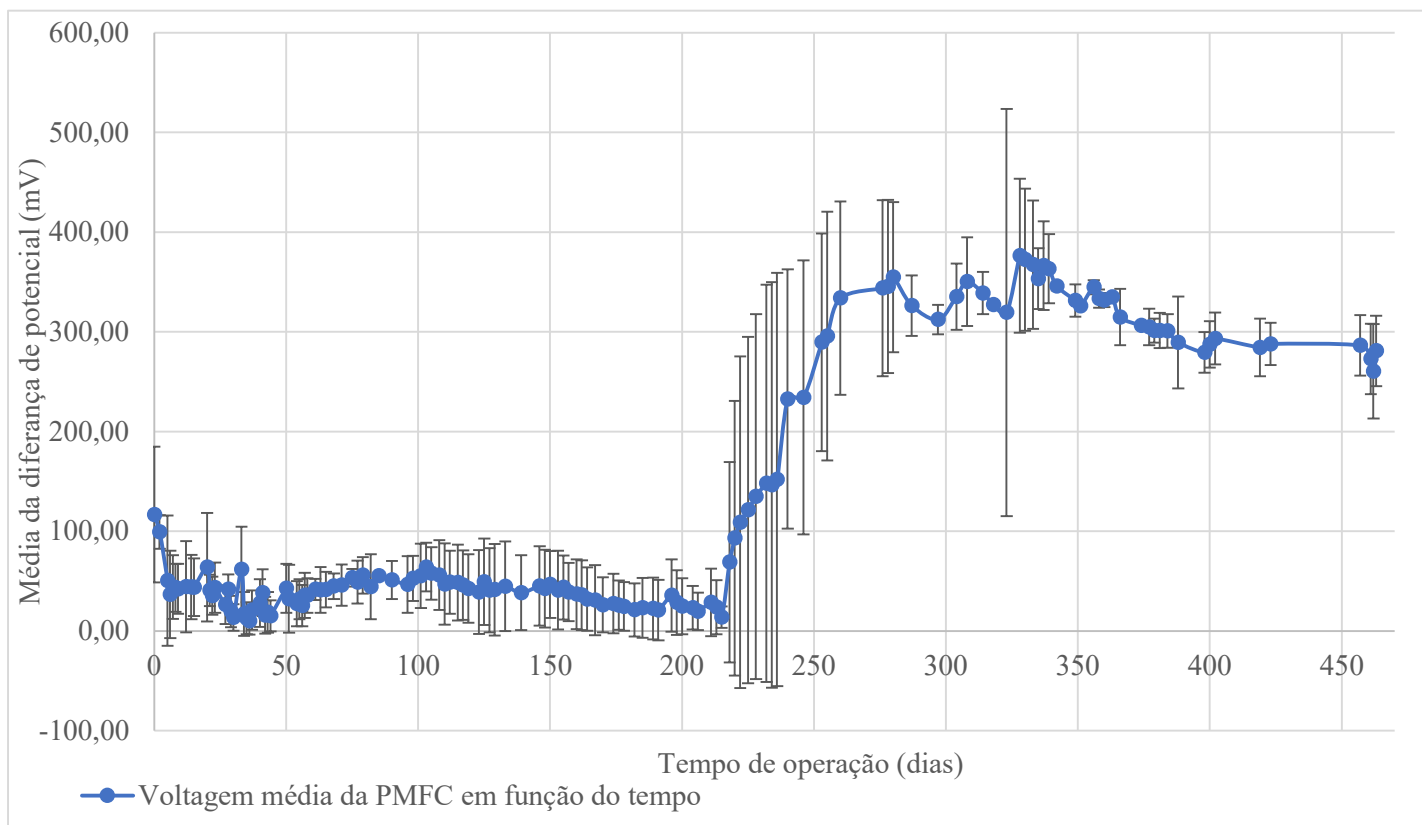


Figura 4.16. Média da diferença de potencial (mV) dos ensaios da *Mentha pulegium*, ao longo do tempo.

#### 4.3.2. Diferença de potencial nos ensaios com *Mentha piperita* (HE)

Os resultados obtidos nos ensaios H1E, H2E e H3E (PMFC com *Mentha piperita*) estão representados na figura 4.17 e a média dos resultados encontram-se retratados na figura 4.18.

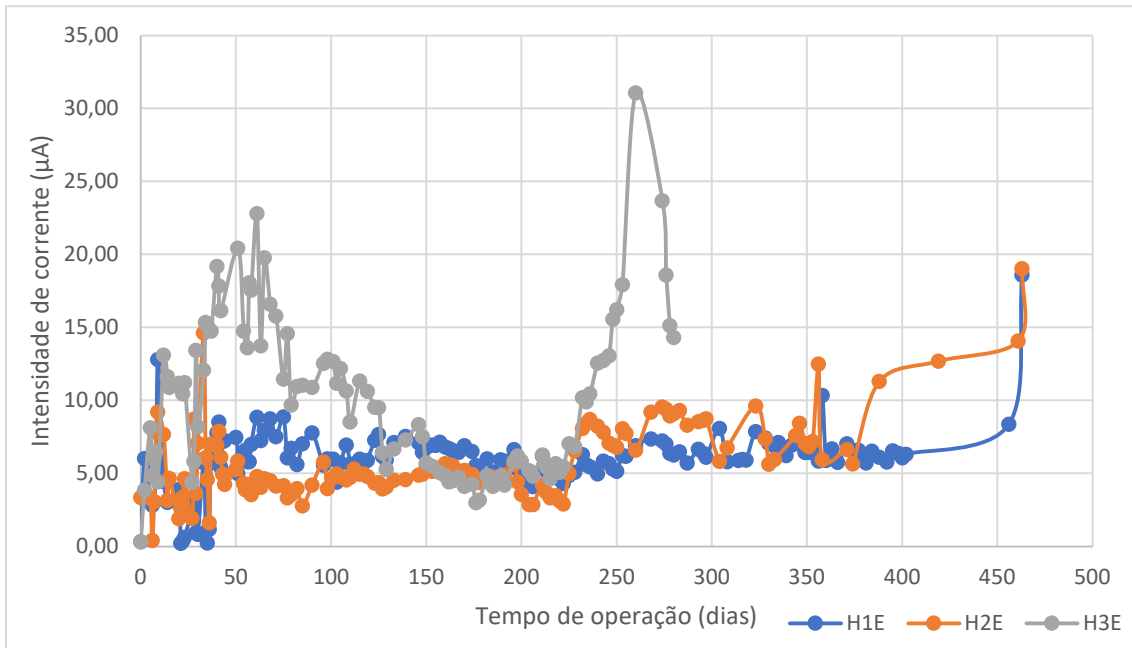


Figura 4.17. Intensidade de corrente ( $\mu\text{A}$ ) para os ensaios H1E, H2E e H3E da *Mentha piperita*, ao longo do tempo.

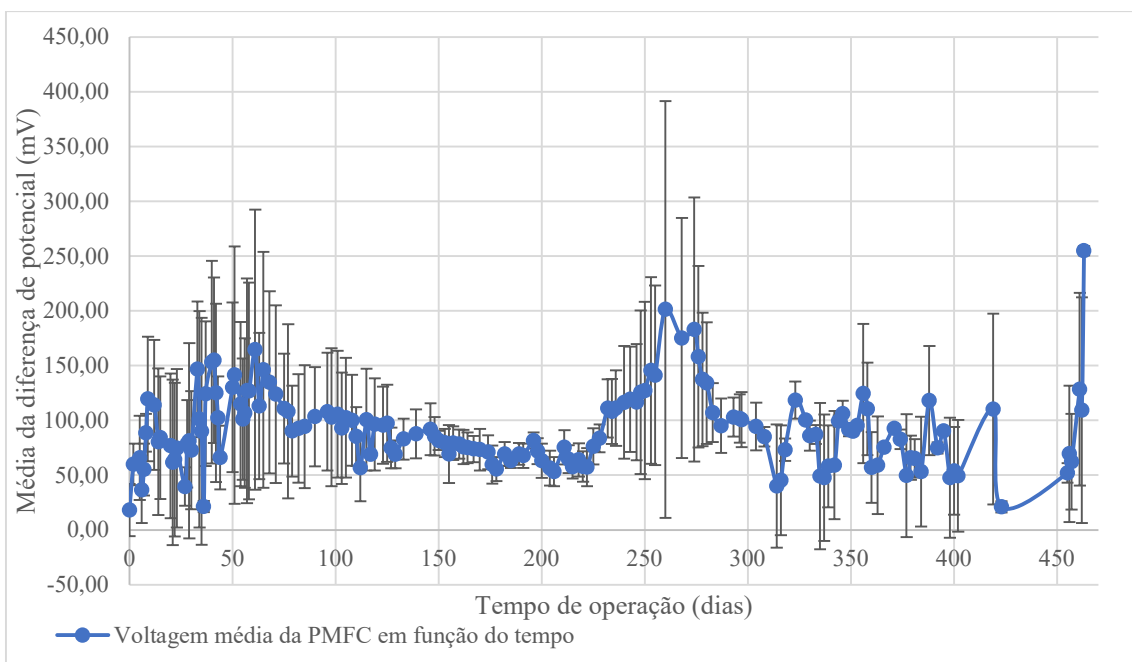


Figura 4.18. Média da diferença de potencial (mV) dos ensaios da *Mentha piperita*, ao longo do tempo.

Analisando o gráfico consegue-se perceber que dos três ensaios, o ensaio H3E apresenta ao longo do tempo vários pico de tensão, porém estes picos de tensão apesar de se traduzirem em produção de energia elétrica por parte da planta, o led integrado na PMFC não chegou a piscar. O facto de o led não ter piscado

pode estar relacionado com o seu mal funcionamento, visto que, nos outros ensaios os leds piscavam a partir dos 250 mV = 18,45  $\mu$ A. Relativamente aos ensaios H1E e H2E também, numa fase inicial, ocorreram picos de tensão, mas estes nunca atingiram a energia necessária para o led piscar, ao longo do tempo ambos os ensaios tiveram comportamentos semelhantes, e no final do tempo de operação, os leds do ensaio H1E e H2E piscavam, visto que os mesmos tinham uma tensão acumulada de 252 mV e 258 mV (respetivamente), que se traduz numa intensidade de corrente de 18,60  $\mu$ A e 19,04  $\mu$ A, respetivamente.

Com base numa análise estatística consegue-se verificar que existem diferenças significativas entre os ensaios H1E e H3E (79,29<sup>a</sup>±29,52 e 137,68<sup>b</sup>±75,82, respetivamente) e entre os ensaios H2E e H3E (73,41<sup>a</sup>±39,23 e 137,68<sup>b</sup>±75,82, respetivamente), mas não existem diferenças significativas entre os ensaios H1E e H2E (79,29<sup>a</sup>±29,52 e 73,41<sup>a</sup>±39,23, respetivamente) (letras diferentes exprimem diferenças significativas,  $p < 0,05$ ).

Relativamente à figura 4.18 é possível concluir com base no desvio padrão, que as tensões produzidas pelos diferentes ensaios tinham valores muito dispersos na fase inicial da experiência, contudo ao longo do tempo essa diferença deixou de ser tão evidente. Após o 100º dia, os valores começaram a estabilizar e os resultados já não apresentavam grande dispersão.

#### **4.3.3. Diferença de potencial para o grupo controlo MFC (E)**

De maneira a entender quais as vantagens, que a aplicação de plantas pode trazer em termos de produção de mais energia, foi preparado um grupo controlo de MFC que não continha planta, de modo que seja possível realizar uma comparação entre os ensaios que continham planta e os que não continham. Os resultados do grupo controlo encontram-se representados na figura 4.19 e 4.20.

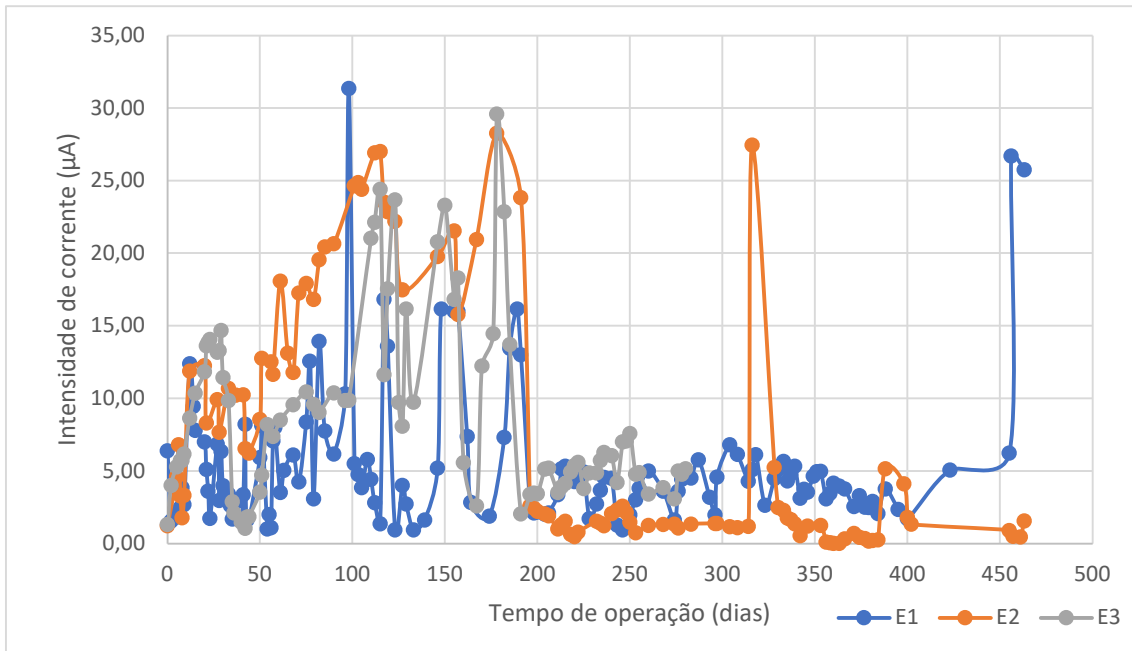


Figura 4.19. Intensidade de corrente ( $\mu\text{A}$ ) para os ensaios E1, E2 e E3 para o grupo controlo, ao longo do tempo.

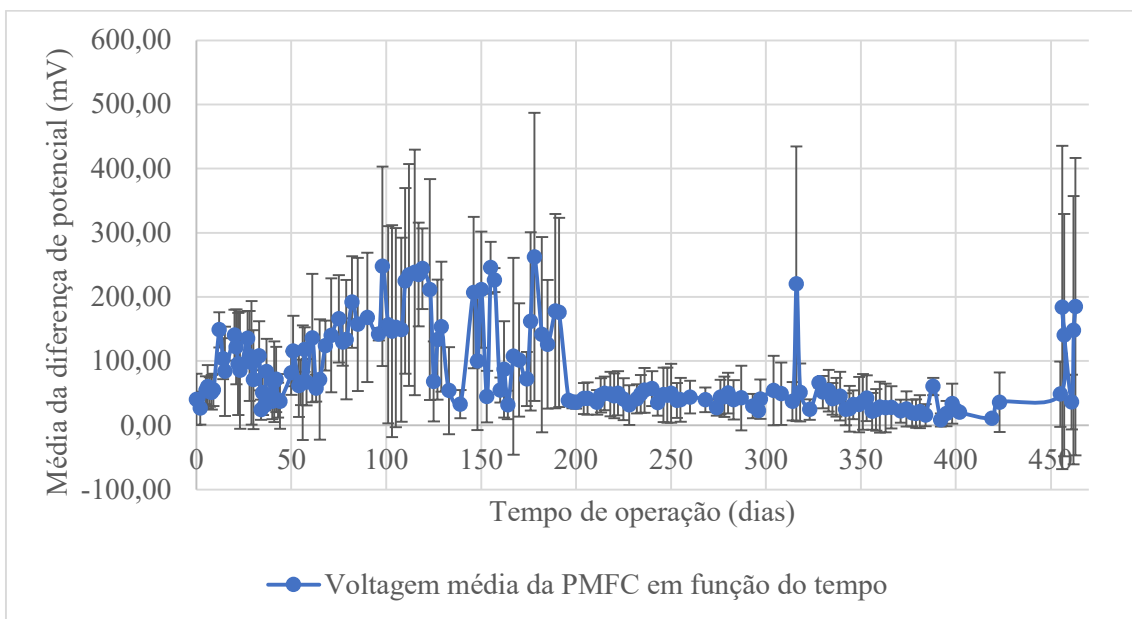


Figura 4.20. Média da diferença de potencial (mV) dos ensaios E1, E2 e E3 (grupo controlo), ao longo do tempo.

Com base no gráfico (figura 4.19) verificamos que os resultados para os três ensaios diferiram muito entre eles. Nenhum dos ensaios apresenta uma fase mais estável, para o ensaio E2 entre o 200º dia e o 314º dia houve alguma estabilidade no ensaio, porém voltou-se a verificar um novo pico de corrente e de seguida uma nova descida considerável.

Com base numa análise estatística consegue-se verificar que existiram diferenças significativas entre os ensaios E1 e E2 ( $68,64^a \pm 64,73$  e  $116,88^b \pm 112,11$ , respetivamente) e entre os ensaios E1 e E3 ( $68,64^a \pm 64,73$  e  $106,30^b \pm 82,05$ , respetivamente), mas não existem diferenças significativas entre os ensaios E2 e E3 ( $116,88^b \pm 112,11$  e  $106,30^b \pm 82,05$ , respetivamente) (letras diferentes exprimem diferenças significativas,  $p < 0,05$ ).

Os ensaios do grupo controlo foram os primeiros no qual o led piscou, contudo tal aconteceu numa fase inicial da experiência, e na fase mais final do ensaio as tensões estabilizaram, mas apresentam valores de tensão mais baixos quando comparados com os ensaios que continham as plantas.

#### 4.4. Curvas de polarização e potência

O desempenho dos ensaios é avaliado através de curvas de polarização, onde na descarga da célula ocorre a variação do sobrepotencial em função da corrente elétrica. Uma curva de polarização depende das reações eletroquímicas entre o ânodo e o cátodo. As curvas de polarização são convertidas para densidade de potência vs. densidade de corrente pela multiplicação do potencial e da densidade de corrente em cada ponto da curva.

A tensão acumulada na resistência foi registada três vezes por semana com o auxílio de um voltímetro. A saída do eletrodo foi medida em milivolts (mV). A intensidade de corrente em amperes (A) foi calculada utilizando a lei de Ohm ( $\Omega$ ),  $I = V/R$ .

As resistências externas associadas a cada um dos sistemas PMFC encontra-se registada no quadro 4.3.

Quadro 4.3. Resistências das PMFC's

Ensaio	Resistência (k $\Omega$ )
1	13,71
2	13,66
3	13,43
4	13,72
5	13,47
6	13,64

7	13,37
8	13,54
9	13,37
<b>Média</b>	<b>13,55</b>

#### 4.4.1. PMFC com *Mentha pulegium*

A figura 4.21. representa as curvas de polarização de uma fase inicial do ensaio.

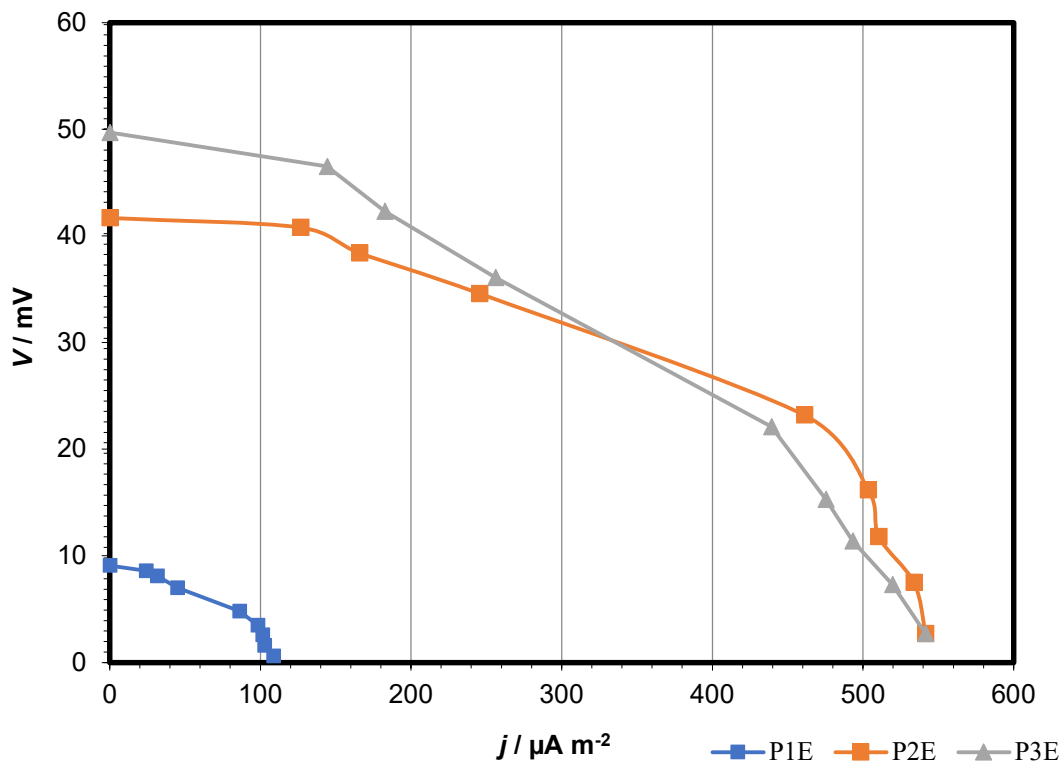


Figura 4.21. Curvas de polarização iniciais para os ensaios P1E, P2E e P3E.

Através da figura 4.21 consegue-se verificar que os ensaios P2E e P3E apresentam curvas de polarização similares e o ensaio P1E exibe a menor curva obtida. Para nenhum dos ensaios se verificou perdas por energia de ativação, geralmente observadas pelo elevado declive da curva inicial, o que significa que as comunidades microbianas presentes na PMFC se encontram bem instaladas. A tensão de circuito aberto (OCV) para os ensaios P1E, P2E e P3E foi de 9,1 mV, 41,7 mV e 49,7 mV, respetivamente, na fase inicial da produção de eletricidade.

A figura 4.22 representa as curvas de potência para os ensaios de PMFC com *Mentha pulegium* para a fase inicial do ensaio.

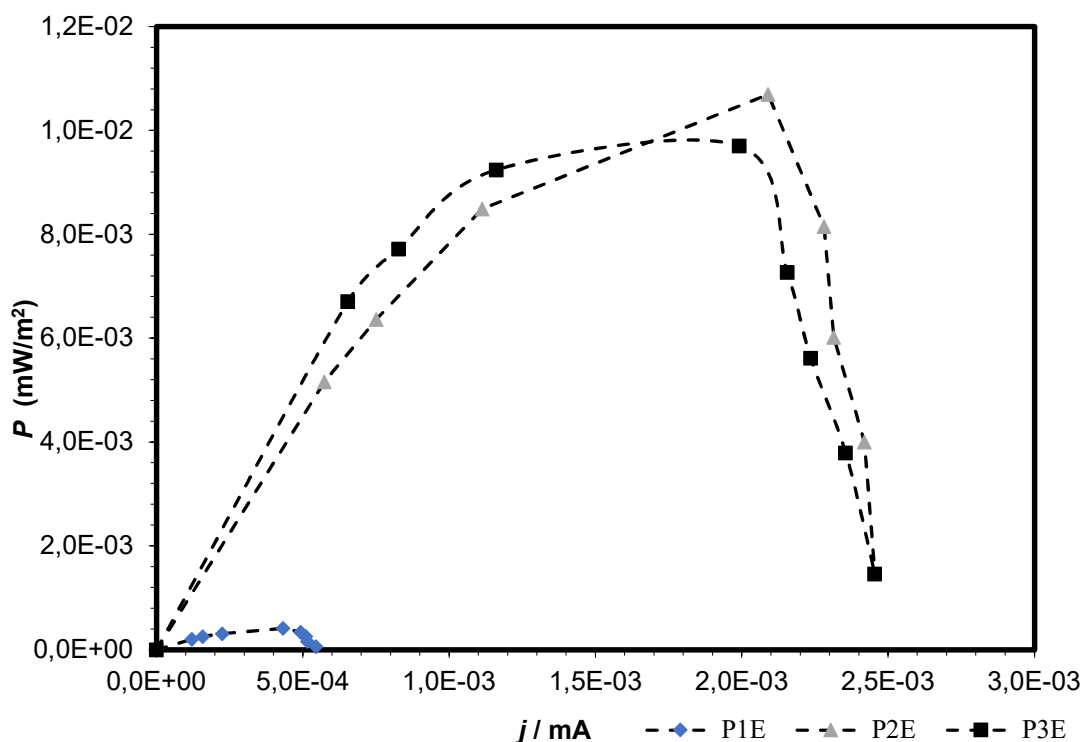


Figura 4.22. Curvas de potência iniciais para os ensaios P1E, P2E e P3E.

De acordo com a figura 4.22, as densidades de potência máximas alcançadas nas curvas de potência das PMFC'S para os ensaios P1E, P2E e P3E foram de  $4,13 \times 10^{-4} \text{ mW/m}^2$ ,  $1,06 \times 10^{-2} \text{ mW/m}^2$  e  $9,70 \times 10^{-3} \text{ mW/m}^2$ , respetivamente.

Numa fase intermédia do estudo, foram determinadas novas curvas de polarização e de potência para verificar como estava a geração de eletricidade por parte das PMFC's. As figuras 4.23 e 4.24 retratam as curvas de polarização e de potência, respetivamente. Também é de salientar que nesta fase do estudo, o ensaio já só estava a decorrer em duplicado, uma vez que foi necessário utilizar um dos triplicados (P3E) para a determinação da comunidade microbiana.



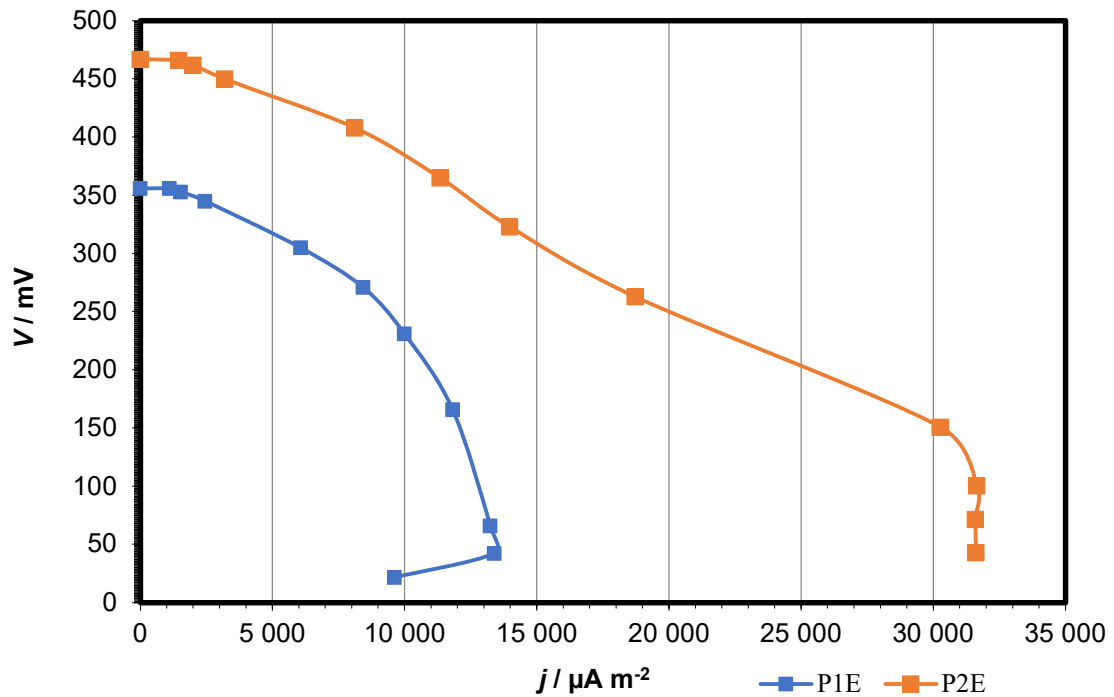


Figura 4.23. Curvas de polarização intermédias para os ensaios P1E e P2E.

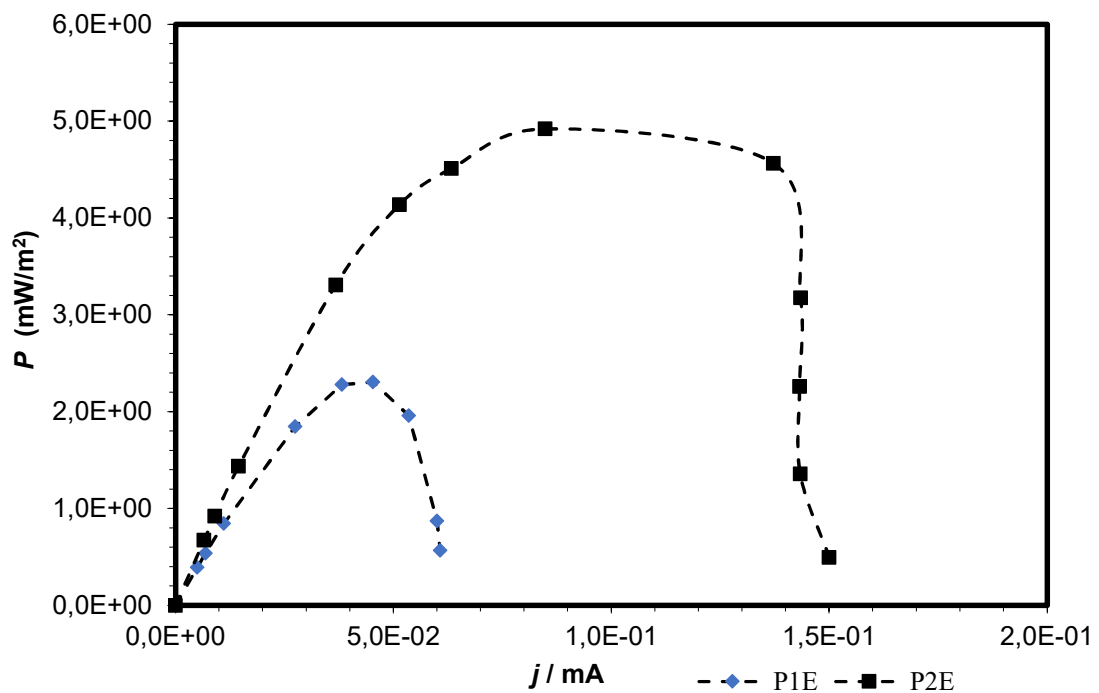


Figura 4.24. Curvas de potência intermédias para os ensaios P1E e P2E.

Para ambos os ensaios não se verificam perdas por energia de ativação, a OCV inicial medida para o ensaio P1E foi de 356 mV e para o ensaio P2E foi de 467

mV. Através do gráfico da figura 4.23, consegue-se perceber que no final do ensaio P2E houve uma perda de massa, ou seja, uma descida final acentuada. Esta perda de massa verificou-se quando se passou da resistência de 1100  $\Omega$  para 700  $\Omega$ , e sugere também que houve uma escassez de nutrientes em torno do eletrodo. Quanto ao ensaio P1E verifica-se que o mesmo entrou em curto-circuito quando a resistência passou dos 700 $\Omega$  para os 500 $\Omega$ , ou seja, o ensaio entrou em overload, o que se traduz numa queda abrupta da intensidade de corrente, passando dos 13392,73  $\mu\text{A}/\text{m}^2$  para os 9617,56  $\mu\text{A}/\text{m}^2$ .

Relativamente às curvas de potência verifica-se que o ensaio P1E obteve uma curva menor em relação ao ensaio P2E, porém esta diferença está relacionada com as tensões obtidas em cada ensaio. O ensaio P1E obteve uma densidade de potência máxima de 2,31  $\text{mW}/\text{m}^2$  e o ensaio 2 de 4,92  $\text{mW}/\text{m}^2$ .

Na fase final do ensaio voltou-se a realizar novas curvas de polarização e de potência e os resultados encontram-se representados nas figuras 4.25 e 4.26.

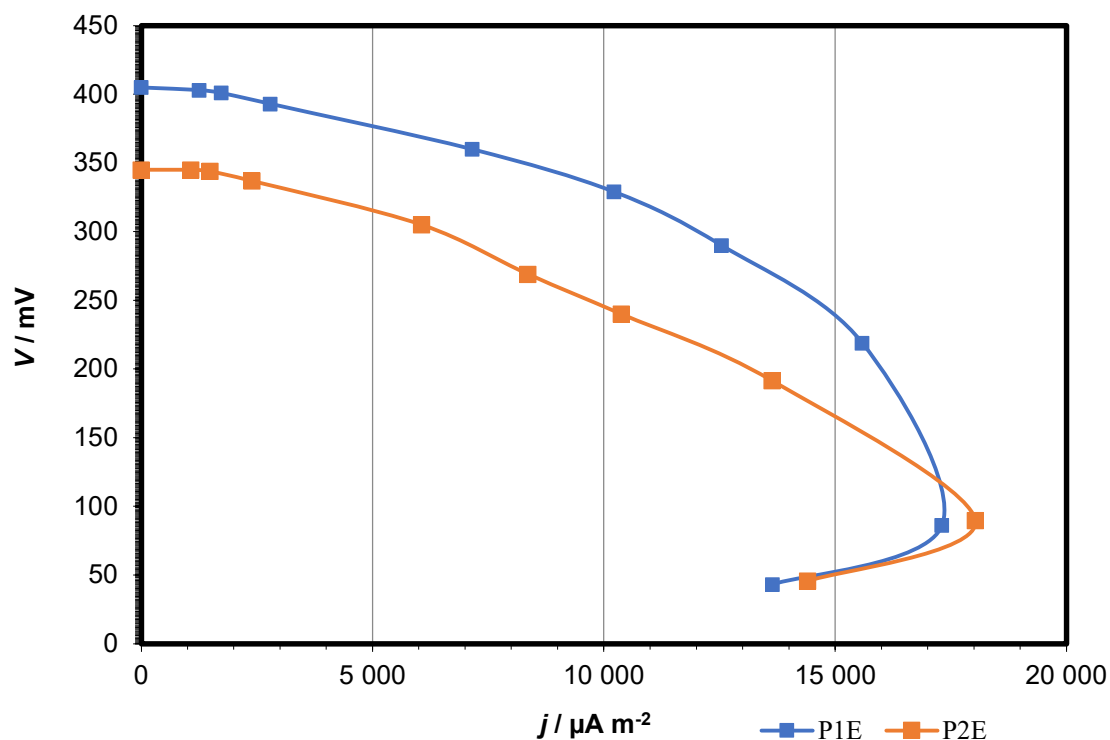


Figura 4.25. Curvas de polarização finais para os ensaios P1E e P2E.

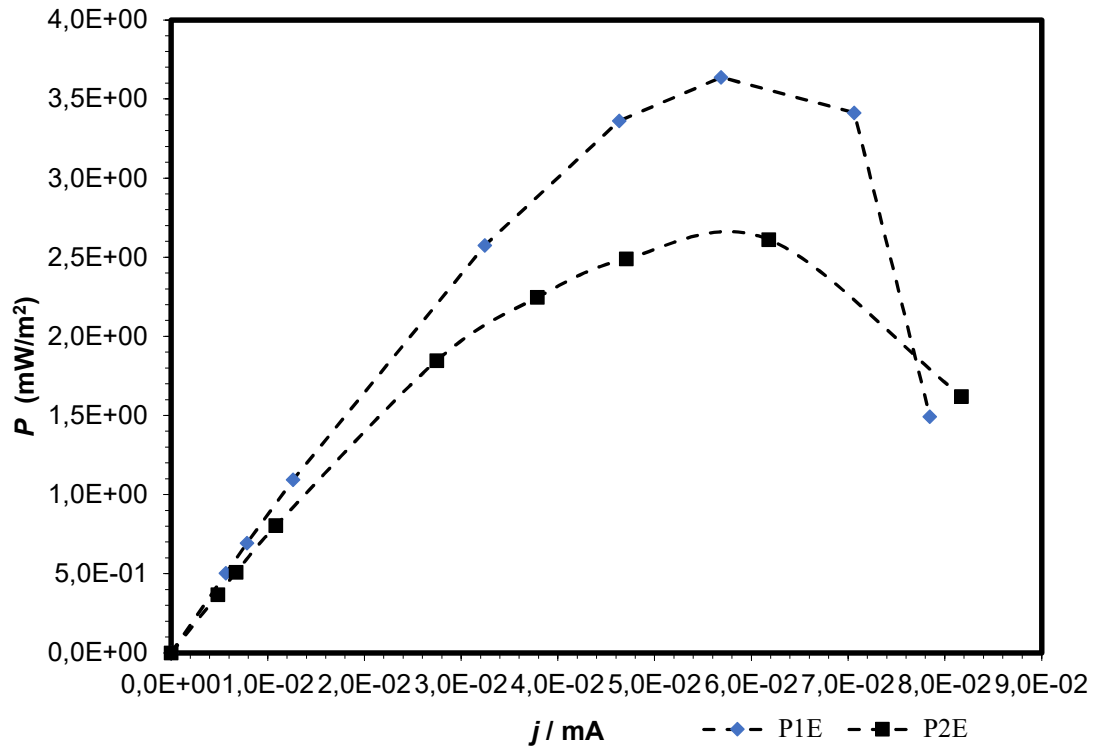


Figura 4.26. Curvas de potência finais para os ensaios P1E e P2E.

As curvas de polarização finais de ambos os ensaios são bastante similares, os dois ensaios entraram em overload, quando se passou de uma resistência de  $1100\Omega$  para  $700\Omega$ . O ensaio P1E, no final do ensaio, obteve uma OCV superior à do ensaio P2E, de  $405 \text{ mV}$  e o ensaio P2E obteve uma OCV de  $345 \text{ mV}$ , conforme se pode observar na figura 4.19. Relativamente às curvas de potência, o mesmo se verifica, ou seja, o ensaio P1E apresenta uma curva superior à do ensaio P2E. Tendo o ensaio P1E conseguido atingir uma densidade de potência máxima de  $3,64 \text{ mW/m}^2$ , e o ensaio P2E de  $2,61 \text{ mW/m}^2$ .

#### 4.4.2. PMFC com *Mentha piperita*

Para o ensaio de PMFC com a *Mentha piperita*, as curvas de polarização realizadas no início do ensaio evidenciam que para o ensaio H1E e H2E as curvas são bastante similares, e o ensaio H3E apresenta uma curva superior quando comparado aos outros dois ensaios. Através da figura 4.27 também se verifica que nenhum dos ensaios teve perdes por energia de ativação, mas o ensaio H1E apresenta uma perda de massa. As tensões de circuito aberto para

os ensaios H1E, H2E e H3E foram de 97,4 mV, 84,6 mV e 265 mV, respectivamente.

As figuras 4.27 e 4.28 representam as curvas iniciais de polarização e de potência, respectivamente, para os ensaios de PMFC com a *Mentha piperita*.

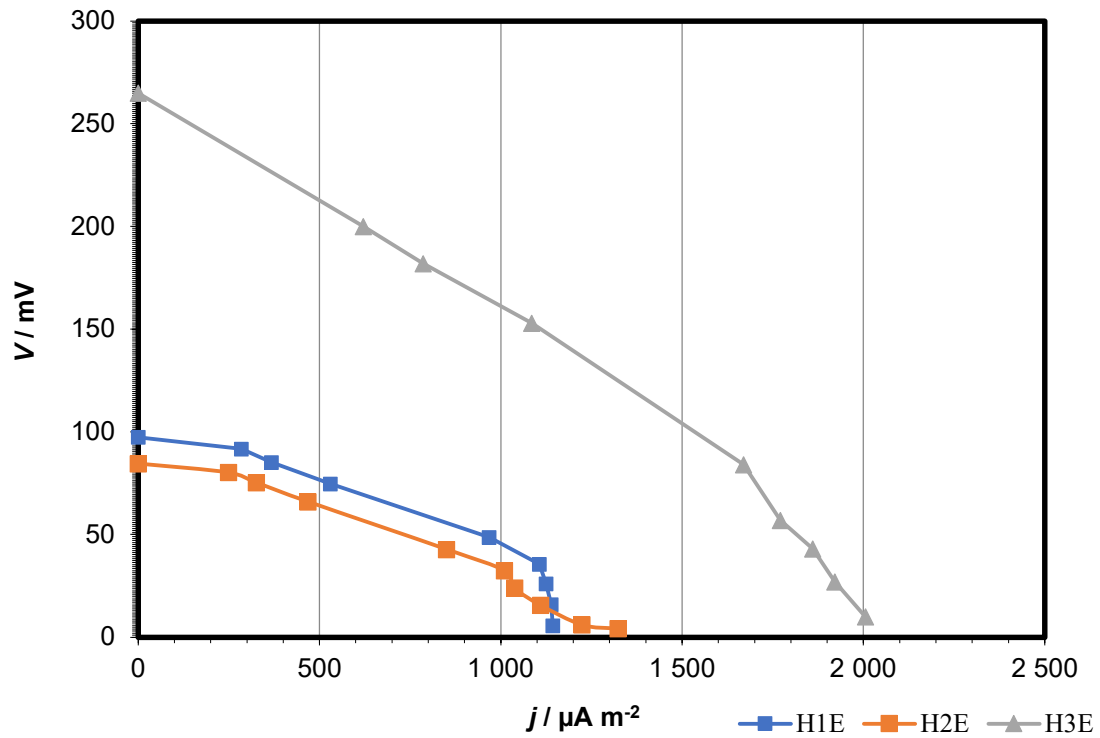


Figura 4.27. Curvas de polarização iniciais para os ensaios H1E, H2E e H3E.

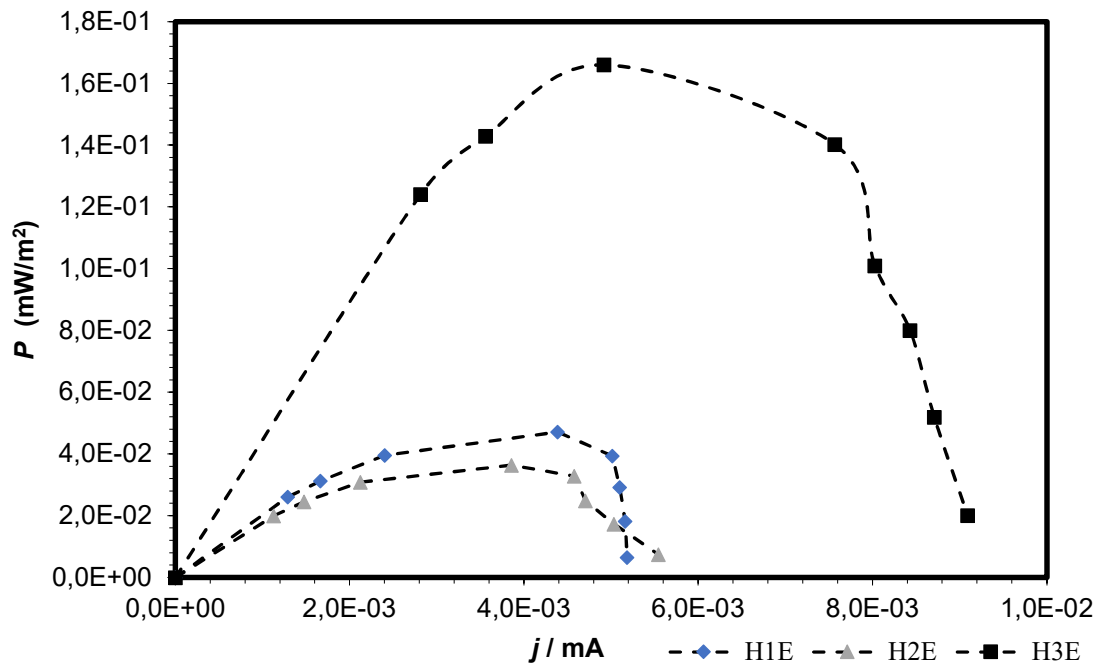


Figura 4.28. Curvas de potência para os ensaios H1E, H2E e H3E.

Quanto às curvas de potência (figura 4.28), como era de esperar o ensaio H3E obteve uma curva superior comparando com os outros ensaios (ensaio H1E e H2E). A potência máxima para o ensaio H1E foi de  $4,71 \times 10^{-2} \text{ mW/m}^2$ , para o ensaio H2E foi de  $3,64 \times 10^{-2} \text{ mW/m}^2$  e para o ensaio H3E foi de  $1,66 \times 10^{-1} \text{ mW/m}^2$ .

As figuras 4.29 e 4.30 representam as curvas intermédias de polarização e de potência, respetivamente, para os ensaios H1E e H2E.

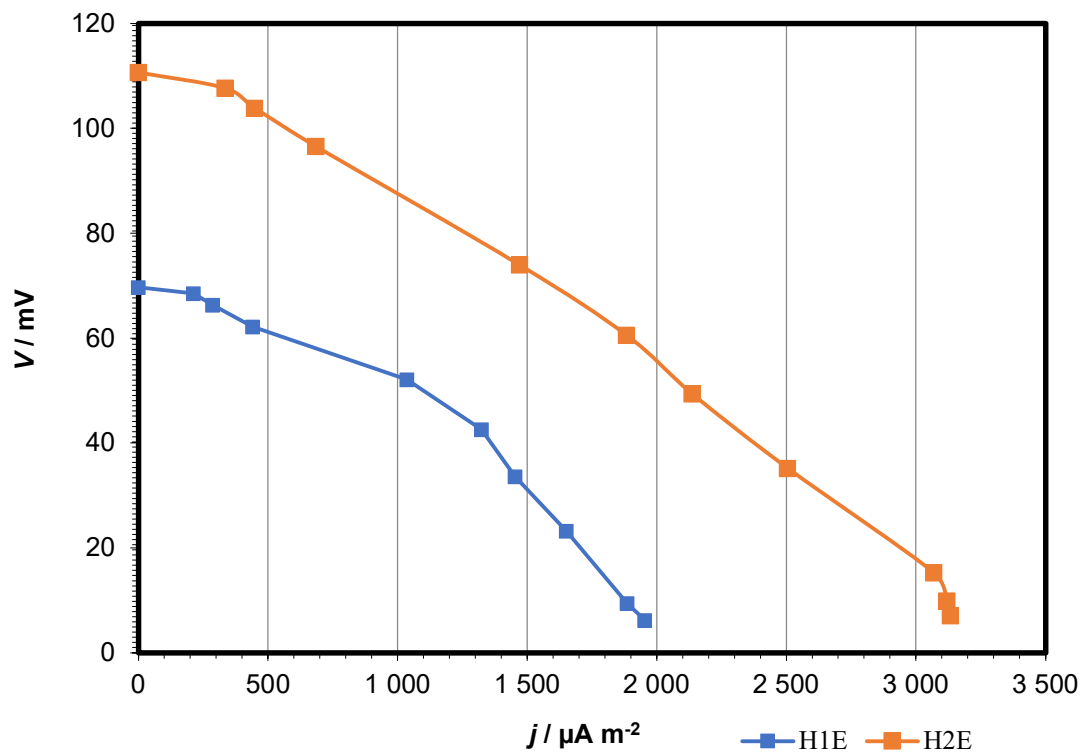


Figura 4.29. Curvas de polarização intermédias para os ensaios H1E e H2E.

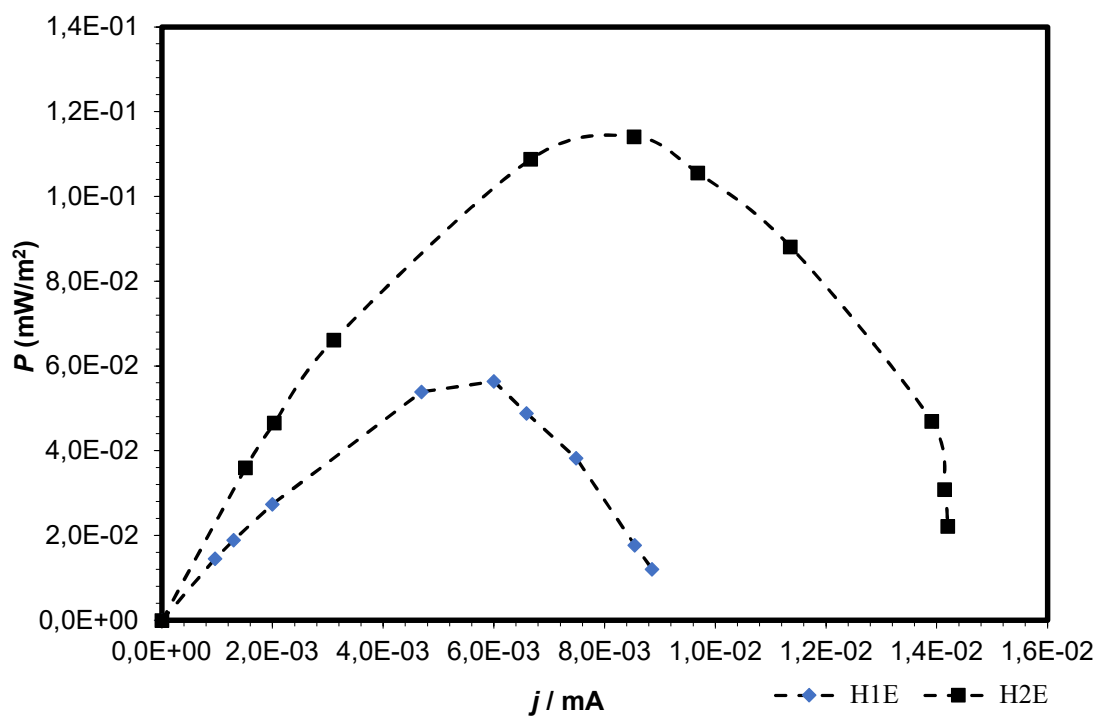


Figura 4.30. Curvas de potência intermédias para os ensaios H1E e H2E.

Quanto às curvas intermédias realizadas, através da figura 4.29 percebe-se que ambos os ensaios tiveram uma acumulação de tensão semelhante, porém o ensaio H2E obteve melhores resultados. Os ensaios tiveram OCV inicial de 69,7 mV e 110,7 mV, para o ensaio H1E e H2E respetivamente. Relativamente às curvas de potência, o ensaio H2E obteve uma curva maior à que o ensaio H1E, o que era de esperar. Os ensaios alcançaram uma potência máxima de  $5,64 \times 10^{-2}$  mW/m<sup>2</sup> para o ensaio H1E e de  $11,41 \times 10^{-2}$  mW/m<sup>2</sup> para o ensaio H2E.

No final do ensaio voltaram-se a realizar as curvas de polarização e de potência para perceber se existiu uma evolução nos ensaios, e os resultados estão representados nas figuras 4.31 e 4.32.

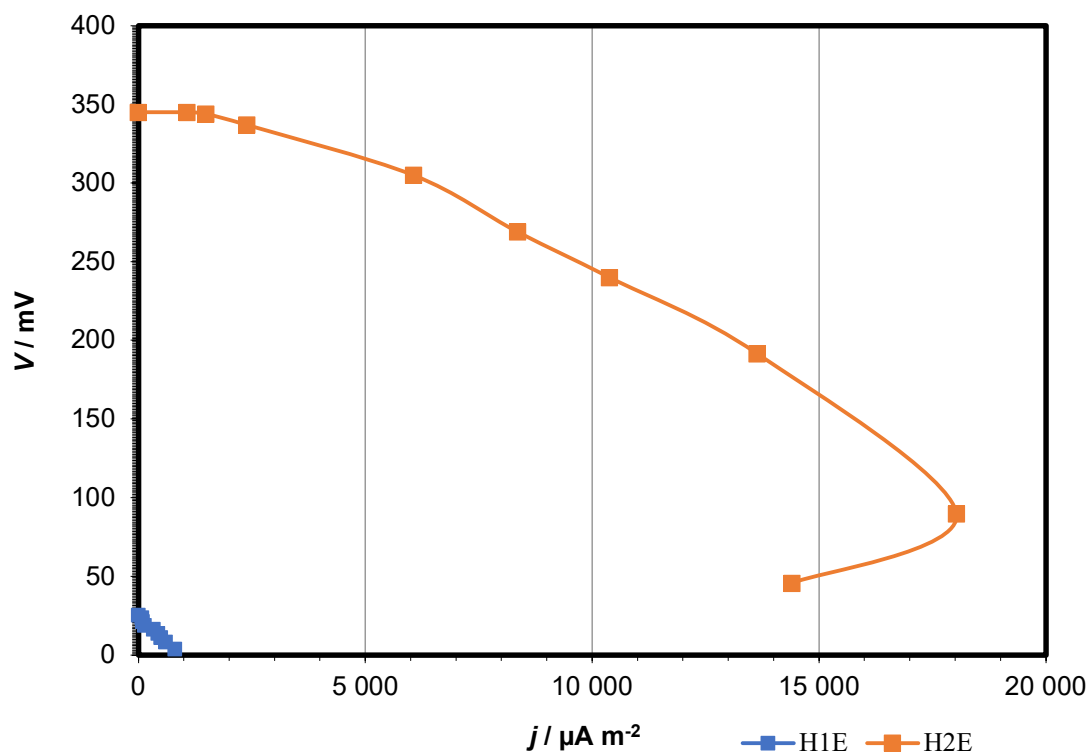


Figura 4.31. Curvas de polarização finais para os ensaios H1E e H2E.

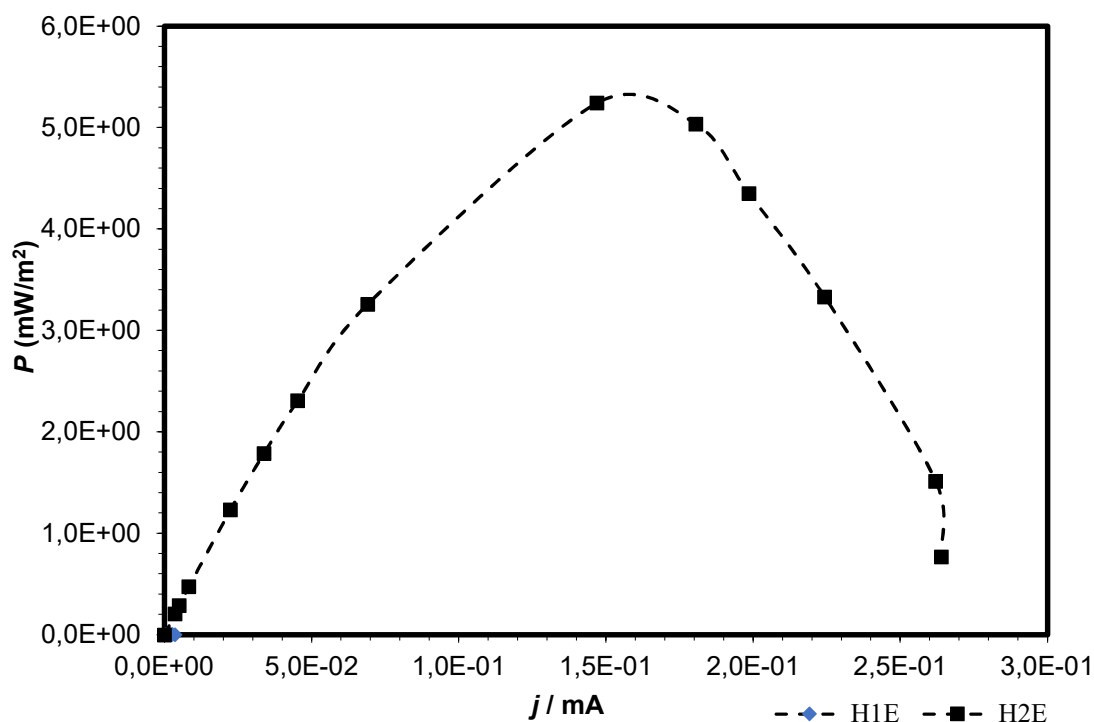


Figura 4.32. Curvas de potência finais para os ensaios H1E e H2E.

Desde a recolha “intermédia” dos dados necessários para traçar as curvas de polarização e de potência, para a última recolha dos dados, consegue-se perceber com base nos gráficos que houve um aumento da tensão acumulada para o ensaio H2E e uma diminuição da tensão para o ensaio H1E. A tensão em circuito aberto obtida para o ensaio H1E foi de 25,5 mV e para o ensaio H2E foi de 345 mV. Quanto às curvas de potência, o ensaio H1E obteve uma potência máxima de  $6,00 \times 10^{-3}$  mW/m<sup>2</sup> e para o ensaio H2E de 5,24 mW/m<sup>2</sup>.

#### 4.4.3. Grupo controlo com MFC

Para o ensaio com MFC, as curvas de polarização realizadas no início do ensaio evidenciam diferença entre os triplicados. Com base na figura 4.33, percebe-se que no ensaio E2 ocorreram perdas por energia de ativação, o que significa que os microrganismos ainda não estavam bem adaptados ao sistema. Para o ensaio E1 e E3 essas perdas não se verificaram. O ensaio E1 teve uma OCV inicial de 43,3 mV, o ensaio E2 de 114,9 mV e o ensaio E3 de 14 mV.



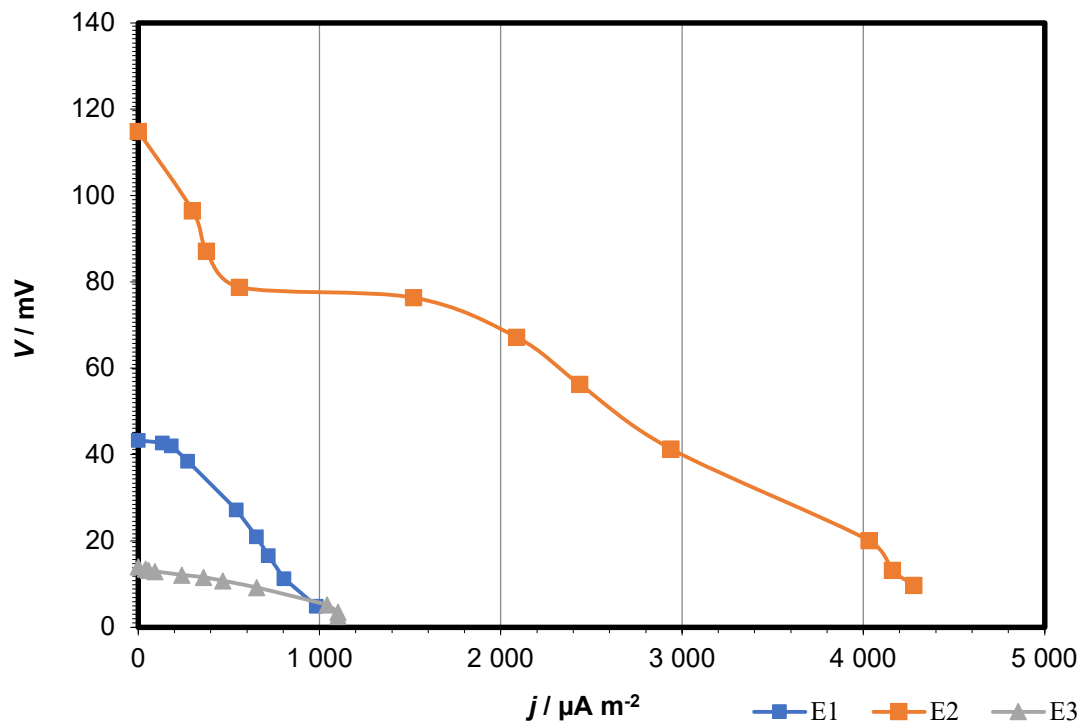


Figura 4.33. Curvas de polarização iniciais para os ensaios E1, E2 e E3.

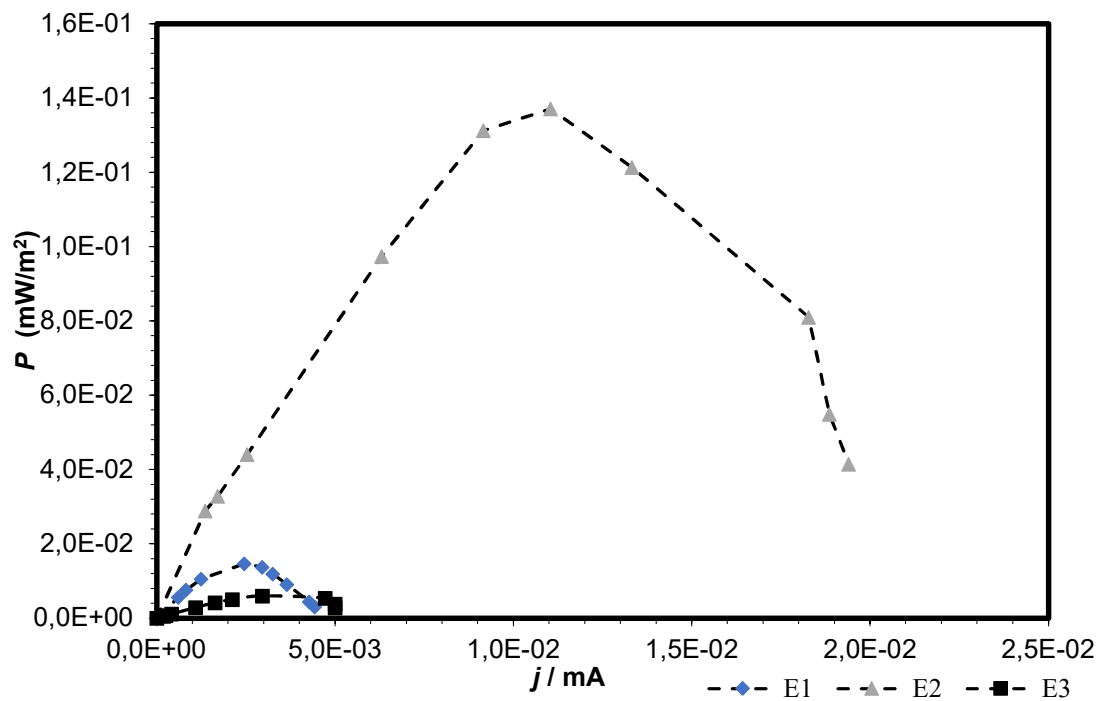


Figura 4.34. Curvas de potência iniciais para os ensaios E1, E2 e E3.

Relativamente à potência máxima obtida em cada ensaio, o ensaio E1 obteve a potência máxima de  $1,47 \times 10^{-2}$  mW/m<sup>2</sup>, o ensaio E2 de  $1,37 \times 10^{-1}$  mW/m<sup>2</sup> e o ensaio E3 de  $6,02 \times 10^{-3}$  mW/m<sup>2</sup>.

Para o ensaio com MFC também se realizou uma recolha de dados intermédia de forma que se pudessem traçar as curvas de polarização e de potência. Essas estão retratadas nas figuras 4.35 e 4.36.

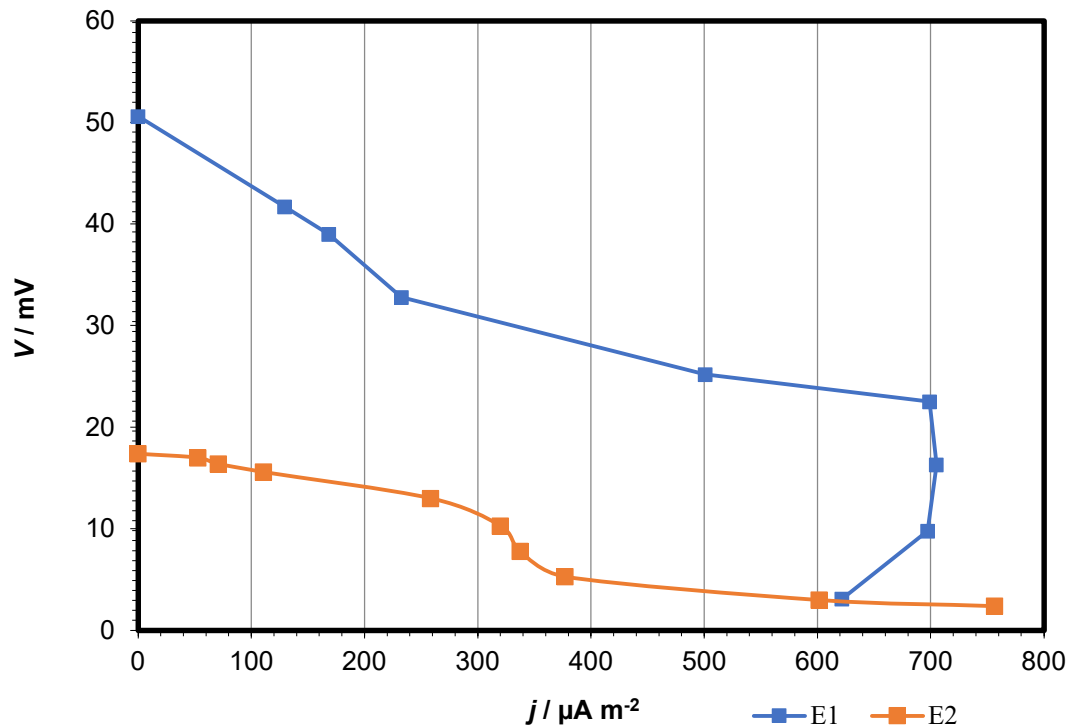


Figura 4.35. Curvas de polarização intermédias para os ensaios E1 e E2.

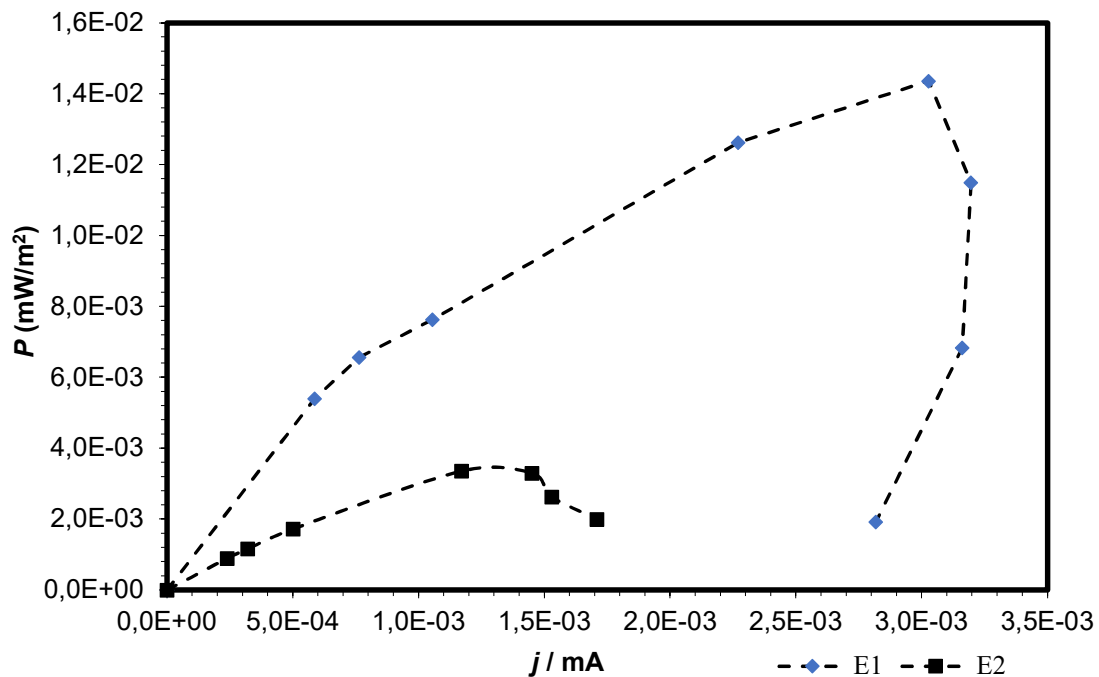


Figura 4.36. Curvas de potência intermédias para os ensaios E1 e E2.

As curvas intermédias de polarização (figura 4.35) demonstram que o ensaio E1 teve um ligeiro aumento de tensão, porém no final da reta apresenta um overload, quando a resistência baixou dos 3100  $\Omega$  para os 1100  $\Omega$ . Já o ensaio E2 teve uma queda na tensão acumulada face à primeira curva obtida. Posto isto, o ensaio E1 obteve uma OCV de 50,6 mV e o ensaio E2 de 17,4 mV. Quanto à potência máxima, o ensaio E1 obteve uma potência máxima de  $1,44 \times 10^{-2}$  mW/m<sup>2</sup> e o ensaio E2 de  $3,36 \times 10^{-3}$  mW/m<sup>2</sup>.

As figuras 4.37 e 4.38 representam as curvas finais de polarização e de potência, respetivamente.

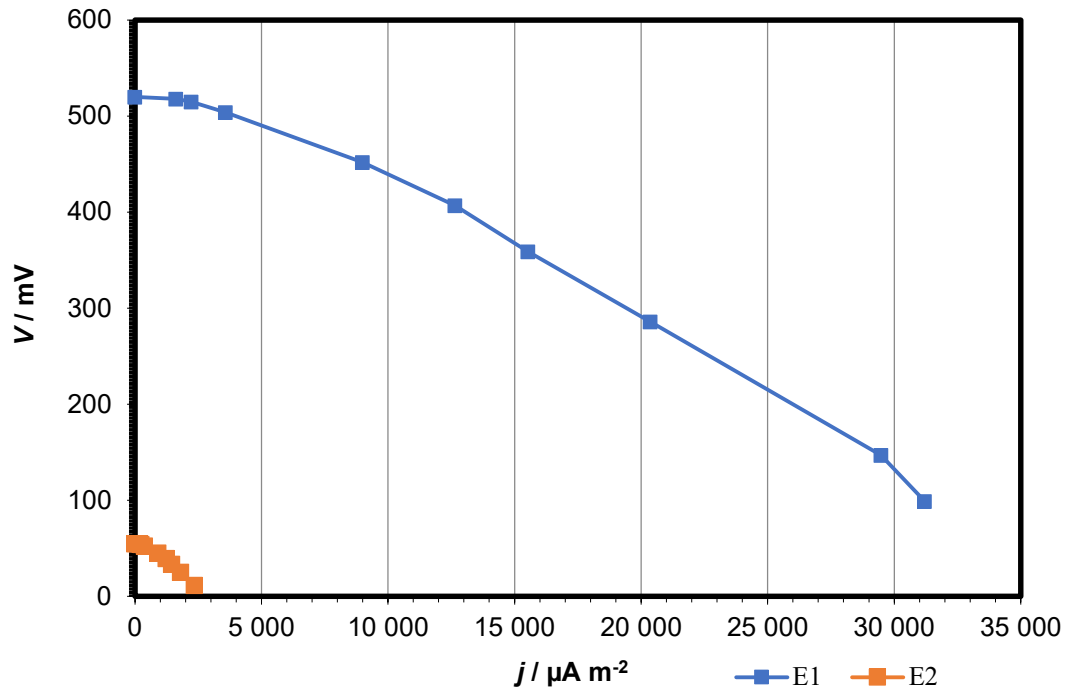


Figura 4.37. Curvas de polarização finais para os ensaios E1 e E2.

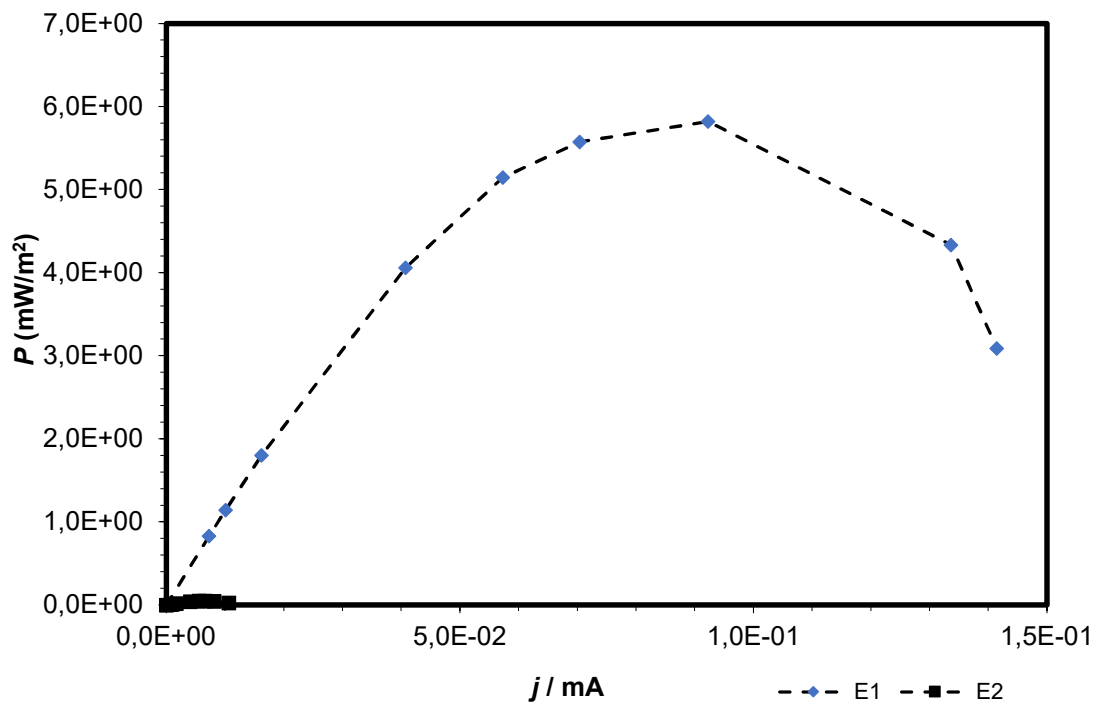


Figura 4.38. Curvas de potência finais para os ensaios E1 e E2.

As curvas finais de polarização evidenciam diferenças no ensaio E1, tendo em conta as curvas anteriores obtidas. A curva do ensaio E2 manteve-se

semelhante à curva obtida na fase intermédia do ensaio. A tensão em circuito aberto para o ensaio E1 foi de 520 mV e para o ensaio E2 foi de 55,1 mV. No que diz respeito às curvas de potência, a curva do ensaio E2 é bastante inferior à curva do ensaio E1, contudo estão de acordo com os valores de tensão obtidos. A potência máxima obtida no ensaio E1 foi de 5,82 mW/m<sup>2</sup> e para o ensaio E2 foi de 4,87x10<sup>-2</sup> mW/m<sup>2</sup>.

Numa análise global sobre os três ensaios, ou seja, sobre o ensaio com PMFC com *Mentha pulegium*, PMFC com *Mentha piperita* e o ensaio com MFC, constata-se que o ensaio com a *Mentha piperita* obteve as maiores potências e foi mais estável ao longo do tempo, seguido do ensaio com a *Mentha pulegium* e por fim o ensaio com MFC.

#### 4.5. Análise da comunidade microbiana

Para a análise dos microrganismos presentes, quer no rizoma (R) da planta, quer no ânodo (An) da PMFC, foram usados os ensaios P3E, ensaio H3E e o ensaio E3. Os isolados foram obtidos através das técnicas convencionais de diluição em serie e de propagação em placas de petri. Dois meios de cultura foram utilizados para o crescimento da comunidade microbiológica, meio de agar-sangue e meio TSA. Com o meio agra-sangue obteve-se 27 microrganismos isolados e do meio TSA obteve-se 18 microrganismos isolados. Quanto à cor dos isolados, estava variava entre o branco-claro e amarelado. A maior parte dos isolados apresentava colónias com viscosidade.

O quadro 4.4 apresenta o número de isolados em cada meio de cultura, de acordo com o ensaio e meio utilizado.

Quadro 4.4. Número de isolados em cada meio de cultura.

PMFC'S	Nº de isolados no meio de agar-sangue	Nº de isolados no meio TSA
R – P3E	4	6
An – P3E	5	4
R – H3E	10	4
An – H3E	2	1
R – E3	4	2
An – E3	2	1

Para sequenciação do DNA foram usados somente os isolados obtidos em meio de agar-sangue, ou seja, um total de 27 isolados foram identificados. Destes 27 isolados, 7 das colónias não estavam puras, o que impediu a sua identificação. Os microrganismos, maioritariamente, presentes no ânodo são *Pseudomonas* sp e *Staphylococcus*, no rizoma da planta foram identificadas diferentes estirpes de *Pseudomonas*, *Staphylococcus warneri*, *Enterobacter soli*, *Exiguobacterium artemiaei* e *Flavobacterium akiainvivens*, entre outros (anexo 6).

Arulmani et al., (2021), foi bem-sucedido no isolamento de bactérias da região rizosférica-anódica. De um ensaio com PMFC de *Amaranthus viridis* conseguiu isolar 16 espécies bacterianas distintas e do ensaio com PMFC de *Triticum aestivum*, foram identificadas 15 espécies diferentes de bactérias. Para ambos os ensaios, os géneros predominantes foram *Bacillus* e *Pseudomonas* sp. Também foram identificadas populações bacterianas pertencentes aos géneros *Desulfobulbus* spp. e *Geobacter* spp. no ânodo de uma rizosfera de arroz baseada em PMFC que utilizava solo de vaso como inóculo.

Existem algumas espécies que são relatadas como relevantes na geração de eletricidade usando o sistema PMFC, incluindo a *Geobacter* sp., *Ruminococcaceae* sp., *Desulfobulbus* sp., *Bacillus*, *Geothrix*, *Pseudomonas* sp., *Shewanella*, *Acidoba*. Estas espécies são recomendadas para uso em aplicações PMFC para atingir maior magnitude de tensão. Outros aspetos como a matriz de suporte ou meio para o cultivo de plantas, espécies de plantas usadas, temperatura do sistema, pH, humidade e a composição do substrato influenciam a formação de biofilme microbiano na superfície do ânodo e, por consequência, influencia a saída e desempenho do PMFC. Cada um destes aspetos é crucial no desempenho global da PMFC para a geração de energia elétrica (Maddalwar et al., 2021).

Em PMFC com solo, Rusyn et al., (2021) foi capaz de isolar bactérias *Desulfobulbus* no ânodo, bem como *Geobacter*, *Anaeromyxobacter* spp.

Através de uma análise em microscópio eletrónico de varrimento (SEM) tentou-se perceber se houve formação de biofilme sobre o elétrodo do ânodo ou não. A amostra analisa está retratada na figura 4.39.

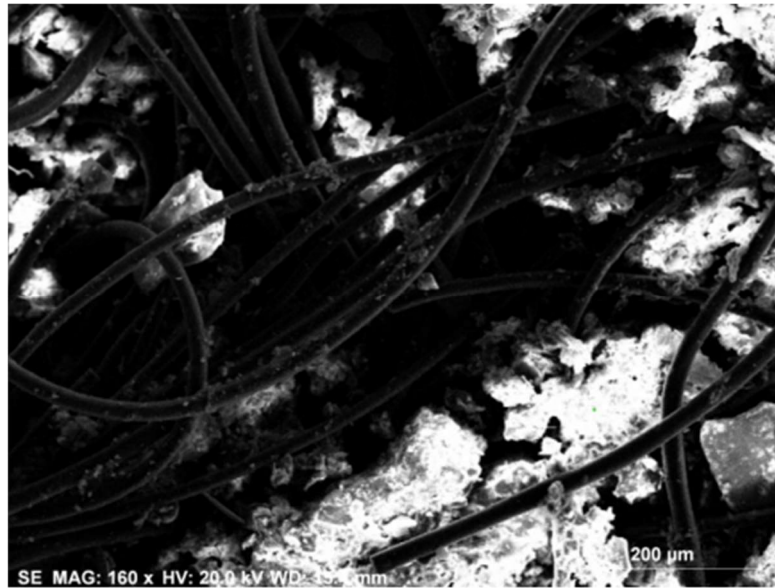


Figura 4.39. Amostra analisada em microscópio eletrônico de varrimento (SEM), parte do ânodo do ensaio com o grupo controlo com MFC (E2).

A observação da amostra revelou indícios de formação de biofilme, composto por carbono, azoto, oxigénio, ferro, cálcio, entre outros elementos. O carbono apresenta-se em maiores quantidades quando comparado com os outros elementos presentes. Na figura 4.40 apresenta-se o resultado da análise elementar.

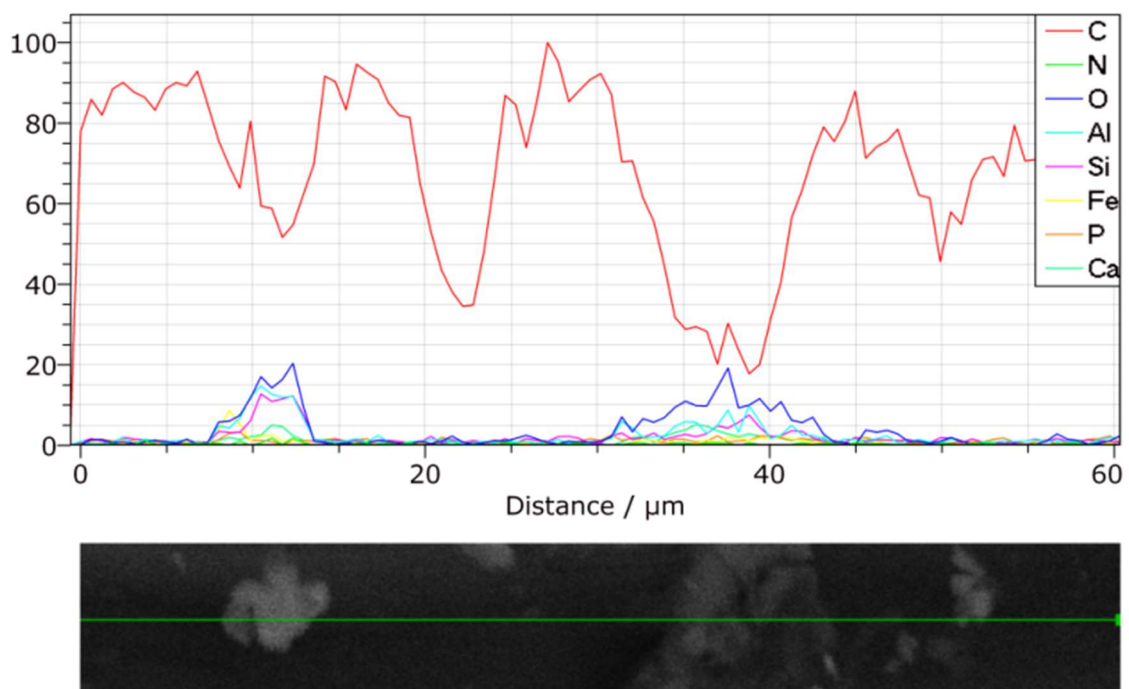


Figura 4.40. Ampliação da amostra do ânodo do grupo controlo com MFC (E2).

O desempenho dos PMFC's apresentou algumas semelhanças em relação a outros estudos. Tapia et al. (2018) mostrou uma estreita relação entre a densidade da corrente e o teor de humidade do solo, ou seja, um aumento da corrente como resultado da irrigação. Este autor verificou que existiam picos de corrente quando o teor de água do solo era mais elevado, e o oposto também se observava, quando em períodos onde não havia irrigação verificava-se uma redução do teor de água do solo o que levava a uma queda da corrente. Durante o presente estudo, o mesmo se verificou, isto é, quando se regava as plantas ou mesmo quando os solos ainda apresentavam um teor de água elevado, as tensões registadas eram significativamente maiores comparativamente com as tensões obtidas quando a planta se encontrava em situação de défice hídrico. Tal facto só se verificou quando o ensaio já estava numa fase posterior à adaptação, quando os microrganismos já estavam bem instalados. Tapia et al. (2018) apresenta resultados da produção de densidade de corrente, na fase inicial do ensaio, de 0,06 mA/m<sup>2</sup>; 3,72 mA/m<sup>2</sup> e 6,79 mA/m<sup>2</sup> para três espécies diferentes de *Sedum*. Atingindo densidades de corrente média de 5,33 mA/m<sup>2</sup>; 4,11 mA/m<sup>2</sup> e 6,73 mA/m<sup>2</sup>, respetivamente, durante o dia 100 ao dia 270. Neste mesmo estudo, a autora tentou verificar a existência de uma relação entre a radiação solar/luminosa e a corrente produzida pelos PMFC's, e conclui que não existe relação. Relativamente às curvas de densidade de potência, o ensaio mostra densidades de potência máximas de 114,6 μW/m<sup>2</sup>; 32,5 μW/m<sup>2</sup> e 82,3 μW/m<sup>2</sup>.

Um outro estudo de Arulmani et al. (2021) com *Amaranthus viridis* e *Triticum aestivum*, obteve valores de intensidade de corrente de 73,20 mA/m<sup>2</sup> e 124,92 mA/m<sup>2</sup> na fase inicial do ensaio, verificando também flutuações de corrente durante os primeiros dias. Ao longo do estudo o autor verificou que conforme as plantas se iam desenvolvendo e crescendo a intensidade de corrente também aumentava atingindo os 114,21 mA/m<sup>2</sup> e 162,76 mA/m<sup>2</sup>. Este resultados obtidos, segundo o autor, comprovam o papel significativo dos exsudados de raízes de plantas envolvidos na reação eletroquímica em PMFC's. Assim, os PMFC's precisam de um período de inicialização até que a raiz da planta crescesse perto do ânodo. O autor também explica que a oscilação do comportamento da produção de energia se deve ao ciclo diurno e noturno, que é um fator



fundamental para o processo de fotossíntese e exsudados radiculares pelo sistema radicular da planta. Relativamente à potência máxima atingida nos ensaios do autor foi de 1.063,86 mW/m<sup>3</sup> e 1.292,81 mW/m<sup>3</sup>, respetivamente. A diferença na densidade de potência máxima entre as duas plantas deve-se substancialmente à ramificação radicular de 4<sup>o</sup> ordem da planta *Triticum aestivum*.

Para ambos os estudos descritos anteriormente, as plantas utilizadas são plantas que exigem maiores quantidades de água. Logo comprova que quanto maior for a necessidade de água por parte da planta maior será a intensidade de corrente obtida. Comparado estes estudos de outros autores com o realizado, é possível verificar que o ensaio apresenta valores de intensidade de corrente como densidade de potencia máxima inferiores aos valores descritos na literatura.

## 5. CONCLUSÃO

As PMFC's são uma tecnologia promissora para a produção de eletricidade a partir de materiais orgânicos. O pico de intensidade de corrente obtida para o ensaio com a *Mentha pulegium* foi de 34,24  $\mu\text{A}$ , para o ensaio com a *Mentha piperita* foi de 31,07  $\mu\text{A}$ , e para o ensaio com o grupo controlo foi de 31,37  $\mu\text{A}$ . Relativamente, à potencia máxima obtida nos ensaios, o ensaio com a *Mentha pulegium* atingiu uma potencia máxima de 4,92  $\text{mW}/\text{m}^2$ , para o ensaio com a *Mentha piperita* de 5,24  $\text{mW}/\text{m}^2$  e o ensaio com o grupo controlo atingiu-se uma potencia máxima de 5,82  $\text{mW}/\text{m}^2$ . Com estes resultados verifica-se que o ensaio com a *Mentha piperita* obteve melhores resultados. O crescimento das plantas foi mais notório nas plantas integradas nas PMFC's do que as plantadas nos vasos normais.

Quanto ao jardim vertical constata-se que as áreas que apresentam maior quantidade de vegetação apresentaram temperaturas superficiais de 20,1 °C (inverno) e 28,9 °C (verão). As áreas que apresentam temperaturas mais elevadas (33,7 °C e 42,9 °C) localizam-se nas regiões onde a estrutura do jardim estava mais exposta, caracterizando assim o fenómeno de ilhas de calor. Estes resultados poderão ser úteis no apoio estratégico de planeamento da instalação destas estruturas para minimizar os efeitos do desconforto térmico das áreas identificada como ilhas de calor.

O estudo pode concluir que a tecnologia PMFC é um sistema verde de produção de energia renovável com a produção simultânea de culturas alimentares. Futuros trabalhos de investigação são necessários, bem como aplicação de mais etapas para se obter um reator PMFC otimizado, este tipo de biossensor poderá ser um dispositivo autossustentável, podendo ser também mais vantajosos em relação aos sensores de humidade tradicionais. As estruturas dos jardins verticais também poderão ser repensadas, ou seja, arranjar uma alternativa de material que por si só não retenha muito calor.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, F.M., 2019. Tudo sobre coberturas verdes. Site disponível: Jardins – A revista de referência do mundo da jardinagem, URL: <https://revistajardins.pt/tudo-sobre-coberturas-verdes/>. Consultado em 17 julho de 2023.
- Andric, I., Kamal, A., Al-Ghamdi, S.G., 2020. Efficiency of green roofs and green walls as climate change mitigation measures in extremely hot and dry climate: Case study of Qatar. *Energy Reports*, 6, 2476-2489.
- Arulmani, S.R.B., Gnanamuthu, H.L., Kandasamy, S., Govindarajan, G., Alsehli, M., Elfasakhany, A., Pugazhendhi, A., Zhang, H., 2021. Sustainable bioelectricity production from *Amaranthus viridis* and *Triticum aestivum* mediated plant microbial fuel cells with efficient electrogenic bacteria selections. *Process Biochemistry*, 107, 27-37.
- Cheng, S., Liu, H., Logan, B.E., 2006. Increase Power Generation in a Continuous flow MFC with Advective Flow through the Porous Anode and Reduced Electrode Spacing. *Environmental Science & Technology*, 40, 7, 2426-2432.
- Cheng, S., Logan, B.E., 2007. Ammonia treatment of carbon cloth anodes to enhance power generation of microbial fuel cells. *Electrochemistry Communications*, 9, 3, 492-496.
- Daniel, D.K., Mankidy, B.D., Ambarish, K., Manogari, R., 2009. Construction and operation of a microbial fuel cell for electricity generation from wastewater. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34, 7555-7560.
- Dehghani, N., Afsharmanesh, M., Salarmoni, M., Ebrahimnejad, H., 2018. Characterization of pennyroyal (*Mentha pulegium*) essential oil as an herbal, antibacterial, and antioxidant substance. *Comparative clinical pathology*, 27, 1575-1581.
- Flir® Systems, 2017. *User's manual Flir Exx series*. Consultado em <https://flir.netx.net/file/asset/11358/original/attachment> .
- Kabutey, F.T., Zhao, Q., Wei, L., Ding, J., Antwi, P., Quashie, F.K., Wang, W., 2019. An overview of plant microbial fuel cells (PMFCs): Configurations and applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 110, 402-414.
- Lehnen, D.R., 2014. Desenvolvimento de células de combustível microbianas. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 79pp.
- Lovley, D.R., 2006. Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches. *Current Opinion in Biotechnology*, 17, 3, 327-332.
- Lu, Z., Yin, D., Chen, P., Wang, H., Yang, Y., Huang, G., Cai, L., Zhang, L., 2020. Power-generation trees: Direct bioelectricity production from plants with microbial fuel cells. *Applied Energy*, 268, 1-7.

- Maddalwar, S., Nayak, K.K., Kumar, M., Singh, L., 2021. Plant Microbial fuel cell: Opportunities, challenges, and prospects. *Bioresource Technology*, 341, 1-11.
- Martins, F.D.P., 2010. Coberturas Verdes – Seu contributo para a eficiência energética e sustentabilidade. Tese de Mestrado, Departamento de Engenharia Civil e Arquitectura, Universidade da Beira Interior, Covilhã, 147pp.
- Moqsud, M.A., Yoshitake, J., Bushra, Q.S., Hyodo, M., Omine, K., Strik, D., 2015. Compost in plant microbial fuel cell for bioelectricity generation. *Waste Management*, 36, 63-69.
- Munõz, F., 1986. Poleo. *Plantas Medicinales y Aromaticas – Estudio, Cultivo y Procesado*. Ediciones Mundi-Prensa, 261-264.
- Nascimento, W.C., Freitas, M.C.D., Schmid, A., 2008. Coberturas verdes – A renovação de uma idéia. XII Encontro Nacional de Tecnologia do Ambiente Construído, Fortaleza – CE, 1-10.
- Neoturf, 2017. Coberturas Verdes – Soluções com base na natureza. Site disponível: NEOTURF, URL: <https://www.neoturf.pt/pt/servico/coberturas-verdes>. Consultado a 13 de janeiro de 2023.
- Nitorisavut, R. e Regmi, R., 2017. Plant microbial fuel cells: A promising biosystems engineering. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 76, 81-89.
- Oh, S., Min, B., Logan, B.E., 2004. Cathode Performance as a Factor in Electricity Generation in Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 38, 18, 4900-4904.
- Oliveira, C.T., Lepage, G., Perrier, G., Campos, L.M.S., Merlin, G., 2016. Células a combustível microbianas como tecnologia sustentável de conversão energética de efluentes. Encontro Internacional sobre Gestão Empresarial e Meio Ambiente, ENGEMA.
- Peixoto, L., Martins, G., Amorim, D., Parpot, P., Nogueira, R., Brito, A.G., 2013. Células de combustível microbianas: Um processo inovador para produção de energia e tratamento de águas residuais em sistemas descentralizados. VII Congresso sobre Planeamento e Gestão das Zonas Costeiras dos Países de Expressão Portuguesa, Maputo, Moçambique, 1-11.
- Pinto, D.P., 2014. Otimização de uma célula de combustível microbiana. Dissertação de Mestrado Integrado em Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, 86pp.
- Póvoa, O., Farinha, N., Marinho, S., Nunes, P., Godinho, D., Mata, F., Rodrigues, L., Monteiro, A., 2006. Pennyroyal (*Mentha pulegium*) and Hart's Pennyroyal (*Mentha cervina*) Biodiversity in Alentejo, Portugal. In I International Symposium on the Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilisation, 723, 91-98.

- Shataram, A., Beyenal, H., Veluchamy, R.R.A., Lewandowski, Z., 2005. Wireless Sensors Powered by Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 39, 13, 5037-5042.
- Shukla, A.K., Suresh, P., Berchmans, S., Rajendran, A., 2004. Biological fuel cells and their applications. *Current Science*, 87, 4, 455-468.
- Sophia, A.C., Sreeja, S., 2017. Green energy generation from plant microbial fuel cells (PMFC) using compost and a novel clay separator. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 21, 59-66.
- Tapia, N.F., Rojas, C., Bonilla, C.A., Vargas, I.T., 2018. A new method for sensing soil water content in green roofs using plant microbial fuel cells. *Sensors*, 18,71, 1-9.
- The Royal Horticultural Society, 2022. *Mentha x piperita*. Site disponível: RHS. URL: <https://www.rhs.org.uk/plants/11050/mentha-piperita/details>. Consultado a 26 de fevereiro de 2023.
- Timmers, R.A., Rothballer, M., Strik, D. P.B.T.B., Engel, M., Schulz, S., Schloter, M., Hartmann, A., Hamelers, B., Buisman, C., 2012. Microbial community structure elucidates performance of *Glyceria maxima* plant microbial fuel cell. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94, 537-548.
- Timmers, R.A., Strik, D.P.B.T.B., Hamelers, H.V.M., Buisman, C.J.N., 2010. Long-term performance of a plant microbial fuel cell with *Spartina anglica*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86, 973-981.
- Veloso, A., Sempiterno, C., Calouro, F., Rebelo, F., Pedra, F., Castro, I.V., Gonçalves, M.C., Marcelo, M.E., Pereira, P., Fareleira, P., Jordão, P., Mano, R., Fernandes, R., 2022. Salinidade do solo. Manual de fertilização das culturas. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.-INIAV, 41-43.
- Yang, W., He, W., Zhang, F., Hickner, M.A., Logan, B.E., 2014. Single-Step Fabrication Using a Phase Inversion Method of Poly (vinylidene fluoride) (PVDF) Activated Carbon Air Cathodes for Microbial Fuel Cells. *Environmental Science & Technology*, 1, 416-420.

## ANEXOS

### Anexo 1 – Protocolo Extração DNA bacteriano

1. Colocar 300 a 500 $\mu$ L de cultura crescida em TSB com Tween80 num tubo Eppendorff de 1,5 mL;
2. Centrifugar a 13000 rpm durante 5 minutos;
3. Descartar o sobrenadante;
4. Ressuspender o pellet com 500 $\mu$ L de tampão TE (Tris EDTA);
5. Voltar a centrifugar a 13000 rpm durante 5 minutos;
6. Descartar sobrenadante;
7. Consoante o tamanho do pellet ressuspender com 300 a 500 $\mu$ L de TE;
8. Colocar no termoblock a 98°C durante 15 minutos;
9. Colocar no gelo;
10. Centrifugar a 5000 rpm durante 5 minutos;
11. Recuperar 50 $\mu$ L de sobrenadante para novo tubo de Eppendorff de 200 $\mu$ L;
12. Congelar a -20°C.

### Anexo 2 – Protocolo PCR

1. Preparação MasterMix

Reagente	Volume $\mu$ L para 1 amostra
Supermix Itaq	25
Primer 27F	0,5
Primer 1492R	0,5
H <sub>2</sub> O	21
<b>Total</b>	<b>47</b>

DNA 3 $\mu$ L

2. Protocolo PCR

### Anexo 3 – Protocolo Purificação DNA amplificado

Kit utilizado NZYTECH NZYGelpure

1. Transferir os 50 $\mu$ L de amplicon para tubo Eppendorff de 1,5 mL;

2. Adicionar 250 $\mu$ L de Binding Buffer (5x volume de DNA);
3. Agitar por inversão;
4. Centrifugar a 13000 rpm durante 1 minuto;
5. Passar os 300 $\mu$ L pela coluna;
6. Voltar a centrifugar a 13000 rpm durante 1 minuto;
7. Descartar o eluente;
8. Adicionar na coluna 600 $\mu$ L de Wash Buffer;
9. Centrifugar a 13000 rpm durante 1 minuto;
10. Descartar o eluente;
11. Voltar a centrifugar a 13000 rpm durante 1 minuto;
12. Transferir coluna para tubo Eppendorff de 1,5mL limpo;
13. Colocar 50 $\mu$ L de Elution Buffer no centro da membrana da coluna sem tocar;
14. Deixar incubar a temperatura ambiente durante 1 minuto;
15. Voltar a centrifugar a 13000 rpm durante 1 minuto;
16. Transferir para novo tubo Eppendorff de 200 $\mu$ L;
17. Congelar a -20°C.

#### **Anexo 4 – Protocolo de quantificação de DNA no NanoDrop**

1. Ligar equipamento – demora sensivelmente 5 minutos a aquecer;
2. Selecionar ds DNA;
3. Limpar parte superior e inferior do pedestal com água destilada e secar com gaze suave;
4. Efetuar o branco com 1,5  $\mu$ L Elution Buffer;
5. Baixar o pedestal para efetuar o branco;
6. Limpar com gaze limpa e seca a amostra do pedestal;
7. Colocar 1,5  $\mu$ L da amostra de DNA e baixar o pedestal para medir;
8. Repetir o mesmo processo para as restantes amostras;
9. Carregar em “End experiment”;
10. Salvar os dados numa pen USB;
11. Limpar o pedestal com água destilada e gaze seca;
12. Desligar o equipamento.

**Anexo 5 – Classes de salinidade do solo e reação das culturas aos sais  
(adaptado de Veloso et al., 2022)**

Classificação do solo	Reação das culturas	Condutividade elétrica (dS/m a 25°C)	
		No extrato saturação	No extrato 1:2 (solo:água)
<b>Solo sem efeitos salinos</b>	Sem problema	0-2	< 0,40
<b>Solo muito pouco salino</b>	Culturas muito sensíveis aos sais podem ser afetadas	2-4	0,41-0,80
<b>Solo pouco salino</b>	Culturas sensíveis aos sais podem ser afetadas	4-8	0,81-1,60
<b>Solo moderadamente salino</b>	Só culturas tolerantes aos sais atingem produções aceitáveis	8-12	1,61-2,40
<b>Solo fortemente salino</b>	Só culturas muito tolerantes aos sais atingem produções aceitáveis	12-16	2,41-3,20
<b>Solo muito fortemente salino</b>	Só algumas culturas altamente tolerantes aos sais atingem produções aceitáveis	>16	>3,20

**Anexo 6 – Identificação dos isolados**

ISOLADO	ID (similaridade)
19	<i>Pseudomonas</i> sp. Mais provável: <i>Pseudomonas kribbensis</i> (99.53%)
20	<i>Pseudomonas</i> sp. Mais provável: <i>Pseudomonas alloputida</i> (100%)
21	<i>Pseudomonas</i> sp. Mais provável: <i>Pseudomonas kribbensis</i> (99.62%)
22	NÃO ESTÁ PURA
23	<i>Pseudomonas frederiksbergensis</i> (100%)
24	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (99.90%)
25	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (99.79%)
26	<i>Staphylococcus warneri</i> (99.72%)
27	<i>Staphylococcus equorum</i> subsp. <i>Equorum</i> (100%)
28	NÃO ESTÁ PURA



<b>29</b>	<i>Pseudomonas putida</i> (100%)
<b>30</b>	<i>Pseudomonas alloputida</i> (100%)
<b>31</b>	<i>Pseudomonas putida</i> (100%)
<b>32</b>	<i>Lysinibacillus fusiformis</i> (99.70%)
<b>33</b>	<i>Pseudomonas alloputida</i> (99.81%) ou <i>Pseudomonas plecoglossicida</i> (99.80%)
<b>34</b>	NÃO ESTÁ PURA
<b>35</b>	NÃO ESTÁ PURA
<b>36</b>	<i>Exiguobacterium artemiae</i> (99.50%) <i>Pseudomonas</i> sp.
<b>37</b>	Mais provável: <i>Pseudomonas alloputida</i> (100%) ou <i>Pseudomonas hunanensis</i> (100%)
<b>38</b>	<i>Pseudomonas koreensis</i> (100%)
<b>39</b>	NÃO ESTÁ PURA
<b>40</b>	<i>Staphylococcus warneri</i> (99.70%)
<b>41</b>	NÃO ESTÁ PURA <i>Exiguobacterium</i> sp.
<b>42</b>	Mais provável: <i>Exiguobacterium artemiae</i> (99.91%) ou <i>Exiguobacterium undae</i> (99.91%)
<b>43</b>	<i>Enterobacter soli</i> (99.53%)
<b>44</b>	NÃO ESTÁ PURA
<b>45</b>	<i>Flavobacterium akiainvovens</i> (98.47%)