UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA



DE MÉXICO

FACULTAD DE INGENIERÍA

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE OPERACIÓN DE UNA CELDA MICROBIANA DE BIOCOMBUSTIBLE UTILIZANDO SISTEMAS ELECTRÓNICOS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO ELÉCTRICO ELECTRÓNICO

PRESENTA:

GÁMEZ GALICIA ESTEBAN



DIRECTORA DE TESIS:

DRA. ALEJANDRA CASTRO GONZÁLEZ

MÉXICO D.F., CIUDAD UNIVERSITARIA 2016

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: DR. ARTURO GUILLERMO REINKING CEJUDO

- VOCAL: DRA. ALEJANDRA CASTRO GONZALEZ
- SECRETARIO: M.C. EDGAR SALAZAR SALAZAR
- 1ER. SPTE.: ING. JOSÉ SALVADOR ZAMORA ALARCÓN
- 2ER. SPTE.: ING. ROBERTO GIOVANI RAMIREZ CHAVARRIA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México

ASESORA DEL TEMA:

Dra. Alejandra Castro González

SUSTENTANTE:

Esteban Gámez Galicia

Dedicó esta tesis a mis padres Sergio Gámez Bautista y María Teresa Galicia Flores. Así también a mis hermanos: Sergio, Sofía y Tania.

Agradecimiento especial a mi asesora de tesis la Dra. Alejandra Castro González. Y agradezco también a los miembros del jurado.

Índice

Índice de figuras	I
Índice de tablas	IV
Glosario	V
Resumen	VI
Introducción	VII
Objetivo general	VIII
Objetivos específicos	VIII
Capítulo I. Antecedentes	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Celdas microbianas de biocombustible	2
1.2.1 Definición y clasificación	2
1.2.2 Combustible y proceso	3
1.2.3 Método de transferencia de electrones entre el sitio de reacción y el electrodo	3
1.3 Celdas de combustible	6
Capítulo II. Fundamentos	8
2.1 Avance de las celdas microbianas de biocombustible	8
2.1.1 Celda microbiana de biocombustible desalinizadora	10
2.1.2 Celda microbiana de biocombustible generadoras de hidrógeno	10
2.1.3 Comportamiento de los protones	11
2.1.4 Microorganismos asociados a las CMB	11
2.1.5 Mediadores externos o producidos por los mismos organismos	12
2.1.6 Biopelícula en la CMB	15
2.1.7 Eficiencia coulómbica	15
2.2 Componentes de las CMB	16
2.2.1 Materiales anódicos	17
2.2.2 Materiales catódicos	18
2.2.3 Materiales de la membrana de intercambio de protones	18
2.3 Importancia del pH y del electrolito	19
2.4 Instrumentos de medición en la CMB	19
2.5 Determinación del rendimiento de una CMB	19
2.5.1 Potencia	20
2.5.2 Densidad de potencia	20
2.5.3 Solidos Totales	20

2.5.4 Eficiencia coulómbica	21
2.5.5 Eficiencia energética	21
Capítulo III. Metodología	23
3.1 Materiales y equipo de la CMB	23
3.1.1 Metodología en el proceso de laboratorio	29
3.2 Construcción para las mediciones eléctricas	32
3.2.1 Amplificador de instrumentación AD620	35
3.2.2 Diagrama del circuito y configuración del amplificador de instrumentación	40
3.3 Diagramas del circuito utilizado con la CMB	42
Capítulo IV. Resultados	45
4.1 Evaluación de la CMB	45
4.1.1 Evaluación de parámetros de operación de la CMB	46
4.1.2 Corriente generada	60
4.2 Evaluación energética	61
4.2.1 Potencia	61
4.2.2 Densidad de potencia	61
4.2.3 Eficiencia coulómbica	62
4.3 Eficiencia energética	63
4.4 Evaluación económica	63
4.5 Evaluación ambiental	64
Capítulo V. Conclusiones	65
Referencias Bibliográficas	67

Índice de figuras

Figura 1.1	Celda Microbiana de Biocombustible	5
Figura 1.2	Celda de Daniell inventada por John Frederic Daniell en 1836	7
Figura 2.1	Diagrama que muestra el funcionamiento de una celda	
	microbiana de biocombustible	9
Figura 2.2	Celda Microbiana de biocombustible desalinizadora	10
Figura 2.3	Diseño básico de una CMB	16
Figura 2.4	Diferentes formas de carbón utilizadas en las CMB	17
Figura 3.1	Celda Utilizada en el experimento	23
Figura 3.2	Materiales utilizados en la CMB	24
Figura.3.3	Materiales de construcción para la CMB experimental	24
Figura 3.4	Fotografía del pH-metro HACH sensION pH 31 utilizado en el experimento	26
Figura 3.5	Fotografía de calentamiento y agitación	
	Termolyne Nuova Stir Plate utilizada en el experimento	26
Figura 3.6	Fotografía de la bomba aireadora marca Elite 802 utilizada en el experimento	27
Figura 3.7	Fotografía de la estufa utilizada en el experimento	27
Figura 3.8	Fotografía de la mufla utilizada en el experimento	28
Figura 3.9	Fotografía de la balanza analítica utilizada en el experimento	28
Figura 3.10	Compuesto utilizado en la CMB	30
Figura 3.11	Método para determinación de solidos STV, ST, STF	31
Figura 3.12	Fotografía de la tarjeta de desarrollo Arduino utilizada en el experimento	32
Figura 3.13	Fotografía del multímetro utilizado en el experimento	35
Figura 3.14	Configuración del amplificador de instrumentación AD620	35
Figura 3.15	Configuración del amplificador de instrumentación	36
Figura 3.16	Configuración para el análisis del amplificador de instrumentación	37
Figura 3.17	Diagrama del circuito para el amplificador de instrumentación	41
Figura 3.18	Fotografía del dispositivo amplificador que se utilizó en el experimento	41
Figura 3.19	Diagrama de la CMB y multímetro para medir el voltaje generado	42

I

ſ

Figura 3.20	Diagrama final de medición de voltaje	42
Figura 3.21	Diagrama del circuito final de la CMB utilizando el amplificador	
	de instrumentación	43
Figura 3.22	Fotografías de los circuitos de medición	43
Figura 3.23	Circuito para la medición de corriente generada en la CMB	44
Figura 4.1	Diferencia de potencial generada durante el tiempo de operación	
	de la celda, en el experimento 1	47
Figura 4.2	Comportamiento de la generación de energía con respecto al tiempo	
	en el experimento 1	48
Figura 4.3	Comportamiento de la generación de energía con respecto a la	
	concentración SVT en el experimento 1	48
Figura 4.4	Comportamiento de la generación de energía con respecto al	
	tiempo durante el experimento 2	49
Figura 4.5	Comportamiento de los sólidos con respecto al tiempo en el experimento 2	49
Figura 4.6	Comportamiento de la generación de energía y materia orgánica	
	presente durante el experimento 2	50
Figura 4.7	Comportamiento de la generación de energía producida con	
	respecto al tiempo experimento 3	51
Figura 4.8	Comportamiento de la generación de energía producida con	
	respeto al tiempo experimento 4	51
Figura 4.9	Comportamiento de los sólidos presentes en la celda con respecto	
	al tiempo durante el experimento 4	52
Figura 4.10	Comportamiento de la generación de energía con respecto a la	
	concentración de sólidos volátiles presentes en el experimento 4	53
Figura 4.11	Comportamiento de la generación de energía con el arduino y multímetro,	
	con respecto al tiempo y los sólidos presentes durante el experimento 4	53

Figura 4.12 Comportamiento de la generación de energía utilizando un amplificador AD620 durante el experimento 5

 $\left[\right]$

- II -]-

54

Figura 4.13	13 Comportamiento de la concentración de los sólidos totales,	
	fijos y volátiles, durante el experimento 5	55
Figura 4.14	Comportamiento de energía producida con respecto a la	
	concentración de sólidos volátiles totales, durante el experimento 5	55
Figura 4.15	Comportamiento de la energía registrada con el arduino y multímetro	
	con respecto al tiempo durante el experimento 5	56
Figura 4.16	Comportamiento de la energía registrada con el arduino con respecto	
	al tiempo en el experimento 6	57
Figura 4.17	Comportamiento de la concentración de sólidos en la celda durante	
	el experimento 6	57
Figura 4.18	Comportamiento de la producción de energía con respecto a la	
	concentración de los sólidos en la celda durante el experimento 6	58
Figura 4.19	Comportamiento de la producción de energía medida por el arduino	
	y multímetro en la celda durante el experimento 6	58
Figura 4.20	Producción de corriente eléctrica en el experimento número 6	60

Índice de tablas

Tabla 1.1	Clasificación de las CMB y tipo de combustible	4
Tabla 3.1	Características del papel grafito	25
Tabla 3.2	Compuestos orgánicos de los principales elementos constituyentes de las	
	celdas microbianas	29
Tabla 3.3	Relación de alimentación de la CMB	31
Tabla 4.1	Concentración de los sólidos en el sustrato	45
Tabla 4.2	Arreglo de las condiciones iniciales de los experimentos de la CMB	46
Tabla 4.3	Resultados de los experimentos realizados	59

Glosario

СМВ	Celda microbiana de biocombustible
REDOX	reacción de reducción-oxidación
ST	Solidos totales
STV	Solidos volátiles totales
STF	Solidos fijos totales
EPDM	Caucho de etileno propileno dieno

Resumen

En este trabajo se realizó el diseño, construcción y operación de una celda microbiana de biocombustibles (CMB) de una sola cámara. Los volúmenes se variaron de 40 ml y otra de 125 ml. Utilizando un cultivo mixto como sustrato compuesto de extracto de levadura, peptona y dextrosa, alimentándolas con diferentes concentraciones de levadura Saccharomyces cerevisiae. Se llevó un registro de la producción de electricidad utilizando un microcontrolador arduino UNO y un multímetro digital y en donde la señal arrogada por la celda era demasiado tenue se utilizó un amplificador de instrumentación AD620 con una ganancia de 100, además con este instrumento se redujo el ruido y las interferencias en la señal. Para evaluar la eficiencia se varió la cantidad de sustrato y la concentración de levadura en cada experimento. Se observó que la producción de electricidad fue mayor cuando se usó aireación en la celda, teniendo como máximo una corriente de I=4.723 mA y un voltaje de 0.1417 V. Finalmente se pretende determinar si es factible utilizarla las CMB como medio de producción de energía y comprobar si es una forma limpia y segura de generar electricidad.

Introducción

Las celdas microbianas de biocombustible (CMB), representan una tecnología que va en aumento y que se suma al desafío que afrontan las energías renovables para combatir algunos problemas actuales que enfrenta la sociedad, como son la crisis energética, la disponibilidad y tratamiento de aguas residuales o el calentamiento global. Una celda de biocombustible es un dispositivo que utiliza microorganismos para convertir energía bioquímica que se encuentra presente en la materia orgánica utilizada como combustible en energía eléctrica. Este proceso es posible cuando determinadas bacterias encargadas de producir electricidad están bajo las condiciones necesarias para transferir los electrones que producen en su actividad metabólica a un electrodo. El proceso ha sido demostrado en trabajos que datan entre 1970 por S. Susuki y 1980 con MJ Allen y H. Peter Bennetto, en donde se utilizaron celdas similares a las de la actualidad. También hay trabajos recientes de Zhang y Angelidaki en 2013 donde se utilizó una celda microbiana de desalinización y desnitrificación de agua que dio como producto electricidad y nitrógeno. La más grande revolución en el campo de estudio de las celdas microbianas de biocombustible se produjo en las pasadas décadas.

Esto ha invitado a que una parte de la comunidad científica intervenga en el estudio y la generación de energía verde mediante la explotación de la biomasa contenida en la materia y en los residuos orgánicos. Dando como resultado celdas con una eficiencia coulómbica de hasta el 89%, siendo la eficiencia coulómbica la cantidad de materia orgánica que se recupera en electricidad. Al utilizar la materia orgánica como combustible, al mismo tiempo de la producción de energía se logra la depuración de restudios orgánicos, principalmente presentes en aguas residuales.

En el siguiente trabajo inicialmente se describen los conceptos y dispositivos más importantes utilizados en el desarrollo histórico de las CMB, su definición, sus características, sus avances y aplicaciones. Posteriormente presenta de manera empírica una seria de experimentos que pueden realizarse con el funcionamiento de las CMB, desde diseñar, construir, operar y evaluar una celda microbiana de biocombustible, utilizando levaduras para la producción de alcohol y sistemas electrónicos que permitan llevar un registro de los resultados arrojados por la CMB. También se comprueba sí es una forma limpia y segura de generar electricidad concluyendo si esta forma de generar electricidad es eficiente y la viabilidad de utilizarla como medio de producción de electricidad.

Objetivo general

Diseñar, una celda microbiana de biocombustible (CMB), se utilizarán levaduras para la producción de alcohol, evaluando sí esta forma de generación de electricidad es eficiente y hasta donde sería viable utilizarla, comprobando si es una forma limpia y segura para generarla.

Objetivos específicos

- Conocer el uso y aplicación de las celdas microbianas de biocombustible, investigando su historia evolución y aplicaciones.
- Conocer el funcionamiento de una CMB experimentando por medio de su operación.
- Registrar la producción de electricidad de la CMB, utilizando sistemas electrónicos.
- Evaluar la eficiencia de operación de una CMB analizando los resultados arrojados.
- Establecer si es factible la utilización de la CMB como medio de producción de electricidad determinando esto por medio de los resultados obtenidos.
- Comprobar si una CMB es una forma limpia y segura de generar electricidad observando los resultados.

Capítulo I. Antecedentes

1.1 Antecedentes

La primera evidencia experimental de la bioelectricidad data de finales del siglo XVIII por el médico Luigi Galvani, que accidentalmente, mientras disecaba una rana, observó la respuesta eléctrica en una de las patas de la rana al contraerse, descubrió un fenómeno eléctrico al que llamó "electricidad animal" (Villar-Lázaro, y col., 2014).

Posteriormente, se tiene conocimiento que los primeros experimentos de la celda microbiana de biocombustible fueron hace más de cien años; que profundizando aún más el potencial de la bioelectricidad, Michael Cresse Potter, profesor de botánica de la universidad de Durham en 1911 publicó en la revista Proceedings de la Royal Society un artículo denominado "Efectos eléctricos que acompañan a la descomposición de compuestos orgánicos" (Potter, 1911).

En la que informó y concluyó que el material orgánico produce cierta cantidad de electricidad que se genera al descomponerse la materia orgánica, también realizó otros experimentos con celdas galvánicas, hidrólisis y algunas encimas. Potter logró generar electricidad a partir de la bacteria *Escherichia coli* demostrando un flujo de corriente entre dos electrodos en un medio estéril, sin embargo el trabajo no recibió ningún tipo de cobertura importante.

Más adelante en 1931 Barnett Cohen apoyándose en los conocimientos previos del tema construyó las primeras celdas medias microbianas (haciendo referencia a la cámara anódica), que conectadas en serie fueron capaces de generar un voltaje de 35V con una corriente muy pequeña de apenas 2mA (Cohen, 1931).

Alrededor de los años 1950 y 1960 al mismo tiempo que se desarrollaba el primer proyecto de una celda de combustible de hidrógeno, algunos programas espaciales patrocinados por los Estados Unidos dieron cabida a una fase de desarrollo de las celdas microbianas de biocombustible, como un posible sistema de gestión de residuos orgánicos en lanzamientos espaciales. Contemporáneo a estas investigaciones la creación de sistemas de abastecimiento energético para marcapasos utilizando un sistema de biopilas de combustible, que utilizaban enzimas aisladas, se iniciaron trabajos de investigación (Bullen y col., 2006)

El primer prototipo de la celda microbiana de biocombustible semejante al de la actualidad fue instaurado por S. Suzuki en la década de 1970 se sabe poco acerca del trabajo que realizó, pero a finales de la década se realizó el primer modelo computacional de la celda de combustible biológico (Di Salvo y Videla., 1979a; Di Salvo y col., 1979b)

La idea fue retomada por y estudiada a detalle por MJ Allen y más tarde por H. Peter Bennetto ambos del King's College London, durante esta época en los años de 1980 el interés creció significativamente y se vió la celda de combustible como un posible método para la generación de energía eléctrica para países en desarrollo. Su trabajo contribuyó para la comprensión del funcionamiento de las celdas de combustible (Allen y Bennetto, 1993).

1

Durante los años de los noventa se tuvo una mejor comprensión del tema, y empezó a proliferar el estudio con distintos experimentos y combinaciones de fuentes de carbono, y las eficiencias aumentaron de forma considerable. En esta etapa microorganismos capaces de transferir sin mediadores de electrones al electrodo como aceptor final fueron identificados.

Se exploraron diferentes aplicaciones de las celdas microbianas de biocombustible como biosensores y se generaron nuevos modelos del proceso, donde el trabajo de Allen y Bennetto es especialmente notable, ya que ellos empezaron a concebir estos sistemas como una opción complementaria para la generación de electricidad (Allen y Bennetto, 1993).

Actualmente trabajan diversos grupos de investigación interdisciplinarios en el mundo profundizando en el análisis y desarrollo de esta tecnología.

1.2 Celdas microbianas de biocombustible

1.2.1 Definición y clasificación

Las celdas microbianas de biocombustible (CMB), son una variante de las celdas comunes de combustible que generan cantidades útiles de energía e hidrogeno. Por lo regular están formadas de un ánodo y un cátodo, en una sola cámara o dos cámaras pero estas incluyen una membrana de intercambio de protones.

Las CMB necesitan de microorganismos para oxidar combustible y a su vez por medio de un proceso químico generar tanto electricidad como hidrógeno es decir se basan en la actividad microbiana. Estas son sistemas bioeltectroquímicos (Harnisch y Schröder, 2010; Logan y Rabaey, 2012; Rozendal y col., 2008) que trabajan por acción de bacterias que trasmiten electrones a un ánodo. Las CMB digieren cierto tipo de materia orgánica (Logan y col., 2006) en las que se pueden incluir diferentes tipos de compuestos y el uso de aguas residuales y es en este proceso de digestión es que se produce la energía eléctrica primordialmente.

Las CMB se clasifican en distintos tipos de celdas:

- Electrólisis. Las celdas de electrolisis necesitan de un suministro de electricidad para realizar a cabo el proceso (Schroder, 2007).
- Desalinizadoras. Las celdas desalinizadoras reducen la sal en el agua principalmente en el agua de mar (Jacobson y col., 2011).
- Snorkel electroquímico microbiano. Es básicamente una celda de combustible microbiana en la que no se genera electricidad pero realizan un tratamiento óptimo de las aguas residuales (Erable y col., 2011).
- Electrosíntesis. Estas celdas se enfocan en producir metabolitos secundarios a partir de la energía eléctrica que se libera durante las reacciones REDOX (Rabaey y col., 2011; Wang y col. 2010).

Un problema que se presentan las celdas de biocombustible es que se obtiene una densidad de potencia baja, lo que representa un reto científico y tecnológico. Es importante trabajar en su

optimización ya que es una alternativa que promete mucho y da solución a los problemas relacionados con los combustibles fósiles y al tratamiento de las aguas residuales.

1.2.2 Combustible y proceso

La transformación de energía química en energía eléctrica es posible gracias a una reacción química de catálisis de los microorganismos, los catalizadores pueden ser enzimas que se encuentran en las aguas residuales o se le pueden agregar al sistema. Otro tipo de reacción es la de oxidación de materia orgánica en el ánodo, que debido a la micro flora que se encuentra ahí actúa como donador de electrones para el sistema, y la reducción de un oxidante en el cátodo por ejemplo el oxígeno produce la circulación de electrones en la celda (Adachi y col., 2008; Li y col., 2011; Qiao y col., 2008). Durante la oxidación en el ánodo se producen tanto co₂ como electrones y protones los electrones, los electrones son transferidos al cátodo por medio de un circuito eléctrico externo, mientras que los protones se transfieren por medio de la membrana si es el caso que sea utilice dicha membrana o una biopelícula que se forma dentro de la celda, es por ello que tanto los protones como los electrones son consumidos en el cátodo que en combinación con el oxígeno forman agua.

Las celdas microbianas de biocombustible se pueden clasificar de acuerdo al tipo de sistema bioelectroquímico basándose en el tipo de combustible y en el resultado o producto que se obtiene, con cada tipo de celda (Harnisch y Schröder, 2010; Torres y col., 2009). La tabla 1.1 muestra algunos ejemplos importantes de celdas y sus combustibles y producto.

1.2.3 Método de transferencia de electrones entre el sitio de reacción y el electrodo

La celda microbiana de biocombustible cuando convierte los sustratos o combustible biodegradable genera la electricidad (Lovley, 2008). Este método es posible debido que las bacterias por la naturaleza de su metabolismo transfieren electrones desde un donador a un aceptor y como no es posible que las bacterias transfieren directamente los electrones que producen a la terminal son desviados al ánodo y a través de una membrana o un mediador soluble fluyendo a través de un circuito externo hacia el cátodo como se puede observar en la Figura 1.1.

Los electrones que se generan se transfieren hacia el electrodo negativo, el ánodo. Esta transferencia pude ocurrir de dos maneras, a través de proteínas conductoras de la membrana celular o bien a través de mediadores. Los mediadores también se conocen como lanzadores de electrones y son sustancias con propiedades redox que actúan como intermediarios ente la membrana celular y el ánodo. Pueden ser añadidos externamente o bien ser excretados como resultado del propio metabolismo microbiano (Lovley y Nevin., 2008). De aquí los electrones pasan por el circuito externo antes mencionado hacia el electrodo positivo, el cátodo, donde son transferidos hacia un aceptor de alto potencial como puede ser oxigeno una vez que es reducido el oxígeno, se combina con protones procedentes del compartimento anódico a través de la membrana semipermeable, formando agua.

3

Tabla 1.1 Clasificación de las CMB y tipo de combustible (Wang y Ren, 2013)

Tipos de Celdas	Compuestos en el ánodo donador donde se realiza la oxidación y ocurre la donación de electrones y en el cátodo reductor ocurre la reducción este es el aceptor de electrones	Producto	Referencia
Celdas microbianas de biocombustible en gral.	Anodo: es necesario que haya cualquier material biodegradable; cátodo: se pueden encontrar oxigeno ferrocianuro de potasio u otros oxidantes	Electricidad	Kim y col., 1999, Tanaka y col,.1983
Celda microbiana tubular (tubular CMB)	Ánodo: acetona, glucosa, aguas residuales domésticas, aguas residuales de hospitales, efluentes de digestores o plantas de procesamiento; cátodo: ferrocianuro de potasio	Electricidad	Rabaey y col., 2005b
Celda microbiana de flujo ascendente	Ánodo: sacarosa; cátodo: ferrocianuro de potasio y oxígeno	Electricidad	He y col., 2005, 2006, Feng y col.,2010
Celda microbiana de sedimentos	Ánodo: ácido acético y otros productos de la fermentación en el sedimento; cátodo: oxigeno	Electricidad	Lovley 2006
Celda de combustible foto- microbiana	Ánodo: agua; cátodo: ferrocianuro de potasio	Electricidad	Thorne y col., 2011
celda solar microbiana foto electroquímica	Ánodo: sedimentos marinos; cátodo: oxigeno	Electricidad glucosa y oxigeno	Malik y col., 2009
Celda de combustible fotoelectroquímica	Ánodo: ácidos orgánicos y alcoholes; cátodo: ferrocianuro de potasio	Electricidad e	Rosenbaum y
Celda de fotosíntesis	Ánodo: agua y glucosa; cátodo: ferrocianuro de potasio	Electricidad	Yagishita y col.,
Snorkel electroquímico microbiano	Ánodo: aguas residuales; cátodo: oxigeno	Tratamiento de aguas residuales	Erable y col., 2011
Celda microbiana de electrodiálisis reversible	Ánodo: Acetato de sodio; cátodo: oxigeno	Electricidad	Cusick col., 2012, Kim y Logan 2011b
Celda microbiana solar motorizada de electrolisis	Ánodo: ácido acético; cátodo: protones	Hidrogeno	Chae y col., 2009
Celda microbiana de electrodiálisis reversible y electrolisis	Ánodo: ácido acético; cátodo: protones	Hidrogeno	Kim y Logan 2011a
Celda microbiana de captura de carbón	Ánodo: glucosa; cátodo: dióxido de carbono	Algas de biomasa y electricidad	Wang col., 2010
Celda microbiana de desalinización	Ánodo: acetato de sodio; cátodo: oxigeno, protones	Agua desalinizada hidrogeno y electricidad	Lou col., 2011
Celda microbiana de electrosíntesis	Ánodo: materia orgánica, sulfuro de hidrogeno, agua; cátodo: oxigeno ferrocianuro de potasio y dióxido de carbono	Electricidad etanol acetatos	Wang col., 2008 Rabaey col., 2011
Celda microbiana de desalinización y des nitrificación	Ánodo: acetato de sodio; cátodo: nitratos	Electricidad y nitrógeno	Zhang y Angelidaki 2013



Figura 1.1 Celda Microbiana de Biocombustible (Rabaey y col., 2003)

En los estudios más importantes que se han realizado sobre las CMB han utilizados cepas de bacterias puras como la Shewanella putrfaciens, Escherichia coli, Geobacter sulfurredecens y rhodoferax ferrireducens siendo las más comunes, teniendo que las dos últimas son de suma importancia ya que cuentan con una eficiencia coulómbica de ~98% al transferir los electrones al ánodo, apartir de la glucosa y acetatos. Es importante hacer mención que la eficiencia coulómbica no siempre es un factor que implique una alta transferencia de energía y por tanto se necesita considerar la densidad de potencia que se produce. Los estudios con cultivos mixtos y uniones microbianas se han utilizado también obteniendo eficiencias coulómbicas que se pueden comparar a las de los cultivos puros de ~90% (Rabaey y col. ,2003). Con estos sistemas se ha demostrado que se puede recuperar hasta un 79% de recuperación de la energía contenida en los enlaces de las moléculas orgánicas que sirven como fuentes de carbono. Los trabajos obtenidos con la Geobacter sulfurreducens pueden producir una energía libre de -53 KJ por moleculas de acetato oxidado (Rabaey y col., 2005). La desventaja de trabajar con esta bacteria Geobacter sulfurreducens es que sus condiciones anaerobias son muy estrictas y son difíciles de mantener, es por ello que se opta por usar los cultivos mixtos en los que las biopelículas aéreo tolerantes se consideran eficaces (Erable y col., 2010).

Al existir dos maneras de transferencia de los electrones una por un sistema en el cual se utiliza combustible secundario para el electrodo generado por reacciones biológicas en una celda de biocombustible de transferencia indirecta. El siguiente utiliza mediadores reversibles de disparo de electrones y de transferencia directa con concordancia con el componente biológico y el electrodo (Aston y Turner., 1984). Entonces una celda que incluye componentes de difusión de mediadores reversibles es indirecta y una que incluye mediadores no difusos es directa. Estas a su vez se clasifican en tres subcategorías; las de tipo de producto en donde las enzimas convierten los componentes inactivos en componentes electroquímicamente activos; los de tipo regenerativo aquí los organismos regeneran compuestos redox y realizan la reacción electroquímica; y finalmente del tipo depoarizador puesto que los organismos actúan como catalizadores de reacciones electroquímicas en el electrodo transfiriendo los electrones directamente (Higgins y Hill., 1985).

1.3 Celdas de combustible

Las celdas o pilas de combustible son un dispositivo electroquímico en el que se permite restablecer continuamente el combustible que se consume produciendo electricidad de fuentes externas como combustible y oxígeno, también cuentan con los electrodos que son catalíticos y relativamente estables.

Las celdas de combustible al igual que las CMB funcionan a partir de reacciones químicas de oxidación "Puesto que en un proceso de oxidación se liberan electrones que se consumen en el proceso de reducción, una pila ha de consistir en un circuito eléctrico formado en parte por los conductores metálicos para la aparición, consumo y flujo de electrones y en parte conductores electrolíticos para el doble flujo iones" (Elías y Jurado, 2012),

Entonces el proceso básico de las celdas de combustible se sustenta primordialmente en la propiedad electroquímica de los materiales al oxidarse o reducirse.

La celda de Daniell creada por John Frederic Daniell en 1836 fue una de las primeras y de las más representativas y supuso una mejora sobre la celda voltaica que fue la primera celda galvánica que se desarrolló. Al ser una de las primeras celdas y que con el tiempo se ha modificado, sufriendo cambios para mejorar su eficiencia y rendimiento sigue siendo funcional ya que se le han agregado componentes, en la siguiente figura se muestra el esquema de una celda de combustible de daniell (Figura 1.2).

Electrodos. Son dos terminales de materiales distintos sumergidos en disoluciones salinas, estos se oxidan y reducen generando un flujo de electrones permitiendo la producción de electricidad, usualmente se llama semicelda para ubicar el conjunto del electrodo más el electrolito.

Ánodo. En este se produce la reacción de oxidación que libera electrones que fluyen por un material conductor (cable), hacia el cátodo el ánodo puede ser de Zn. Con la liberación de los electrones los átomos de Zn se cargan positivamente por esto el electrodo se va gastando mientras la celda está en funcionamiento.

6



Figura 1.2 Celda de Daniell inventada por John Frederic Daniell en 1836 (Elías y Jurado, 2012)

Cátodo. En este electrodo ocurre la reacción de reducción y es el que acepta los electrones que provienen del ánodo. El cátodo puede ser de Cu y los electrones le dan una carga negativa al cátodo que atrae los cationes de Cu que se encuentran en la disolución en donde se encuentra el electrodo.

Electrolito. Es la disolución que baña los electrodos, en el ánodo es una disolución de zinc (ZnSO₄) y en el cátodo la disolución presente es de (CuSo₄).

Puente salino. Es donde se lleva a cabo la neutralización de cargas, puesto que permite el paso de aniones hacia el cátodo. El puente salino es un tubo que une los dos recipientes sin dejar circular o mezclarse las dos disoluciones. Puede estar formado por KCI, NH₄NO₃, KNO₃, etc.

Capítulo II. Fundamentos

2.1 Avance de las celdas microbianas de biocombustible

El desarrollo e investigación a nivel global en las celdas microbianas de biocombustible (CMB), se ha visto estimulada en los últimos años puesto que las necesidades energéticas en la actualidad así lo demandan. Aunque las aplicaciones actuales de las CMB en el mundo son limitadas debido a su bajo nivel de potencia (Benetton y col, 2010). Por esto para que las aplicaciones a grandes escalas sean una realidad es necesario mejorar un numero importantes de factores que limitan a las CMB, tanto en diseño, investigación y desarrollo (Franks y col., 2010).

Con el fin de mejorar a las CMB diversos grupos de investigadores han centrado sus trabajos en la generación de electricidad e hidrógeno, ya que una de las ventajas sobre las celdas de combustible comunes, es que su costo puede ser menor para producir energía eléctrica, debido a que no necesariamente se tienen que utilizar cierto tipo de metales costosos para tener una alta eficiencia. Presenta condiciones donde las circunstancias para su operación es más sencilla y segura, proveyendo situaciones sustentables para el medio ambiente, ya que no se arrogan altos niveles de gases de efecto invernadero a la atmósfera. Pero como se ha mencionado no se puede aplicar en la industria como tal, ya que las CMB se ven limitadas por las bajas densidades de potencia de escasamente unos cuantos miles de mW/m² (Franks y Nevin., 2010; Du y col., 2007)

Cronológicamente las celdas bacterianas de biocombustible han ido evolucionando desde su aparición con el primer trabajo desarrollado por Michel Cresse Potter (1911). Quien postulo que los compuestos orgánicos se desintegran debido a microorganismos y a su vez se acompaña de una liberación de energía eléctrica. Es la base obligatoria de la mayoría de los artículos que tratan el tema de las CMB. A pesar que realizó experimentos con celdas galvánicas, enzimas (*invertasa y diastasa*) e hidrólisis. En su artículo "Efectos eléctricos que acompañan las descomposición de compuestos orgánicos" solo se presentan resultados de los experimentos en los que utilizo levaduras ya que es la primicia de las actuales celdas microbianas de biocombustible (Potter 1911).

Posteriormente Cohen (1931) publicó sobre cultivos bacterianos como una media-celda electrica lo que hoy se entiende como la cámara anódica. Se experimentó con distintos cultivos de bacterias y uso la conexión de celdas en serie obteniendo un voltaje de 35 V con una densidad de potencia muy baja apenas de 2mA (Cohen, 1931).

Para 1970 se realizó lo que fue la primera celda microbiana de biocombustible que se asemeja a la que se utiliza en la actualidad (Suzuki., 1970), no se sabe mucho de este trabajo solo que a finales de esta década se construyó el primer modelo computacional de una celda de combustible biológico (Di Salvo y Videla., 1979a; Di Salvo y col., 1979b).

Uno de los trabajos más importantes en la de década de 1990 con los que se dio un perspectiva más amplia de las CMB es el de Robin M. Allen y H. Peter Bennetto (1993) en el que nos hablan de la celda microbiana que contiene *Proteus vulgaris* y factores redox, que ellos investigaron en la cual las bacterias se inmovilizan químicamente sobre la superficie del grafito en el electrodo. Lo cual es el soporte para la producción continua de corriente eléctrica y puede ser reusada para su almacenamiento posteriormente. Un sistema de alimentación de carbohidratos controlado por

computadora permite a la celda generar de manera constante a la salida, mejorando la eficiencia en comparación con el rendimiento obtenido con adicciones individuales de combustible. La respuesta que obtuvieron cuando se adiciono al sustrato bacterias inmovilizadas era más rápido que el conseguido con los organismos suspendidos libremente. Esto es atribuido a la cinética de transferencia de masa, resultado de la proximidad de las bacterias inmovilizadas y la superficie del electrodo (Allen y Bennetto, 1993).

Como se muestra en la Figura 2.1 se puede observar el funcionamiento de la celda de biocombustible creada por Allen y Bennetto (1993) con la tecnología electroquímica convencional. La celda de biocombustible es particularmente prometedora, ya que puede ser utilizado para extraer electrones de la oxidación del combustible de origen natural, tales como carbohidratos con alta eficiencia. El modo de acción de este dispositivo depende del uso de microorganismos intactos como mini reactores integrales capaces de realizar una serie de transformaciones enzimáticas electrógenicas. En el interior del compartimiento de electrodos de la celda electroquímica, los organismos actúan como una fuente de electrones, inicialmente atrapados por la reducción de los sustratos intermedios de la degradación, pero disponibles para la transferencia al ánodo. Esta transferencia se ve afectada por un mediador redox que desvía los electrones de los compuestos intermedios reducidos y, a través del ánodo, para el circuito externo, cosa que está completada por un cátodo adecuado. Para la oxidación de la glucosa, la reacción del ánodo está descrita por:

$$C_6H_{12}O_6 + {}_6H_2O \rightarrow {}_6CO_2 + {}_{24}e^- + {}_{24}H^+$$

La acción del mediador da como resultado un aumento dramático en la corriente y en la electricidad que se pueden obtener. El grado sustancial de oxidación facilita de forma importante el enfoque de conversión de la energía de biomasa (Kim y col., 2002a).



Figura 2.1 Diagrama que muestra el funcionamiento de una celda microbiana de biocombustible (Allen y Bennetto, 1993)

2.1.1 Celda microbiana de biocombustible desalinizadora

Desalinizar agua de mar o agua salobre para uso como agua potable ha representado siempre problemas importantes pues este proceso conlleva un elevado consumo de energía que se requiere para eliminar las sales disueltas en el agua. Con la utilización de una celda microbiana de biocombustible adaptada, este proceso puede proceder con ninguna entrada de energía eléctrica externa. Al agregarle una tercera cámara en entre los dos electrodos de un CMB estándar y llenarlo con agua de mar, los electrodos positivos y negativos de la ceda atraen a los iones positivos y negativos de sal en el agua y utilizando membranas semi-permeables, ésta es filtrada del agua de mar, como se ve en la Figura. 2.2 la sal es removida hasta en un 90% según algunos trabajos registrados en laboratorios, pero se requiere que las eficiencias de remoción sean mucho más altas para producir agua de calidad potable (Jacobson y col., 2011).



Figura 2.2 Celda Microbiana de biocombustible desalinizadora (Jacobson y col., 2011)

2.1.2 Celda microbiana de biocombustible generadora de hidrógeno

Las celdas microbianas de biocombustible se pueden utilizar también para generar hidrógeno como un combustible alternativo. Cuando se utiliza para la producción de hidrógeno, las CMB deben complementarse con una fuente de alimentación externa para superar la barrera de energía de convertir toda la materia orgánica en dióxido de carbono e hidrógeno. El estándar las CMB se convierte a la producción de hidrógeno, manteniendo ambas cámaras anaeróbicas y se completa la CMB con 0.25 voltios de electricidad. Las burbujas de hidrógeno se forman en el cátodo y se recogen para su uso como fuente de combustible. Aunque la electricidad se utiliza en lugar de generar como en las CMB normales, este método de producción de hidrógeno es muy eficiente ya que más del 90% de los protones y los electrones generados por las bacterias en el ánodo se convierten en gas de hidrógeno. La producción convencional de hidrógeno requiere 10 veces la cantidad de energía en forma de una CMB adaptada (Elias y Jurado., 2012).

2.1.3 Comportamiento de los protones

Al ocurrir la oxidación de materia orgánica en las CMB se producen electrones y protones. Por cada electrón en la biopelícula que se produce en la corriente también es producido un protón. Los electrones se remueven rápidamente por acción de la biopelícula en el circuito eléctrico de la celda. Los protones tienen que desplazarse fuera de la biopelícula para posteriormente moverse hacia el cátodo. Este proceso es más lento y es causante de que haya una baja producción de energía. Se ha observado un declive de protones que pasan por la biopelícula (Franks y col., 2009). La producción de electricidad por bacterias en la CMB es causante de un aumento mayor en la concentración de protones equivalente a 1 de pH. Y se ha observado que la disminución de pH en el volumen de líquido contenido en la celda microbiana de biocombustible disminuye la producción de corriente (Torres y col., 2008a). Cuando se acumulan demasiados protones en lugares específicos se da lugar a que esas franjas sean de inactividad metabólica dentro de la biopelícula (Torres y col., 2008b).

2.1.4 Microorganismos asociados a las CMB

Las CMB utilizan microorganismos para su proceso de generación de corriente eléctrica por medio de la oxidación de materia orgánica como ya se había mencionado. La metabolización de los sustratos orgánicos es llevada a cabo por los microorganismos presentes en las CMB transfiriendo electrones al electrodo en este caso al ánodo. La liberación de electrones y protones del sustrato es responsabilidad de la materia orgánica en oxidación, transfiriendo los electrones al ánodo y posteriormente al cátodo a través de una red eléctrica. Los protones son acarreados al cátodo y combinados con los electrones y oxígeno por lo regular reduciéndose en la superficie del cátodo. Siendo este proceso parecido al de una celda de combustible en la producción de electricidad. Con la diferencia que en una CMB están presentes los microorganismos que actúan como un catalizador.

Los catalizadores son encargados de aumentar la reacción sin modificar o recibir energía de la reacción en que están realizando el proceso de catálisis. En realidad los microorganismos en una CMB no son catalizadores como tal ya que obtienen la energía de la oxidación del sustrato, como parte de una retroalimentación en la que su beneficio es apoyar en su crecimiento y crear una pérdida de energía la que más adelante es aprovechada en el proceso. Los requerimientos de los microorganismos en una CMB como el carbono o la energía necesaria para su crecimiento lo obtienen de la oxidación de la materia orgánica, por lo tanto esta tecnología en las CMB se considera autosuficiente, tomando en cuenta que las condiciones deben ser favorables en todo momento para la producción de electrones en el ánodo (Minteer y col., 2007).

La sintrofia es definida como una entidad o asociación de microorganismos en la que se pueden incluir desde dos o más diferentes ejemplares de microorganismos que son capaces de conjuntar sus habilidades de catalización por medio del metabolismo en un sustrato, y que alguno de estos microorganismos no es capaz de realizar por si solo (Rittmann y col., 2008b).

Para los sistemas microbianos bioenergéticos, donde se utilizan sustratos complejos para la producción de electricidad, hidrogeno o metano por medio de la sintrofía se aplica el concepto anterior puesto que debido al tipo de sustrato que están formados por diferentes tipos de nutrientes los microorganismos deben ser capaces de procesarlos o por lo menos no inhibirse debido a su presencia.

El sustrato complejo compuesto de materia orgánica debe ser reducido a compuestos simples por medio de la fermentación y la hidrolisis, para que el resultado final sean productos esperados. Por ejemplo para producir biohidrógeno el resultado final de la fermentación de ser H₂ con lo cual otros productos de la fermentación como acetato, etanol, propionato y butirato son consumidores de electrones, para la generación de CH₄ los metanogénicos utilizan acetato o H₂ y CO₂ donde los electrones en su totalidad son transportados hacia el H₂ y al acetato. La acumulación en exceso de hidrógeno en este tipo de procesos suele detener termodinámicamente el proceso de fermentación, y con la sintrofía balanceada óptimamente con los microorganismos encargados de la fermentación, de producir hidrógeno o de oxidarlo es el enclave para cumplir con la metanogénesis de manera efectiva. En este proceso el H₂ debe ser recolectado de inmediato para evitar que se acumule e interfiera en el proceso.

Finalmente en un CMB, el hidrógeno acumulado tiende a comportarse de dos maneras finalizando en resultados que no son los deseados; en primera con una baja velocidad en la fermentación o la desviación de flujo de electrones hacia CH₄ (Freguia y col., 2008).

2.1.5 Mediadores externos o producidos por los mismos organismos

La mayoría de las celdas microbianas son eléctricamente inactivas. La transferencia hacia el electrodo en las celdas microbianas se ve facilitada por mediadores tales como *tionina, viológen de metilo, azul de metilo, acido húmico, rojo neutro* y así sucesivamente (Dalaney y col., 1984; Lithgow y col., 1986). La mayoría de los mediadores disponibles son caros y tóxicos.

Los mediadores para celdas microbianas han sido diseñados en el instituto Coreano de Ciencia y Tecnología, por un equipo dirigido por Kim Byung Hong. Algunas CMB que no requieren de un mediador, utilizan bacterias electrónicamente activas para transferir electrones al electrodo, donde los electrones son llevados directamente de las enzimas bacterianas al electrodo.

Entre las bacterias electrónicamente activas encontramos por ejemplo *Shewanella putrefaciens* (Kim y col., 1999a), *Aeromonas hydrophila* (Cuong y col., 2003). Algunas bacterias que tienen pili en su membrana externa, son capaces de transferir su producción de electrones mediante los pili. Los pili son estructuras en formas de pelo, más cortas y finas que los flagelos que se encuentran en la superficie de muchas bacterias. Los pili corresponden a la membrana citoplasmática a través de los poros de la pared celular y la cápsula que asoman al exterior. *Pilus* suele referir a los pelos ligeramente más largos que se utilizan en la conjugación bacteriana para transferir material genético. Algunas bacterias usan los pili para el movimiento.

Estudios realizados recientemente han dado a conocer la presencia de estos pili o nanocables que algunos microorganismos electrógenos poseen. Las bacterias poseedoras de estos nanocables son por ejemplo la *Geobacter sulfurreducens*, *Shewanella oneidensis, Synechocystis* que es una

cianobacteria fototrópica, *Pelotomaculum therrmopropionicum* que es un microorganismo fermentados termofilico (Gorby y col., 2006).

Como se mencionó las bacterias del genero *Shewanella* son capaces de generar mediadores liberando quinionas solubles que pueden acarrear electrones de la superficie celular, aunque se encuentre a una distancia considerable. Es conocido que la bacteria Shewanella tiene la capacidad de transferir electrones a metales localizados a más de 50 µm de la superficie de la celda, (Lovely, 2008).

Las bacterias del genero *shewanella* pertenecen al grupo de las Proteobacterias, que son microorganismos acuáticos con una amplia gama de distribución en el mundo. Este grupo diverso de bacterias anaerobias se encuentra en ecosistemas de agua dulce y marinos (Kim y col., 2002a). Son diversos fisiológicamente por lo que sus aplicaciones biotecnológicas son variantes tanto para la generación de energía, como para bioremediación de compuestos clorados, radioactivos y demás contaminantes ambientales.

Los mediadores para CMB han sido desarrollados recientemente y debido a esto son factores que afectan el funcionamiento óptimo de las CMB, tal como a las bacterias que se utilizan en el sistema, el tipo de membranas y las condiciones del sistema, como puede ser la temperatura y particularmente pueden no ser bien entendidos. Las bacterias en los mediadores tienen comúnmente enzimas redox electrónicamente activas, tales como los citocromos en su membrana externa que pueden transferir electrones a materiales externos (Min y col., 2005).

En el caso de los microorganismos que no son capaces de producir mediadores por sus propios medios y son incapaces de transportar los electrones de forma eficiente a los electrodos derivados del metabolismo central de la celda, requieren de la adición de los mediadores exógenos que sean los encargados de transporta hacia el ánodo los electrones generados.

Entre las características que se esperan en un compuesto que es utilizado como mediador para que sea considerado como eficiente se tiene que (Bullen y col., 2006):

i) Que no sea citotóxico.

ii) Perfiles aceptables de absorción, adsorción y resorción al organismo, electrodo y otras superficies de la CMB, de manera que permanezca en la solución y aprovechable para el proceso.

iii) Un potencial distinto del potencial del organismo para que le sea más fácil la transferencia de electrones mientras se tiene un potencial electroquímico alto en la celda.

iv) Con un alto coeficiente de difusión en el electrolito y en la membrana celular.

v) Que tenga la capacidad para soportar múltiples ciclos redox.

vi) Una rápida transferencia de electrones del organismo al electrodo.

Distintas de las desventajas para el uso de los mediadores, como agentes externos para facilitar que los electrones sean transportados, una de ellas es que existe el hecho de que los compuestos que se utilizan por lo general son tóxicos para los seres vivos. Se debe tomar en cuenta y evitar utilizarlos en procesos de producción de electricidad en lugares que se exponga el medio ambiente, como por ejemplo en sedimentos acuáticos, o en plantas de tratamiento de aguas residuales.

La generación de electricidad ocurre, cuando los microorganismos consumen un sustrato tal como azúcar en condiciones aerobias que producen dióxido de carbono y agua. Sin embargo, cuando el

oxígeno no está presente producen dióxido de carbono, protones y electrones, como se describe a continuación en la siguiente ecuación química (Bennetto, 1990):

$$C_{12}H_{22}O_{11} + 13H_2O \rightarrow 12CO_2 + 48H + + 48e^{-1}$$

Las CMB que utilizan mediadores inorgánicos para aprovechar la cadena de transporte de electrones y utilizar los electrones que se producen. El mediador cruza las membranas lipídicas celulares externas y la pared de plasma; entonces comienzan a liberar electrones de la cadena de transporte que normalmente se recoge por oxígeno u otros mediadores. El mediador reducido ahora sale de la celda cargada con electrones que transporta a un electrodo en el que los deposita, lo que se convierte en el ánodo electro generador o electrodo con carga negativa.

La liberación de los electrones significa que el mediador retorna a su estado oxidado original, y queda dispuesto para repetir el proceso. Es importante tener en cuenta que esto sólo puede ocurrir bajo condiciones anaerobias, si el oxígeno está presente entonces se recogerán todos los electrones ya que tiene una electronegatividad mayor que el mediador.

En una operación de celda microbiana de biocombustible, el ánodo es el aceptor terminal de electrones reconocido por las bacterias en la cámara anódica. Por lo tanto, la actividad microbiana es fuertemente dependiente de la potencial redox del ánodo. De hecho, recientemente se ha publicado que una curva de Michaelis- Menten se obtuvo entre el potencial anódico y la potencia de salida de la CMB. Un potencial anódico crítico da como resultado una potencia de salida máxima en la CMB (Cheng y col., 2009). Un número de mediadores se han sugerido para su uso en células de combustible microbianas. Estos incluyen el rojo natural, azul de metileno, tonina o resorfuin (Bennetto y col., 1983).

Este es el principio detrás de la generación de un flujo de electrones a partir de la mayoría de los microorganismos.

El mediador y microorganismo, en este caso la levadura, se mezclan entre sí en una solución a la que se añade un sustrato adecuado, tal como la glucosa. Esta mezcla se coloca en una cámara sellada para detener la entrada de oxígeno, forzando así al microorganismo a utilizar la respiración anaerobia. Se coloca un electrodo en la solución que va a actuar como ánodo tal como se describe anteriormente.

En la segunda cámara de la CMB es otra solución y otro electrodo. Este electrodo, llamado cátodo está cargado positivamente y es el final de la cadena de transporte de electrones, sólo que ahora es externo a la célula biológica. La solución es un agente oxidante que recoge los electrones en el cátodo. Al igual que con la cadena de electrones en la célula de levadura, esto podría ser un número de moléculas tales como oxígeno. Sin embargo, esto no es particularmente práctico ya que requeriría grandes volúmenes de gas circulante. Una opción más conveniente es utilizar una solución de un agente oxidante sólido.

La conexión de los dos electrodos es un cable u otro camino conductor de electricidad que puede incluir algún dispositivo de accionamiento eléctrico tal como una bombilla y completando el circuito y la conexión de las dos cámaras es un puente de sal o membrana de intercambio iónico, para las celdas de doble cámara. Esta última característica permite a los protones producidos, pasar desde la cámara de ánodo a la cámara de cátodo (Rabaey y Verstraete., 2005).

El mediador reducido lleva electrones de la celda hacia el electrodo. Aquí el mediador se oxida como depósito de los electrones. Estos luego fluyen a través del cable al segundo electrodo, que actúa como un conducto de electrones. A partir de aquí pasan a ser un material oxidante.

2.1.6 Biopelícula en la CMB

La biopelícula se define como un conjunto de bacterias asociadas a la superficie del ánodo, esto no quiere decir que todos los microorganismos que se encuentran ahí interactúen con este, pero es posible que interactúen con otros microorganismos que integren la biopelícula. La cantidad de microorganismos distintos que se pueden asociar con un sistema de CMB en los electrodos es muy variada.

De los microorganismos que se pueden encontrar en la biopelícula tenemos por ejemplo *Brevibacilhus sp.* El cual resulta ser unos de los más abundantes en las colonias de bacterias (Pham y col., 2001). Las bacterias más importantes en el momento de producir corriente eléctrica son *Firmicutes* (Park y col., 2001), *Cidobacteria* (Bond y Lovely, 2005), *Proteobacteria* (Chaudhuri & Lovely, 2003) (Rabaey y col., 2004). Algunas cepas de levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* (Walker y Walker, 2006) y *Hansenula anómala* (Prasad y col., 2007). La generación de electricidad se da en diferentes niveles, por una diversidad de procesos directores e indirectos en la que los organismos interactúan con el ánodo.

2.1.7 Eficiencia coulómbica

La eficiencia coulómbica es el patrón más común para determinar la eficiencia de las celdas microbianas de biocombustible. Éste patrón se describe como el número de coulombus generados en la producción de corriente eléctrica, a diferencia del número máximo que en teoría se recuperan durante la generación en el sustrato orgánico de la CMB. Es muy importante tener conocimiento de que los microorganismos encargados de llevar a cabo el proceso oxidación del sustrato juegan un papel determinante, por el cual los electrones son producidos, y así determinar la eficiencia coulómbica (Freguia y col., 2008). El proceso es posible debido a que las distintas vías del metabolismo son utilizadas por los microorganismos y los elementos utilizados por estos mismos, es entonces que se hace viable la transferencia de electrones conducidos hacia el ánodo.

Teóricamente para obtener de un sustrato orgánico, el sustrato debe oxidarse por completo, para obtener la mayor cantidad de corriente eléctrica y que los electrones se transfieran satisfactoriamente al electrodo. Al quedar sustrato sin oxidar, la energía se pierde en el sustrato que no se oxido. Algunos estudios que se realizados con *Shewanella oneidensis* en donde el sustrato no se oxido por completo en la CMB y que por tanto ocurrió una fuga de electrones en forma remanentes obtuvieron una eficiencia coulómbica de alrededor de 56% (Lanthier y col., 2008).

Los estudios en donde los microorganismo fueron aptos para oxidar por completo el sustrato a bióxido de carbón, arrogaron como resultado que la eficiencia coulómbica fue mayor.

Algunos de los microorganismos competentes para una oxidación eficaz en donde el sustrato orgánico es oxidado completamente son: oxidando glucosa la bacteria *Rhofoferax ferrireducens* obtuvo un 83% de eficiencia coulómbica (Chaudhuri y Lovley., 2003). Utilizando como inoculo

acetato al final de la oxidación la bacteria *Geothris fermentans* logro obtener una eficiencia de 94 % (Bond y Lovley., 2005), la familia de bacterias que obtuvo alrededor del 100% con la oxidación de acetato fueron las *Geobacter*, sin embargo solo obtuvieron el 83% de eficiencia coulombica con la oxidación de benzoato como sustrato (Bond y lovley., 2003). Es claro entonces que las eficiencias coulumbicas varían dependiendo del tipo de inoculo que se utilizan, en las aguas residuales se ha llegado a obtener una eficiencia coulómbica entre el 60% y el 89% (Rabaey y col., 2003).

Gracias a los estudios que se han realizado se sabe que cualquier compuesto orgánico degradable por bacterias es propenso a generar electones (Pant y col., 2009). Algunos de los compuestos incluyen almidones (Liu y col., 2009), celulosas (Ren y col., 2008), acetatos (Bond y Lovley, 2003), glucosa (Kim y col., 2009), aguas residuales (Liu y Logan., 2004), lixiviados (Gálvez y col., 2009), algunos compuestos del petróleo (Morris y Jin., 2008), residuos orgánicos industriales (Patil y col., 2009), entre otros compuestos. A partir de sustratos como la glucosa o ácido acético se puede obtener aproximadamente un voltaje entre 0.3 volts y 0.5 volts (Logan, 2009).

Otros métodos para obtener la eficiencia de las de celdas microbianas de biocombustible constan, en la conversión de materia orgánica en energía. En donde se incluye la eficiencia de captura energética, eficiencia de voltaje, eficiencia de masa y la eficiencia energética durante el proceso (Rittmann y col., 2008a).

2.2 Componentes de las CMB

Tomando en cuenta la estructura básica de una celda microbiana de biocombustible como en la Figura 2.3. Los componentes que debe contener son una cámara anódica y otra cámara catódica, las cuales deben estar separadas por una membrana de intercambio de protones. Al llevarse a cabo el proceso químico de oxidación de la materia orgánica para la generación de electricidad, los electrones se transfirieren al ánodo y posteriormente al cátodo por medio de un circuito externo para mantener un balance de las cargas. Los protones producidos atraviesan la membrana de intercambio para finamente formar agua debido a que los protones se unen con oxígeno (Logan y col., 2006).



Figura 2.3 Diseño básico de una CMB (Logan y col., 2006)

2.2.1 Materiales anódicos

Los materiales anódicos deben ser conductores, biocompatibles, y químicamente estables en el medio con lo que se alimente la cámara en donde este contenida. El acoplamiento metálico utilizado de dotar al ánodo de consistencia firme y no ser susceptible a la corrosión en el medio donde se contiene. Puede utilizarse acero inoxidable, los ánodos metálicos de acero inoxidable por lo regular están hechos en forma de malla, y no son corrosivos (Tanisho y col., 1989).

Se debe evitar el cobre debido a que la presencia de iones de cobre en la disolución conlleva como efecto la posible disolución de sí mismo y por ende ser toxico para las bacterias, además de que la reacción química producida enmascararía las reacciones de interés en el estudio de la CMB. (Liu y col., 2004).

El material más versátil para este electrodo es el carbón, se encuentra disponible como placas compactas de grafito, barras, o gránulos, como material fibroso ya sea tela, paño, fieltro, papel, fibras o espumas, y también como carbón vidrioso. Se pueden observar diferentes formas de carbón en la Figura 2.4.



Figura 2.4 Diferentes formas de carbón utilizadas en las CMB. A. esponja o espuma de carbón. B. Manta, tela o paño de carbón activo (carbon-cloth). C. Fieltro de carbón. D. Papel de carbón. E. Placas o barras de grafito. F. Carbón vítreo (RVC) en diferentes geometrías (Logan y col., 2006)

Los materiales más adecuados para los electrodos del ánodo son las placas de grafito ya que pueden llegar a ser relativamente baratas, además de manipularse fácilmente lo que ayuda a ser moldeables, y además tienen un área superficial definida. Si se requiere de un área superficial mayor se pueden utilizar electrodos de fieltro de grafito puesto que pueden llegar alcanzar áreas suficientemente grandes. También se han utilizado electrodos con fibras, papel, espuma, y paños de carbón.

Ahora bien la mayor área superficial ha sido cubierta usando un material compacto como el carbón vítreo reticulado que se encuentran disponibles en diversos tamaños de poro, o usando capas de gránulos de carbón empaquetados, y granos de carbón. Materiales como polianilinas han mostrado que mejoran la generación de corriente estos materiales son llamados electrocatalíticos y ayudan a la oxidación de los metabolitos microbianos. Para incrementar la potencia se debe dirigir el flujo de agua a través del material anódico, ya que el flujo hacia el ánodo se ha utilizado satisfactoriamente en reactores en los que se recurre al uso de mediadores exógenos (Sell y col., 1989).

2.2.2 Materiales catódicos

El oxígeno es el aceptor de electrones más recomendado para las CMB ya que posee un elevado potencial de oxidación, su disponibilidad, bajo costo, la sostenibilidad y la no acumulación de productos contaminantes (siendo el agua el único producto final que se forma). La elección de los materiales catódicos determina de manera considerable el rendimiento y bastante diverso dependiendo del tipo de celdas.

El uso de cátodos en los que el único catalizador es el carbono presenta baja movilidad en la reducción de oxígeno, y solo se deben utilizar en los sistemas en los que la movilidad anódica se baja también, de forma que la lentitud de la reducción de oxígeno en el cátodo no limite el sistema. Para que la tasa de reducción de oxígeno aumente es aconsejable utilizar platino como catalizador (Cheng y col., 2006a). Sabiendo que el platino es un material costo y para reducir el costo de las CMB la carga de platino en el cátodo puede reducirse hasta niveles del orden 0.1 mg/cm² (Reimers y col., 2001).

Otra alternativa funcional para utilizar como cátodos para la CMB han sido propuestos catalizadores libres de metales nobles que utilizan hierro pirolizado, ftalocianina, porfirinas, espinelas, piroclorinas o perskitas. Y debido a su alto desempeño. El ferrocianuro de potasio K₂(Fe[CN]₆)], utilizado en diferentes experimentos de celdas microbianas de biocombustible como aceptor de electrones ha mostrado un bajo sobrepotencial, teniendo como desventaja en su empleo la oxidación inconclusa del oxígeno, trayendo como consecuencia que el catolito se tenga que estar reemplazando constantemente. El rendimiento en un largo plazo en la celda se puede ver afectado por la difusión del ferrocianuro hacia la MIP y dentro de la cámara anódica (Park y Zeikus., 2003)

2.2.3 Materiales de la membrana de intercambio de protones

En la mayoría de los diseños de las CMB se utiliza la separación de los compartimentos del ánodo y el cátodo por una membrana de intercambio protónico (PEM). El uso más habitual es de membranas poliméricas como el Nafion. Una alternativa al uso de Nafion se puede suplantar con una membrana Ultrex CMI – 7000, que tiene una mejor relación coste – eficiencia que el Nafion. Cuando una PEM se utiliza en una CMB es importante tener en cuenta que puede ser permeable a productos químicos utilizados, como pueden ser oxígeno, iones, o de la materia orgánica utilizada como sustrato. La investigación de las membranas está en crecimiento paulatino para evaluar el desempeño y estabilidad a largo plazo en las CMB (Rozendal y col., 2006).

2.3 Importancia del pH y del electrolito

Sin una solución que funcione como amortiguador en la CMB, existiría una diferencia de pH entre la cámara anódica y la cámara catódica, aunque teóricamente no habría cambio de pH cuando la velocidad de reacción de protones, electrones y oxígeno en el cátodo es igual a la velocidad de producción de protones en el ánodo. La membrana de intercambio de protones causa una barrera en el transporte a través de la membrana de difusión de protones, y el transporte de protones a través de la membrana que su velocidad de producción en el ánodo y su velocidad de consumo en la cámara catódica en la etapa inicial de la operación de la CMB, así trae una diferencia de pH.

Sin embargo, la diferencia de pH incrementa la fuerza motriz de la difusión de protones de la cámara anódica a la cámara catódica y finalmente forma un equilibrio dinámico (Falcón y col., 2009). Algunos de los protones generados con la biodegradación sustratos orgánicos transferidos a la cámara catódica pueden reaccionar con el oxígeno disuelto mientras algunos protones son acumulados en la cámara anódica cuando ellos no se transfieren a través de la membrana de intercambio de protones o de puentes salinos rápidamente a la cámara catódica. Gil y col (2003), detectaron una diferencia de pH de 4.1 después de 5 horas de operación con un pH inicial de 7 sin utilizar amortiguadores. Con la adición de un amortiguador de fosfatos (pH 7), el cambio de pH en el ánodo y cátodo fue de menor de 0.5 unidades y la salida de corriente se incrementó alrededor de 1 a 2 veces.

Sin embargo, el proceso microbiano anódico prefiere un pH neutral y las actividades microbianas disminuyen en un pH más alto o más bajo, por lo que el empleo de amortiguadores es fundamental (He y col., 2008).

2.4 Instrumentos de medición en la CMB

Se utilizan instrumentos convencionales utilizados para mediciones químicas en sistemas microbianos; tales como los que determinan concentraciones de sustrato y productos de la degradación. Los experimentos en la CMB requieren también instrumentación para electroquímica especializada (Lui y Logan, 2004). Para la medición de voltaje y potenciales de los electrodos se utilizan medidores de voltaje comunes, como pueden ser multímetros y sistemas programables, que recolectan los datos conectados en paralelo a circuito.

Los voltajes de la celda se determinan directamente de la diferencia de voltaje entre el ánodo y el cátodo. Los potenciales de electrodo se pueden determinar solamente contra el electrodo de referencia que debe ser incluido en el compartimento del electrodo (Bard y Faulkner, 2001). La corriente se puede calcular de diferentes maneras, ya sea utilizando la ley de Ohm (I=_{Ecelda}/R), otra forma es utilizando un circuito en el que se incluye una resistencia variable y se mide la corriente variando la resistencia hasta obtener una corriente máxima. También es factible utilizar un potenciostato que regularmente tiene una configuración de tres electrodos, el de trabajo (ánodo o cátodo), el de referencia y el electrodo contador (Bard y Faulkner, 2001).

2.5 Determinación del rendimiento de una CMB

El rendimiento de una celda microbiana de biocombustible puede evaluarse de distintas formas, pero principalmente a través de la potencia de salida y la eficiencia coulómbica.

2.5.1 Potencia

La potencia para una celda se calcula de la siguiente manera:

P=IE_{celda}.....Ec 2.1

Normalmente el voltaje se mide a través de una resistencia externa fija (R_{ext}), mientras que la corriente se calcula a partir de la ley de Ohm ($I = \frac{E_{cel}}{R_{ext}}$). Entonces tenemos que:

$$P = \frac{E_{celda}^2}{R_{ext}}$$
....Ec 2.2

Esta es la medida directa de la potencia eléctrica.

2.5.2 Densidad de potencia

La potencia regularmente se normaliza con algunas características del reactor con el fin de comparar la potencia de salida de diferentes sistemas. La potencia de salida suele ser normalizada con respecto a la superficie del ánodo, debido a que es el lugar en donde se produce la reacción (Habermann y Pmmer, 1991; Rabaey y col., 2004).

La densidad de potencia

$$(P_{\acute{a}nodo} = \frac{W}{m^2}) \dots \text{Ec } 2.3$$

se calcula utilizando la superficie del ánodo (Aánodo) como:

$$P_{\text{ánodo}=\frac{E_{celda}^2}{(A_{\text{ánodo}})(R_{ext})}}\dots \text{Ec } 2.4$$

En los casos donde se calcula el tamaño y costo de los reactores como una comparación útil con respecto a las celdas de combustible la potencia se normaliza con el volumen del reactor:

$$P_{v} = \frac{E_{celda}^{2}}{VR_{ext}}$$
....Ec 2.5

2.5.3 Sólidos Totales

Los sólidos totales (ST) es la suma de los sólidos suspendidos totales, sales disueltas y materia orgánica; solidos volátiles totales (STV) que es la cantidad de materia orgánica en esta se toman en cuenta también aquellos inorgánicos incluidos, capaz de volatilizarse por el efecto de la calcinación a 550 +/- 50 °C en un tiempo de 15 a 20 minutos. La pérdida de peso por ignición son los STV; APHA (1998), sólidos fijos totales (STF) estos son el residuo de los sólidos totales, disueltos o suspendidos, después de realizar una muestra a sequedad durante un tiempo determinado a 550 °C, es importante mencionar que no es posible la distinción total de la materia orgánica y la inorgánica debido a que algunas sales minerales se descomponen o se volatilizan APHA (2005);

2.5.4 Eficiencia coulómbica

La eficiencia coulómbica, se define como la relación entre el número de coulombs realmente transferidos al ánodo desde el sustrato y el número máximo posible de coulombs transferidos si todo el sustrato fuera capaz de producir corriente, es decir:

$$E_Q = \frac{\text{coulombs totales producidos}}{\text{coulombs totales teóricos producidos}}$$
......Ec 2.6

La eficiencia coulómbica ε_c se define como la cantidad de materia orgánica que se recupera en electricidad (Alzate, 2008)

$$\varepsilon_C = \frac{Cp}{Cti} * 100.... Ec 2.7$$

Donde ε_c es la eficiencia coulómbica. C_p es el total de coulumbs calculados integrados en un intervalo de tiempo y C_{ti} es la cantidad de coulumbs adheridos en el sustrato.

Para determinar C_{ti}

$$C_{ti} = \frac{F * b * S * V}{M} \dots \text{Ec } 2.8$$

Dónde

F es la constante de Faraday (98485 $\frac{C}{mol}$)

B es el número de moles de electrones producidos por el mol de sustrato

S es la concentración de sustrato $(\frac{g}{L})$

V es el volumen de líquido

M es el peso molecular del sustrato

Esta eficiencia se puede ver disminuida por la utilización de receptores alternos de bacterias, ya sea por los presentes en el medio o por aquellos que se difunden a través de la membrana de intercambio de portones, como puede ser el oxígeno. Otros factores capaces de reducir la eficiencia coulómbica son los procesos competitivos y el crecimiento bacteriano.

2.5.5 Eficiencia energética

Uno importante factor a evaluar es el desempeño de una CMB para la generación de electricidad, el sistema se debe evaluar en términos de la recuperación de energía. La eficiencia energética, ε_E , se calcula como el cociente de la potencia producida por la celda en un intervalo de tiempo t entre el calor de la combustión del sustrato orgánico añadido en ese tiempo, de la siguiente manera:

$$\varepsilon_E = \frac{\int_0^t E_{celda} I dt}{\Delta H m_{a\tilde{n}adido}}$$
....Ec 2.9

Donde

 Δ H: es el calor de combustión (J mol⁻¹)

Mañadido: es la cantidad de moles de sustrato añadido

Esto suele calcularse sólo par afluentes de composición conocida como las aguas residuales sintéticas, ya que no se conoce el Δ H de las aguas residuales actuales. La eficiencia energética en las CMB varia del 2 al 50% o más cuando se utilizan sustratos que son bastante biodegradables (Liu y Logan, 2004).

Capítulo III. Metodología

3.1 Materiales y equipo de la CMB

Para la construcción de las celdas microbianas de biocombustible, como se ha visto se pueden utilizar un gran número de materiales y equipo, para éste caso de CMB Figura 3.1, se utilizaron materiales que fuera de fácil adquisición y que en sus características no alteraran el funcionamiento y comportamiento de la celda.



Figura 3.1 Celda Utilizada en el experimento

En la construcción de la celda se tomó en cuenta; que los materiales usados no afectaran el crecimiento de la de las levaduras dentro de la celda, fueran resistentes, se adquieran fácilmente y fáciles de manipular.

Se construyeron dos celdas una con un volumen de 125 ml y otra con uno de 40 ml, la celda estuvo constituida por un cilindro horizontal hecho de polimetilmetacrilato mejor conocido como plexiglass; algunas de las características que poseen el polimetilmetacrilato, es que es un material transparente, rígido, de alta resistencia a la intemperie, y a temperaturas debajo de los 160°C, entre otras características.

Para la celda con volumen de 125 ml se utilizó un cilindro que tiene una longitud de 5.9 cm, un diámetro externo de 6.2 cm, un diámetro interno de 5 cm, y un espesor de 0.6 cm. Las placas de los extremos tenía una dimensión de 8 x 8 cm y 6 x 6 cm, respectivamente con un espesor 0.5 cm. El cilindro a su vez tenía una placa en cada uno de los extremos, en la cual una de las placas se le realizo un orificio con un diámetro de 5.3 cm para permitir que el ánodo pudiera airearse (Figura 3.2).
La celda de 40 ml, contó con un cilindro con una longitud de 5.9 cm, un diámetro externo de 3.7 cm, un diámetro interno de 2.8 cm y un espesor de 0.5 cm (Figura 3.2), mientras que una de las placas de los extremos poseía un orificio con un diámetro de 2.7 cm.



Figura 3.2. Materiales utilizados en la CMB. A. Cilindros de polimetilmetacrilato. B. Placas de polimetilmetacrilato

Otros materiales utilizados en la construcción de la celda fueron: los empaques de hule EPDM, para que entre el cilindro y la placa no hubiera fuga, y los tornillos que se utilizaron para unir las placas, los empaques y el cilindro y así formar el cuerpo de la celda Figura 3.3.



Figura.3.3 Materiales de construcción para la CMB experimental

El material utilizado para los electrodos, es decir el ánodo y cátodo fue papel grafito para ambas celdas (Figura 3.5.). Las características que presenta el papel grafito se muestran en la Tabla 3.1.

Características fisicoquímicas y otras del grafito				
En papel Flexible				
Papel Blando				
Impenetrable	Gases y líquidos			
Máxima presión de trabajo	140 bar			
Temperatura mínima	-200 °C			
Temperatura máxima	450 °C			
Pureza	98.2 %			
En atmosfera inerte	3,000 °C			
En vapor	500°C			
En aire	450°C			
Utilizable desde temperaturas	s criogénicas hasta 3,000°C			
Resistente a corrosión químio	са			
Libre de asbesto				
Inofensivo para la salud				
Estable a lo largo del tiempo				
Gran anisotropía				
Muy buena resistencia al choque térmico				
Fácil de manipular				
Resistente al choque térmico				
Resistencia a la tensión 15000 PSI				
Densidad	1-1.7 g/cm3			
Conductor de electricidad				
Inerte en ácidos				

El equipo utilizado para poder llevar efectuar algunas de las mediciones como la cantidad de materia orgánica por medio de los sólidos volátiles totales y el pH se muestra a continuación.

Potenciómetro

Para la determinación del pH se hizo uso de un potenciómetro HACH sensION pH 31. El pH-metro es un sensor utilizado en el método electroquímico para medir el pH de una disolución. (Figura 3.4)



Figura 3.4 Fotografía del pH-metro HACH sensION pH 31 utilizado en el experimento

Parrilla de calentamiento y agitación

Para la puesta en marcha de la CMB se usó una parrilla de calentamiento y agitación marca Termolyne Nuova Stir Plate (Figura 3.5), de la que solo se ocupó la modalidad de agitación.



Figura 3.5 Fotografía de calentamiento y agitación Termolyne Nuova Stir Plate utilizada en el experimento

Bomba de aire

Se utilizó también una bomba de aire Hagen Elite 802 (Figura 3.6), la cual se encargó de suministrar aire dentro de la celda en algunas de las pruebas que se realizaron para el crecimiento de la levadura



Figura 3.6 Fotografía de la bomba aireadora marca Elite 802 utilizada en el experimento

Estufa

Se utilizó una estufa marca Yamato modelo ADP200C (Figura 3.7), para el secado de las muestras que eran tomadas de la celda, también para poner en peso constante las capsulas que fueron usadas para la muestra.



Figura 3.7 Fotografía de la estufa utilizada en el experimento

27

Mufla

Se ocupó una mufla de la marca Thermo scientific (Figura 3.8) para determinas la materia orgánica e inorgánica presentes en las muestras tomadas de la celda microbiana de biocombustible. Una mufla es un tipo de horno que puede alcanzar temperaturas muy altas para cumplir con los diferentes procesos que requieren este tipo de característica dentro de los laboratorios.



Figura 3.8 Fotografía de la mufla utilizada en el experimento

Balanza analítica

La balanza analítica de la marca OHAUS (Figura 3.9), para determinar el peso de las muestras durante el experimento.



Figura 3.9 Fotografía de la balanza analítica utilizada en el experimento

3.1.1 Metodología en el proceso de laboratorio

Para poner en marcha la celda se usó un cultivo mixto como sustrato; la celda fue alimentada en forma intermitentemente experimentando con diferentes concentraciones de levadura o bien diferentes áreas de transferencia.

La proliferación de la levadura se dio por efecto de la fermentación, es necesario cumplir con múltiples condiciones biológicas y fisicoquímicos. En primer lugar es necesario tener un medio de cultivo con las condiciones adecuadas para que las levaduras puedan desarrollarse. Las levaduras orgánicas requieren para su crecimiento de una fuente de energía y de fuentes de materia. En la mayoría de las fermentaciones la fuente de energía y de materia es la misma, puesto que la mayoría utilizan la azúcar para ambas funciones, pero es necesario que la fuente de materia contenga todos los elementos constitutivos de la masa celular en proporciones requeridas para la composición interna de los organismos.

En la Tabla 3.2 se muestran algunos compuestos orgánicos de los principales elementos de la masa celular y su porcentaje en peso seco. La composición del medio de cultivo debe considerar todos los elementos de la Tabla 3.3 así como otros necesarios para la producción de metabolitos especiales (Quintero, 1990).

Elemento	Compuestos orgánicos	% del peso seco
Н	Compuestos orgánicos y agua	8
0	Compuestos orgánicos y agua	20
С	Compuestos orgánicos	50
Ν	Proteínas, ácidos nucleicos y coenzimas	14
S	Proteínas y algunas coenzimas	1
Ρ	Ácidos nucleicos, fosfolípidos y coenzimas	3
Mg	Cofactor de reacciones enzimáticas	0.5
Mn	Cofactor de algunas enzimas	0.1
Ca	Cofactor de enzimas(proteasas)	0.5
Fe	Citocromos, proteínas y cofactor de enzimas	0.2
Со	Constituyentes de vitamina B1 2	0.03
Zn Cu Mo	Constituyente de ciertas enzimas	

Tabla 3.2 Compuestos orgánicos de los principales elementos constituyentes de las celdas microbianas (Quintero, 1990)

Para alimentar las CMB se utilizó un medio de cultivo compuesto por extracto de levadura, peptona, y dextrosa, con una relación de 10, 20, 20 g respectivamente por cada litro de agua destilada. Dentro

de la celda se dispuso de un agitador magnético, para obtener una concentración homogénea en todo el sistema.

Extracto de levadura

El extracto de levadura (Figura 3.10) se utiliza en medios de cultivo microbiológicos, porque es un excelente estimulador para el crecimiento de bacterias. También se obtiene como producto residual de la elaboración de la cerveza.

Saccharomyces cerevisiae. Las células de esta levadura pueden ser redondas, ovaladas o alargadas e incluso llegan a formar seudomicelio. Se produce por gemación multipolar o por formación de ascosporas que pueden seguir a la conjugación, o bien pueden ser desarrolladas a partir de células diploides cuando estas representan la fase vegetativa. La especie tipo *S. cerevisiae* se utiliza en diversas industrias alimenticias para fermentación del pan, como levaduras superficiales, en la fermentación de cerveza tipo inglés, de vinos o en la producción de alcohol, glicerol e invertasa. Así levaduras superficiales son fermentadoras muy activas y se desarrollan rápidamente a 20 °C. Las levaduras profundas, que son aquellas ausentes de agrupamientos, su proliferación más lenta y la formación de CO_2 permiten que se depositen en el fondo, efectúan mejor fermentación a temperaturas bajas de 10 a 15 °C (Frazier y Westhoff, 1978).

Peptona

La Peptona (Figura 3.10), son hidrolizados proteínicos derivados de caseína, carne y vegetales, que en su presentación final ofrecen una fuente efectiva de nitrógeno y carbono en otros nutrientes. En formulaciones y manejo adecuado estimulan y promueven el crecimiento bacteriano.

Dextrosa

La dextrosa (Figura 3.10) que es una forma de la glucosa, es un azúcar simple natural que se encuentra en grandes cantidades en frutas, miel y varios alimentos ricos de hidratos de carbono. La fórmula química de la dextrosa es $C_6H_{12}O_6$. Es utilizada como fuente de energía para el crecimiento de las bacterias si es utilizada de manera adecuada.



Figura 3.10 Compuesto utilizado en la CMB. A. Peptona. B. Extracto de levadura. C. Dextrosa

La relación adecuada para cada volumen de las celdas se muestra en la Tabla 3.3. Se realizaron 6 pruebas en las celdas con una relación de volumen de sustrato aproximadamente para cada volumen de celda las cuales se muestran en la Tabla 3.3.

Experimento	Extracto de levadura (g)	Peptona (g)	Dextrosa (g)
1	0.4294	0.8717	0.8693
2	0.3491	0.7109	0.7182
3	1.2471	2.6	2.6263
4	0.4	0.8022	0.8009
5	0.4020	0.8423	0.8750
6	1.2564	2.6105	2.8726

Tabla 3.3 Relación de alimentación de la CMB

Para determinar la materia orgánica e inorgánica indirectamente presente en la celda se determinó tomando en cuenta el método APHA y la norma mexicana NMX-AA-034-SCFI-2001. Análisis de agua - Determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, Residuales y residuales tratadas Figura 3.11.



Figura 3.11 Método para determinación de solidos STV, ST, STF (APHA, 1992; DGN, 2001; DINAMA, 1996)

Para determinar los sólidos se hizo uso de las siguientes ecuaciones.

$$ST = \frac{(P_2 - P_1)}{V} * 1000 \dots Ec 3.1$$

$$STF = \frac{(P_3 - P_1)}{V} * 1000 \dots Ec 3.2$$

 $STV = ST - STF \dots Ec 3.3$

Dónde: ST= Solidos totales en g/L STF= Solidos totales fijos en g/L STV= Solidos totales volátiles en g/L p1= Peso constante en g p2= Peso de la cápsula más el residuo del secado a 103-105 °C en g p3= Peso de la cápsula más el residuo del secado a 103-105 °C en g v= Volumen de la muestra ml

3.2 Construcción para las mediciones eléctricas

Para llevar el registro de las mediciones eléctricas y poder medir la cantidad de energía producida por la CMB se utilizó el equipo que se muestra a continuación.

Tarjeta de desarrollo Arduino UNO

La tarjeta de desarrollo arduino uno se ocupó como un voltímetro capaz de guardar un registro de la diferencia de potencial que se generó en cada uno de los experimentos de la celda microbiana de biocombustible (Figura 3.12).



Figura 3.12 Fotografía de la tarjeta de desarrollo Arduino utilizada en el experimento

Arduino Uno permite tasas de transferencia rápidas. No necesita drivers para Linux o Mac y tiene la capacidad de ser detectado como un teclado, ratón, joystic. Arduino es una placa con un microcontrolador de la marca Atmel ATMEGA 328 y con toda la circuitería de soporte, que incluye, reguladores de tensión, un puerto USB conectado a un módulo adaptador USB-Serie que permite programar el microcontrolador desde cualquier PC de manera cómoda y también hacer pruebas de comunicación con el propio chip. El Atmega328 es un circuito integrado de alto rendimiento que está basado un microcontrolador RISC, combinando 32 KB ISP flash una memoria con la capacidad de

leer mientras escribe, 1 KB de memoria EEPROM, 2 KB de SRAM, 23 líneas de E/S de propósito general, 32 registros de proceso general, tres temporizadores flexibles/contadores con modo de comparación, interrupciones internas y externas, programador de modo USART, una interface serial orientada a byte de 2 cables, SPI puerto serial, 6-canales 10-bit Conversor A/D, "watchdog timer" programable con oscilador interno, y cinco modos de ahorro de energía seleccionables por software. Por medio de la ejecución de instrucciones en un solo ciclo de reloj, el dispositivo alcanza una respuesta de 1 MIPS, balanceando consumo de energía y velocidad de proceso.

Un arduino dispone de 14 terminales que pueden configurarse como entrada o salida y a los que puede conectarse cualquier dispositivo que sea capaz de transmitir o recibir señales digitales de 0 y 5 V. También dispone de entradas y salidas analógicas.

Las terminales de entrada/salida digitales son los que trabajan con valores binarios: "1" corresponde a 5V y "0" corresponde a 0V. Cada terminal puede proporcionar o recibir como máximo de corriente 40 mA. Se puede ampliar 6 terminales digitales más utilizando los pines de las entradas analógicas como digitales. Mediante las entradas analógicas podemos obtener datos de sensores en forma de variaciones continuas de un voltaje.

Las terminales de entrada analógica son 6 que utiliza un convertidor analógico/digital de 10 bits. Por defecto miden de 0V hasta 5V. La resolución de los 10 bits del convertidor A/D quiere decir que en nuestros programas ante un valor de 0V en la entrada analógica vamos a leer un valor de 0 y si en la entrada analógica tenemos 5V vamos a leer un valor de 1023, que corresponde a 2 elevado a 10.

Las terminales de la tarjeta de desarrollo Arduino 3, 5, 6, 9, 10 y 11 proporcionan una señal PWM (Pulse Width Modulation), señal modulada por anchura de pulso. Una señal PWM es una señal periódica cuadrada con una amplitud de 5V a la cual podemos controlar su ciclo de trabajo para tener a la salida una cuasi continua (señal analógica) entre 0V y 5V. Esta variación de la señal continua es el resultado del valor medio de la señal periódica al variar su ciclo de trabajo.

La tarjeta de desarrollo Arduino tiene maneras de comunicarse con otros dispositivos siendo la más utilizada la comunicación serie a través del conector USB. La conexión entre la tarjeta de desarrollo Arduino y el PC utilizando el puerto USB crea una conexión virtual serie asociada a un puerto de comunicaciones del PC que nos permite cargar los programas con el IDE. Tambien podemos utilizar esta conexión serie para recibir y enviar datos a los programas que se ejecutan en la tarjeta de desarrollo Arduino por medio del monitor serie del entorno de programación.

Arduino es una plataforma física de código abierto basada en una simple tarjeta de entrada-salida y un entorno de desarrollo que implementa el lenguaje Processing/Wiring. Se puede utilizar para desarrollar objetos autónomos interactivos o puede ser conectado a software de la computadora.

Se generó un programa para el microcontrolador arduino uno, el cual fuera capaz de hacer un registro por cierto periodo de tiempo, del voltaje generado por la celda microbiana de biocombustible el programa que se realizó es el siguiente:

Programa en arduino

```
*/
```

int sensorPin = A0; // select the input pin for the potentiometer

int ledPin = 13; // select the pin for the LED

int sensorValue = 0; // variable to store the value coming from the sensor

void setup()

{

// declare the ledPin as an OUTPUT:

pinMode(ledPin, OUTPUT);

Serial.begin(9600);

}

```
void loop() {
```

// read the value from the sensor:

```
sensorValue = analogRead(sensorPin);
```

// turn the ledPin on

Serial.println(sensorValue);

delay(1000);

```
}
```

El programa que funciona como un voltímetro, utiliza los sensores A0 y GND del microcontrolador arduino UNO en los que se conecta la celda para medir el voltaje generado. Al declarar los pines utilizados también se debe hacer referencia al número de puerto que utilizara el arduino para tener un control con la computadora con un programa externo (Tiny). También se utiliza un delay dentro del programa, es el responsable de llevar un control del tiempo en donde se puede variar para que el microcontrolador haga las mediciones requeridas en un periodo de tiempo determinado. La referencia utilizada es de 1 segundo igual a 1000, al conectar los sensores a las terminales para medir la celda es necesario ejecutar el programa Tiny; que es el responsable de acumular los datos medidos para posteriormente convertir el tiempo real en la mediciones registradas.

Multímetro

Para verificar que las lecturas del dispositivo arduino fueran las correctas se uso un multímetro marca REDOX 535 380 (Figura 3.13), además también fue utilizado para hacer un registro de la corriente que genero uno de los experimentos, usándolo como amperímetro.



Figura 3.13 Fotografía del multímetro utilizado en el experimento

3.2.1 Amplificador de instrumentación AD620

El amplificador de instrumentación es un dispositivo creado a partir de un conjunto de amplificadores operacionales. Está diseñado para tener una alta impedancia de entrada y un alto rechazo en modo común (Datasheet., 2003-2011), la configuración del amplificador se muestra en la Figura 3.14.



Figura 3.14 Configuración del amplificador de instrumentación AD620 (Datasheet., 2003-2011)

El amplificador de instrumentación es un amplificador diferencial, cuya ganancia puede establecerse de forma muy precisa y que ha sido optimizado para que opere de acuerdo a sus propias especificaciones aún en un entorno hostil. Es un elemento esencial de los sistemas de medida, en los que se ensambla como un bloque funcional que ofrece características funcionales propias e independientes de los restantes elementos con los que interacciona.

Estos circuitos amplifican la diferencia entre dos señales de entrada y rechazan cualquier señal que sea común a ambas señales. Estos circuitos se utilizan principalmente para amplificar señales diferenciales muy pequeñas en muchos procesos industriales, medición, adquisición de datos y aplicaciones médicas.

Ante las exigencias de medida que imponen los sensores, estos circuitos deben cumplir unos requisitos generales:

- Ganancia: seleccionable, estable y lineal.
- Entrada diferencial: con CMMR alto.
- Error despreciable debido a las corrientes y tensiones de offset.
- Impedancia de entrada alta.
- Impedancia de salida baja.

La configuración más utilizada como amplificador de instrumentación, está constituida por tres amplificadores operacionales y se suele dividir en dos etapas principales: Etapa pre-amplificación y Etapa diferencial (Figura 3.15).





Para el análisis del Circuito de Instrumentación, se va a utilizar el circuito que se muestra en la Figura 3.16.



Figura 3.16 Configuración para el análisis del amplificador de instrumentación

En la etapa de pre-amplificación aumenta la impedancia de entrada del conjunto gracias a la configuración no inversora. Suele utilizarse operacionales con entradas basadas en FET, para conseguir corrientes bajas de polarización.

Suponiendo que los amplificadores operacionales son ideales, se obtiene que

$$V_{1-}=V_{1+}=V_1$$

 $V_{2-}=V_{2+}=V_2$

Teniendo en cuenta eso, se obtienen las ecuaciones de las corrientes

$$I_{1=\frac{V_{1}-V_{A}}{R_{1}}}$$

$$I_{2=\frac{V_{2}-V_{1}}{R_{G}}}$$

$$I_{3=\frac{V_{B}-V_{2}}{R_{1}}}$$

El amplificador operacional no extrae ninguna corriente y aplicando las leyes de Kirchoff para corrientes

37

 $|_1 = |_2 = |_3$

De manera que

$$\frac{V_1 - V_A}{R_1} = \frac{V_2 - V_1}{R_G} = \frac{V_B - V_2}{R_1}$$

Resolviendo la ecuación para conseguir V_A y V_B en función de V_1 y V_2

$$V_A = \frac{R_1}{R_G} (V_2 - V_1) + V_1$$
$$V_B = \frac{R_1}{R_G} (V_2 - V_1) + V_2$$

Dicho de otra manera

$$V_A = -\frac{R_1}{R_G}V_2 + V_1 * (1 + \frac{R_1}{R_G})$$

$$V_B = -\frac{R_1}{R_G} V_1 + V_2 * (1 + \frac{R_1}{R_G})$$

Restando ambas se obtiene

$$V_B - V_A = -\frac{R_1}{R_G}V_1 + V_2\left(1 + \frac{R_1}{R_G}\right) + \frac{R_1}{R_G}V_2 - V_1\left(1 + \frac{R_1}{R_G}\right)$$

$$V_B - V_A = \frac{R_1}{R_G} (V_2 - V_1) + \left(1 + \frac{R_1}{R_G}\right) (V_2 + V_1)$$
$$V_B - V_A = (V_2 - V_1) \left(\frac{R_1}{R_G} + 1 + \frac{R_1}{R_G}\right)$$
$$V_B - V_A = (V_2 - V_1) \left(1 + \frac{2R_1}{R_G}\right)$$

El paréntesis representa la ganancia diferencial de la etapa pre-amplificadora y variando R_G , se puede variar la ganancia.

En la etapa diferencial se analiza esta parte del circuito y aplicando leyes de Kirchoff se obtienen las expresiones de las siguientes corrientes

38

$$I_{4=\frac{V_{A}-V_{3-}}{R_{2}}}$$

$$I_{5=\frac{V_{B}-V_{3+}}{R_{2}}}$$

$$I_{6=\frac{V_{3-}-V_{Out}}{R_{3}}}$$

$$I_{7=\frac{V_{3+}-0}{R_{3}}}$$

Suponiendo como ideal al amplificador operacional se obtiene

$$V_{3-} = V_{3+}$$

Sustituyendo V_{3-} por V_{3+} en las ecuaciones anteriores

$$I_{4} = \frac{V_A - V_{3+}}{R_2}$$

$$I_{5} = \frac{V_B - V_{3+}}{R_2}$$

$$I_{6} = \frac{V_{3+} - V_{Out}}{R_3}$$

$$I_{7} = \frac{V_{3+} - 0}{R_3}$$

Puesto que el amplificador operacional no extrae corriente y aplicando las leyes de Kirchoff para las corrientes

$$I_{B3}=0$$

 $I_{4}=I_{6}$
 $I_{5}=I_{7}$

Entonces las ecuaciones se pueden escribir de la forma siguiente

$$\frac{V_A - V_{3+}}{R_2} = \frac{V_{3+} - V_{Out}}{R_3}$$
$$\frac{V_B - V_{3+}}{R_2} = \frac{V_{3+}}{R_3}$$

39

Al despejar Vout de la primera expresión y V3+ de la segunda

$$V_{Out} = V_{3+} - \frac{R_3}{R_2} (V_A - V_{3+}) = -\frac{R_3}{R_2} V_A - V_{3+} (1 + \frac{R_3}{R_2})$$
$$V_{3+} = \frac{V_B}{1 + \frac{R_3}{R_2}}$$

Sustituyendo V₃₊ en la expresión de V_{ou}t

$$V_{out} = -\frac{R_3}{R_2} V_A + \frac{V_B}{1 + \frac{R_3}{R_2}} (1 + \frac{R_3}{R_2})$$
$$V_{out} = -\frac{R_3}{R_2} V_A + V_B (\frac{\frac{R_2 + R_3}{R_2}}{\frac{R_2 + R_3}{R_3}})$$
$$V_{out} = \frac{R_3}{R_2} (V_A - V_B)$$

Por último, se sustituye la expresión (V_B-V_A) conseguida en la etapa pre-amplificadora en la ecuación anterior

$$V_{Out} = \frac{R_3}{R_2} (V_2 - V_1) (1 + \frac{2R_1}{R_G})$$

Con RG se puede ajustar la ganancia. Aun así, hay que tener en cuenta que el ajuste no es lineal, ya que RG está en el denominador.

En éste caso para en la CMB como los voltajes registrados por el microcontrolador eran muy pequeños se utilizó el amplificador de instrumentación AD620 para poder tener una mejor lectura de las mediciones al utilizarlo con una ganancia de 100. Con este amplificador de instrumentación también se reduce el ruido o las interferencias en la señal de salida. Se eligió un amplificador de instrumentación ya que es un amplificador diferencial tensión-tensión cuya ganancia puede establecerse de forma muy precisa y que ha sido optimizado para que opere de acuerdo a su propia especificación aun en un entorno hostil. Es un elemento esencial de los sistemas de medida, en los que se ensambla como un bloque funcional que ofrece características funcionales propias e independientes de los restantes elementos con los que interacciona.

3.2.2 Diagrama del circuito y configuración del amplificador de instrumentación

El circuito consta de las terminales de entrada 2 y 3 donde va la señal de salida de la celda y la señal de salida es en la terminal 6, la ganancia se controla con una resistencia variable y puede ir de 1 a

40

1000, y se calcula de acuerdo a la siguiente formula $G = 1 + (49.4 \frac{k}{RG})$.El diagrama del circuito es el que se muestra en la Figura 3.17. El circuito contenía un amplificador de instrumentación AD62, una resistencia variable k Ω de y una resistencia de 100 Ω . Se montó sobre una caja de madera ala que se le adaptaron las terminales correspondientes para que la conexión de la celda, el microcontrolador y el multímetro, se facilitara, quedando a modo de un dispositivo (Figura 3.18).



Figura 3.17 Diagrama del circuito para el amplificador de instrumentación



Figura 3.18 Fotografía del dispositivo amplificador que se utilizó en el experimento. A. Interior de dispositivo. B. Terminales para la conexión. C. Dispositivo en uso.

3.3 Diagramas del circuito utilizado con la CMB

En la siguiente Figura 3.19 se muestra un diagrama que representa la CMB utilizando únicamente el multímetro como instrumento de medición del voltaje generado por la celda.



Figura 3.19 Diagrama de la CMB y multímetro para medir el voltaje generado

Como se necesitaba tener un registro del voltaje generado se utilizó la tarjeta arduino uno, con un programa que midiera el voltaje y que pidiera llevar acabo el registro guardando los datos en la computadora. Se utilizó el multímetro para verificar que los datos del microcontrolador fueran correctos y poder tener una medición al instante. Por tanto el diagrama final queda de la siguiente forma mostrado en la Figura 3.20.





Finalmente se utilizó el amplificador de instrumentación, porque en algunos experimentos el voltaje generado era muy bajo y no era perceptible para el microcontrolador. De tal modo que el circuito de medición de voltaje quedo como se muestra en la Figura 3.21.



Figura 3.21 Diagrama del circuito final de la CMB utilizando el amplificador de instrumentación

Finamente siguiendo las conexiones de los diagramas la conexión en el experimento quedo como se muestra en la figura 3.22



Figura 3.22 Fotografías de los circuitos de medición. A. Celda con microcontrolador. B. Celda con microcontrolador y dispositivo amplificador.

Para la medición de la corriente se utilizó una resistencia variable de precisión de 1 k Ω , obteniendo así la corriente máxima generada por la CMB al variar la resistencia y utilizar un valor muy pequeño. Para esta medición solo se utilizó el multímetro quedando el circuito como se muestra en el siguiente diagrama (Figura 3.23).



Figura 3.23 Circuito para la medición de corriente generada en la CMB

Capítulo IV. Resultados

4.1 Evaluación de la CMB

Para evaluar la CMB se realizaron pruebas fisicoquímicas y la adaptación del sistema eléctricoelectrónico para la parte de medir algunos parámetros. Los análisis fisicoquímicos consisten en la medición de sólidos totales (ST), sólidos totales volátiles (STV), sólidos totales fijos y pH. En la tabla 4.1 se muestran los resultados de los experimentos realizados gráficamente en donde se midieron los sólidos totales (ST) que es la suma de los sólidos suspendidos totales, sales disueltas y materia orgánica, solidos volátiles totales (STV) que representan la cantidad de materia orgánica capaz de volatilizarse por el efecto de la calcinación a 550 +/- 50 °C. La pérdida de peso por ignición son los STV; fijos totales (STF) que son el residuo de los sólidos totales, disueltos o suspendidos, después de realizar una muestra a sequedad durante un tiempo determinado a 550 °C; las mediciones eléctricas que se realizaron a la CMB fueron unidades de volts (V) generados y la corriente (A) durante la puesta en marcha de la CMB.

Se realizó una prueba preliminar para conocer el comportamiento de la levadura en cápsulas de porcelana, a peso constante se simuló un sustrato para determinar la materia orgánica que está presente en la CMB. Para el sustrato caracterizado se utilizó una solución con extracto de levadura, peptona y dextrosa en 10 ml de agua destilada. Con este sustrato se midió la materia orgánica e inorgánica presente para el tiempo cero del experimento.

La concentración en el compuesto fue la siguiente: Extracto de levadura 0.1062 g/L, peptona 0.2480 g/L, dextrosa 0.2589 g/L.

	ST (g/ml)	SFT (g/ml)	SVT (g/ml)
Medición 1	0.0573	0.0022	0.0551
Medición 2	0.0524	0.0034	0.049

Tabla 4.1 Concentración de los sólidos en el sustrato

Durante la operación de la CMB, en la puesta en marcha los experimentos fueron realizados con ciertas variaciones en sus parámetros de operación tales como: Volumen de la celda, aireación, área de la celda, concentración de levadura y sustrato. Los instrumentos utilizados para el registro en la generación de diferencial de potencial o voltaje, fue el microcontrolador Arduino UNO. En algunas mediciones fue utilizado un amplificador de instrumentación para amplificar la señal de salida del voltaje generado. Y por último, un multímetro digital para corroborar los datos registrados por el microcontrolador.

En la Tabla 4.2 se describe cada experimento con sus respectivas variaciones así como la máxima cantidad de diferencia de potencial producida en cada una de las celdas utilizadas, en un tiempo determinado.

Tabla 4.2 Arreglo de las condiciones iniciales de los experimentos de la CMB

Experimento					
	Levadura (g)	-	0.0646	Volumen (ml)	40
	Sustrato (g)	Extracto de levadura	0.4294	Arduino	Se utilizó
		Peptona	0 8717	Amplificador	No se utilizó
1		Dextrosa	0.8693	Concentración (g/ml)	0.0015
-	Área de		6.2882	Voltaje máx.	0.0098
	transferencia (cm ²)			Aire	No se utilizó
	Tiomno		0 h m	Multimotro	
	Lempo		8 Nrs	Volumon (ml)	NO SE UTILIZO
	Sustrato (g)	Extracto de levadura	1 2/71	Arduino	Se utilizó
	oustrato (g)	Peptona	26	Amplificador	No se utilizó
2		Dextrosa	2.6263	Concentración (g/ml)	0.0030
۷.	Área de		6.2882	Voltaje máx.	0.1417
	transferencia (cm ²)			Aire	Se utilizó
	Tiomano		44 6 40	Multím etre	
	Lempo		11 nrs	Volumon (ml)	INO SE UTILIZO
	Sustrato (g)	Extracto de levadura	1 2274	Arduino	Se utilizó
	ousitato (g)	Pentona	2 5472	Concentración (g/ml)	0.0
2		Dextrosa	2.4578	Amplificador	No se utilizó
3	Área de		20.0864	Voltaje máx.	
	transferencia (cm ²)			Aire	No se utilizó
	Tiomno	17	7 hrs E6 min	Multímotro	No oo utilizó
	Levadura (a)	11		Volumen (ml)	NO SE ULIIZO
	Levadura (g)		0.0	Volumen (m)	40
	Sustrato (g)	Extracto de levadura	0.4	Arduino	Se utilizó
		Peptona	0.8009	Amplificador	No se utilizó
4		Dextrosa	0.8022	Concentración (g/ml)	0.0
	Área de		6.2882	Voltaje máx.	0.0049
	transferencia (cm²)			Aire	No se utilizó
	Tiempo	49	hrs 39 min	Multímetro	Se utilizó
	nompo				CO dtili20
	Levadura (g)		0.1246	Volumen (ml)	40
	Sustrato (g)	Extracto de levadura	0.4020	Arduino	Se utilizó
		Peptona	0.8750	Amplificador	Se utilizó
	,	Dextrosa	0.8423	Concentración (g/ml)	0.0031
5	Area de		6.2882	Voltaje máx.	5(0.05)
	transferencia (cm ⁻)			Aire	No se utilizó
	Tiempo	47	7 hrs 42 min	Multímetro	Se utilizó
	Levadura (q)		0.1775	Volumen (ml)	125
	Sustrato (g)	Extracto de levadura	1.2564	Arduino	Se utilizó
	,	Peptona	2.8726	Amplificador	Se utilizó
6	,	Dextrosa	2.6105	Concentración (g/ml)	0.0014
	Area de		20.0864	Voltaje máx.	3.8416(0.03841)
	transferencia (cm ²))		Aire	No se utilizó
	Tiempo	154	4 hrs 46 min	Multímetro	Se utilizó

4.1.1 Evaluación de parámetros de operación de la CMB

En las Figuras 4.1 y... se muestra la diferencia de potencial generado en un determinado tiempo para cada experimento. Así mismo se muestra la cantidad de materia orgánica e inorgánica que hubo en cada celda, lo cual es importante para determinar la producción de energía respecto al crecimiento de la levadura utilizada.

En el primer experimento se puede observar que la celda empezó a generar energía después de 1 hora con treinta minutos de su arranque alcanzando un máximo al generando 0.0097 volts aproximadamente después de 1 hora con cincuenta minutos de operación, diez minutos más tarde disminuyo hasta 0.0048 volts, manteniéndose así durante treinta minutos para después alcanzar otro máximo después de 2 horas con treinta minutos de su puesta en marcha y diez minutos más tarde disminuir a 0.0048 volts. La celda dejó de generar energía después de cuatro horas con veinte minutos (Figura 4.1).



Figura 4.1 Diferencia de potencial generada durante el tiempo de operación de la celda, en el experimento 1

En la Figura 4.2 se observa los resultados obtenidos de sólidos totales (ST), fijos (STF) y volátiles (STV), durante el experimento 1. Se tomaron cuatro muestras al inicio de la operación de la celda, la segunda al inicio que se empezó a generar energía, la tercera al alcanzar uno de los máximos y la última antes de finalizar la generación de energía.

47



Figura 4.2 Comportamiento de la generación de energía con respecto al tiempo en el experimento 1

Para los sólidos totales volátiles (STV) y la generación de diferencia de potencial que se produjo durante este experimento, la Figura 4.3 muestra como la materia orgánica disminuyó al alcanzar el punto máximo de voltaje generado.



Figura 4.3 Comportamiento de la generación de energía con respecto a la concentración SVT en el experimento 1

Para el experimento 2. Se hizo uso de la aireación donde empezó a generar una diferencia de voltaje después de 1 hora con veinte minutos, se alcanzó un máximo 0.14 volts después de 2 horas con treinta minutos para terminar de generar energía después de 8 horas con veinte minutos (Figura 4.4).



Figura 4.4 Comportamiento de la generación de energía con respecto al tiempo durante el experimento 2

La Figura 4.5 muestra la materia orgánica e inorgánica presente en el experimento 2 del que se tomaron seis muestras durante el tiempo que estuvo en operación la celda (Figura 4.5).





En la Figura 4.6 se muestran la cantidad de voltaje generado durante las 9 horas con cincuenta minutos que estuvo en funcionamiento la celda. Se puede observar cómo se alcanza el mayor voltaje durante el funcionamiento de la celda debido a que la materia orgánica presente esta en menor cantidad, mientras que al dejar de producir energía la materia orgánica presente fue en aumento. Esto puede deducirse que probablemente cuando se produjo más energía la levadura presente estaba formando la biopelícula en el ánodo.



Figura 4.6 Comportamiento de la generación de energía y materia orgánica presente durante el experimento 2

En la Figura 4.7 se muestra la energía producida en la celda sin agregar levadura en un volumen de 125 ml durante 17 horas con treinta y tres minutos. Donde alcanzó un máximo de 0.0489 volts, sin embargo se cree que la producción de energía se acabó debido a que probablemente, el sustrato utilizado pudo estar contaminado y bien los electrodos no se encontraban totalmente limpios.

En la Figura 4.8 se observa el experimento 4 que fue realizado solo con el sustrato. Aunque a diferencia del caso anterior, se realizó en un volumen de 40 ml, durante 49 horas con 39 minutos, y como al contrario del realizado en 125 ml, se obtuvo un aumento en los primeros 10 minutos de funcionamiento de la celda, sin embargo con forme avanzo el tiempo dejo de producir energía y se mantuvo así hasta que se detuvo el experimento.

Otro dato que observo es que la producción de energía se produjo enseguida que se pusieron en marcha las celdas. Por lo que puede deberse a algún ruido de interferencia durante la marcha de la celda.



Figura 4.7 Comportamiento de la generación de energía producida con respecto al tiempo experimento 3



Figura 4.8 Comportamiento de la generación de energía producida con respeto al tiempo experimento 4

En la Figura 4.9 se observan los sólidos totales, fijos y volátiles presentes durante la puesta en marcha del experimento 4, que a diferencia de los anteriores fueron disminuyendo en el tiempo que estuvo en marcha la celda.



Figura 4.9 Comportamiento de los sólidos presentes en la celda con respecto al tiempo durante el experimento 4

La Figura 4.10 nos muestra el voltaje generado en la celda con solo sustrato, y la cantidad de materia orgánica que se presentó en la celda. Se observa que el máximo voltaje se generó al inicio de la puesta en marcha de la celda, tanto en la producción de energía y la materia orgánica presente. Sin embargo de las cuatro muestras que se tomaron fueron descendiendo hasta llego 36.8 g/L (Figura 4.10).

Para monitorear la energía producida en el experimento número cuatro se hizo uso al igual que en los demás del dispositivo arduino y de un multímetro. Esto fue para determinar la cantidad que registro el arduino era aproximadamente la misma. Sin embargo, se puede observar que al igual que en el arduino registró una producción de energía durante el inicio de la celda, y conforme avanzó el tiempo, se presentaron datos negativos en las lecturas del multímetro. Esto fue probablemente a que la composición del de los electrodos cambió por el contacto con el sustrato de la celda, y fue disminuyendo con forme disminuía la cantidad de materia orgánica presente en la celda (Figura 4.11).



Figura 4.10 Comportamiento de la generación de energía con respecto a la concentración de sólidos volátiles presentes en el experimento 4



Figura 4.11 Comportamiento de la generación de energía con el arduino y multímetro, con respecto al tiempo y los sólidos presentes durante el experimento 4

Para el experimento número 5 se hizo uso de un amplificador de señales AD620, en la Figura 4.12 se puede observar el aumento de la señal de la energía producida se observa una producción de energía del inicio de la puesta en marcha hasta después de 12 horas con 42 minutos. Sin embargo, después de esto, se mantuvo constante sin producir energía hasta que después de 30 horas con tres minutos se presentó un máximo alcanzando los 5 volts con el amplificador manteniendo una producción de energía durante 42 minutos. Para después, se volvió a mantenerse sin producción por 3 horas con 39 minutos y volver a generar alcanzando un máximo de 0.5522volts.



Figura 4.12 Comportamiento de la generación de energía utilizando un amplificador AD620 durante el experimento 5

Para determinar la materia orgánica e inorgánica en el experimento 5 se tomaron cinco muestras durante la operación de la celda. Se puede observar en la Figura 4.13 se tomó primera muestra al inicio de la puesta en marcha de la celda, donde prácticamente la materia presente en la celda era orgánica en su totalidad. Sin embargo, la mayor cantidad de sólidos se presentaron en la segunda de las muestras tomadas, aunque más tarde en la tercera muestra se observara una disminución de sólidos, y posterior, mente las muestras volvieron a aumentar los sólidos como se puede observar en la Figura 4.13.



Figura 4.13 Comportamiento de la concentración de los sólidos totales, fijos y volátiles, durante el experimento 5

En la Figura 4.14 se puede observar el voltaje producido así como los sólidos volátiles totales durante la operación de la celda observándose un aumento de los sólidos con forme se produjo energía y descendieron cuando la celda dejo de producir.



Figura 4.14 Comportamiento de energía producida con respecto a la concentración de sólidos volátiles totales, durante el experimento 5

Para poner en marcha el quinto experimento se hizo uso de un amplificador como ya había sido mencionado, el cual se le adaptó el multímetro para poder ver que las lecturas que registraba el arduino eran las correctas. En la Figura 4.15 se observa como las lecturas de amplificador y el multímetro no se presentaron de igual forma. Sin embargo cuando en la celda se produjo energía, el multímetro al igual que el arduino registró producción. Cuando la celda dejo de generar energía el multímetro dejó de marcar, aunque a diferencia del arduino con forme pasó el tiempo, los valores del multímetro fueron descendiendo (Figura 4.15).





Para el experimento seis se hizo uso del amplificador de señal, en la figura 4.16 podemos observar la producción de energía registrada la celda con el arduino durante las 146 horas 54 minutos que estuvo en funcionamiento la celda, observando un máximo de 3.8416 volts generados, para después descender hasta cero y volver a producir energía 3.0205 volts disminuyendo y enseguida volver a crecer hasta 3.6510 volts como se puede observar en la Figura 4.16.



Figura 4.16 Comportamiento de la energía registrada con el arduino con respecto al tiempo en el experimento 6

Para determinar los sólidos presentes en el último experimento se tomaron once muestras durante toda la operación de la celda. En la Figura 4.17 se observa como en las primeras horas de operación se aumentó la cantidad de sólidos y más adelante disminuyeron.



Figura 4.17 Comportamiento de la concentración de sólidos en la celda durante el experimento 6

En la Figura 4.18 se observa que hay menos materia orgánica cuando se produce la mayor cantidad de voltaje, mientras que cuando la producción de energía es menor la cantidad de materia orgánica aumenta.



Figura 4.18 Comportamiento de la producción de energía con respecto a la concentración de los sólidos en la celda durante el experimento 6

Por último, en la Figura 4.19 se muestra la energía registrada con el arduino y la registrada con el multímetro durante el tiempo de operación de la celda.



Figura 4.19 Comportamiento de la producción de energía medida por el arduino y multímetro en la celda durante el experimento 6

En la Tabla 4.3 se muestra los resultados obtenidos en cada uno de los experimentos realizados.

Experimento	Concentración de levadura (g/L)	Concentración de sustrato (g/L)	Área de transferencia (cm²)	Tiempo de operación [Horas]	Máximo Voltaje generado [V]	Tiempo en producir Voltaje
1	0.0015	54.3	6.2884	8	0.0098	1:30 [Horas]
2	0.0030	51.8	20.0864	11	0.1417	1:20 [Horas]
3	0.0	49.9	20.0864	17:56	0.04889	1 [minuto]
4	0.0	50.1	6.2884	49:39	0.0049	1 [minuto]
5	0.0031	53.0	6.2884	47:42	0.05	1 [minuto]
6	0.0014	53.9	20.0864	154:46	0.0384	35 [minutos]

Tabla 4.3 Resultados de los experimentos realizados
4.1.2 Corriente generada

La corriente generada se midió en el experimento 6 (Figura 4.20), ya que fue el último experimento, y dio un tiempo más extenso de operación, aunque un voltaje más reducido con respecto al experimento 5, hay que tomar en cuenta que esto fue posible alimentándolo con menos de la mitad de concentración levadura. Tomar la corriente con respecto al tiempo durante la operación de la celda es importante para poder obtener la eficiencia coulómbica. La ecuación para la eficiencia coulómbica se define como la cantidad de materia orgánica que se recupera en electricidad (Alzate, 2008).



Figura 4.20 Producción de corriente eléctrica en el experimento número

Es importante mencionar la corriente generada en el experimento numero 2 ya que este experimento fue el que arrojó un voltaje mayor a los demás, pero también hay que mencionar que fue el único en que se utilizó aire por medio de una bomba, no fue medido con ningún dispositivo pero se puede obtener por medio de la ley de Ohm ya que se conoce el valor de la resistencia del circuito que es de R=0.03 k Ω y el voltaje máximo generado de V=0.1417 V por lo tanto la corriente para este experimento fue de l=4.723 m

4.2 Evaluación energética

4.2.1 Potencia

Tomando en cuenta que la corriente se midió en el experimento número 6, se obtuvo la potencia con la siguiente formula

P=IE_{Celda}.....Ec. 4.1

Dónde:

I es la corriente máxima generada por la CMB I=1.3 mA

E_{Celda} es el máximo voltaje generado E=0.0384 V

P es la potencia obtenida utilizando directamente las mediciones realizadas de la corriente en el experimento P=49.92 µW

Este resultado es con la corriente pico.

También se obtuvo con la siguiente ecuación por medio de la resistencia del circuito

 $P=E^{2}_{celda}/R_{ext} \dots Ec \ 4.2$

Dónde:

 E^{2}_{celda} es el voltaje generado al cuadrado E^{2} =1.47456 V

R es la resistencia mínima externa del circuito R=0.03 kΩ

P es la potencia obtenida tomando en cuenta el valor de la resistencia externa P= 49.152 µW

Para el experimento 2 donde se utilizó aire introducido por medio de una bomba, con el mismo valor de resistencia y un voltaje máximo de 0,1417 V se obtuvo la siguiente potencia, utilizando la ecuación anterior tenemos que:

P=0.6692 mW

4.2.2 Densidad de potencia

Para obtener la densidad de potencia normalizada se utilizó:

 $P_{\text{ánodo}} = E^2_{\text{celda}} / (A_{\text{ánodo}} * R_{\text{ext}})....Ec 4.3$

Dónde:

 E_{celda}^2 es el voltaje generado al cuadrado E^2 =1.47456 mV

 $A_{\text{ánodo}}$ es la superficie del ánodo en m² $A_{\text{ánodo}}$ =20.08x10⁻³ m²

61

 R_{ext} es la resistencia del circuito R=0.03 k Ω

 P_{anodo} es la densidad de potencia normalizada P_{anodo} = 2.447X10⁻³ W/m²

Para el experimento 2 con un voltaje máximo de 0.1417 V y la resistencia de 0.03 kΩ utilizando la Ec 4.3 se obtuvo que la potencia en el ánodo fue de $P_{anodo} = 33.331 \times 10^{-3} \text{ W/m}^2$

Para obtener la potencia se normalizada con el volumen del reactor

 $P_V = E^2_{celda} / VR_{ext}$ Ec 4.4

 E^{2}_{celda} es el voltaje generado al cuadrado E^{2} =1.47456 mV

V es el volumen de la celda en m³ V=125x10⁻⁶ m³

 R_{ext} es la resistencia del circuito R=0.03 k Ω

 P_V es la potencia normalizada con el volumen del reactor P_V = 393.216x10⁻³ W/m³

Para el experimento 2 con un voltaje máximo de 0.1417 V y la resistencia de 0.03 k Ω utilizando la Ec 4.3 se obtuvo que la potencia normalizada con el volumen del reactor es de **P**_V= **5.354 W/m**³

4.2.3 Eficiencia coulómbica

La eficiencia coulómbica determina la eficiencia de corriente, está definida como la cantidad de materia orgánica que se recupera en electricidad. Al medir la corriente se facilita determinar la eficiencia coulómbica y fue medida en el experimento 6. La ecuación que se utilizó nos indica la cantidad de materia orgánica recuperada en electricidad.

$$\varepsilon_C = \frac{c_P}{c_{ti}} * 100 \dots \text{Ec } 4.5$$

 C_p se determinó del área bajo la curva de la corriente eléctrica (Figura 4.20) en un intervalo de los 5,400 segundos hasta 288,900 segundos, que es el tiempo de operación de la celda. C_P = 8,390.7

C_{ti se} se obtiene de la siguiente formula:

$$C_{ti} = \frac{F * b * S * V}{M} \quad \dots \quad \text{Ec 4.6}$$

Dónde F es la constante de Faraday

b es el número de moles de electrones producidos por mol de sustrato

S es la concentración del sustrato g/L

M es el peso molecular del sustrato

C_{ti}=34305.6

 $\epsilon_{C} = \frac{8390.7}{34305.6} * 100 = 24.5\%$

4.3 Eficiencia energética

Un importante factor que se debe tomar en cuenta es el desempeño de CMB para la generación de electricidad. El sistema se debe evaluar en términos de la recuperación de energía tomando en cuenta la eficiencia coulómbica ya que esta es la cantidad de materia orgánica que se transforma en energía.

Para esta CMB se obtuvo que la eficiencia energética es del 24.5%, utilizando como sustrato peptona, dextrosa y extractos de levadura, un cultivo de bacterias de Sacharomice Cerevacea y papel grafito como electrodo. Es importante mencionar que este valor depende del tipo de sustrato y cultivo de bacterias, además del tipo de electrodos que se utilice, es por ello que los resultados pueden variar en cuanto a las eficiencias. Por ejemplo con ácido acético, las bacterias presentes en aguas residuales y papel carbón como electrodos se pueden obtener eficiencias de 65% (Min y Logan, 2004) y de 63 a 78% con un cultivo de lodos activos y papel carbón como electrodo (Oh y col., 2004). Utilizando glucosas y un cultivo mixto de bacterias y de electrodo grafito plano se obtuvo una eficiencia del 89% (Rabey y col., 2003). Con lactato, un cultivo de Shewanella y carbón reticulado vítreo como electrodo se obtuvo una eficiencia del 2.4% (Ringeisen y col., 2006). Con ácido acétatico y Geobacter Metallireducens como cultivo, además de papel carbón en el electrodo se obtuvo una eficiencia de 19% (Min y col., 2005). Otro experimento que utilizó agua residual doméstica como sustrato y bacterias presentes en las aguas residuales con grafito de electrodo obtuvo una eficiencia del 2 a 12% (Liu y col., 2004). Por último, otro experimento utilizó únicamente peptona como sustrato, un cultivo de bacterias presentes en aguas residuales domésticas y papel carbón como electrodo obtuvo una eficiencia de 6% (Heilmann y Logan, 2006).

Para tener una mayor eficiencia Lovley (2008) ha propuesto que el flujo de electrones en un CMB puede incrementarse hasta 4 órdenes de magnitud si las bacterias transportaran electrones al ánodo a la misma velocidad que lo hace hacia su aceptor natural de electrones (Holzman, 2005).

4.4 Evaluación económica

Las celdas microbianas de biocombustible es una prometedora tecnología de generación de energía en corto plazo, aunque el análisis tanto práctico como en la literatura muestra que el desempeño de las CMB se ve limitado por diversos factores, mismos que evitan que sean comercializadas y que sigan siendo una tecnología en desarrollo. Algunos de los factores que restringen el desempeño de las CMB son la limitación existente en su resistencia interna derivada de la transferencia de protones y su pobre cinética de reducción de oxígeno al cátodo, el escalamiento del proceso no ha permitido diseñar una CMB a gran escala que permita generar un optima producción de electricidad, entre otras limitantes que se han reportado en diversos estudios.

Aunque la inversión de algunas CMB no es muy elevada, y se podría estar generando electricidad mientras se recicla cierto tipo de materia orgánica, aun no es conveniente su utilización como reemplazó de baterías u otras celdas comunes. Al menos en este celda que se evaluó, si bien genero electricidad no es la suficiente para ser útil, tendría que pensarse un arreglo de celdas y de

mayor tamaño, para ser usadas en iluminación led. Puesto que los leds consumen poca electricidad para su óptimo funcionamiento.

Por ejemplo con el experimento 2 donde se obtuvo una corriente mayor, recordando que utiliza aireación por medio de una bomba externa, tiene una corriente de I=4.723 mA escasamente suficiente para encender un led de tipo indicador, que necesita una corriente de 5 mA, pero para un led de alta luminosidad, que requiere una corriente de entre 20 mA y 35 mA se necesitaría un arreglo de 4 a 8 celdas de este tipo en paralelo, esto para un solo led con una celda exactamente de este tipo.

Para utilizar la celda de forma óptima con un lámpara de leds tendría que ser con un arreglo de celdas mayores y tratando de cambiar alguno o algunos de sus componentes como los electrodos. Porque si no la utilización no es rentable, aunque el costo de implementación no sea elevado.

4.5 Evaluación ambiental

La CMB es un método limpio y con la selección inteligente de una técnica óptima para la producción de energía puede ser eficiente. La ventaja de las CMB es que no solo son productoras de electricidad sino que también se pueden utilizar con otros fines de producción como hidrógeno, etanol, ácido acético, oxígeno, desalinizar el agua y tratamiento de aguas residuales.

La producción de bioelectricidad junto a otras tecnologías de producción de energía limpia de fuentes renovables se perfila como una gran alternativa para el proceso de transición de energía que se debe iniciar lo más pronto posible para evitar los efectos adversos de la crisis energética y el calentamiento global.

Capítulo V. Conclusiones

Las celdas microbianas de biocombustible tienen un potencial número de usos no solo son productoras de electricidad sino que también se pueden utilizar con otros fines de producción como hidrogeno, etanol, acetatos, oxigeno, desalinizar agua y para el tratamiento de aguas residuales. Son sistemas bioelectroquímicos que funcionan prácticamente con cualquier tipo de materia orgánica biodegradable, éstas oxidan la materia orgánica sobre el ánodo donde se alojan microorganismos, bióxido de carbono (CO2) y protones y dan como resultado la transferencia de electrones por un circuito externo al sistema hasta el cátodo, en el que se efectúa la reducción de ozono (O3). De este modo esta forma de generar energía es limpia y de forma conjunta permite dar una degradación de residuos.

En el experimento que se llevó a cabo se eligió un tipo específico de celda microbiana de biocombustible para construir operar y evaluar, éste experimento se realizó con dos celdas de una sola cámara, una de 40 ml y otra de 125 ml. Con un cultivo mixto como sustrato compuesto de extracto de levadura, peptona y dextrosa, alimentada con diferentes concentraciones de levadura Saccharomyces cerevisiae, y se utilizaron diferentes áreas de transferencia en las celdas para observar su comportamiento.

Para registrar la producción de electricidad se utilizó un microcontrolador arduino UNO, al que se le cargó un programa que fuera capaz de llevar un registro de la diferencia de potencial arrojado por la celda en determinados lapsos de tiempo. Se apoya por un multímetro digital para corroborar la medición, el multímetro también se utilizó para poder registrar la corriente que se produjo en la CMB, como el voltaje de salida en la CMB era muy pequeño se utilizó el amplificador de instrumentación AD620. Estos amplificadores de instrumentación se usan en sistemas o aparatos que trabajan con señales muy débiles; como en nuestro caso los voltajes registrados por el microcontrolador eran muy pequeños fue necesario para tener una mejor lectura de las mediciones al utilizarlo con una ganancia de 100. Con este amplificador de instrumentación también se redujo el ruido y las interferencias en la señal de salida que hayan podido estar presentes.

Evaluar la eficiencia de operación de la celda fue posible variando la cantidad de sustrato y la concentración de levadura en cada experimento. Fue notable como la producción de energía fue mayor en el experimento donde se utilizó aireación ya que tanto la corriente, como la diferencia de potencia fueron mayores, además que la producción de energía se dio en un lapso menor de tiempo que los otros experimentos.

En particular esta CMB, no es factible utilizarla como medio de producción de electricidad, a pesar de que se obtuvo una mayor eficiencia en comparación con otros experimentos que utilizaron lactatos o aguas residuales como sustrato y otro tipo de cultivo de bacterias. Aunque se lograra elevar el voltaje, la corriente que arroja es muy pequeña y sería necesario tener un arreglo de bastantes celdas para poder alimentar una luminaria led de alta luminosidad, para que su uso fuese sustentable.

Pero también es importante señalar que utilizando otro tipo de sustratos, cultivos de bacterias y materiales para los electrodos, además de celdas de doble cámara con membrana de intercambio de protones y el uso de mediadores externos las eficiencias podrán ser mucho mejores como en otros experimentos donde se alcanzó una eficiencia coulómbica del 89%, con glucosa como sustrato y un

cultivo mixto de bacterias. La generación de electricidad por medio de celdas microbianas de biocombustible representa una forma limpia y segura ya que no contamina y pueden emplearse para resolver ciertos problemas presentes en la actualidad por ejemplo en conjunto con procesos como el tratamiento de aguas residuales o la biorremediación.

En conclusión, la tecnología de las CMB está todavía en un proceso de desarrollo para para producir energía eléctrica a gran escala y de forma eficiente. La producción de bioelectricidad en conjunto con otras tecnologías y procesos de producción de energía limpia y sustentable de fuentes renovables se deben tomar como una importante o la más importante alternativa para el proceso de transición de energía que se debe realizar lo antes posible para evitar y contrarrestar los efectos desfavorables que la crisis energética y el calentamiento global han y seguirán desencadenando.

Referencias Bibliográficas

Adachi, Y., Yamamoto, K., Okada, T., Yoshida, H., Harada, A. y Mori, K. 2008. ATF6 is a transcription factor specializing in the regulation of quality control proteins in the endoplasmic reticulum. *Cell Struct. Funct*. 33:75–89.

Allen, R. y Bennetto, H. 1993. Microbal fuel cells: electricity production from carbohydrates, *Appl. Biochem. Biotechnol*. 39:27-40.

Alzate, L., Fuentes, C. Albares, Álvarez, A. y P. J. Sebastian. 2008. generación de electricidad a partir de una celda de combustible microbiana tipo PEM. INTERCIENCIA. 33 (7): 503-509.

APHA, 1992. Standard methods for the examinations of water and wastewater. 18 ed. American Public Health Association. Washington, DC, EE. UU.

APHA. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1998). 18 ed. APHA, AWWA, WEF. Pág. 1170. Washington, DC, EEUU.

APHA. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (2005). 21 ed. APHA, AWWA, WEF. Pág. 1150. Washington, DC, EEUU.

Aston, W. J., y Turner, A. P. F. 1984. Biosensors and Biofuel Cells. *Biotechnology and Genetic Engineering reviews*. 1:89-129.

Bard, J. y Faulkner, R. 2001. Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications, 2nd ed.; John Wiley & Sons: Nueva York, EEUU ; pp.116-128.

Benetton, X., Navarro, Á. y S. G and Carrera, F. C. 2010. Electrochemical evaluation of Ti/TiO2polyaniline anodes for microbial fuel cells using hypersaline microbial consortia for syntheticwastewater treatment. *Journal of New Materials for Electrochemical Systems*. 13:1-10.

Bennetto, H. P. 1990. Electricity Generation by Micro-organisms. *Biotechnology Education*. 1(4):163-168.

Bennetto, H. P., Stirling, J. L., Tanaka, K. y Vega C. A. 1983. Anodic Reaction in Microbial Fuel Cells. *Biotechnology and Bioengineering*. 25:559-568.

Bond, R. y Lovley, D. 2003. Electricity production by Geobacter sulfurreducens attached to electrodes. Appl. *Environ. Microbiol.* 69:1548–1555.

Bond, R. y Lovley, D. 2005. Evidence for Involvement of an Electron Shuttle in Electricity Generation by Geothrix fermentans. Appl. Environ. *Microbiol*. 71:2180–2189.

Bullen, R. A., Arnot, T. C., Lakeman, J. B. y Walsh, F. C. 2006. Biofuel cells and their development, *Biosensors and Bioelectronics*. 21(11):2015-2045.

Chae, K-J., Choi, M-J., Kim, K-Y., Ajayi, F. F., Chang, I-S. y Kim, I. S. 2009. A solar-powered microbial electrolysis cell with a platinum catalyst-free cathode to produce hydrogen. *Environ Sci Technol*. 43:9525–30.

Chaudhuri, S.K. and D.R.Lovely, 2003. Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells. *Nature Biotechnology*, 21:20-42.

Cheng, S., Liu, H. y Logan, B. 2006a. Power densities using different cathode catalysts (Pt and CoTMPP) and polymer binders (Nafion and PTFE) in single chamber microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol*. 40:364-369.

Cheng, S., Xing, D., Call, D. F. y Logan B. E. 2009. Direct biological conversion of electrical current into methane by electromethanogenesis. *Environ Sci Technol*. 43:3953–3958.

Cohen. B. 1931. The bacterial culture as an electrical Half-cell. *J.Bacteriol*. 21:18-19.

Cuong, A.P., Jung, S.J., Phung, N.T., Lee, J., Chang, I.S., Kim, B.H., Yi, H. y Chun, J. 2003. A novel electrochemically active and Fe(III)-reducing bacterium phylogenetically related to Aeromonas hydrophila, isolated from a microbial fuel cell. *FEMS Microbiol. Lett*. 223(1):129-134.

Cusick, R. D., Kim, Y. y Logan, B. E., 2012. Energy capture from thermolytic solutions in microbial reverse-electrodialysis cells. *Science.* 335:1474–1477.

Datasheet, AD620. 2003–2011 Low Cost Low Power Instrumentation Amplifier. Analog Devices. pp 1.

DELANEY, G. M., BENNETTO, H. P., MASON, J. R., ROLLER, S. D., STIRLING, J. L. Y THURSTON, C. F. 1984. Electron-transfer coupling in microbial fuel cells. 2. Performance of fuel cells containing selected microorganism-mediator-substrate combinations. Journal of Chemical *Technology and Biotechnology MB*. 34(B):10-27.

DGN, 2001. NMX-AA-034-SCFI-2001. Análisis de agua - Determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Producido por la Direccion General de Normas. México, D.F. México.

Di Salvo, E. A., Videla, H. A. y ArvÃ-a, A. J. 1979b Kinetic model of a depolarizationtype bioelectrochemical fuel cell, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 104(C):493-508.

Di Salvo, E. A. y Videla, H. A. 1979a. Relation between biological parameters and the bioelectrochemical fuel-cell response, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 104(C):185-195.

Du, Z., Li, H. y Gu, T. 2007. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy; *Biotechnology Advances*. 25:464-482.

Elías, X. y Jurado, L. 2012. El hidrogeno y las pilas de combustible.. Ediciones Díaz de Santos. Pág. 163 y 1080. Madird, España.

Erable, B., Etcheverry, L. y Bergel, A., 2011. From microbial fuel cell (MFC) to microbial electrochemical snorkel (MES): maximizing chemical oxygen demand (COD) removal from wastewater. *Biofouling*. 27:319-326.

Erable, B., Vandecandelaere, I., Faimali, M., Dealia, M.-L., Etcheverry, L., Vandamme, P. y Bergel, A. 2010. Marine aerobic biofilm as biocathode catalyst. *Bioelectrochemistry*. 78; 51-56.

Falcón, A., Lozano J. E. y Juárez, K. 2009. Bioelectricidad. Revista BioTecnología. 13(3):65-66.

Feng, Y., Lee, H., Wang, X., Liu, Y. y He, W. 2010. Continuous electricity generation by a graphite granule baffled air-cathode microbial fuel cell. *Bioresour Technol.* 101:632–638.

Franks, A. E. y Nevin, K. P. 2010. Microbial Fuel Cells, A Current Review. *Energies*. 3: 899-919.

Franks, A. E., Malvankar, N. y Nevin, K. P. 2010. Bacterial biofilms: the powerhouse of a microbial fuel cell. *Biofuels*. 1:589-604.

Franks, Y., Wang, X., Logan, B. y Lee, H. 2008. Brewery wasyewater treatment using air-cathode microbial fuel cells. App. *Microbiol. Biotechnol*. 78:873-880.

Frazier, W. y Westhoff, D. 1978. Microbiología de los alimentos. Editado por Acribia S.A. Pág. 35-42. Zaragoza, España.

Freguia, S., Rabaey, K., Yuan, Z. y Keller, J. 2008. Syntrophic processes drive the conversion of glucose in microbial fuel cell anodes. *Environ. Sci. Technol.* 42:7937-7943.

Gálvez, A., Greenman, J. y leropoulos, I. 2009. Landfill leachate treatment with microbial fuel cells; scale-up through plurality. *Biores. Technol*. 100:5085-5091.

Gil, G., Chang, I., Kim, B., Kim, M., Jang, J., Park, H. y Kim, H., 2003. Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell. *Biosensors and Bioelectronics.* 18:327-334.

Gorby, Y., Yanina, S., McLean, J., Rosso, K., Moyles, D., Dohnalkova, A., Beveridge, T., Chang, I., Kim, B., Kim K., Culley, D., Reed, S., Romine, M., Saffarini, D., Hill, E., Shi, L., Elias, D., Kennedy, D., Pinchuk, G., Watanabe, K., Ishii, S., Logan, B., Nealson, K, y Fredrickson, J. 2006. Electrically conductive bacterial nanowires produced by Shewanella oneidensis strain MR-1 and other microorganisms. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 103:11358-11363.

GSISA, 1913. Papel carbón, el grafito flexible. Catálogo de altas temperaturas. Publicado por Grupo Schunk Iberica S.A. Madrid, España.

Habermann, W. y Pommer, E. 1991. Biological fuel cells with sulphide storage capacity. Appl. *Microbiol. Biotechnol*. 35:128-133.

Harnisch, F. y Schröder, U. 2010. From MFC to MXC:chemical andbiological cathodes andtheirpotential for microbial bioelectrochemical systems. *Chem Soc Rev.* 39:4433–4448.

He, Z., Huang, Y., Manohar, A. y Mansfeld, F. 2008. Effect of electrolyte pH on the rate of the anodic and cathodic reactions in an aircathode microbial fuel cell. *Bioelectrochemistry*. 74:78-82.

He, Z., Minteer, S. D. y Angenent LT. 2005. Electricity generation from artificial wastewater using an upflow microbial fuel cell. *Environ Sci Technol.* 39:5262–5267.

He, Z., Wagner, N. y Minteer S. D. 2006. Angenent LT. An upflow microbial fuel cell with an interior cathode: assessment of the internal resistance by impedance spectroscopy. *Environ Sci Technol*. 40:5212–5217.

Heilmann J. y Logan B. 2006. Production of electricity from proteins using a single chamber microbial fuel cell. Water Env. Res. 78: 531-537.

Higgins, I. J., Hill H. A. O. 1985. Bioelectrochemistry. *Essays Biochem* 21:119–145.

Holzman, D. C. 2005. Microbe power. *Environ. Health. Persp.* 113:(A)754-757.

Jacobson, K. S., Drew, D. M. y He, Z., 2011. Efficient salt removal in a continuously operated upflow microbial desalination cell with an air cathode; *Bioresource Technology*. 102:376-380.

Kim B. H., Kim H. J., Hyun M. S. y Park D.H. 1999a. Direct electrode reraction of Fe (III)-reducing bacterium, Shewanella putrefaciens. J. Microbiol. *Biotechnol*. 9:127-131.

Kim, B. H., Kim H. J. y Hyun, M.S. 1999. Park D-H. Direct electrode reaction of Fe(III)-reducing bacterium, Shewanella putrefaciens. *J Microbiol Biotechnol*. 9:127–131.

Kim, H., Park, H., Hyun, M., Chang, I., Kim, M. y Kim, B. 2002a. A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, Shewanella putrefaciens. *Enzyme and Microbial Technology*. 30(2):145-152.

Kim, Y. y Logan, B. E. 2011a Hydrogen production frominexhaustible supplies of fresh and saltwater using microbial reverse-electrodialysis electrolysis cells. *Proc Natl Acad Sci*. 108:16176–161781.

Kim, Y. y Logan, B. E. 2011b. Microbial reverse electrodialysis cells for synergistically enhanced power production. *Environ Sci Technol*. 45:5834–5839.

Lanthier, M., Gregory, K. y Lovley, D. 2008.Growth with high planktonic biomass in Shewanella oneidensis fuel cells. *FEMS Microbiol. Lett.* 278:29-35.

Li, W. W., Sheng G. P., Lui, X. W. y Yu., H. Q., 2011. Recent advance in the separators for microbial fuel cells. *Bioresour. Technol.* 102(1): 244-252.

Lithgow A. M., Romero L., Sanchez I. C., Souto F. A. y Vega C. A. 1986. Interception of electrontransport chain in bacteria with hydrophilic redox mediators. *J. Chem. Res.* 5:168-179.

Liu, H. y Logan, B. 2004. Electricity generation using an aircathode single chamber microbial fuel cell in the presence and absence of a proton exchange membrane. *Environmental Science & Technology*. 38:4040–4046.

Liu, H., Ramnarayanan, R. y Logan, B. 2004. Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. *Env. Sci. Technol*. 38: 2281-2285.

Liu, H., Ramnarayanan, R. y Logan, B. 2004. Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. Env. Sci. Technol. 38: 2281-2285.

Liu, Z., Liu, J., Zhang, S. y Su, Z., 2009. Study of operational performance and electrical response on mediator-less microbial fuel cells fed with carbon- and protein-rich substrates. *Biochem. Eng. J*. 45:185–191.

Logan, B. 2009. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. *Nat. Rev. Microbiol.* 7:375-381.

LOGAN, B. E., HAMELERS, B., ROZENDAL, R., SCHRÖDER, U., KELLER, J., FREGUIA, S., AELTERMAN, P., VERSTRAETE, W. y RABAEY, K. 2006 "Microbial fuel cells: methodology and technology". *Environmental Science and Technolology.* 40:5181-5192.

Logan, B. y E., Rabaey, K. 2012. Conversion of wastes into bioelectricity and chemicals by using microbial electrochemical technologies. *Science.* 337:686–690.

Logan, B., E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U. y Keller J, Freguia S. 2006. Microbialfuel cells: methodology and technology. *Environ Sci Technol*. 40:5181–5592.

Lovley, D. 2008. Extracellular electron transfer: wires, capacitors, iron lungs, and more. *Geobiol*. 6: 220-238.

Lovley, D. R. 2006. Bug juice: harvesting electricity with microorganisms. *Nat Rev Microbiol*. 4:497–508.

Lovley, D. y Nevin, K. 2008. "Chapter 23: Electricity Procdution with electricigens". *In J. Wall et al. (ed.), Bioenergy*. ASM Press, Whashinton, DC.:295-306.

Luo, H., Jenkins, P. E. y Ren ,Z. 2011. Concurrent desalination and hydrogen generation using microbial electrolysis and desalination cells. *Environ Sci Technol*. 45:340–4.

Malik, S., Drott, E., Grisdela, P., Lee, J., Lee, C., Lowy, D. A. y col. 2009. A self-assembling self-repairing microbial photoelectrochemical solar cell. *Energy Environ Sci*. 2:292–298.

Min, B. y Logan, B. 2004. Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrates in a flat plate microbial fuel cell. Env. Sci. Technol. 38: 5809-5814.

Min, B., Cheng, S. y Logan, B. 2005. Electricity generation using membrane and salt bridge microbial fuel cells. *Water Res*. 39:1675-1686.

Minteer, S., Liaw, B. y Cooney, M. 2007. Enzyme-based biofuel cells. Curr. Opin. *Biotechnol.* 18:228-234.

Morris, J. y Jin, S. 2008. Feasibility of using microbial fuel cell technology for bioremediation of hydrocarbons in groundwater. J. Environm. Sci. Health A: Tox./Hazard. *Subst. Environm. Eng.* 43: 18-23.

Oh S., Min B. y Logan B. 2004. Cathode Performance as a factor in electricity generation in microbial fuel cells. Env. Sci. Technol. 38: 4900-4904.

Pant, D., Van Bogaert, G., Diels, L. y Vanbroekhoven, K. 2009. A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. *Bioresourc. Technol*. 101:1533-1543.

Park, D. y Zeikus, J. 2003. Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation. *Biotechnol. Bioeng*. 81: 348-355.

Park, H. S., Kim, B. H., Kim, H. S., Kim, H. J., Kim, G., Kim, M. y col. 2001. A novel electrochemically active and Fe(III)-reducing bacterium phylogenetically related to Clostridium butyricum isolated from a microbial fuel cell. *Anaerobe*. 7:297–306.

Patil, S., Surakasi, V., Koul, S., Ijmulwar, S., Vivek, A., Shouche, Y. y Kapadnis, B. 2009.Electricity generation using chocolate industry wastewater and its treatment in activated sludge based microbial fuel cell and analysis of developed microbial community in the anode chamber. *Bioresour. Technol.* 100:5132-5139.

Potter, M. 1911. Electrical Effects Accompanyin the Decomposition of Organic Compounds. Proc. *R. Soc. Lond.,* B84:200-276.

Prasad, D., Arun, S., Murugesan, M., Padmanaban, S., Satyanarayanan, R., Berchmans, S. y Yegnaraman, V. 2007. Direct electron transfer with yeast cells and construction of a mediatorless microbial fuel cell. Biosen. *Bioelectron*. 22:2604-2610.

Quiao, Y., Bao, S., Li, C. M., Cui, X., Lu, Z. y Guo, J. 2008. Nanostructured polyaniline/titanium dioxide composite anodo for microbial fuel-cells. *ACS Nano*. 2:113-119.

Quintero, R. 1990. Ingeniería bioquímica, Teoría y aplicación. Alhambra mexicana. Pág.17-28 México, D.F. México.

Rabaey, K. & W. y Verstraete. 2005. "Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generations". *Trends Biotechnol*. 23: 291-298.

Rabaey, K., Boon, N., Siciliano, S., Verhaege, M. y Verstraete, W. 2004. Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate electron transfer. Appl. *Environ. Microbiol*. 70:5373-5382.

Rabaey, K., Clauwaert, P., Aelterman, P. y Verstraete W. 2005b. Tubular microbial fuel cells for efficient electricity generation. *Environ Sci Technol* 39:8077–8082.

Rabaey, K., Clauwaert, P., Aelterman, P. y Verstraete, W. 2005. Tubular microbial fuel cells for efficient electricity generation. *Environ. Sci. Technol.* 39(20): 8077-8082.

Rabaey, K., Girguis, P. y Nielsen, L. K., 2011. Metabolic and practical considerations on microbial electrosynthesis. *Current Opinion in Biotechnology*. 22:371-377.

Rabaey, K., Lissens, G., Siciliano, S. y Verstraete, W. 2003. A microbial fuel cell capable of converting glucose to electricity at high rate and efficiency. *Biotechnol. Lett.* 25:1531-1535.

Reimers, C., Tender, L., Fertig, S. y Wang, W. 2001. Harvesting energy from the marine sedimentwater interface. Environ. *Sci. Technol*. 35:192-195

Ren, Z., Steinburg, L. M. y Regan, J.M., 2008. Electricity production and microbial biofilm characterization in cellulose-fed microbial fuel cells. *Water Sci. Technol*. 58 (3):617–622.

Ringeisen B., Henderson E., Wu P., Pietron J., Ray R., Little B., y col. 2006. High power density from a miniature microbial fuel cell using Shewanella oneidensis DSP10. Environ Sci. Technol. 40:2629-2934.

Rittmann, B., Torres, C. y Marcus, A. 2008a. Understanding the distinguishing features of a microbial fuel cell as a biomass-based renewable energy technology. *In Emerging Environmental Technologies; Springer: Berlin, Alemania*; pp.1-28.

Rittmann, Krajmalnik-Brown y Halden. 2008b. Pre-genomic, genomic and post.genomic study of microbial communities involve in bioenergy. *Nature*. 6:604-612.

Rosenbaum, M., Schröder, U. y Scholz, F. 2005. In situ electrooxidation of photobiological hydrogen in a photobioelectrochemical fuel cell based on Rhodobacter sphaeroides. *Environ Sci Technol*. 39:6328–6333.

Rozendal, R. A., Hamelers, H. V. M., Rabaey, K. y Keller., J. 2008. Buisman CJN. Towards practical implementation of bioelectrochemical wastewater treatment. *Trends Biotechnol. 26:450–459.*

Rozendal, R., Hamelers, H. y Buisman. 2006. Effects of Membrane Cation Transport on pH and Microbial Fuel Cell performance. *Env. Sci. Technol*. 40: 5206-5211.

Schroder, U. 2007. Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 9:2619-2629.

Sell, D., Krâmer, P. y Kreysa, G. 1989. Use of an oxygen gas diffusion cathode and a threedimensional packed bed anode in a bioelectrochemical fuel cell. Appl. *Microbiol. Technol.* 31: 211-213.

Suzuki, S. y Aizawa, M. 1980. Biomass conversion to electric energy, *Nenryo Kyokaishi*. 59(3):164-170.

Tanaka, K., Vega, C. A. y Tamamushi, R. 1983. Mediating effects of ferric chelate compound in microbial fuel cells. **Bioelectrochem Bioenerg**. 11:135–143.

Tanisho, S., Kamiya, N. y Wakao, N. 1989. Microbial fuel cell using. Enterobacter aerogenes. *Bioelectrochem. Bioenerg*. 21:25-32.

Thorne, R., Hu, H., Schneider, K., Bombelli, P., Fisher, A., Peter L. M., y col. 2011. Porous ceramic anode materials for photo-microbial fuel cells. *J Mater Chem*. 21:18055–18060.

Torres, C. I., Krajmalnik-Brown, R., Parameswaran, P., Marcus, A.K., Wanger, G., Gorby, Y.A. y Rittmann, B.E., 2009. Selecting anode-respiring bacteria based on anode potential: phylogenetic, electrochemical, and microscopic characterization. *Environ. Sci. Technol*. 43:9519–9524.

Torres, C., Kato-Marcus, A. y Rittmann, B. 2008a. Proton transport inside the biofilm limits electrical current generation by anode-respiring bacteria. Biotechnol. *Bioeng.* 100:872-881.

Torres, C., Lee, H. y Rittmann, B. 2008b. Carbonate species as OH- carriers for decreasing the pH gradient between cathode and anode in biological fuel cells. *Environ. Sci. Technol*. 42:8773-8777.

Villar-Lázaro R., López-Martínez C., Cussó-Pérez F., 2014. Fundamentos físicos de los procesos biológicos. Volumen III. Editorial Club Universitario. Pág. 64-70. San Vicente, España.

Walker, A. y Walker, J. 2006. Biological fuel cell and an application as a reserve power source. J. *Power Sourc*. 160:123-129.

Wang, G., Huang, L. y Zhang, Y. 2008. Cathodic reduction of hexavalent chromium [Cr(VI)] coupled with electricity generation in microbial fuel cells. *Biotechnol Lett*. 30:1959–1966.

Wang, H. y Ren Z. J. 2013. A comprehensive review of microbial electro chemical systems as a platform technology. **Biotechnology Advances**. 31:1790, 1807.

Wang, X., Feng, Y., Liu, J., Lee, H., Li, C., Li, N. y col. 2010. Sequestration of CO2 discharged from anode by algal cathode in microbial carbon capture cells (MCCs). *Biosens Bioelectron.* 25:2639–2643.

Yagishita, T., Sawayama, S., Tsukahara, K. y Ogi, T. 1997. Effects of intensity of incident light and concentrations of Synechococcus sp. and 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone on the current output of photosynthetic electrochemical cell. *Sol Energy*. 61:347–353.

Zhang, Y. y Angelidaki, I. 2013. A new method for in situ nitrate removal from groundwater using submerged microbial desalination denitrification cell (SMDDC). *Water Res.* 47:1827–1836.